

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

Michel Calil Abrão Neto

**Análise da imunexpressão da esclerostina em lesões fibro-ósseas dos
maxilares**

Juiz de Fora
2023

Michel Calil Abrão Neto

**Análise da imunexpressão da esclerostina em lesões fibro-ósseas dos
maxilares**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica. Área de concentração em Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Davi Rabelo

Coorientadora: Prof^a. Dr^a: Neuza Maria Souza Picorelli Assis

Juiz de Fora

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Abrão Neto, Michel Calil.

Análise da imunoexpressão da esclerostina em lesões fibro-ósseas dos maxilares / Michel Calil Abrão Neto. -- 2023.

54 f. : il.

Orientador: Gustavo Davi Rabelo

Coorientadora: Neuza Maria Souza Picorelli Assis

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Odontologia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, 2023.

1. Displasia Fibrosa Óssea. 2. Fibroma Ossificante. 3. Displasia Cimento-Óssea Periapical. 4. Imunohistoquímica. 5. Esclerostina. I. Davi Rabelo, Gustavo, orient. II. Assis, Neuza Maria Souza Picorelli, coorient. III. Título.

Michel Calil Abrão Neto

**Análise da imunexpressão da esclerostina em lesões fibro-ósseas dos
maxilares**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica. Área de concentração em Clínica Odontológica.

Aprovada em 14/04/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gustavo Davi Rabelo
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Dra. Neuza Maria Souza Picorelli Assis
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Matheus Furtado de Carvalho
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Rogério de Oliveira Gondak
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Davi Rabelo, Usuário Externo**, em 14/04/2023, às 15:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Neuza Maria Souza Picorelli Assis, Professor(a)**, em 14/04/2023, às 15:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Matheus Furtado de Carvalho, Professor(a)**, em 14/04/2023, às 15:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rogério Gondak, Usuário Externo**, em 14/04/2023, às 18:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Uff (www2.uff.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador **1236571** e o código CRC **0FF6287E**.

Dedico esse trabalho a todos os pacientes que de alguma forma contribuíram para a evolução da ciência ao longo dos anos. Dedico também a todos os pesquisadores que não medem esforços para ajudar o próximo e criar alternativas para melhora da qualidade de vida na terra.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por guiar meus passos, iluminar meus caminhos e manter-me firme perante as adversidades.

Aos meus pais que me proporcionaram as oportunidades para que eu pudesse construir minha profissão e trilhar o caminho da docência. Obrigado por inúmeras vezes terem abdicado dos seus sonhos em prol do meu crescimento.

Ao meu irmão Marcel, meu braço direito, cúmplice e amigo para todas as situações. Agradeço por ter tornado a trajetória da vida mais leve, alegre e completa. Juntos nós somos, e sempre seremos uma fortaleza.

À minha esposa Sarah por toda a dedicação, amor e atenção pela nossa família. Obrigado por ser essa mulher incrível, compreender minhas ausências e estar sempre disposta a ajudar em todos os momentos de nossas vidas.

Aos meus filhos Alice e Michel que representam a minha motivação diária. Obrigado por trazerem mais sentido à minha vida e ensinar-me um jeito novo e pleno de amar. O papai estará sempre aqui para vocês, não importa o que aconteça.

Ao meu querido orientador Prof. Gustavo Davi Rabelo pelo apoio incondicional e todos os ensinamentos compartilhados nessa caminhada. Minha eterna gratidão e admiração por esse profissional humano, competente e dedicado pelos propósitos da ciência. Sem você a realização desse sonho não seria possível.

À minha querida coorientadora Prof^a. Neuza Maria Souza Picorelli Assis, que me recebeu de braços abertos na UFJF de forma tão acolhedora, confiando plenamente no meu trabalho, contribuindo para o meu crescimento profissional e sendo fundamental para o meu ingresso no programa de pós-graduação.

Ao meu grande amigo Prof. Matheus Furtado de Carvalho por ter sido uma referência profissional na busca pelo mestrado e por ter aberto as portas da instituição para me receber. Agradeço por tantos desafios e conquistas compartilhadas ao longo desses anos.

Aos membros do projeto de extensão SECO - Serviço Especializado de Cirurgia Oral, juntamente com a Prof^a. Neuza Maria, coordenadora do projeto, e os Profs. Breno Nogueira e Matheus Furtado que permitiram a realização da pesquisa e parte do meu estágio docente.

Ao Prof. Rogério Gondak, da UFSC, pelo apoio incondicional e pelos conhecimentos compartilhados. Sua contribuição foi fundamental para o desenvolvimento do nosso trabalho. Registro aqui a nossa eterna gratidão.

Aos amigos Kelli Scatolin, Riéli Elis Shulz e Thiago Pires Claudio que Deus colocou no meu caminho para que essa pesquisa fosse possível, e que por inúmeras vezes foram minhas mãos e braços à distância. Muito obrigado por tudo.

À Letícia Barbosa Gonçalves, Laura Machado Ferraz Santos e Cláudio Leite da Silva Júnior, por todas as orientações e apoio, e principalmente por nunca medirem esforços em nos ajudar no que fosse necessário.

Aos meus amigos mestres da UFJF por todas as experiências compartilhadas, em especial à Daniela Figueiredo, Letícia Martins e Adriano Loures pelo apoio incondicional ao longo dessa trajetória.

Aos meus alunos, professores e colaboradores do UNIPTAN AFYA por me apoiarem nessa caminhada e compreenderem o propósito dessa importante etapa em minha carreira.

Aos pacientes que aceitaram participar dessa pesquisa e que estão contribuindo para o desenvolvimento da ciência.

A todos os alunos e professores da UFJF e do UNIPTAN AFYA que não foram citados, com quem eu tenho oportunidade de aprender e ensinar diariamente.

E aos demais, que de alguma forma, contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional, buscando sempre o ideal de ajudar o próximo e melhorar a vida dos pacientes.

Os agradecimentos institucionais para: Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina (LPB/UFSC, registro CONEP B-051), Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Patologia da Universidade Federal de Santa Catarina, Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, em especial, ao Laboratório de Anatomia-Patológica do Instituto Central do HCFMUSP, da Universidade de São Paulo, nas pessoas de Deiziane de Souza e Luciana, que auxiliaram na digitalização das lâminas.

"Nossas digitais jamais se apagam das vidas que tocamos. Que cada oportunidade de cura represente uma dádiva, tanto para quem se doa, quanto para quem a recebe" – Michel Calil

RESUMO

A esclerostina, uma proteína codificada pelo gene SOST, atua como um regulador negativo da formação óssea, uma vez que antagoniza algumas vias de sinalização, dentre elas algumas relacionadas à remodelação óssea. É uma proteína expressa principalmente pelos osteócitos, e também por outras populações celulares. O objetivo do estudo foi avaliar a expressão da esclerostina em lesões fibro-ósseas benignas (LFOBs) dos maxilares. Foi realizado um estudo retrospectivo, transversal, unicêntrico, com o levantamento de casos diagnosticados como LFOBs. Os casos selecionados foram separados, e os blocos de parafina foram acessados para confecção de lâminas histológicas para ambas as técnicas de: a) histoquímica, pela coloração em Hematoxilina e Eosina; b) imunohistoquímica, para avaliar a expressão da esclerostina. Foram também utilizadas 6 amostras de osso normal, advindas de indivíduos saudáveis, para o grupo controle. Foram analisados 66 cortes histológicos provenientes de 40 biópsias realizadas em 32 pacientes, sendo 20 lesões em mulheres (62,5%) e 12 lesões em homens (37,5%). Um total de 18 casos de LFOBs foram avaliados considerando o laudo de anatomia-patológica, já os casos que foram classificados com o laudo e o diagnóstico clínico, foram: 6 casos de displasia fibrosa; 4 casos de fibroma ossificante trabecular juvenil; 2 casos de fibroma ossificante psamomatóide; e 2 casos de displasia cemento-óssea. Houve expressão positiva para esclerostina em 21 biópsias (52,5%). Houve mais marcação no tecido fibroso do que no componente ósseo, e nos casos de marcação em células ósseas, apenas duas biópsias mostraram positividade no osso lesional, sendo os demais com marcação positiva no osso perilesional. No componente fibroso, as células marcadas tinham um fenótipo semelhante aos mastócitos, e as células positivas estavam frequentemente próximas aos espaços vasculares. No grupo controle, encontrou-se marcação positiva em algumas células nos espaços medulares e em poucos osteócitos. Conclui-se que as lesões fibro-ósseas benignas dos maxilares podem expressar esclerostina, e essa expressão se dá em maior parte no componente fibroso, em células com morfologia semelhante aos mastócitos. Ainda, a esclerostina também é expressa no componente ósseo em casos pontuais, além também de ser encontrada expressão positiva no osso perilesional em alguns casos.

Palavras-chave: Displasia Fibrosa Óssea, Fibroma Ossificante, Displasia Cemento-Óssea Periapical, Osso, Imuno-Histoquímica.

ABSTRACT

Sclerostin, a product of the SOST gene, acts as a negative regulator of bone formation, primarily because of its properties of inhibition of some signaling pathways related to bone remodeling. The sclerostin is mainly secreted by osteocytes, but also, by other cell populations. The aim of the study was to assess the sclerostin expression in Benign Fibro-Osseous Lesions (BFOL) of the jaws. A retrospective, transversal, unicenter study selected the cases diagnosed as BFOL. The selected cases were retrieved, and the paraffin blocks were assessed for histological slides to be submitted for a) histochemistry by Hematoxylin and Eosin stain; b) immunohistochemistry for sclerostin expression. For the control group, 6 cases of normal bone harvested from healthy individuals were selected. A total of 66 histological slides from 40 biopsies of 32 patients were analyzed, 20 lesions in females (62.5%) and 12 lesions (37.5%) in male individuals. Eighteen cases were classified as BFOL based only on the anatomical analysis, and the other cases were classified by both clinical and pathological diagnosis, as follows: 06 cases of Fibrous Dysplasia; 4 cases of Juvenile trabecular ossifying fibroma; 2 cases of Psammomatoid ossifying fibroma; and 2 cases of Cemento-osseous dysplasia. There was a positive sclerostin expression in 21 biopsies (52.5%). The marked cells were more present in the fibrous tissue than in the bone. In the cases with positivity in the osteocytes, only 2 were revealed to be in the intralesional bone, and in the other cases, the positivity was found to be in the osteocytes within the perilesional bone. At the fibrous component, marked cells revealed a phenotype similar to the mast cells, and the sclerostin-positive cells were majorly close to the vascular spaces. In the control group, it was found that sclerostin was expressed in cells both at the medullary spaces and in a few osteocytes. In conclusion, Benign Fibro-Osseous Lesions can express sclerostin, and this expression is mostly concentrated in the fibrous tissue, in mast cell-like cells. In addition, sclerostin is also expressed in the intralesional bone in some specific cases, and on the lesion-surrounding bone.

