



Alicia Rumayor Piña

**“ANÁLISE COMPARATIVA DAS CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E
IMUNOISTOQUÍMICAS DO PILOMATRICOMA, CRANIOFARINGIOMA E
TUMOR ODONTOGÊNICO CÍSTICO CALCIFICANTE”**

PIRACICABA

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

Alicia Rumayor Piña

**“ANÁLISE COMPARATIVA DAS CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E
IMUNOISTOQUÍMICAS DO PILOMATRICOMA, CRANIOFARINGIOMA E
TUMOR ODONTOGÊNICO CÍSTICO CALCIFICANTE”**

Orientador: Oslei Paes de Almeida

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA À
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
DA UNICAMP PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
MESTRA EM ESTOMATOPATOLOGIA, NA ÁREA DE
PATOLOGIA.

**Este exemplar corresponde à versão final
da Dissertação defendida pelo aluno Alicia Rumayor Piña,
e orientada pelo Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida.**

Assinatura do Orientador

PIRACICABA

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

P65a Piña, Alicia Rumayor, 1984-
Análise comparativa das características histológicas e
imunoistoquímicas do Pilomatricoma, Craniofaringioma e Tumor
Odontogênico Cístico Calcificante / Alicia Rumayor Piña. --
Piracicaba, SP : [s.n.], 2013.

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

1. Histopatologia. 2. Imunoistoquímica. I. Almeida, Oslei Paes
de, 1948- II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: Comparative analysis of histological and
immunohistochemical features of pilomatricoma, craniopharyngioma and
calcifying cystic odontogenic tumor

Palavras-chave em Inglês:

Histopathology

Immunohistochemistry

Área de concentração: Patologia

Titulação: Mestra em Estomatopatologia

Banca examinadora:

Oslei Paes de Almeida [Orientador]

Mário José Romãnach Gonzalez Sobrinho

Pablo Agustin Vargas

Data da defesa: 28-02-2013

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 28 de Fevereiro de 2013, considerou a candidata ALICIA RUMAYOR PIÑA 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 "Mário José Románach González Sobrinho".

Prof. Dr. MÁRIO JOSÉ ROMANACH GONZALEZ SOBRINHO

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Pablo Agustín Vargas".

Prof. Dr. PABLO AGUSTIN VARGAS

RESUMO

Pilomatricoma (PM), craniofaringioma (CF) e tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC) são tumores que compartilham uma característica histopatológica marcante, a presença de células fantasmas. O objetivo deste trabalho foi analisar e comparar as características histológicas e imunoistoquímicas destas neoplasias. Foram usados 43 casos, sendo 21 PMs, 14 CFs e 8 TOCCs. A metodologia incluiu avaliação de todos os casos em cortes corados em hematoxilina e eosina, e reações imunoistoquímicas para anticorpos contra CKs AE1/AE3, 8, 14 e 19, CD138, β -Catenina, Glut-1, D2-40, FAS e CD10. Os PMs acometeram principalmente a pele da região facial de homens com média de idade de 17 anos. Os CFs envolveram a região supraselar de pacientes na primeira e segunda década de vida. Os TOCCs predominaram na mandíbula de mulheres com média de idade de 47 anos. Microscopicamente, células basalóides, transicionais e fantasmas foram os principais tipos celulares observados nos PMs. Os CFs e TOCCs apresentaram epitélio formado por camada basal de células colunares em paliçada, região suprabasal composta por células escamosas triangulares, com aspecto semelhante ao retículo estrelado, além de regiões de células transicionais, fantasmas e agregados de células epiteliais em padrão de redemoinho. Nos PMs, as células basalóides mostraram positividade para CD138, β -Catenina e CD10, enquanto que as células transicionais expressaram principalmente FAS. Todos os casos de CF e TOCC mostraram positividade para CK AE1/AE3 em todas as camadas do epitélio. Nos CFs, CK14 foi expressa na camada basal, e CK8 na região semelhante ao retículo estrelado. Além disto, as células transicionais mostraram expressão forte para Glut-1 e os agregados celulares em forma de redemoinho para CD10. Com relação ao TOCC, a camada basal e a região semelhante ao retículo estrelado mostraram positividade para CK14 e β -Catenina, enquanto que as células transicionais expressaram CK19, FAS e CD10. As estruturas em padrão de redemoinho foram intensamente positivas para CKs 8, 19 e CD10. Observou-se expressão nuclear de β -Catenina

nos casos de CF e TOCC nas células transicionais e nos agregados em redemoinho. As células fantasmas mostraram expressão fraca apenas para AE1/AE3 e FAS. Em resumo, a semelhança histológica principal entre os três tumores, é a presença de células fantasmas. Apesar de apresentarem aspectos histológicos similares, as três lesões estudadas apresentam histogênese diferente. O mecanismo de formação das células fantasmas a partir das células epiteliais é difícil de ser determinado visto que há perda de expressão de praticamente todos os marcadores usados neste estudo.

Palavras-chave: histopatologia, imunoistoquímica.

ABSTRACT

Pilomatricoma (PM), craniopharyngioma (CP) and calcifying cystic odontogenic tumor (CCOT) are entities that share a striking histopathological feature, the ghost cells. The aim of this study was to analyze and compare the histological and immunohistochemical features of these neoplasms. A total of 43 cases were studied, including 21 PM, 14 CP and 8 CCOT. Methods included review of all cases in hematoxylin and eosin stained sections, and immunohistochemical reactions for antibodies against CKs AE1/AE3, 8, 14 and 19, CD138, β -Catenin, Glut-1, D2-40, FAS and CD10. PM mainly affected facial skin of men with a median age of 17 years-old; presenting as an asymptomatic nodule. CP involved the suprasellar region of patients in the first and second decades of life, while CCOT predominated in the mandible of women with a median age of 47 years-old. Microscopically, basaloid, transitional and ghost cells were the main cell types identified in PM. CP and CCOT characteristically showed an epithelium with a basal layer of palisading columnar cells, a suprabasal layer composed of squamous cells that assumed a triangular shape, and acquire a stellate reticulum appearance due to increased intercellular space by accumulation of amorphous substances, besides areas of transitional, ghost cells and clusters of epithelial cells in a whorl-like array are present. Basaloid cells of PM showed positivity for CD138, β -Catenin and CD10, whereas transitional cells expressed mainly FAS. All cases of CP and CCOT showed positivity for AE1/AE3 in all epithelial layers. CP showed expression of CK14 in the basal layer, whereas CK8 was positive in the suprabasal region similar to stellate reticulum. Moreover, transitional cells showed strong positivity for Glut-1, and whorl-like clusters for CD10. Regarding to CCOT, the basal layer and the region similar to stellate reticulum showed positivity for CK14 and β -Catenin, whereas transitional cells expressed CK19, FAS and CD10. Whorl-like clusters were strongly positive for CKs 8, 19 and CD10. Nuclear β -Catenin expression was observed in the transitional cells and whorl-like clusters of CCOT and CP. Ghost cells showed weak expression of AE1/AE3 and FAS. The main

similarity between these tumors is the presence of ghost cells. Despite showing similar histology, these three tumors have different histogenesis. It was not possible to determine the process of ghost cell formation, so there was no clear sequence of proteins expression from basal cells up to ghost cells, which were negative for most of the markers used.

Key-words: histopathology, immunohistochemistry.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Características clínicas e radiográficas do tumor odontogênico cístico calcificante (caso 6).
- Figura 2** - Aspectos histológicos do PM, mostrando o padrão arquitetural e tipos celulares.
- Figura 3** - Aspectos histológicos do CF mostrando o padrão arquitetural e tipos celulares.
- Figura 4** - Aspectos histológicos do TOCC mostrando o padrão arquitetural e tipos celulares.
- Figura 5** - Características do estroma do PM, CF e TOCC.
- Figura 6** - Perfil imunoistoquímico do tecido epitelial dos pilomatricomas - Células basalóides.
- Figura 7** - Perfil imunoistoquímico do tecido epitelial dos pilomatricomas - Células escamosas.
- Figura 8** - Perfil imunoistoquímico do tecido epitelial dos craniofaringiomas.
- Figura 9** - Perfil imunoistoquímico do tecido epitelial dos tumores odontogênicos císticos calcificantes.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Expressão imunoistoquímica de CKs em PM de acordo com 3 artigos da literatura.
- Tabela 2** - Expressão imunoistoquímica das citoqueratinas relatada na literatura em casos de craniofaringioma.
- Tabela 3** - Expressão imunoistoquímica das citoqueratinas de acordo com a literatura em casos de tumor odontogênico cístico calcificante.
- Tabela 4** - Expressão imunoistoquímica de β -catenina relatada na literatura em casos de pilomatricoma.
- Tabela 5** - Anticorpos primários e respectivos clones, diluições e fabricantes, utilizados na avaliação dos casos de PM, CF, TOCC.
- Tabela 6** - Tipos celulares incluídos na avaliação imunoistoquímica de PM, CF e TOCC.
- Tabela 7** - Distribuição das principais características demográficas, clínicas e radiográficas dos pilomatricomas, craniofaringiomas e tumores odontogênicos císticos calcificantes.
- Tabela 8.** Frequência dos critérios histopatológicos analisados no epitélio dos pilomatricomas, craniofaringiomas e tumores odontogênicos císticos calcificantes.
- Tabela 9** - Características histológicas do estroma dos pilomatricomas, craniofaringiomas e tumores odontogênicos císticos calcificantes.
- Tabela 10** - Imunoexpressão de CKs AE1/AE3, 8, 14, 19, CD138, β -Catenina, Glut-1, D2-40, FAS e CD10 no tecido epitelial dos PMs, CFs e TOCCs.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 Pilomatricoma (PM)	2
2.2 Craniofaringioma (CF)	3
2.3 Tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC)	5
2.4 Células fantasmas	7
2.5 Marcadores imunoistoquímicos	8
2.5.1 Citoqueratinas	8
2.5.2 Sindecán-1 (CD138)	13
2.5.3 β -catenina	13
2.5.4 Glut-1.....	15
2.5.5 D2-40	15
2.5.6 FAS	16
2.5.7 CD10	16
2.5.8 Outros marcadores	16
3 PROPOSIÇÃO	19
3.1 Objetivo geral	19
3.2 Objetivos específicos	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	20
4.1 Amostra	20
4.2 Análise histopatológica	20
4.3 Análise imunoistoquímica	21
5 RESULTADOS	24
5.1 Características demográficas e clínicas	24
5.2 Características histopatológicas do componente epitelial	27
5.2.1 Pilomatricoma	27
5.2.2 Craniofaringioma	28
5.2.3 Tumor odontogênico cístico calcificante	28

5.3 Características histopatológicas do estroma	33
5.3.1 Pilomatricoma	33
5.3.2 Craniofaringioma	33
5.3.3 Tumor odontogênico cístico calcificante	33
5.4 Imunoistoquímica	36
5.4.1 Pilomatricoma	36
5.4.2 Craniofaringioma	37
5.4.3 Tumor odontogênico cístico calcificante	38
5.5 Análise imunoistoquímica comparativa entre PM, CF e TOCC	42
6 DISCUSSÃO	50
7 CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICE 1	73
APÊNDICE 2	74
APÊNDICE 3	75
APÊNDICE 4	76
APÊNDICE 5	77
APÊNDICE 6	78
APÊNDICE 7	79
APÊNDICE 8	82
APÊNDICE 9	86
ANEXO	87

1. INTRODUÇÃO

Pilomatricoma, craniofaringioma e tumor odontogênico cístico calcificante são tumores benignos distintos, que compartilham como característica histológica marcante a presença de células fantasmas. As células fantasmas se caracterizam pela ausência de núcleo e coloração eosinofílica de diferentes intensidades. O pilomatricoma ocorre na pele, originando-se do folículo piloso, sendo que as células fantasmas são consideradas como uma falha na tentativa de produção da bainha pilosa (Alsaad *et al.*, 2007). O craniofaringioma é provavelmente originado de remanescentes de um divertículo cístico, que surge do teto ectodérmico do estomodeo (bolsa de Rathke) (Prahbu & Brown, 2005). O tumor odontogênico cístico calcificante ocorre nos ossos gnáticos, e diferente de outros tumores odontogênicos envolve principalmente a maxila (Ledesma-Montes *et al.*, 2008). A patogênese destas três lesões não é conhecida, mas além da presença das células fantasmas, há relatos de alterações da expressão de beta-catenina, com alterações no gene *CTNNB1* que codifica esta proteína (Sekine *et al.*, 2003). Portanto, uma alteração genética comum parece estar presente nestas três lesões. Embora as características clínicas sejam fundamentais para orientar o diagnóstico e tratamento, os achados microscópicos permitem estabelecer o diagnóstico definitivo. Este estudo tem como objetivo descrever e discutir as características histopatológicas e imunoistoquímicas destas três neoplasias benignas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Pilomatricoma (PM)

O pilomatricoma (PM) é uma neoplasia benigna do folículo piloso. Surge a partir das células da matriz do folículo piloso, representando menos de 1% das lesões cutâneas benignas. Clinicamente, o PM (também conhecido como pilomatrixoma ou epiteloma calcificante de Malherbe), ocorre comumente como nódulo subcutâneo solitário, de consistência firme, com predileção pelas regiões de cabeça, pescoço e extremidades superiores, de pacientes com menos de 30 anos de idade, sem predileção por gênero (Gay Escoda *et al.*, 1991; Hurt *et al.*, 2006; O'Connor *et al.*, 2011; Thompson, 2012). As regiões da cabeça usualmente afetadas são as pré-auricular, peri-orbitária e couro cabeludo. Raramente o PM apresenta-se de forma múltipla, sendo neste caso um indicador clínico da distrofia miotônica e outras síndromes como Rubinstein-Taybi, Turner e Goldenhar (Cambiaghi *et al.*, 1994; Julian & Bowers, 1998; Pirouzmanesh *et al.*, 2003; Guinot-Moya *et al.*, 2011). Cistos cutâneos com características similares ao PM têm sido descritos em pacientes com síndrome de Gardner (Cooper & Fechner, 1983; Narisawa & Kohda, 1995).

Microscopicamente o PM é uma lesão bem circunscrita localizada na derme profunda, podendo ser cística ou sólida, caracterizada por células epiteliais basalóides dispostas de forma coesa na periferia e células eosinófilas anucleadas, denominadas células fantasmas. Além das células basalóides e fantasmas, o PM pode apresentar outros tipos celulares como células escamosas e células transicionais. As células escamosas formam pequenos agregados focais, com presença de filamentos de queratina nestas áreas, principalmente em estágios de completo desenvolvimento ou de regressão inicial do pilomatricoma. As células transicionais apresentam citoplasma eosinófilo e núcleo picnótico, mostrando a perda gradual do mesmo, estando em continuidade com as áreas de células fantasmas (Kaddu *et al.*, 1996; Kishimoto *et al.*, 1996). Lesões iniciais

geralmente são císticas, apresentando revestimento periférico de células basofílicas pequenas (basalóides), mitoticamente ativas, e áreas variáveis de células fantasmas, algumas vezes mostrando nitidamente a região de transição de células basalóides nucleadas para as células fantasmas. PMs de longo período de evolução são geralmente sólidos, e caracteristicamente apresentam o componente de células fantasmas proeminente, além de grande quantidade de queratina, que eventualmente extravasam para o estroma, com presença de células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho. As células fantasmas podem formar massas compactas com tendência a se calcificar, com ossificação em raros casos (Thompson, 2012). A calcificação começa nas células fantasmas na forma de pequenos grânulos basófilos, vistos principalmente na área de transição com as células basalóides. Debris celulares, além de hemorragia e infiltrado inflamatório mononuclear de leve a moderado, são achados frequentes. Algumas lesões de evolução mais longa são formadas quase que exclusivamente por células fantasmas, focalmente ou completamente calcificadas, em um estroma desmoplásico, sem componente epitelial com vitalidade (Kaddu *et al.*, 1996; Lan *et al.*, 2003; Alsaad *et al.*, 2007). O tratamento do PM usualmente consiste em remoção cirúrgica conservadora, a recidiva é incomum, e quando acontece se deve a remoção incompleta da lesão (O'Connor *et al.*, 2011). Raramente transformação maligna tem sido reportada (Hardisson *et al.*, 2001).

2.2 Craniofaringioma (CF)

O craniofaringioma (CF) é uma neoplasia epitelial benigna, parcialmente cística, que afeta a região selar e paraselar de pacientes com ampla faixa etária com incidência de 0.5 a 2 novos casos por milhão de pessoas por ano (Müller, 2013). A organização mundial da saúde (OMS) considera o CF como uma neoplasia de grau 1 a despeito de sua taxa significativa de recidiva, principalmente em pacientes jovens. A OMS classifica os tumores do sistema nervoso em quatro graus. As lesões de grau 1, dentro das quais está incluído o CF são tumores de baixo potencial proliferativo e com boa possibilidade de cura após ressecção

cirúrgica (Rushing *et al.*, 2007). O CF é o tumor mais comum da região supratentorial de pacientes pediátricos, com alta frequência na faixa etária dos 10 aos 15 anos de idade, embora os dados da literatura sejam variáveis (Nayil *et al.*, 2011). Pela proximidade com o sistema ventricular cerebral, nervo óptico, glândula pituitária e hipotálamo, clinicamente o CF pode causar: alterações neurológicas (dor de cabeça, convulsões, paralisia), visuais (diminuição da acuidade visual, estrabismo) e menos comumente endócrinas (níveis anormais de produção hormonal, puberdade precoce) (Shin *et al.*, 1999; Kleihues *et al.*, 2007; Taylor *et al.*, 2012).

O CF apresenta dois tipos histológicos, adamantinoso e papilar, o primeiro sendo o mais frequente. O tipo adamantinoso parece se desenvolver a partir de remanescentes epiteliais do ducto craniofaríngeo ou da bolsa de Rathke, que são estruturas derivadas da porção do estomodeo destinada a formar os primórdios dos dentes. O tipo papilar parece se originar a partir de metaplasia dos remanescentes do epitélio escamoso precursor da mucosa bucal. O CF adamantinoso apresenta regiões sólidas e císticas, sendo encontrado em distribuição bimodal, em crianças de 5 a 15 anos e adultos entre 45 e 60 anos. Por outro lado, o CF papilar é incomum, predominantemente sólido e acomete preferencialmente adultos entre a quinta e sexta décadas de vida (Tavangar *et al.*, 2004; Prahbu & Brown, 2005; Fernández-Miranda *et al.*, 2012).

O CF adamantinoso é microscopicamente formado por lóbulos de células epiteliais em arranjo sólido ou com aparência semelhante ao retículo estrelado do órgão do esmalte, e uma camada periférica de células colunares em paliçada. O componente cístico é variável, as cavidades são revestidas por epitélio contendo células basais cuboidais a colunares em paliçada, com uma camada suprajacente de epitélio semelhante ao retículo estrelado. O epitélio mostra quantidade variável de células fantasmas, calcificações e pérolas de queratina. Agregados celulares em forma de esférula ou redemoinho são encontrados no revestimento epitelial. Os espaços císticos podem conter material fluido, e

eventualmente cristais de colesterol. O padrão histológico pode ser semelhante ao visto em tumores de origem odontogênica como TOCC e ameloblastoma (Bernstein & Buchino, 1983; Badger & Gardner, 1997; Le *et al.*, 2007; Buslei *et al.*, 2007).

O CF papilar é uma neoplasia sólida composta por cordões ou lençóis de células epiteliais, formando projeções papilares com centros fibrovasculares em um estroma fibroso frouxo. Usualmente apresenta escassa formação de paliçada periférica, cavidades císticas, células fantasmas, cristais de colesterol ou calcificações. Formação de tecidos duros na forma de dentículos ou dentes bem formados pode ser observada no CF, o que sugere uma relação com epitélio odontogênico (Prahbu & Brown, 2005; Hofmann *et al.*, 2006; Muller *et al.*, 2011). O tratamento do CF consiste em ressecção cirúrgica, com radioterapia adjuvante quando a ressecção completa do tumor não seja possível. A taxa de recidiva é significativa, principalmente em crianças, embora altas taxas de sobrevida sejam relatadas. Apesar disso, existe uma diminuição na qualidade de vida devido a sequelas causadas pela proximidade do tumor com estruturas como o nervo óptico e hipotálamo (Peckmezi *et al.*, 2010; Fernández-Miranda *et al.*, 2012; Müller, 2013).

2.3 Tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC)

O tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC, ou cisto de Gorlin) foi descrito inicialmente por Gorlin como lesão cística calcificante, semelhante ao epitelioma calcificante de Malherbe cutâneo (Gorlin *et al.*, 1962; Gorlin *et al.*, 1964). A OMS considera atualmente o TOCC dentro do grupo das lesões formadas por epitélio odontogênico, com ectomesênquima odontogênico, com ou sem formação de tecidos duros. É uma neoplasia cística benigna de origem odontogênica, caracterizada por epitélio tipo ameloblástico, com presença de células fantasmas que, podem se calcificar. Alguns autores consideram 4 subtipos de TOCC: simples cístico, associado à odontoma, com proliferação

ameloblastomatosa e associado a outros tumores odontogênico. Usualmente, os TOCCs são lesões unicísticas que afetam predominantemente pacientes entre a segunda e terceira décadas de vida, envolvendo principalmente a maxila. A maioria dos estudos mostra distribuição similar em homens e mulheres (Hirshberg *et al.*, 1994; Praetorius & Ledesma-Montes, 2005; Ledesma-Montes *et al.*, 2008; Basile *et al.*, 2010). Radiograficamente é uma lesão radiolúcida unilocular, ou menos comumente, mostra aparência multilocular. Expansão das corticais, reabsorção radicular e deslocamento dentário podem ser observados. Podem apresentar áreas de calcificação, as margens usualmente são bem definidas, embora alguns casos possam mostrar bordas irregulares e pouco nítidas. Quando é associado à odontoma, as calcificações tornam-se mais evidentes (Buchner, 1991; Regezi, 2002; Shear & Speight, 2007).

Microscopicamente o TOCC mostra uma cavidade cística revestida por epitélio estratificado, com a camada basal bem definida disposta em paliçada, e composta por células colunares a cuboidais, hipercromáticas, semelhantes ao epitélio interno do órgão do esmalte. As camadas mais internas do epitélio cístico apresentam-se mais desorganizadas, com mais espaços intercelulares, células esparsas, de forma triangular, com aspecto semelhante ao retículo estrelado do órgão do esmalte. A principal característica do TOCC é a presença de células fantasmas, com citoplasma eosinófilo pálido, sem núcleo ou vagamente perceptível. As células fantasmas estão localizadas principalmente nas regiões mais espessas do revestimento epitelial, mas também podem ser observadas na parede fibrosa. Além disso, na cápsula do cisto podem ser observadas ilhas de epitélio odontogênico e material dentinóide. A variante sólida do TOCC apresenta maior quantidade de material dentinóide próximo ao epitélio odontogênico, sendo chamada de “tumor dentinogênico de células fantasmas (TDCF)” por alguns autores. A formação de células fantasmas pode ser abundante, estimulando em algumas áreas uma reação de corpo estranho, com presença de células gigantes

multinucleadas (Gorlin *et al.*, 1962; Praetorius *et al.*, 1981; Buchner, 1991; Lucchese *et al.*, 2007; Ledesma-Montes *et al.*, 2008).

O tratamento do TOCC consiste em excisão cirúrgica conservadora por enucleação, podendo eventualmente recidivar, principalmente os casos sólidos (TDCF) embora isto seja incomum (Buchner, 1991; Fregnani *et al.*, 2003).

2.4 Células fantasmas

A semelhança histológica entre PM, CF e TOCC é enfatizada em vários estudos, basicamente pela presença das células fantasmas, sendo considerados por alguns autores como tumores análogos (Bernstein & Buchino, 1983; Badger & Gardner, 1997; Paulus *et al.*, 1997; Tateyama *et al.*, 2001). Interessante de se considerar que eventualmente outros tumores odontogênicos como odontoma e ameloblastoma podem apresentar células fantasmas (Fukushima, 1983; Tanaka *et al.*, 2007; Kaveri & Punnya, 2008).

