

João Paulo De Carli

**Lesão de Células Gigantes Periférica da Cavidade Bucal:
Avaliação da Agressividade das Lesões por meio dos
Estudos Clínico-Radiográfico Retrospectivo,
Histopatológico, Histoquímico e Imunohistoquímico**

Araçatuba – SP

2006

João Paulo De Carli

**Lesão de Células Gigantes Periférica da Cavidade Bucal:
Avaliação da Agressividade das Lesões por meio dos
Estudos Clínico-Radiográfico Retrospectivo,
Histopatológico, Histoquímico e Imunohistoquímico**

Dissertação apresentada à
Faculdade de Odontologia de
Araçatuba – Universidade
Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP, como
parte dos requisitos para
obtenção do Título de Mestre em
Odontologia – Área de
Concentração em Estomatologia.

**Orientador:
Prof. Titular Norberto Perri Moraes**

**Co-orientador:
Prof. Adjunto Marcelo Macedo Crivelini**

**Araçatuba – SP
- 2006 –**

Dados Curriculares

João Paulo De Carli

- Nascimento** 21 de Abril de 1982 – Passo Fundo – RS
- Filiação** Célio De Carli e Benigna Ignez Giollo De Carli
- 2000/2004** Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo (FO - UPF)
- 2005/2006** Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração em Estomatologia, Nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – FOA-UNESP

Dedicatória

Dedico este trabalho:

Em primeiro lugar, a Deus, mestre dos mestres. Foi nele que busquei e sempre buscarei forças e inspiração para a realização de meus ideais de vida.

A meus pais, Benigna e Célio, que estiveram incondicionalmente a meu lado durante os períodos difíceis de minha vida. Pai e Mãe! Podem ter certeza que vocês serão eternamente meus maiores professores, pois me ensinaram lições de humildade, dedicação e persistência. Este trabalho também é de vocês!

A minhas irmãs, Luciane e Alexandra, que mesmo distantes sempre me incentivaram a seguir a carreira acadêmica, com palavras de apoio e sabedoria.

Agradecimento

Agradeço sinceramente:

Ao meu Orientador, Professor Titular Norberto Perri Moraes e família, pelo acolhimento e exemplos de honestidade, humildade e paciência. Sem sua ajuda eu não teria atingido meu objetivo. Sou grato pela confiança que o senhor depositou em mim e pelos ensinamentos que me passou ao longo desses dois anos, que não foram apenas lições de Estomatologia, mas lições de vida.

Ao meu Co-Orientador, Professor Adjunto Marcelo Macedo Crivelini, que muito me auxiliou na realização da parte experimental deste trabalho. Agradeço as palavras de incentivo, o tempo a mim dispensado e os ensinamentos a mim passados pelo senhor no período em que trabalhamos conjuntamente.

Aos professores da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo, especialmente à Professora Titular Soluete Oliveira da Silva, Professora Silvana Gehm Moraes e ao Professor José Carlos Moraes, que desde cedo me incentivaram a seguir a carreira acadêmica, e sem os quais eu não seria o que sou. Obrigado pelo apoio e ensinamentos fortalecedores. Saibam que tenho vocês como segundos pais e que sempre poderão contar comigo.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, nas pessoas do Diretor Professor Doutor Paulo Roberto Botacin, Vice-Diretor Professor Doutor Célio Percinotto e Coordenador de Pós-Graduação em Odontologia Professor Doutor Wilson Roberto Poi, agradeço a oportunidade de aprendizado e as condições técnicas para que meu curso de mestrado se realizasse.

À Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo (FO-UPF), nas pessoas do então Diretor Professor Antônio Augusto Pretto, e do Professor Sérgio Augusto Benvegnú, Responsável pelo Serviço de Diagnóstico Histopatológico da Universidade de Passo Fundo. Meu muito obrigado por terem possibilitado o acesso a parte do material necessário para confecção deste trabalho.

Aos Professores Alvimar Lima de Castro, Ana Cláudia Okamoto, Ana Maria Pires Soubhia, Antônio Augusto Ferreira de Carvalho, Eder Ricardo Biasoli, Elerson Gaetti Jardim Júnior, Gilberto Aparecido Coclete, Glauco Issamu Miyahara, Leda Maria Pescinini Salzedas e Renata Callestini Felipini, do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Muito obrigado pelo ensinamento e atenção a mim dispensados durante minha estada em Araçatuba.

À Professora Maria Lúcia Sundefeld, pelo auxílio na análise estatística dos dados do presente estudo.

Às Professoras Norma Corrêa Fonseca e Liana Lângaro Branco, pela revisão ortográfica deste trabalho.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação: Daniel Galera Bernabé, Leandro Kawata, Marcellino Moço Silva, Ellen Greves Giovanini, Luciana Estevam Simonato, Rafael Akira Murayama, Paulo de Tarso Coelho Jardim, Rubens Filho, Lira Marcela Monti, Cláudia Misue Kanno, Cristiane Furuse, Cleverton Trento, Eni Vaz Franco Lima de Castro e Diurianne Caroline Campos França, pelo tempo que convivemos juntos e pelas experiências que compartilhamos. Um forte abraço a todos vocês.

Às funcionárias do Centro de Oncologia Bucal (COB) da FOA-UNESP: Jane Fátima Mendes Fernandes da Silva, Shirleni Cantieri Cavazana, Nair Ramos Cardoso, Suse Elaine Nobre de Freitas e Juliana Benvenuto Reis. Agradeço a colaboração na realização de minha dissertação e os fortes laços de amizade que se formaram durante os dois anos que estive em Araçatuba.

Aos funcionários do Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica: Elaine Cristina Francischini Ferreira, Luzia Maria de Oliveira Francischini, José Marcelo Tramarin, Maria Aparecida Martins da Silva, Marli Barbosa dos Santos, Miriam Regina Mouro Ferraz Lima, Mariana Bento Barbosa e José Carlos de Mendonça Neto. Muito obrigado pelo auxílio na execução deste trabalho de pesquisa e pelos momentos que juntos compartilhamos.

Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação da FOA-UNESP, Marina Midori Sakamoto Kawagoe e Valéria de Queiroz Marcondes Zagatto. Muito obrigado pela atenção que me foi dispensada e pela amizade que construímos durante meu curso de Pós-Graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelos recursos que permitiram a montagem do laboratório de imunohistoquímica da FOA-UNESP e pelo auxílio à pesquisa que viabilizou a compra de parte dos anticorpos utilizados neste estudo.

Epígrafe

“Quem dores padece,
de nós tudo espera,
E é nossa experiência mil vezes frustrante,
Se a dor lancinante, rebelde não zera,
E o alívio não damos,
nem mesmo calmante,
Ao pobre vivente que a sofre, cruciante,
Sem outra atitude podermos tomar, inertes,
suas queixas só resta escutar...
Ilustres leitores, aqui, neste instante,
Tão bem irmanados na luta incessante,
Da cura das dores do seu semelhante,
Possamos em data não muito distante,
Num dia de festa, idêntica a esta,
Missão já cumprida, orgulha sem par,
Consciência tranqüila, a frase exclamar:
Tarefa Divina,
É a Dor Dominar...”

(João Jorge de Barros)

Resumo

de CARLI, J. P. **Lesão de células gigantes periférica da cavidade bucal: avaliação da agressividade das lesões por meio dos estudos clínico-radiográfico retrospectivo, histopatológico, histoquímico e imunohistoquímico.** 2006. 119f. Dissertação (Mestrado em Estomatologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Araçatuba, 2006.

Propósito: É propósito deste trabalho estudar a agressividade da lesão de células gigantes periférica da cavidade bucal (LCGP) através de aspectos clínicos, radiográficos, histopatológicos, histoquímicos e imunohistoquímicos, objetivando melhor conhecer o perfil clínico do paciente e, sobretudo, avaliar o comportamento biológico dessa lesão.

Material e Método: Foram estudados retrospectivamente 61 casos de LCGP, procedentes da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP e da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo – FO-UPF. Primeiramente, realizou-se confirmação diagnóstica histopatológica e avaliação da presença de tecido ósseo imaturo nas lesões. Após, os casos selecionados foram agrupados com base em critérios clínico-radiográficos, em diferentes graus (agressividade nula, leve, moderada, severa e extrema) e seus dados clínico-demográficos e imaginológicos foram avaliados e correlacionados. Em seguida, utilizando-se 15 casos do total estudado (05 casos com agressividade clínico-radiográfica nula, 05 com agressividade moderada e 05 com agressividade severa), investigou-se a proliferação celular das LCGPs por meio da contagem e aferição da área de AgNORs (regiões de organização nucleolar marcadas pela prata) e avaliação da expressão de PCNA (antígeno de proliferação nuclear celular), Ki-67 (*Ki67*) e p53 (proteína p53).

Resultados: Dentre os resultados clínico-radiográficos obtidos destacam-se os que dizem respeito à idade dos pacientes (prevalência entre 31 e 40 anos), sexo (prevalência em mulheres), raça (prevalência em brancos) e localização anatômica (prevalência na região mandibular anterior). A maioria das lesões se mostrou como nódulo indolor, de superfície lisa, dois meses de evolução, consistência fibrosa, formato arredondado ou ovóide, coloração púrpura e base séssil. Na maior parte dos casos, a imagem radiográfica do osso subjacente às LCGP revelou reabsorção óssea superficial, sem afastamento dentário, expansão da cortical óssea ou reabsorção radicular dos dentes adjacentes. O granuloma piogênico foi a lesão mais prevalente no diagnóstico diferencial das 61 LCGPs estudadas. No que diz respeito aos graus de agressividade clínico-radiográfica instituídos, houve prevalência de LCGPs com agressividade leve. Os fatores que se mostraram estatisticamente relacionados com os graus de agressividade clínico-radiográfica foram: a presença de sintoma dor nas lesões, seu diâmetro, a ocorrência de recidiva, a presença, ao exame radiográfico, de reabsorções ósseas subjacentes às lesões, o tamanho destas reabsorções, as reabsorções radiculares dos dentes adjacentes, a expansão de corticais

ósseas e o afastamento dentário próximo às LCGPs. Notou-se relação estatisticamente significativa entre presença de osso imaturo nas LCGPs e fenômeno de recidiva. Não observamos significativa diferença na área das AgNORs e na expressão do PCNA entre as LCGPs dos três grupos estudados, e o p53 não foi efetivo na imunomarcagem das lesões analisadas. Notou-se diferença estatisticamente significativa no número de AgNORs e na expressão do Ki-67 quando da comparação dos grupos com diferentes graus de agressividade clínico-radiográfica.

Conclusão: Os resultados clínico-radiográficos obtidos se assemelham àqueles reportados pela literatura e a presença de tecido ósseo imaturo pode ser considerada fator de prognóstico para recidiva das LCGPs. Infere-se ainda que os resultados da aplicação do AgNOR e Ki-67 mostram que a agressividade clínico-radiográfica das LCGPs pode ser correlacionada com a atividade proliferativa celular das lesões, sendo este um procedimento norteador para o adequado tratamento (menos ou mais conservador) dessa enfermidade.

Palavras-chave: Lesão de células gigantes periférica. Epidemiologia. Diagnóstico. Histopatologia. Imunohistoquímica.

Abstract

de CARLI, J. P. **Peripheral giant cell lesion of the buccal cavity: evaluation of the aggressiveness of the lesions by means of the retrospective clinical-radiographic, histopathological, histochemical and immunohistochemical studies.** 2006. 119f. Dissertação (Mestrado em Estomatologia) – Faculty of Dentistry, São Paulo State University Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Araçatuba, 2006.

Purpose: To study the aggressiveness of peripheral giant cell lesion of buccal cavity (PGCL) by means of clinical, radiographic, histopathological, histochemical and immunohistochemical aspects in order to determine the patient's profile and to evaluate the biologic behavior of this lesion.

Material and Method: 61 cases of PGCL of patients from Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP and Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo – FOUPF were studied retrospectively. A corroborative diagnostic and the evaluation of immature bony tissue in the lesions were accomplished. These cases were divided into different groups according a classification based on grades of clinical-radiographic aggressiveness. The data of each group were evaluated and correlated and 15 cases were selected (5 cases with null clinical-radiographic aggressiveness, 5 with moderate aggressiveness and 5 with severe aggressiveness). An investigation of the cellular proliferation of PGCL was accomplished by count and measurement of the area of AgNORs (nucleolar organization regions marked by silver) and evaluation of PCNA (proliferating cell nuclear antigen), Ki-67 (Kiel-67) and p53 (protein p53).

Results: The following conclusions were drawn by the clinical-radiographic results: in respect to the patient's age (prevalence between 31 and 40 years old), sex (prevalence in women), race (prevalence in white people), anatomical location (prevalence in the mandibular anterior region). Clinically the lesions were predominantly observed as painless tissue growths of smooth surface, two months of evolution, "fibrous" consistence, nodular form, purple coloration and sessile basis of implantation. In the greater number of cases the radiographic image of the subjacent bony tissue to the PGCL showed superficial bone erosion without dental displacement, expansion of bony cortical or radicular reabsorption in the adjacent teeth in most of the cases. The piogenic granuloma was the most common lesion included in the differential diagnosis of the PGCL. There was a prevalence of moderate aggressiveness. The statistical analysis showed the following statistically related to aggressiveness grades: the presence of pain, the diameter of the lesions, recurrence episodes, the presence of underlying bony defects to the lesions, the size of these defects, the radicular reabsorption of the adjacent teeth to the lesions, the expansion of bony cortical and dental separation next to PGCL. It was noticed a statistically significant relation between the presence of immature bony tissue in the PGCL and the recurring phenomenon of the same lesion. It wasn't observed a significant difference in AgNORs area and in PCNA expression among the studied lesions in these three groups. The p53 was not effective in

immunomarcation of the lesions. It was noticed a statistically significant difference in the number of AgNORs and in Ki-67 expression by the comparison of the groups with different grades of clinical-radiographic aggressiveness.

Conclusion: The clinical-radiographic results resemble to those reported by the literature and the presence of immature bony tissue can be considered a factor for PGCL recurrence. The results of AgNORs and Ki-67 application together showed that the clinical-radiographic aggressiveness of PGCL can be correlated with the cellular proliferative activity of the lesions, being an indicative procedure for the adequate treatment (more or less conservative) of this illness.

Key words: Peripheral giant cell lesion. Epidemiology. Diagnosis. Pathology. Immunohistochemistry.

Lista de Figuras

FIGURA 1 -	LCGP: motivo da consulta X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 5,25$; $p = 0,04$).	46
FIGURA 2 -	LCGP: presença de sintoma dor X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 12,03$; $p = 0,007$).	46
FIGURA 3 -	LCGP: maior diâmetro X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 50,07$; $p = 0,03$).	47
FIGURA 4 -	LCGP: registro de recidivas X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 17,17$; $p = 0,0007$).	47
FIGURA 5 -	LCGP: tempo de evolução X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 49,92$; $p = 0,40$).	48
FIGURA 6 -	LCGP: presença de reabsorções ósseas subjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 34,43$; $p = 0$).	48
FIGURA 7 -	LCGP: maior diâmetro das reabsorções ósseas subjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 90,67$; $p = 0$).	49
FIGURA 8 -	LCGP: presença de reabsorções radiculares adjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 10,96$; $p = 0,01$).	49
FIGURA 9 -	LCGP: presença de expansão de corticais ósseas adjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 14,97$; $p = 0,0018$).	50
FIGURA 10 -	LCGP: deslocamento de dentes adjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 12,20$; $p = 0,007$).	50
FIGURA 11 -	LCGP: prevalência de casos X presença agressividade clínico-radiográfica das lesões	51
FIGURA 12 -	LCGP: prevalência de casos X grau de agressividade clínico-radiográfica das lesões.	51
FIGURA 13 -	LCGP: prevalência de casos X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões.	52
FIGURA 14 -	Aspecto histopatológico de LCGP revestida por epitélio do tipo pavimentoso estratificado (seta - EP). H.E., 100X.	53
FIGURA 15 -	Aspecto histopatológico da LCGP, evidenciando as células gigantes multinucleadas (seta - CGM) em meio a células mesenquimais de núcleos ovóides e hemácias. H.E., 400X	54

- FIGURA 16 -** Tecido ósseo imaturo associado à LCGP, caracterizado por trabéculas irregulares ricamente celularizadas (seta - OI). H.E., 400X. 55
- FIGURA 17 -** LCGP: presença de osso imaturo X ocorrência de recidiva das lesões ($\chi^2 = 3,98$; $p = 0,045$). 55
- FIGURA 18 -** Fotomicrografia evidenciando aspecto padrão de marcação das NORs pela prata: NORs de núcleos de células ovóides (esquerda - CO), e de uma célula gigante multinucleada (direita - CGM), 1000X. 56
- FIGURA 19 -** Técnica da AgNOR - Fotomicrografia exibindo contagem dos núcleos (verde), contagem e aferição da área das NORs (vermelho) de uma célula gigante multinucleada com auxílio do programa computacional Leica QWin, 1000X. 56
- FIGURA 20 -** Técnica da AgNOR - Fotomicrografia exibindo contagem dos núcleos (verde), contagem e aferição da área das NORs (vermelho) de núcleos de células ovóides, com auxílio do programa computacional Leica QWin, 1000X. 57
- FIGURA 21 -** Técnica da imunohistoquímica – Fotomicrografia evidenciando núcleos de células ovóides imunorreativos (castanhos - A) e não imunorreativos (azulados - B), Ki-67, 1000X. 58
- FIGURA 22 -** Técnica da imunohistoquímica - Fotomicrografia evidenciando a contagem dos núcleos imunorreativos (em vermelho) e dos não imunorreativos (em verde) de células ovóides, com auxílio do programa computacional Leica QWin, Ki-67, 1000X. 58
- FIGURA 23 -** Técnica da imunohistoquímica - Fotomicrografia evidenciando que a célula gigante multinucleada (CGM) e algumas células ovóides (CO) não são imunorreativas ao PCNA. Núcleos em castanho representam positividade na marcação. PCNA, 1000X. 59
- FIGURA 24 -** Fotomicrografia evidenciando aspecto padrão de imunomarcação ao Ki-67: núcleos de células ovóides imunorreativos (castanhos - A) e não imunorreativos (azulados - B), 1000X. 60
- FIGURA 25 -** Técnica da imunohistoquímica – Fotomicrografia de LCGP, evidenciando que tanto as células gigantes multinucleadas (CGM), quanto as células ovóides (CO) são não imunorreativas ao p53, 1000X. 62

Lista de Quadros

Quadro 1 –	Anticorpos monoclonais utilizados.	38
Quadro 2 –	Dados clínicos absolutos e percentuais dos 61 pacientes e respectivas lesões incluídas nos estudos clínico-radiográfico retrospectivo e histopatológico.	42
Quadro 3 –	Dados radiográficos absolutos e percentuais e faixas de agressividade clínico-radiográfica dos 61 pacientes e respectivas lesões incluídas nos estudos clínico-radiográfico retrospectivo e histopatológico.	44
Quadro 4 –	Valor do teste qui-quadrado (X^2) e significância estatística (p) para a correlação entre a faixa de agressividade clínico-radiográfica e os aspectos clínico-radiográficos das 61 LCGPs analisadas.	45
Quadro 5 –	Valores da média e desvio-padrão do número de AgNORs por núcleo celular e área das AgNORs, separadamente nas células ovóides e nas células gigantes multinucleadas dos casos analisados.	57
Quadro 6 –	Comparação entre as médias e desvios-padrão de células imunorreativas ao PCNA dos três grupos com diferentes agressividades clínico-radiográficas analisados.	60
Quadro 7 -	Comparação entre as médias e desvios-padrão de células imunorreativas ao Ki-67 dos três grupos com diferentes agressividades clínico-radiográficas analisados.	61

Lista de Abreviaturas

°C	Graus Celsius
µm	Micrômetro
%	Porcentagem
A	Área média das AgNORs dos núcleos de células gigantes multinucleadas e de células ovóides
AgNOR	Do inglês “ <i>Argiophilic Nucleolar Organizer Region</i> ”, traduzido como regiões organizadoras do nucléolo marcadas pela prata
BSA	Do inglês “ <i>Bovine Serum Albumine</i> ”, traduzido como albumina sérica bovina
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CGM	Célula Gigante Multinucleada
cm	Unidade de medida de comprimento “centímetros”
CO	Célula Ovóide
DAB	Cromógeno diaminobenzidina
DNA	Do inglês “ <i>Desoxyribonucleic Acid</i> ”, traduzido como ácido desoxirribonucléico
DO-7	Clone para detecção do antígeno p53
EP	Epitélio
FOA-UNESP	Faculdade de Odontologia “Campus” de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
FO-UPF	Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo
g	Unidade de medida de massa “gramas”
G₀	Do inglês “ <i>Gap</i> ”, traduzido como intervalo G0. É o intervalo durante o qual as células estão fora do ciclo celular (quiescentes)
G₁	Do inglês “ <i>Gap</i> ”, traduzido como intervalo G1. É o intervalo pós-mitótico e pré-síntese de DNA
G₂	Do inglês “ <i>Gap</i> ”, traduzido como intervalo G2. É o intervalo durante o qual não ocorre síntese de DNA
H.E.	Hematoxilina e Eosina
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Ki-67	Antígeno Ki-67 (<i>Kiel-67</i>)
LCGC	Lesão de células gigantes central
LCGP	Lesão de células gigantes periférica
Leica QWin	Programa computacional para captura de imagens
M	Fase do ciclo celular em que ocorre a divisão do núcleo celular
MDM2	Do inglês “ <i>Murine Double Minute</i> ”, traduzido como minuto de murina duplo
mg	Unidade de medida de massa “miligramas”
ml	Unidade de medida de volume “mililitros”
mm	Unidade de medida de comprimento “milímetros”
mM	Mili-Molar
MM1	Clone para detecção do antígeno Ki-67
N	Média do número de AgNORs por núcleo de células gigantes multinucleadas e células ovóides
NORs	Regiões de organização nucleolar, do inglês “ <i>Argiophilic Nucleolar Organizer Regions</i> ”
OI	Osso Imaturo
p53	Do inglês “ <i>53 protein</i> ”, traduzido como proteína 53
PC10	Clone para detecção do antígeno PCNA
PCNA	Do inglês “ <i>Proliferating Cell Nuclear Antigen</i> ”, traduzido como Antígeno Nuclear de Proliferação Celular
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNUD	Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento
<i>p</i> valor	Valor de probabilidade
RNA	Do inglês “ <i>Ribonucleic Acid</i> ”, traduzido como ácido ribonucléico
S	Fase do ciclo celular na qual ocorre a síntese do DNA
TCG	Tumor de células gigantes
TRIS	Tris-hidroxi-metil-aminometano
χ^2	Símbolo do teste estatístico qui-quadrado