Keywords: Fibrous Dysplasia; Ossifying Fibroma; Cemento-osseous Dysplasia, Bone, Immunohistochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Etapa de recuperação antigênica. A: Aparelho Banho Maria Digital com circulação. B: Lâminas imersas em solução de tampão citrato em banho maria a 96°C por 40 minutos. 30
- Figura 2 - Preparo da lâmina para a incubação do anticorpo. A: Caneta hidrofóbica. B: Marcação com caneta hidrofóbica ao redor do material presente na lâmina para limitar a dispersão do anticorpo na lâmina. 30
- Figura 3 - Incubação do anticorpo primário. A: Pipetas Eppendorf com volume ajustável. B: Coleta do anticorpo no micro tubo Eppendorf. C: Aplicação do anticorpo nas áreas delimitadas. D: Montagem das lâminas em câmara úmida para overnight em geladeira. 31
- Figura 4 - Lâminas prontas para análise e escaneamento. 32
- Figura 5 - Avaliação histopatológica e expressão da Esclerostina em lesão fibroóssea benigna. Caso de Displasia Fibrosa (A-D). A: DF corada em H&E. B: Coloração em azul de toluidina evidenciando algumas células com áreas citoplasmáticas hiper-crômicas em coloração arroxeada e núcleo azulado centralizado, com fenótipo similar a um mastócito. C: Expressão da Esclerostina no componente fibroso visualizada em menor aumento. Células marcadas em marrom dispersas em toda a área analisada. D: Células marcadas expressando Esclerostina em tecido fibroso dispersas na imagem. E: LFOB com expressão da Esclerostina próxima a estrutura compatível com espaço vascular. Nota-se a marcação citoplasmática com coloração marrom. F: DF revelando algumas células com marcação citoplasmática amarronzada, no componente fibroso. 36
- Figura 6 - Avaliação histopatológica e expressão da Esclerostina em tecido ósseo. A: A seta amarela representa um osteócito expressando Esclerostina localizado em osso maduro perilesional. B: A seta amarela representa um osteócito em osso intralesional expressando Esclerostina. 36

- Figura 7 - Gráfico de expressão da Esclerostina nos componentes fibroso e 37
ósseo nos casos avaliados, com dados utilizados no teste de
associação.
- Figura 8 - Avaliação histopatológica e expressão da Esclerostina em tecido 38
ósseo sem alterações da normalidade. A seta amarela aponta para
um osteócito expressando a proteína Esclerostina.
- Figura 9 - Avaliação histopatológica e expressão da Esclerostina em tecido 38
ósseo sem alterações da normalidade. A: Em maior aumento é
possível observar a presença de algumas marcações da
Esclerostina nos espaços medulares do osso sem alterações. B:
Em maior aumento é possível observar com mais detalhes a
coloração marrom citoplasmática evidenciando a marcação da
Esclerostina.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Lesões fibro-ósseas, divididas entre pacientes do sexo masculino e feminino.	27
Tabela 2	- Lesões fibro-ósseas, divididas por faixa etária.	33
Tabela 3	- Lesões fibro-ósseas, divididas por área de localização.	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DF	Displasia fibrosa
DCO	Displasia cemento-óssea
FOPs	Fibroma ossificante psamomatóide
FOTJ	Fibroma ossificante trabecular juvenil
GSK3	Enzima glicogênio sintase cinase
H&E	Coloração Hematoxilina e Eosina
IHQ	Imunohistoquímica
IL-6	Interleucina 6. Mediador de resposta inflamatória
IL-8	Interleucina 8. Mediador de resposta imune inata
LFOB	Lesão fibro-óssea benigna
LFOBs	Lesões fibro-ósseas benignas
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPG	Osteoprotegerina
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
SOST	Gene codificador da glicoproteína esclerostina
TDFO	Tumores e displasias fibro-ósseas
TNF α	Fator de crescimento tumoral
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
Wnt/beta-catenina	Via responsável pela regulação da massa óssea

LISTA DE SÍMBOLOS

~	Aproximadamente
%	Porcentagem
mg	Miligrama
µL	Microlitro
®	Marca registrada
µm	Micrometro
°C	Escala CELSIUS
°	Graus

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 LESÕES FIBRO-ÓSSEAS BENIGNAS.....	19
2.1.1 Displasia Fibrosa.....	20
2.1.2 Displasia Cimento-Óssea.....	21
2.1.3 Fibroma Ossificante Trabecular Juvenil	22
2.1.4 Fibroma Ossificante Psamomatóide	23
2.2 ESCLEROSTINA.....	23
2.3 OSTEOIMUNOLOGIA.....	24
3 OBJETIVO	26
3.1 OBJETIVO GERAL.....	26
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 CASUÍSTICA.....	27
4.1.1 Critérios de Inclusão.....	28
4.1.2 Critérios de Exclusão.....	28
4.2 AMOSTRAS.....	28
4.2.1 Análise Qualitativa	29
4.2.2 Imunohistoquímica	29
4.2.3 Escaneamento e Análise	32
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
5 RESULTADOS	33
5.1 DADOS CLÍNICO-DEMOGRÁFICOS.....	33
5.2 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E EXPRESSÃO DA ESCLEROSTINA...	34
6 DISCUSSÃO	40
7 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXO 1 – PARECER DO CEP	48

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo compõe um sistema dinâmico que passa por remodelação contínua ao longo da vida, e que proporciona homeostase do cálcio plasmático. Basicamente, esse processo ocorre através de um mecanismo permanente classificado como remodelação óssea, no qual os osteoclastos reabsorvem parte do tecido ósseo presente, enquanto os osteoblastos ficam responsáveis pela formação de um novo osso, repondo aquele tecido que foi reabsorvido (KOIDE e KOBAYASHI, 2019). O osso representa, portanto, um tecido altamente coordenado, composto por tipos principais de células com funções bem definidas: osteócitos, osteoblastos, osteoclastos e células indiferenciadas (XIAO et al., 2016). Os ossos maxilares, maxila e mandíbula, remodelam continuamente em resposta a estímulos variados, fisiológicos ou patológicos, podendo ou não estar relacionados com as lesões orais. Um desequilíbrio entre a formação e a reabsorção óssea pode levar a um aumento ou diminuição da densidade óssea (KOIDE e KOBAYASHI, 2019).

Diversas lesões acometem a cavidade oral e os ossos maxilares, e dentre elas, algumas se desenvolvem de forma intraóssea e outras nos tecidos moles, posteriormente invadindo o osso adjacente. Todas estas lesões orais com potencial osteolítico, independente se centrais ou periféricas, apresentam uma íntima relação com o osso, que se remodela e responde quando acometido e/ou invadido. As lesões fibro-ósseas benignas (LFOB), ou também classificadas como tumores e displasias fibro-ósseas (TDFO), caracterizam-se como um grupo de lesões em que o osso normal é substituído por tecido conjuntivo fibroso, apresentando também uma quantidade variável de osso, osteóide ou cemento. Essas lesões do esqueleto maxilofacial constituem um grupo heterogêneo de distúrbios, incluindo lesões de desenvolvimento, reativas (displásicas) e neoplásicas (MAINVILLE, et al., 2017; VERED E WRIGHT, 2022). A displasia fibrosa (DF) e a displasia cemento-óssea (DCO) são as lesões mais comuns neste grupo. Lesões menos comuns são o fibroma ossificante trabecular juvenil (FOTJ) e o fibroma ossificante psammomatóide (FOPs), seguidos por condições raras como a displasia odontomaxilar segmental e o cementoma gigantiforme familiar (VERED e WRIGHT, 2022). Essas condições compartilham muitas características histológicas, porém, divergem em muitos aspectos como achados clínicos, radiográficos e intraoperatórios distintos (NELSON e PHILIPS, 2019).

Para melhor compreensão dos mecanismos envolvidos no processo de adaptação óssea no desenvolvimento e progressão das lesões intra ou extraósseas, é necessário averiguar o papel de cada célula óssea e sua resposta frente aos mediadores químicos e moleculares presentes no processo de remodelação. Orquestrando toda a sensibilidade aos estímulos mecânicos e o reparo de danos no osso, os osteócitos, imersos em sua rede de intercomunicação chamada sistema lacunocanalicular, direcionam os eventos para remodelação. A rede de osteócitos é capaz de fornecer sinais parácrinos e endócrinos para a iniciação da atividade osteoblástica, bem como indicar a quantidade necessária da produção de nova matriz (BELLIDO, 2014). Qualquer alteração presente no fluxo na rede de canais dos osteócitos sinaliza a presença de alteração, que por sua vez, faz com que estas células respondam com a produção de quimiotáticos que modulam a atividade de osteoblastos e osteoclastos (SAPIR-KOREN e LIVSHITS, 2014; RABELO et al. 2020). O osteócito representa um papel fundamental na homeostase óssea do esqueleto adulto, e não se caracteriza apenas como uma célula passiva, atuando diretamente na regulação funcional de osteoblastos e osteoclastos, inclusive através de sinalização hormonal para o controle da massa óssea, sendo considerados os mecanosensores do osso (DALLAS et al., 2013; KLEIN-NUEND et al., 2012).

A Esclerostina, uma proteína secretada pelos osteócitos, atua como um regulador negativo da formação óssea que antagoniza algumas vias principais durante a remodelação. Esta proteína é considerada um antagonista das proteínas morfogenéticas do osso (BMP, do inglês *bone morphogenetic protein*) e atua na via do Wnt. A desregulação da expressão de Esclerostina, codificada do gene SOST, também está relacionada à fisiopatologia de distúrbios esqueléticos caracterizados pela perda de massa óssea (BELLIDO, 2014; SAPIR-KOREN e LIVSHITS, 2014). Uma compreensão mais completa dos mecanismos de resposta óssea no desenvolvimento e progressão das lesões dos maxilares seria fundamental para a possibilidade de controle da propagação da lesão, nortear procedimentos cirúrgicos mais conservadores e minimizar as sequelas provenientes do desenvolvimento dessas lesões. Ainda nessa linha de raciocínio, justifica-se entender como o tecido ósseo e seus estímulos estão alterados nas LFOBs.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Para melhor entendimento do assunto, a seguinte revisão de literatura foi conduzida a fim de esclarecer a inter-relação entre as lesões fibro-ósseas dos maxilares, a esclerostina e a osteoimunologia.