As células fantasmas são células epiteliais em degeneração, mostrando citoplasma eosinófilo e ausência de núcleo, algumas com limites celulares bem definidos e que frequentemente coalescem para formar grandes massas. A formação das células fantasmas não é bem conhecida, com várias hipóteses sendo consideradas. No PM alguns autores consideram-na como um tipo de morte celular dos queratinócitos chamada de diferenciação terminal, outros consideram a possibilidade de ser um processo apoptótico atípico, associado com diferenciação pilosa (Fayazzi *et al.*, 1997; Nakamura, 1999; Nakamura, 2011). No TOCC tem sido considerada a possibilidade de ser produto da necrose coagulativa do epitélio odontogênico, resultado do acúmulo de proteínas do esmalte no citoplasma ou um processo anormal de queratinização, com tendência à calcificação, já que a alteração citoplasmática facilita a deposição de sais de cálcio. Em microscopia eletrônica de transmissão as células fantasmas estão unidas por desmossomas, o citoplasma é rico em tonofilamentos de 60-400nm de diâmetro, dispostos irregularmente, além de conter estruturas vesiculares entre os tonofilamentos e

cristais em forma de agulha, considerados como locais de início de calcificação. Nesses sítios, é possível observar grânulos basofílicos que coalescem para formar focos de calcificação distrófica (Hong *et al.*, 1991; Satomura *et al.*, 1999; Takata *et al.*, 2000; Shear & Speight, 2007).

2.5 Marcadores imunoistoquímicos

2.5.1 Citoqueratinas

As citoqueratinas (CKs) são filamentos intermediários componentes do citoesqueleto das células epiteliais. Dos seis tipos de filamentos intermediários, as CKs correspondem aos tipos I e II, com 20 subtipos de peso molecular variando entre 40-70 kDa. As CKs são classificadas quanto ao peso molecular, e se são ácidas ou básicas considerando-se o ponto isoelétrico. As CKs ácidas (9 a 20) são do tipo I e as básicas (1 a 8) formam o tipo II (Moll *et al.*, 1982; Pallari & Eriksson, 2006).

A CK AE1/AE3 é expressa em todos os tecidos de origem epitelial, sendo uma mistura do clone AE1 que reconhece os tipos 10, 15, 16, 19, e o clone AE3 que reconhece os tipos 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 8. A CK 34βE12 reconhece os tipos de alto peso molecular 1, 5, 10 e 14. De um modo geral, nos epitélios estratificados as CKs 1 e 10 são mais expressas na camada suprabasal, enquanto que as CKs 5 e 14 na camada basal. O epitélio simples expressa CKs 7, 8, 18, 19, 20, enquanto que as CKs 4, 5, 6, 13, 14, 15, 16 e 17 são expressas principalmente no epitélio estratificado não queratinizado. A CK 19 é expressa na camada basal do epitélio estratificado não queratinizado, e também nos epitélios simples dos anexos da pele e odontogênico. CKs 8 e 18 também são expressas no epitélio glandular (Lombardi *et al.*, 1995; Chu & Weiss, 2002).

Em relação ao PM, é relatada na literatura positividade de várias citoqueratinas. No trabalho de Broekaert *et al.* (1990), foi descrita a expressão de CKs em diferentes cistos e tumores cutâneos, incluindo o PM o qual mostrou

positividade para CKs 1, 8, 10, 14 e 19. O padrão de expressão de CKs 1 e 10 foi restrito as células escamosas e transicionais localizadas ao redor das células fantasmas. Além disso, as células transicionais foram focalmente positivas para CKs 8, 14 e 16. As células basalóides mostraram expressão de CKs 14 e 19. Ocasionalmente CKs 7 e 16 foram observadas em pequenos grupos ou em células basalóides isoladas. Fayazzi *et al.* (1997) descreveram a expressão de CKs 13 e 19 em 15 casos de PM, ambas citoqueratinas fortemente expressas nas células escamosas, enquanto que CK19 apresentou menor expressão apenas nas células basalóides. As células transicionais, localizadas entre as células basalóides e as células fantasmas, foram negativas para estes marcadores. Plumb *et al.*, (2004) relataram a expressão de CK5/6 em neoplasias de anexos cutâneos, e incluíram 10 casos de PM, dos quais 80% foi positivo, sem especificação do local da positividade. A Tabela 1 ilustra a expressão de citoqueratinas através da imunistoquímica em casos de PM relatados na literatura, de acordo com Broekaert *et al.*, 1990, Fayyazi *et al.*, 1997 e Plumb *et al.*, 2004.

Tabela 1 - Expressão imunistoquímica de CKs em PM de acordo com 3 artigos da literatura (Broekaert *et al.*, 1990; Fayyazi *et al.*, 1997; Plumb *et al.*, 2004).

		Anticorpo (CK)									
		1	5	5/6	7	8	10	13	14	16	19
Área de marcação	CB	NA	NA	NA	+	NA	NA	Neg	+	NA	+
	CT	+	NA	NA	NA	+	+	Neg	+	+	Neg
	CF	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Neg	NA	NA	Neg
	CE	+	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA	NA	+
	NE	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

CB - células basalóides, **CT** - células transicionais, **CF** - células fantasmas, **CE** - células escamosas, **NE** - sem especificação do local da positividade, **NA** - não avaliado.

Estudos imunistoquímicos no CF mostram reatividade variável para diversas CKs. El Sissy & Rashad (1999) descreveram a expressão de CK13 em 4 casos de CF, nos quais positividade intensa foi identificada nas células transicionais ao redor dos agregados de células fantasmas. As células da camada

basal e da região semelhante ao reticulo estrelado mostraram positividade fraca para CK13, assim como as células fantasmas. Kurosaki *et al.* (2001) analisaram 34 casos de CF adamantinoso, em 31 deles foi observada expressão de CKs KL1, 34 β E12 e 19 na camada basal, região do reticulo estrelado e camada superficial, enquanto que CK7 foi negativa na camada basal. No trabalho de Tateyama *et al.* (2001) 14 casos de CF adamantinoso foram avaliados utilizando CKs AE1/AE3, 7, 8 e 14, todos os casos mostraram positividade difusa de CKs AE1/AE3, 8 e 14. CK7 foi positiva na região semelhante ao reticulo estrelado e nas células escamosas. Xin *et al.* (2002) avaliaram dez casos de CF, e observaram positividade utilizando CKs 34 β E12, 5/6, 7, 8, 17, 18 e 19. Le *et al.* (2007) relataram expressão difusa de CK8 em 25 casos de CF estudados, sem especificação do local da positividade. Kato *et al.* (2004) descreveram ausência de expressão de CKs AE1/AE3, 7 e 8 nas estruturas em padrão de redemoinho, positividade nas células fantasmas e na camada basal apenas do clone AE3, e na região semelhante ao reticulo estrelado para CKs AE1/AE3, 7 e 8. Pelo contrário, Buslei *et al.* (2007), relataram positividade de CKs 8 e 18, e ausência de expressão de CK5/6 nos agregados em padrão de redemoinho, além de expressão difusa de CK5/6 na região semelhante ao reticulo estrelado e na camada epitelial superficial. Tena-Suck *et al.* (2006) descreveram positividade para CKs 8/18/19 nas células escamosas e CK5 na região semelhante ao reticulo estrelado. A expressão de citoqueratinas em CF relatada na literatura é representada na tabela 2.

Tabela 2 - Expressão imunoistoquímica das citoqueratinas relatada na literatura em casos de craniofaringioma (El-Sissy & Rashad, 1999; Kurosaki *et al.*, 2001; Tateyama *et al.*, 2001; Xin *et al.*, 2002; Kato *et al.*, 2004; Tena-Suck *et al.*, 2006; Le *et al.*, 2007; Buslei *et al.*, 2007).

		Anticorpo (CK)													
		AE3	AE1/ AE3	KL1 ^a	34βE12	5	5/6	7	8	13	14	17	18	8/18/19	19
Área de marcação	CB	+	NA	+	+	NA	NA	Neg	Neg	+	NA	NA	NA	NA	+
	SRE	NA	+	+	+	+	+	+	+	+	NA	NA	NA	NA	+
	CS	NA	NA	+	+	NA	+	+	NA	NA	NA	NA	NA	Neg	+
	CE	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA	+	NA	NA	NA	+	NA
	ER	NA	Neg	NA	NA	NA	Neg	Neg	+ / Neg	NA	NA	NA	+	Neg	NA
	CT	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA	NA	NA	NA	NA
	CF	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+	NA	NA	NA	Neg	NA
	NE	NA	+	NA	+	NA	+	+	+	NA	+	+	+	NA	+

CB - camada basal em paliçada, **SRE** - células semelhantes ao retículo estrelado, **CS** - camada superficial, **CE** - células com diferenciação escamosa, **ER** - estruturas em padrão de redemoinho, **CT** - Células transitórias, **CF** - células fantasmas, **NE** - sem especificação do local da positividade, **NA** - não avaliado.

^a O clone KL1 reconhece as CKs 1, 2, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 16, 17, 18, 19 (Immunotech, Hamburg, Germany).

Os TOCCs são positivos para CKs AE1/AE3, 34βE12, 8, 10, 13, 14 e 19 (Yoshida *et al.*, 2001; Fregnani *et al.*, 2003; Crivelini *et al.*, 2009). As células epiteliais escamosas adjacentes às células fantasmas são consideradas transitórias em processo de transformação para células fantasmas, mostrando positividade para CKs 34βE12, 10 e 13, principalmente na periferia do citoplasma, adjacente à membrana plasmática. A expressão desses marcadores é variável quanto à positividade e intensidade nas diferentes camadas epiteliais, dificultando a comparação direta do padrão de marcação de CKs nos diferentes tipos celulares destas lesões.

Johnson *et al.* (1997) avaliaram 10 casos de TOCC utilizando o anticorpo AE1/AE3 e identificaram positividade forte na camada basal e na região suprabasal semelhante ao retículo estrelado, enquanto que expressão fraca ou ausência de expressão foi observada nas células fantasmas. Crivelini *et al.* (2009) e Lukinmaa *et al.* (1997) encontraram expressão de 34βE12 nas células transitórias. De forma interessante, e ao contrário dos autores já citados, Piatelli *et al.* (1998) relataram um caso de tumor dentinogênico de células fantasmas, que

revelou forte positividade de AE1/AE3 nas células fantasmas, achado encontrado posteriormente por Kim *et al.*, (2007). Fregnani *et al.* (2003) também descreveram positividade para AE1/AE3 e 34βE12 nas células fantasmas. El Sissy & Rashed (1999), descrevem a expressão de CK13 nas células transicionais e ocasionalmente na camada basal do TOCC, as células fantasmas mostraram positividade fraca. Yoshida *et al.* (2001), descreveram positividade difusa para CK19 no componente epitelial de 16 casos de TOCC, as células fantasmas foram positivas para este marcador em apenas 5 casos. Fregnani *et al.* (2003) descreveram positividade para CKs 8, 14, 19, AE1/AE3 e 34βE12 na região suprabasal em todos os casos, enquanto que a camada basal teve expressão apenas para CK14 e AE1/AE3. Crivelini *et al.* (2009) descreveram expressão de CK10/13 nas células escamosas e CK14 na camada basal e suprabasal. Um resumo da expressão de CKs em TOCC por tipo celular relatada na literatura é apresentado na tabela 3.

Tabela 3 - Expressão imunoistoquímica das citoqueratinas de acordo com a literatura em tumor odontogênico cístico calcificante (Johnson *et al.*, 1997; Lukinmaa *et al.*, 1997; Piatelli *et al.*, 1998; El-Sissy & Rashad, 1999; Yoshida *et al.*, 2001; Fregnani *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2007; Crivelini *et al.*, 2009).

		Anticorpo (CK)							
		AE1/AE3	34βE12	7	8	10/13	13	14	19
Área de marcação	CBP	+	NA	Neg	NA	Neg	+	+	+/-Neg
	SRE	+	+	Neg	+	Neg	NA	+	+/-Neg
	CT	+	+	NA	NA	+	+	NA	NA
	CE	+	NA	Neg	NA	+	NA	Neg	Neg
	CF	+/-Neg	+	Neg	NA	Neg	+	Neg	Neg

CBP - camada basal em paliçada, **SRE** - células semelhantes ao retículo estrelado, **CT** - células transicionais, **CE** - células com diferenciação escamosa, **CF** - células fantasmas, **NA** – não avaliado.

2.5.2 Sindecán-1 (CD 138)

Sindecán-1 (CD138) é uma proteína expressa na superfície celular com intensidade leve na camada basal do epitélio, de forma mais intensa nas camadas suprabasais, estando ausente na camada superficial cornificada (Sanderson *et al.*, 1992). Sindecán-1 participa do complexo de proteínas de adesão celular citoesqueleto-membrana, que mantém a organização das células epiteliais (Bernfield *et al.*, 1992; Mennerich *et al.*, 2004). No PM foi descrita expressão de CD138 nas células basalóides, além de perda gradual da expressão nas células transicionais e fantasmas (Nakamura, 2011). Não existem relatos na literatura da expressão de CD138 em CF e TOCC.

2.5.3 β -Catenina

β -Catenina é uma molécula de adesão, associada com a proliferação e diferenciação celular, com papel essencial na transdução de sinais pela via Wnt, que estabiliza a proteína β -Catenina, promovendo seu acúmulo no citoplasma e no núcleo, onde está associada com Lef-1/TCF para formar e modular fatores de transcrição funcionais como C-myc e ciclina D1. A presença de β -Catenina no núcleo estimula a proliferação celular (Behrens, 1999; Lo Muzio, 2001). Na epiderme normal, a β -catenina está expressa na membrana, tendo expressão nuclear nas células da matriz do folículo piloso (Moreno-Bueno *et al.*, 2001).

No PM, β -Catenina está expressa nas células basalóides, com grau variável de expressão no citoplasma e núcleo, e padrão de membrana e citoplasma nas células transicionais. Um resumo da expressão de β -Catenina relatada na literatura pode ser visualizado na Tabela 4

Tabela 4 - Expressão imunoistoquímica de β -Catenina relatada na literatura em casos de pilomatricoma (Moreno-Bueno *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2001; Hassanein *et al.*, 2003; Hassanein & Glanz, 2004; Xia *et al.*, 2006; Demirkan *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2010; Krahl & Sellheyer, 2010; Ishige *et al.*, 2011).

Autor	n	CB	CT	CF	
Moreno-Bueno <i>et al.</i> (2001)	40 (100%)	N,C	+++	C, M	Neg
Park <i>et al.</i> (2001)	26	Neg		M	+++
Hassanein <i>et al.</i> (2003)	10 (100%)	N,C	+++	C, N ^a	Neg
Hassanein & Glanz, (2004)	21	N,C	+++	C, M	Neg
Xia <i>et al.</i> (2006)	32 (81%)	N ^b		ND	Nd
Demirkan <i>et al.</i> (2007)	12 (80%)	N, C	+++	ND	Neg
Kim <i>et al.</i> (2010)	15 ^c (100%)	N, M	+++	Neg	Neg
Krahl & Sellheyer, (2010)	10 (100%)	N, C	+++	ND	Nd
Ishige <i>et al.</i> (2011)	16	N, C		N, C, M	+++ ^d

CB - células basalóides, **CT** - células transicionais, **CF** - células fantasmas, **N** – padrão nuclear, **C** – padrão citoplasmático, **M** – padrão de membrana, **nd** – não descrita.

^a Expressão focal no núcleo das células transicionais.

^b De um total de 32 casos, 81% (26) mostraram positividade nuclear, dos quais 6 casos tiveram expressão fraca(+), 13 expressão moderada (++) e 7 expressão forte (+++).

^c De um total de 27 casos, somente em 15 foram encontradas células basalóides.

^d A expressão relatada foi na região inferior das células transicionais.

No CF, a proteína β -Catenina mostra um padrão de acúmulo núcleo-citoplasmático, na maioria dos tumores do tipo adamantinomatoso, principalmente nos agregados em forma de esférula e nas células adjacentes às células fantasmas. Entretanto, nos CF do tipo papilar, a expressão de β -Catenina pode ser ocasionalmente encontrada, apenas em padrão de membrana (Sekine *et al.*, 2004; Buslei *et al.*, 2005). A alta expressão de β -Catenina nos agregados em forma de esférula tem sido associada com a imunopositividade para CKs 8 e 18, proeminente expressão do inibidor kinase dependente de ciclina p21, e baixo índice de proliferação celular (Kato *et al.*, 2004; Hofmann *et al.*, 2006; Buslei *et al.*, 2007; Edgar *et al.*, 2008; Andoniadou *et al.*, 2012).

No TOCC, tem sido descrita positividade nuclear, citoplasmática e de membrana de β -Catenina. As células epiteliais mais superficiais do revestimento tem mostrado expressão citoplasmática com intensidade de fraca a moderada, enquanto que a camada basal em paliçada tem mostrado forte expressão

citoplasmática e de membrana. As células localizadas adjacentes às células fantasmas mostram expressão nuclear (Sekine *et al.*, 2003; Ahn *et al.*, 2008).

Pouco se sabe dos mecanismos envolvidos na tumorigênese do PM, CF e TOCC, entretanto tem sido enfatizadas alterações no gene *CTNNB1*, que codifica a proteína β -Catenina. No PM, em 75% dos casos foram detectadas mutações deste gene, indicando possível participação da via Wnt/ β -Catenina/Lef-1 na tumorigênese deste tumor (Chan *et al.*, 1999; Xia *et al.*, 2006). Da mesma forma, mutações no gene *CTNNB1* têm sido identificadas no CF adamantinoso, com possível envolvimento da via Wnt/ β -Catenina (Hölsken *et al.*, 2010; Andoniadou *et al.*, 2012). Considera-se que a expressão e acúmulo nuclear de β -Catenina nestes tumores, estimula a proliferação celular e/ou inibição da morte celular. Portanto, β -Catenina participa na oncogênese destes tumores, pela ativação da via Wnt/ β -Catenina/Lef-1 (Hassanein *et al.*, 2003; Ahn *et al.*, 2008).

2.5.4 Glut-1

Glut-1, transportador de glucose 1, é um membro da família das proteínas transportadoras de membrana Glut, com funções bem estabelecidas de transporte de glicose, com propriedades reguladoras na homeostase da glicose no organismo (Montel-Hagen *et al.*, 2009). Está expresso na membrana das hemácias, no endotélio capilar do cérebro, no perineuro de nervos periféricos, e na membrana das células cujo metabolismo é baseado em glicose. Expressão aberrante tem sido descrita em carcinomas de cabeça e pescoço, mama, pulmão e de células renais (Alò *et al.*, 2001). Não existem relatos da expressão de Glut-1 em PM, CF e TOCC.

2.5.5 D2-40

D2-40 é utilizado classicamente como marcador de endotélio linfático, tendo sido descrita positividade intensa no componente epitelial do CF adamantinoso, no epitélio tipo ameloblástico e nas células adjacentes às

células fantasmas do TOCC e negatividade no PM (Nakamura *et al.*, 2006; Kikuchi *et al.*, 2012).

2.5.6 FAS (enzima ácido graxo sintase)

A enzima ácido graxo sintase (FAS) é codificada pelo gene *FASN*. Tem a função de catalisar a síntese de ácidos graxos de cadeia longa. FAS tem sido descrito com positividade fraca restrita as porções inferiores da camada espinhosa do epitélio oral, enquanto que maior expressão foi observada em casos de hiperqueratose, displasia epitelial e carcinoma escamoso bem diferenciado (Silva *et al.*, 2008). Não existem relatos da expressão de FAS em PM, CF e TOCC.

2.5.7 CD10

CD10 é também chamado de antígeno comum da leucemia linfoblástica aguda (CALLA), é uma enzima da superfície celular que inativa peptídeos sinalizadores. É bem conhecida a expressão de CD10 em neoplasias linfoides, principalmente originadas do centro germinativo, estando também expressa em diversos tecidos normais como células mioepiteliais de glândulas écrinas e apócrinas, e células estromais mesenquimais. Tem sido descrita forte expressão nos folículos dérmicos do tipo velus, com negatividade nos folículos terminais (Sanders & Carr, 2007). CD10 é útil para o diagnóstico diferencial entre carcinoma basocelular e tricoepitelioma, sendo positivo apenas no primeiro (Pham *et al.*, 2006). No PM foi detectada positividade forte e difusa para este marcador nas células basalóides (Yada *et al.*, 2004). Não existem relatos da expressão de CD10 em CF e TOCC.

2.5.8 Outros marcadores

No PM, expressão de bcl-2 tem sido descrita principalmente nas células basalóides indicando falha na supressão da apoptose e contribuindo na patogênese do tumor. Nas células basalóides também foi observada expressão de ciclinas D1, D2 e D3 (Farrier & Morgan, 1997; Xu *et al.*, 2003).

No CF adamantinoso tem sido descrita reatividade variável de proteínas do esmalte como amelogenina, enamelinina e enamelinina. CEA (antígeno carcinoembrionário) é uma glicoproteína envolvida na adesão celular produzida de forma normal durante o desenvolvimento fetal, em adultos apresenta expressão limitada incluindo colon, estômago, esôfago, língua e cervix, é principalmente encontrado em células malignas principalmente adenocarcinomas (Hammarström, 1999). EMA (antígeno epitelial de membrana) é uma glicoproteína identificada na membrana da maioria dos epitélios não neoplásicos (Pinkus & Kurtin, 1985). Tena-Suck *et al.* (2006), descreveram positividade para CEA em 21% dos casos, nas células com diferenciação escamosa e na região semelhante ao retículo estrelado, EMA em 51% dos casos com expressão nas células epiteliais e laminina 8 com positividade variável no componente epitelial. Lef-1 (Lymphoid enhancer factor 1) é uma proteína que participa no desenvolvimento dentário, com expressão nos agregados celulares em padrão de redemoinho do CF adamantinoso (Badger & Gardner, 1997; Sekine *et al.*, 2004; Fernández-Miranda *et al.*, 2012).

No TOCC as células fantasmas mostraram expressão de proteínas da matriz de esmalte como amelogenina, enamelinina e enamelinina (Takata *et al.*, 2000; Yoshida *et al.*, 2001). Expressão de laminina foi descrita na união epitélio-mesênquima, sendo que laminina 1 está expressa nas células basais, suprabasais e fantasmas, enquanto que laminina 5 tem forte expressão nas células fantasmas (Poomsawat *et al.*, 2007).

Casos de odontoma com grande quantidade de células fantasmas têm sido avaliados com anticorpos contra proteínas do pelo como PA-HP1, PA-HP2 e MA-HP1, além de β -Catenina e LEF-1. Positividade nas células fantasmas foi observada com os anticorpos contra proteínas do pelo, enquanto que β -Catenina e LEF-1 foram identificados de forma moderada no citoplasma e núcleo do epitélio odontogênico adjacente às células fantasmas, e apenas de forma fraca nas células fantasmas (Tanaka *et al.*, 2007).

Existem poucos trabalhos comparando os três tumores em relação as suas características imunohistoquímicas. Kusama *et al.* (2005) demonstraram a expressão de diferentes proteínas do folículo piloso no PM, CF e TOCC e de acordo com estes autores as células fantasmas apresentam diferenciação pilosa. Em outro trabalho, Kikuchi *et al.* (2012) descrevem a positividade para queratinas do cabelo (hard α -keratin) nas células fantasmas do TOCC, CF e PM, e nas células transicionais do PM.

3 PROPOSIÇÃO:

3.1 Objetivo geral

Os objetivos deste trabalho foram descrever e analisar comparativamente as características histológicas e imunoistoquímicas do pilomatrixoma, craniofaringioma e tumor odontogênico cístico calcificante.

3.2 Objetivos específicos

1. Determinar as características histológicas de casos de PM, CF e TOCC.
2. Avaliar a expressão imunoistoquímica em casos de PM, CF e TOCC através dos marcadores AE1/AE3, CKs 8, 14 e 19, CD138, β -Catenina, Glut-1, D2-40, FAS e CD10.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra

Neste trabalho foram usados 43 casos, sendo 21 de pilomatricoma (PM), 14 de craniofaringioma (CF) e 8 de tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC) oriundos dos seguintes serviços: Serviço de Estomatologia e Patologia Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas (FOP/UNICAMP, Piracicaba/SP, Brasil) (4 casos de PM e 6 casos de TOCC) e do Centro Clínico de Cabeça e Pescoço, Cidade da Guatemala, Guatemala (17 casos de PM, 14 casos de CF e 2 casos de TOCC) no período de 1988 até 2012. Dados demográficos como idade, gênero, localização e características clínicas foram obtidas a partir dos registros dos casos em cada laboratório.