Lista de Anexos

Anexo A –	Ficha individual de tomada de dados dos prontuários dos pacientes portadores de LCGP registrados nos Serviços de Diagnóstico Histopatológico Bucal da FOA-UNESP e da FO-UPF e da observação da presença de osso imaturo nessas lesões.	100
Anexo B –	Contato via correspondência e ou ligação telefônica com os pacientes que apresentavam LCGP registrados nos Serviços de Diagnóstico Histopatológico Bucal da FOA-UNESP ou FO-UPF, para coleta de dados.	102
Anexo C -	Termo de consentimento livre e esclarecido.	104
Anexo D –	Quadro 1 – Resultado globalizado do estudo clínico retrospectivo em 61 pacientes (incluindo-se os 15 pacientes do estudo histoquímico e imunohistoquímico, em vermelho).	106
Anexo E –	Quadro 2 - Resultado globalizado do estudo radiográfico retrospectivo em 61 pacientes (incluindo-se os 15 pacientes do estudo histoquímico e imunohistoquímico, em vermelho).	110
Anexo F –	Descrição e figuras de um caso clínico estudado neste trabalho.	114
Anexo G -	Pareceres dos Comitês de Ética em Pesquisa.	118

Sumário

1	Introdução	20
2	Proposição	27
3	Material e Método	29
3.1	Material	29
3.2	Método	29
3.2.1	Estudo Clínico-Radiográfico Retrospectivo em Pacientes com LCGP	30
3.2.1.1	Critérios de Elegibilidade para o Estudo Clínico-Radiográfico Retrospectivo	30
3.2.1.2	Estudo Clínico Retrospectivo em Pacientes com LCGP / Parâmetros Clínicos	30
3.2.1.3	Estudo Radiográfico Retrospectivo em Pacientes com LCGP / Parâmetros Radiográficos	32
3.2.1.4	Determinação do Grau de Agressividade Clínico-Radiográfica da LCGP (adaptado de Chuong et al., 1986 e Whitaker e Waldron, 1993)	32
3.2.2	Estudo Histopatológico, Histoquímico e Imunohistoquímico da LCGP	33
3.2.2.1	Critérios de Elegibilidade para o Estudo Histopatológico, Histoquímico e Imunohistoquímico	34
3.2.2.2	Estudo Histopatológico da LCGP	34
3.2.2.3	Estudo Histoquímico e Imunohistoquímico da LCGP / Grupos de Estudo segundo os Graus de Agressividade Clínico-Radiográfica das Lesões	35
3.2.2.4	Estudo Histoquímico com AgNORs	35
3.2.2.5	Estudo Imunohistoquímico com PCNA, p53 e Ki-67	37

3.2.3 Comitês de Ética em Pesquisa	38
4 Resultado	41
4.1 Estudo Clínico-Radiográfico Retrospectivo em Pacientes com LCGP	41
4.1.1 Dados Clínicos e Radiográficos	41
4.1.2 Graus de Agressividade Clínico-Radiográfica da LCGP	50
4.2 Estudo Histopatológico da LCGP / Confirmação Diagnóstica e Presença de Osso Imaturo	52
4.3 Estudo Histoquímico – AgNOR	55
4.4 Estudo Imunohistoquímico	58
4.4.1 Estudo Imunohistoquímico – PCNA	59
4.4.2 Estudo Imunohistoquímico – Ki-67	60
4.4.3 Estudo Imunohistoquímico – p53	61
5 Discussão	64
6 Conclusão	89
Referências	93
Anexos	100

1 INTRODUÇÃO

1 Introdução

Proliferações teciduais de natureza reativa, também denominadas processos proliferativos reacionais ou lesões proliferativas não neoplásicas reacionais, são freqüentemente encontradas na mucosa bucal, sobretudo na região gengival e de mucosa de revestimento de rebordos alveolares desdentados. São lesões de natureza benigna, geralmente ocasionadas por fatores irritantes locais crônicos (EVERSOLE; ROVIN, 1972; MACLEOD; SOAMES, 1987; NEVILLE et al., 2004; SPOUGE, 1973; VÁZQUEZ-PIÑEIRO et al., 2002), tal como a lesão de células gigantes periférica da cavidade bucal (LCGP).

A LCGP tem sido descrita com várias sinónimas, dentre as quais tumor mielóide, tumor de células gigantes, granuloma de células gigantes, osteoclastoma e granuloma reparador de células gigantes, o que tem trazido, muitas vezes, confusão ao seu entendimento (DURSO; CONSOLARO, 2003). A primeira descrição clínica de um tumor associado a células gigantes foi feita por Cooper e Travers (1818, apud DURSO; CONSOLARO, 2003), e a primeira descrição microscópica das células gigantes, referidas como “células-mães”, foi realizada por Lebert (1845, apud DURSO; CONSOLARO, 2003). Paget (1854, apud DURSO; CONSOLARO, 2003), denominou a lesão de “tumores mielóides”, fazendo a descrição de casos localizados em ambos os maxilares. Ressalta-se que a denominação mielóides foi utilizada assumindo-se que as células multinucleadas que caracterizam o tumor seriam megacariócitos modificados (BERNIER, 1962), ou seja, as mesmas células encontradas na medula óssea jovem (SILVERMAN et al., 1964). Essas células multinucleadas seriam também encontradas em outras enfermidades não associadas ao tecido ósseo, fatos que para Virchow (1964) reforçam a idéia de que o termo “mielóides” não seria apropriado para esses tumores. Foi, por isso, introduzido na literatura o termo “tumor de células gigantes”.

Por sua vez, Stewart (1922) chegou à conclusão de que as células gigantes multinucleadas eram osteoclastos e sugeriu a denominação “osteoclastoma” para o tumor

de células gigantes. Essa denominação ainda permaneceu por certo período nos trabalhos, tanto para o tumor, quanto para o granuloma de células gigantes (BERNIER, 1962).

O termo granuloma reparador de células gigantes periférico foi utilizado para designar a lesão de células gigantes extra-óssea, que foi considerada a contraparte periosteal da lesão central (BERNIER, 1962; BERNIER; CAHN, 1954; CARVALHO, 1991; NEVILLE et al., 2004), em analogia ao termo empregado originalmente por Jaffe (1953) (granuloma reparativo de células gigantes). No entanto, para Durso e Consolaro (2003) e Vázquez-Piñero et al. (2002), o termo granuloma reparador não parece adequado para essa lesão, pois nem sempre ela apresenta caráter reparador, sendo a denominação lesão periférica de células gigantes a mais indicada para essa condição.

Clinicamente, a LCGP se manifesta como lesão nodular superficial, de base séssil ou pediculada, de coloração vermelho-escura, por vezes hemorrágica e de localização preferencial na gengiva ou mucosa de revestimento de rebordos alveolares desdentados. Possui crescimento lento e é geralmente assintomática, ocorrendo maior prevalência na mandíbula do que na maxila (BRINHOLE et al., 1997; GIANANTI; WALDRON, 1969; KATSIKERIS et al., 1988).

Segundo grande parte dos autores, a LCGP é mais prevalente no sexo feminino (BODNER et al., 1997; BRINHOLE et al., 1997; CARVALHO, 1991; GIANANTI; WALDRON, 1969) e na raça branca (DURSO; CONSOLARO, 2003; GIANANTI; WALDRON, 1969; TORRES, 1986).

O tamanho dessa lesão varia, na maioria das vezes, de 0,5 a 1,5 centímetros de diâmetro, sendo que não apresenta características clínicas patognomônicas (FORTES et al., 2002; ROBERSON et al., 1997; VÁZQUEZ-PIÑEIRO et al., 2002). Pode acometer indivíduos de qualquer idade, mostrando dois picos de máxima incidência: um durante o período de dentição mista; outro durante a 3ª e 5ª décadas de vida (BODNER et al., 1997).

Radiograficamente, a LCGP se caracteriza por área radiolúcida na superfície do tecido ósseo subjacente à lesão devido a uma reabsorção superficial do osso com aspecto de “taça” (NEVILLE et al., 2004; SILVERMAN et al., 2004). Ceballos-Salobreña (1995) e

Flaitz (2000) afirmam que a LCGP é uma lesão que afeta quase exclusivamente tecidos moles, podendo raramente afetar os dentes envolvidos e o osso subjacente, chegando apenas esporadicamente a causar uma erosão óssea.

Para Bodner et al. (1997), Giansanti e Waldron (1969) e Silverman et al. (2004), a etiopatogenia da LCGP está relacionada a uma resposta proliferativa incomum do perióstio, frente a uma agressão, que provoca um aumento no número e atividade dos osteoclastos e osteoblastos. Por seu turno, Durso e Consolaro (2003) afirmam que é provável que a LCGP seja uma hiperplasia inflamatória do tecido fibroso do ligamento periodontal, na qual as condições são favoráveis à formação de células gigantes multinucleadas (CGM), formadas provavelmente pela fusão de outras células, uma vez que as CGM não são observadas se dividindo.

Têm sido descritos dois fatores principais na origem da LCGP, agindo de forma conjunta: o fator irritante local (cálculo dental, gengivite, restaurações com excesso ou impacção alimentar) e o fator hormonal sistêmico (hiperestrogenismo) (BODNER et al., 1997). O trauma tem papel importante na etiologia dessa lesão, sendo sua causa principal a extração dental, embora a irritação provocada por prótese removível ou infecção crônica da gengiva ou mucosa alveolar também tenha significação (CAVEZZI JÚNIOR, 1997; FERREIRA; CAVEZZI JÚNIOR, 1994).

Cavezzi Júnior (1997), Flaitz (2000) e Parbatani et al. (1998) afirmam que a LCGP pode se assemelhar a várias outras patologias, como a hiperplasia fibrosa inflamatória, o granuloma piogênico, o fibroma cemento-ossificante periférico e o tumor marrom do hiperparatireoidismo, em razão, sobretudo, aos seus aspectos clínicos relativos a coloração, localização, morfologia e base.

Histopatologicamente, a LCGP se caracteriza por mostrar numerosos focos de células gigantes multinucleadas, partículas de hemossiderina, áreas de inflamação crônica mais para o interior do tecido conjuntivo e áreas de inflamação aguda na sua superfície. Quase sempre a lesão se encontra revestida por epitélio hiperplásico e possivelmente ulcerado, podendo ocorrer processos de transformação óssea no interior da lesão

(FERREIRA; CAVEZZI JÚNIOR, 1994; NEVILLE et al., 2004). Por sua vez, Dayan et al. (1990) afirmam ser o material calcificado presente nas LCGPs, produzido por células mononucleares do tecido conjuntivo, as quais lembram osteoblastos proliferativos que estão latentes, ou células osteoprogenitoras, derivadas do periósteo traumatizado.

A LCGP pode recidivar em taxa que varia de 4,9% (BRINHOLE et al., 1997; GIANANTI; WALDRON, 1969) a 9,8% (KATSIKERIS et al., 1988). Segundo alguns autores, a recidiva dessa lesão é resultado de tratamento cirúrgico ineficiente ou incorreto, quando o cirurgião não cureta adequadamente o periósteo subjacente à lesão, ou deixa porções muito pequenas da lesão entre os tecidos. Essas porções, por sua vez, contêm células, as quais proliferam e promovem a recidiva da LCGP (BRINHOLE et al., 1997; GIANANTI; WALDRON, 1969). Para Flaitz (2000) e Pandolfi et al. (1999), a falta de controle dos fatores irritantes locais crônicos após o tratamento cirúrgico das LCGPs também é fator que proporciona a recidiva deste tipo de lesão.

Giansanti e Waldron (1969) afirmaram não existir correlação entre a presença de tecido ósseo imaturo nas LCGPs e alguns aspectos clínicos (localização e duração da lesão) desta enfermidade. Por outro lado, segundo Acosta Gil et al. (1995), a presença de osso imaturo no interior das lesões de células gigantes centrais (LCGCs) pode ser utilizada como fator histológico de prognóstico para a recidiva dessa lesão na cavidade bucal, em razão de esses autores em seu trabalho terem encontrado quantidade significativamente maior de tecido ósseo imaturo na composição histológica de LCGCs não recidivantes, quando comparadas a LCGCs recidivantes.

O tratamento usual da LCGP, tanto para lesões iniciais como para recidivas, consiste na excisão cirúrgica total da lesão com bisturi convencional, tendo-se o cuidado de curetar bem as bordas e o fundo da lesão para que resquícios desta não permaneçam e venham a proliferar, resultando numa lesão recidivante (BRINHOLE et al., 1997; SIDHU et al., 1995; VÁZQUEZ-PIÑEIRO et al., 2002). Outras formas de tratamento para a LCGP têm sido sugeridas; por exemplo, Pandolfi et al. (1999) relatam um caso de LCGP, cujo tratamento foi realizado através da excisão da lesão com eletro-cautério.

Apesar de a LCGP ser considerada pela maioria dos autores como uma lesão pouco agressiva, tanto clínica como radiograficamente, existem alguns estudos publicados na literatura científica que reportam casos de LCGPs com potencial clínico-radiográfico agressivo (CAVEZZI JUNIOR, 1997; COSTA et al., 1993; FLAITZ, 2000; NEDIR et al., 1997; PANDOLFI et al., 1999; SHIELDS, 1994; VÁZQUEZ-PIÑEIRO et al., 2002; WOLFSON; TAL, 1989). Entretanto, não há relatos de experimentos que correlacionam a atividade proliferativa celular com diferentes graus de agressividade clínico-radiográfica em LCGPs, utilizando-se técnicas histoquímicas e ou imunohistoquímicas. Há apenas relatos em relação à LCGC, comparando esta com o tumor de células gigantes (TCG) ou com a LCGP (SOUZA et al., 2000; SOUZA et al., 1999; WHITAKER et al., 1993).

Chuong et al. (1986) realizaram um estudo clínico-patológico retrospectivo da LCGC, classificando um total de 17 lesões em dois grupos (LCGCs agressivas e não agressivas), segundo os seguintes critérios: velocidade de crescimento da lesão, presença de sintoma dor na lesão, perfuração e ou expansão da cortical óssea causadas pela lesão, sinais de reabsorção radicular dos dentes adjacentes à lesão e ocorrência de recidiva da lesão.

Whitaker et al. (1993), utilizando-se dos critérios propostos por Chuong et al. (1986), identificaram em seu estudo em LCGC, realizado com o AgNOR (estudo histoquímico), um perfil de proliferação das células mono e multinucleadas significativamente maior nas lesões agressivas, quando comparadas às não agressivas.

Souza et al. (1999), utilizando os marcadores p53, MDM2, Ki-67 e PCNA, concluíram que a LCGC apresenta uma maior atividade proliferativa, quando comparada com o TCG. A imunorreatividade do PCNA e do Ki-67 foi estatisticamente maior nas células ovóides da LCGC, sendo que os demais marcadores biológicos não possibilitaram aos autores a obtenção de dados estatisticamente significativos.

Souza et al. (2000) avaliaram a atividade proliferativa da LCGC e LCGP através do uso do p53, PCNA, Ki-67, MDM2 e AgNOR. Após a aplicação dos marcadores, foi constatado como de maior significado que a imunorreatividade do Ki-67 foi maior em células

ovóides das LCGPs, quando comparada àquela obtida nas LCGCs. Os resultados com os demais marcadores utilizados não mostraram significância estatística.

Kruse-Lösler et al. (2006), utilizando os critérios propostos por Chuong et al. (1986), estudaram, através da imunohistoquímica (p53 e Ki-67), 26 casos de LCGCs (16 não agressivos e 10 agressivos); constataram, como resultado, que não houve diferença estatisticamente significativa na imunoexpressão do p53 e do Ki-67 entre os dois grupos estudados.

Esses resultados mostram que as lesões de células gigantes (LCGC, LCGP e TCG), quando estudadas com marcadores biológicos, podem revelar atividades proliferativas celulares / comportamento biológico quantitativamente diferentes. Dentro desse panorama, questionamos: seriam distintas as atividades proliferativas celulares das LCGPs quando colocadas frente de diferentes graus de agressividade clínico-radiográfica, utilizando-se do suporte da histopatologia, histoquímica e imunohistoquímica?

2 PROPOSIÇÃO

2 Proposição

É propósito deste trabalho, por meio de um estudo retrospectivo laboratorial, pesquisar a agressividade da lesão de células gigantes periférica da cavidade bucal através de aspectos clínicos, radiográficos, histopatológicos, histoquímicos e imunohistoquímicos, objetivando melhor conhecer o perfil clínico do paciente, da lesão e, sobretudo, avaliar o comportamento biológico dessa doença.

3 MATERIAL E MÉTODO

3 Material e Método

3.1 Material

Para o presente estudo foram selecionados os prontuários, as requisições de exames histopatológicos e os blocos de parafina contendo material coletado em biópsias incisoriais e ou excisionais de pacientes portadores de LCGPs registrados na Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA-UNESP), no período de janeiro de 1963 a dezembro de 2005, tendo sido obtidos, de um total de 20.500 lesões registradas, 123 casos de LCGP (0,6%); ainda, selecionou-se o mesmo material na Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo (FO-UPF), no período de janeiro de 1984 a dezembro de 2005, obtendo-se, do total de 3.220 lesões registradas, 58 casos de LCGP (1,8%). Dessa forma, um total de 181 pacientes portadores de LCGP foi levantado e destes, 61 casos foram eleitos para o estudo.

3.2 Método

O presente trabalho englobou dois estudos principais. (I) Primeiramente, realizou-se o estudo clínico-radiográfico retrospectivo dos pacientes portadores de LCGP (3.2.1), através da coleta de dados clínicos obtidos dos prontuários, das requisições de exame histopatológico e da coleta de dados radiográficos obtidos nas radiografias dos pacientes. (II) Posteriormente, fez-se o estudo da atividade proliferativa celular / comportamento biológico da LCGP, através dos estudos histopatológico, histoquímico do AgNOR e imunohistoquímico do PCNA, Ki-67 e p53 (3.2.2). Os resultados mais significativos encontrados receberam análise estatística.

3.2.1 Estudo Clínico-Radiográfico Retrospectivo em Pacientes com LCGP

Para o presente estudo, fez-se a coleta de dados anotados nos prontuários, nas requisições de exames histopatológicos e na avaliação das radiografias dos casos. Os casos foram selecionados segundo critérios de elegibilidade, a saber:

3.2.1.1 Critérios de Elegibilidade para o Estudo Clínico-Radiográfico Retrospectivo

- (a) prontuários e ou requisições de exames histopatológicos com dados referentes aos casos;
- (b) radiografias panorâmicas da face, oclusais dos maxilares e periapicais da região das lesões com boa qualidade, referentes aos casos .

Com base nos critérios de elegibilidade propostos, foram selecionados como elegíveis para o estudo clínico-radiográfico 61 casos de LCGP (44 casos pertencentes à FOA-UNESP e 17 casos pertencentes à FO-UPF), do total inicial de 181 casos levantados.

3.2.1.2 Estudo Clínico Retrospectivo em Pacientes com LCGP / Parâmetros Clínicos

O estudo clínico retrospectivo foi realizado com os dados clínicos dos 61 casos de LCGP da cavidade bucal selecionados, sobretudo os dados referentes ao exame clínico (anamnese e exame físico do paciente), englobando as informações relacionadas propriamente à lesão. Os dados coletados foram transcritos para uma ficha individual do paciente (ANEXO A, item A). Ainda, algumas informações foram obtidas através de carta e ou contato telefônico com o paciente (ANEXO B). Dessa maneira, foram selecionados os seguintes parâmetros clínicos de maior interesse, a saber:

- Dados referentes ao paciente:

- * sexo;
- * idade;
- * raça;
- * motivo da consulta;
- * história médica;
- * história familiar;
- * condições de saúde bucal na época do exame clínico.

As condições de saúde bucal do paciente foram avaliadas segundo dados disponíveis nos prontuários examinados e de acordo com os seguintes critérios:

- saúde bucal ruim: dentes remanescentes acometidos por periodontite, gengivite e ou processo carioso, juntamente a má higiene bucal (tártaro e ou placa bacteriana);

- saúde bucal regular: dentes remanescentes livres de cárie, tecido periodontal íntegro ou com leve processo de gengivite, no entanto, má higiene bucal;

- saúde bucal boa: ausência de gengivite, periodontite ou processos cariosos nos dentes remanescentes e boa higiene bucal.

- Dados referentes à lesão:

- * localização;
- * coloração;
- * consistência;
- * presença de sintoma dor;
- * tempo de evolução;
- * tamanho;
- * superfície;
- * base de implantação;
- * provável fator etiológico;
- * diagnóstico diferencial;
- * tipo de tratamento realizado;
- * história de recidiva.

3.2.1.3 Estudo Radiográfico Retrospectivo em Pacientes com LCGP / Parâmetros Radiográficos

O estudo radiográfico retrospectivo constituiu-se na coleta de dados obtidos com a avaliação da LCGP nas radiografias anexas ao prontuário dos 61 pacientes selecionados. Para isso, as radiografias de cada paciente (periapical, oclusal e ou panorâmica) foram examinadas em negatoscópio, com auxílio de lupa e régua milimetrada. Após coletados, os dados foram transcritos para a ficha individual do paciente (ANEXO A, item B). Dessa maneira, foram selecionados os seguintes parâmetros radiográficos de maior interesse para análise:

- * reabsorção do osso subjacente à lesão;
- * localização da reabsorção óssea;
- * tamanho da reabsorção óssea;
- * reabsorção radicular dos dentes circunjacentes à lesão;
- * expansão da cortical óssea circunjacente à lesão;
- * afastamento dos dentes vizinhos à lesão.

3.2.1.4 Determinação do Grau de Agressividade Clínico-Radiográfica da LCGP (adaptado de Chuong et al., 1986 e Whitaker e Waldron, 1993)

Após terem sido coletados e tabulados os dados clínicos e radiográficos, procedeu-se à determinação do grau de agressividade clínico-radiográfica de cada um dos 61 casos de LCGP selecionados, a saber:

Achados Clínicos da Lesão:

- (a) presença de sintoma dor na lesão;
- (b) tempo de evolução da lesão menor que dois meses;
- (c) dimensão da lesão maior que 2 cm no seu maior diâmetro;
- (d) ocorrência de pelo menos um episódio de recidiva.

Achados Radiográficos da Lesão:

- (e) presença de reabsorção óssea adjacente à lesão;
- (f) reabsorção radicular dos dentes próximos à lesão;
- (g) expansão da cortical óssea adjacente à lesão;
- (h) afastamento dos dentes próximos à lesão.

A cada quesito presente na LCGP examinada somou-se 1 (um) ponto ao grau de agressividade clínico-radiográfica dessa lesão, sendo que lesões com grau máximo 8 (oito), foram consideradas extremamente agressivas e lesões com grau mínimo 0 (zero), foram consideradas não agressivas.

Para facilitar os testes estatísticos, os graus de agressividade clínico-radiográfica constatados, foram traduzidos em “faixas de agressividade clínico-radiográfica” da LCGP como se segue:

- grau 0 = faixa de agressividade nula (não agressiva);
- graus 1 e 2 = faixa de agressividade leve;
- graus 3 e 4 = faixa de agressividade moderada;
- graus 5 e 6 = faixa de agressividade severa;
- graus 7 e 8 = faixa de extrema agressividade.

Após tabulados, os dados clínico-radiográficos mais significativos foram submetidos à análise estatística por meio do teste qui-quadrado (CALLEGARI-JACQUES, 2004), ao nível de significância de 5%.