2.1 LESÕES FIBRO-ÓSSEAS BENIGNAS

As lesões fibro-ósseas benignas (LFOBs), também denominadas como tumores e displasias fibro-ósseas (TDFO), apresentam características histológicas compatíveis com estroma fibroblástico hiper celular, contendo várias combinações de osso, tecido semelhante a cimento, e podendo conter calcificações. A variação do componente fibroso engloba fibroblastos monomórficos e fibras colágenas finas. Suas características relacionadas à ossificação também são bastante variáveis, incluindo tecido ósseo metaplásico, paralelismo trabecular osteoblástico e conglomerados curvilíneos (LEE, et al., 2021).

A literatura apresenta certa variação em relação à classificação das LFOBs, principalmente pelas alterações na nomenclatura dos tipos de lesões que foram reconhecidas e posteriormente alteradas novamente. A classificação publicada em 2017 pela Organização Mundial da Saúde (OMS) havia trazido algumas modificações na classificação dessas lesões na qual o grupo de revisão da OMS de 2017 apoiava, por exemplo, a terminologia de displasia cemento óssea em relação a classificação anterior de displasia óssea por relacionar as lesões com os dentes e sua origem nos tecidos periodontais. A 5ª edição da Classificação de Tumores de Cabeça e Pescoço da Organização Mundial de Saúde, publicada no ano de 2022, trouxe novas modificações para a classificação dessas lesões. As lesões do grupo de lesões fibro-ósseas displásicas e tumorais são: displasia cemento-ossificante, displasia odontomaxilar segmental, displasia fibrosa, fibroma ossificante trabecular juvenil, fibroma ossificante psamomatóide e cementoma gigantiforme familiar. Desta forma, dependendo do ano da publicação das pesquisas, os autores acabam utilizando nomenclaturas distintas, porém referindo-se ao mesmo tipo de lesão (SOLUK-TEKKESIN, et al., 2021; VERED E WRIGHT, 2022).

Considerando os principais tipos de LFOBs, o FOTJ e o FOPs são tipos de neoplasias benignas com características de crescimento mais agressivo. A DCO é

representada pela produção anormal ou desorganizada de tecido ósseo, enquanto a DF representa uma condição congênita não hereditária resultante de uma falha no processo de remodelação e substituição gradual do tecido ósseo normal e da medula óssea por tecido fibroso. Uma falha na maturação resulta na substituição gradual do osso normal por tecido fibroso celular que contém quantidades variáveis de trabéculas ósseas irregulares e tecidos osso. A etiologia, patogênese e razão para essa predisposição encontrada nas LFOBs dos maxilares permanecem ainda não totalmente entendidas (MAINVILLE, et al., 2017).

A definição do tratamento deve ser personalizada para cada paciente com base nos sintomas clínicos, na localização das lesões fibro-ósseas e na evolução da lesão. A sintomatologia e as queixas estéticas também compõem o quadro a ser analisado. Na ausência de sintomas, as lesões de crescimento lento muitas vezes podem ser acompanhadas em uma abordagem mais conservadora, por meio do acompanhamento clínico e imaginológico. Em alguns casos, a cirurgia pode ser a estratégia terapêutica mais eficaz, principalmente para lesões envolvendo a órbita ou a base do crânio (LEE, et al., 2021).

As LFOBs passam basicamente por mudanças de três estágios em relação a sua estrutura. As alterações radiológicas iniciam com uma fase radiolúcida e avançam para uma fase mista mais madura que possui estruturas internas radiopacas e radiolúcidas, até finalmente alcançar uma fase predominantemente radiopaca. Portanto, a interpretação radiológica das LFOBs deve ser sistemática e completa (SOLUK-TEKKESIN, et al., 2021).

2.1.1 Displasia Fibrosa

Quando as lesões estão limitadas apenas a um osso, são classificadas como monostóticas. Quando as lesões envolvem múltiplos ossos são classificadas como poliestóticas. As lesões podem ainda estarem associadas com anormalidades cutâneas e endócrinas. Quando múltiplos ossos do crânio são acometidos a terminologia comumente utilizada é displasia fibrosa craniofacial. A DF poliestótica geralmente é diagnosticada em pacientes na primeira ou segunda década de vida. Não há predileção por sexo e na maioria das vezes apresentam apenas a queixa principal de um inchaço indolor. As alterações clínicas podem variar de pequenos aumentos de volumes teciduais, o que muitas vezes representa uma queixa estética dos pacientes, até grandes expansões ósseas que podem envolver e afetar estruturas adjacentes. O

crânio está entre os locais mais afetados por este tipo de lesão e a literatura descreve uma predileção pela maxila em relação a mandíbula. (LEE, et al., 2021; NELSON E PHILLIPS, 2019). A DF polioestótica ocorre na infância e envolve pelo menos dois ossos ou mais de 75% do esqueleto. A apresentação clínica é caracterizada por lesões unilaterais ou edema ósseo bilateral, afetando principalmente o fêmur. Os ossos craniofaciais, tibia, pelve, costelas, úmero, rádio, fíbula e as vértebras também podem ser afetadas. Sintomas frequentemente presentes na primeira década de vida incluem dor óssea, claudicação, deformação óssea ou fraturas patológicas. Quando há manifestações cutâneas, como máculas café com leite, a condição é chamada de síndrome de Jaffe-Lichtenstein. Já a síndrome de McCune-Albright é caracterizada por uma tríade de DF polioestótica, lesões cutâneas e doenças endócrinas. Radiograficamente os diagnósticos diferenciais da DF incluem osteoma, osteoblastoma, osteosarcoma, condrosarcoma, meningioma, odontoma, metastase, granuloma eosinofílico e hemangioma intraósseo (LEE, et al., 2021).

2.1.2 Displasia Cimento-Óssea

A displasia cimento-óssea (DCO) é uma lesão não neoplásica que afeta os ossos relacionados ao suporte dentário. Sua incidência é aumentada na mandíbula em comparação a maxila. Atualmente está classificada em 3 tipos, sendo eles a DCO focal quando apenas um dente está envolvido, a DCO periapical quando a área afetada representa a região periapical dos incisivos inferiores e a DCO florida ou generalizada, quando as lesões se apresentam em múltiplos quadrantes. Por estar relacionada apenas a regiões com a presença de dentes, sua patogenicidade é associada a um processo reativo envolvendo a presença do ligamento periodontal. Historicamente a DCO apresenta uma predileção por indivíduos melanodermas do sexo feminino, na maioria das vezes, próximo a faixa etária da quarta década de vida (MAINVILLE, et al., 2017; NELSON E PHILLIPS, 2019). Normalmente as lesões se manifestam de maneira assintomática e muitas vezes descobertas em radiografias de rotina do consultório odontológico, com exceção da variante florida que em algumas situações pode causar sequestros ósseos e dor, em alguns poucos casos. Um achado clínico característico que contribui para o diagnóstico é que os dentes costumam permanecer vitais mesmo com a presença das lesões.

Radiograficamente, as lesões podem apresentar um aspecto misto de radiolucidez e radiopacidade, bordas bem delimitadas e formato levemente irregular

centralizado no ápice das raízes dentárias. Os exames radiográficos podem ainda sugerir o grau de maturação da lesão. Lesões recentes podem apresentar-se completamente radiolúcidas, em contrapartida, lesões maduras podem apresentar-se completamente radiopacas. Achados imaginológicos como perda da lâmina dura e aumento do espaço do ligamento periodontal são compatíveis com as DCO. Expansões corticais normalmente estão presentes nos casos de grandes lesões, porém a cortical externa permanece intacta (MAINVILLE, et al., 2017; NELSON E PHILLIPS, 2019).

Histologicamente as lesões consistem em um estroma fibroso frouxo associado a tecidos mineralizados. A porção mineralizada da DCO é composta por osso lamelar, osteóide e material semelhante ao cimento. Conforme as lesões se tornam mais maduras, tornam-se mais densas e menos celulares. Os diagnósticos diferenciais incluem as patologias pulpares como cistos e granulomas periapicais. O teste de vitalidade pulpar realizado clinicamente é fundamental para o fechamento do diagnóstico e definição da conduta. Nas DCO os dentes apresentam-se com vitalidade pulpar e na maioria dos casos não há necessidade de realização de procedimentos cirúrgicos para remoção, apenas a preservação e monitoramento (MAINVILLE, et al., 2017; NELSON E PHILLIPS, 2019).

2.1.3 Fibroma Ossificante Trabecular Juvenil

Classificado como um tipo de neoplasia benigna, o FOTJ apresenta características de crescimento mais agressivo e geralmente são encontrados na segunda década de vida, porém não estão restritos apenas a essa faixa etária. Não apresentam predileção por sexo, sendo mais frequente nos ossos gnáticos. Sua incidência é mais comum na maxila do que na mandíbula. Tumores menores são geralmente indolores, mas devido ao seu caráter de crescimento rápido e expansivo, podem causar assimetrias faciais severas, chegando até a desfiguração da face (NELSON E PHILLIPS, 2019; SOLUK-TEKKESIN, et al., 2021).

Histologicamente apresentam tecido fibroblástico frouxo com áreas de condensação do colágeno, com posterior deposição de minerais levando à formação de trabéculas de tecido ósseo. Caracteriza-se por um tumor não encapsulado com estroma hiper celular de células fusiformes, pouca produção de colágeno e longos fios delgados de osteóide. As trabéculas ósseas imaturas geralmente são desprovidas de rima osteoblástica. (CHRCANOVIC E GOMEZ, 2020). Radiograficamente podem

apresentar descontinuidade das corticais externas em virtude das severas expansões e do seu padrão de crescimento agressivo. O envolvimento de estruturas adjacentes é comum, e por vezes, os achados imaginológicos podem ser correlacionados com os sintomas dos pacientes. Grandes tumores podem alcançar os ossos do neurocrânio e a tomografia computadorizada costuma contribuir significativamente para o diagnóstico mais preciso dos limites da lesão e para a definição do plano de tratamento (NELSON E PHILLIPS, 2019).

2.1.3 Fibroma Ossificante Psamomatóide

O FOJP acomete em grande parte das vezes a região fronto-naso-órbito-etmoidal, incluindo os seios da face, que na maior parte das vezes, refere-se ao seio etmoidal. Devido ao seu caráter agressivo e expansivo, assim como no FOTJ, quando esse tipo de lesão acomete os seios da face e outras estruturas craniofaciais, podem causar sinais e sintomas associados a estruturas nobres adjacentes incluindo alterações visuais e olfatórias (NELSON E PHILLIPS, 2019). Sua incidência é maior em indivíduos adultos quando comparado ao FOTJ (CHRCANOVIC E GOMEZ, 2020).

Histologicamente apresentam estroma fibroso celular e calcificações esferoidais características chamados corpos de psamoma. Se apresenta como um tumor não encapsulado contendo múltiplos corpos basofílicos psamomatóides esféricos e irregulares. Os corpos de psamoma são relativamente acelulares e apresentam bordas eosinofílicas. Radiograficamente apresentam características semelhantes ao FOTJ. Por esse motivo não é possível diferenciar as duas lesões do ponto de vista imaginológico, sendo necessário que o cirurgião correlacione os dados como localização da lesão, idade e características histopatológicas (CHRCANOVIC E GOMEZ, 2020).