4.2 Análise Histopatológica

Os blocos de parafina de cada caso foram submetidos a 2 cortes de 5 µm de espessura para análise histopatológica, sendo as lâminas coradas rotineiramente com hematoxilina e eosina (HE). As lâminas foram revisadas para confirmação do diagnóstico de PM, CF e TOCC segundo critérios sugeridos pela OMS (Hurt *et al.*, 2006; Praetorius & Ledesma-Montes, 2005; Rushing *et al.*, 2007). Todas as lesões foram avaliadas quanto ao padrão arquitetural, características epiteliais e estromais. Com relação à arquitetura consideraram-se o padrão cístico, padrão sólido e misto. Os critérios epiteliais incluíram: epitélio basal colunar em paliçada, epitélio semelhante ao retículo estrelado, agregados celulares em redemoinho, queratina lamelar, células basalóides, células transicionais, células fantasmas, e células escamosas. Os casos de PM foram divididos em estágios segundo a classificação de Kaddu *et al.*, (1996). No estroma considerou-se presença de inflamação, calcificação, metaplasia óssea, reação granulomatosa com células gigantes, pigmentação, histiócitos espumosos, dentinóide, necrose e cristais de colesterol.

A análise histológica foi realizada em microscopia de luz por meio 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.

4.3 Análise Imunoistoquímica

Para a realização das reações imunoistoquímicas, os blocos de parafina de cada caso foram cortados na espessura de 3 μm e os cortes colocados sobre lâminas previamente tratadas com 3-aminopropil-trietoxi-silano (Sigma Chemical Company, EUA). Os cortes foram desparafinizados através de duas trocas de xilol por 10 minutos cada, em temperatura ambiente, seguidas de hidratação em soluções com concentrações decrescentes de etanol (100%, 90%, 70% e 50%), e posterior lavagem em água corrente e destilada.

A recuperação antigênica foi feita através da imersão das lâminas em solução de tampão citrato a 10 mM (pH 6,0) em panela de pressão (Eterna, Nigro Alumínio LTDA), durante um ciclo de 3 minutos sob pressão. Após 20 minutos de resfriamento do líquido em temperatura ambiente, os cortes foram lavados em água corrente e destilada, e a atividade da peroxidase endógena foi bloqueada com H_2O_2 (20 volumes) por 25 minutos através de cinco incubações de cinco minutos cada, após as quais os cortes foram lavados em água corrente e colocados em solução salina tamponada com fosfato pH 7,4 (PBS: *phosphate-buffered saline*). Os anticorpos primários foram diluídos em albumina sérica bovina (BSA) a 1% e azida sódica (NaN_3) a 0,1% em PBS, e os cortes incubados com os anticorpos primários em câmara úmida, por 16 horas a 4°C. A análise imunoistoquímica de todos os casos incluiu a utilização de anticorpos primários anti-citoqueratinas AE1/AE3, 8, 14, 19, além dos anticorpos anti-CD138, β -Catenina, D2-40, Glut-1, FAS e CD10, os quais foram selecionados de acordo aos utilizados previamente na literatura e outros incluídos neste trabalho pela primeira vez (Tabela 5).

Tabela 5 - Anticorpos primários e respectivos clones, diluições e fabricantes, utilizados na avaliação dos casos de PM, CF, TOCC.

Anticorpo primário	Clone	Diluição	Fabricante
Pan-citoqueratina	AE1/AE3	1:500	Dako ^a
CK8	TS1	1:500	Novocastra ^b
CK14	LL002	1:200	Novocastra ^b
CK19	RCK108	1:200	Dako ^a
CD138	MI15	1:100	Dako ^a
β-Catenina	17C2	1:200	Novocastra ^b
D2-40	D2-40	1:100	Dako ^a
Glut-1	Policlonal	1:100	Bio Systems ^c
FAS	23-Fatty Acid Synthase	1:200	BD Transduction ^d
CD10	270	1:100	Novocastra ^b

^a Dako, A/S, Glostrup, Dinamarca.

^b Novocastra, Reino Unido.

^c Bio Systems.

^d BD Transduction Laboratories.

A seguir, os cortes foram lavados com três trocas de PBS e o anticorpo secundário conjugado à biotina foi então adicionado (LSAB, Dako, EUA), durante trinta minutos a 37°C. Posteriormente os cortes foram novamente lavados em PBS (3 trocas) e expostos ao complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (LSAB, Dako, EUA) por mais 30 minutos a 37°C. Em seguida, após três lavagens com PBS, as reações foram evidenciadas com solução de tetracloreto de 3,3' diaminobenzidina (DAB) a 0,06% (Sigma, EUA) em PBS contendo H₂O₂, e dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma, EUA) por cinco minutos a 37°C. Os cortes foram lavados em água corrente e contra corados com hematoxilina de Carazzi por 3 minutos. Seguindo-se nova lavagem com água corrente para eliminar os excessos do corante, os cortes foram desidratados em três trocas de álcool absoluto, diafanizados em xilol e finalmente montados com Bálsamo do Canadá. Todas as reações foram acompanhadas de controle positivo, em tecidos sabidamente positivos para o anticorpo testado, conforme o fabricante, e por controles negativos, pela omissão do anticorpo primário.

A marcação das CKs AE1/AE3, 8, 14 e 19, CD138, β-Catenina, D2-40, Glut-1, FAS e CD10 foi classificada em positiva (maior que 5%), ou negativa (menor que 5%). Com relação à intensidade da marcação a avaliação foi subjetiva e os

critérios estabelecidos foram: fraca (+), moderada (++) e forte (+++). Além disso, para β -Catenina foi levado em consideração o padrão de marcação de membrana, citoplasmático ou nuclear.

Os marcadores imunoistoquímicos foram avaliados independentemente para cada tipo celular, especificados na Tabela 6.

Tabela 6 - Tipos celulares incluídos na avaliação imunoistoquímica de PM, CF e TOCC.

PM	CF e TOCC
Células basalóides	Camada basal de células colunares em paliçada
Células transicionais	Camada suprabasal semelhante ao retículo estrelado
Células fantasmas	Células transicionais
Células escamosas	Células fantasmas
	Células escamosas
	Agregados celulares em redemoinho

O presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP sob o número de protocolo 143/2011 tendo sido aprovado. O certificado da resolução está anexado ao final desta dissertação (Anexo).

5 RESULTADOS

5.1 Características demográficas e clínicas

A Tabela 7 mostra o resumo dos dados demográficos e clínicos de todos os casos de PM, CF e TOCC. Dos 21 casos de pilomatricoma, treze (62%) acometeram pacientes do gênero masculino e oito do gênero feminino (38%). A idade variou de 3 a 75 anos com média de 17 anos. A lesão era nodular em 16 casos (76%), acometendo preferencialmente a pele da região maxilofacial em 13 casos, dentro deste grupo, as regiões mais afetadas foram pré-auricular e ângulo mandibular, com 3 casos cada. Outras localizações foram pele das extremidades superiores, 3 casos, pescoço e tronco com dois casos cada. Não foi fornecida a localização em um caso. A média do diâmetro foi de 1.4 cm, variando de 0.5 a 3.5 cm (Apêndice 1).

Dos 14 casos com diagnóstico de craniofaringioma, sete (50%) acometeram pacientes do gênero feminino e sete do gênero masculino. A idade variou de 2 a 63 anos com média de 23 anos, sendo que 9 casos (64%) acometeram pacientes na primeira e segunda décadas de vida. Todos os casos ocorreram na região supraselar, com diâmetro de 2 a 8 cm, média de 3.5 cm (Apêndice 2). Os principais sintomas clínicos foram cefaléia e alterações da acuidade visual.

Os 8 casos de TOCC afetaram igualmente homens e mulheres, com média de idade de 47 anos, variando de 11 a 69 anos. Cinco casos (56%) acometeram pacientes entre a quinta e sétima décadas de vida. Seis casos envolveram a mandíbula (75%, Figura 1A), acometendo igualmente as regiões anterior e posterior com 3 casos cada. O aspecto radiográfico radiolúcido foi encontrado em quatro casos (44%), e de lesões mistas em dois casos (25%) (Figuras 1C e 1D). Apenas um caso foi descrito com aspecto radiográfico em flocos de algodão (caso 6). Expansão da cortical foi descrita em três casos (38%) (Figura 1B), e um caso cada apresentou deslocamento de dentes, reabsorção dentária ou dor à palpação.

As lesões apresentaram em média 1.5 cm de diâmetro variando de 0.8 a 2.5 cm (Apêndice 3).

Tabela 7 - Distribuição das principais características demográficas, clínicas e radiográficas dos pilomatricomas, craniofaringiomas e tumores odontogênicos císticos calcificantes.

Características	PM (n=21)	CF (n=14)	TOCC (n=8)
Gênero F/M	8/13	7/7	4/4
Média de idade (amplitude)	17 (3-75)	23 (2-63)	47 (11-69)
Localização			
Sela túrcica			
Supraselar	n/a	14 (100%)	n/a
Pele			
Região maxilofacial*	13 (62%)	n/a	n/a
Pescoço	2 (10%)	n/a	n/a
Tronco	2 (10%)	n/a	n/a
Extremidades	3 (14%)	n/a	n/a
Indisponível	1 (5%)	n/a	n/a
Maxila			2 (25%)
Anterior	n/a	n/a	2
Posterior	n/a	n/a	0
Mandíbula			6 (75%)
Anterior	n/a	n/a	3
Posterior	n/a	n/a	3
Aspecto radiográfico			
Radiolúcido	n/a	n/a	4 (44%)
Radiopaco	n/a	n/a	0
Misto	n/a	n/a	2 (25%)
Indisponível	n/a	n/a	2 (25%)
Unilocular	n/a	n/a	2 (25%)
Multilocular	n/a	n/a	0
Indisponível	n/a	n/a	6 (75%)
Presença de dor	1 (5%)	n/a	1 (13%)
Expansão cortical óssea	n/a	n/a	3 (38%)
Reabsorção ou deslocamento de dente	n/a	n/a	2 (25%)
Tamanho (média em cm)	1,4	3,5	1,5

*Como pele da região maxilofacial agruparam-se os casos localizados na região pré-auricular, infra-auricular, palpebral, infra-orbitária, bochecha e lábio.

n/a - não se aplica.

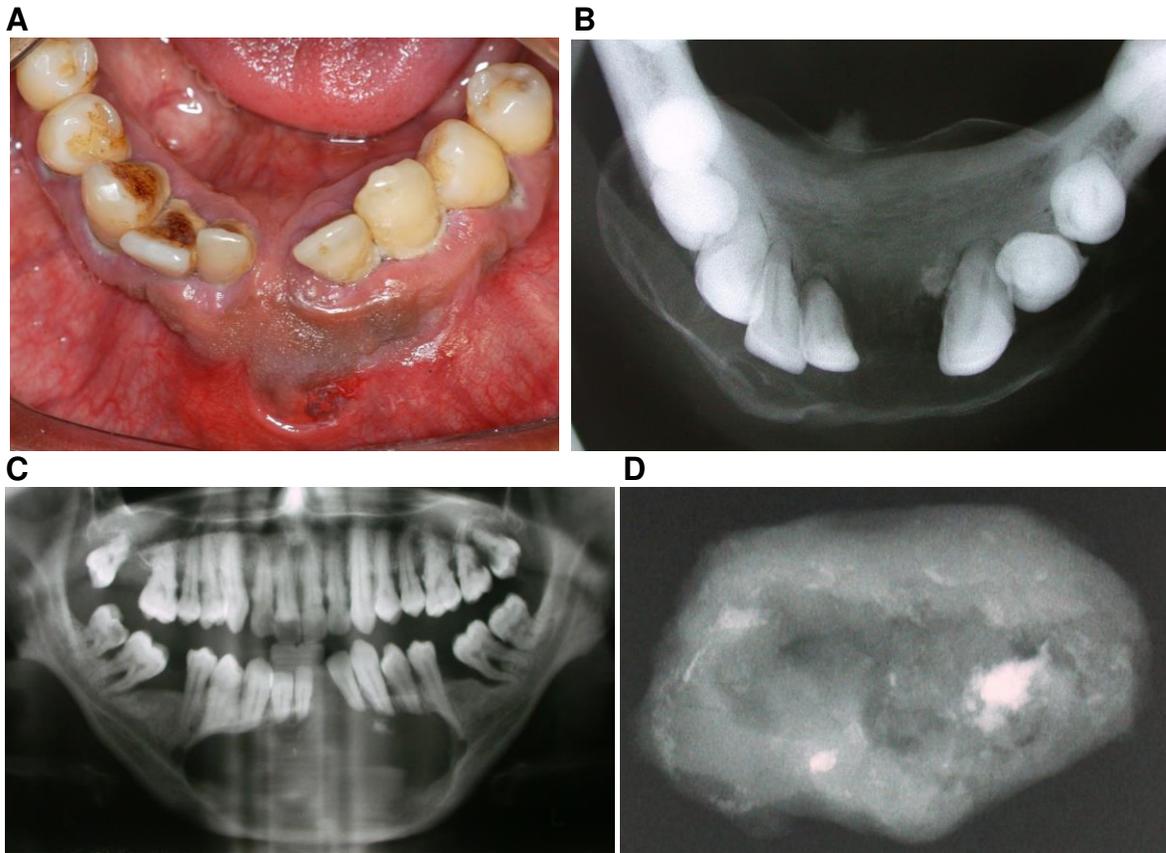


Figura 1 - Características clínicas e radiográficas do tumor odontogênico cístico calcificante (caso 6). **A** - TOCC localizado na região anterior de mandíbula. **B** - Radiografia oclusal de lesão unilocular bem-delimitada, com expansão das corticais vestibular e lingual. **C** - Radiografia panorâmica de lesão mista, provocando reabsorção radicular. **D** - Radiografia da peça cirúrgica mostrando focos radiopacos no seu interior.

5.2 Características histopatológicas do componente epitelial

A Tabela 8 mostra a distribuição do percentual de casos apresentando os critérios histopatológicos avaliados no epitélio nos três grupos de tumores estudados (Apêndices 4, 5 e 6 mostram os resultados de cada grupo).

5.2.1 Pilomatricoma

A avaliação microscópica dos PMs mostrou duas lesões císticas e 19 (90%) sólidas (Figuras 2A e 2B). De acordo com a classificação de Kaddu *et al.*, (1996) 10 casos (48%) pertenciam a lesões em estágio regressivo inicial (Figura 2A), por apresentarem, embora em pequenas quantidades, focos de células escamosas ou basalóides, 9 casos (43%) ao estágio regressivo tardio, apresentando somente massas eosinofílicas de células fantasmas e focos de calcificação e ossificação, não apresentando componente epitelial com vitalidade (Figuras 2B). Um caso cada (5%) foi classificado como estágio inicial e completamente desenvolvido, ambos apresentando padrão cístico.

Os PMs, não apresentam camada basal em paliçada, região semelhante ao retículo estrelado ou formação de estruturas em redemoinho, entretanto 13 casos (62%) mostraram lamelas de queratina (Figura 2F).

As células fantasmas foram o tipo celular mais frequente nos PMs, sendo observadas em todos os 21 casos na forma de agregados ou massas amorfas (Figura 2D). As células transicionais (Figura 2C) e basalóides estavam presentes em 57% dos casos. As células transicionais localizavam-se entre às células basalóides e às células fantasmas, mostrando citoplasma eosinófilo e núcleo pequeno. As células basalóides foram identificadas principalmente na periferia do tumor, consistindo de regiões coesas de células pequenas, intensamente basófilas, núcleo central, grande e redondo. Onze casos (52%) exibiram agregados focais de células escamosas (Figura 2E), contendo grânulos queratohialinos (Figura 2F), achado somente observado no pilomatricoma, estando

ausentes nos casos de CF e TOCC. Com frequência, observou-se em várias áreas transição gradual entre as células basalóides e fantasmas.

5.2.2 Craniofaringioma

Dos CFs, 9 (64%) lesões apresentaram padrão misto (Figura 3C), ou seja, mostraram áreas sólidas e císticas, 4 (29%) apresentaram padrão puramente cístico (Figura 3A), sendo um multicístico, e apenas um (7%) era sólido (Figura 3B).

O epitélio basal colunar em paliçada e a região semelhante ao retículo estrelado (Figura 3D) foram encontrados nos 14 casos de CF. Estruturas em forma de redemoinho foram identificadas em 12 casos (Figura 3E). Não foram identificadas lamelas de queratina.

Todos os casos de CF apresentaram células fantasmas (Figura 3F); células escamosas foram observadas em 13 casos, e 12 mostravam células transicionais (Figura 3F). Células basalóides não foram observadas nos CF.

5.2.3 Tumor odontogênico cístico calcificante

Dos 8 casos de TOCC, 6 foram considerados císticos (Figura 4A), e 2 eram lesões sólidas (Figura 4B).

Os 8 casos de TOCC apresentaram epitélio basal colunar em paliçada. Epitélio semelhante ao retículo estrelado (Figura 4C) foi encontrado em 6 casos (75%), e estruturas em redemoinho no revestimento epitelial (Figura 4D) em 2 casos. Em nenhum caso foi identificada queratina filamentosa ou lamelar.

As células mais prevalentes no TOCC foram as transicionais e as fantasmas, presentes em todos os 8 casos (Figura 4E). Células escamosas foram observadas em 7 casos (Figura 4F), e não foram identificadas células basalóides.

Tabela 8 - Frequência dos critérios histopatológicos analisados no epitélio dos pilomatrixomas, craniofaringiomas e tumores odontogênicos císticos calcificantes.

Critérios Histopatológicos	PM (n=21)	CF (n=14)	TOCC (n=8)
Padrão Arquitetural			
Cístico	2 (10%)	4 (29%)	6 (75%)
Sólido	19 (90%)	1 (7%)	2 (25%)
Misto	0	9 (64%)	0
Estágio			
Inicial	1 (5%)	n/a	n/a
Completamente desenvolvido	1 (5%)	n/a	n/a
Regressivo inicial	10 (48%)	n/a	n/a
Regressivo tardio	9 (43%)	n/a	n/a
Características Epiteliais			
Epitélio basal colunar em paliçada	0	14 (100%)	8 (100%)
Epitélio semelhante ao retículo estrelado	0	14 (100%)	6 (75%)
Agregados celulares em redemoinho	0	12 (86%)	2 (25%)
Queratina lamelar	13 (62%)	0	0
Tipos Celulares			
Células basalóides	12 (57%)	0	0
Células transicionais	12 (57%)	12 (86%)	8 (100%)
Células fantasmas	21 (100%)	14 (100%)	8 (100%)
Células escamosas	11 (52%)	13 (93%)	7 (88%)

n/a - não se aplica.

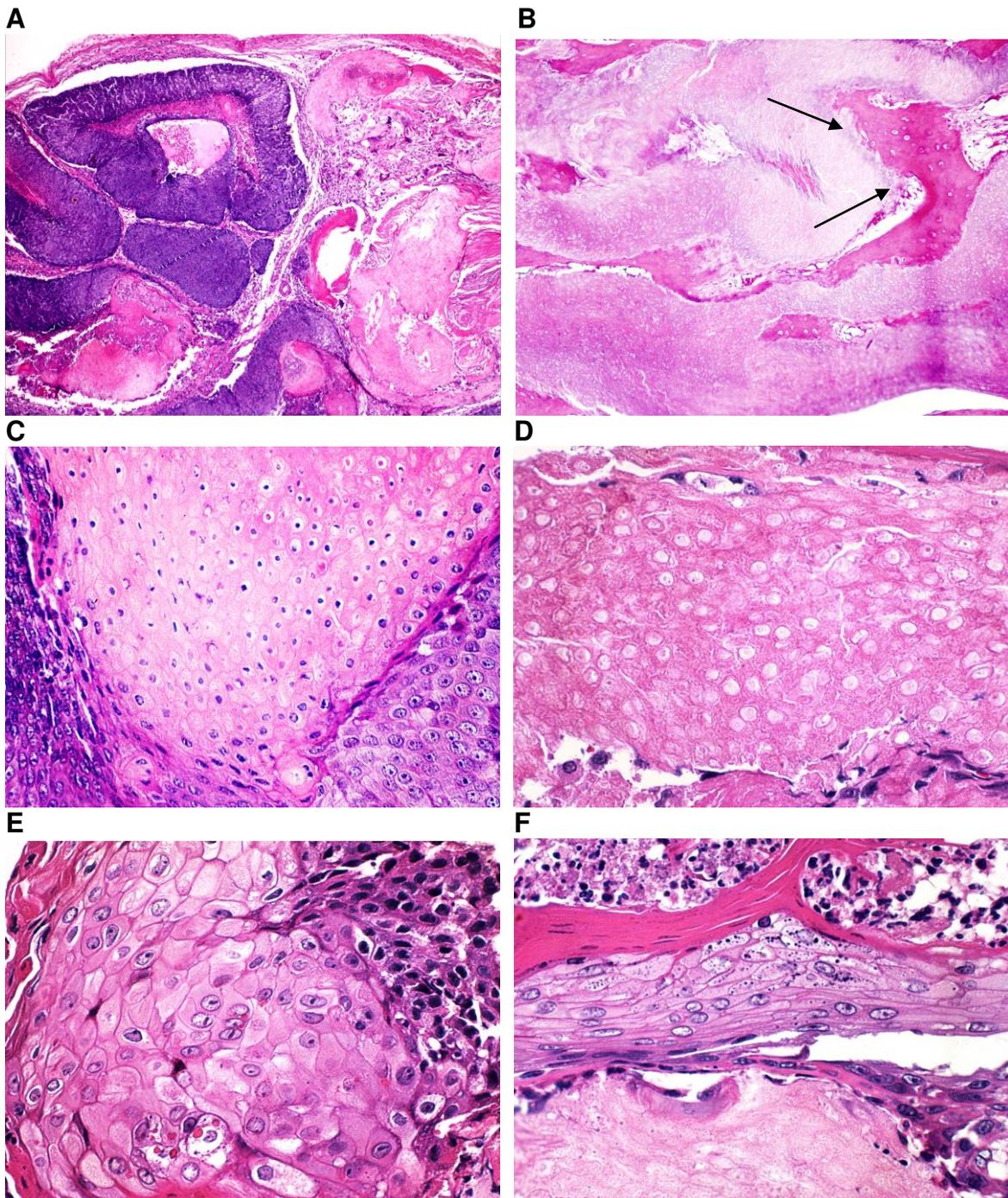


Figura 2 - Aspectos histológicos dos PMs, mostrando o padrão arquitetural e tipos celulares. **A** - Sólido, estágio regressivo inicial. Cordões de células basalóides adjacentes a massas de células fantasmas (50x HE). **B** - Sólido, estágio regressivo tardio com metaplasia óssea. (100x HE). **C** - Células transicionais. Condensação gradual do núcleo, abundante citoplasma eosinófilo (400x HE). **D** - Células fantasmas. Perda completa do núcleo (400x HE). **E** - Células escamosas. Grandes ovóides a alongadas, limites celulares bem definidos e citoplasma eosinófilo abundante (400x HE). **F** - Queratina lamelar, células escamosas mostrando grânulos de querato-hialina e células fantasmas (400x HE).