3.2.2 Estudo Histopatológico, Histoquímico e Imunohistoquímico da LCGP

Para melhor compreender e complementar os resultados da agressividade clínico-radiográfica, fez-se o estudo histopatológico, histoquímico e imunohistoquímico da LCGP, como se segue:

3.2.2.1 Critérios de Elegibilidade para o Estudo Histopatológico, Histoquímico e Imunohistoquímico

- (a) lâminas de microscopia contendo cortes histopatológicos de LCGP corados em H.E.;
- (b) blocos de parafina contendo a LCGP com espessura suficiente para microtomia e confecção de novas lâminas microscópicas;
- (c) requisições de exames histopatológicos com dados referentes aos casos.

Dessa maneira, foram selecionados:

- para o estudo histopatológico, 61 casos (os mesmos casos selecionados para o estudo clínico-radiográfico retrospectivo);
- para o estudo histoquímico e imunohistoquímico, selecionaram-se apenas 15 casos (9 pertencentes à FOA-UNESP e 06 pertencentes à FO-UPF), a partir dos 61 casos elegíveis para o estudo clínico-radiográfico retrospectivo, em razão do alto custo no desenvolvimento das técnicas histoquímicas e imunohistoquímicas deste trabalho.

3.2.2.2 Estudo Histopatológico da LCGP

Para o presente estudo, foram selecionadas as lâminas de microscopia contendo cortes histológicos da LCGP dos 61 casos elegíveis para o estudo (itens 3.2.1.1 e 3.2.2.1) (ANEXO A, item C).

Todos os cortes histológicos corados pelo H.E. (PEARSE, 1961) foram analisados à luz da microscopia óptica (microscópio Leica DMLB com oculares HCPLANs) e usados para a confirmação de diagnóstico histopatológico das lesões, e para verificar a presença ou não de osso imaturo no interior das mesmas, objetivando avaliar a validade do fator histológico de prognóstico “presença de osso imaturo” para a recidiva (ACOSTA GIL et al., 1995; GIANSANTI, WALDRON, 1969).

O diagnóstico histopatológico de LCGP foi embasado nos relatos de Andersen et al. (1973), Neville et al. (2004) e Regezi e Sciubba (2000) e, particularmente, na presença dos achados histopatológicos: (1) grande quantidade de tecido de granulação; (2) grande número de células gigantes multinucleadas distribuídas pelo tecido conjuntivo; (3) ocorrência de extravasamento de células sangüíneas no tecido conjuntivo e presença de hemossiderina; (4) formação ocasional de tecido ósseo (particularmente osso imaturo).

Os dados relativos à presença de osso imaturo nas LCGPs foram submetidos à análise estatística por meio do teste qui-quadrado (CALLEGARI-JACQUES, 2004), ao nível de significância de 5%.

3.2.2.3 Estudo Histoquímico e Imunohistoquímico da LCGP / Grupos de Estudo segundo os Graus de Agressividade Clínico-Radiográfica das Lesões

Após a confirmação diagnóstica e análise da presença de tecido ósseo imaturo nas LCGPs, realizou-se o estudo histoquímico e imunohistoquímico em 15 dos 61 casos elegíveis para o estudo clínico-radiográfico retrospectivo (3.2.1.1 e 3.2.2.1).

Os 15 casos foram divididos em três grupos de graus de agressividade, com 5 casos cada. Essa divisão foi realizada com base nos critérios de agressividade do estudo clínico-radiográfico:

Grupo I - Lesões com agressividade nula (grau 0)

Grupo II - Lesões com agressividade moderada (grau 3)

Grupo III - Lesões com agressividade severa (graus 5 e 6)

Não se constatou nenhuma lesão com extrema agressividade (graus 7 e 8).

3.2.2.4 Estudo Histoquímico com AgNORs

Foi utilizado, em cada um dos 15 casos selecionados para este estudo, a AgNOR, cuja técnica de utilização segue a descrita por Ploton et al. (1986) e otimizada por Nunes et al. (1991). Cortes de 6 µm dos materiais de biópsia incluídos em parafina foram

desparafinados, hidratados em etanol absoluto e imersos em ácido acético/etanol (30 ml de ácido acético / 70 ml de etanol) durante 5 minutos. Posteriormente, os cortes teciduais sofreram imersão em celoidina a 1%, em éter/etanol (1:1) durante 1 minuto e em etanol a 70% por 5 minutos, seguindo-se a lavagem com água destilada. Os cortes foram incubados numa solução preparada, composta por uma parte de 50 ml de água destilada, 0,5 ml de ácido fórmico e 1 g de gelatina, para outra parte composta de 10 ml de água destilada e 5 g de nitrato de prata. Os cortes permaneceram nessa solução por 30 minutos em estufa a 45 °C. Por fim, foram desidratados com álcool e clareados em três banhos de xilol, e as lâminas foram montadas em resina permount. As análises da quantidade de AgNORs e da área média das mesmas foram realizadas com objetiva de imersão (1000X), com auxílio do programa computacional Leica QWin (Image Processing and Analysis System) em microscópio Leica (DMLB com oculares HCPLANs) e câmera fotográfica digital (JVC-TK-C, 1320). Obteve-se uma contagem das AgNORs de cem núcleos celulares por espécime (50 núcleos de células gigantes multinucleadas e 50 núcleos de células ovóides). Essas células se localizavam na região central das LCGPs e foram aleatoriamente escolhidas. A média do número de AgNORs por núcleo celular de células gigantes e de células ovóides (N), bem como a área média das AgNORs (em μm^2) dos núcleos de células gigantes e de células ovóides (A), foram calculadas para as 5 LCGPs pertencentes a cada um dos três grupos estudados, utilizando as seguintes equações:

$$N = \frac{\sum (\text{N}^{\circ} \text{ de AgNORs})}{\text{N}^{\circ} \text{ de núcleos}} \qquad A = \frac{\sum (\text{área das AgNORs})}{\text{N}^{\circ} \text{ de AgNORs}}$$

Os dados obtidos com o estudo das AgNORs foram tabulados e submetidos à análise estatística por meio dos testes Anova e de Tukey (CALLEGARI-JACQUES, 2004), ao nível de significância de 5%.

3.2.2.5 Estudo Imunohistoquímico com PCNA, p53 e Ki-67

Foram utilizados blocos de parafina contendo material de biópsia dos 15 casos selecionados para este estudo. Assim, cortes de 3 μm dos materiais foram desparafinados em dois banhos de xilol (um a 60 $^{\circ}\text{C}$ por 30 minutos e outro à temperatura ambiente por 20 minutos). A seguir, os cortes foram reidratados em série descendente de etanóis e imersos em solução de hidróxido de amônia a 10% por 10 minutos, para retirada do pigmento formólico. Para a reação com PCNA e p53, o material foi tratado com ácido cítrico monoidratado (10 mM – pH 6.0) utilizando-se forno de microondas por 12 minutos na potência 8, com o cuidado de verificar o nível da solução a cada 4 minutos, que deveria estar sempre banhando o material. Para o Ki-67, o tratamento com ácido cítrico foi realizado em panela de pressão durante 4 minutos. Com esses recursos, os sítios antigênicos foram recuperados. Após nova lavagem, o material foi incubado em solução composta de água oxigenada a 6% e metanol (1:1), em duas trocas de 5 minutos cada, com o objetivo de bloquear a peroxidase endógena tecidual. Repetida a lavagem com água corrente e destilada, os cortes foram incubados duas vezes em solução de tris-hidroxi-metilaminometano (TRIS) – pH 7.4, por 5 minutos cada. Em seguida, os cortes foram incubados com o soro do anticorpo primário diluído (Quadro 1), preparado juntamente com o soro de albumina bovino (BSA) a 1% por 18 horas. O anticorpo de ligação foi então incubado durante 30 minutos em temperatura ambiente e, em seguida, o complexo streptavidina-biotina por 30 minutos, também sob temperatura ambiente. Para a reação de revelação, utilizou-se o cromógeno diaminobenzidina (DAB) (30 mg) por 5 minutos, diluído em TRIS – pH 7.4 (100 ml) e ativado pela água oxigenada (1,2 ml).

Quadro 1 - Anticorpos monoclonais utilizados

Anticorpos	Clone	Fração de diluição	Tempo de incubação	Temperatura
PCNA*	PC10	1:600	overnight	4 °C
P53*	DO-7	1:75	overnight	4 °C
Ki67**	MM1	1:200	overnight	4 °C

* Dako Corporation

** Novocastra Laboratories Ltda

Os cortes foram então lavados em água corrente e água destilada e contracorados com hematoxilina de Meyer por 1 minuto. Posteriormente, foram desidratados em cadeia ascendente de etanóis, diafanizados em três banhos de xilol e montados em resina permount para exame microscópico de luz. Todas as reações tiveram como controle positivo fragmento de biópsia de carcinoma espinocelular. Para o controle negativo das reações, o anticorpo primário foi substituído por solução BSA a 1%, diluída em tampão TRIS – pH 7.4.

A análise da quantidade de células marcadas pelo PCNA, p53 e Ki-67 foi realizada com objetiva de imersão (1000X) e com auxílio do programa computacional Leica QWin (Image Processing and Analysis System), em microscópio Leica (DMLB com oculares HCPLANs) e câmera fotográfica digital (JVC-TK-C, 1320). Obteve-se uma contagem dos núcleos de células ovóides mononucleadas positivos (imunorreativos) e negativos (não imunorreativos) de 5 campos pertencentes a cada lesão, aleatoriamente escolhidos na região central de cada espécime tecidual.

Os dados referentes a cada um dos marcadores (PCNA, p53 e Ki-67), para os três grupos analisados, foram submetidos à análise estatística por meio dos testes Anova e de Tukey (CALLEGARI-JACQUES, 2004), ao nível de significância de 5%.

3.2.3 Comitês de Ética em Pesquisa

O projeto de pesquisa do presente estudo foi submetido à apreciação dos comitês de ética em pesquisa envolvendo seres humanos das duas instituições envolvidas, tendo sido aprovado (CEP/FOA – 2005-01089 e CEP/UPF – 621/2005 , ANEXO G). O trabalho só foi

iniciado, uma vez enviada ao paciente correspondência informando sobre a natureza do estudo, juntamente com um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO C).

4 RESULTADO

4 Resultado

4.1 Estudo Clínico-Radiográfico Retrospectivo em Pacientes com LCGP

4.1.1 Dados Clínicos e Radiográficos

Os resultados mais significativos do estudo clínico-radiográfico retrospectivo nos 61 casos elegíveis neste estudo estão descritos nos Quadros 2 a 4, nas Figuras 1 a 10 e nos Anexos D e E.

Quadro 2 – Dados clínicos absolutos e percentuais dos 61 pacientes e respectivas lesões incluídas nos estudos clínico-radiográfico retrospectivo e histopatológico

Universidade	Sexo	Faixa etária*	Raça	Mot. consulta	História médica*	História familiar*	Saúde bucal	Localização
FOA-UNESP 44 casos (72,13%)	Feminino 35 casos (57,37%)	Média – 36,95 anos	Branca 49 casos (80,32%)	Cresc. tec. intrab. não doloroso e não recidivante 37 casos (60,65%)	História não contributiva 15 casos (24,60%)	História não contributiva 38 casos (62,30%)	Regular 19 casos (31,15%)	Região mandibular anterior 19 casos (31,15%)
FO-UPF 17 casos (27,87%)	Masculino 26 casos (42,63%)	Mínima – 7 anos	Negra 11 casos (18,03%)	Cresc. tec. intrab. doloroso e não recidivante 13 casos (21,30%)	Hipertensão arterial 12 casos (19,67%)	Insuficiência cardíaca 12 casos (19,67%)	Ruim 16 casos (26,22%)	Região maxilar anterior 17 casos (27,87%)
		Máxima – 82 anos	Dados não disponíveis 1 caso (1,65%)	Cresc. tec. intrab. doloroso e recidivante 6 casos (9,85%)	Hiperestrogenismo (puberdade, gravidez, anticoncepcionais ou reposição hormonal) 7 casos (11,48%)	Hipertensão arterial 11 casos (18,03%)	Boa 14 casos (22,95%)	Região mandibular média 8 casos (13,11%)
		Pico de prevalência - 31 a 40 anos 16 casos (26,23%)		Cresc. tec. intrab. não doloroso e recidivante 5 casos (8,20%)	Anemia 6 casos (9,84%)	Diabetes tipo I 9 casos (14,75%)	Desdentados totais 6 casos (9,84%)	Região mandibular posterior 8 casos (13,11%)
					Retardo mental, diabetes tipo I 5 casos cada (8,20%)	Lesões bucais (LCGP) 3 casos (4,92%)	Dados não disponíveis 6 casos (9,84%)	Região maxilar média 6 casos (9,84%)
					Demais dados (vide Anexo D, pág. 106)	Demais dados (vide Anexo D, pág. 106)		Região maxilar posterior 3 casos (4,92%) Continua...

Conclusão...

Coloração	Consistência	Sintoma dor	Tempo de evolução*	Tamanho - maior diâmetro*	Superfície	Base de implantação	Fator etiológico local provável	Diagnóstico diferencial*	Tratamento	Recidiva
Púrpura 27 casos (44,26%)	Fibrosa 32 casos (52,46%)	Ausente 42 casos (68,85%)	Média – 12,87 meses	Média – 1,75 cm	Íntegra 38 casos (62,30%)	Séssil 36 casos (59,02%)	Ignorado pelo paciente 23 casos (37,70%)	Granuloma piogênico 30 casos (49,18%)	Exérese com bisturi convencional 47 casos (77,05%)	Sem registros de recidiva 49 casos (80,33%)
Vermelho 18 casos (29,50%)	Mole 23 casos (37,70%)	Presente 19 casos (31,15%)	Mínima – 3 dias	Mínima – 0,5 cm	Ulcerada 9 casos (14,75%)	Pediculada 19 casos (31,15%)	Trauma por prótese mal adaptada 14 casos (22,95%)	Hiperplasia fibrosa inflamatória e fibroma 9 casos cada (14,75%)	Exérese com bisturi convencional associada a curetagem 14 casos (22,95%)	Um registro 12 casos (19,67%)
Vermelho-escuro 7 casos (11,46%)	Dura 6 casos (9,84%)		Máxima – 204 meses (17 anos)	Máxima – 8 cm	Rugosa 8 casos (13,12%)	Dados não disponíveis 6 casos (9,83%)	Trauma por pancadas ou mastigação 10 casos (16,40%)	Fibroma cemento-ossificante periférico 8 casos (13,12%)		
Rosa-pálido 6 casos (9,85%)			Pico de prevalência – 2 meses 9 casos (14,75%)	Pico de prevalência – 1 cm 21 casos (34,43%)	Dados não disponíveis 6 casos (9,83%)		Exodontia traumática 8 casos (13,11%)	Hemangioma capilar ulcerado 6 casos (9,84%)		
Azulado 2 casos (3,28%)							Outros fatores** 4 casos (6,54%)	Dados não disponíveis 12 casos (19,67%)		
Acastanhado 1 caso (1,65%)							Dados não disponíveis 2 casos (3,30%)	Demais dados vide anexo D (pág. 106)		

*Estão apresentados apenas os dados mais significativos (para maiores detalhes, vide ANEXO D)

** Trauma ocasionado por aparelho ortodôntico (1 caso – 1,65%), irritação por cálculo dentário (2 casos – 3,28%) ou grampo utilizado em isolamento absoluto do campo operatório (1 caso – 1,65%).

Quadro 3 – Dados radiográficos absolutos e percentuais e faixas de agressividade clínico radiográfica dos 61 pacientes e respectivas lesões incluídas nos estudos clínico-radiográfico retrospectivo e histopatológico

Reabsorção óssea	Localização da reabsorção óssea	Diâmetro da reabsorção óssea*	Reabsorção radicular	Expansão da cortical	Afastamento dentário	Faixa de Agressividade clínico-radiográfica
Presente 38 casos (62,30%)	Adjacente a região mucosa acometida pela LCGP 38 casos (62,30%)	Média – 1,6 cm	Ausente 55 casos (90,16%)	Ausente 58 casos (95,08%)	Ausente 48 casos (78,69%)	Leve 25 casos (40,98%)
Ausente 23 casos (37,70%)	Ausência de reabsorção óssea 23 casos (37,70%)	Mínimo – 0,3 cm	Presente 6 casos (9,84%)	Presente 3 casos (4,92%)	Presente 13 casos (21,31%)	Moderada 21 casos (34,42%)
		Máximo – 5 cm				Nula 10 casos (16,40%)
		Pico de prevalência – 1,5 cm 13 casos (21,31%)				Severa 5 casos (8,20%)

*Estão apresentados apenas os dados mais significativos (para maiores detalhes, vide ANEXO E)

Quadro 4 – Valor do teste qui-quadrado (χ^2) e significância estatística (p) para a correlação entre a faixa de agressividade clínico-radiográfica e os aspectos clínico-radiográficos das 61 LCGPs analisadas.

Aspecto clínico ou radiográfico cruzado com a faixa de agressividade clínico-radiográfica	Valor do teste qui-quadrado e do “ p valor”, respectivamente*	Aspecto clínico ou radiográfico cruzado com a faixa de agressividade clínico-radiográfica	Valor do teste qui-quadrado e do “ p valor”, respectivamente*
Instituição (FOA/UNESP ou FO/UPF)	($\chi^2 = 2,44$; $p = 0,87$)	Tamanho (maior diâmetro)	($\chi^2 = 50,07$; $p = 0,03$)
Sexo	($\chi^2 = 6,21$; $p = 0,10$)	Superfície	($\chi^2 = 5,74$; $p = 0,77$)
Faixa etária	($\chi^2 = 23,29$; $p = 0,33$)	Base de implantação	($\chi^2 = 9,7$; $p = 0,14$)
Raça	($\chi^2 = 7,35$; $p = 0,29$)	Fator etiológico local provável	($\chi^2 = 38,03$; $p = 0,25$)
Motivo da consulta	($\chi^2 = 5,25$; $p = 0,04$)	Diagnóstico diferencial	Não aplicado teste estatístico**
História médica	Não aplicado teste estatístico**	Recidiva	($\chi^2 = 17,17$; $p = 0,0007$)
História familiar	Não aplicado teste estatístico**	Reabsorção óssea	($\chi^2 = 34,43$; $p = 0$)
Saúde bucal	($\chi^2 = 16,82$; $p = 0,16$)	Localização da reabsorção óssea	Não aplicado teste estatístico***
Localização	($\chi^2 = 18,89$; $p = 0,40$)	Diâmetro da reabsorção óssea	($\chi^2 = 90,67$; $p = 0$)
Coloração	($\chi^2 = 18,73$; $p = 0,23$)	Reabsorção radicular	($\chi^2 = 10,96$; $p = 0,01$)
Consistência	($\chi^2 = 3,68$; $p = 0,72$)	Expansão da cortical	($\chi^2 = 14,97$; $p = 0,0018$)
Sintoma dor	($\chi^2 = 12,03$; $p = 0,007$)	Afastamento dentário	($\chi^2 = 12,20$; $p = 0,007$)
Tempo de evolução	($\chi^2 = 49,92$; $p = 0,40$)		

* Os valores de p foram considerados estatisticamente significativos quando iguais ou menores do que 0,05.

** Não aplicado teste estatístico devido à grande variabilidade da amostra.

*** Não aplicado teste estatístico, pois, nos casos em que ocorreu, a localização da reabsorção óssea se deu próxima à lesão.

ANEXO D - Quadro 1 – Resultado globalizado do estudo clínico retrospectivo em 61 pacientes (incluindo-se os 15 pacientes do estudo histoiquímico-imunohistoquímico, em vermelho)

Caso	Univ.	Sexo	Idade (anos)	Raça	Mot. Cons.	Hist. médica	Hist. fam.	Saúde bucal	Localização	Coloração	Consistência	Sintoma / dor	Tempo evol. (meses)
1	2	1	52	1	1	4,7	0	2	6	3	1	2	3
2	2	2	26	1	1	0	0	2	2	1	2	2	18
3	2	2	9	1	1	6	0	3	4	1	2	2	4
4	1	1	40	1	1	1,2,16	0	3	4	1	1	2	6
5	1	2	49	1	1	4,10,12	0	2	1	3	2	2	3
6	2	2	34	2	1	0	0	0	4	1	2	2	24
7	2	2	9	1	1	10,13	1,2,3,4	3	4	1	2	2	12
8	2	1	39	1	1	0	0	0	6	1	1	2	3
9	1	2	34	DND	1	DND	DND	DND	4	4	2	2	3
10	2	1	DND	1	1	DND	DND	DND	2	1	2	2	3
11	2	1	9	2	1	13	0	3	1	3	2	2	2
12	2	2	70	1	1	0	0	0	1	2	1	2	4
13	2	2	12	2	1	8	1,2,3,4	3	5	2	2	2	1
14	2	1	59	1	1	5,10	0	0	4	2	2	2	204
15	1	2	82	1	1	1,4,16	0	3	4	4	1	2	96
16	1	2	55	1	1	0	0	1	4	1	2	2	6
17	1	2	60	1	1	2,18	0	1	4	3	2	2	12
18	1	1	10	2	1	DND	DND	DND	5	1	1	2	12
19	2	2	40	1	1	DND	DND	DND	6	2	1	2	2
20	2	2	44	1	2	DND	DND	DND	2	1	1	2	2.5
21	2	1	35	2	1	1,3,7,10	1,3,4	DND	4	2	2	2	6
22	2	1	31	1	1	0	0	2	1	2	2	2	4
23	2	1	52	1	3	1,5,6,21	0	2	6	2	2	1	2
24	2	1	26	1	3	7	4	2	4	2	1	1	3
25	2	2	29	1	1	0	0	2	6	6	1	2	0.5
26	2	1	45	1	3	7,11,21	1,2,4	0	1	2	3	1	48
27	2	2	35	1	3	15	0	3	1	2	2	1	12
28	2	1	19	1	1	22	1,2,3	3	1	1	1	2	1
29	2	1	33	1	1	0	2,4,6	2	1	2	1	2	2
30	2	1	27	1	1	7	0	2	4	1	1	2	3
31	2	1	31	1	3	1,3,6,10	0	1	6	1	2	1	12
32	2	1	46	1	1	6,7	0	3	3	1	2	2	7
33	1	1	10	2	1	0	0	3	4	3	1	2	4

Continua...

Continuação...