2.2 ESCLEROSTINA

A esclerostina é uma glicoproteína produto do gene SOST, localizado no cromossomo 17q21.31. É secretada principalmente por osteócitos maduros e representa um marcador de diferenciação de osteócitos. (INAGAKI et al., 2016; HOLDSWORTH, et al., 2019). A esclerostina é um regulador negativo da formação óssea que antagoniza a via de sinalização Wnt/beta-catenina, uma importante via que regula diversos fenômenos e eventos, inclusive durante o desenvolvimento

embrionário, como a organogênese, diferenciação, polarização e migração celular. A via Wnt/beta-catenina é uma via responsável direta na regulação da massa óssea, e na presença da esclerostina, a interação com o receptor Wnt presente nas células é inibida. A catenina é então fosforilada pela enzima glicogênio sintase cinase (GSK3) e degradada no proteossoma (GORDON et al., 2006; OMINSKY et al., 2011; TIEDELEWIS et al., 2017). Clinicamente, a perda da função do gene SOST em humanos está associada a dois distúrbios genéticos caracterizados por aumento da massa óssea, a esclerosteose e a doença de Van Buchem. Em contraste, a super expressão da esclerostina pode também resultar em diminuição da massa e resistência óssea, devido ao declínio da formação de novo osso. Uma vez que a esclerostina tenha sido secretada pelo osteócito, é possível que ela seja transportada até a superfície óssea por uma rede lacunocanalicular, desempenhando um papel chave na mecanotransdução ao inibir a formação osteoblástica. (SAPIR-KOREN e LIVSHITS, 2014).

A esclerostina foi identificada pela primeira vez em osteócitos e durante algum tempo associada como exclusiva dessas células. Ao longo das últimas duas décadas o RNA mensageiro codificado a partir do gene SOST foi identificado em diversos tecidos, inicialmente em cartilagem, rim, fígado e coração, e posteriormente em tecidos como epídimo, esfíncter pilórico, artérias carótidas e partes do cerebelo. Apesar da ideia inicial de atribuição exclusiva aos osteócitos, estudos posteriores confirmaram a expressão não osteocítica da esclerostina. Estudos mais específicos da presença da esclerostina em tecidos cartilagosos relataram sua positividade em condrócitos hipertróficos mineralizados, diferente da cartilagem articular não mineralizada onde a proteína não foi identificada, por exemplo. Corroborando com achados de outros estudos como o de Inagaki et al. 2016, no qual não foi observada a expressão da esclerostina em tumores ósseos não mineralizantes, existem indícios para sustentar a hipótese de que a proteína esclerostina seja expressa por células diferenciadas dentro de matrizes mineralizadas (WEIVODA, YOUSSEF e OURSIER, 2017). Em uma revisão recente, Dreyer et al. (2023) relataram que existe atuação da esclerostina no osso, cartilagem, músculo, fígado, rim e nos sistemas cardiovascular e imune.

2.3 OSTEOIMUNOLOGIA

Estudos recentes mostram que também há uma interação direta entre células imunes e ósseas, e curiosamente, essa comunicação entre o sistema imunológico e o osso ocorra de forma bidirecional, ou seja, de alguma forma as células ósseas também influenciam as células imunológicas. O processo fisiológico de reparo ósseo, por exemplo, é também orquestrado por células imunes, cuja desregulação pode retardar o reparo das fraturas. Condições sistêmicas que levam a diminuição de linfócitos, como no caso de pacientes imunocomprometidos, influenciam de forma negativa a regeneração óssea devido a uma redução na diferenciação osteoblástica e da mineralização óssea. Essa condição justifica, por exemplo, o retardo na consolidação de fraturas em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (PONZETTI and RUCCI, 2019).

Uma das primeiras fases da cicatrização óssea é caracterizada por um estado inflamatório, com liberação de IL-1, IL-6, e TNF- α , que recrutam linfócitos B e T, estes últimos tendo um papel pró-osteogênico ao liberar IL-17F. A citocina pró-inflamatória IL-17F é expressa durante a cicatrização óssea, aumentando os níveis de colágeno alfa-1 tipo I (Col1a1), osteocalcina e sialoproteínas ósseas. Neutrófilos também estão presentes durante a fase inicial da reparação óssea e atuam removendo detritos e células danificadas no local da ferida (PONZETTI and RUCCI, 2019). Os mastócitos fazem parte do sistema imunológico inato e derivam da linhagem de células-tronco mieloides. Os mastócitos maduros possuem muitos grânulos secretores cheios de mediadores pré-formados (por exemplo, histamina, IL-6, IL-8, TNF α , fator de crescimento derivado de plaquetas - PDGF, triptases, quimases), que podem ser rapidamente liberados durante a inflamação ou reações alérgicas, em um processo conhecido como degranulação de mastócitos. Além disso, os mastócitos também são capazes de sintetizar e liberar mediadores, incluindo IL-6, TNF α e fator de crescimento endotelial vascular. Pacientes que sofrem de mastocitose sistêmica, uma doença caracterizada por números elevados de mastócitos, frequentemente exibem um fenótipo ósseo osteoporótico. Como vários mediadores secretados por mastócitos foram descritos como tendo atividade osteocatabólica ou osteoanabólica, sugere-se um possível papel dos mastócitos na regulação do turnover ósseo (FISCHER E HAFFNER-LUNTZER, 2022).

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do estudo foi avaliar a expressão da esclerostina em lesões fibro-ósseas benignas dos maxilares.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a expressão imunohistoquímica da esclerostina nos diferentes tipos de lesões fibro-ósseas benignas (LFOBs): displasia fibrosa (DF), displasia cemento-óssea (DCO), fibroma ossificante trabecular juvenil (FOTJ) e fibroma ossificante psamomatóide (FOPs).
- Avaliar a expressão imunohistoquímica da esclerostina em mandíbula e maxila de indivíduos saudáveis sem lesões orais (grupo controle).
- Identificar se existe alguma relação entre a expressão da esclerostina com o osso acometido, se maxila ou mandíbula.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A seguinte seção apresenta a casuística e os recursos utilizados para desenvolvimento da pesquisa.

4.1 CASUÍSTICA

Este foi um estudo retrospectivo que incluiu um total de 32 pacientes, submetidos a 40 procedimentos cirúrgicos (biópsia incisional e/ou excisional), enviados e analisados no Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal de Santa Catarina (LPB/UFSC). O material é pertencente ao Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal (Registro CONEP B-051), onde foram obtidas também as fichas de biópsia contendo dados clínicos e outras informações, além dos blocos de parafina contendo o material biopsiado já processado para preparo histológico.

O material incluído na pesquisa representou 32 casos identificados com diagnóstico de LFOB, sendo: 18 pacientes (56,25%) com diagnóstico descritivo de LFOB e 14 casos de pacientes onde, além do diagnóstico descritivo, utilizou-se o diagnóstico clínico para categorização (43,75%). Dos casos com diagnóstico combinado (patológico + clínico), 06 eram de DF, 04 de FOTJ, 02 de FOPs e 02 de DCO, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Lesões fibro-ósseas benignas, divididas entre sexo masculino e feminino.

Lesões	Masculino (n)	%	Feminino (n)	%	Total (%)
<u>Diagnóstico baseado na análise histopatológica</u>					
LFOBs	6	33,3	12	66,6	56,25
<u>Diagnóstico baseado na correlação clínico-histopatológica</u>					
DF	3	50	3	50	18,75
FOTJ	2	50	2	50	12,5
FOPs	1	50	1	50	6,25
DCO	0	0	2	100	6,25
Total	12	37,5	20	62,5	100

LFOBs – Lesões fibro-ósseas benignas; DF – Displasia fibrosa; FOTJ – Fibroma ossificante trabecular juvenil; FOPs – Fibroma ossificante psamomatóide; DCO - Displasia cemento óssea.

Quatro pacientes apresentaram lesões tanto em maxila quanto em mandíbula. Dados clínicos e demográficos, incluindo idade, sexo, achados de imagem e localização da lesão, foram obtidos dos arquivos de biópsia.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (registro número: CAAE 28234620.0.0000.0121, aprovação número 4.063.334). A identidade dos pacientes permaneceu anônima de acordo com a Declaração de Helsinki.

Para averiguar a expressão da Esclerostina em osso normal (grupo controle), 06 amostras de osso saudável foram obtidas de indivíduos sem doenças sistêmicas, que seriam submetidos a procedimentos cirúrgicos do tipo exodontias. Estas amostras compunham o grupo controle de um macroprojeto intitulado “Avaliação do osso mandibular em pacientes com lesões benignas e malignas da cavidade oral”, também coordenado pelo orientador desta pesquisa, e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF – CAAE: 85565618.3.1001.5147 - Parecer: 2.757.535). Estes indivíduos não tinham diagnóstico de lesões nos maxilares, não apresentavam doenças osteometabólicas, e com idade variando entre 18 e 25 anos, sendo 3 do sexo masculino e 3 do sexo feminino.

4.1.1 Critérios de Inclusão:

Blocos de parafina contendo material suficiente para a realização da técnica de imunohistoquímica (IHQ) de pacientes diagnosticados com LFOBs, com envolvimento de mandíbula ou maxila, que possuíam, ficha de biópsia e eram parte do acervo do Biobanco do LPB/UFSC.

4.1.2 Critério de Exclusão:

Blocos de parafina que não tinham material suficiente para análise.

4.2 AMOSTRAS

Foram selecionadas 66 amostras de LFOBs fixadas em formalina e embebidas em parafina, que continham material suficiente para análise e informações na ficha de biópsia que permitiam coletar dados demográficos. Estas amostras eram advindas de 40 biópsias realizadas nos 32 pacientes, sendo que, alguns deles, foram submetidos a mais de um procedimento de biópsia (incisional e excisional). As 6 amostras do grupo controle continham apenas 1 bloco cada.