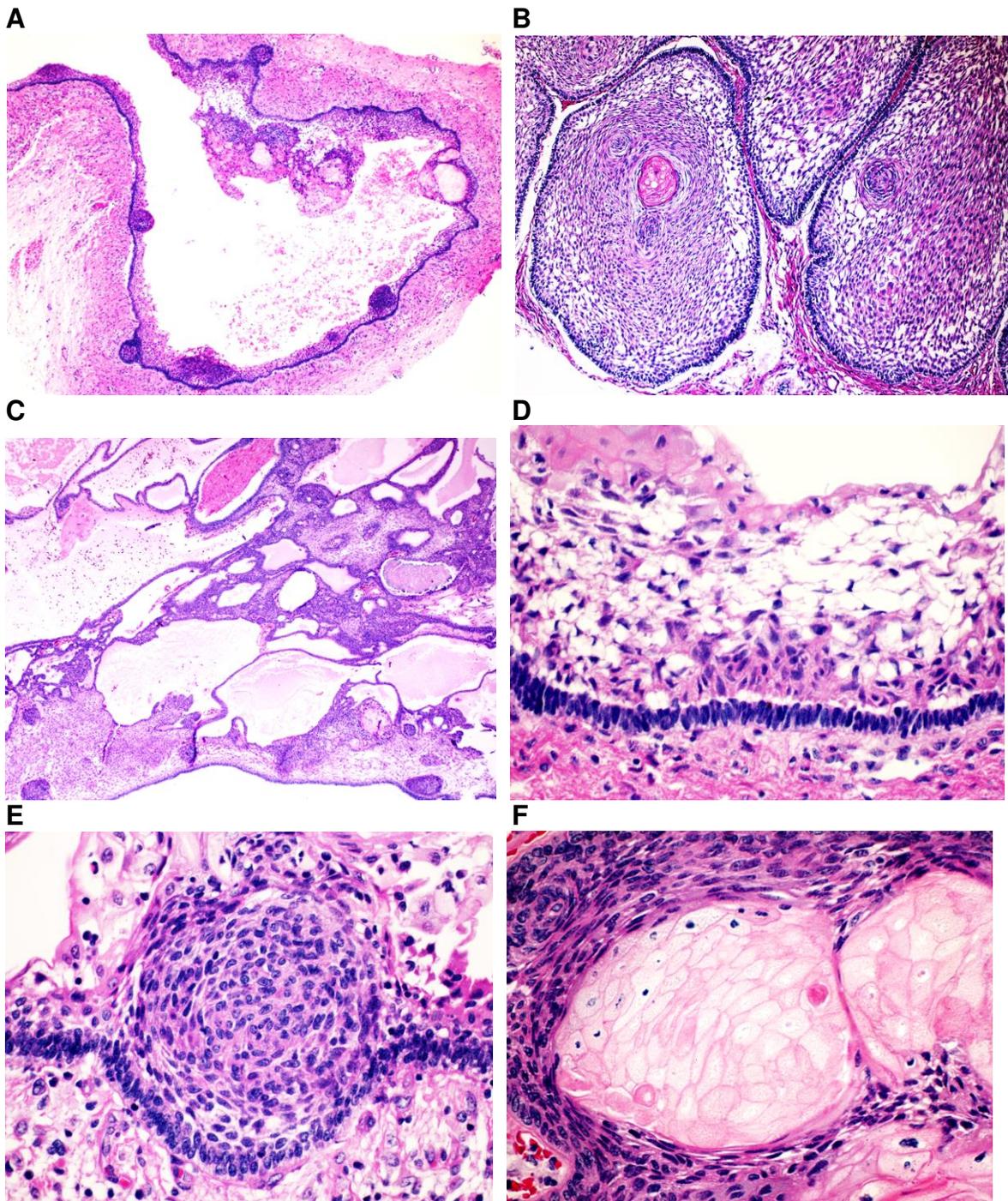


Figura 3 - Aspectos histológicos do CF mostrando o padrão arquitetural e tipos celulares. **A** - CF cístico. Cavidade revestida por epitélio com células fantasmas e espessamentos focais (50x HE). **B** - CF sólido. Ilhas de células epiteliais semelhantes ao retículo estrelado e células fantasmas (100x HE). **C** - CF misto. Cordões de células epiteliais adjacentes a espaços císticos (50x HE). **D** - Epitélio basal colunar em paliçada e região suprabasal semelhante ao retículo estrelado (400x HE). **E** - Agregados celulares em redemoinho no revestimento epitelial (400x HE). **F** - Transição abrupta de células epiteliais a fantasmas. Ainda se identificam algumas células com remanescentes do núcleo (400x HE).

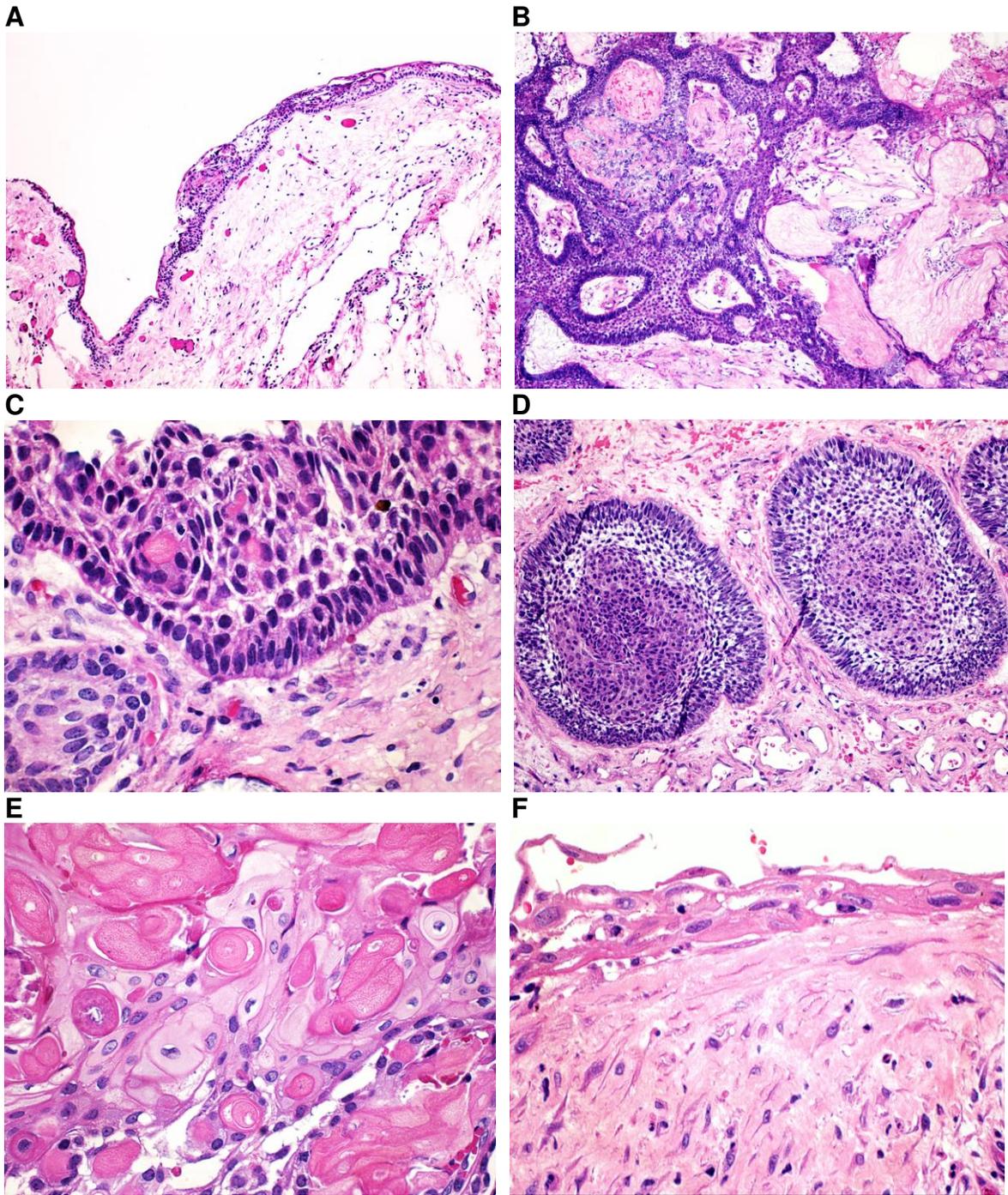


Figura 4 - Aspectos histológicos do TOCC mostrando o padrão arquitetural e tipos celulares. **A** - TOCC cístico. Cavidade revestida por epitélio escamoso delgado com pequenos focos de células fantasmas (100x HE). **B** - TOCC sólido. Células epiteliais formando cordões e trabéculas adjacentes a massas de células fantasmas (100x HE). **C** - Revestimento epitelial mostrando a camada basal colunar em paliçada (400x HE). **D** - Ilhas epiteliais mostrando agregados celulares centrais em padrão de redemoinho (200x HE). **E** - Células fantasmas adjacentes a células epiteliais em processo de transformação (400x HE). **F** - Fino revestimento epitelial de células escamosas alongadas sobre um estroma fibroso (400x HE).

5.3 Características histopatológicas do estroma

A Tabela 9 mostra a distribuição do percentual de casos apresentando os critérios histopatológicos avaliados no estroma dos três grupos de tumores estudados (Apêndices 4, 5 e 6 mostram os resultados de cada caso).

5.3.1 Pilomatricoma

O estroma dos PMs exibiu mais comumente inflamação crônica em 17 casos (81%), e reação granulomatosa com células gigantes multinucleadas em 16 casos (76%). Menos frequentemente observou-se em 7 casos (33%) necrose, metaplasia óssea (Figura 7A) em 6 casos (29%) e 2 casos apresentaram pigmentação (Figura 7C) e histiócitos espumosos (Figura 7D). Calcificação, material dentinóide e cristais de colesterol não foram observados no estroma dos pilomatricomas.

5.3.2 Craniofaringioma

Inflamação crônica e calcificação estavam presentes nos 14 casos de CF. Histiócitos espumosos e reação granulomatosa tipo corpo estranho (Figura 7B) foram observados em 10 (71%) e 9 casos (64%), respectivamente. Pigmentação foi encontrada em 6 casos (43%), enquanto que 3 casos (21%) exibiram necrose. Dois casos (14%) mostraram cristais de colesterol e apenas um caso (7%) metaplasia óssea.

5.3.3 Tumor odontogênico cístico calcificante

O estroma dos 8 casos de TOCC apresentou inflamação crônica, e 6 (75%) apresentaram calcificações irregulares tipo distrófica. Mais da metade dos casos de TOCC (6 casos, 75%) apresentavam material dentinóide (Figura 7E). Reação granulomatosa com células gigantes e cristais de colesterol (Figura 7F) foram observados em 4 (50%) e 3 casos (38%), respectivamente, enquanto que apenas um caso (13%) apresentou necrose.

Tabela 9 - Características histológicas do estroma dos pilomatricomas, craniofaringiomas e tumores odontogênicos císticos calcificantes.

Critérios histopatológicos	PM (n=21)	CF (n=14)	TOCC (n=8)
Estroma			
Inflamação crônica	17 (81%)	14 (100%)	8 (100%)
Calcificação	0	14 (100%)	6 (75%)
Metaplasia óssea	6 (29%)	1 (7%)	0
Reação granulomatosa	16 (76%)	9 (64%)	4 (50%)
Pigmentação	2 (10%)	6 (43%)	0
Histiócitos espumosos	2 (10%)	10 (71%)	0
Dentinóide	0	0	6 (75%)
Necrose	7 (33%)	3 (21%)	1 (13%)
Cristais de colesterol	0	2 (14%)	3 (38%)

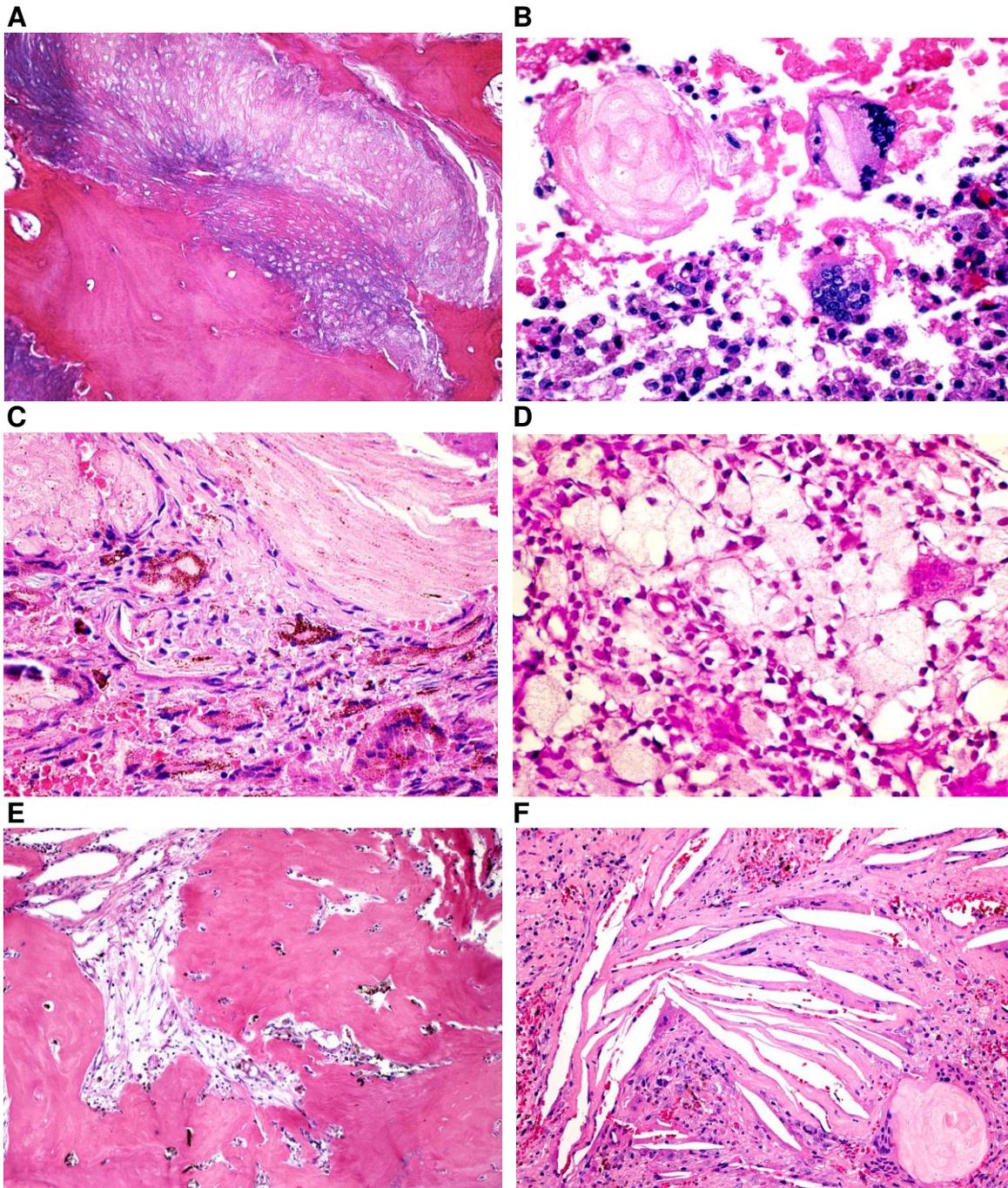


Figura 5 - Características do estroma do PM, CF e TOCC. **A** - PM, massas de células fantasmas e metaplasia óssea (200x HE). **B** - CF, reação granulomatosa às células fantasmas com células gigantes multinucleadas e macrófagos (400x HE). **C** - PM, Pigmentação evidente em células fantasmas, células gigantes multinucleadas e macrófagos (400x HE). **D** - PM, infiltrado inflamatório mononuclear e histiócitos espumosos (400x HE). **E** - TOCC, massas confluentes de material dentinóide (100x HE). **F** - TOCC, cristais de colesterol no estroma fibroso e um agregado de células fantasmas (200x HE).

5.4 Imunoistoquímica

A Tabela 10 apresenta a imunoexpressão de CKs AE1/AE3, 8, 14, 19, além de CD138, β -Catenina, Glut-1, D2-40, FAS e CD10 nos pilomatricomas, craniofaringiomas e tumores odontogênicos císticos calcificantes. Com relação ao padrão de marcação, as citoqueratinas e FAS mostraram positividade no citoplasma, CD138, Glut-1, D2-40 e CD10 na membrana e β -Catenina no citoplasma, membrana e/ou núcleo. Para facilitar a descrição de imunoistoquímica, os resultados serão descritos para cada tipo celular e/ou estrutura epitelial.

5.4.1 Pilomatricoma

As células basalóides mostraram positividade fraca e focal de AE1/AE3 em 10 casos (83%). CKs 8, 14 e 19 foram negativas em todos os casos. CD138 foi positivo em todos os casos com intensidade forte (Figura 6A). β -Catenina teve expressão em 10 casos, em padrão forte de membrana (Figura 6C), entretanto Glut-1 e D2-40 não mostraram positividade em nenhum caso. FAS mostrou positividade no citoplasma, em 10 casos (Figura 6D), enquanto que CD10 na membrana (Figura 6B) em todos os casos.

As células transicionais mostraram expressão de intensidade de fraca a moderada para AE1/AE3, CD138 e FAS em 58%, 33% e 67% dos casos respectivamente. CKs 8, 14, 19, β -Catenina, Glut-1, D2-40 e CD10 foram negativos em todos os casos.

As células fantasmas foram positivas para AE1/AE3 em 15 casos (71%) de forma fraca (Figura 6E). CKs 8, 14, 19, β -Catenina, Glut-1, D2-40 e CD10 foram negativos em todos os casos. Apenas um caso foi positivo para FAS de forma fraca e focal.

As células escamosas foram positivas para AE1/AE3, CK14, CD138 e Glut-1 nos 11 casos que apresentaram este tipo celular. AE1/AE3 (Figura 7A) e CD138 (Figura 7B) mostraram intensidade forte e difusa, enquanto que CK14 (Figura 7C)

moderada focal e Glut-1 (Figura 7D) focal de moderada a forte. Todos os casos foram negativos para CK8. Em 5 casos (45%) CK19 mostrou positividade fraca e focal. β -Catenina foi positivo em 6 casos (55%) com expressão fraca na membrana. Nove casos (82%) mostraram positividade fraca para FAS e 2 casos (18%) para CD10 de forma moderada e focal.

5.4.2 Craniofaringioma

A camada basal em paliçada em todos os casos de CF mostrou positividade intensa para AE1/AE3 (Figura 8A), enquanto que a expressão de CK14 foi variável, de fraca a forte, e em alguns casos de maneira focal. 8 casos foram positivos para CK8, e 3 para CK19, com intensidade de fraca a moderada. Apenas 2 e um caso foram positivos para CD138 e β -Catenina, respectivamente, a última em padrão citoplasmático e nuclear. D2-40 mostrou positividade de moderada a forte em 10 casos (71%) (Figura 8B). Glut-1, FAS e CD10 foram negativos.

A região semelhante ao retículo estrelado foi positiva em todos os casos para AE1/AE3 e CK8 (Figuras 8A e 8C), tendo também em 11 casos (79%) expressão para CK19, CD138 e D2-40. CK14 foi positivo em 7 casos (50%) de forma fraca e focal. Não foi observada expressão para β -Catenina, Glut-1, FAS e CD10.

As células transicionais mostraram expressão forte para AE1/AE3 em todos os casos, CK8 em 6 casos (46%) e CKs 14 e 19 em 10 casos (77%). Com relação aos outros marcadores, CD138, Glut-1, FAS e CD10 a positividade foi em 10 casos (77%), 12 (92%) (Figuras 8D), 11 (Figura 8E) e 9 respectivamente. Expressão de β -Catenina foi encontrada em 7 casos (50%), dos quais 2 mostraram positividade em padrão citoplasmático e 6 (75%) em padrão nuclear (Figuras 8F). D2-40 não mostrou expressão.

As células fantasmas mostraram positividade fraca para AE1/AE3 em 12 casos (86%), e para FAS em 2 casos (14%) de forma fraca e focal (Figura 8E), enquanto que os outros marcadores foram negativos.

Com relação às CKs, as células escamosas de 12 casos (100%) foram positivas para AE1/AE3, e 10 casos para CKs 8 e 19, enquanto que CK14 foi positivo em 8 casos (67%). Dos demais marcadores, CD138, D2-40, FAS e CD10 a positividade foi em 8, 2, 11 e 4 casos respectivamente. β -Catenina e Glut-1 não mostraram expressão.

Agregados celulares em padrão de redemoinho. Apenas 4 casos foram positivos para AE1/AE3, entretanto 9 casos expressaram CK8 (Figura 8I). CKs 14 e 19 foram negativas. Onze casos (92%) expressaram CD138 e FAS (Figuras 8H e 8E) com intensidade moderada. β -Catenina mostrou positividade em 8 casos (67%), em padrão nuclear e citoplasmático (Figura 8F) e apenas 2 expressaram Glut-1, enquanto que D2-40 foi negativo. Todos os casos mostraram positividade forte para CD10 (Figura 8G).

5.4.3 Tumor odontogênico cístico calcificante

A camada basal em paliçada mostrou positividade para AE1/AE3 em todos os casos (Figura 9A), sendo 3 casos (38%) fortemente positivos para CK8 (Figura 9F), 7 (88%) para CK14 com intensidade de fraca a moderada (Figura 9B), e 6 (75%) para CK19 (Figura 9D). Apenas 2 casos (25%) expressaram CD138 com intensidade moderada. β -Catenina foi expressa num total de 7 casos (88%), 4 casos em padrão citoplasmático e de membrana e 3 casos citoplasmático, de membrana e nuclear (Figura 9C) com intensidade de fraca a forte. Os marcadores D2-40 (Figura 9E) e FAS mostraram positividade em 5 casos (63%), de forma moderada e fraca respectivamente, enquanto que Glut-1 e CD10 foram negativos.

A região semelhante ao retículo estrelado mostrou positividade forte em todos os casos para AE1/AE3, expressou CKs 8 e 19 em 3 casos cada e CK14 em

4 casos de forma fraca. CD138 foi positivo em 3 casos (50%), enquanto que β -Catenina de forma fraca em 4 casos (67%), mostrando em 3 padrão de membrana e de membrana e núcleo em apenas um caso. Glut-1 e FAS foram positivos com intensidade fraca em um e 2 casos respectivamente. Não foi observada expressão para D2-40 e CD10.

Em todos os casos, as células transicionais mostraram positividade forte para AE1/AE3, e moderada para CKs 14 e 19 (Figuras 9A, B e D), enquanto que CK8 foi positiva em 3 casos com intensidade forte (Figura 9F). Com relação aos demais marcadores, CD138 e Glut-1 foram fortemente expressos em 6 casos e D2-40 em 7 (Figuras 9H, I e E), β -Catenina foi positiva em 7 casos, sendo citoplasmático e nuclear em 3 casos, apenas nuclear também em 3 casos e de membrana em um caso (Figura 9C). CD10 foi expresso fortemente em todos os casos, o mesmo ocorrendo com FAS, mas este com expressão de fraca a moderada (Figura 9G).

Todos os casos mostraram positividade fraca para AE1/AE3 (Figura 9A) e um caso para FAS nas células fantasmas. Os demais marcadores foram negativos.

As células escamosas mostraram positividade forte para AE1/AE3, moderada para CK14, e de fraca a forte para CK19 em todos os casos, enquanto que CK8 foi positivo em 4 casos. Seis casos (86%) mostraram positividade para CD138, D2-40 e FAS, enquanto que Glut-1 foi em apenas um caso. β -Catenina foi positiva em padrão de membrana em 4 casos (57%), mostrando expressão de fraca a moderada e CD10 (Figura 9J) foi expresso em todos os casos.

Agregados celulares em padrão de redemoinho. Apenas 2 casos mostraram estas estruturas, que foram fracamente positivas para AE1/AE3, mas fortemente para CKs 8, 19 e CD10. Os dois casos também foram positivos para FAS, enquanto que apenas 1 caso expressou CD138. β -Catenina foi fracamente

positiva nos dois casos, em padrão nuclear. CK14, Glut-1 e D2-40 foram negativos.

Os apêndices 7, 8 e 9 apresentam a marcação dos anticorpos AE1/AE3, CK8, CK14, CK19, CD138, β -Catenina, Glut-1, D2-40, FAS e CD10 no componente epitelial de cada caso de PM, CF e TOCC.

Tabela 10 - Imunoexpressão de CKs AE1/AE3, 8, 14, 19, CD138, β -Catenina, Glut-1, D2-40, FAS e CD10 no tecido epitelial dos PMs, CFs e TOCCs.

	PM				CF						TOCC					
	CB	CT	CF	CE	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER
AE1/AE3	83%	58%	71%	100%	100%	100%	100%	86%	100%	33%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
CK8	Neg	Neg	Neg	Neg	57%	100%	46%	Neg	83%	75%	38%	50%	38%	Neg	43%	100%
CK14	Neg	Neg	Neg	100%	100%	50%	77%	Neg	67%	Neg	88%	67%	100%	Neg	100%	Neg
CK19	Neg	Neg	Neg	45%	21%	79%	77%	Neg	83%	Neg	75%	59%	100%	Neg	100%	100%
CD138	100%	33%	Neg	100%	14%	79%	77%	Neg	67%	92%	25%	50%	75%	Neg	86%	50%
β-Catenina	83%	Neg	Neg	55%	7%	Neg	50%	Neg	Neg	67%	88%	67%	88%	Neg	57%	100%
Glut-1	Neg	Neg	Neg	100%	Neg	Neg	92%	Neg	Neg	17%	Neg	17%	75%	Neg	14%	Neg
D2-40	Neg	Neg	Neg	Neg	71%	79%	Neg	Neg	17%	Neg	63%	Neg	89%	Neg	86%	Neg
FAS	83%	67%	5%	82%	Neg	Neg	85%	14%	33%	92%	63%	33%	100%	13%	86%	100%
CD10	100%	Neg	Neg	18%	Neg	Neg	75%	Neg	92%	100%	Neg	Neg	100%	Neg	100%	100%

CB - Células basalóides, **CT** - Células transicionais, **CF** - Células fantasmas, **CE** - Células escamosas, **CBP** - Camada basal em paliçada; **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **ER** - Estruturas em redemoinho.