Caso	Univ.	Sexo	Idade (anos)	Raça	Mot. Cons.	Hist. médica	Hist. fam.	Saúde bucal	Localização	Coloração	Consistência	Sintoma / dor	Tempo evol. (meses)
34	1	1	33	1	2	0	0	1	1	2	2	2	1
35	2	1	58	1	3	1	1,4	2	3	5	3	1	1
36	2	1	50	2	3	3	DND	1	4	2	2	1	12
37	2	1	34	1	1	7, 12, 14	2, 4, 6	2	5	2	2	2	1
38	2	2	60	1	1	3	0	1	4	5	3	2	0.5
39	1	1	43	1	1	1, 16, 19	0	1	5	1	2	2	96
40	1	1	41	1	1	1	0	1	4	3	1	2	3
41	1	1	44	1	2	2	0	3	1	2	1	2	4
42	1	1	43	1	2	1	0	2	5	3	1	2	2
43	2	2	60	1	1	3	0	1	2	2	3	2	0.5
44	2	1	25	1	3	0	0	1	1	1	2	1	9
45	2	1	18	1	1	0	0	3	6	5	1	2	12
46	2	2	69	1	3	1, 19	1	0	1	5	3	1	1
47	2	2	7	1	3	0	0	3	4	1	2	1	2
48	2	1	46	2	4	6, 11, 21	1, 2, 3, 4	1	1	1	1	1	4
49	2	2	19	1	1	6	1, 3, 4	1	6	5	2	2	24
50	2	2	51	1	1	1, 23, 24	1	2	5	1	2	2	7
51	2	2	45	1	4	19	1, 2	2	2	1	2	1	2
52	2	2	42	1	3	25	3, 5	2	1	1	2	1	1
53	2	2	12	2	3	21	0	2	2	2	2	1	48
54	2	2	36	1	4	5	0	2	3	1	1	1	0.1
55	1	2	68	1	1	1, 2, 4, 20, 21	0	1	1	1	1	2	1
56	1	1	10	1	1	0	0	3	1	1	1	2	12
57	2	1	33	2	3	9	0	1	1	5	2	1	4
58	2	1	35	2	4	4, 22	4	1	4	2	2	1	2
59	1	1	40	1	2	16, 17	0	2	5	1	1	2	6
60	2	1	14	1	4	0	2, 4, 6	2	5	1	3	1	2
61	1	1	29	1	4	2, 5	0	1	4	1	2	1	2

Continua...

Continuação...

	Tamanho lesão (cm)	Superfície lesão	Base lesão	Fator etiol. provável	Diagn. diferencial	Trat. realizado	Recidiva
Caso 1	1	3	DND	0	2	1	0
2	0.6	1	2	0	2,8	1	0
3	1.5	1	1	0	2	1	0
4	1.5	1	2	0	2	1	0
5	0.7	1	1	4	DND	1	0
6	1	1	2	1	5,9	1	0
7	0.5	1	1	5	2,7,8	1	0
8	1	3	1	1	2,21	1	0
9	1.5	4	DND	DND	DND	2	0
10	1	DND	2	0	DND	1	0
11	1	1	2	5	2,8	1	0
12	1	DND	2	1	8	2	0
13	1.5	1	2	0	9, 13, 14, 21	1	0
14	2	4	1	1	9	1	0
15	0.5	1	2	1	2	1	0
16	1	4	1	1	DND	1	0
17	1.5	1	1	6	2	1	0
18	2	4	DND	5	2	1	0
19	1	DND	1	0	DND	1	0
20	1	DND	1	1	DND	1	1
21	2	1	1	3	2	1	0
22	2.5	1	2	1	2,5	1	0
23	1	1	2	0	2,5	1	0
24	1	1	2	2	2	2	0
25	1	4	1	2	10	2	0
26	0.8	1	1	0	2	1	0
27	2	1	1	DND	DND	1	0
28	1	1	1	0	3, 4, 6	2	0
29	1	1	1	1	5, 11, 18	1	0
30	1	1	1	3	10	2	0
31	2	1	1	2	21	1	0
32	2	3	2	2	2, 8, 9	1	0
33	1.5	1	1	0	DND	1	0

Continua...

Conclusão...

Caso	Tamanho lesão (cm)	Superfície lesão	Base lesão	Fator etiol. provável	Diagn. diferencial	Trat. realizado	Recidiva
34	1	1	1	1	21	1	1
35	1	1	1	3	2, 9, 21	1	0
36	5	1	2	0	DND	1	0
37	2	1	DND	1	9	1	0
38	1	1	1	5	2, 19, 21	1	0
39	3	1	2	0	DND	1	0
40	2	1	1	0	DND	2	0
41	3	3	1	0	22	2	1
42	1	DND	1	0	DND	2	1
43	3	3	2	5	2, 19, 21	1	0
44	2	4	1	2	8	1	0
45	1.5	4	1	7	10	2	0
46	1.5	1	1	1	20	2	0
47	1	1	1	2	2	1	0
48	1.5	1	2	3	2, 5, 9	1	1
49	4	4	2	0	2, 5	1	0
50	2	1	1	0	2	1	0
51	1	1	1	0	2, 9, 11	1	1
52	2.5	3	1	1	2, 9, 12	1	0
53	3	3	2	3	2, 5, 11	1	0
54	0.5	1	1	2	2, 21	1	1
55	2.5	3	1	0	3, 4	2	1
56	2	1	1	0	22	2	0
57	3	1	2	1	5	1	0
58	2	1	1	6	2, 15, 16, 17, 21	1	1
59	2	1	DND	0	23, 24	1	1
60	3	DND	DND	2	2	2	1
61	8	3	1	0	2	1	1

ANEXO E - Quadro 2 – Resultado globalizado do estudo radiográfico retrospectivo em 61 pacientes (incluindo-se os 15 pacientes do estudo histoquímico-imunohistoquímico, em vermelho)

Caso	Reabsorção óssea	Localiz. reabs. óssea	Tam. reabs. óssea (cm)	Reabs. radicular	Expansão cortical	Afast. dentário	Agressividade clínico-radiográfica
1	1	0	0	1	1	1	0
2	1	0	0	1	1	1	0
3	1	0	0	1	1	1	0
4	1	0	0	1	1	1	0
5	1	0	0	1	1	1	0
6	1	0	0	1	1	1	0
7	1	0	0	1	1	1	0
8	1	0	0	1	1	1	0
9	1	0	0	1	1	1	0
10	1	0	0	1	1	1	0
11	1	0	0	1	1	1	1
12	2	1	1	1	1	1	1
13	1	0	0	1	1	1	1
14	1	0	0	1	1	1	1
15	2	1	1.5	1	1	1	1
16	2	1	1	1	1	1	1
17	2	1	0.5	1	1	1	1
18	1	0	0	1	1	1	1
19	1	0	0	1	1	1	1
20	1	0	0	1	1	1	1
21	1	0	0	1	1	1	1
22	1	0	0	1	1	1	1
23	1	0	0	1	1	1	2
24	2	1	1.5	1	1	1	2
25	2	1	1	1	1	1	2
26	2	1	0.5	1	1	1	2
27	1	0	0	1	1	1	2
28	2	1	3	1	1	1	2
29	2	1	1.5	1	1	1	2
30	2	1	1	1	1	2	2
31	1	0	0	1	1	1	2
32	2	1	1.5	1	1	1	2
33	2	1	1	1	1	2	2

Continua...

Conclusão...

Caso	Reabsorção óssea	Localiz. reabs. óssea	Tam. reabs. óssea (cm)	Reabs. radicular	Expansão cortical	Afast. dentário	Agressividade clínico-radiográfica
34	1	0	0	1	1	1	2
35	1	0	0	1	1	1	2
36	2	1	1	1	1	1	3
37	2	1	1.5	1	1	1	3
38	2	1	1	1	1	2	3
39	2	1	3	1	1	2	3
40	2	1	1.5	1	1	2	3
41	2	1	3	1	1	1	3
42	2	1	0.3	1	1	1	3
43	2	1	1.5	1	1	1	3
44	2	1	1	1	1	1	3
45	2	1	1.5	2	1	2	3
46	2	1	1.5	1	1	1	3
47	2	1	1	2	1	1	4
48	2	1	1.5	1	1	2	4
49	2	1	3.5	2	1	2	4
50	2	1	1.5	2	1	2	4
51	2	1	2.5	1	1	1	4
52	2	1	1	1	1	1	4
53	2	1	0.5	1	1	2	4
54	2	1	1	1	1	1	4
55	2	1	1.5	1	1	1	4
56	2	1	1.5	1	2	2	4
57	2	1	2	2	2	1	5
58	2	1	2	1	1	1	5
59	2	1	2	2	1	2	5
60	2	1	2.5	1	2	1	6
61	2	1	5	1	1	2	6

Legendas dos ANEXOS D e E, Quadros 1 e 2:

<u>Universidade</u>	<u>Sexo</u>	<u>Raça</u>	<u>Motivo da consulta</u>	<u>Saúde bucal</u>
1 FOA-UPF	1 Feminino	1 Branca	1 Crescimento tec. Intra bucal n/ doloroso	0 Desdentado total
2 FOA-Unesp	2 Masculino	2 Negra	2 Crescimento tec. intra bucal n/ doloroso recidivante	1 Ruim
			3 Crescimento tec. Intra bucal doloroso	2 Regular
			4 Crescimento tec. Intra bucal doloroso recidivante	3 Boa
História médica	História familiar	Localização da lesão	Coloração da lesão	
DND Dados não disponíveis	DND Dados não disponíveis	1 Região maxilar anterior	1 Púrpura	
0 História não contributiva	0 História não contributiva	2 Região maxilar média	2 Vermelho	
1 Hipertensão arterial	1 Hipertensão arterial	3 Região maxilar posterior	3 Vermelho-escuro	
2 Respiração bucal	2 Diabetes tipo I	4 Região mandibular anterior	4 Azulado	
3 Retardo mental	3 Câncer de próstata	5 Região mandibular média	5 Rosa-pálido	
4 Diabetes tipo I	4 Insuficiência cardíaca	6 Região mandibular posterior	6 Acastanhado	
5 Deficiência plaquetária	5 Retardo mental		7 Enegrecido	
6 Anemia	6 Lesões intra bucais (LCGP)		8 Esbranquiçado	
7 Hiperestrogenismo (puberdade, a.c. orais, gravidez ou reposição hormonal)				
8 Alergia a alimentos (balas, chicletes)	Consistência da lesão	Sintoma dor da lesão	Superfície da lesão	
9 Hiperparatireoidismo	DND Dados não disponíveis	DND Dados não disponíveis	DND Dados não disponíveis	
10 Insuficiência cardíaca	1 Mole	1 Presente	1 Íntegra	
11 Cálculos renais	2 Fibrosa	2 Ausente	2 Erosionada	
12 Tabagismo	3 Dura		3 Ulcerada	
13 Onicofagia			4 Rugosa	
14 Gravidez	Base de implantação	Possível fator etiológico		
15 Câncer de próstata	DND Dados não disponíveis	DND Dados não disponíveis		
16 Tonturas e/ou desmaios	1 Sésil	0 Ignorado pelo paciente		
17 Vômitos frequentes	2 Pediculada	1 Trauma por prótese		
18 Articulações doloridas		2 Exodontia traumática		
19 Herpes simples		3 Trauma pela mastigação		
20 Aftas frequentes		4 Trauma por grampo de isolamento absoluto		
21 Gastrite crônica		5 Trauma por pancadas		
22 Problemas de ordem respiratória		6 Irritação por cálculo dentário		
23 Psoríase		7 Trauma por ortodontia		
24 Actinomicose				
25 Imunossupressão (HIV, leucemia)				

<u>Diagnóstico diferencial</u>	<u>Tratamento realizado</u>	<u>História de recidiva</u>
DND Dados não disponíveis	DND Dados não disponíveis	DND Dados não disponíveis
2 Granuloma piogênico	1 Exérese c/ bisturi convencional	0 Não
3 Adenoma pleomórfico	2 Exérese c/ bisturi convencional + curetagem do leito cirúrgico	1 Um registro de recidiva
4 Adenocarcinoma	3 Apenas curetagem da lesão	2 Dois registros de recidiva
5 Fibroma cimento-ossificante periférico		3 Três registros de recidiva
6 Carcinoma mucoepidrmóide	Reabsorção óssea	4 Quatro registros de recidiva
7 Hematoma	1 Não	
8 Hemangioma capilar ulcerado	2 Sim	
9 Hiperplasia fibrosa inflamatória		<u>Faixa de Agressividade Clínico-</u>
10 Tecido de granulação	Localização da reabsorção óssea	<u>Radiográfica</u>
11 Tumor marrom do hiperparatireoidismo	0 Lesão sem envolvimento ósseo	0 Nula
12 Hemangioendotelioma	1 Porção óssea adjacente a lesão	1 e 2 Leve
13 Papiloma		3 e 4 Moderada
14 Mucocele	Reabsorção radicular	5 e 6 Severa
15 Linfoma	1 Não	7 e 8 Extrema
16 Periodontite	2 Sim	
17 Manifest. bucal do diabetes		
18 Osteomielite crônica	Expansão da cortical óssea	
19 Processo neoplásico benigno	1 Não	
20 Cisto residual	2 Sim	
21 Fibroma verdadeiro		
22 Lesão de células gigantes central	Afastamento dentário	
23 Ameloblastoma periférico	1 Não	
24 Mixoma	2 Sim	

5 DISCUSSÃO

5 Discussão

A ocorrência relativamente freqüente da LCGP na prática diária da clínica estomatológica constitui-se no fato que nos incita a uma investigação criteriosa sobre a etiopatogenia, curso, tratamento e acompanhamento clínico dessa entidade. A partir do momento em que se passa a observar melhor a LCGP, nota-se que existem particularidades desta condição no que diz respeito aos aspectos clínicos e radiográficos. Sendo assim, por vezes nos deparamos com lesões praticamente inócuas ao paciente, sem expressão clínica significativa e sem sinais radiográficos; já em outras ocasiões, a LCGP se apresenta de uma maneira mais agressiva, com sinais clínico-radiográficos exacerbados, o que pode provocar séria preocupação ao indivíduo por ela acometido. Dessa forma, seria a proliferação celular das LCGPs clínico-radiograficamente não agressivas diferente daquela apresentada pelas lesões agressivas? Até o momento não foram encontrados na literatura estudos que associem as variações de proliferação celular da LCGP ao seu grau de agressividade clínico-radiográfica. Sendo assim, pareceu-nos lícito estudar a agressividade da LCGP através dos métodos clínico, radiográfico, histopatológico, histoquímico e imunohistoquímico usando-se marcadores biológicos, para melhor entendimento do perfil clínico-radiográfico e comportamental dessa lesão.

A literatura não apresenta consenso em relação à designação da doença ora estudada. No presente trabalho, optou-se por adotar o termo “lesão de células gigantes periférica”, visto que a maioria dos trabalhos consultados se encontra grafada em língua inglesa, a qual designa a entidade como *peripheral giant cell lesion*. Ainda, optou-se por essa designação, pois concorda-se com Durso e Consolaro (2003) e Vázquez-Piñeiro et al. (2002) quando afirmam que a utilização do termo “granuloma reparador de células gigantes” não parece adequada para essa entidade, pois esta designação sugere uma lesão inflamatória em que se observa uma variação na resposta reparadora dos tecidos e conota uma coleção organizada de células mononucleares, predominantemente macrófagos. Este fato, entretanto, não pode ser observado na análise histológica das LCGPs, sendo que nem

sempre as lesões apresentam caráter reparador. Os mesmos autores ainda afirmam, e a partir da realização do presente trabalho nós concordamos, que, apesar de possuir uma etiologia possivelmente traumática, o comportamento clínico destrutivo da lesão não é compatível com o termo “reparador”.

Segundo Cawson e Eveson (1987) e Vázquez-Piñeiro et al. (2002), as LCGPs representam em torno de 7% de todos os crescimentos teciduais benignos dos maxilares, sendo responsáveis por 0,4% a 1,9% das patologias tratadas no campo da cirurgia bucal e por 5,1% a 43,6% das lesões exofíticas de origem reativa. Para realização do presente estudo, parte da amostra foi coletada no arquivo da Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA-UNESP), que constava, em dezembro de 2005, de 20.500 lesões bucais registradas, das quais 123 (0,6%) foram diagnosticadas como LCGPs. Outra parte da amostra foi coletada no arquivo da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo (FO-UPF), composto por 3.220 lesões bucais em dezembro de 2005, das quais, 58 (1,8%) foram diagnosticadas como LCGPs. Ao se realizar o cruzamento entre as duas instituições em que os dados foram coletados e a faixa de agressividade clínico-radiográfica das LCGPs, não se obteve relação estatisticamente significativa. Esse dado descarta a possibilidade de haver uma diferença regional entre as LCGPs no que se refere a variações de agressividade clínico-radiográfica.

No presente trabalho, a maioria das lesões ocorreu em pacientes do sexo feminino. Este resultado coincide com os dos autores Andersen et al. (1973), Birman et al. (1983), Bodner et al. (1997), Brinhole et al. (1997), Carvalho (1991), Costa et al. (1993), Durso e Consolaro (2003), Fortes et al. (2002), Giansanti e Waldron (1969), Katsikeris et al. (1988), Pandolfi et al. (1999), Reichart e Philipsen (2000), Torres (1986), mas contraria os resultados obtidos por Avedano et al. (2004).

Explica-se uma maior prevalência das LCGPs no sexo feminino, em primeiro lugar, por se considerar possível que em alguns casos o aumento da concentração hormonal nas mulheres exerça influência no surgimento da lesão. Segundo Nedir et al. (1997), Roberson et al. (1997) e Sanchez et al. (2000), o aumento nos níveis de estrógeno e progesterona

produz dilatação e proliferação da microvasculatura gengival, bem como destruição de mastócitos, o que agrava o quadro inflamatório. Esse fato facilita o desencadeamento de processos proliferativos gengivais, como o granuloma gravídico ou a LCGP. Além disso, Kremer et al. (1995) afirmam que em osteoclastos normais, o estrógeno causa um decréscimo na secreção de enzimas osteolíticas (catepsina B, catepsina L, B-glucuronidase e lisosima). No entanto, nas células gigantes multinucleadas (semelhantes a osteoclastos) a resposta é diferente, sendo que o estrógeno pode inverter seu papel.

Outra hipótese seria a de que, frente a um problema de saúde bucal, os pacientes do sexo feminino buscam atendimento odontológico em maior escala (IBGE, 2003), fato concorde com nossas observações clínicas. Ao se comparar os dados relativos ao sexo dos pacientes com a faixa de agressividade clínico-radiográfica dos mesmos casos, obtiveram-se números estatisticamente não significativos. Assim, não há predileção de LCGPs mais agressivas pelo sexo masculino ou feminino.

Diferenças inerentes às diversas populações e aos critérios de seleção das amostras utilizadas pelos diferentes trabalhos, aliadas ao fato de haver ampla faixa etária de acometimento desta lesão, podem justificar as discrepâncias encontradas na literatura no que diz respeito à faixa etária dos portadores de LCGP. Neste trabalho obteve-se uma média de idade de 36,95 anos, sendo a idade mínima de 07 anos e a máxima de 82 anos. A faixa etária mais acometida foi a que vai de 31 a 40 anos. Esses achados foram próximos dos resultados de Giansanti e Waldron (1969), que relatam idade mínima de 3 anos e idade máxima de 77 anos para os portadores de LCGP, com uma média de idade de 31,3 anos.

Ao se realizar o cruzamento entre a faixa etária dos pacientes e a faixa de agressividade clínico-radiográfica das LCGPs não se obteve relação estatisticamente significativa. Portanto, pôde-se constatar no presente trabalho que indivíduos de qualquer idade podem ser acometidos pela LCGP independentemente da agressividade desta lesão.

Em se tratando da raça, a maioria dos pacientes incluídos neste estudo mostrou ser da raça branca, seguindo os da raça negra. Não foram observados pacientes pertencentes à raça amarela. Os resultados obtidos no presente trabalho são semelhantes àqueles

constatados por Durso e Consolaro (2003), Fortes et al. (2002), Giansanti e Waldron (1969) e Torres (1986), diferindo apenas dos achados de Nedir et al. (1997), que encontraram um maior número de LCGPs em pacientes negros. Não foram encontradas na literatura explicações para o fato de indivíduos brancos serem mais acometidos por LCGP do que os negros. Para explicar tal resultado, aludimos a algum fator ainda desconhecido e que merece ser pesquisado, ou ao fato de que os indivíduos de raça negra têm menor acesso a atendimento odontológico do que os brancos, talvez por questões de exclusão social e ou condições financeiras (IBGE, 2003; PNUD, 2005). Comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com a raça dos pacientes não se obteve relação estatisticamente significativa, não havendo, portanto, predileção de lesões mais agressivas pela raça branca ou negra.

No que tange ao motivo pelo qual os pacientes buscaram atendimento odontológico, tem-se que neste estudo o mesmo apresentou relação estatisticamente significativa com a faixa de agressividade clínico-radiográfica das LCGPs. No grupo de lesões com agressividade clínico-radiográfica severa, predominou como motivo da consulta a presença de um “crescimento tecidual intrabucal doloroso e recidivante”. Infere-se, então, que a presença de sintoma dor e de episódios de recidiva são duas características determinantes da agressividade clínico-radiográfica das LCGPs, fato que também havia sido aventado por Cavezzi Júnior, (1997), Flaitz (2000), Nedir et al. (1997), Pandolfi et al. (1999), Shields (1994) e Vázquez-Piñeiro et al. (2002).

No estudo de Bodner et al. (1997), o estado de saúde geral dos pacientes foi melhor nos portadores de lesões menores do que 2 cm de diâmetro, quando comparado com aquele dos pacientes portadores de lesões maiores. No entanto, a diferença não foi estatisticamente significativa, indicando que o estado de saúde geral, enquanto fator isolado, pode favorecer a origem, mas não é responsável pelo potencial de crescimento das LCGPs.

No presente estudo não foram aplicados testes estatísticos em relação à história médica dos pacientes acometidos por LCGP, pois a variabilidade de problemas e ou condições sistêmicas foi muito grande, o que aumentou muito a diluição da amostra. Notou-

se, no entanto, levando-se em conta a história médica dos 61 pacientes analisados, que 15 casos (24,60%) não apresentavam história médica contributiva; nos 46 casos (75,40%) em que se notou história médica positiva, os problemas ou condições de saúde geral mais freqüentes foram hipertensão arterial (12 casos – 19,67%), hiperestrogenismo (puberdade, gravidez, uso de anticoncepcionais ou reposição hormonal) (7 casos – 11,48%), anemia (6 casos - 9,84%), respiração bucal, retardo mental, diabetes tipo I, insuficiência cardíaca e gastrite crônica (5 casos cada – 8,20%) e deficiência plaquetária (4 casos – 6,56%).

Com relação à história familiar, constatou-se que 3 pacientes (4,92%) possuíam pessoas da família acometidas por LCGP, resultado que não descarta a possibilidade de que haja um componente familiar no surgimento da enfermidade. Não foram encontrados na literatura dados a respeito desse assunto.

A influência dos fatores irritantes locais crônicos na origem e evolução da LCGP pôde ser comprovada por Bodner et al. (1997) em estudo comparativo entre o estado de higiene e conservação bucal de pacientes com LCGP. A quantidade de placa bacteriana e cálculo acumulado na cavidade bucal de pacientes com lesões grandes (maiores do que 2 cm de diâmetro) foi significativamente maior do que naquela de pacientes com lesões pequenas (menores do que 2 cm de diâmetro). No presente estudo, a maioria dos pacientes apresentou-se com saúde bucal regular, seguida por pacientes com saúde bucal ruim e boa. Ao se correlacionar as faixas de agressividade clínico-radiográfica com o estado de saúde bucal dos pacientes, não se obteve uma relação estatisticamente significativa, muito embora a faixa de agressividade clínico-radiográfica severa tenha predominado nos pacientes com condições de saúde bucal, regulares e ruins. Ao que parece, condições precárias de saúde bucal quando aliadas a fatores sistêmicos (p. ex. hiperestrogenismo, hipertensão arterial) e ou traumáticos locais, facilitam o desenvolvimento de LCGP na cavidade bucal.