4.2.1 Análise Qualitativa

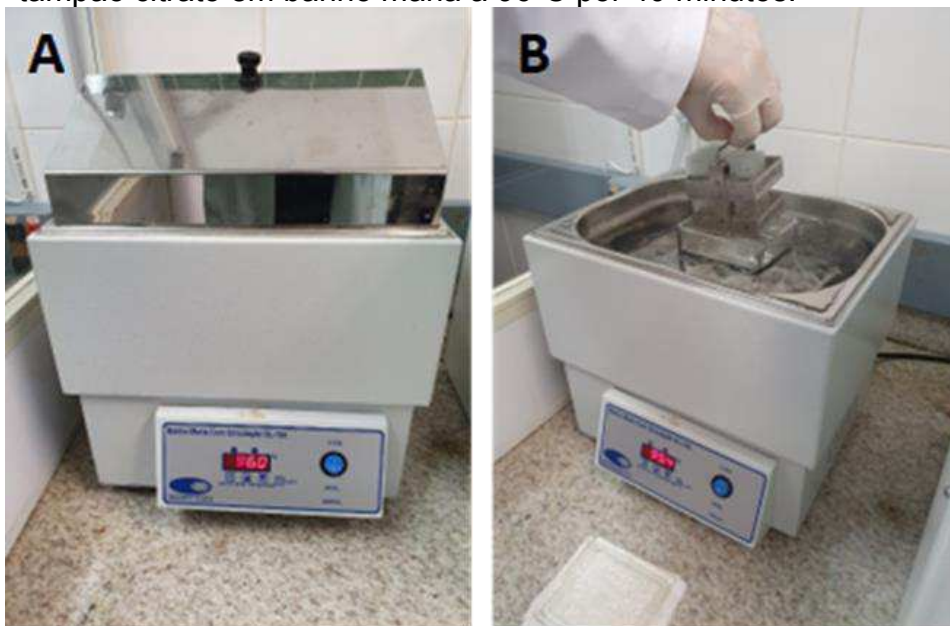
A análise morfológica foi realizada por meio da coloração de hematoxilina e eosina (H&E). Nesta etapa foram avaliados os cortes histológicos por 3 profissionais (dois professores e um aluno), para seleção dos casos, baseados na presença de ambos os componentes fibroso e ósseo. A coloração por azul de toluidina foi realizada em 5 casos para averiguação do aspecto morfológico das células que apresentaram marcação imunohistoquímica positiva. Esta reação só foi realizada após os primeiros resultados da técnica de IHQ para esclerostina.

4.2.2 Imunohistoquímica

Para a realização do experimento e identificação da expressão e imunolocalização da proteína Esclerostina, foi utilizado o anticorpo monoclonal Anti-Sclerostin, clone 7B6.1, da marca Merck, número de catálogo MABS445, lote 3460510. A proteína recombinante marcada com GST correspondente ao fragmento interno de esclerostina humana desenvolvida a partir de cultura de tecido anticorpo monoclonal igG2bk de camundongo, com reatividade cruzada de espécies para ratos e humanos. O anticorpo secundário utilizado foi o Dako EnVision® + Dual Link System-HRP (Santa Clara, CA, USA). A diluição do anticorpo primário foi utilizada na proporção 1:300 e a técnica resumida foi realizada seguindo os passos: Desparafinização (as lâminas foram mantidas em estufa entre 50 e 100°C por aproximadamente 3 horas, seguido de banho overnight em xilol a temperatura ambiente); reidratação; bloqueio da peroxidase endógena (álcool metílico + H₂O₂); recuperação antigênica (tampão citrato em banho-maria mantido durante 40 minutos em temperatura constante de 96°C; bloqueio das ligações inespecíficas (solução de leite desnatado 5% em PBS); incubação com o anticorpo primário (câmara úmida na geladeira (4 a 8°C) overnight, diluição do

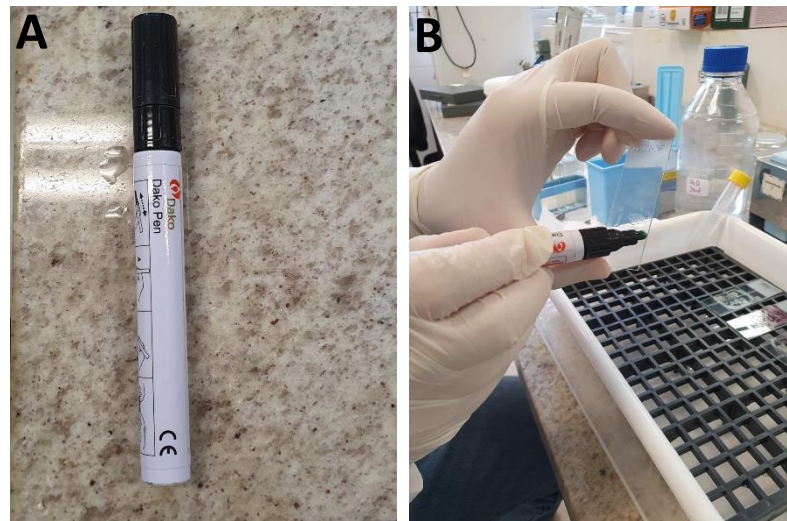
anticorpo: 1:300); incubação com anticorpo secundário; revelação com Cromógeno (DAB, Dako): 1 gota de DAB para cada 1 ml de tampão misturados em frasco não reutilizável; contra coloração com Hematoxilina de Harris (6 minutos); desidratação; diafanização; montagem das lâminas com lamínula. O controle negativo foi realizado em um dos cortes sem a colocação do anticorpo primário. O controle positivo foi realizado com lâminas contendo material advindo de fígado humano e de rato.

Figura 1: Etapa de recuperação antigênica. A: Aparelho Banho Maria Digital com circulação. B: Lâminas imersas em solução de tampão citrato em banho maria a 96°C por 40 minutos.



Fonte: O Autor, 2022.

Figura 2: Preparo da lâmina para a incubação do anticorpo. A: Caneta hidrofóbica. B: Marcação com caneta hidrofóbica ao redor do material presente na lâmina para limitar a dispersão do anticorpo na lâmina.



Fonte: O Autor, 2022.

Figura 3: Incubação do anticorpo primário. A: Pipetas Eppendorf com volume ajustável. B: Coleta do anticorpo no micro tubo Eppendorf. C: Aplicação do anticorpo nas áreas delimitadas. D: Montagem das lâminas em câmara úmida para overnight em geladeira.



Fonte: O Autor, 2022.

Figura 4: Lâminas prontas para análise e escaneamento.



Fonte: O Autor, 2022.

4.2.3 Escaneamento e Análise

A digitalização das lâminas foi realizada em parceria com o Laboratório de Anatomia-Patológica do Instituto Central do HCFMUSP. As lâminas da IHQ foram digitalizadas em um aumento original de 40x utilizando o aparelho Panoramic 250 (3DHistech, Budapeste, Hungria). Posteriormente, as lâminas foram visualizadas e analisadas no programa SlideViewer (v. 2.6, 3DHistech Ltd, 2001-2022).

A análise foi realizada considerando as células marcadas na coloração marrom. As células marcadas foram evidenciadas pela coloração amarronzada citoplasmática, onde observou-se pigmentações em forma de pontos semelhantes a grânulos. Analisou-se ainda a presença ou ausência de marcações compatíveis com a expressão da proteína esclerostina nos tecidos, classificando se a evidenciação acontecia em tecido fibroso, ósseo ou em ambos.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para as variáveis qualitativas foi realizada uma análise descritiva, com as distribuições de frequência absoluta (n) e relativa (%). Para o teste de associação entre o status de expressão da Esclerostina e o componente lesional, foi utilizado o teste exato de Fisher (nível de significância de 5%). A análise foi realizada no software GraphPadPrism9 (versão 9.0.0, Boston, MA, USA).

5 RESULTADOS

Os resultados encontrados foram divididos em duas frentes: a primeira com a análise clínico-demográfica, dos dados das fichas de biópsia, e a segunda com a análise histopatológica e de imunohistoquímica.

5.1 DADOS CLÍNICO-DEMOGRÁFICOS

Foram analisados 66 cortes histológicos provenientes de 32 pacientes, sendo 20 lesões em mulheres (62,5%) e 12 lesões em homens (37,5%). Na análise por faixa etária, três registros não apresentavam a idade dos pacientes. Das 29 lesões que apresentavam esta informação, 5 lesões foram identificadas na primeira década de vida (0-10 anos) representando 17,24%, 6 lesões na segunda década de vida (11-20 anos) representando 20,68%, 9 lesões na terceira década de vida (21-30 anos) representando 31,03%, 5 lesões na quarta década de vida (31-40 anos) representando 17,24%, 1 lesão na quinta década de vida (41-50 anos) representando 3,44%, 2 lesões na sexta década de vida (51-60 anos) representando 6,89% e 1 lesão na sétima década de vida (61-70 anos) representando 3,44% da amostra (Tabela 2).

Tabela 2 – Lesões fibro-ósseas benignas, divididas por faixa etária.

Lesões	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70
LFOBs	2	2	5	4	1	1	1
DF		4	1	1			
FOTJ	3		1				
FOPs			1				
DCO			1			1	
Total	5	6	9	5	1	2	1

LFOBs– Tumores e displasias fibro-ósseas; DF – Displasia fibrosa; FOTJ – Fibroma ossificante trabecular juvenil; FOPs – Fibroma ossificante psamomatóide; DCO - Displasia cemento óssea. Três registros de lesões não apresentavam a idade dos pacientes e por isso não foram inseridos na análise por faixa etária.

Considerando a região das lesões, um registro não apresentava a informação de localização. Dos 31 casos que apresentavam a informação por região, 17 lesões

foram identificadas na mandíbula (54,83%) e 14 lesões foram identificadas na maxila (45,16%) e distribuídas pelos tipos de lesões conforme observamos na Tabela 3.

Tabela 3 – Lesões fibro-ósseas benignas, divididas por área de localização.

Lesões	Mandíbula	%	Maxila	%	Total	%
<u>Diagnóstico baseado na análise histopatológica</u>						
LFOBs	8	44,44	10	55,55	18	58,06
<u>Diagnóstico baseado na correlação clínico histopatológica</u>						
DF	3	50	3	50	6	19,35
FOTJ	3	100	-	-	3	9,67
FOPs	1	50	1	50	2	6,45
DCO	2	100	-	-	2	6,45
Total	17	54,83	14	45,16	31	100

LFOBs– Lesões fibro-ósseas benignas; DF – Displasia fibrosa; FOTJ – Fibroma ossificante trabecular juvenil; FOPs – Fibroma ossificante psamomatóide; DCO - Displasia cemento óssea. Um registro de lesão não apresentava a área e por isso não foi inserido na análise por região.

Para as lesões identificadas apenas com o laudo histopatológico, foram encontradas 8 lesões em mandíbula (44,44%) e 10 lesões em maxila (55,55%). Para as lesões com diagnóstico baseado na correlação clínico histopatológica foram diagnosticadas 6 displasias fibrosas sendo 3 em mandíbula (50%) e 3 em maxila (50%), 3 FOTJ sendo todos em mandíbula (100%), 2 FOPs sendo 1 em mandíbula (50%) e 1 em maxila (50%) e 02 DCO sendo todas em mandíbula (100%).