5.5 Análise imunoistoquímica comparativa entre PM, CF e TOCC

A expressão imunoistoquímica dos marcadores avaliados nos três tipos de tumores estudados teve diferenças e similaridades. A principal diferença foi encontrada no pilomatricoma, em comparação com o craniofaringioma e tumor odontogênico cístico calcificante.

CKs – a expressão de CKs foi menor nos PMs em relação aos CFs e TOCCs. A expressão de AE1/AE3 nas células basalóides foi baixa e focal, assim como nas células transicionais, sendo negativo para CKs 8, 14 e 19. Por outro lado, a positividade de 100% para AE1/AE3 na camada basal, região semelhante ao retículo estrelado e células transicionais no CF e TOCC. As células fantasmas dos 3 tumores expressaram fracamente AE1/AE3 com porcentagem de positividade de 100%, 86% e 71% no TOCC, CF e PM respectivamente. As CKs 8, 14 e 19 foram negativas nas células fantasmas.

CD138 – as células basalóides e escamosas dos PMs foram as que mostraram maior expressão de CD138, porém, nos CFs a expressão deste marcador foi identificada nas estruturas em padrão de redemoinho em 92% dos casos e nas células escamosas dos TOCCs em 57%. As células transicionais dos 3 tumores expressaram CD138, sendo que a maior intensidade foi observada nos TOCCs.

β -Catenina - A expressão de β -Catenina foi mais evidente nos casos de TOCC nas células da camada basal em paliçada e transicionais, em 88% dos casos. O padrão de expressão teve diferenças segundo o tipo celular, na camada basal do TOCC a expressão foi citoplasmática, de membrana e nuclear, e nas células transicionais principalmente nuclear. Os PMs expressaram intensamente nas células basalóides, principalmente na membrana, sendo negativa na região transicional em todos os casos. Nos CFs, a metade dos casos mostrou expressão de fraca a moderada nas células transicionais, sendo que em todos os casos o padrão de expressão foi nuclear.

Glut-1 - as células transicionais do CF foram as que mostraram maior expressão de Glut-1, com forte positividade em 92% dos casos, enquanto que nos TOCCs a expressão foi observada em 75% dos casos e nos PMs não foi identificada positividade para este marcador na região transicional. A expressão de Glut-1 foi maior nas células escamosas dos PMs em relação aos TOCCs, sendo negativo nos CFs. Em 2 casos de CF foi identificada expressão de Glut-1 nas estruturas em redemoinho, sendo estas estruturas negativas nos casos de TOCC. Em relação a região semelhante ao retículo estrelado, os TOCCs mostraram expressão em 17% dos casos, enquanto que os CFs foram negativos. As demais regiões foram negativas para este marcador.

D2-40 - a expressão deste marcador foi identificada nos casos de CF e TOCC, tendo sido negativa nos PMs. As células da região semelhante ao retículo estrelado foram as que demonstraram maior expressão no CF, com intensidade de moderada a forte, sendo esta região negativa nos TOCCs. Nestes últimos, as células transicionais foram as que tiveram maior expressão, com intensidade de fraca a moderada.

FAS - a expressão de FAS foi observada principalmente nas células transicionais dos TOCCs e CFs, com positividade em 100% e 85% dos casos respectivamente, enquanto que nos PMs a positividade foi maior nas células basalóides.

CD10 - teve positividade forte nas células basalóides de todos os casos de PM, sendo negativo nas células transicionais. Por outro lado, as células transicionais mostraram forte expressão em todos os casos de TOCC, com positividade de 75% nos CFs. Além disso, uma forte expressão de CD10 foi identificada nos agregados celulares com padrão de redemoinho nos casos de CF e TOCC em que estas estruturas foram observadas (86% e 25% dos casos respectivamente). Estas estruturas não foram identificadas em casos de PM.

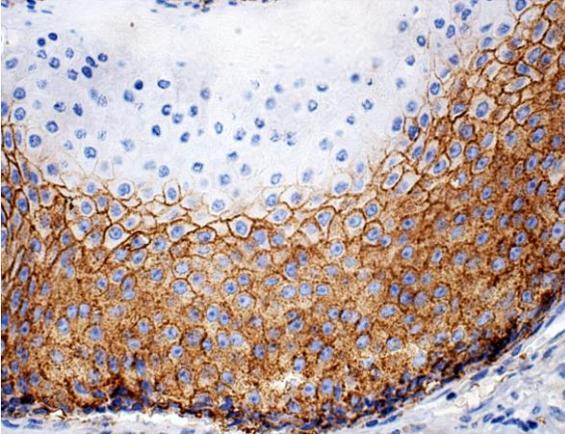
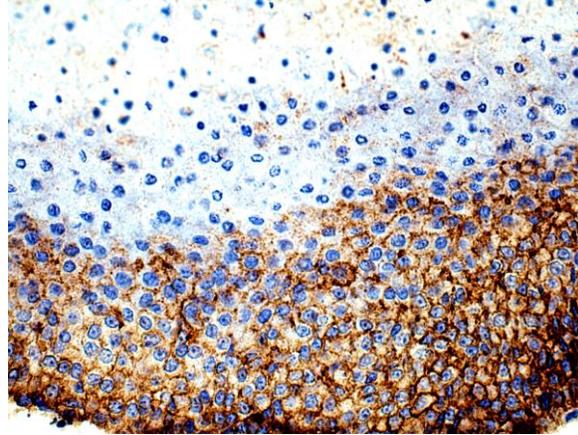
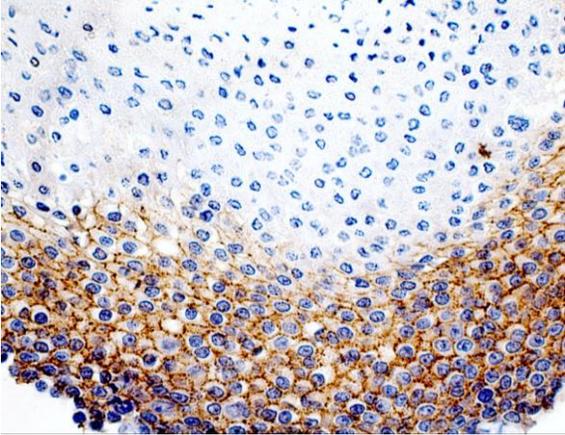
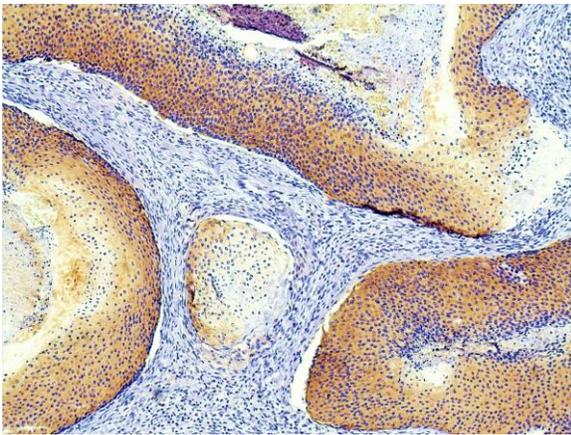
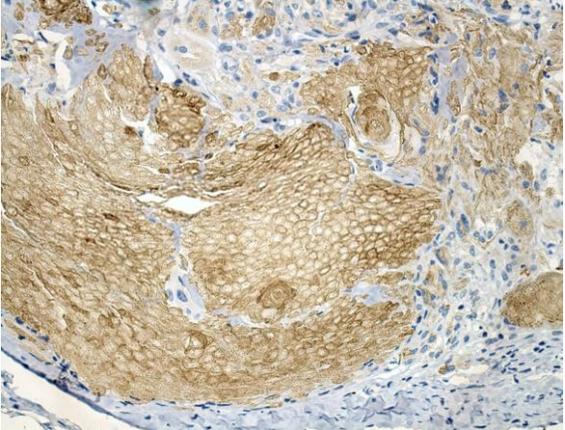
A**B****C****D****E**

Figura 6 - Perfil imunistoquímico do tecido epitelial dos pilomatricomas - Células basalóides. **A** - Forte positividade para CD138 (400x IQ). **B** - Expressão de CD10 na membrana (400x IQ). **C** - β -Catenina mostrou expressão forte em padrão de membrana (400x IQ). **D** - Expressão difusa de FAS no citoplasma (100x IQ). **E** - Células fantasmas mostrando positividade fraca para AE1/AE3 (200x IQ).

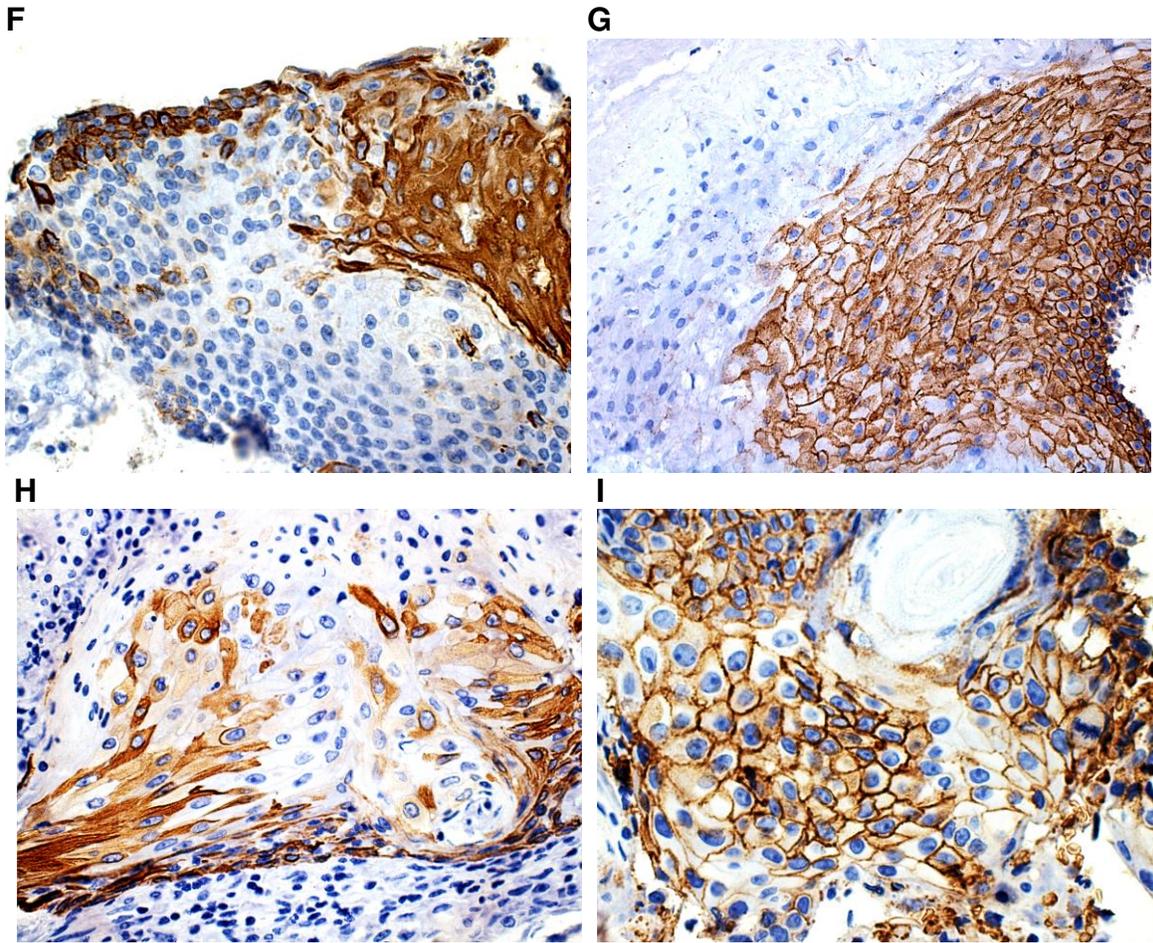


Figura 7 - Perfil imunistoquímico do tecido epitelial dos pilomatricomas - Células escamosas. **F** - Positividade forte de AE1/AE3 no componente escamoso (400x IQ). **G** - Expressão forte de CD138 nas células escamosas (200x IQ). **H** - Positividade focal para CK14 (400x IQ). **I** - Intensa expressão membranal de Glut-1 (400x IQ).

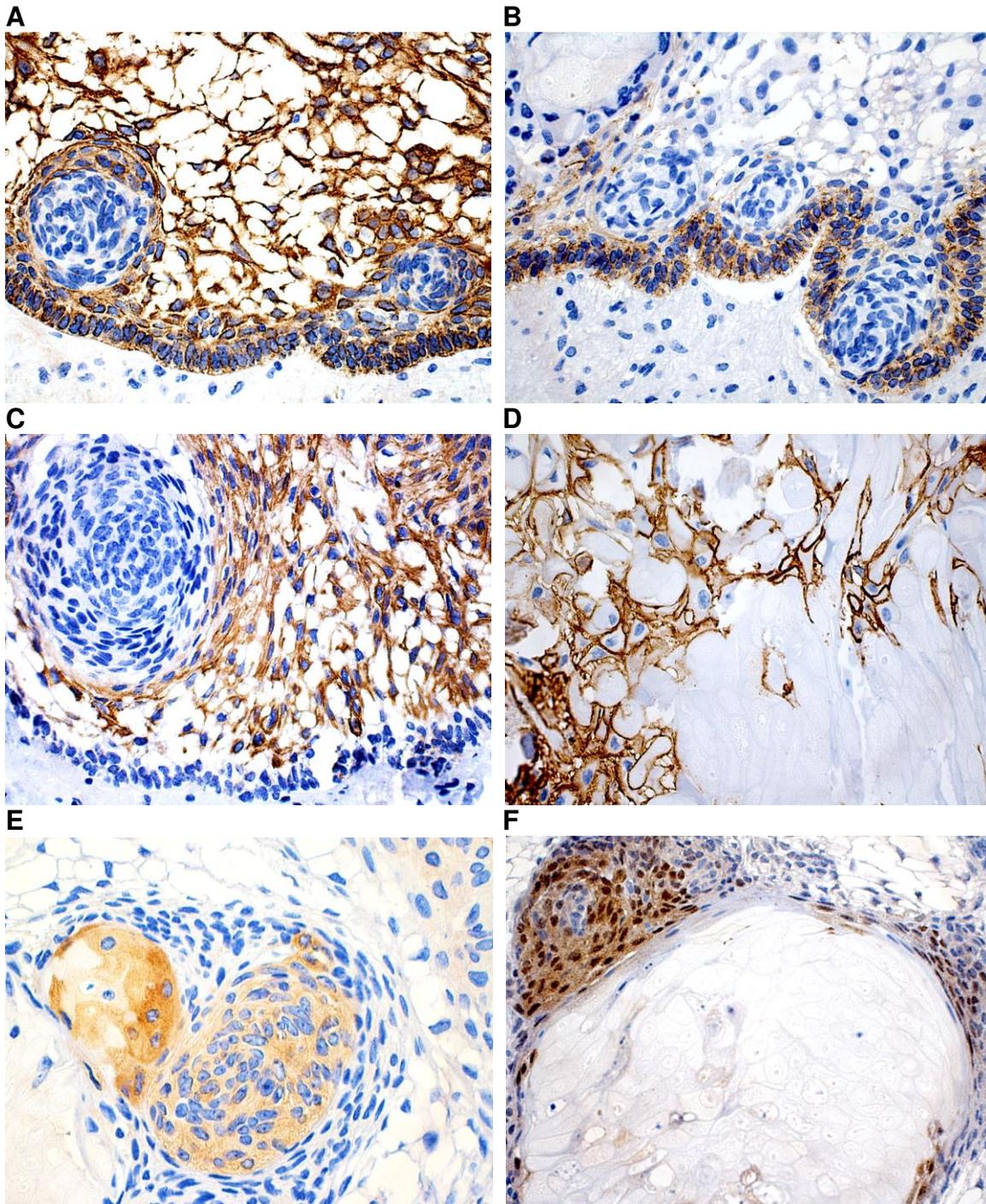


Figura 8 - Perfil imunohistoquímico do tecido epitelial dos craniofaringiomas. **A** - Expressão forte de AE1/AE3 na camada basal e região suprabasal (400x IQ). **B** - D2-40 mostrou positividade moderada na camada basal (400x IQ). **C** - Região semelhante ao retículo estrelado com expressão de CKs 8 e 19. **D** - Expressão forte de Glut-1 nas células adjacentes aos agregados de células fantasmas (400x IQ). **E** - Expressão moderada de FAS nos agregados em redemoinho (centro) e células transicionais (esquerda) (400x IQ). **F** - Expressão no núcleo e citoplasma de β -Catenina nas estruturas em padrão de redemoinho e núcleo das células transicionais (400x IQ).

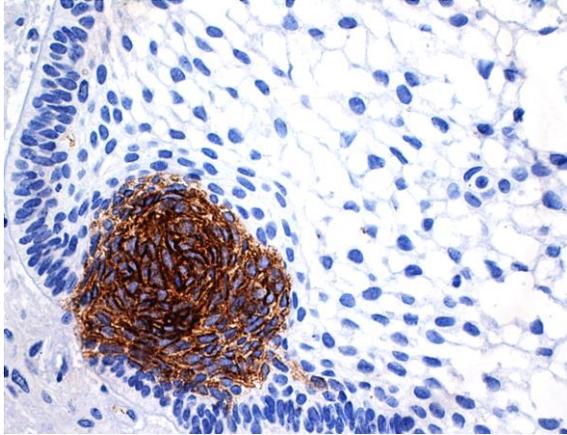
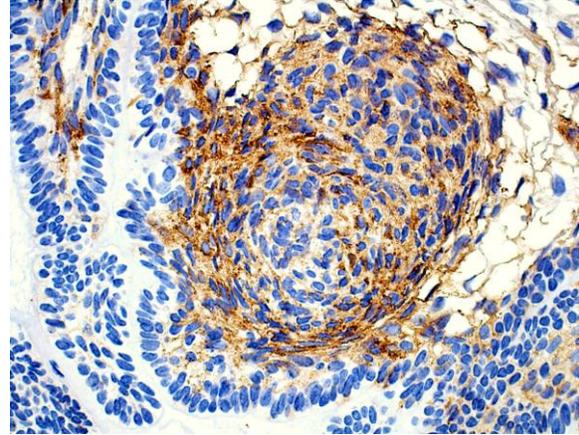
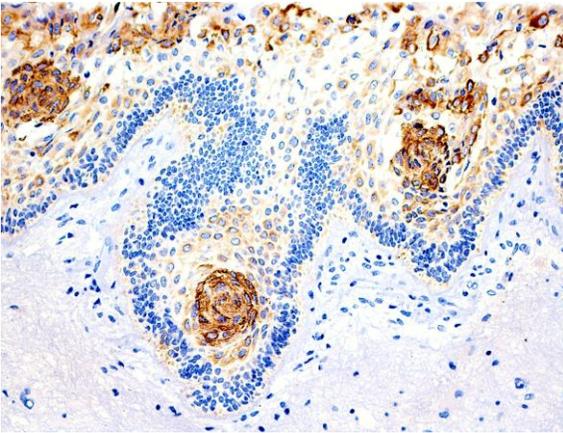
G**H****I**

Figura 8 - Perfil imunohistoquímico do tecido epitelial dos craniofaringiomas - Estruturas em redemoinho. **G** - Forte expressão para CD10 (400x IQ). **H** - Positividade moderada para CD138 (400x IQ). **I** - Expressão de CK8 nas estruturas em redemoinho e focal na região semelhante ao retículo estrelado (200x IQ).

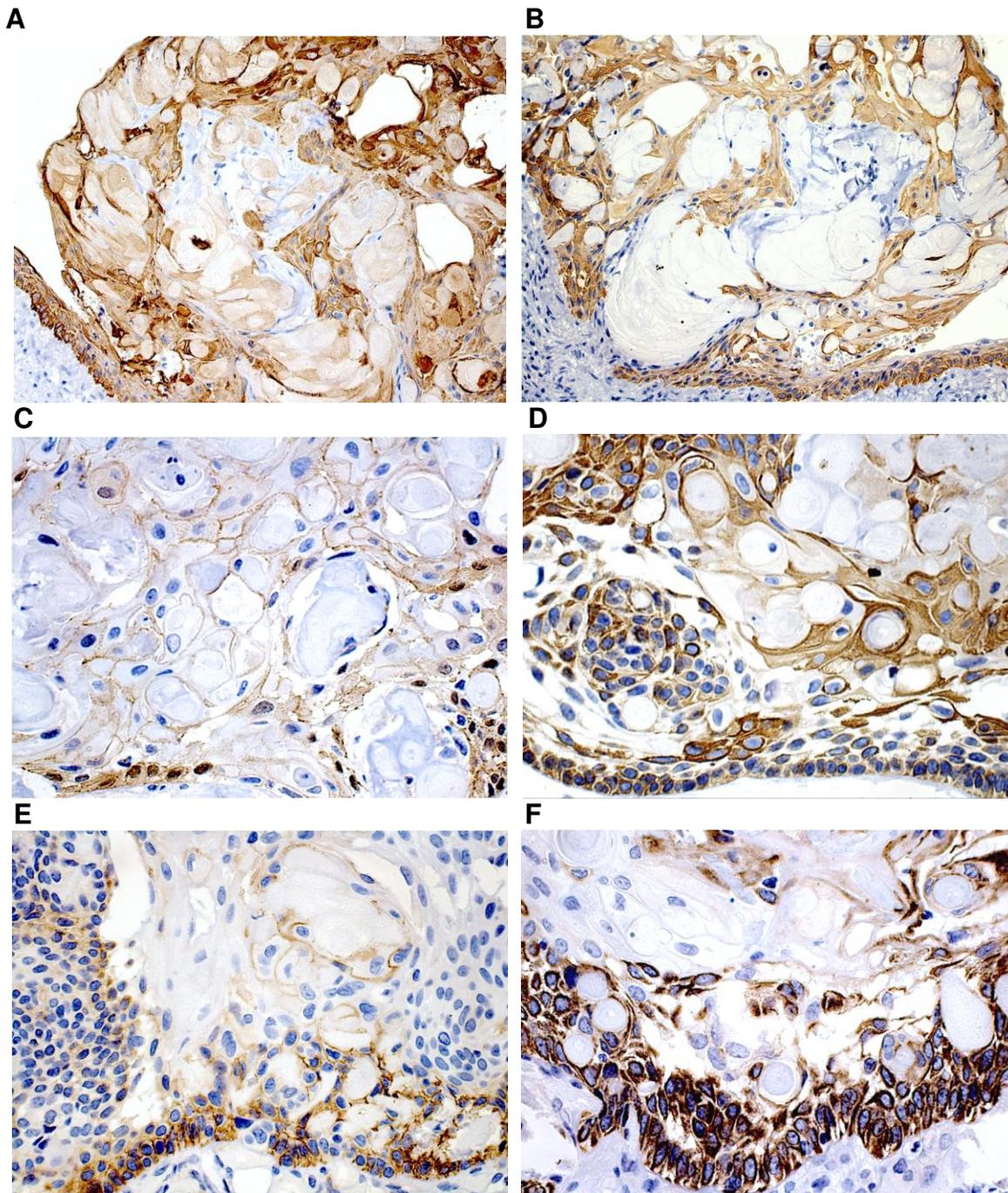


Figura 9 - Perfil imunistoquímico do tecido epitelial dos tumores odontogênicos císticos calcificantes. **A** - Expressão forte de AE1/AE3 na camada basal em paliçada e células transicionais e fraca nas células fantasmas (200x IQ). **B** - CK14 mostrou positividade moderada nas células transicionais e na camada basal (200x IQ). **C** - Positividade moderada de β -Catenina na membrana das células transicionais e na membrana, citoplasma e núcleo nas células da camada basal em paliçada (400x IQ). **D** - Expressão forte de CK19 nas células transicionais e camada basal (400x IQ). **E** - Camada basal em paliçada e células transicionais com padrão membranar de D2-40 (400x IQ). **F** - Forte expressão de CK8 na camada basal e células transicionais (400x IQ).