Encontrou-se uma dificuldade acentuada ao se avaliar a localização da LCGP nos trabalhos consultados, por falta de padronização na coleta de dados por parte dos autores, para assinalamento das possíveis localizações. Alguns trabalhos limitaram-se a diferenciar esta lesão apenas entre prevalência na maxila e na mandíbula e ou em regiões anterior ou

posterior. Outros estudos especificaram mais detalhadamente a localização da doença na cavidade bucal (p. ex., localização na gengiva, mucosa alveolar, vestíbulo). Sendo assim, uma maior uniformidade entre os trabalhos permitiria essas comparações e tornaria mais confiáveis os achados obtidos nos diferentes estudos. Conforme os dados de localização da lesão na cavidade bucal, obtidos em relação aos 61 casos de LCGP analisados neste estudo, a maioria se localizou na mandíbula, tal como constatado por Andersen (1973) e Giansanti e Waldron (1969), sendo, no entanto, resultado contrário àqueles obtidos por Bernier e Cahn (1954), Costa et al. (1993) e Ferreira e Cavezzi Júnior (1994), que observaram prevalência de LCGPs na maxila. Um maior número de lesões ocorreu na região mandibular anterior, seguida, em ordem decrescente, pela região maxilar anterior, mandibular posterior, mandibular média, maxilar média e maxilar posterior. Nossos resultados vieram somar-se aos de Flaitz (2000), Giansanti e Waldron (1969) e Pandolfi et al. (1999), que também constataram maior prevalência de LCGP na região mandibular anterior, contudo diferem dos achados de Birman et al. (1983), Bodner et al. (1997), Brinhole et al. (1997) e Torres (1986), que constataram prevalência da LCGP na região mandibular média. A partir de nossos resultados, pode-se concluir que a região anterior das arcadas dentárias (maxila ou mandíbula) é mais acometida por LCGPs do que as regiões médias ou posteriores, talvez pelo fato de estar mais exposta a fatores traumáticos. Da mesma forma, presume-se que a região mandibular anterior foi mais acometida do que a maxilar, pois a probabilidade de acúmulo de cálculo dentário e placa bacteriana (fatores pró-inflamatórios) é considerada maior na região de incisivos e caninos inferiores do que superiores (LINDHE, 1997).

Em relação à localização específica do total de casos analisados, nosso estudo mostrou que a maioria se deu na mucosa de revestimento do rebordo alveolar (pacientes usuários de prótese removível parcial ou total), seguida por aqueles casos que se implantavam na gengiva, diferentemente dos achados de Andersen et al. (1973), Durso e Consolaro (2003) e Fortes et al. (2002). Este resultado é compatível com aquele que

obtivemos em relação ao fator etiológico provável para as LCGPs: o trauma devido a aparelho protético mal adaptado foi o fator que ocorreu em maior escala.

Nossos resultados são semelhantes àqueles do estudo de Katsikeris et al. (1988), visto que nenhuma LCGP foi observada em tecido mole que não fosse suportado por estrutura óssea, indicando que a LCGP tem origem a partir de células do periósteo e ou do ligamento periodontal, tal qual reportado por Bodner et al. (1997), Durso e Consolaro (2003), Giansanti e Waldron (1969) e Silverman et al. (2004).

Comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com a localização das LCGPs na cavidade bucal, não se obteve relação estatisticamente significativa. Portanto, conclui-se que a localização da enfermidade na cavidade bucal não exerce influência no seu grau de agressividade clínico-radiográfica.

A cor da lesão reflete o seu interior, ou seja, havendo quantitativamente maior componente vascular, sua coloração tenderá para o vermelho, púrpura-azulado ou roxo. Por outro lado, o aumento de tecido fibroso no seu interior determinará cor mais pálida à lesão, por exemplo, rosa-pálido. A vascularização estará aumentada em lesões inflamadas e em áreas de ulceração superficial (CASTRO, 2000). A coloração mais prevalente para as LCGPs por nós estudadas, foi a púrpura, seguida pelas cores vermelha, vermelho-escura, rosa-pálida, azulada e acastanhada, mostrando, assim, que o quesito cor é muito variável nestas lesões; estes resultados vêm se somar aos de Andersen et al. (1973), que constataram uma variação da coloração das LCGPs desde o vermelho-azulado até o vermelho-escuro e aos de Pandolfi et al. (1999), que reportam que a LCGP pode se apresentar nas cores vermelha, roxa ou azul. Por seu turno, Fortes et al. (2002) afirmam que a cor de maior prevalência nas LCGPs por eles estudadas foi o vermelho, achado este que não coincide com aquele reportado pelo presente estudo.

Em nosso trabalho, o quesito coloração das LCGPs foi muito difícil de ser avaliado, visto que as informações foram extraídas de prontuários e ou requisições de exame histopatológico preenchidas por diferentes examinadores, sem uma prévia calibração. Comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com a coloração das LCGPs,

não se obteve relação estatisticamente significativa, o que elimina a idéia de diferenciarmos LCGPs de diferentes graus de agressividade clínico-radiográfica pela coloração da lesão.

Em relação à consistência das lesões estudadas, prevaleceram lesões de consistência fibrosa, seguidas por lesões com consistência mole e dura. Estes resultados coincidem com aqueles obtidos por Andersen et al. (1973) e Pandolfi et al. (1999) que, em seus trabalhos, afirmam que a maioria das LCGPs possui consistência borrachóide (ou fibrosa). Ao se comparar a consistência das LCGPs com a faixa de agressividade clínico-radiográfica das mesmas, obteve-se uma relação estatisticamente não significativa, não sendo portanto a consistência das lesões um fator decisivo na determinação do grau de agressividade clínico-radiográfica das LCGPs.

Em relação à presença de sintoma dor nas lesões que integraram o presente estudo, a maioria destas não se apresentava dolorosa à palpação e ou espontaneamente, resultados semelhantes àqueles reportados por Andersen et al. (1973) e Pandolfi et al. (1999). De significado foi o fato que, comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com a presença de sintoma dor nas LCGPs, obteve-se relação estatisticamente significativa, o que indica que, segundo nosso método de classificação da agressividade clínico-radiográfica, o sintoma dor funciona como um fator efetivo no estabelecimento do grau dessa agressividade.

No que se refere ao tempo de evolução da amostra de LCGPs por nós estudada, pôde-se constatar que a média do tempo de evolução de todas as lesões foi de 12,87 meses, sendo que a lesão que evoluiu mais rápido mostrou uma evolução de 0,1 meses (03 dias) e a lesão com curso de evolução mais lento, apresentou tempo de evolução de 204 meses (17 anos). Notou-se também um pico de prevalência de lesões com tempo de evolução de dois meses. Nossos resultados mostraram que o período do tempo de evolução da lesão é bem variado, indo de alguns dias até vários anos o que está concorde com relatos de Bodner et al. (1997) e Flaitz (2000). Comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com o tempo de evolução das LCGPs, não se obteve relação estatisticamente significativa, o que indica que a agressividade clínico-radiográfica de uma

LCGP, segundo os graus por nós elaborados, não depende de seu maior ou menor tempo de evolução.

Kfir et al. (1980) reportaram que o tamanho das LCGPs variou de 0,1 a 3,0 cm de diâmetro, sendo que 94% das lesões se apresentaram menores do que 1,5 cm de diâmetro. Ainda, segundo Fortes et al. (2002), Roberson et al. (1997) e Vázquez-Piñeiro et al. (2002), o tamanho da LCGPs pode variar de 0,5 a 1,5 cm de diâmetro. De maneira importante, Bodner et al. (1997) demonstraram que a maioria das LCGPs é diagnosticada e removida cirurgicamente antes que atinja seu potencial de crescimento máximo. A média do maior diâmetro das lesões incluídas em nosso trabalho foi de 1,75 cm, ao passo que a menor lesão apresentou 0,5 cm de diâmetro e a maior apresentou-se com 8 cm; houve uma concentração do número de casos no diâmetro correspondente a 1 cm. Quando se correlacionou a faixa de agressividade clínico-radiográfica com o tamanho das LCGPs (maior diâmetro), obteve-se relação estatisticamente significativa, sendo que entre as lesões com faixa de agressividade clínico-radiográfica severa predominaram LCGPs com 2 e 3 cm no seu maior diâmetro. O fato indica que o quesito tamanho da lesão ora estudado funciona como um fator efetivo na determinação do seu grau de agressividade, ou seja, quanto maior for uma LCGP, maior será a possibilidade de sua agressividade clínico-radiográfica também ser maior.

A integridade da superfície de uma LCGP depende diretamente da intensidade do trauma ou irritação que a mesma sofre na cavidade bucal. No que concerne às lesões analisadas neste estudo, a maioria se caracterizou por apresentar superfície íntegra. Seguem-se, em ordem decrescente, lesões com superfície ulcerada e rugosa. Estes resultados são semelhantes àqueles reportados por outros estudos, que afirmam que a maior parte das LCGPs apresenta superfície íntegra/lisa, o que indica que a maioria das lesões não sofre trauma de maneira acentuada e contínua, provavelmente por não possuírem um tamanho avantajado (ANDERSEN et al., 1973; BRINHOLE et al., 1997; CEBALLOS-SALOBREÑA, 1995; FERREIRA; CAVEZZI JÚNIOR, 1994; FLAITSZ, 2000; GIANANTI; WALDRON, 1969; KATSIKERIS et al., 1988). Ao se correlacionar as faixas de

agressividade clínico-radiográfica das 61 LCGPs analisadas com a sua superfície, obteve-se uma relação estatisticamente não significativa. Este fato nos leva a crer que a condição de integridade do tecido superficial das LCGPs não tem relação com o grau de agressividade clínico-radiográfica das mesmas.

No que diz respeito à base de implantação das LCGPs incluídas neste estudo, a maioria das lesões apresentou base séssil, corroborando com os achados de Andersen et al. (1973) e Fortes et al. (2002). Ao se comparar a base de implantação das LCGPs com a faixa de agressividade clínico-radiográfica das mesmas, não se obteve relação estatisticamente significativa, indicando que não se deve correlacionar graus de agressividade da lesão com sua base de implantação.

Para Cotran et al. (1996), a capacidade do corpo humano em substituir células lesadas ou mortas e em proceder ao reparo dos tecidos após inflamação é crítica para a sobrevivência. Uma variedade de agentes lesivos pró-inflamatórios, ao mesmo tempo em que provoca dano no interior da célula, dispara uma série de eventos que servem não apenas para conter a lesão, mas também para preparar as células que não foram letalmente danificadas para a replicação necessária à substituição de células mortas. Dessa forma, os fatores de crescimento liberados durante o processo inflamatório induzem a proliferação celular ao afetarem a expressão de genes envolvidos em vias de controle do crescimento normal, os denominados proto-oncogenes. Tem-se então uma ativação do ciclo mitótico das células, as quais irão se reproduzir. Estas considerações devem ser levadas em conta quando do estudo da etiopatogenia e da atividade proliferativa celular das doenças em geral e, em particular, no caso da LCGP.

Nossos resultados falam a favor da etiopatogenia multifatorial para as LCGPs, onde participariam fatores etiológicos locais (traumáticos / irritantes) e sistêmicos. Assim, como fator etiológico local, o traumatismo ocasionado por base de aparelho protético mal adaptado mostrou ser o agente lesivo pró-inflamatório predominante na etiopatogenia das LCGPs por nós estudadas, seguido por traumatismo ocasionado pela mastigação ou por pancadas e trauma ocasionado por exodontia. Nossos resultados coincidem com os obtidos

por Andersen et al. (1973), Bodner et al. (1997), Cavezzi Júnior (1997), Costa et al. (1993), Ferreira e Cavezzi Júnior (1994) e Katsikeris et al. (1988), sendo que todos estes autores afirmam que o trauma é o principal fator etiológico local da LCGP - p. ex. traumatismo agudo causado por exodontias traumáticas ou pancadas, e traumatismo crônico, representado principalmente pelo trauma por aparelho protético mal adaptado.

No que diz respeito aos prováveis fatores etiológicos sistêmicos, observou-se que as condições ou problemas de saúde geral significativos mais freqüentes na história médica dos pacientes foram: hipertensão arterial (12 casos – 19,67%, controlada em 7 casos), influência hormonal por hiperestrogenismo (puberdade, gravidez, uso de anticoncepcionais, ou reposição hormonal) (7 casos – 11,48%), anemia (6 casos - 9,84%), retardo mental, diabetes tipo I e gastrite crônica (5 casos cada – 8,20%).

Em se tratando da hipertensão arterial, sabe-se que a mesma provoca diminuição da irrigação sangüínea tecidual devido a uma alteração nas arteríolas, com discreta hialinização do leito vascular e conseqüente redução do seu lúmen. Isto possibilita que fatores irritantes locais crônicos, a exemplo da placa bacteriana e cálculo dentário provoquem uma irritação local exacerbada, facilitando a origem de crescimentos gengivais reacionais (CASTELLI et al., 1978). Sabe-se ainda que os anti-hipertensivos bloqueadores dos canais de cálcio, a exemplo da nifedipina, podem colaborar para a origem de hiperplasias gengivais, pois a ação da enzima colagenase é prejudicada quando o metabolismo do cálcio é interrompido (MARGIOTTA et al., 1996). Em nosso trabalho, dos 12 pacientes que apresentavam hipertensão arterial, 7 apresentavam-na controlada, no entanto, não obtivemos os dados relativos ao medicamento utilizado.

Dos sete casos de LCGP que foram possivelmente facilitados por hiperestrogenismo no sexo feminino, uma mulher estava grávida, 3 faziam uso de contraceptivos orais e 3 realizavam reposição hormonal. Sendo assim, considera-se possível que, em alguns casos, o aumento da concentração hormonal exerça influência no surgimento da LCGP, como também reportado por Kremer et al. (1995), Nedir et al. (1997), Roberson et al. (1997) e Sanchez et al. (2000), e previamente comentado.

Em se tratando das anemias, sabe-se que tanto a perniciosa (ocasionada pela deficiência de vitamina B12), quanto a ferropriva (ocasionada pela deficiência de ferro), diminuem a resistência dos tecidos bucais a fatores irritantes / traumáticos locais (BERNE e LEVY, 1990) e isso pode facilitar a ocorrência de LCGP.

Nos casos de retardo mental, atribui-se uma ocorrência notável de LCGPs a uma falta de coordenação motora dos pacientes e conseqüente pobre higiene bucal dos mesmos. Sabe-se ainda, que a fenitoína (medicamento anti-epilético e anti-convulsivo) pode ocasionar hiperplasias gengivais, pois apresenta um efeito direto sobre as subpopulações de fibroblastos (BERNE e LEVY, 1990).

Em relação ao diabetes mellitus, tem-se que o mesmo determina uma menor capacidade orgânica contra traumas, já que os tecidos ficam mais susceptíveis a infecção. Além disso, o tecido ósseo reabsorve mais rapidamente em pacientes diabéticos do que em pacientes saudáveis (BURCKET, 1973). Em nosso entender, isso pode contribuir diretamente na origem de LCGPs em diabéticos.

A gastrite crônica provoca uma redução da secreção do suco gástrico (hipocloridria), o que ocasiona uma menor digestão protéica, com conseqüente diminuição de aminoácidos, provocando um enfraquecimento tecidual. Além disso, há menor absorção de ferro orgânico e vitamina B12, o que pode levar a um quadro de anemia, também relacionada com a etiopatogenia da LCGP (GUYTON, 1989).

As LCGPs estudadas no presente trabalho receberam vários diagnósticos diferenciais dentre os quais, em ordem decrescente, o granuloma piogênico, a hiperplasia fibrosa inflamatória, o fibroma verdadeiro (neoplasia), o fibroma cemento-ossificante periférico e o hemangioma capilar ulcerado. Este fato vem se somar aos achados de Cavezzi Júnior (1997), Flaitz (2000), Pandolfi et al. (1999) e Vázquez-Piñeiro et al. (2002), que incluem estas lesões no diagnóstico diferencial da LCGP. Isto ocorre, pois há uma semelhança clínica e, por vezes, histopatológica, entre a LCGP e outras lesões proliferativas de tecido mole, as quais também acometem a mucosa bucal. Por isso, pode-se afirmar, a

exemplo de Flaitz (2000), que o exame histopatológico é o único meio confiável de se estabelecer o diagnóstico definitivo da LCGP.

Segundo as informações obtidas neste trabalho, o tratamento mais realizado para as LCGPs foi a exérese da lesão com o uso de bisturi convencional, seguida da exérese da lesão com bisturi convencional aliada à curetagem do leito cirúrgico. A utilização desses tratamentos encontra suporte na literatura consultada quando se diz que “o tratamento usual para a LCGP, tanto nas lesões iniciais como nas recidivas, consiste na excisão cirúrgica total da lesão, tendo-se o cuidado de curetar bem as bordas e o fundo do leito cirúrgico para que resquícios da entidade não permaneçam e venham proliferar novamente” (BRINHOLE et al., 1997; FERREIRA; CAVEZZI JÚNIOR, 1994; SIDHU et al., 1995; VÁZQUEZ-PIÑEIRO et al., 2002). Da mesma forma, para Cavezzi Júnior (1997), a terapêutica indicada para a LCGP consiste na remoção cirúrgica da lesão, devendo-se remover até porção do tecido ósseo nos casos em que o mesmo é comprometido superficialmente. Ainda, segundo Flaitz (2000) e Pandolfi et al. (1999), não basta apenas tratar adequadamente a LCGP; o cirurgião-dentista não deve se esquecer de remover os fatores irritantes locais crônicos e ou sistêmicos, que porventura possam ter causado a lesão.

Novos campos de investigação estão se abrindo no que diz respeito ao tratamento da LCGP como, por exemplo, as injeções intralesionais de corticosteróides, com base nos bons resultados obtidos com este método na LCGC (KREMER et al., 1995), injeções subcutâneas de calcitonina (HARRIS, 1993) e injeções subcutâneas de interferon alfa (DE LANGE et al., 2006).

A LCGP pode recidivar em taxa que vai desde 4,9% (BRINHOLE et al., 1997; GIANANTI; WALDRON, 1969), passando por 7,7% (SORENSEN, 1958) e chegando a 9,8%, não sendo encontrados relatos de transformação maligna da lesão (KATSIKERIS et al., 1988). Neville et al. (2004) concordam com estes dados, reportando que a taxa de recidiva da LCGP é de aproximadamente 10%. Outros autores encontraram taxas de recidiva mais altas em seus estudos, a exemplo de Andersen et al. (1973) (70,6%). Flaitz

(2000) complementa que inúmeros episódios de recidiva com eventual perda dos dentes adjacentes não são incomuns, constituindo-se como complicações potenciais da LCGP. Em relação à história de recidiva das 61 LCGPs analisadas, a maioria não apresentou registro de lesões recidivantes. Esta afirmação é compatível com aquelas reportadas por Katsikeris et al. (1988), Neville et al. (2004) e Sorensen (1958). Ao se cruzar o tipo de tratamento empregado para as LCGPs estudadas e a história de recidiva das lesões, observa-se que não existe uma relação estatisticamente significativa entre os mesmos. Sendo assim, em nosso estudo, a ocorrência de episódios de recidiva não foi dependente do tipo de tratamento previamente aplicado. Já, ao se comparar a história de recidiva das LCGPs estudadas com a sua faixa de agressividade clínico-radiográfica, observou-se que sua relação é estatisticamente significativa; sendo assim, LCGPs recidivantes são potencialmente mais agressivas clínico-radiograficamente.

Kremer et al. (1995) cultivaram células gigantes multinucleadas *in vitro* e analisaram a produção de proteases osteolíticas por estas células, as quais possivelmente derivam de uma linhagem osteoclástica e provocam a reabsorção óssea. Dos casos examinados neste estudo, a maioria apresentava reabsorções ósseas subjacentes à mucosa onde a lesão se encontrava. Estes resultados são diferentes dos obtidos por Andersen et al. (1973), Anneroth e Sigurdson (1983), Bodner et al. (1997) e Flaitz (2000). Por outro lado, esse achado coincide com as afirmações realizadas por Cavezzi Júnior (1997), Kfir et al. (1980) e Pandolfi et al. (1999), que afirmam não ser incomum o envolvimento ósseo por parte da LCGP. Correlacionando-se o tempo de evolução das lesões estudadas com a reabsorção óssea causada pelas mesmas, não se obteve relação estatisticamente significativa. Por outro lado, comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com a ocorrência de reabsorção óssea causada pelas LCGPs, essa relação foi obtida. Dessa forma, segundo nossos achados, identificaríamos mais facilmente uma LCGP clínico-radiograficamente agressiva a partir de reabsorções ósseas presentes ao exame radiográfico, do que pelo seu tempo de evolução. Infere-se, ainda, que o envolvimento ósseo por uma LCGP dependeria

de características próprias da lesão e não do tempo em que ela se encontra presente na cavidade bucal.

Não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem a localização da reabsorção óssea em relação à região de mucosa acometida pelas LCGPs, ou ainda que estudassem o tamanho destas reabsorções, quando existentes. A localização das reabsorções ósseas, em todos os casos que as apresentaram, foi imediatamente abaixo da região de mucosa acometida pela LCGP, apresentando-se com aspecto de “taça” (NEVILLE et al., 2004; SILVERMAN et al., 2004). Ao se comparar a faixa de agressividade clínico-radiográfica com o maior diâmetro da reabsorção óssea causada pelas lesões, quando esta ocorria, obteve-se relação estatisticamente significativa. Portanto, pudemos constatar que quanto maior a reabsorção óssea subjacente às LCGPs, maior é a agressividade lesional.

A maioria dos casos analisados em nosso trabalho não apresentou reabsorções radiculares nos dentes circunjacentes às LCGPs, sendo os achados deste trabalho compatíveis com os de Nedir et al. (1997). Comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com a presença de reabsorções radiculares causadas pelas lesões, nos casos em que estas ocorreram, obteve-se relação estatisticamente significativa, estando os casos de LCGPs que apresentavam reabsorção radicular concentrados nas faixas de agressividade clínico-radiográfica moderada e severa.

Conforme Brinhole et al. (1997), não se constitui como fato comum a expansão de corticais ósseas pela LCGP, visto ser esta uma doença que se inicia na periferia do tecido ósseo, e não em seu interior. Na maioria dos casos da presente investigação, não se pôde observar expansão da cortical óssea próxima às LCGPs nas radiografias examinadas. No entanto, comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com a expansão da cortical óssea causada pelas lesões, nos 3 casos (4,92%) em que esta ocorreu, obteve-se relação estatisticamente significativa, estando os casos de LCGPs que apresentavam expansão de corticais ósseas concentrados nas faixas de agressividade clínico-radiográfica moderada e severa. Dessa maneira, pudemos constatar que a expansão de corticais ósseas é sinal indicativo de agressividade lesional.

Não foi possível, na maior parte dos casos de nossa investigação, a observação de deslocamento dentário próximo às LCGPs, fato este que vem se somar aos relatos de Andersen et al. (1973), Brinhole et al. (1997), Flaitz (2000) e Pandolfi et al. (1999). No entanto, comparando-se a faixa de agressividade clínico-radiográfica com o afastamento dentário causado pelas lesões, nos 13 casos (21,31%) em que este ocorreu, obteve-se relação estatisticamente significativa, estando os casos de LCGPs que apresentavam deslocamentos dentários, presentes em maior número nas faixas de agressividade clínico-radiográfica moderada e severa. Assim, pudemos constatar que o afastamento dentário junto às LCGPs é sinal indicativo de agressividade lesional .