5.2 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E EXPRESSÃO DA ESCLEROSTINA

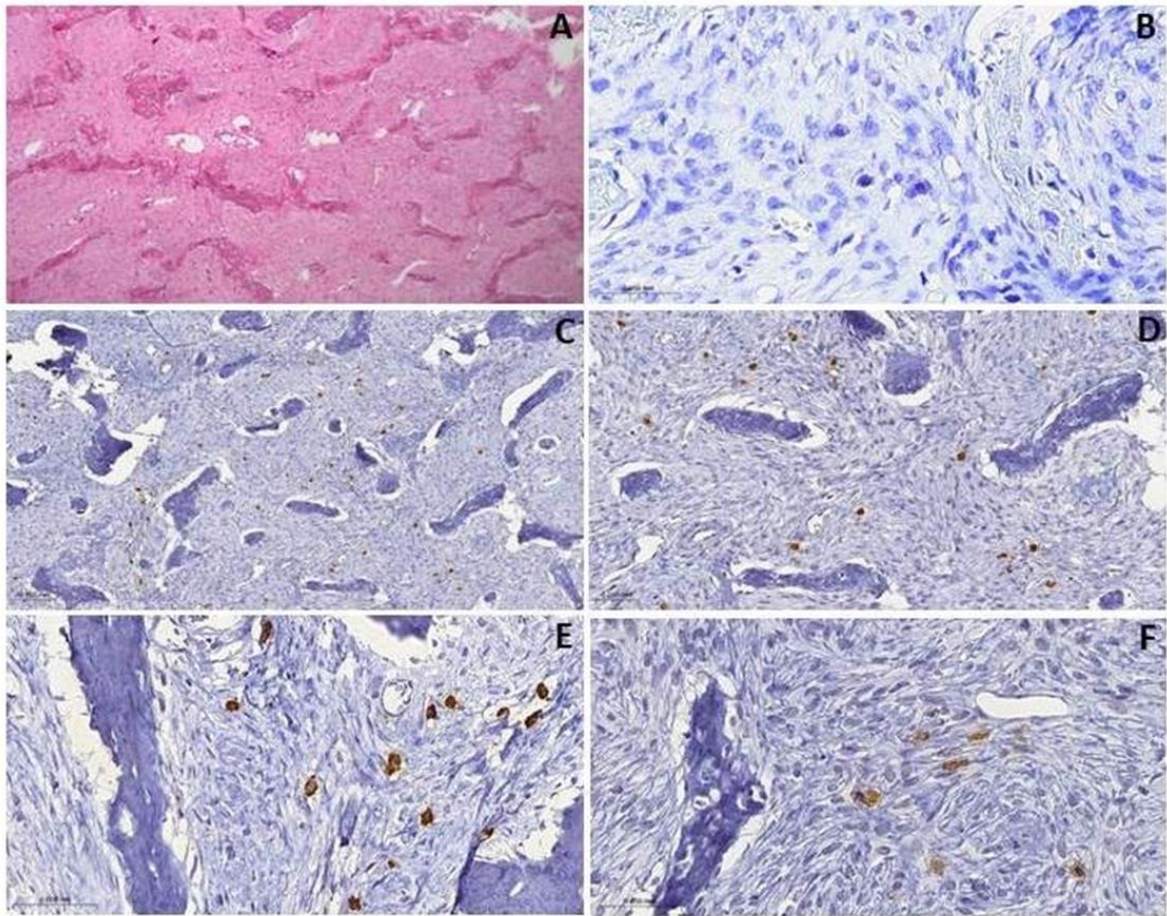
As LFOBs mostraram quantidades variadas dos componentes fibroso e ósseo nas lâminas. O componente fibroso era, por vezes, mais denso e muito celularizado, e por vezes, mais frouxo. Em algumas lâminas foi possível observar células gigantes multinucleadas, áreas com grande concentração de hemácias e em algumas notou-

se tecido adiposo. Quanto ao componente ósseo, a maior quantidade era de osso intralesional, por vezes imaturo sem organização lamelar, e por vezes, sugerindo um aspecto mais organizado, e ainda, nas lâminas advindas das peças maiores, foi possível notar também boa quantidade de osso perilesional, eminentemente lamelar, com características morfológicas de um osso cortical.

As lâminas do grupo controle eram 3 casos de maxila e 3 casos de mandíbula. Os casos de mandíbula tinham pouquíssima quantidade de material, já os casos de maxila, tinham maior quantidade de osso tanto cortical quanto trabecular, revelando aspecto de normalidade.

Sobre a análise de imunohistoquímica, a expressão da esclerostina foi encontrada em diferentes populações celulares. Das 40 biópsias de LFOBs, 21 tiveram positividade para esclerostina e 19 foram negativas para este marcador. Por vezes, a positividade estava presente no componente fibroso, revelando marcação citoplasmática do tipo *dots*, ou pequenos grânulos, em uma coloração forte. Estas células apresentavam um fenótipo morfológicamente semelhante aos mastócitos. Foi realizada uma marcação histoquímica com a coloração pelo azul de toluidina, que revelou marcação clássica para mastócitos exatamente na mesma localização das células marcadas para esclerostina na IHQ. E em outras situações, a população com marcação da esclerostina estava nas células incluídas na matriz calcificada, os osteócitos. Em uma primeira avaliação qualitativa, observou-se que nas áreas onde a expressão aconteceu na parte fibrosa da lesão, notou-se que frequentemente as marcações aconteceram próximas às estruturas vasculares (Figura 5).

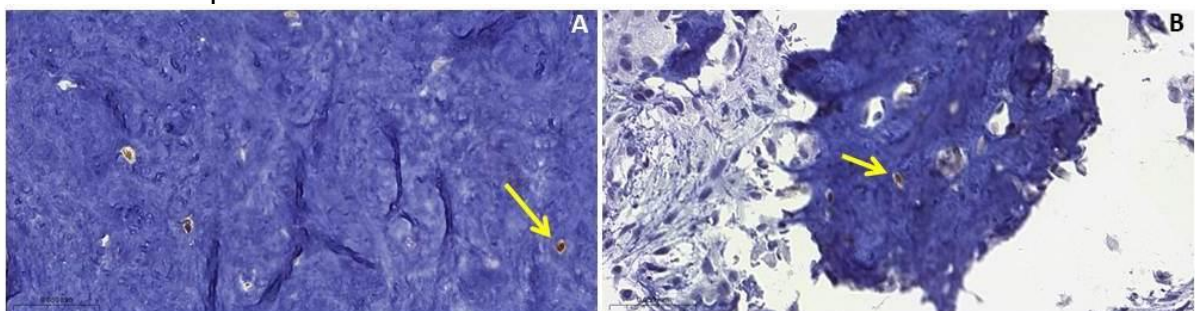
Figura 5: Avaliação histopatológica e expressão da Esclerostina em lesão fibroóssea benigna. Caso de Displasia Fibrosa (A-D). A: DF corada em H&E. B: Coloração em azul de toluidina evidenciando algumas células com áreas citoplasmáticas hipercrômicas em coloração arroxeadas e núcleo azulado centralizado, com fenótipo similar a um mastócito. C: Expressão da Esclerostina no componente fibroso visualizada em menor aumento. Células marcadas em marrom dispersas em toda a área analisada. D: Células marcadas expressando Esclerostina em tecido fibroso dispersas na imagem. E: LFOB com expressão da Esclerostina próxima a estrutura compatível com espaço vascular. Nota-se a marcação citoplasmática com coloração marrom. F: DF revelando algumas células com marcação citoplasmática amarronzada, no componente fibroso.



Fonte: O Autor, 2023.

Nas áreas onde a expressão aconteceu na parte óssea da lesão, observou-se uma recorrência maior em tecido ósseo mais maduro, no osso perilesional e não no osso intralesional. Apenas dois casos tiveram marcação positiva no osso intralesional, sendo uma marcação pontual, apenas em um ou dois osteócitos (Figura 6).

Figura 6: Avaliação histopatológica e expressão da Esclerostina em tecido ósseo. A: A seta amarela representa um osteócito expressando Esclerostina localizado em osso maduro perilesional. B: A seta amarela representa um osteócito em osso intralesional expressando Esclerostina.



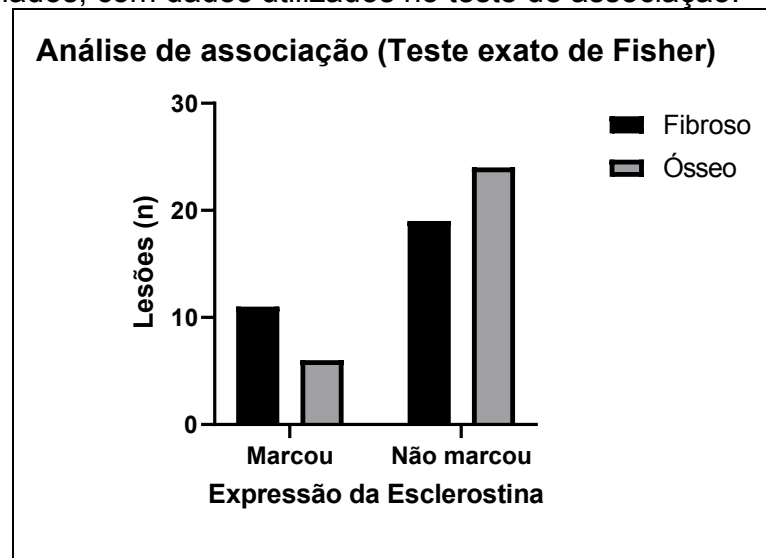
Fonte: O Autor, 2023.

Não houve associação significativa entre o status de positividade para Esclerostina e o componente avaliado, se fibroso ou ósseo (p 0,25) nas biópsias avaliadas.

Das 40 biópsias advindas dos 32 pacientes, a marcação positiva estava presente nas LFOBs com classificação histopatológica em 03 na parte fibrosa e 03 na parte óssea. Nas lesões classificadas pela histopatologia e diagnóstico clínico: nas DFs com 02 no componente fibroso e nenhum caso na parte óssea; nos FOTJs houve positividade em 01 no componente fibroso e nenhum caso na parte óssea; nos FOPs's com 01 na parte fibrosa e nenhum no componente ósseo; nas DCOs, nenhuma positividade no componente fibroso e um caso no componente ósseo.

A distribuição da marcação está demonstrada na Figura 7.