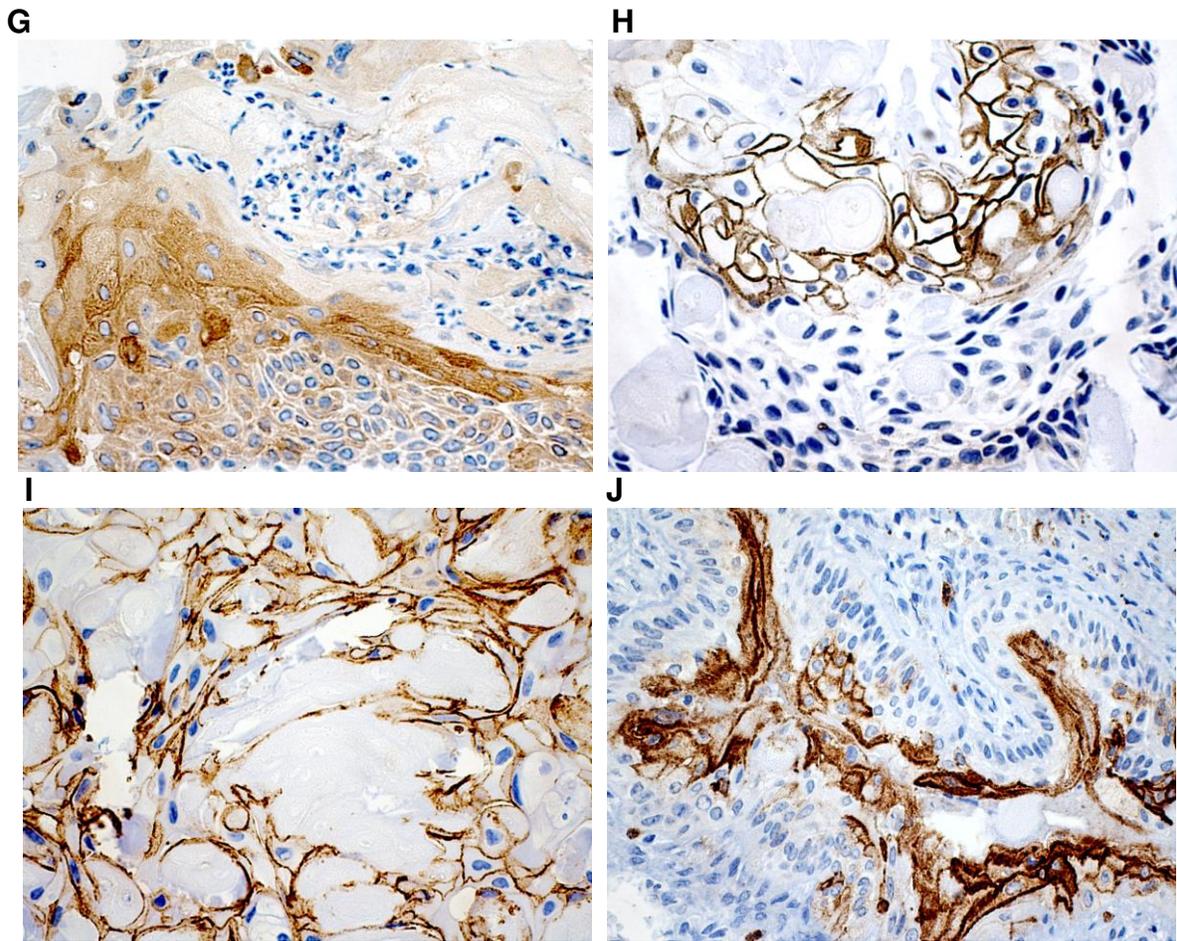


Figura 9 - Perfil imunohistoquímico do tecido epitelial dos tumores odontogênicos císticos calcificantes. **G** - Positividade moderada de FAS no citoplasma das células transitórias (400x IQ). **H** - Expressão forte de CD138 e Glut-1 (**I**) na membrana das células transitórias (400x IQ). **J** - CD10 fortemente expresso nas células escamosas superficiais do revestimento epitelial (400x IQ).

6 DISCUSSÃO

O pilomatricoma, craniofaringioma e tumor odontogênico cístico calcificante são três neoplasias benignas que têm em comum a presença de células fantasmas. A histologia mostra alguns aspectos semelhantes, mas há também diferenças que permitem distinguir microscopicamente facilmente uma de outra lesão. A localização destas lesões é específica envolvendo a pele, a boca ou a região selar, indicando que a origem e patogênese são distintas. Os mecanismos envolvidos na formação das células fantasmas não são conhecidos, podendo ser semelhantes ou muito diferentes nas três lesões. A princípio, o mais simples seria considerar que as células fantasmas seriam um estágio terminal de diferenciação das células tumorais, equivalente à formação de queratina nos epitélios de revestimento, visto que são células que perderam o núcleo e com citoplasma eosinófilo e homogêneo (hialino).

O pilomatricoma (PM) acomete principalmente a pele da região de cabeça, pescoço e extremidades superiores de pacientes com menos de 30 anos de idade (Pirouzmanesh *et al.*, 2003; Hurt *et al.*, 2006), enquanto que o craniofaringioma (CF) envolve a região selar e supraselar de pacientes preferencialmente na primeira e segunda década de vida (Nayil *et al.*, 2011), e o tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC) usualmente acomete a região anterior de maxila, entre a segunda e terceira década da vida (Ledesma-Montes *et al.*, 2008). Na maioria dos trabalhos não existe predileção por gênero nestes três tipos de tumores. No presente trabalho, a pele da região da cabeça de homens na primeira e segunda décadas de vida foram preferencialmente acometidos por PM. Dois pacientes em nossa casuística tinham mais de trinta anos de idade (34 e 75 anos), o que é extremamente incomum em casos de PM, embora um segundo pico de prevalência tenha sido encontrado na sexta e sétima décadas da vida, no estudo de 209 casos de PM relatados por Julian & Bowers (1998). Todos os casos de CF do nosso estudo localizaram-se na região supraselar, sendo a primeira e segunda década de vida preferencialmente acometidas, sem predileção por gênero. O

TOCC acometeu preferencialmente regiões anteriores com predileção pela mandíbula de homens entre a quinta e sétima décadas de vida. Em relação às características clínicas e demográficas, o presente trabalho apresentou resultados compatíveis aos dados reportados na literatura, exceto pelo acometimento preferencial do TOCC na região da mandíbula de pacientes entre a quinta e sétima década de vida. Comumente o TOCC apresenta-se radiograficamente como uma imagem radiolúcida unilocular bem delimitada, com áreas radiopacas representando focos de calcificação (Shear & Speight, 2007). Estas características foram compatíveis com nossos resultados, os quais demonstraram lesões uniloculares, radiolúcidas e mistas em todos os casos de TOCC em que a informação e as imagens radiográficas foram fornecidas.

Microscopicamente, a maioria dos PMs de nossa amostra eram sólidos, enquanto que nos CFs predominou padrão misto, e a maioria dos TOCCs eram císticos. De acordo com a literatura a maioria dos PMs são sólidos, nas fases de desenvolvimento completo ou em estágios regressivo inicial e tardio (Kaddu *et al.*, 1996; Yoshimura *et al.*, 1997). Ishige *et al.* (2011) relataram 16 casos de PM, todos nos estágios regressivo inicial e tardio. Os CFs do tipo adamantinoso são lesões principalmente de padrão misto, com componentes sólido e cístico (Tena-Suck *et al.*, 2006, Fernández-Miranda *et al.*, 2012). No presente trabalho, todos os casos de CF foram do tipo adamantinoso, e as porcentagens dos casos com padrões misto, cístico e sólido foram respectivamente (64%, 29% e 7%), como também relatado por Shin *et al.* (1999). O TOCC tem sido descrito principalmente como lesão de padrão simples cístico (Buchner, 1991; Ledesma-Montes *et al.*, 2008), e seis (75%) dos nossos casos eram francamente císticos.

Epitélio escamoso com a camada basal em paliçada e região suprabasal adjacente semelhante ao retículo estrelado foram encontrados em 48 casos (92%) de CF adamantinoso relatados por Paulus *et al.* (1997), dos quais 27 (50%) mostraram semelhanças com TOCC, 13 (24%) com ameloblastoma e oito (15%) mostraram características mistas. Todos os casos de CF de nosso estudo também

mostraram padrão adamantinoso, ou seja, epitélio escamoso com a região basal em paliçada e região suprabasal semelhante ao retículo estrelado. Agregados celulares em forma de redemoinho foram encontrados em um caso (4%) de CF adamantinoso relatado por Badger & Gardner (1997), entretanto no presente trabalho, esta característica no grupo dos CFs foi encontrada na maioria dos casos (86%). Estes agregados celulares têm sido associados com maior risco de recidiva, embora poucos trabalhos avaliem este fator (Prieto *et al.*, 2012). O TOCC é descrito como uma lesão cística apresentando revestimento bem definido de células cuboidais a colunares, e uma região suprabasal com varias camadas de células semelhantes ao retículo estrelado (Wang *et al.*, 2003, Ledesma-Montes *et al.*, 2008), características observadas em 100% e 75% dos casos do presente trabalho, respectivamente.

Em relação aos tipos celulares, células fantasmas foram identificadas em todos os casos de PM, CF e TOCC, enquanto que células transicionais foram observadas em todos os casos de TOCC, e em 86% e 57% dos CFs e PMs respectivamente. Nos casos de PM, células basalóides foram encontradas em 12 casos (57%). Valores semelhantes foram relatados por Yoshimura *et al.*, (1997) e Kim *et al.*, (2010). De fato, quantidades variáveis dos três tipos celulares principais são relatadas na literatura, com as células basalóides na periferia, e células transicionais e fantasmas no centro da lesão (Duflo *et al.*, 1998; Lan *et al.*, 2003). Conforme Kaddu *et al.* (1996), todos os casos em estágio regressivo tardio eram sólidos, sem o componente de células basalóides. Células com diferenciação escamosa têm sido descritas em porcentagens pequenas de 1% a 4% (O'Connor *et al.*, 2011; Ishige *et al.*, 2011), porém encontramos, embora em agregados focais, em 52% dos casos.

Características importantes no estroma dos PMs no presente trabalho foram a presença de inflamação crônica e reação granulomatosa de tipo corpo estranho, as quais são bem descritas na literatura como características presentes na maioria dos casos (Pirouzmanesh *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2010). Metaplasia

óssea foi encontrada em 29% de nossos casos, similar aos valores descritos na literatura (Thompson, 2012). Nos CFs observamos em todos os casos áreas de inflamação crônica e calcificação. Calcificações foram descritas em 88% dos casos de CF descritos por Badger & Gardner (1997), e em 43% dos relatados por Shin *et al.* (1999). Também pode ser observada a presença de cristais de colesterol, achado presente em 14% dos casos de CF no presente trabalho. Reação granulomatosa foi um achado relativamente comum, (observado em 64% dos nossos casos), mas Shin *et al.* (1999) reportaram em apenas 13%. No estroma dos TOCCs inflamação, calcificação e material dentinóide constituíram os achados mais comuns da nossa amostra. Wang *et al.* (2003) encontraram dentinóide em todos os casos relatados. Como partes da inflamação são comuns às reações granulomatosa e cristais de colesterol.

Em relação à expressão imunoistoquímica dos PMs, os nossos resultados mostraram algumas diferenças com relação aos dados da literatura. Broekaert *et al.* (1990) descreveram quatro casos com positividade irregular para CKs 14 e 19 nas células basalóides, enquanto que em nossos casos estas CKs marcaram apenas as células escamosas e de forma focal. Ishige *et al.* (2011), Krahl & Sellheyer, (2010) e Demirkan *et al.* (2007) descreveram positividade citoplasmática e nuclear de β -Catenina nas células basalóides de respectivamente 69%, 100% e 80% dos casos, enquanto que em nossos casos foi identificada apenas positividade em padrão de membrana em 83%. Kim *et al.* (2010) também encontraram positividade de membrana nas células basalóides na maioria dos casos, mas também descreveram positividade nuclear. No trabalho de Xia *et al.* (2006) 19% dos PMs estudados apresentaram expressão citoplasmática e de membrana. Com relação ao CD138, observamos expressão apenas nas células basalóides, como também descrito por Nakamura (2011). D2-40 foi negativo em todos os casos de PM, o que também foi descrito no único trabalho que estudou a expressão deste marcador (Kikuchi *et al.*, 2012). CD10 é expresso nas células matriciais e na bainha interna do folículo piloso normais, sendo considerado um

indicador de diferenciação folicular. Em nossos casos CD10 foi positivo nas células basalóides dos PMs em todos os casos, similar ao descrito na literatura (Yada *et al.*, 2004).

A análise imunoistoquímica dos CFs revelou positividade para CKs AE1/AE3, 8, 14 e 19 em diversos graus. CK8 foi expresso em 46% das células transicionais, até 100% no epitélio semelhante ao retículo estrelado. Também encontramos positividade de 100% para CK14 na camada basal em paliçada em todos os casos. Alguns autores descrevem positividade para CKs 8 e 14 em todos os casos de CF adamantinoso, na região suprabasal e de forma difusa em todos os tipos celulares, respectivamente (Tateyama *et al.*, 2001, Le *et al.*, 2007). CK19 tem sido identificada no componente epitelial do CF adamantinoso em porcentagens que variam entre 50% e 100% (Kurosaki *et al.*, 2001). Em nossos casos a positividade teve variação desde 21% na camada basal, 77% nas células transicionais, 79% no epitélio semelhante ao retículo estrelado, até 83% nas células com diferenciação escamosa.

β -Catenina pode ser expressa na membrana, citoplasma e núcleo. Na membrana é parte do complexo de adesão célula-célula, no citoplasma tem função sinalizadora formando parte da via Wnt que a estabiliza, e quando não é degradada promove o acúmulo nuclear onde estimula a proliferação celular (Behrens, 1999; Lo Muzio, 2001; Klymkowsky, 2005). Não foi identificada expressão de β -Catenina na membrana em nossos casos de CF. A marcação nuclear tem sido descrita principalmente nos agregados celulares em redemoinho em associação com CK8, como descrito por Buslei *et al.* (2007) e também observado em 33% dos nossos casos. Outros autores como Sekine *et al.* (2004) e Cao *et al.* (2010) também observaram expressão de β -Catenina nuclear nos redemoinhos. Expressão no núcleo foi observada em 50% dos nossos casos e no citoplasma em 25%. Desses, apenas um, mostrou expressão núcleo-citoplasmática. Andoniadou *et al.* (2012) correlacionaram em modelo murino a ativação da via Wnt/ β -Catenina com o acúmulo núcleo-citoplasmático de β -

Catenina, estimulando a mitose das células, o que poderia ser um fator favorável a recidiva do tumor, como sugerido por Prieto *et al.* (2012). Kato *et al.* (2004) relataram a presença de mutações no gene *CTNNB1* em 9 de 13 casos de CF adamantinomatoso, com concomitante acúmulo nuclear da proteína, achado que indica a participação da via Wnt na patogênese do CF. Além da positividade de β -Catenina já descrita nos agregados celulares, as células adjacentes às células fantasmas também podem apresentar expressão nuclear (Kato *et al.*, 2004, Buslei *et al.*, 2005), o que também ocorreu em 50% dos nossos casos.

D2-40 mostra forte expressão nos CFs, principalmente na região suprabasal semelhante ao retículo estrelado e variável na camada basal (Nakamura *et al.*, 2006, Kikuchi *et al.*, 2012). No presente trabalho, nos CFs, foi encontrada positividade em 17% dos casos nas células escamosas até 71% e 79% dos casos na camada basal e na região semelhante ao retículo estrelado, respectivamente.

Em relação ao TOCC, CK AE1/AE3 é fortemente expressa nas células tumorais, exceto nas células fantasmas (Johnson *et al.*, 1997, Kim *et al.*, 2007). CKs 8, 14 e 19 foram descritas na camada basal e na região suprabasal semelhante ao retículo estrelado (Yoshida *et al.*, 2001, Fregnani *et al.*, 2003), nossos achados mostraram resultados similares, além disso, foi identificada expressão nas células adjacentes às células fantasmas e nas células escamosas. As células fantasmas também foram negativas para estas CKs específicas. Diversos autores têm estudado a expressão imunoistoquímica de β -Catenina, e as mutações associadas à patogênese do TOCC. As células da camada basal em paliçada são positivas para β -Catenina com intensidade fraca a moderada em padrão citoplasmático e de membrana, e as células transicionais também são positivas para este marcador no núcleo com forte intensidade. Os agregados celulares em padrão de redemoinho mostram expressão de β -Catenina semelhante às células transicionais, ou seja, forte no núcleo e de menor intensidade no citoplasma e membrana (Sekine *et al.*, 2003, Kim *et al.*, 2007). No

presente trabalho, em 88% dos casos observou-se positividade citoplasmática e de membrana de intensidade fraca nas células da camada basal em paliçada, e com maior intensidade em padrão citoplasmático e nuclear nas células adjacentes as células fantasmas ou células transicionais. Nas estruturas em padrão de redemoinho foi identificada expressão apenas nuclear. Mutações no gene *CTNNB1* foram descritas em 90% dos casos relatados por Sekine *et al.* (2003). . Kikuchi *et al.* (2012) avaliaram positividade de D2-40 em TOCC, encontraram positividade nas células da camada basal e nas células transicionais adjacentes as células fantasmas em 86,6% e 60% dos casos, respectivamente. Em nosso trabalho, a positividade na camada basal foi observada em 63% dos casos e nas células transicionais em 88% dos casos.

Até o momento, não foi descrita na literatura, a marcação imunoistoquímica de Glut-1 e FAS em PM, CF e TOCC, assim como de CD10 em CF e TOCC. Glut-1 foi descrito em queratinócitos basais de pele normal e em diversas malignidades epiteliais. Na pele normal, a expressão tem sido associada ao aumento do metabolismo da glicose nas células basais, e nas malignidades provavelmente esteja associada à hipóxia e maior utilização de glicose (North *et al.*, 2000; Burstein *et al.*, 2006). Nos CFs e TOCCs a expressão de Glut-1, foi observada principalmente nas células em processo de transição de célula epitelial bem diferenciada à célula fantasma. Como estas células provavelmente não tem metabolismo alto, é possível que a hipóxia seja estímulo importante para a expressão de Glut-1. Nos PMs a expressão de Glut-1 foi apenas identificada nas células escamosas, o que teria relação com a expressão de Glut-1 nos queratinócitos na pele normal, embora nestes a expressão seja nas células basais. No presente trabalho, a expressão de Glut-1 foi em padrão de membrana em todos os casos. A expressão citoplasmática de Glut-1 tem sido demonstrada em tumores malignos da próstata e tireóide, enquanto que a expressão de membrana tem sido identificada em carcinomas de células escamosas e na camada basal da epiderme normal (Carvalho *et al.*, 2011). Em relação ao FAS,

sua expressão por células malignas tem sido amplamente descrita na literatura (Kuhajda, 2000). O epitélio oral normal expressa FAS de forma fraca nas camadas inferiores do estrato espinhoso (Silva *et al.*, 2008). No presente trabalho, a expressão de FAS foi observada nas células basalóides do PM, enquanto que CF e TOCC expressaram nas células transicionais e agregadas em redemoinho, em padrão citoplasmático.

Em resumo, PM, CF e TOCC apesar de possuírem características microscópicas semelhantes, mostram também diferenças melhor caracterizadas pela análise imunoistoquímica. Os mecanismos envolvidos na formação das células fantasmas ainda não são conhecidos e a expressão variável de CKs e outros marcadores usados neste trabalho não permitiram determinar uma sequência comum para a formação destas células. Além disto, as células fantasmas mostram expressão negativa ou muito fraca para a maioria das proteínas, dificultando a compreensão da sua biologia. Como PM, CF e TOCC são os que mais apresentam células fantasmas, possuindo uma histologia relativamente semelhante, outros estudos comparativos podem contribuir para melhor compreensão destes tumores.

7 CONCLUSÃO

1. Células fantasmas foi o único tipo celular presente em todos os casos dos 3 tumores estudados, PM, CF e TOCC. Estas células foram fracamente positivas somente para AE1/AE3 e FAS. É difícil determinar o mecanismo de formação das células fantasmas; semelhança histológica principal entre os três tumores, devido à perda de expressão antigênica.

2. PM, CF e TOCC apesar de possuir características microscópicas semelhantes, mostram também diferenças melhor caracterizadas pela análise IQ.

3. É difícil determinar o mecanismo de formação das células fantasmas; semelhança histológica principal entre os três tumores, devido à perda de expressão antigênica.

4. A expressão variável dos marcadores usados neste trabalho não permitiu determinar uma sequencia comum para a formação destas células.

5. Já que PM, CF e TOCC são os tumores que mais apresentam células fantasmas, outros estudos comparativos podem contribuir para melhor compreensão destes tumores.

REFERÊNCIAS*

Ahn SG, Kim SA, Kim SG, Lee SH, Kim J, Yoon JH. Beta-catenin gene alterations in a variety of so-called calcifying odontogenic cysts. *APMIS*. 2008; 116(3): 206-11.

Alò PL, Visca P, Botti C, Galati GM, Sebastiani V, Andreano T *et al.* Immunohistochemical expression of human erythrocyte glucose transporter and fatty acid synthase in infiltrating breast carcinomas and adjacent typical/atypical hyperplastic or normal breast tissue. *Am J Clin Pathol*. 2001; 116(1): 129-34.

Alsaad KO, Obaidat NA, Ghazarian D. Skin adnexal neoplasms-part 1: An approach to tumours of the pilosebaceous unit. *J Clin Pathol*. 2007; 60:129–44.

Andoniadou CL, Gaston-Massuet C, Reddy R, Schneider RP, Blasco MA, Le Tissier P *et al.* Identification of novel pathways involved in the pathogenesis of human adamantinomatous craniopharyngioma. *Acta Neuropathol*. 2012; 124(2): 259-71.

Badger KV, Gardner DG. The relationship of adamantinomatous craniopharyngioma to ghost cell ameloblastoma of the jaws: a histopathologic and immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med*. 1997; 26(8): 349-55.

Basile JR, Klene C, Lin YL. Calcifying odontogenic cyst with odontogenic keratocyst: a case report and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 109: e40-5.

Behrens J. Cadherins and catenins: Role in signal transduction and tumor progression. *Cancer and Metastasis Reviews*. 1999; 18: 15-30.

* De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseadas nas normas do International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

Bernfield M, Kokenyesi R, Kato M, Hinkes MT, Spring J, Gallo RL *et al.* Biology of the syndecans: a family of transmembrane heparan sulfate proteoglycans. *Annu Rev Cell Biol.* 1992; 8: 365-93.

Bernstein ML, Buchino JJ. The histologic similarity between craniopharyngioma and odontogenic lesions: a reappraisal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1983; 56(5): 502-11.

Broekaert D, Goeman L, Ramaekers FC, Van Muijen GN, Eto H, Lane EB *et al.* An investigation of cytokeratin expression in skin epithelial cysts and some uncommon types of cystic tumours using chain-specific antibodies. *Arch Dermatol Res.* 1990; 282(6): 383-91.

Buchner A. The central (intraosseous) calcifying odontogenic cyst: an analysis of 215 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 1991; 49: 330-1.

Burstein DE, Nagi C, Kohtz DS, Lee L, Wang B. Immunodetection of GLUT1, p63 and phospho-histone H1 in invasive head and neck squamous carcinoma: correlation of immunohistochemical staining patterns with keratinization. *Histopathology.* 2006; 48: 717-22.

Buslei R, Nolde M, Hofmann B, Meissner S, Eyupoglu I, Siebzehnrübl F *et al.* Common mutations of beta catenin in adamantinomatous craniopharyngiomas but not in other tumours originating from the sellar region. *Acta Neuropathol.* 2005; 109: 589-97.

Buslei R, Hölsken A, Hofmann B, Kreutzer J, Siebzehnrübl F, Hans V *et al.* Nuclear β -catenin accumulation associates with epithelial morphogenesis in craniopharyngiomas. *Acta Neuropathol.* 2007; 113: 585-90.

Cambiaghi S, Ermacora E, Brusasco A, Canzi L, Caputo R. Multiple pilomatricomas in Rubinstein-Taybi syndrome: a case report. *Pediatr Dermatol.* 1994; 11(1): 21-5.

Cao J, Lin JP, Yang LX, Chen K, Huang ZS. Expression of aberrant b-catenin and impaired p63 in craniopharyngiomas. *Br J Neurosurg.* 2010; 24(3): 249-56.

Carvalho KC, Cunha IW, Rocha RM, Ayala FR, Cajaíba MM, Begnami MD *et al.* GLUT1 expression in malignant tumors and its use as an immunodiagnostic marker. *Clinics.* 2011; 66(6): 965-72.