Ao procedimento de confirmação diagnóstica microscópica das 61 LCGPs estudadas, foi observado um aspecto histopatológico padrão, que coincidia com os achados previamente reportados pela literatura (BODNER et al, 1997; FERREIRA; CAVEZZI JÚNIOR, 1994; VÁZQUEZ-PIÑEIRO et al., 2002). Da mesma forma, não foram observadas, à coloração pelo método H.E., diferenças histopatológicas entre as lesões com diferentes graus de agressividade clínico-radiográfica. No que se refere à presença de tecido ósseo imaturo, o mesmo se deu em 30 (49,18%) das 61 LCGPs examinadas. Esse resultado é semelhante aos obtidos por Andersen et al. (1973) e Katsikeris et al. (1988).

Ao se correlacionar a presença de osso imaturo com a faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões, não se obteve relação estatisticamente significativa. Entretanto, ao se correlacionar a presença de tecido ósseo imaturo com a ocorrência de recidiva das LCGPs, observou-se presença de tecido ósseo estatisticamente maior nas lesões recidivantes. Desta forma, nossos resultados diferem dos de Giansanti e Waldron (1969), que afirmam não existir correlação alguma entre a presença de tecido ósseo imaturo nas LCGPs e suas características clínicas (local e duração da lesão). Ainda, nossos achados não são compatíveis com os de Acosta Gil et al. (1995), que afirmam que as LCGCs recidivantes apresentam quantidades significativamente menores de osso imaturo, quando comparadas às LCGCs não recidivantes. Consideramos plausível a afirmação de Dayan et al. (1990), que reportam ser o osso imaturo das LCGPs produzido por células derivadas do

periósteo traumatizado. Acreditamos ainda que nas LCGPs recidivantes a atividade proliferativa das células periostais e, por conseguinte, a produção de tecido ósseo imaturo são maiores. No entanto, pelo fato de serem poucos os estudos que investigaram especificamente a presença de osso imaturo nas LCGPs, infere-se que são necessárias novas pesquisas para elucidar esse assunto.

Para melhor compreender nossos resultados relativos à agressividade clínico-radiográfica e ao estudo histopatológico (H.E.) da LCGP, fez-se uma investigação da proliferação celular (comportamento biológico) dessa lesão, através da histoquímica (AgNOR) e imunohistoquímica (PCNA, Ki-67 e p53), tendo por base os estudos de Kruse-Lösler et al. (2006), Souza et al. (2000), Souza et al. (1999) e Whitaker et al. (1993).

As NORs (regiões de organização nucleolar) são segmentos de DNA agregados nos nucléolos, que codificam RNA ribossômico e são responsáveis pelo desenvolvimento do nucléolo, estando envolvidas na síntese de ribossomos e de proteínas (RUSCHOFF et al., 1989). Nos humanos, as NORs estão localizadas no braço curto dos cromossomos acrocêntricos 13, 14, 15, 21 e 22 (FERGUSON-SMITH; HANDMAKER, 1961). Usualmente essas NORs estão agregadas compactamente na célula normal e, na visualização à microscopia de luz após coloração com nitrato de prata (técnica denominada "histoquímica da AgNOR"), vêem-se geralmente um ou dois pontos enegrecidos por núcleo. Tais pontos são denominados AgNORs e representam regiões de várias NORs agrupadas, não discerníveis individualmente na microscopia de luz (DERENZINE et al., 1989; RUSCHOFF et al., 1989).

A contagem de AgNOR por núcleo celular tem sido objeto de estudo, visto que pode variar em algumas situações: 1) quando a proliferação celular é muito ativa; 2) quando existe defeito na associação nucleolar; 3) quando existe aumento na ploidia celular; 4) quando ocorre aumento na atividade transcripcional. No caso da proliferação celular aumentada, observam-se aumento do número de AgNORs por núcleo celular e diminuição de sua área (DERENZINE et al., 1989; RUSCHOFF et al., 1989). Isto ocorre, pois, com o processo de divisão celular, o nucléolo se dissocia e a AgNOR fica dispersa no núcleo,

formando pontos enegrecidos menores. O aumento do número de AgNORs reflete, assim, um índice numérico de dispersão. Exemplos desse fato ocorrem nas células de tumores malignos, como linfomas e melanomas (DERENZINE et al., 1989).

A partir da metodologia utilizada no presente trabalho, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no número médio de AgNORs por núcleo celular entre os três grupos de agressividade clínico-radiográfica estudados, tanto nas células ovóides, quanto nas células gigantes, obtendo-se um número médio de AgNORs por núcleo celular diretamente proporcional ao grau de agressividade clínico-radiográfica das LCGPs. Dessa forma, embasando-se nas afirmações de Derenzine et al. (1989) e Ruschoff et al. (1989), nossos achados nos falam a favor da existência de uma correlação entre o grau de agressividade clínico-radiográfica e a proliferação celular tecidual. O aumento numérico das AgNORs se dá em condições de aumento proliferativo celular e de aumento da agressividade da lesão. Nossos resultados vêm se somar aos de Whitaker et al. (1993), que encontraram um número de AgNORs significativamente maior em LCGCs com agressividade clínico-radiográfica mais alta. Por outro lado, nossos achados diferem daqueles obtidos por Souza et al. (2000), que, ao compararem casos de LCGP com casos de LCGC, não encontraram diferença estatisticamente significativa no que diz respeito ao número médio de AgNORs por núcleo celular.

Em se tratando da área média das AgNORs, não se obtiveram diferenças estatisticamente significativas ao se comparar os dados dos três grupos de agressividade clínico-radiográfica estudados, tanto para as AgNORs de células ovóides, quanto para as de células gigantes; isso indica não ser a área das AgNORs dado relevante no estudo da atividade proliferativa celular das LCGPs com diferentes graus de agressividade clínico-radiográfica. Neste sentido, nossos achados diferem das afirmações de Derenzine et al. (1989) e Ruschoff et al. (1989), que afirmam estatisticamente que, quanto maior o número de AgNORs, menor é a área média das mesmas.

Não foram encontrados estudos que avaliem a proliferação celular tecidual das LCGPs pela AgNOR associada à instituição de graus de agressividade clínico-radiográfica,

e são poucos e discordantes os estudos utilizando este marcador noutras variedades de lesões de células gigantes (BOUROPOULOU et al., 1991; SOUZA et al., 2000; WHITAKER et al., 1993). Esses dados, associados às alterações na marcação das NORs pela prata, dependendo do tempo e temperatura utilizados (DERENZINE et al., 1989; ESLAMI et al., 2003), impedem que se utilize a técnica da AgNOR, de maneira isolada, como um método seguro na avaliação das características proliferativas das LCGPs. Portanto, no presente trabalho realizou-se também a avaliação imunohistoquímica comparativa de proliferação celular por meio do PCNA, Ki-67 e p53.

O PCNA (*proliferating cell nuclear antigen* - antígeno de proliferação nuclear celular) é uma proteína auxiliar da DNA polimerase-delta, que se mostra aumentada tardiamente nas fases G₁ e S do ciclo celular, diminuindo na fase G₂, e alcançando níveis baixos na fase M e em células inativas (G₀) (HALL et al., 1994). O PCNA tem sido utilizado na tentativa de se avaliar o perfil de proliferação celular de lesões de células gigantes (não especificamente da LCGP), mostrando resultados conflitantes (MIGHELL et al., 1996; SOUZA et al., 2000; SOUZA et al., 1999).

Os resultados da presente investigação mostram que o padrão de expressão do PCNA se mostrou consistente, marcando uniformemente células ovóides das LCGPs, achado concorde aos previamente reportados por Souza et al. (2000) e Souza et al. (1999). No que se refere à média da porcentagem de células ovóides PCNA positivas no total de LCGPs analisadas neste estudo, nossos achados (52,55%) vêm se somar com os de Souza et al. (2000) (50,5%).

Por outro lado, as células gigantes multinucleadas não mostraram expressão do PCNA. Este fato é concorde aos achados de Mighell et al. (1996), O'Malley et al. (1997) e Souza et al. (2000), e segundo estes autores, indica que as células gigantes multinucleadas não fazem parte do compartimento proliferativo das LCGPs, sugerindo que estas células têm sua origem associada a uma linhagem osteoclástica, formada a partir de células mononucleares diferenciadas. Portanto, nossos resultados com PCNA falam a favor da origem periosteal para as LCGPs.

Comparando-se os três grupos de agressividade clínico-radiográfica de LCGPs analisadas no presente estudo, quanto à imunoexpressividade do PCNA nas células ovóides, observou-se que quanto maior o grau de agressividade clínico-radiográfica das lesões, maior foi a tendência das células serem imunorreativas ao PCNA, o que poderia indicar que as LCGPs mais agressivas clínico-radiograficamente apresentariam uma maior atividade proliferativa celular. No entanto, a diferença obtida entre os três grupos estudados não foi considerada estatisticamente significativa, podendo ter ocorrido por força do acaso durante a contagem celular. Os resultados obtidos no presente estudo são diferentes dos relatados por Souza et al. (1999), no sentido de que estes autores encontraram um maior número de células mononucleadas positivas ao PCNA no grupo composto por LCGCs do que naquele composto por TCGs. Por outro lado, nossos resultados são compatíveis com os previamente reportados por Souza et al. (2000), que não encontraram diferenças significativas entre a imunoexpressão do PCNA em LCGPs e LCGCs. É importante salientar que não foram encontrados na literatura estudos com o PCNA que avaliassem as LCGPs conjuntamente à instituição de graus de agressividade clínico-radiográfica, sendo então, além deste, necessários novos estudos a respeito do assunto.

O Ki-67 (*Kiel-67*) é um antígeno nuclear expresso em todas as fases ativas do ciclo celular, mormente expressado durante as fases G_1 , S, G_2 e M do ciclo celular, mas ausente em células quiescentes (G_0) (ENDL; GERDES, 2000; GERDES et al., 1984; KEE et al., 2002; SCHOLZEN; GERDES, 2000). Para Mighell et al. (1996), o Ki-67 se constitui num requisito absoluto para a síntese do DNA, apesar de seu papel preciso ainda ser desconhecido. Apesar de o PCNA, o Ki-67 e a AgNOR serem todos expressos no ciclo celular, os mesmos possuem uma expressão temporal diversa, fornecendo informações distintas. Embora o PCNA seja essencial para a síntese do DNA durante a fase S da mitose, possui uma meia-vida muito longa (excede vinte horas) e está presente em níveis detectáveis em muitas células que já não estão no ciclo. Por outro lado, o Ki-67 tem uma meia-vida mais curta (menos de uma hora) que aquela do PCNA. Sendo assim, o Ki-67 indica com maior certeza o estágio proliferativo da célula no momento da biópsia/exérese da

lesão e não representa uma expressão residual, dando a idéia de que a célula esteja ainda passando pelo ciclo celular (ALLISON; BEST, 1998; FREITAS et al., 1993; HUANG et al., 1994; KEE et al., 2002; MIGHELL et al., 1996; SLOOTWEG, 1995; WHITAKER et al., 1993). Essa afirmação vem se somar com nossos achados, visto que a imunoexpressividade do Ki-67 (em média, 6,97% de células ovóides positivas em toda amostra de LCGPs estudada) se deu, de maneira geral, de forma bem menos intensa do que aquela observada para o PCNA (em média, 52,55% de células ovóides positivas em todas as LCGPs).

Os resultados da presente investigação mostram que o padrão de expressão do Ki-67 mostrou-se consistente, marcando uniformemente células ovóides das LCGPs, sendo que encontramos 6,97% de células ovóides positivas ao Ki-67, em média. Estes resultados são concordes aos previamente reportados por Souza et al. (2000), que afirmam ter encontrado, em média, 4,31% das células ovóides positivas ao Ki-67 nas LCGPs. No que diz respeito às células gigantes multinucleadas, encontramos que estas não mostraram imunoexpressão ao Ki-67, fato concorde aos resultados de Kruse-Lösler et al. (2006), Mighell et al. (1996), O'Malley et al. (1997), Souza et al. (2000) e Souza et al. (1999), que afirmam que estas células não fazem parte do compartimento proliferativo das lesões de células gigantes (LCGC, LCGP e TCG); formam-se a partir da união de células mononucleadas diferenciadas e pertencem, provavelmente, a uma linhagem celular osteoclástica, indicando tal como o PCNA, que a etiopatogenia das LCGPs está relacionada ao perióstio.

Em relação aos três grupos de LCGPs analisados (diferentes graus de agressividade clínico-radiográfica), no que diz respeito à imunoexpressividade do Ki-67 nas células ovóides, observou-se que, quanto maior o grau de agressividade clínico-radiográfica das lesões, maior o número de células imunorreativas ao Ki-67, o que indica uma tendência de as LCGPs mais agressivas clínico-radiograficamente apresentarem uma maior atividade proliferativa celular. Estatisticamente, obteve-se que os grupos com graus de agressividade clínico-radiográfica 0 (agressividade nula) e 3 (agressividade moderada) apresentaram-se iguais entre si e diferentes daquele grupo com graus de agressividade clínico-radiográfica 5

e 6 (agressividade severa). Infere-se, dessa forma a partir de nossa metodologia, que as LCGPs que apresentam até três critérios de agressividade clínico-radiográfica, dos adotados neste estudo, não apresentam atividade proliferativa celular aumentada detectável pelo Ki-67, ao passo que as LCGPs que possuem cinco ou seis desses critérios possuem um aumento na atividade proliferativa celular.

Nossos resultados vêm se somar àqueles obtidos por Souza et al. (2000), que encontraram uma maior imunorreatividade das células ovóides de LCGPs ao Ki-67, quando comparada com a de LCGCs. Por outro lado, os achados do presente estudo diferem daqueles reportados por Kruse-Lösler et al. (2006) e O'Malley et al. (1997), que não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre LCGCs clínico-radiograficamente agressivas e não agressivas, e dos de Kauzman et al. (2004), que afirmam não existir diferença entre a imunomarcagem do Ki-67 entre LCGCs e TCGs.

O gene supressor de tumor p53 localiza-se no braço curto do cromossomo humano 17, na posição 17p13,1 e codifica uma proteína que está envolvida na síntese e reparo do DNA, na plasticidade genômica, na morte celular programada e na regulação negativa do ciclo celular (GREENBLATT et al., 1994). Constitui-se num gene supressor tumoral com um importante papel na regulação normal da divisão celular (LANE, 1992). A inativação deste gene tem sido descrita em muitos tumores, sendo que sua inativação ou mutação usualmente resulta num produto com uma meia-vida aumentada, e que pode, por vezes, ser demonstrado imunohistoquimicamente. Utilizou-se o p53 no presente trabalho porque este marcador biológico também tem sido usado em lesões não neoplásicas e em associação com inflamação (HARRIS, 1992; NIGRO et al., 1989; SOINI et al., 1994). Todos os casos de LCGPs por nós avaliados mostraram células ovóides e células gigantes multinucleadas não imunorreativas ao p53, independentemente do grau de agressividade clínico-radiográfica das lesões. Considerando-se que a LCGP tem natureza benigna e que alterações do p53 ocorrem caracteristicamente em lesões malignas, nossos resultados não são surpreendentes e coincidem com os reportados por outros autores que utilizaram o p53 para avaliar lesões de células gigantes (KRUSE-LÖSLER et al., 2006; O'MALLEY et al., 1996;

SOUZA et al., 2000; SOUZA et al., 1999). Segundo Souza et al. (1999), a não imunorreatividade do p53 em lesões de células gigantes provavelmente ocorre pois o produto protéico do gene MDM2 (*murine double minute*) liga-se com a proteína p53, formando um complexo que pode extinguir a função inibidora do crescimento que a p53 possui. Sendo assim, quando houver forte expressão do MDM2, fatalmente não se notará expressão do p53. Exemplo disto é que, além de não obterem imunoexpressividade do p53, Souza et al. (2000) e Souza et al. (1999) obtiveram em seus estudos com lesões de células gigantes uma forte expressão da MDM2. Sendo assim, conclui-se, a partir dos achados do presente estudo e das afirmações prévias reportadas pela literatura, que o p53 não é um marcador de proliferação celular efetivo para LCGPs. Acreditamos que novos estudos em LCGPs com o marcador MDM2 ajudariam a melhor compreender nossos resultados imunohistoquímicos em relação ao p53.

Apesar da área média das AgNORs e da imunoexpressividade do PCNA não terem se apresentado estatisticamente diferentes nos três grupos com distintos graus de agressividade clínico-radiográfica estudados neste trabalho, comprovou-se estatisticamente que o número médio de AgNORs por núcleo celular e a imunoexpressividade do Ki-67 são maiores quanto maior for o grau de agressividade clínico-radiográfica das LCGPs. Sendo assim, quando analisamos em conjunto esses nossos resultados, parece-nos válido dizer que a agressividade clínico-radiográfica das LCGPs está associada a fatores intrínsecos, mais especificamente ao potencial proliferativo celular da lesão. Por outro lado, embora a marcação tecidual tenha se dado de forma homogênea e consistente com AgNOR e Ki-67, e alguns de nossos resultados tenham se mostrado significativos, deve-se lembrar que este é, até o momento, o único estudo histoquímico-imunohistoquímico com o objetivo de investigar a atividade proliferativa celular versus distintos graus de agressividade clínico-radiográfica em LCGPs, e que novos estudos são necessários para melhor compreender as observações constatadas no presente trabalho.

Por fim, entende-se que a LCGP não deve ser vista como uma lesão inócua ao paciente, mas sim como uma enfermidade com grau de agressividade variável e cujo

tratamento, mais ou menos conservador, deve ser norteado pela atividade proliferativa celular.

6 CONCLUSÃO

6 Conclusão

Com base na metodologia empregada e de acordo com os resultados mais significativos obtidos nos diferentes estudos realizados, pôde-se concluir que:

Estudo Clínico-Radiográfico Retrospectivo (I):

- A)** O perfil do paciente portador de LCGP é constituído por indivíduos com saúde bucal regular, idade entre 31 e 40 anos, pertencentes ao sexo feminino e à raça branca;
- B)** O perfil da LCGP caracteriza-se por lesões nodulares indolores, localizadas nos maxilares, com maior prevalência na região mandibular anterior, sobre a mucosa do rebordo alveolar, de formato ovóide ou arredondado, superfície íntegra, coloração púrpura, consistência fibrosa, tamanho, na maioria dos casos, de 1 cm no seu maior diâmetro, base de implantação séssil, de crescimento constante e lento, de aproximadamente 2 meses, e causada, prevalentemente, por trauma local crônico por próteses bucais removíveis. As lesões são predominantemente não recidivantes, e no seu diagnóstico diferencial deverá estar incluído principalmente o granuloma piogênico; a LCGP representou 0,6% a 1,8% de todas as lesões registradas nos Serviços de Patologia Bucal consultados (FOA-UNESP e FO-UPF), observando-se os respectivos períodos de estudo retrospectivo realizado;
- C)** A LCGP se apresenta radiograficamente como uma lesão que provoca reabsorção superficial do osso subjacente de aspecto radiolúcido semelhante a uma “taça”, de tamanho 1,5 cm no seu maior diâmetro, na maioria dos casos, e que pode causar reabsorção radicular, expansão da cortical óssea ou afastamento dentário;
- D)** Os achados clínico-radiográficos que mostraram significância estatística quando correlacionados às faixas de agressividade clínico-radiográfica das LCGPs estudadas foram: a presença de sintoma dor nas lesões, o tamanho destas, a ocorrência de episódios de

recidiva, a presença de reabsorções ósseas subjacentes, o tamanho destas reabsorções, as reabsorções radiculares dos dentes adjacentes às lesões, a expansão de corticais ósseas e o afastamento dentário próximo às LCGPs;

Estudo Histopatológico, Histoquímico e Imunohistoquímico (II):

E) Todas as LCGPs examinadas mostraram um aspecto histopatológico padrão, semelhante àquele previamente reportado pela literatura;

F) O tecido ósseo imaturo intralesional é um fator histológico de prognóstico para recidiva das LCGPs, visto que sua presença foi estatisticamente maior nas lesões recidivantes;

G) O número médio de AgNORs por núcleo celular mostrou-se estatisticamente maior quanto maior a agressividade clínico-radiográfica das LCGPs, ao passo que a área média dessas regiões não se mostrou estatisticamente diferente nos três grupos de agressividade clínico-radiográfica estudados, concluindo-se com isso que lesões com um maior grau de agressividade clínico-radiográfica possuem também um maior índice de proliferação celular;

H) Não houve diferença estatisticamente significativa da marcação pelo PCNA nos três grupos de agressividade clínico-radiográfica estudados, concluindo-se com isso que o PCNA não se mostrou ser efetivo como marcador biológico para estudo do comportamento biológico das LCGPs;

I) O Ki-67 mostrou maior imunorreatividade nas LCGPs pertencentes à faixa de agressividade clínico-radiográfica severa (graus 5 e 6), concluindo-se com isso que esse marcador biológico colabora para o estudo do comportamento biológico das LCGPs;

J) O p53 mostrou ser não imunorreativo em relação tanto às células ovóides mononucleadas quanto às células gigantes multinucleadas que compunham as lesões dos

três grupos de agressividade clínico-radiográfica avaliados, indicando ser um marcador de proliferação celular não efetivo para LCGPs;

K) Quando conjuntamente analisados, os resultados da aplicação da AgNOR e Ki-67 mostram que a agressividade clínico-radiográfica das LCGPs pode ser correlacionada à atividade proliferativa celular das lesões, sendo este um procedimento norteador para o adequado tratamento, menos ou mais conservador, dessa doença.