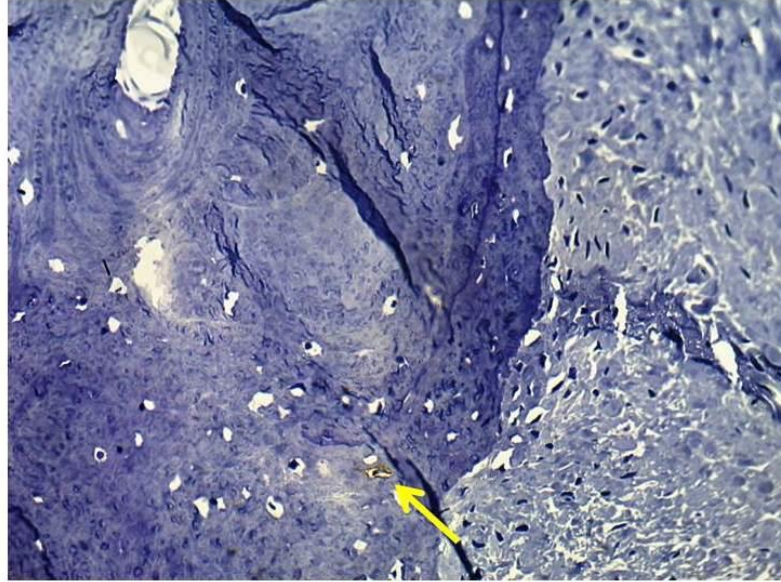
Figura 7: Gráfico de expressão da Esclerostina nos componentes fibroso e ósseo nos casos avaliados, com dados utilizados no teste de associação.



Fonte: O Autor, 2023.

A análise da expressão nos casos do grupo controle revelou que a Esclerostina está expressa em mandíbula e maxila de indivíduos saudáveis. Pouquíssimas células ósseas estavam marcadas, nestes casos, um ou dois osteócitos foram encontrados com marcação positiva, revelando uma coloração amarronzada e distribuída por toda periferia da lacuna, condizente com a distribuição espacial do início dos prolongamentos dos processos dentríticos do osteócito (Figura 8).

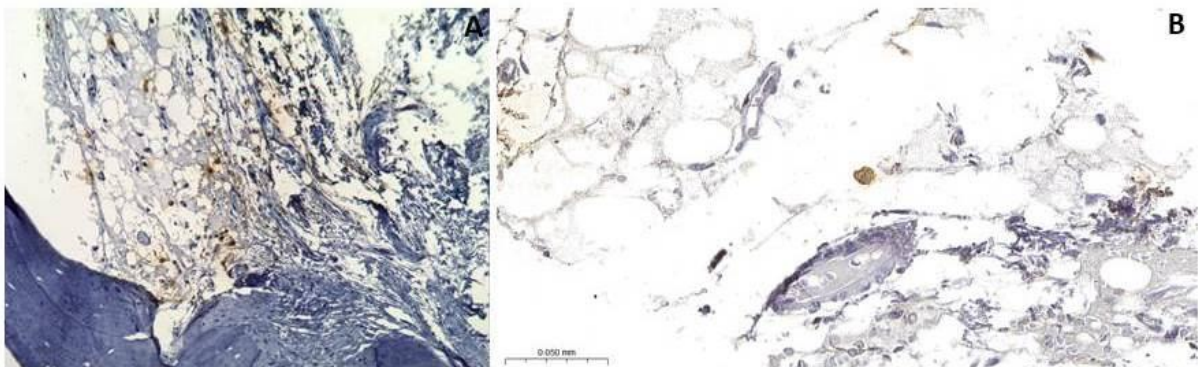
Figura 8: Avaliação histopatológica e expressão da Esclerostina em tecido ósseo sem alterações da normalidade. A seta amarela aponta para um osteócito expressando a proteína Esclerostina.



Fonte: O Autor, 2023.

As outras células marcadas estavam majoritariamente localizadas nos espaços medulares, próximos a espaços vasculares, tecido conjuntivo e tecido adiposo. Estas células dos espaços medulares representaram a maioria das células marcadas no grupo controle (Figura 9).

Figura 9: Avaliação histopatológica e expressão da Esclerostina em tecido ósseo sem alterações da normalidade. A: Em maior aumento é possível observar a presença de algumas marcações da Esclerostina nos espaços medulares do osso sem alterações. B: Em maior aumento é possível observar com mais detalhes a coloração marrom citoplasmática evidenciando a marcação da Esclerostina.



Fonte: O Autor, 2023.

Ressalta-se que foi notável a presença de expressões pontuais nas amostras de grupo controle em relação as amostras das lesões. Pacientes com LFOB foram mais frequentes no sexo feminino, em uma proporção de 2:1. Sobre a positividade para Esclerostina, tivemos no sexo feminino 9 biópsias com marcação positiva no componente fibroso e 7 no componente ósseo, enquanto, no sexo masculino, houve marcação positiva em 5 casos no componente fibroso e 2 no componente ósseo. Sobre a localização, das 39 biópsias que tinham essa informação de acometimento se em mandíbula (n=22) ou maxila (n=17), para mandíbula foram 5 casos com positividade no componente fibroso e ósseo, respectivamente; já para maxila foram 9 casos com positividade no componente fibroso e 4 no componente ósseo. Importante ressaltar que havia ausência de tecido fibroso em dois casos de mandíbula na biópsia analisada, e dois casos com ausência de tecido ósseo. Apenas um caso de maxila revelou positividade simultânea nos componentes fibroso e ósseo.

6 DISCUSSÃO

Observamos que dentro da nossa casuística, os pacientes com LFOB foram mais frequentes no sexo feminino, em uma proporção de 2:1. Considerando a região das lesões em relação as bases ósseas, o osso mandibular estava predominante em relação a maxila sendo reportado em 54,83% dos casos.

Sobre a expressão da esclerostina, considerada o mais potente inibidor da formação óssea, esta estava presente em um pouco mais da metade dos casos. Ainda, sua expressão foi mais frequente na maxila do que na mandíbula, levando em conta os casos proporcionais em cada osso. De forma surpreendente e inédita, encontramos essa proteína expressa não apenas em osteócitos, que nestes casos foi pouco frequente, mas sim uma marcação positiva em células do componente fibroso, com uma morfologia muito semelhante aos mastócitos. Observamos ainda que, na mandíbula e na maxila em condições normais, sem alterações e em indivíduos saudáveis, apesar de pouca expressa, essa proteína está expressa em osteócitos e também células dos espaços medulares.

Compreender a maneira como essa proteína é expressa nas lesões fibro-ósseas pode contribuir para o entendimento do desenvolvimento e comportamento dessas lesões, e possivelmente, para a descoberta de uma forma de controlar a sua evolução. Conforme descrito por Nelson et. al. (2019), apesar das LFOBs representarem um grande desafio para o patologista no diagnóstico histológico devido à similaridade, os diferentes tipos de LFOBs apresentam comportamentos clínicos significativamente distintos. As DCOs, por exemplo, são lesões não neoplásicas relacionadas aos ossos gnáticos e áreas envolvendo os dentes superiores e inferiores, e que normalmente são tratados por meio de preservação. Uma espécie de maturação acontece na lesão, evoluindo de uma área osteolítica para uma mineralização progressiva até um estágio maduro completamente calcificado. Na grande maioria das vezes não requer qualquer tipo de procedimento de intervenção. Por outro lado, lesões como o FOTJ e o FOPs, representam neoplasias benignas que tem predileção, não apenas por maxila e mandíbula, mas também pela região craniofacial e normalmente são indicadas para a remoção cirúrgica. Ressalta-se ainda que, em casos em que não é possível a remoção completa da lesão, uma tendência para a recidiva é esperada.

A etiopatogenia das LFBOs permanece ainda não totalmente elucidada. O motivo pelo qual uma lesão tende a ser mais invasiva e mais expansiva do que outras

permanece sem resposta. Será que de alguma maneira ou por meio de algum mecanismo devidamente orquestrado e sistematizado, os diferentes tipos de lesões seriam capazes de modificar o meio a seu favor, contribuindo para a sua proliferação e expansão? Sobre esse questionamento, fez-se necessário estudar marcadores que tivessem ação não no componente fibroso apenas, mas marcadores do componente ósseo. Assim, os resultados desse estudo evidenciaram a presença da esclerostina tanto em áreas fibrosas, quanto em áreas ósseas, sendo a presença no componente fibroso mais frequente. Na maioria das vezes em que a proteína foi expressa no tecido ósseo, a área marcada representava um osso perilesional, e não no osso intralesional *per si*. Poderia esse achado representar a evidência de um mecanismo orquestrado para inibir a formação óssea na periferia das lesões, e consequentemente facilitar o processo de reabsorção óssea e propagação das mesmas? Quando analisamos as lâminas do grupo controle em relação as amostras das lesões, foi possível identificar que no tecido ósseo sem alterações a proteína esclerostina também estava presente, tanto em tecido ósseo, quanto em tecido medular, porém distribuída pontualmente, em pouquíssima quantidade na maior parte dos casos, sem que fosse possível estabelecer um padrão.

Sobre a expressão da esclerostina em LFOBs, apenas um artigo na literatura avaliou a expressão desta proteína nestes casos. Inagaki et al. (2016) encontraram a expressão da esclerostina no osso imaturo nas displasias fibrosas. Os autores relataram que, em 6 casos de DF, houve marcação positiva perilacunar nos osteócitos no osso imaturo (*woven bone*), e nenhum caso de marcação positiva no componente fibroso intertrabecular. Diferente dos achados do estudo citado, nossos casos mostraram marcação exatamente no componente fibroso, em dois dos 6 casos de DF, e nenhuma marcação em osteócitos. Importante ressaltar que, as DFs do estudo de Inagaki et al. (2016) eram casos de ossos longos, advindos de um serviço de ortopedia, enquanto nossos casos confinados aos ossos maxilares. Dessa forma, sugere-se que esta diferença do tipo de osso (diferente processo de ossificação, diferente turnover e diferente biomecânica), pode inferir na expressão da esclerostina.

A marcação da esclerostina também no componente fibroso das lesões foi mesmo um achado inusitado e não esperado. O comum seria a relação da sua expressão com os osteócitos presentes nos componentes ósseos das lesões, que de fato ocorreu. As características estruturais das células marcadas, com presença de marcações citoplasmáticas similares a grânulações e as suas disposições no tecido,

deixam evidente se tratar de células semelhantes aos mastócitos. Van Benzooijen et al. (2009), relacionaram a expressão da esclerostina a células incluídas em matriz mineralizada, o que inclusive levou ao desenvolvimento da hipótese de que a esclerostina ser expressa por células diferenciadas dentro de matriz mineralizada, exemplo condrócitos e cementócitos, para além do osteócitos apenas, conforme reforçado por Weivoda et al. (2017), que relataram um aumento da esclerostina sérica em diversos tipos de lesões e condições como osteoartite e espondilite anquilosante. Em sua revisão, Weivoda et al. (2017) também traz informações da expressão da esclerostina em outros tecidos e fala das patologias impactadas pela proteína, exemplo marcação em válvulas aórticas em áreas adjacentes à calcificação. Em um estudo mais recente, Schminke et al. (2023) validaram um experimento utilizando da técnica de tissue microarray por imunohistoquímica, em amostras de 39 paciente com carcinoma epidermóide oral, e identificaram a expressão da esclerostina nesses tumores.