Chan EF, Gat U, McNiff JM, Fuchs E. A common human skin tumour is caused by activating mutations in β -catenin. *Nat Genet.* 1999; 21: 410-3.

Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology.* 2002; 40: 403-39.

Cooper PH, Fechner RE. Pilomatricoma-like changes in the epidermal cysts of Gardner's syndrome. *J Am Acad Dermatol.* 1983; 8: 639-44.

Crivelini MM, Felipini RC, Coclete GA, Soubhia MP. Immunoexpression of keratins in the calcifying cystic odontogenic tumour epithelium. *J Oral Pathol Med.* 2009; 38: 393-6.

Demirkan NC, Bir F, Erdem Ö, Düzcan E. Immunohistochemical expression of B-catenin, E-cadherin, cyclin D1 and c-myc in benign trichogenic tumors. *J Cutan Pathol.* 2007; 34: 467-73.

Duflo S, Nicollas R, Roman S, Magalon G, Triglia JM. Pilomatrixoma of the head and neck in children. A study of 38 cases and a review of the literature. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998; 124: 1239-42.

El-Sissy NA, Rashad NA. CK13 in craniopharyngioma versus related odontogenic neoplasms and human enamel organ. *Eastern Mediterranean Health Journal.* 1999; (5)3: 490-502.

Farrier S, Morgan M. bcl-2 expression in pilomatricoma. *Am J Dermatopathol.* 1997; 19(3): 254-7.

Fayyazi A, Soruri A, Radzun HJ, Peters JH, Berger H. Cell renewal, cell differentiation and programmed cell death (apoptosis) in pilomatrixoma. *Br J Dermatol.* 1997; 137(5): 714-20.

Fernández-Miranda JC, Gardner PA, Snyderman CH, Devaney KO, Strojan P, Suárez C *et al.* Craniopharyngioma: a pathologic, clinical and surgical review. *Head Neck.* 2012; 34(7): 1036-44.

Fukushima M. Simple ameloblastoma with ghost cell and granular cell components. *Acta Pathol Jpn.* 1983; 33(6): 1215-21.

Fregnani ER, Pires FR, Quezada RD, Shih IeM, Vargas PA, Almeida OP. Calcifying odontogenic cyst: clinicopathological features and immunohistochemical profile of 10 cases. *J Oral Pathol Med.* 2003; 32: 163-70

Garnett MR, Puget S, Grill J, Saint-Rose C. Craniopharyngioma. *Orphanet Journal of Rare Diseases.* 2007; 2:18.

Gay Escoda C, Berini Aytes L, Malet Hernandez D, Garcia Jimenez A. Pilomatrixoma. Review of 179 cases. *Rev Eur Odontoestomatol.* 1991; 3(3): 191-200.

Gorlin RJ, Pindborg JJ, Clausen FP, Vickers RA. The calcifying odontogenic cyst – A possible analogue of the cutaneous calcifying epithelioma de Malherbe. An analysis of fifteen cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1962; 15(10): 1235-43.

Gorlin RJ, Pindborg JJ, Redman RS, Williamson JJ, Hansen LS. The calcifying odontogenic cyst. A new entity and possible analogue of the cutaneous calcifying epithelioma of Malherbe. *Cancer.* 1964; (6)17: 723-9.

Guinot-Moya R, Valmaseda-Castellón E, Berini-Aytes L, Gay-Escoda C. Pilomatrixoma. Review of 205 cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011; 16(4): e552-5.

Hammarström S. The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol.* 1999; 9(2): 67-81.

Hardisson D, Linares D, Cuevas-Santos J, Contreras F. Pilomatrix Carcinoma. A clinicopathologic study of six cases and review of the literature. *Am J Dermatopathol.* 2001; 23(5): 394-401.

Hassanein AM, Glanz SM, Kessler HP, Eskin TA, Liu C. β -Catenin is expressed aberrantly in tumors expressing shadow cells. Pilomatricoma, craniopharyngioma, and calcifying odontogenic cyst. *Am J Clin Pathol.* 2003; 120: 732-6.

Hassanein AM, Glanz SM. b-catenin expression in benign and malignant pilomatrix neoplasms. *Br J Dermatol.* 2004; 150: 511-16.

Hirshberg A, Kaplan I, Buchner A. Calcifying odontogenic cyst associated with odontoma: a possible separate entity (odontocalcifying odontogenic cyst). *J Oral Maxillofac Surg.* 1994; 52: 555-8.

Hofmann BM, Kreutzer J, Saeger W, Buchfelder M, Blümcke I, Fahlbusch R *et al.* Nuclear β -catenin accumulation as reliable marker for the differentiation between cystic craniopharyngiomas and Rathke cleft cysts: a clinico-pathologic approach. *Am J Surg Pathol.* 2006; 30: 1595-603.

Hölsken A, Buchfelder M, Fahlbusch R, Blümcke I, Buslei R. Tumour cell migration in adamantinomatous craniopharyngiomas is promoted by activated Wnt-signalling. *Acta Neuropathol.* 2010; 119: 631- 9.

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

Hurt MA, Kaddu S, Kutzner H, Cribier B, Schulz T, Hartschuh W. Benign tumours with follicular differentiation. In: LeBoit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A, editors.

World Health Organization classification of tumours. Pathology & genetics - skin tumours. IARC Press: Lyon; 2006. p. 153-5.

Ishige T, Kikuchi K, Miyazaki Y, Hara H, Yoshino A, Terui T *et al.* Differentiation and apoptosis in pilomatrixoma. *Am J Dermatopathol.* 2011; 33: 60-4.

Johnson A, Fletcher M, Gold L, Chen SY. Calcifying odontogenic cyst: a clinicopathologic study of 57 cases with immunohistochemical evaluation for cytokeratin. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55: 679-83.

Julian CG, Bowers PW. A clinical review of 209 pilomatrixomas. *J Am Acad Dermatol.* 1998; 39: 191-5.

Kaveri H, Punnya A. Pilomatrixoma: A dermal analog of calcifying odontogenic cyst. *Indian J Dent Res.* 2008; 19(3): 261-3.

Kaddu S, Soyer HP, Hodl S, Kerl H. Morphological stages of pilomatrixoma. *Am J Dermatopathol.* 1996; 18(4): 333-8.

Kato K, Nakatani Y, Kanno H, Inayama Y, Ijiri R, Nagahara N *et al.* Possible linkage between specific histological structures and aberrant reactivation of the Wnt pathway in adamantinomatous craniopharyngioma. *J Pathol.* 2004; 203: 814-21.

Kikuchi K, Ito S, Inoue H, González-Alva P, Miyazaki Y, Sakashita H *et al.* Immunohistochemical expression of podoplanin in so-called hard α -keratin-expressing tumors, including calcifying cystic odontogenic tumor, craniopharyngioma, and pilomatrixoma. *J Oral Sci.* 2012; 54(2): 165-75.

Kim S, Ahn S, Kim S, Park J, Lee S, Kim J *et al.* Investigation of the β catenin gene in a case of dentinogenic ghost cell tumor. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 103: 97-101.

Kim YS, Shin DH, Choi JS, Kim KH. The immunohistochemical patterns of the B-catenin expression in pilomatrixoma. *Ann Dermatol.* 2010; 22(3): 284-9.

Kishimoto S, Makoto N, Hideya T, Hirokazu Y. Detection of Apoptosis by In Situ Labeling in Pilomatricoma. *Am J Dermatopathol*. 1996; 18(4): 339-43.

Kleihues P, Louis DN, Wiestler OD, Burger PC, Scheithauer. WHO grading of tumours of the central nervous system. In: Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, editores. World health organization classification of tumours of the central nervous system. International Agency for Research on Cancer: Lyon; 2007. p. 10-11.

Klymkowsky MW. β -catenin and its regulatory network. *Hum Pathol*. 2005; 36: 225-7.

Krahl D, Sellheyer K. Basal cell carcinoma and pilomatrixoma mirror human follicular embryogenesis as reflected by their differential expression patterns of SOX9 and b-catenin. *Br J Dermatol*. 2010; 162: 1294-301.

Kuhajda FP. Fatty-Acid Synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. *Nutrition*. 2000; 16: 202-8.

Kurosaki M, Saeger W, Lüdecke DK. Immunohistochemical localization of cytokeratins in craniopharyngioma. *Acta Neurochir*. 2001; 143: 147-51.

Kusama K, Katayama Y, Oba K, Ishige T, Kebusa Y, Okasawa J *et al*. Expression of hard α -keratins in pilomatrixoma, craniopharyngioma, and calcifying odontogenic cyst. *Am J Clin Pathol*. 2005; 123: 376-81.

Lan MY, Lan MC, Ho CY, Li WY, Lin CZ. Pilomatricoma of the head and neck: a retrospective review of 179 cases. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003; 129(12): 1327-30.

Le BH, Towfighi J, Kapadia SB, Lopes MB. Comparative immunohistochemical assessment of craniopharyngioma and related lesions. *Endocr Pathol*. 2007; 18: 23-30.

Ledesma-Montes C, Gorlin RJ, Shear M, Praetorius F, Mosqueda-Taylor A, Altini M *et al.* International collaborative study on ghost cell odontogenic tumours: calcifying cystic odontogenic tumour, dentinogenic ghost cell tumour and ghost cell odontogenic carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2008; 37: 302-8.

Li TJ, Yu SF. Clinicopathologic spectrum of the so-called calcifying odontogenic cysts. A study of 21 intraosseous cases with reconsideration of the terminology and classification. *Am J Surg Pathol.* 2003; 27(3): 372-84.

Lo Muzio L. A possible role for the Wnt-1 pathway in oral carcinogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2001; 12(2): 152-65.

Lombardi T, Lock C, Samson J, Odell EW. S100, α -smooth muscle actin and cytokeratin 19 immunohistochemistry in odontogenic and soft tissue myxomas. *J Clin Pathol.* 1995; 48: 759-62.

Lucchese A, Scivetti M, Pilolli GP, Favia G. Analysis of ghost cells in calcifying cystic odontogenic tumors by confocal laser scanning microscopy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104: 391-4.

Lukinmaa PL, Leppäniemi A, Hietanen J, Allemanni G, Zardi L. Features of odontogenesis and expression of cytokeratins and tenascin-C in three cases of extraosseous and intraosseous calcifying odontogenic cyst. *J Oral Pathol Med.* 1997; 26: 265-72.

Mennerich D, Vogel A, Klamann I, Dahl E, Lichtner RB, Rosenthal A *et al.* Shift of syndecan-1 expression from epithelial to stromal cells during progression of solid tumors. *European Journal of Cancer.* 2004; 40: 1373-82.

Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell.* 1982; 31: 11-24.

Montel-Hagen A, Sitbon M, Taylor N. Erythroid glucose transporters. *Curr Opin Hematol.* 2009; 16(3): 165-72.

Moreno-Bueno G, Gamallo C, Perez-Gallego L, Contreras F, Palacios J. β -catenin expression in pilomatrixomas. Relationship with β -catenin gene mutations and comparison with β -catenin expression in normal hair follicles. *British Journal of Dermatology.* 2001; 145: 576-81.

Muller C, Adroos N, Lockhat Z, Slavik T, Kruger H. Toothy craniopharyngioma: A literature review and case report of craniopharyngioma with extensive odontogenic differentiation and tooth formation. *Childs Nerv Syst.* 2011; 27: 323-6.

Müller HL. Childhood craniopharyngioma. *Pituitary.* 2013; 16: 56-67.

Nakamura T. A reappraisal on the modes of cell death in pilomatricoma. *J Cutan Pathol.* 1999; 26: 125-9.

Nakamura Y, Kanemura Y, Yamada T, Sugita Y, Higaki K, Yamamoto M *et al.* D2-40 antibody immunoreactivity in developing human brain, brain tumors and cultured neural cells. *Modern Pathology.* 2006; 19: 974-85.

Nakamura T. Comparative immunohistochemical analyses on the modes of cell death/keratinization in epidermal cyst, trichilemmal cyst and pilomatricoma. *Am J Dermatopathol.* 2011; 33: 78-83.

Narisawa Y, Kohda H. Cutaneous cysts of Gardner's syndrome are similar to follicular stem cells. *J Cutan Pathol.* 1995: 115-21.

Nayil K, Makhdoomi R, Ramzan A, Zahoor S, Rasool M, Wani A *et al.* Childhood tumors of the brain: demographic pattern over a ten-year period in the Kashmir Valley. *Pediatr Neurosurg.* 2011; 47(1): 31-7.

North PE, Waner M, Mizeracki A, Mihm MC. GLUT 1: A newly discovered immunohistochemical marker for juvenile hemangiomas. *Hum Pathol.* 2000; 31: 11-22.

O'Connor N, Patel M, Umar T, Macpherson DW, Ethunandan M. Head and neck pilomatricoma: an analysis of 201 cases. *Br J Oral Maxillof Surg*. 2011; 49: 354-8.

Pallari HM, Eriksson JE. Intermediate filaments as signaling platforms. *Sci STKE*. 2006; 366: 53.

Park SW, Suh KS, Wang HY, Kim ST, Sung HS. b-Catenin expression in the transitional cell zone of pilomatricoma. *Br J Dermatol*. 2001; 145: 624-9.

Paulus W, Stöckel C, Krauss J, Sörensen N, Roggendorf W. Odontogenic classification of craniopharyngiomas: a clinicopathological study of 54 cases. *Histopathology*. 1997; 30: 172-6.

Pekmezci M, Louie J, Gupta N, Bloomer MM, Tihan T. Clinicopathological characteristics of adamantinomatous and papillary craniopharyngiomas: University of California, San Francisco experience 1985-2005. *Neurosurgery*. 2010; 67: 1341-9.

Pham TT, Selim MA, Burchette JL Jr, Madden J, Turner J, Herman C. CD10 expression in trichoepithelioma and basal cell carcinoma. *J Cutan Pathol*. 2006; 33(2): 123-8.

Piatelli A, Fioroni M, Di Alberti L, Rubini C. Immunohistochemical analysis of a dentinogenic ghost cell tumour. *Oral Oncol*. 1998; 34(6): 502-7.

Pinkus GS, Kurtin PJ. Epithelial membrane antigen - a diagnostic discriminant in surgical pathology: immunohistochemical profile in epithelial, mesenchymal, and hematopoietic neoplasms using paraffin sections and monoclonal antibodies. *Hum Pathol*. 1985; 16(9): 929-40.

Pirouzmanesh A, Reinisch JF, Gonzalez-Gomez I, Smith EM, Meara JG. Pilomatrixoma: a review of 346 cases. *Plast Reconstr Surg*. 2003; 112: 1784-9.

Plumb S, Argenyi Z, Stone M, De Young B. Cytokeratin 5/6 immunostaining in cutaneous adnexal neoplasms and metastatic adenocarcinoma. *Am J Dermatopathol.* 2004; 26: 447-51.

Poomsawat S, Punyasingh J, Vejchapipat P. Expression of basement membrane components in odontogenic tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007; 104: 666-75.

Praetorius F, Hjorting-Hansen E, Gorlin RJ, Vickers RA. Calcifying odontogenic cyst. Range, variations and neoplastic potential. *Acta Odontol Scand.* 1981; 39: 227-40.

Praetorius F, Ledesma-Montes C. Calcifying cystic odontogenic tumour. In: Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D, editors. *World health organization classification of tumours. Pathology & genetics – head and neck tumors.* IARC Press: Lyon; 2005. p. 313.

Prahbu VC, Brown HG. The pathogenesis of craniopharyngiomas. *Childs Nerv Syst.* 2005; 21: 622-7.

Prieto R, Pascual JM, Subhi-Issa I, Jorquera M, Yus M, Martinez R. Predictive Factors for Craniopharyngioma Recurrence: A Systematic Review and Illustrative Case Report of a Rapid Recurrence. *World Neurosurg.* 2012; [Epub ahead of print].

Regezi JA. Odontogenic cysts, odontogenic tumors, fibrous, and giant cell lesions of the jaws. *Mod Pathol.* 2002; 15(3): 331-41.

Rushing EJ, Giangaspero F, Paulus W, Burger PC. Craniopharyngioma. In: Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, editors. *World health organization classification of tumours of the central nervous system.* International Agency for Research on Cancer: Lyon; 2007. p. 238-40.

Sanders D.S.A, Carr R.A. The use of immunohistochemistry in the differential diagnosis of common epithelial tumours of the skin. *Curr Diag Pathol.* 2007; 13: 237-51.

Sanderson RD, Hinkes MT, Bernfield M. Syndecan-1, a cell-surface proteoglycan, changes in size and abundance when keratinocytes stratify. *J Invest Dermatol.* 1992; 99: 390-6.

Satomura K, Nakanishi H, Fujisawa K, Hayashi E, Nagayama M. Initiation of ectopic epithelial calcification in a calcifying odontogenic cyst. *J Oral Pathol Med.* 1999; 28: 330-5.

Sekine S, Sato S, Takata T, Fukuda Y, Ishida T, Kishino M *et al.* β -Catenin mutations are frequent in calcifying odontogenic cysts, but rare in ameloblastomas. *Am J Pathol.* 2003; 163(5): 1707-12.

Sekine S, Takata T, Shibata T, Mori M, Morishita Y, Noguchi M *et al.* Expression of enamel proteins and LEF1 in adamantinomatous craniopharyngioma: evidence for its odontogenic epithelial differentiation. *Histopathology.* 2004; 45: 573-9.

Shear M, Speight P. Cysts of the oral and maxillofacial regions. Blackwell Munksgaard. 4a ed. 2007; 100-7.

Shin JL, Asa SL, Woodhouse LJ, Smyth HS, Ezzat S. Cystic Lesions of the Pituitary: Clinicopathological Features Distinguishing Craniopharyngioma, Rathke's Cleft Cyst, and Arachnoid Cyst. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 3972–82.

Silva SD, Cunha IW, Rangel AL, Jorge J, Zecchin KG, Agostini M *et al.* Differential expression of fatty acid synthase (FAS) and ErbB2 in nonmalignant and malignant oral keratinocytes. *Virchows Arch.* 2008; 453(1): 57-67.

Takata T, Zhao M, Nikai H, Uchida T, Wang T. Ghost cells in calcifying odontogenic cyst express enamel-related proteins. *The Histochemical Journal.* 2000; 32: 223-9.

Tanaka A, Okamoto M, Yoshizawa D, Ito S, Alva PG, Ide F *et al.* Presence of ghost cells and the Wnt signaling pathway in odontomas. *J Oral Pathol Med.* 2007; 36: 400-4.

Tateyama H, Tada T, Okabe M, Takahasi E, Eimoto T. Different keratin profiles in craniopharyngioma subtypes and ameloblastomas. *Pathol Res Pract.* 2001; 197: 735-42.

Tavangar SM, Larijani B, Mahta A, Hosseini SM, Mehrazine M, Bandarian F. Craniopharyngioma: a clinicopathological study of 141 cases. *Endocrine Pathology.* 2004; 15(4): 339-44.

Taylor M, Couto-Silva AC, Adan L, Trivin C, Sainte-Rose C, Zerah M *et al.* Hypothalamic-Pituitary Lesions in Pediatric Patients: Endocrine Symptoms Often Precede Neuro-Ophthalmic Presenting Symptoms. *J Pediatr.* 2012; 161(5): 855-63.

Tena-Suck ML, Salinas-Lara C, Arce-Arellano RI, Rembao-Bojórquez D, Morales-Espinoza D, Sotelo J *et al.* Clinico pathological and immunohistochemical characteristics associated to recurrence/regrowth of craniopharyngiomas. *Clinical neurology and neurosurgery.* 2006; 108: 661-9.

Thompson L. D. R. Pilomatricoma. *Ear Nose Throat J.* 2012; 91(1): 18-20.

Wang YP, Chang YF, Wang JT, Liu BY, Sun A, Chiang CP. Characteristics of calcifying odontogenic cyst in Taiwanese. *J Formos Med Assoc.* 2003; 102: 715-21.

Xia J, Urabe K, Moroi Y, Koga T, Duan H, Li Y *et al.* Beta-catenin mutation and its nuclear localization are confirmed to be frequent causes of Wnt signaling pathway activation in pilomatricomas. *J Dermatol Sci.* 2006; 41(1): 67-75.

Xin W, Rubin MA, McKeever PE. Differential expression of cytokeratins 8 and 20 distinguishes craniopharyngioma from Rathke cleft cyst. *Arch Pathol Lab Med.* 2002; 126: 1174-8.

Xu X, Lyle S, Liu Y, Solky B, Cotsarelis G. Differential expression of cyclin D1 in the human hair follicle. *Am J Pathol.* 2003; 163(3): 969-78.

Yada K, Kashima K, Daa T, Kitano S, Fujiwara S, Yokoyama S. Expression of CD10 in basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol.* 2004; 26(6): 463-71.

Yoshida M, Kumamoto H, Ooya K, Mayanagi H. Histopathological and immunohistochemical analysis of calcifying odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med.* 2001; 30: 582-8.

Yoshimura Y, Obara S, Mikami T, Matsuda S. Calcifying epithelioma (pilomatrixoma) of the head and neck: analysis of 37 cases. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 35(6): 429-32.

Apêndice 1. Dados demográficos e clínicos dos 21 casos com diagnóstico de pilomatricoma.

n	Id	G	Localização	Aspecto clínico	Tamanho(cm)	Procedência
1	16	M	Infra-auricular	nd	1.8x1.2x1.2	Guatemala
2	34	M	Ombro	Nódulo subcutâneo assintomático	1.7x1.5x1.5	Guatemala
3	6	M	Braço	Nódulo azulado assintomático	0.8x0.8	Guatemala
4	6	F	Pré-auricular	Nódulo subcutâneo assintomático	0.8x0.8x0.5	Guatemala
5	11	F	Ângulo mandibular	Nódulo subcutâneo móvel	2.5x1.8x1.5	Guatemala
6	26	M	NF	Nódulo subcutâneo flutuante	0.5	Guatemala
7	5	F	Bochecha	Lesão cística	2x2x0.6	Guatemala
8	9	M	Pré-auricular	Nódulo subcutâneo doloroso	2x1.5x0.5	Guatemala
9	NF	F	Pré-auricular	Nódulo subcutâneo	0.7x0.4x0.3	Guatemala
10	23	M	Tórax	Tumoração subcutânea	1.5x1x0.5	Guatemala
11	22	F	Pré-auricular	Nódulo subcutâneo assintomático, móvel, duro	3.5x2.7x1.5	Guatemala
12	10	M	Pálpebra	Tumoração subcutânea	0.9x0.8x0.3	Guatemala
13	23	F	Ombro	Nódulo subcutâneo duro	1.1x0.3x0.7	Guatemala
14	13	M	Ângulo mandibular	Tumoração subcutânea assintomática, móvel, dura	2.5x2x0.4	Guatemala
15	14	M	Bochecha	Nódulo subcutâneo assintomático duro	2.5	Guatemala
16	3	F	Infra-orbitária	Nódulo subcutâneo	0.5x0.3x0.2	Guatemala
17	4	F	Nuca	Nódulo subcutâneo assintomático	0.8	Guatemala
18	75	M	Lábio	Nódulo	0.5x0.5x0.3	Brasil
19	30	M	Pescoço	Nódulo subcutâneo	2x1.5x1	Brasil
20	16	M	Dorso	Nódulo subcutâneo	1x0.5x0.5	Brasil
21	12	M	Ângulo mandibular	Nódulo	1.4x1.3x1.2	Brasil

Id - Idade, **G** - Gênero (**M** - masculino, **F** - feminino), **nd** - não disponível.

Apêndice 2. Dados demográficos e clínicos dos 14 casos com diagnóstico de craniofaringioma.

n	Id	G	Localização	Clínica	Tamanho(cm)	Procedência
1	6	M	Supraselar	nd	2.1x0.8	Guatemala
2	9	F	Supraselar	nd	3x2.2x1.5	Guatemala
3	63	F	Supraselar	Cefaleia, náusea, vômito	2x1.5x0.5	Guatemala
4	34	M	Supraselar/Infraselar	nd	2x1x0.5	Guatemala
5	3	M	Supraselar	Ressecção prévia de massa supraselar há 2 anos	3x2	Guatemala
6	10	F	Supraselar	Cefaleia, visão borrada	3x2.5x1	Guatemala
7	2	M	Supraselar	nd	8x6x2	Guatemala
8	58	F	Supraselar	nd	5.5x3x1	Guatemala
9	59	M	Supraselar	Processo recorrente	3.5x2.2x0.5	Guatemala
10	5	M	Supraselar	Estrabismo com 15 dias de evolução	3.5x2x0.4	Guatemala
11	40	F	Supraselar	Cefaleia, alterações de campos visuais	4x2x0.8	Guatemala
12	5	F	Supraselar	nd	4.9x3	Guatemala
13	7	F	Supraselar	nd	2x1x1	Guatemala
14	14	M	Supraselar	nd	2.8x2x0.8	Guatemala

Id - Idade, **G** - Gênero (**M** - masculino, **F** - feminino), **nd** - não disponível.