REFERÊNCIAS

Referências

- ACOSTA GIL, M.E.; DOMINGUEZ, M.P.; ROCHA, A.T. Hallazgos histopatológicos, pronósticos del granuloma de células gigantes multinucleadas bucal. **Rev ADM**, v. 52, n.1, p. 37-46, ene./feb. 1995.
- ALLISON, R.T.; BEST, T. p53, PCNA and Ki-67 expression in oral squamous cell carcinomas: the vagaries of fixation and microwave enhancement of immunocytochemistry. **J Oral Pathol Med**, v. 27, n. 9, p. 434-440, Oct. 1998.
- ANDERSEN, L.; FEJERSKOV, O.; PHILIPSEN, H.P. Oral Giant Cell Granulomas. A clinical and histological study of 129 new cases. **Acta Pathol Microbiol Scand A**, v. 81, n. 5, p. 606-616, Sep. 1973.
- ANNEROTH, G.; SIGURDSON, A. Hyperplastic lesions of the gingiva and alveolar mucosa. A study of 175 cases. **Acta Odontol Scand**, v. 41, n. 2, p. 75-86, 1983.
- AVEDANO, A.V.C.; AYLES, L.B.; ESCODA, C.G. Granuloma periférico de células gigantes. A propósito de 5 casos y revisión de la literatura. **Oral Med Oral Pathol Oral Cir Bucal**, v. 10, p. 48-57, 2004.
- BERNE, R.M.; LEVY, M.N. **Fisiologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990.
- BERNIER, J.L. **Tratamiento de las enfermedades orales**: un tratado sobre reconocimiento, identificación y tratamiento de las enfermedades de la región oral, Buenos Aires: Bibliográfica Omeba, 1962.
- BERNIER, J.L.; CAHN, L.R. The peripheral giant cell reparative granuloma. **J Am Dent Assoc**, v. 49, n. 2, p. 141-148, Aug. 1954.
- BIRMAN, E.G.; NOVELLI, M.D.; HONG, T.S. Lesão central e periférica de células gigantes. Uma só entidade? **Rev Assoc Paul Cir Dent**, v. 37, n. 5, p. 382-392, 1983.
- BODNER, L.; PEIST, M.; GATOT, A. et al. Growthpotential of peripheral giant cell granuloma of the oral cavity. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 83, n. 5, p. 548-551, 1997.
- BOUROPOULOU, V.; MARKAKI, S.; KARAMERIS, A. AgNORs in giant cell tumors of bones: are they useful in the estimation of tumor's behavior? **Arch Anat Cytol Pathol**, v. 39, n. 1-2, p. 42-46, 1991.
- BRINHOLE, M.C.P.; PRADA, C.T.; ADDE, C.A. Granuloma de células gigantes periférico: relato de um caso. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v.15, n.1, p 57-60, jan./jun. 1997.
- BURCKET, L.W. **Medicina bucal: diagnostico y tratamiento**. 6.ed. México: Interamericana, 1973.
- CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística**: princípios e aplicações. Porto Alegre: Artmed; 2004.
- CARVALHO, Y.R. **Estudo morfológico e imuno-histoquímico das lesões periféricas de células gigantes da mucosa bucal**. 1991. 82f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, 1991.

CASTELLI, W.A.; DIAZ-PEREZ, R.; NASJLETI, C.E.; CAFESSE, R.G. Effect on renovascular hypertension on the morphology of oral blood vessels. **Oral Surg**, v. 46, n. 4, p. 576-82, 1978.

CASTRO, A.L. **Estomatologia**. 2. ed. São Paulo: Ed. Santos, 2000. 235 p.

CAVEZZI JÚNIOR, O. Granuloma periférico de células gigantes. **RGO**, Porto Alegre, v. 45, n. 3, p. 149-152, mai./jun. 1997.

CAWSON, R.A.; EVESON, J.W. **Oral Pathology and diagnosis**. London: William Heinemann Medical Books, 1987. 479 p.

CEBALLOS-SALOBREÑA, A. Tumores benignos de la mucosa oral. In: BAGAN-SEBASTIAN, J.V et al. editores. **Medicina Oral**. Barcelona: Masson, 1995. p. 182-183.

CHUONG, R.; KABAN, L.B.; KOZAKEWICH, H. et al. Central giant cell lesions of the jaws: a clinicopathologic study. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 44, n. 9, p. 708-713, Sep. 1986.

COSTA, C.A.S.; BENATTI NETO, C.; PANSANI, C.A. et al. GPGC: granuloma periférico de células gigantes. **RGO**, v. 41, n. 6, p. 367-368, nov./dez. 1993.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Robbins: patologia estrutural e funcional**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 1277 p.

DAYAN, D.; BUCHNER, A.; SPIRER, S. Bone formation in peripheral giant cell granuloma. **J Periodontol**, v. 61, p. 444-446, 1990.

DE LANGE, J.; VAN DEN AKKER, H.P.; VAN DEN BERG, H. et al. Limited regresión of central giant cell granuloma by interferon alpha alter failed calcitonin therapy: a report of 2 cases. **Int J Oral Maxillofac Surg**, 2006. Disponível em <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em 05 jul. 2006.

DERENZINE, M.; NARDI, F.; FARABEGOLI, F. et al. Distribution of silver-stained interphase nucleolar organizer regions as a parameter to distinguish neoplastic from non-neoplastic reactive cells in human effusions. **Acta Cytol**, v. 33, n. 4, p. 491, jul./ago. 1989.

DURSO, B.C.; CONSOLARO, A. Lesão periférica de células gigantes: análise da casuística do Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia de Bauru - Universidade de São Paulo. **JBC – J Bras Clin Odontol Int**, v. 7, n.41, p. 399-404, 2003.

ENDL, E.; GERDES, J. The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. **Exp Cell Res**, v. 257, n. 2, p. 231-237, June 2000.

ESLAMI, B.; YAGHMAEI, M.; FIROOZI, M. et al. Nucleolar organizer regions in selected odontogenic lesions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 95, n. 2, p. 187-192, Feb. 2003.

EVERSOLE, L.R.; ROVIN, S. Reactive lesions of the gingival. **J Oral Pathol**, v. 1, n. 1, p. 30-38, Feb. 1972.

FERGUSON-SMITH, M.A.; HANDMAKER, S.D. Observations on satellited human chromosomes. **Lancet**, v.2, n.721, p.638-640, 1961.

FERREIRA, F.C.; CAVEZZI JÚNIOR, O. Granuloma periférico de células gigantes com ossificação. **RGO**, Porto Alegre, v. 42, n. 6, p. 338-341, nov./dez. 1994.

FLAITSZ, C.M. Peripheral giant cell granuloma: a potentially aggressive lesion in children. **Ped Dent**, v. 22, n. 3, p. 232-233, 2000.

FORTES, T.M.V.; QUEIROZ, L.M.G.; PIVA, M.R. et al. Estudo epidemiológico de lesões proliferativas não neoplásicas da mucosa oral: análise de 20 anos. **Cienc Odontol Bras**, v.5, n.3, p. 54-61, set./dez. 2002.

FREITAS, R.A.; ARAUJO, V.C.; ARAUJO, N.S. Argrophilia in nucleolar organizer regions (AgNORs) in adenoid cystic carcinoma and polymorphous low-grade adenocarcinoma of salivary gland. **Eur Arch Otorhinolaryngol**, v. 250, p. 213-217, 1993.

GERDES, J.; LEMKE, H.; BAISCH, H. et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. **J Immunol**, v. 133, n. 4, p. 1710-1715, Oct. 1984.

GIANSANTI, J.S.; WALDRON, C.A. Peripheral giant cell granuloma. **J Oral Surg**, v. 27, n.10, p. 787-791, Oct. 1969.

GREENBLATT, M. S. et al. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. **Cancer Res**, v.54, n.18, p. 4855-4878, 1994.

GUYTON, A.C. Dominant role of the kidneys and accessory role of whole-body autorregulation in the pathogenesis of hypertension. **Am J Hypertens**, v. 2, n. 7, p. 575-85, 1989.

HALL, P.A.; COATES, P.J.; GOODLAD, R.A. et al. Proliferating cell nuclear antigen expression in non-cycling cells may be induced by growth factors *in vivo*. **Br J Cancer**, v. 70, n. 2, p. 244-247, Aug. 1994.

HARRIS, A.L. p53 expression in human breast cancer. **Adv Cancer Res**, v. 59, p. 69-88, 1992.

HARRIS, M. Central giant cell granulomas of the jaws regress with calcitonin therapy. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 31, n. 2, p. 89-94, Apr. 1993.

HUANG, W.Y.F.; COLTRERA, M.; SCHUBERT, M. et al. Histopathologic evaluation of proliferating cell nuclear antigen (PC10) in oral epithelial hyperplasias and premalignant lesions. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 78, n. 6, p. 748-754, Dec. 1994.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística): **Acesso e utilização de serviços de saúde** – 2003. Disponível em: http://www.1.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=370&id_pagina=1>. Acesso em 23 jun. 2006.

JAFFE, H.L. Giant-cell reparative granuloma, traumatic bone cyst and fibrous (fibrous-osseous) dysplasia of the jawbones. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 6, n. 1, p. 159-175, 1953.

KATSIKERIS, N.; KAKARANTZA-ANGELOPOULOU, E.; ANGELOPOULOS, A.P. Peripheral giant cell granuloma: Clinicopathologic study of 224 new cases and review of 956 reported cases. **Int J Oral Maxillofacial Surg**, v. 17, n. 2, p. 94-99, Apr. 1988.

KAUZMAN, A.; LI, S.Q.; BRADLEY, G. et al. Central giant cell granuloma of the jaws: assessment of cell cycle proteins. **J Oral Pathol Med**, v. 33, n. 3, p. 170-176, Mar. 2004.

KEE, N.; SIVALINGAM, S.; BOONSTRA, R. et al. The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis. **J Neurosci Methods**, v. 115, n. 1, p. 97-105, Mar. 2002.

KFIR, Y.; BUCHNER, A.; HANSEN, L.S. Reactive lesions of the gingiva: a clinicopathological study of 741 cases. **J Periodontol**, v. 51, n. 11, p. 655-661, Nov. 1980.

KREMER, M.; JUDD, J. RIFKIN, B. et al. Estrogen modulation of osteoclast lysosomal enzyme secretion. **J Cell Biochem**, v. 57, n. 2, p. 271-279, Feb. 1995.

KRUSE-LÖSLER, B.; DIALLO, R.; GAERTNER, C. et al. Central giant cell granuloma of the jaws: a clinical, radiologic and histopathologic study of 26 cases. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 101, n. 3, p. 346-354, Mar. 2006.

LANE, D.P. Cancer p53, guardian of the genome. **Nature**, v. 358, n. 6381, p. 15-16, Jul. 1992.

LINDHE, J. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

MACLEOD, R.I.; SOAMES, J.V. Epulis: a clinicopathological study of a series of 200 consecutive lesions. **Br Dent J**, v. 163, n. 2, p. 51-53, Jul. 1987.

MARGIOTTA, V.; PIZZO, I.; PIZZO, G.; BARBARO, A. Cyclosporin and nifedipine-induced gingival overgrowth in renal transplant patients: correlations with periodontal and pharmacological parameters, and HLA-antigens. **J Oral Pathol Med**, v. 25, n. 3, p. 128-34, 1996.

MIGHELL, A.J.; ROBINSON, P.A.; HUME, W.J. PCNA and Ki-67 immunoreactivity in multinucleated cells of giant cell fibroma and peripheral giant cell granuloma. **J Oral Pathol Med**, v. 25, n. 5, p. 193-199, May 1996.

NEDIR, R.; LOMBARDI, T.; SAMSON, J. Recurrent peripheral giant cell granuloma associated with cervical resorption. **J Periodontol**, v. 68, n. 4, p. 381-384, Apr. 1997.

NEVILLE, B.W.; DAMM, D.D.; ALLEN, C.M. et al. **Patologia oral & maxilofacial**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 798 p.

NIGRO, J.M.; BAKER, S.J.; PREISINGER, A.C. et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. **Nature**, v. 342, n. 6250, p. 705-708, Dec. 1989.

NUNES, F.D.; PINTO JUNIOR, D.S.; ARAUJO, N.S. et al. Estudo morfológico e otimização da técnica AgNOR. In: REUNIAO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS, 1991, São Paulo, **Anais da SBPqO** de 1991.

O'MALLEY, M.; POGREL, M.A.; STEWART, J.C.B. et al. Central giant cell granulomas of the jaws: phenotype and proliferation-associated markers. **J Oral Pathol Med**, v. 26, n. 4, p. 159-163, Apr. 1997.

PANDOLFI, P.J.; FELEFLI, S.; FLAITS, C.M. et al. An aggressive peripheral giant cell granuloma in a child. **J Clin Pediatr Dent**, v. 23, p. 353-355, 1999.

PARBATANI, R.; TINSLEY, G.F.; DANFORD, M.H. Primary hyperparathyroidism presenting as a giant-cell epulis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 85, n. 3, p. 282-284, 1998.

PEARSE, A.G.E. Histoquímica de algunas importantes proteina simples. **Histochem**, 2. ed, London: J & A. Churchill, 1961, p. 92-110.

PLOTON, D.; MENAGER, M; JEANNESSON, P. et al. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. **Histochem J**, v. 18, n. 1, p. 5-14, Jan. 1986.

PNUD (Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento) – 2005. Disponível em: <<http://www.pnud.org.br>>. Acesso em 07 jul. 2006.

REGEZI, J.A.; SCIUBBA, J.J. **Patologia Bucal: Correlações Clinicopatológicas**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 475 p.

REICHART, P.A.; PHILIPSEN, H.P. **Atlas de patología oral**. Barcelona: Masson, 2000. p. 164.

ROBERSON, J.B.; CROCKER, D.J.; SCHILLER, T. The diagnosis and treatment of central giant cell granuloma. **J Am Dent Assoc**, v. 128, n. 1, p. 81-84, Jan. 1997.

RUSCHOFF, J.; PLATE, K.; BITTINGER, A. et al. Nucleolar organizer regions (NORs): basic concepts and practical application in tumor pathology. **Pathol Res Pract**, v. 185, n. 6, p. 878, Dec. 1989.

SANCHEZ, J.G.; VILLARROEL, M.; LOPEZ-LABADY, J. et al. Granuloma Piogênico. Reporte de dos casos de aparición inusual y revisión de la literatura. **Acta Odontol Venez**, v. 38, n. 2, p. 36-40, 2000.

SCHOLZEN, T.; GERDES, J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. **J Cell Physiol**, v. 182, n. 3, p. 311-322, Mar. 2000.

SHIELDS, J.A. Peripheral giant cell granuloma: a review. **J Ir Dent Assoc**, v. 40, n. 2, p. 39-41, 1994.

SIDHU, M.S.; PARKASH, H.; SIDHU, S.S. Central giant cell granuloma of jaws-review of 19 cases. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 33, n. 1, p. 43-46, Feb. 1995.

SILVERMAN, S.; WARE, W.H.; DIMAS, L.T. Biologic variations in giant-cell lesions of the mouth. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 18, p. 346-359, 1964.

SILVERMAN Jr., S.; EVERSOLE, L.R.; TRUELOVE, E.L. **Fundamentos de Medicina Oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, 324 p.

SLOOTWEG, P.J. p53 protein and Ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions. An immunohistochemical study. **J Oral Pathol Med**, v. 24, n. 9, p. 393-397, Oct. 1995.

SOINI, Y.; KAMEL, D.; PAAKKO, P. et al. Aberrant accumulation of p53 associates with Ki-67 and mitotic counts in benign skin lesions. **Br J Dermatol**, v. 131, n. 4, p. 514-520, Oct. 1994.

SORENSEN, H. Giant cell epulis: analysis of 26 cases. **J Laryngol Otol**, v. 72, n. 7, p. 546-557, Jul. 1958.

SOUZA, P.E.; MESQUITA, R.A.; GOMEZ, R.S. Evaluation of p53, PCNA, Ki-67, MDM2 and AgNOR in oral peripheral and central giant cell lesions. **Oral Dis**, v. 6, n.1, p. 35-39, Jan. 2000.

SOUZA, P.E.; PAIM, J.F.; CARVALHAIS, J.N. et al. Immunohistochemical expression of p53, MDM2, Ki-67 and PCNA in central giant cell granuloma and giant cell tumor. **J Oral Pathol Med**, v. 28, n. 2, p. 54-58, Feb. 1999.

SPOUGE, J.D. **Oral Pathology**, St Louis: C.V. Mosby, 1973. p. 225.

STEWART, M.J. The histogenesis of myeloid sarcoma with a criticism of the "chronic hemorrhagic osteomyelitis" theory. **Lancet**, v. 2, p. 1106-1108, 1922.

TORRES, S.R. **Granuloma de células gigantes: estudo clínico e histopatológico**. 1986. 122f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1986.

VÁZQUEZ-PIÑEIRO, M.T.; GONZALEZ-BEREIJO, J.M.; NIEMBRO DE RASCHE, E. Granuloma periférico de células gigantes: caso clínico y revisión de la literatura. **RCOE**, v.7, n.2, p. 201-206, mar./abr. 2002.

VIRCHOW, R. Die krankhaften geschwulste. **Hirschwald**, v. 2, p. 209-213, 1964.

WHITAKER, S.B.; VIGNESWARAN, N.; BUDNICK, S.D. et al. Giant cell lesions of the jaws: evaluation of nucleolar organizer regions in lesions of varying behavior. **J Oral Pathol Med**, v. 22, n. 9, p. 402-405, 1993.

WHITAKER, S.B.; WALDRON, C.A. Central giant cell lesions of the jaws: a clinical, radiologic and histopathologic study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.75, n. 2, p. 199-208, 1993.

WOLFSON, L.; TAL, H. Peripheral giant cell granuloma during orthodontic treatment. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v. 96, n. 6, p. 519-523, 1989.

ANEXOS

Anexos

ANEXO A – Ficha individual de tomada de dados dos prontuários dos pacientes portadores de LCGP registrados nos Serviços de Diagnóstico Histopatológico Bucal da FOA-UNESP e da FO-UPF e da observação da presença de osso imaturo nessas lesões:

FOA-UNESP () FO-UPF () Prontuário odontológico nº:.....

(A) Dados Clínicos:

Nome do Paciente.....

Endereço.....

Sexo.....

Idade.....

Raça.....

Queixa principal.....

Algum problema de saúde geral que possa ter ocasionado e ou agravado a lesão?.....

Estado de saúde bucal do paciente?.....

História familiar.....

História da lesão.....

Localização da lesão na cavidade bucal.....

Coloração da lesão.....

Consistência da lesão.....

Sintomatologia da lesão.....

Tempo de evolução aproximado da lesão.....

Dimensões da lesão.....

Superfície da lesão.....

Possível fator etiológico.....

Tipo de tratamento prévio realizado.....

Exérese com bisturi convencional ()

Exérese com bisturi eletrônico ()

Curetagem, somente ()

Associação de terapêuticas () Quais?.....

História de Recidiva.....

(B) Dados Radiográficos:

Reabsorção do osso subjacente à lesão.....
Localização da reabsorção óssea.....
Tamanho da reabsorção óssea.....
Reabsorção radicular dos dentes circunjacentes à lesão.....
Expansão da cortical óssea circunjacente à lesão.....
Afastamento dos dentes vizinhos à lesão.....

(C) Dados histopatológicos:

Nº da biópsia.....
Laudo Histopatológico (data:.....).
Presença de osso imaturo no interior da lesão: SIM () NÃO ()
OBSERVAÇÕES:.....

ANEXO B – Contato via correspondência e ou ligação telefônica com os pacientes que apresentavam LCGP, registrados nos Serviços de Diagnóstico Histopatológico Bucal da FOA-UNESP ou FO-UPF, para coleta de dados:

Ilmo Sr. (a).....

Vimos por meio desta correspondência comunicar que estamos realizando uma pesquisa em nossa universidade e tomamos conhecimento, através de nossos arquivos, que o (a) Sr. (a) realizou tratamento na cavidade bucal por conta de uma doença diagnosticada como lesão de células gigantes periférica. Dessa forma, pedimos vossa colaboração no sentido de responder o seguinte questionário (mais de uma alternativa pode ser assinalada):

eu **não tinha conhecimento** dessa lesão em minha boca quando procurei a faculdade;

Que tipo de **tratamento você recebeu**? cirurgia com bisturi convencional;

cirurgia com bisturi eletrônico;

cirurgia com curetagem da lesão;

associação dessas técnicas. Quais?.....

outro tipo de tratamento. Qual?.....

não sei ou não lembro.

antes da cirurgia, eu sentia pouca dor na área da lesão;

antes da cirurgia, eu sentia muita dor na área da lesão;

antes da cirurgia, a lesão cresceu pouco;

antes da cirurgia, a lesão cresceu muito;

agora, me sinto bem e a lesão não cresceu novamente;

agora, me sinto bem, mas a lesão cresceu novamente;

agora, a lesão cresceu novamente e me dói e/ou sangra.

Lembramos que essa é apenas uma pesquisa que tem por objetivo saber o estado de sua doença. Se o (a) Sr. (a) concordar em responder e permitir que usemos seus dados arquivados nessa Faculdade, por gentileza, envie-nos de volta essa **correspondência respondida** e com o termo de consentimento que está em anexo **já por nós assinado**. O selo do correio já está pago. Se possível, pedimos o seu comparecimento para avaliar o caso, no seguinte endereço e horário:

Clínicas da Disciplina de Estomatologia, Rodovia Marechal Candido Rondon, Km 527, Araçatuba-SP, todas as terças e quintas-feiras, entre 14:00 hs e 17:00 hs , ou na Rodovia BR 285, Km 171, Passo Fundo-RS, nas quintas-feiras, entre 8:00 e 12:00 horas.

Qualquer dúvida, ou se ocorreu uma recidiva da doença (cresceu novamente), procure-nos na Faculdade de Odontologia, na Clínica de Estomatologia para consulta gratuita de retorno. Gratos por sua atenção e certos de que seremos atendidos,
Norberto Perri Moraes, Professor de Estomatologia da UNESP–Araçatuba-SP
Marcelo Macedo Crivelini, Professor de Patologia da UNESP – Araçatuba -SP
João Paulo De Carli, Mestrando em Estomatologia – UNESP – Araçatuba – SP

ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Pelo presente termo de consentimento, declaro que fui informado de forma clara, detalhada, e por escrito, da justificativa, dos objetivos e dos procedimentos do trabalho: **Lesão de células gigantes periférica da cavidade bucal: avaliação da agressividade das lesões por meio dos estudos clínico-radiográfico retrospectivo, histopatológico, histoquímico e imunohistoquímico.**

Fui informado ainda:

- Dos riscos, desconfortos e benefícios do presente trabalho, assim como da garantia de receber resposta a qualquer dúvida acerca da metodologia, riscos, benefícios e outros aspectos relacionados ao estudo desenvolvido;
- Da liberdade de participar ou não do trabalho, tendo assegurado essa liberdade sem quaisquer represálias atuais ou futuras, podendo retirar meu consentimento em qualquer etapa do estudo sem nenhum tipo de penalização ou prejuízo;
- Da segurança de que não serei identificado e que se manterá o caráter confidencial das informações relacionadas com a minha privacidade, a proteção da minha imagem e não estigmatização;
- Da garantia que as informações não serão utilizadas em meu prejuízo;
- Do acesso aos resultados do trabalho.
- Nesses termos e considerando-me livre e esclarecido, consinto em participar do trabalho proposto, resguardando aos autores do projeto a prioridade intelectual das informações geradas e expressando a concordância com a divulgação pública dos resultados. Permito a utilização de radiografias, fotografias, resultados de exames, biópsias, citologias esfoliativas, bem como informações contidas em fichas clínicas e prontuários a meu respeito, com a finalidade de confeccionar material didático e/ou pesquisas em faculdades, uma vez que isto se justifica para o desenvolvimento do conhecimento e ensino na formação do cirurgião-dentista.

O trabalho está sendo desenvolvido sob a orientação do Professor Doutor Norberto Perri Moraes, como atividade científica para desenvolvimento de Dissertação de Mestrado em Odontologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Campus de Araçatuba-SP (Área de Concentração em Estomatologia) do Cirurgião-Dentista João Paulo De Carli, bem como para difusão do conhecimento gerado através de publicações em livros e ou periódicos da área odontológica, apresentações em congressos e eventos afins.

Data: ___/___/___

.....

Nome do Paciente

.....

Assinatura do paciente

Data: ___/___/___

.....

Assinatura do responsável

.....