Os achados histológicos da nossa pesquisa nas áreas fibrosas da lesão demonstraram um padrão para expressão da esclerostina em áreas de íntimo contato ou próximas a regiões compatíveis com estruturas vasculares. A expressão da esclerostina perto dos vasos, e em células semelhantes aos mastócitos, nos fez levantar a hipótese do papel da proteína nas vias de sinalização de células que geralmente estão envolvidos nos mecanismos vasculares. Questiona-se que a degranulação dos mastócitos poderia também estar envolvido na liberação da esclerostina sérica. Conforme apontado por Ponzetti e Rucci (2019), o sistema imunológico representa uma chave fundamental para a manutenção da massa óssea e um fenômeno já descrito e discutido na literatura atualmente é a regulação de osteoclastos mediados por células T. Curiosamente essas células compartilham de uma origem comum, já que osteoclastos e células do sistema imune são originados de células estaminais hematopoiéticas da medula óssea. Além disso, assim como outras células hematopoiéticas, precursores de osteoclastos podem ser detectados como células circulantes no sangue e terem seu número aumentado sob condições inflamatórias, caracterizadas por altos níveis de uma citocina inflamatória, o Fator de Necrose Tumoral (TNF α), por exemplo. Esse “*cross-talk*”, ou seja, essa comunicação já devidamente evidenciada e descrita poderia acontecer de outras formas e com outras células? Seria possível que condições estabelecidas pela lesão no meio sinalizem e direcionem mastócitos capazes de expressar esclerostina, e dessa forma, contribuir para uma regulação negativa de formação óssea e consequentemente favoreça o

desenvolvimento da lesão? Fica o questionamento para novos estudos e realização de marcações fenotípicas para essas populações celulares positivas para esclerostina.

Sobre as limitações do estudo, um desafio encontrado na condução dos experimentos foi a realização da imunohistoquímica em tecido ósseo. Devido às etapas de processamento das lâminas, em diversas situações tivemos o descolamento ou sobreposição desse tecido, por vezes, inviabilizando a análise de alguns fragmentos nas lâminas. Outra situação que interferiu na pesquisa foi a pandemia da COVID-19, que atrapalhou significativamente o andamento dos experimentos e a coleta de amostras do grupo controle, visto que durante um período representativo da pesquisa, as instituições de ensino e unidades de atendimento permaneceram fechadas ou em regime de urgências para atendimentos.

Em suma, é cada vez mais evidente que as lesões e o microambiente nos sítios lesionais sofrem influências de diversos tipos, e muitas destas alterações ocorre com participação das células do sistema imune. Compreender os mecanismos dessa troca de informações pode ser a chave para um melhor entendimento das lesões fibro-ósseas benignas e de outros tipos de lesões. Com a esclerostina presente em um pouco mais da metade dos casos, vale imaginar que esta glicoproteína realmente está envolvida nos processos patogênicos destas lesões.

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que as lesões fibro-ósseas benignas dos maxilares podem expressar esclerostina, estando presente em 52% dos casos analisados. Essa expressão se dá em maior parte no componente fibroso, em células com morfologia semelhante aos mastócitos. Ainda, a esclerostina também é expressa no componente ósseo dessas lesões em casos pontuais, além de ser encontrada expressão positiva no osso cortical perilesional em alguns casos. Nas lesões classificadas utilizando ambos os diagnósticos clínico e histopatológico, apenas um caso de displasia cemento-óssea revelou positividade no osteócito, enquanto displasia fibrosa e as duas variantes do fibroma ossificante revelaram positividade apenas no componente fibroso. Em termos proporcionais, a expressão da esclerostina foi mais presente na maxila do que na mandíbula. O osso normal também mostrou a expressão da esclerostina em alguns osteócitos e em algumas células presentes nos espaços medulares.

REFERÊNCIAS

- BELLIDO, T. Osteocyte-Driven Bone Remodeling. **Calcified Tissue International**, v. 94, n.1, p. 25-34, January. 2014.
- CHRCANOVIC BR, GOMEZ RS. Juvenile ossifying fibroma of the jaws and paranasal sinuses: a systematic review of the cases reported in the literature, **Int J Oral Maxillofac Surg**, v. 49, n.1, p. 28-37, 2020.
- DALLAS, SL; PRIDEAUX, M; BONEWALD, LF. The Osteocyte: An Endocrine Cell and More. **Endocrine Reviews**, v.34, n.5, p. 658–690, October. 2013.
- DREYER T, KEEN J, WELLS L, ROBERTS S. Novel insights on the effect of sclerostin on bone and other organs. **J Endocrinol**. JOE-22-0209. doi: 10.1530/JOE-22-0209, 2023.
- GORDON, MD; NUSSE, R. Wnt Signaling: Multiple Pathways, Multiple Receptors, and Multiple Transcription Factors. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 32, p. 22429–22433, 2006.
- HOLDSWORTH, G; ROBERTS, SJ; KE, HZ. Novel actions of sclerostin on bone. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 62, p.167–185, 2019.
- INAGAKI, Y; HOOKWAY, ES; KASHIMA, TG; MUNEMOTO, M; TANAKA, Y; HASSAN, AB, OPPERMANN, U; ATHANASOU, NA. Sclerostin expression in bone tumours and tumour-like lesions. **Histopathology**, v. 69, p. 470–478, 2016. DOI: 10.1111/his.12953
- KLEIN-NULEND, J; BACABAC, RG; BAKKER, AD. Mechanical loading and how it affects bone cells: The role of the osteocyte cytoskeleton in maintaining our skeleton. **European Cells and Materials**, v. 24, p. 278-291, 2012.
- KOIDE, M; KOBAYASHI, Y. Regulatory mechanisms of sclerostin expression during bone remodeling. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 37, p.9–17, 2019.
- LEE, JJ; RYU, G; LEE, KE; HONG, SD; JUNG, YG; KIM, HY; DHONG, HJ; CHUNG, SK. Benign fibro-osseous lesions in the sinuses. **Clinical and Experimental Otorhinolaryngology**, v. 14, n. 4, p. 374-381, 2021.
- MAINVILLE, G.; TURGEON, D.; KAUZMAN, A. Diagnosis and management of benign fibro-osseous lesions of the jaws: a current review for the dental clinician. **Oral Diseases**, 23(4), 440–450, 2017.
- NELSON, BL; PHILLIPS, BJ. Benign Fibro-Osseous Lesions of the Head and Neck. **Head and Neck Pathology**, 13:466–475, 2019.

- OMINSKY, MS; LI, C; LI, X et al. Inhibition of sclerostin by monoclonal antibody enhances bone healing and improves bone density and strength of nonfractured bones. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 26, n. 5, p. 1012–1021, 2011.
- PONZETTI, M; RUCCI, N. Updates on Osteoimmunology: What's New on the Cross-Talk Between Bone and Immune System. **Front. Endocrinol.**, 10:236, 2019.
- RABELO, GD; COUTINHO-CAMILLO, C; KOWALSKI, LP; PORTERO-MUZY, N; ROUX, JP; CHAVASSIEUX, P; ALVES, FA. Evaluation of cortical mandibular bone in patients with oral squamous cell carcinoma. **Clinical Oral Investigation**, v.22, n.2, p.783-790, 2018.
- RABELO, GD; SCHEIDT, AV; KLEBIG, F; HEMMATIAN, H; CITAK, M; AMLING, M; BUSSE, B; JAHN, K. Multiscale bone quality analysis in osteoarthritic knee joints reveal a role of the mechanosensory osteocyte network in osteophytes. **Scientific Reports**, v.10, article number 673, 2020.
- SAPIR-KOREN, R; LIVSHITS, G. Osteocyte control of bone remodeling: is sclerostin a key molecular coordinator of the balanced bone resorption– formation cycles? **Osteoporosis International**, v.25, p.2685-2700, 2014.
- SCHMINKE B, SHOMRONI O, SALINAS G, BREMMER F, KAUFFMANN P, SCHLIEPHAKE H, OYELAMI F, RAHAT MA, BROCKMEYER P. Prognostic factor identification by screening changes in differentially expressed genes in oral squamous cell carcinoma. **Oral Dis**. 29(1):116-127, 2023.
- SOLUK-TEKKESIN, M; SINANOGLU, A; SELVI, F; KARABAS, HC; AKSAKALLI, N. The importance of clinical and radiological findings for the definitive histopathologic diagnosis of benign fibro-osseous lesions of the jaws: Study of 276 cases. **Journal of Stomatology oral and Maxillofacial Surgery**, v.0, p. 1-8, 2021.
- TIEDE-LEWIS, LM; XIE, Y; HULBERT, MA; CAMPOS, R; DALLAS, MR; DUSEVICH, V; BONEWALD, LF; DALLAS, SL. Degeneration of the osteocyte network in the C57BL/6 mouse model of aging. **Aging**, v. 9, n. 10, 2017.
- VAN BEZOOIJEN RL, BRONCKERS AL, GORTZAK RA, et al. Sclerostin in Mineralized Matrices and van Buchem Disease. *Journal of Dental Research*. v. 88, n. 6, p. 569-574, 2009.
- VERED, M., WRIGHT, J.M. Update from the 5th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumors: Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumours. **Head and Neck Pathol** v. 16, p. 63–75, 2022.

XIAO, W; WANG, Y; PACIOS, S; LI, S; GRAVES, DT. Cellular and molecular aspects of bone remodeling. **Front Oral Biol.**, v. 18: p.9-16, 2016.

WEIVODA, MM; YOUSSEF, SJ; OURSLER, MJ. Sclerostin expression and functions beyond the osteocyte, *Bone*, v. 96, p. 45-50, 2017.

ANEXO 1 – PARECER DO CEP (Fragmentos das primeira e última páginas do parecer constatando aprovação).

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Processamento de imagens na avaliação de lesões ósseas orais

Pesquisador: Gustavo Davi Rabelo

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 28234620.0.0000.0121

Instituição Proponente: Departamento de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.063.334

Investigador	Projeto_detalhado.pdf	24/03/2020 00:28:03	Gustavo Davi Rabelo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Projeto_001.pdf	23/01/2020 09:53:16	Gustavo Davi Rabelo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Dec_CCS.pdf	17/12/2019 14:25:12	Gustavo Davi Rabelo	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_Final.pdf	17/12/2019 14:23:25	Gustavo Davi Rabelo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

FLORIANOPOLIS, 02 de Junho de 2020

Assinado por:
Maria Luiza Bazzo
(Coordenador(a))