Apêndice 3. Dados demográficos, clínicos e radiográficos dos 8 casos com diagnóstico de tumor odontogênico cístico calcificante.

n	Id	G	Localização	Aspecto clínico-radiográfico	Tamanho(cm)	Procedência
1	54	F	Mandíbula, região pré-molares	Lesão radiolúcida na região do 43 e 44. Dor à palpação	2x1.6x0.7	Guatemala
2	29	M	Mandíbula, região anterior	Lesão radiolúcida na região do 35 ao 42	1.8x1x0.7	Guatemala
3	66	F	Mandíbula, região anterior	nd	1.7x1.5x1	Brasil
4	69	M	Mandíbula, região pré-molares	Lesão radiolúcida entre 44 e 45, com expansão da cortical vestibular	0.9x0.4x0.3	Brasil
5	46	F	Maxila, região anterior	Lesão entre 22 e 23	2.5x1.5x0.6	Brasil
6	36	M	Mandíbula, região anterior	Lesão mista unilocular, na região do 35 ao 45, com aspecto de flocos de algodão, expansão da cortical vestibular e lingual e reabsorção de dentes	1.5x0.9x0.5	Brasil
7	11	F	Maxila, região anterior	Lesão mista unilocular, entre 22 e 24, com deslocamento dental	1x0.2x0.2	Brasil
8	66	M	Mandíbula, região pré-molares	Lesão radiolúcida, com abaulamento na região do 34	0.8x0.6x0.5	Brasil

Id - Idade, **G** - Gênero (**M** - masculino, **F** - feminino), **nd** - Não disponível.

Apêndice 4. Características histopatológicas avaliadas nos 21 casos com diagnóstico de pilomatricoma.

n	Padrão Arquitetural		Características Epiteliais						Estroma					Estágio	
	Sólido	Cístico	CB	CT	CF	CE	QL	Inf	Cal	MO	RG	Pig	Hist		Nec
1	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	Neg	RT
2	+	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	+	Neg	+	RI
3	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	Neg	+	+	Neg	Neg	Neg	RT
4	+	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	RI
5	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	Neg	RT
6	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	Neg	RT
7	+	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	RI
8	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	RT
9	+	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	+	Neg	Neg	RI
10	+	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	RI
11	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	Neg	+	+	Neg	+	Neg	RT
12	Neg	+	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+	CD
13	+	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	RI
14	+	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	RI
15	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	Neg	+	+	Neg	Neg	Neg	RT
16	+	Neg	+	+	+	Neg	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	RI
17	+	Neg	+	+	+	Neg	+	+	Neg	Neg	+	Neg	+	Neg	RI
18	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	I
19	+	Neg	Neg	Neg	+	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	RT
20	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg	RT
21	+	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	RI
Total (%)	90	10	57	57	100	52	62	81	0	29	76	10	10	33	

CB - Células Basalóides, **CT** - Células Transicionais, **CF** - Células fantasmas, **CE** - Células escamosas, **QL** - Queratina lamelar, **Inf** - Inflamação crônica, **Cal** - Presença de calcificação, **MO** - Metaplasia óssea, **RG** - Presença de reação granulomatosa a corpo estranho, **Pig** - Pigmentação, **Hist** - Histiócitos espumosos, **Nec** - Necrose, **I** - Estágio inicial, **CD** - Completamente desenvolvido, **RI** - Estágio regressivo inicial, **RT** - Estágio regressivo tardio.

Apêndice 5. Características histopatológicas avaliadas nos 14 casos com diagnóstico de craniofaringioma.

n	Padrão Arquitetural			Características Epiteliais								Estroma						
	S	C	M	CBP	SRE	CT	CF	CE	QL	ER	Inf	Cal	MO	RG	Pig	Hist	Nec	CC
1	Neg	+	Neg	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	+	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
2	Neg	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	+	Neg	Neg	+	+
3	Neg	Neg	+	+	+	Neg	+	+	Neg	+	+	+	Neg	Neg	+	+	Neg	Neg
4	Neg	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	Neg
5	Neg	+	Neg	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	+	+	Neg	+	+	Neg
6	Neg	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg
7	+	Neg	Neg	+	+	+	+	Neg	Neg	+	+	+	Neg	+	Neg	Neg	Neg	Neg
8	Neg	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	+	Neg	+	+	Neg
9	Neg	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	Neg
10	Neg	+	Neg	+	+	Neg	+	+	Neg	Neg	+	+	Neg	+	+	+	Neg	+
11	Neg	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	+	Neg	+	Neg	Neg
12	Neg	+	Neg	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	+	Neg	+	Neg	Neg
13	Neg	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	Neg	+	+	Neg	Neg
14	Neg	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	+	+	+	Neg	Neg
Total (%)	7	29	64	100	100	86	100	93	0	86	100	100	7	64	43	71	21	14

S - Sólido, **C** - Cístico, **M** - Misto, **CBP** - Camada basal em paliçada, **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **CT** - Células transicionais, **CF** - Células fantasmas, **CE** - Células escamosas, **QL** - Queratina lamelar, **ER** - Estruturas em padrão de redemoinho, **Inf** - Inflamação, **Cal** - Presença de calcificação, **MO** - Metaplasia óssea, **RG** - Presença de reação granulomatosa a corpo estranho, **Pig** - Pigmentação, **Hist** - Histiócitos espumosos, **Nec** - Necrose, **CC** - Cristais de colesterol.

Apêndice 6. Características histopatológicas avaliadas nos 8 casos com diagnóstico de tumor odontogênico cístico calcificante.

n	Padrão Arquitetural		Características Epiteliais							Estroma					
	Sólido	Cístico	CBP	SRE	CT	CF	CE	QL	ER	Inf	Cal	RG	Dent	Nec	CC
1	Neg	+	+	+	+	+	Neg	Neg	Neg	+	+	Neg	+	Neg	+
2	Neg	+	+	Neg	+	+	+	Neg	Neg	+	+	+	+	Neg	+
3	+	Neg	+	+	+	+	+	Neg	+	+	Neg	+	Neg	+	Neg
4	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+	Neg	Neg
5	Neg	+	+	Neg	+	+	+	Neg	Neg	+	+	+	+	Neg	Neg
6	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	+	+	+	+	+	Neg	+
7	Neg	+	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	+	Neg	+	Neg	Neg
8	+	Neg	+	+	+	+	+	Neg	Neg	+	+	Neg	Neg	Neg	Neg
Total (%)	25	75	100	75	100	100	88	0	25	100	75	50	75	13	38

CBP - Camada basal em paliçada, **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **CT** - Células transicionais, **CE** - Células escamosas, **CF** - Células fantasmas, **QL** - Queratina lamelar, **ER** - Estruturas em padrão de redemoinho, **Inf** - Inflamação, **Cal** - Presença de calcificação, **RG** - Presença de reação granulomatosa a corpo estranho, **Dent** - Presença de material dentinóide, **Nec** - Necrose, **CC** - Cristais de colesterol.

Apêndice 7. Perfil imunistoquímico por tipo celular nos 21 casos com diagnóstico de pilomatricoma.

n	AE1/AE3				CK8				CK14				CK19			
	CB	CT	CF	CE	CB	CT	CF	CE	CB	CT	CF	CE	CB	CT	CF	CE
1	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
2	+f	Neg	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	+f						
3	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
4	+f	+	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	+f						
5	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
6	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
7	+f	Neg	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	Neg						
8	/	/	+	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
9	+f	+	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	Neg						
10	+f	+	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	+f						
11	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
12	+f	+	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	Neg						
13	+f	+	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	Neg						
14	Neg	Neg	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	Neg						
15	/	/	+	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
16	+f	++	+	/	Neg	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/
17	+f	++	+	/	Neg	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/
18	+f	Neg	Neg	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	Neg						
19	/	/	+	+++	/	/	Neg	Neg	/	/	Neg	++f	/	/	Neg	+f
20	/	/	+	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
21	Neg	Neg	+	+++	Neg	++f	Neg	Neg	Neg	+f						
Total (%)	83	58	71	100	0	100	0	0	0	45						

CB - células basalóides, **CT**- Células transicionais, **CF** - Células fantasmas, **CE** – Células escamosas, **f** – positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente.

Continua Apêndice 7. Perfil imunistoquímico dos tipos celulares dos 21 casos com diagnóstico de pilomatricoma.

n	CD138				β-Catenina				Glut-1			
	CB	CT	CF	CE	CB	CT	CF	CE	CB	CT	CF	CE
1	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
2	+++	+f	Neg	+++	+++m	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+++f
3	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
4	+++	Neg	Neg	+++	+++m	Neg	Neg	+m	Neg	Neg	Neg	+++f
5	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
6	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
7	+++	+f	Neg	+++	+++m	Neg	Neg	+m	Neg	Neg	Neg	+++f
8	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
9	+++	+f	Neg	+++	+++m	Neg	Neg	+m	Neg	Neg	Neg	++f
10	+++	Neg	Neg	+++	+++m	Neg	Neg	+m	Neg	Neg	Neg	++f
11	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
12	+++	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++f
13	+++	Neg	Neg	+++	+++m	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+++f
14	+++	Neg	Neg	+++	+++m	Neg	Neg	+m	Neg	Neg	Neg	+++f
15	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
16	+++	Neg	Neg	/	+++m	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/
17	+++	+f	Neg	/	+++m	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/
18	++f	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++f
19	/	/	Neg	+++	/	/	Neg	Neg	/	/	Neg	++f
20	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
21	+++	Neg	Neg	+++	+++m	Neg	Neg	+m	Neg	Neg	Neg	+f
Total (%)	100	33	0	100	83	0	0	55	0	0	0	100

CB - células basalóides, **CT**- Células transicionais, **CF** - Células fantasmas, **CE** - Células escamosas, **f** - positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente, **m** - padrão de membrana.

Continua apêndice 7. Perfil imunoistoquímico dos tipos celulares dos 21 casos com diagnóstico de pilomatricoma.

n	D2-40				FAS				CD10			
	CB	CT	CF	CE	CB	CT	CF	CE	CB	CT	CF	CE
1	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
2	Neg	Neg	Neg	Neg	+++	++	+f	+	++	Neg	Neg	Neg
3	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
4	Neg	Neg	Neg	Neg	+++	++	Neg	+	+++	Neg	Neg	++f
5	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
6	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
7	Neg	Neg	Neg	Neg	+++	++	Neg	+	+++	Neg	Neg	Neg
8	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
9	Neg	Neg	Neg	Neg	+++	+	Neg	+	+++	Neg	Neg	Neg
10	Neg	Neg	Neg	Neg	++	+	Neg	+	++	Neg	Neg	++f
11	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
12	Neg	Neg	Neg	Neg	+	+	Neg	+	++	Neg	Neg	Neg
13	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+	++	Neg	Neg	Neg
14	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	Neg	+	++	Neg	Neg	Neg
15	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
16	Neg	Neg	Neg	/	+	+	Neg	/	++	Neg	Neg	/
17	Neg	Neg	Neg	/	+	Neg	Neg	/	++	Neg	Neg	/
18	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg
19	/	/	Neg	Neg	/	/	Neg	Neg	/	/	Neg	Neg
20	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/	/	/	Neg	/
21	Neg	Neg	Neg	Neg	++	+	Neg	+	++	Neg	Neg	Neg
Total (%)	0	0	0	0	83	67	5	82	100	0	0	18

CB - células basalóides, **CT**- Células transicionais, **CF** - Células fantasmas, **CE** - Células escamosas, **f** - positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente.

Apêndice 8. Perfil imunoistoquímico por tipo celular nos 14 casos com diagnóstico de craniofaringioma.

n	AE1/AE3						CK8						CK14					
	CPB	SRE	CT	CF	CE	ER	CPB	SRE	CT	CF	CE	ER	CPB	SRE	CT	CF	CE	ER
1	+++	+++	+++	+	+++	/	++	++	+f	Neg	+++	/	+++	Neg	+++	Neg	++f	/
2	+++	+++	+++	+	/	+++	Neg	+++	Neg	Neg	/	+	+++	Neg	+++	Neg	/	Neg
3	+++	+++	/	+	+++	Neg	++	++f	/	Neg	+++	Neg	+	+f	/	Neg	Neg	Neg
4	+++	+++	+++	+	+++	Neg	Neg	++f	Neg	Neg	++	+++	+	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
5	+++	+++	+++	+	+++	+	Neg	+	++f	Neg	+++	++	+++	Neg	++	Neg	+	Neg
6	+++	+++	+++	+	+++	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	++	Neg	++	+f	Neg	Neg	++f	Neg
7	+++	+++	+++	+	/	++	Neg	++f	Neg	Neg	/	Neg	+	+f	+f	Neg	/	Neg
8	+++	+++	+++	+	+++	Neg	+	++	++	Neg	+	+++	+f	+f	+++	Neg	+	Neg
9	+++	+++	+++	+	+++	Neg	++	++	+++	Neg	++	+	+f	+f	+++	Neg	Neg	Neg
10	+++	+++	+++	+	+++	/	++	++	+++	Neg	+++	/	++	Neg	++	Neg	++	/
11	+++	+++	+++	Neg	+++	++	+	++	Neg	Neg	Neg	+++	+	+f	Neg	Neg	Neg	Neg
12	+++	+++	+++	Neg	+++	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	+++	+++	+	+f	++	Neg	++	Neg
13	+++	+++	+++	+	+++	Neg	++	+++	Neg	Neg	Neg	++	++	Neg	+++	Neg	++	Neg
14	+++	+++	+++	+	+++	Neg	+	++	++	Neg	+++	+++	+	Neg	+	Neg	+++	Neg
Total (%)	100	100	100	86	100	33	57	100	46	0	83	75	100	50	77	0	67	0

CPB - Camada basal em paliçada, **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **CF** - Células fantasmas, **CT** - Células transicionais, **CE** - Células escamosas, **ER** - Estruturas em padrão de redemoinho, **f** - positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente.

Continua apêndice 8. Perfil imunistoquímico por tipo celular nos 14 casos com diagnóstico de craniofaringioma.

n	CK19						CD138						β-Catenina					
	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER
1	Neg	Neg	++f	Neg	++	/	Neg	Neg	++f	Neg	++	/	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	/
2	Neg	+++	+++	Neg	/	Neg	Neg	+++	++f	Neg	/	++	+++fnc	Neg	++n	Neg	/	++ n
3	++f	++	/	Neg	Neg	Neg	++f	+++	/	Neg	+++	++	Neg	Neg	/	Neg	Neg	+ n
4	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+	+	Neg	Neg	++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
5	Neg	+++	++	Neg	+	Neg	Neg	+++	++f	Neg	++	++	Neg	Neg	++n	Neg	Neg	+++n
6	Neg	+++	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	++	++	Neg	Neg	++n	Neg	Neg	++n
7	Neg	+++	Neg	Neg	/	Neg	++f	++	++	Neg	/	++	Neg	Neg	Neg	Neg	/	Neg
8	Neg	+++	+++	Neg	+++	Neg	Neg	++	+++	Neg	Neg	++	Neg	Neg	++n	Neg	Neg	+n
9	Neg	++	+++	Neg	+	Neg	Neg	++	Neg	Neg	++	++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
10	Neg	Neg	+++	Neg	+++	/	Neg	Neg	+++	Neg	+	/	Neg	Neg	+n	Neg	Neg	/
11	Neg	++	++f	Neg	+	Neg	Neg	+	++	Neg	++	++	Neg	Neg	+n	Neg	Neg	+n
12	Neg	Neg	+++	Neg	+++	Neg	Neg	+	++	Neg	+++	++	Neg	Neg	+n	Neg	Neg	++c
13	+	++	+++	Neg	++	Neg	Neg	++	+	Neg	Neg	++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
14	+	+++	++	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+c
Total (%)	21	79	77	0	83	0	14	79	77	0	67	92	7	0	50	0	0	67

CBP - Camada basal em paliçada, **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **CF** - Células fantasmas, **CT** - Células transicionais, **CE** - Células escamosas, **ER** - Estruturas em padrão de redemoinho, **f** - positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente, **n** - padrão nuclear, **c** - padrão citoplasmático.

Continua apêndice 8. Perfil imunistoquímico por tipo celular nos 14 casos com diagnóstico de craniofaringioma.

n	Glut-1						D2-40						FAS						CD10					
	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER
1	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	/	+++f	Neg	Neg	Neg	+++	/	Neg	Neg	++	+f	Neg	/	Neg	Neg	+++	Neg	+++	/
2	Neg	Neg	+++	Neg	/	Neg	+++	+++f	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/	Neg	/	Neg	Neg	Neg	+++	Neg	/	+++
3	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	Neg	+++f	/	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	Neg	/	Neg	+++	+++
4	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+++f	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	+f	Neg	+	Neg	Neg	Neg	Neg	+++	+++
5	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	+++	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	++	++	Neg	Neg	+++	Neg	+++	+++
6	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	+++f	++	+++f	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	Neg	++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	+++
7	Neg	Neg	+++	Neg	/	+++	+++f	Neg	Neg	Neg	/	Neg	Neg	Neg	++	Neg	/	++	Neg	Neg	Neg	Neg	/	+++
8	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	++	+++f	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	+	+	Neg	Neg	+++	Neg	+++	+++
9	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	+++	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	++	+	Neg	Neg	+++	Neg	+++	+++
10	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	/	++	Neg	Neg	Neg	++	/	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	/	Neg	Neg	/	Neg	+++	+++
11	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	Neg	+	Neg	Neg	+++	Neg	+++	+++
12	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	+++	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	++	++	Neg	Neg	+++	Neg	+++	+++
13	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	++	+++f	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	Neg	++	Neg	Neg	+++	Neg	+++	+++
14	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	Neg	+f	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	++	Neg	Neg	++	Neg	Neg	+++	Neg	+++	+++
Total (%)	0	0	92	0	0	17	71	79	0	0	17	0	0	85	14	33	92	0	0	75	0	92	100	

CBP - Camada basal em paliçada, **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **CF** - Células fantasmas, **CT** - Células transicionais, **CE** - Células escamosas, **ER** - Estruturas em padrão de redemoinho, **f** - positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente.

Apêndice 9. Perfil imunoistoquímico por tipo celular nos 8 casos com diagnóstico de tumor odontogênico cístico calcificante.

n	AE1/AE3						CK8						CK14					
	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER
1	+++	+++	+++	+	/	/	Neg	Neg	Neg	Neg	/	/	+	+	++	Neg	/	/
2	+++	/	+++	+	+++	/	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/	++	/	++	Neg	++	/
3	+++	+++	+++	+	+++	+	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	++	Neg	++	Neg
4	+++	+++	+++	+	+++	/	+++	+++	Neg	Neg	+	/	+	+	++	Neg	++	/
5	+++	/	+++	+	+++	/	Neg	/	Neg	Neg	+++	/	+	/	++	Neg	++	/
6	+++	+++	+++	+	+++	+	+++	+++	+++	Neg	Neg	+++	+	Neg	++	Neg	++	Neg
7	+++	+++	+++	+	+++	/	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	/	++	+	++	Neg	++	/
8	+++	+++	+++	+	+++	/	+++	+++	+++	Neg	++	/	++	+	++	Neg	++	/
Total (%)	100	100	100	100	100	100	38	50	38	0	43	100	88	67	100	0	100	0

CBP - Camada basal em paliçada, **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **CF** - Células fantasmas, **CT** - Células transicionais, **CE** - Células escamosas, **ER** - Estruturas em padrão de redemoinho, **f** - positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente.

Continua Apêndice 9. Perfil imunoistoquímico por tipo celular nos 8 casos com diagnóstico de tumor odontogênico cístico calcificante.

n	CK19						CD138						β-Catenina					
	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER
1	+++	++	+++	Neg	/	/	Neg	Neg	+++	Neg	/	/	+cm	Neg	++cn	Neg	/	/
2	+++	/	+++	Neg	+++	/	Neg	/	+++	Neg	+++	/	+++cm	/	+++n	Neg	++m	/
3	Neg	Neg	+	Neg	++	+++	Neg	++	+++	Neg	+++	++	++cm	+m	Neg	Neg	++m	+n
4	Neg	Neg	+	Neg	++	/	Neg	++	+++	Neg	+++	/	Neg	Neg	++n	Neg	Neg	/
5	+++	/	++	Neg	+++	/	++	/	Neg	Neg	+	/	+cmn	/	++n	Neg	+m	/
6	+++	Neg	+++	Neg	+	+++	Neg	Neg	+++	Neg	+	Neg	+cmn	+m	++m	Neg	Neg	+n
7	+++	++	+++	Neg	++	/	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	/	+cm	+m	+cn	Neg	Neg	/
8	+++	++	+++	Neg	++	/	++	++	+++	Neg	+++	/	+cmn	+mn	+cn	Neg	+m	/
Total (%)	75	50	100	0	100	100	25	50	75	0	86	50	88	67	88	0	57	100

CBP - Camada basal em paliçada, **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **CF** - Células fantasmas, **CT** - Células transicionais, **CE** - Células escamosas, **ER** - Estruturas em padrão de redemoinho, **f** - positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente, **n** - padrão nuclear, **c** - padrão citoplasmático, **m** - padrão de membrana.

Continua Apêndice 9. Perfil imunohistoquímico por tipo celular nos 8 casos com diagnóstico de tumor odontogênico cístico calcificante.

n	Glut-1						D2-40						FAS						CD10					
	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER	CBP	SRE	CT	CF	CE	ER
1	Neg	Neg	+++	Neg	/	/	Neg	Neg	Neg	Neg	/	/	Neg	Neg	++	Neg	/	/	Neg	Neg	+++	Neg	/	/
2	Neg	/	+++	Neg	Neg	/	++	/	++	Neg	++	/	+	/	++	Neg	++	/	Neg	/	+++	Neg	+++	/
3	Neg	++	+++	Neg	++	Neg	Neg	Neg	++	Neg	+	Neg	+	+++	++	Neg	+++	++	Neg	Neg	+++	Neg	+	+++
4	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	/	Neg	Neg	+	Neg	Neg	/	Neg	Neg	+	Neg	++	/	Neg	Neg	+++	Neg	+++	/
5	Neg	/	Neg	Neg	Neg	/	++	/	+	Neg	++	/	+	/	+	Neg	+	/	Neg	/	+++	Neg	+++	/
6	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	Neg	++	Neg	++	Neg	++	Neg	Neg	Neg	+	Neg	Neg	++	Neg	Neg	+++	Neg	+++	+++
7	Neg	Neg	+++	Neg	Neg	/	++	Neg	+	Neg	++	/	+	Neg	+	Neg	+	/	Neg	Neg	+++	Neg	++	/
8	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	/	++	Neg	++	Neg	+	/	+	+	++	+	+	/	Neg	Neg	+++	Neg	++	/
Total (%)	0	17	75	0	14	0	63	0	88	0	86	0	63	33	100	13	86	100	0	0	100	0	100	100

CBP - Camada basal em paliçada, **SRE** - Células semelhantes ao retículo estrelado, **CF** - Células fantasmas, **CT** - Células transicionais, **CE** - Células escamosas, **ER** - Estruturas em padrão de redemoinho, **f** - positividade focal, **+** - intensidade fraca, **++** - intensidade moderada, **+++** - intensidade forte, **/** - tipo celular não presente.

ANEXO



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa **"Estudo clinicopatológico e imunoistoquímico comparativo entre pilomatrixoma, craniofaringioma e tumor odontogênico cístico calcificante"**, protocolo nº 143/2011, dos pesquisadores Alicia Rumayor Piña e Oslei Paes de Almeida, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 31/01/2012.

The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project **"Comparative clinicopathological and immunohistochemical study of pilomatrixoma, craniopharyngioma and calcifying cystic odontogenic tumor"**, register number 143/2011, of Alicia Rumayor Piña and Oslei Paes de Almeida, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 01/31/2012.


Profa. Dra. Livia Maria Andakó Tenuta
Secretária
CEP/FOP/UNICAMP


Prof. Dr. Jacks Jorge Junior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.