Assinatura do orientador

Observação: O presente documento, em conformidade com o código de ética odontológica Seção III ART.34 e Capítulo XIV Art. 35, será assinado em duas vias de igual teor, ficando uma via em poder do participante e outra com o responsável.

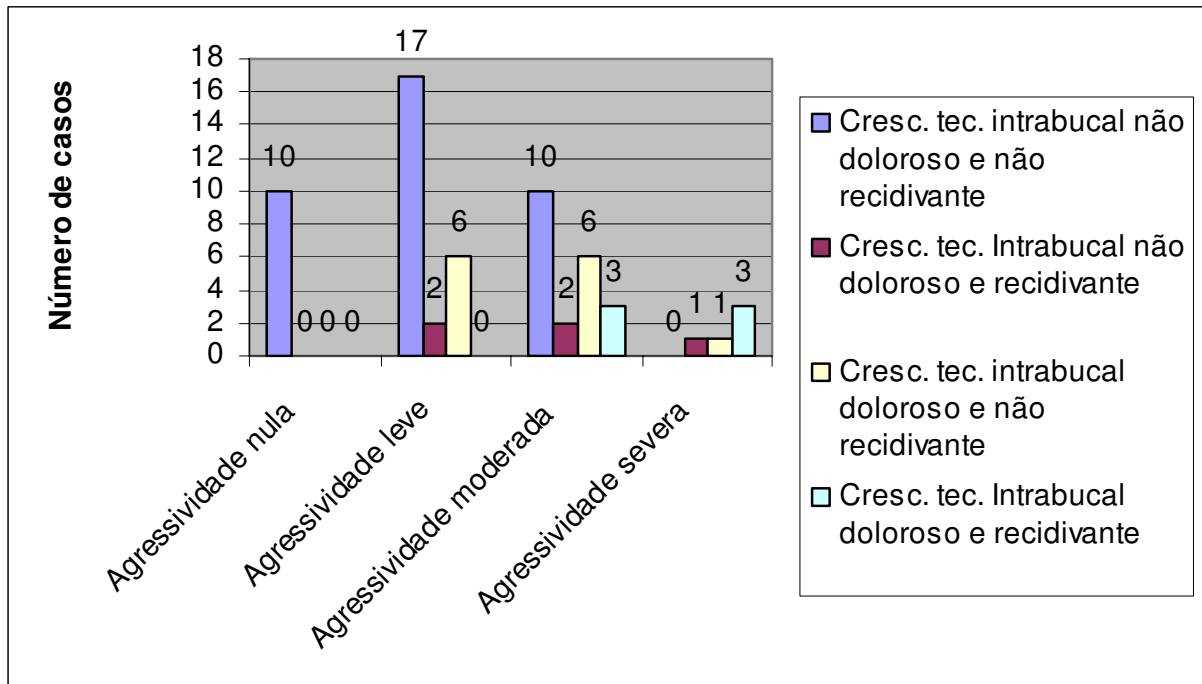


FIGURA 1 – LCGP: motivo da consulta X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 5,25$; $p = 0,04$)

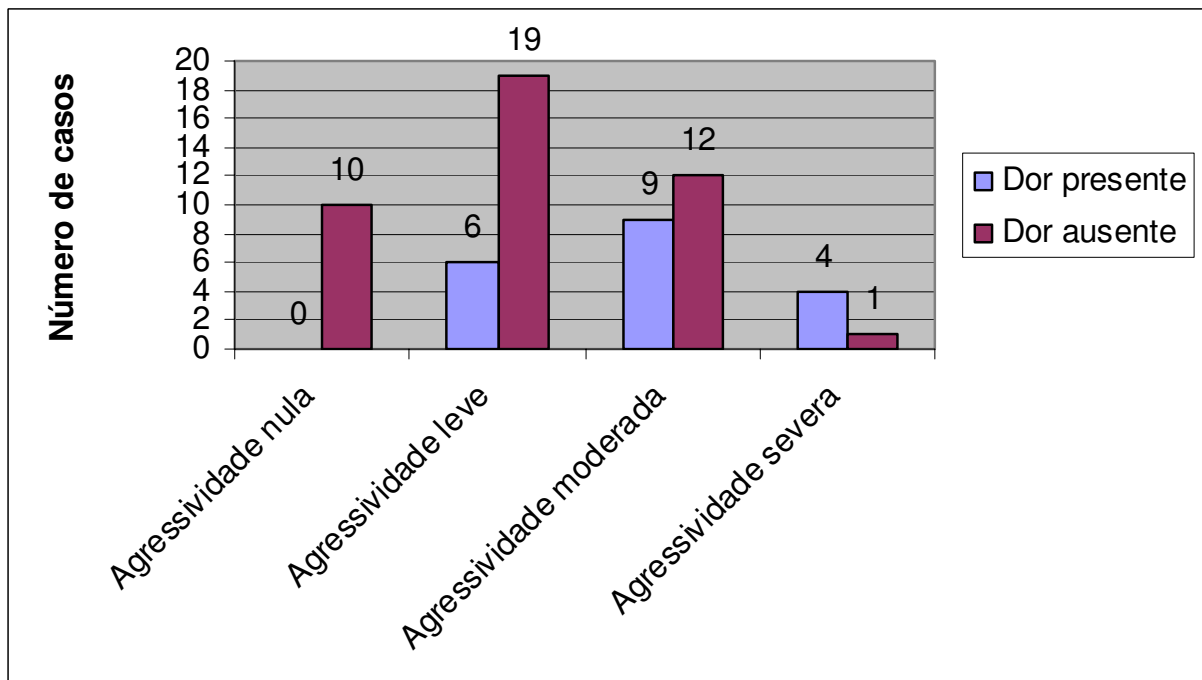


FIGURA 2 – LCGP: presença de sintoma dor X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 12,03$; $p = 0,007$)

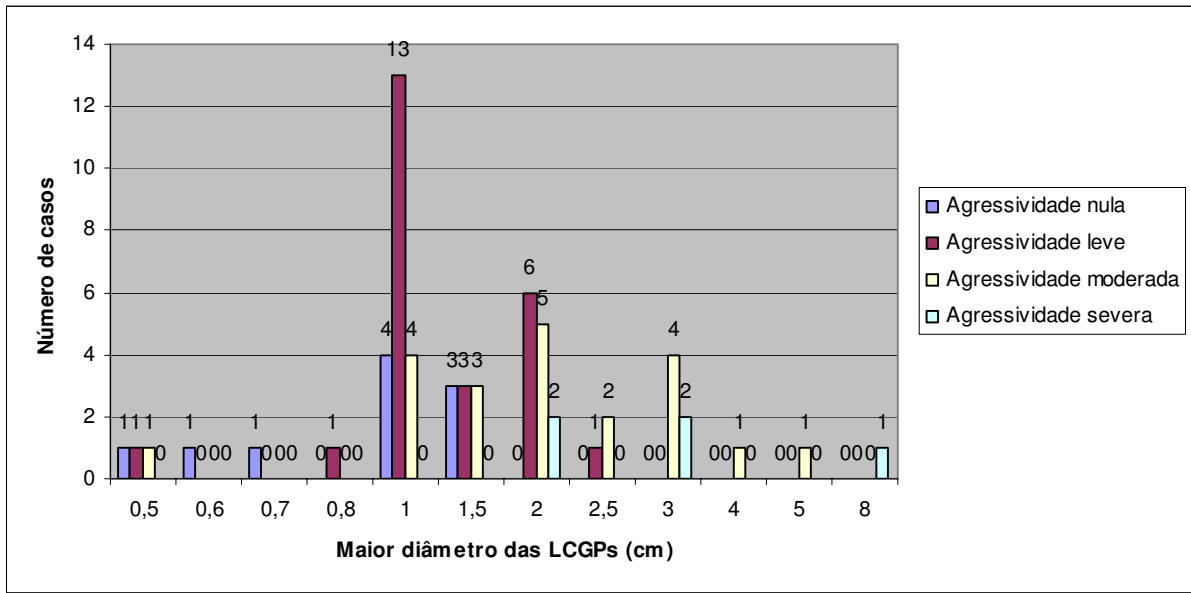


FIGURA 3 – LCGP: maior diâmetro X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 50,07$; $p = 0,03$)

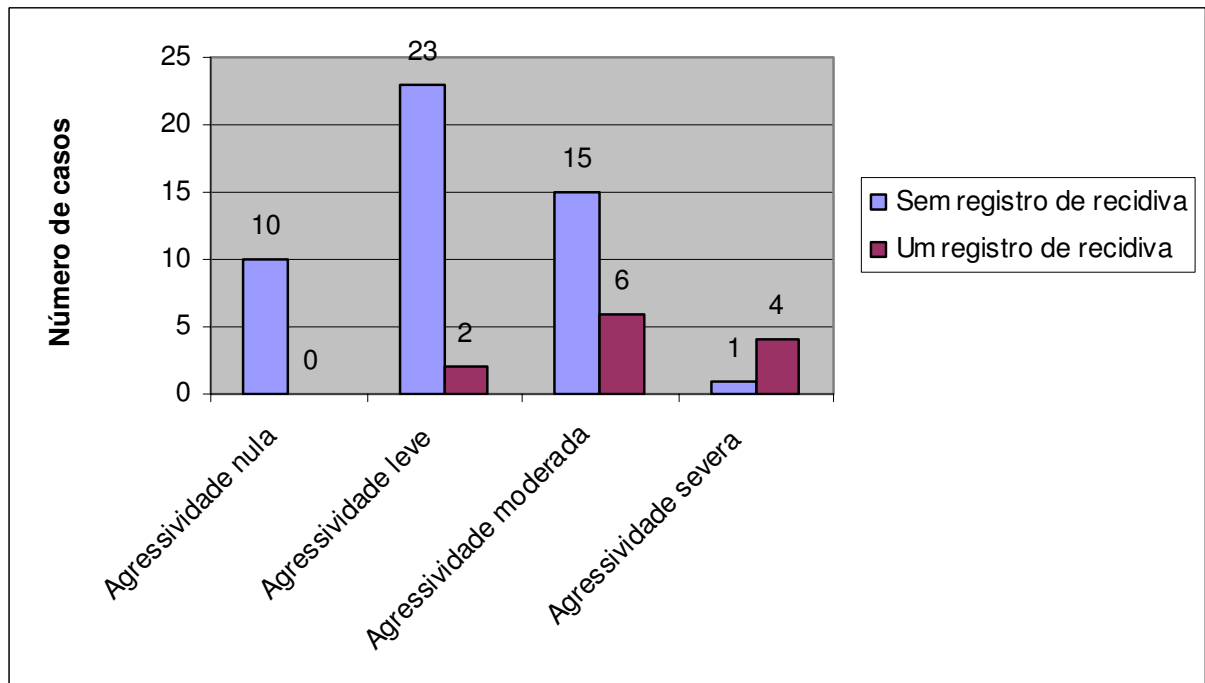


FIGURA 4 – LCGP: registro de recidivas X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 17,17$; $p = 0,0007$)

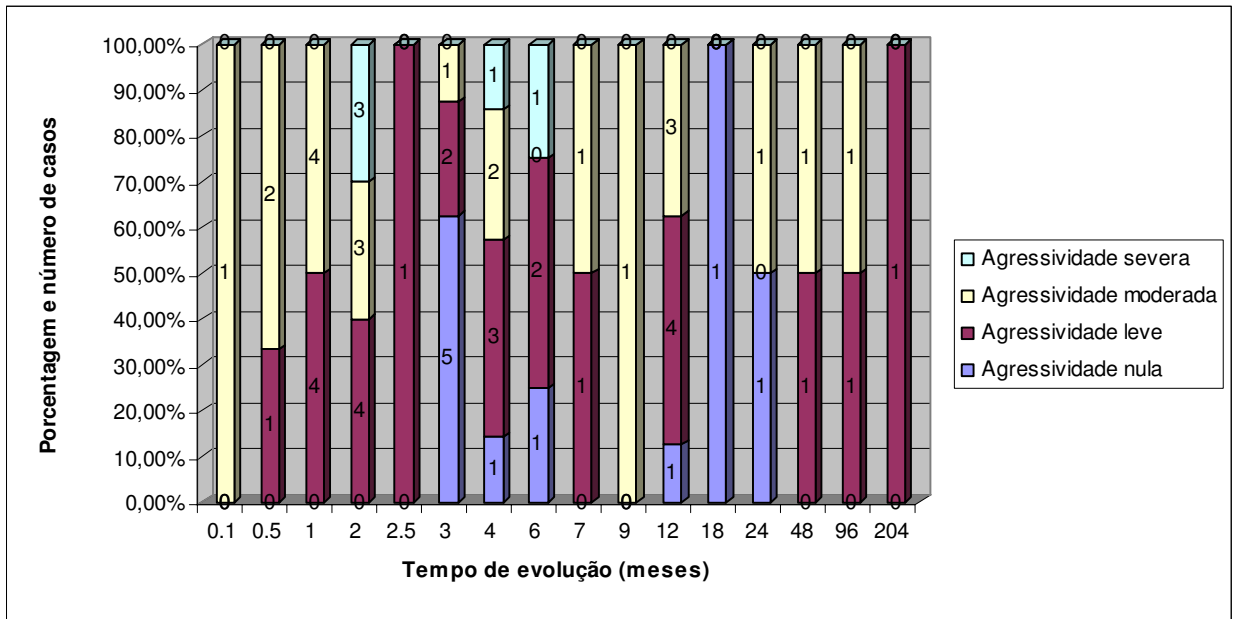


FIGURA 5 - LCGP: tempo de evolução X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 49,92$; $p = 0,40$)

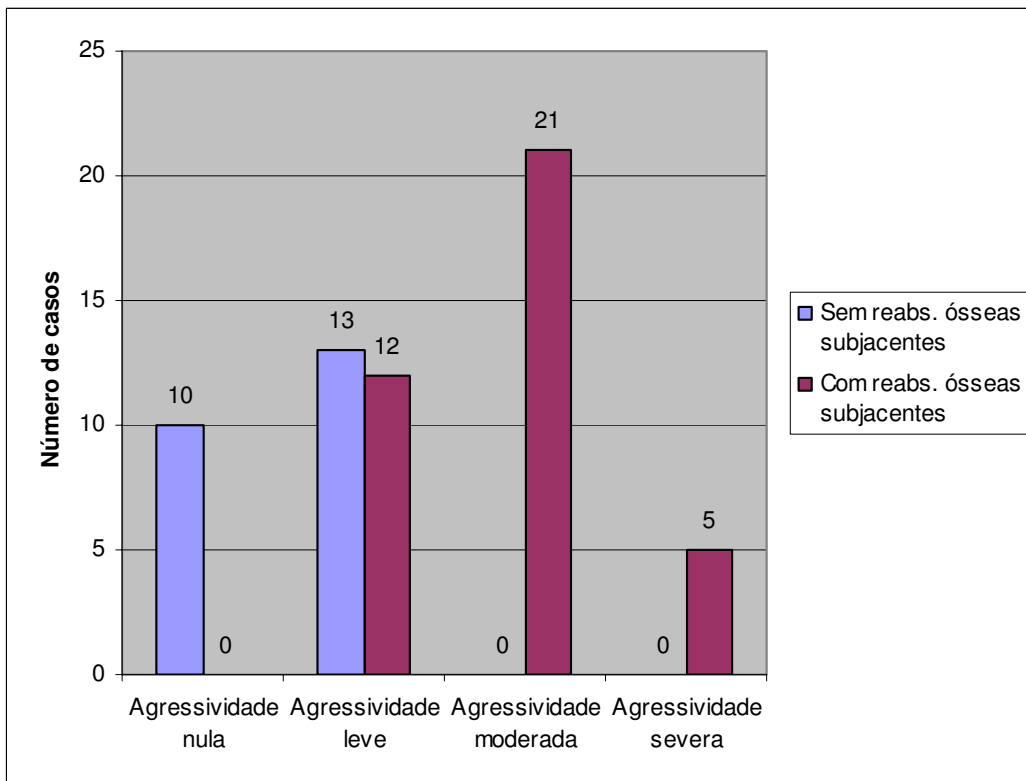


FIGURA 6 - LCGP: presença de reabsorções ósseas subjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 34,43$; $p = 0$)

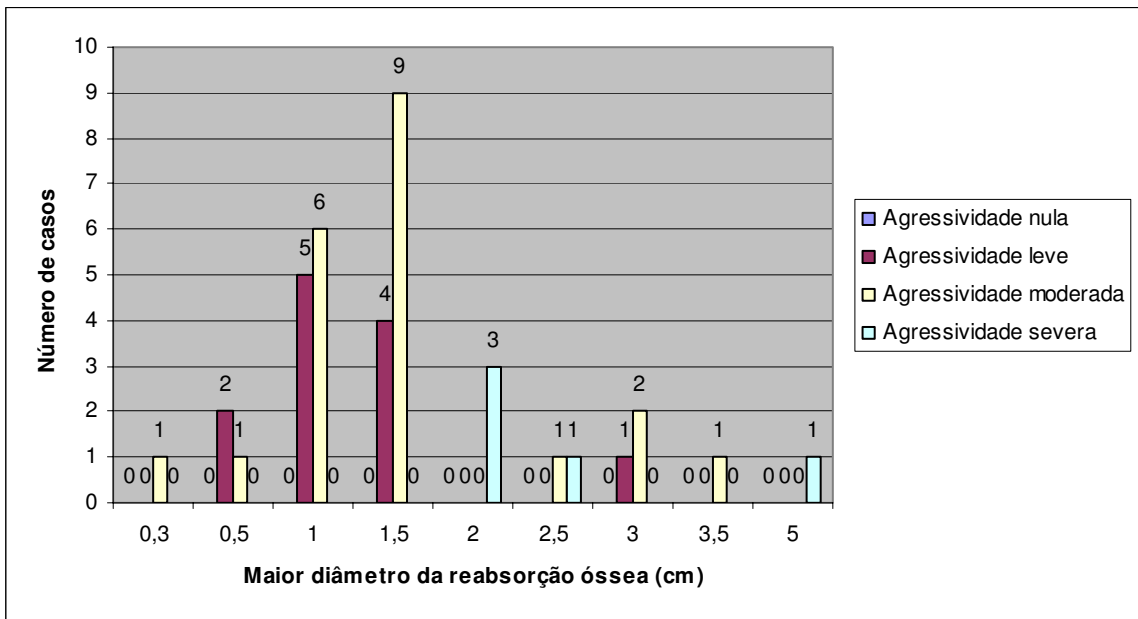


FIGURA 7 - LCGP: maior diâmetro das reabsorções ósseas subjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 90,67$; $p = 0$)

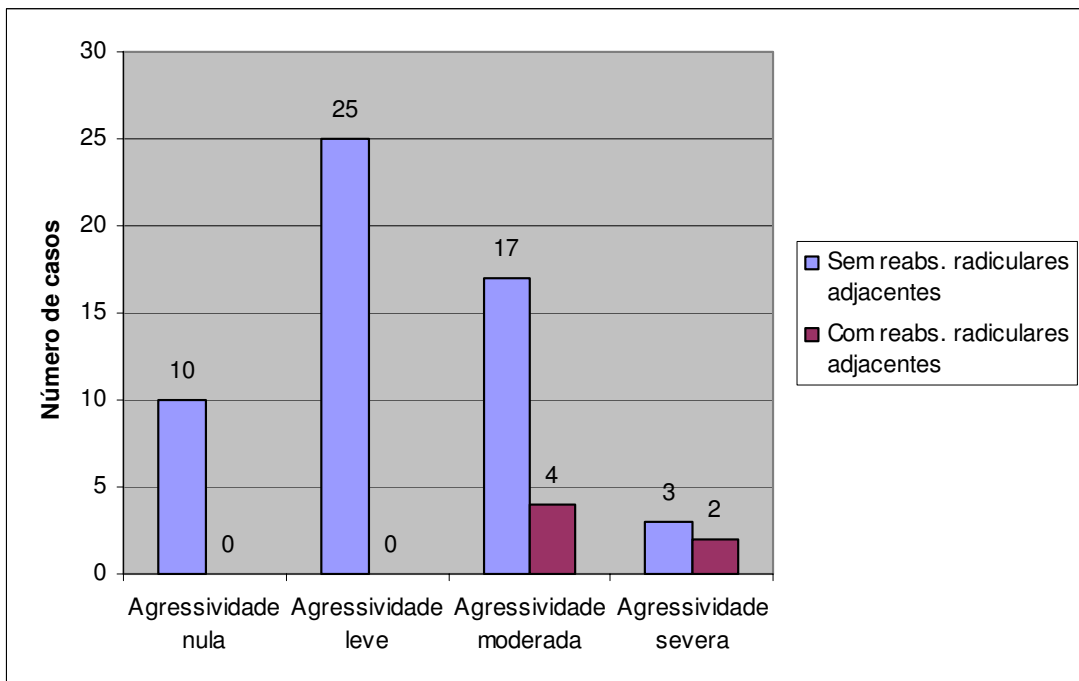


FIGURA 8 - LCGP: presença de reabsorções radiculares adjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 10,96$; $p = 0,01$)

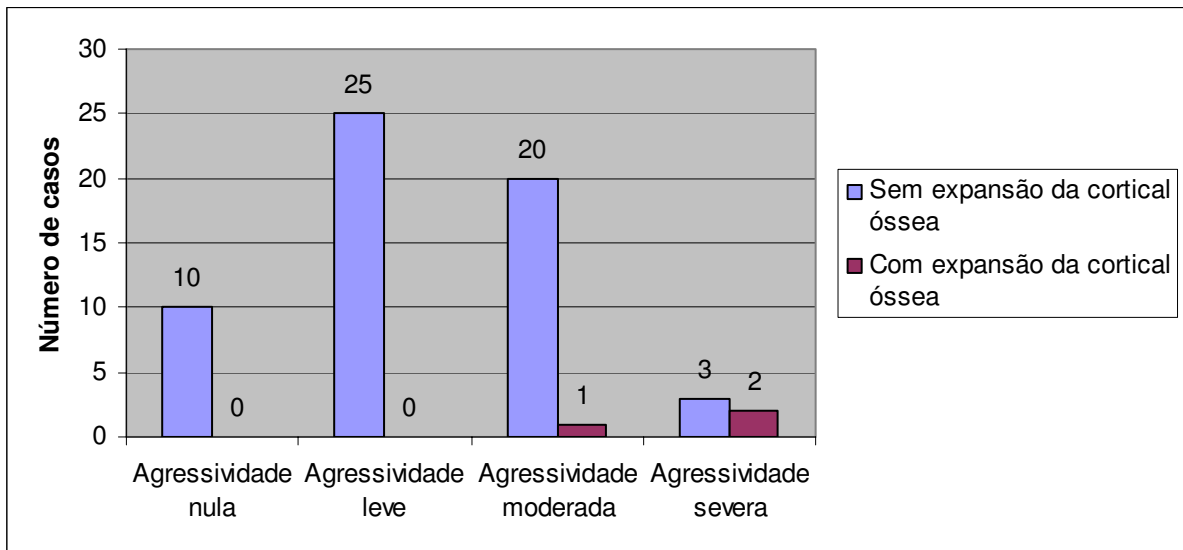


FIGURA 9 - LCGP: presença de expansão de corticais ósseas adjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 14,97$; $p = 0,0018$)

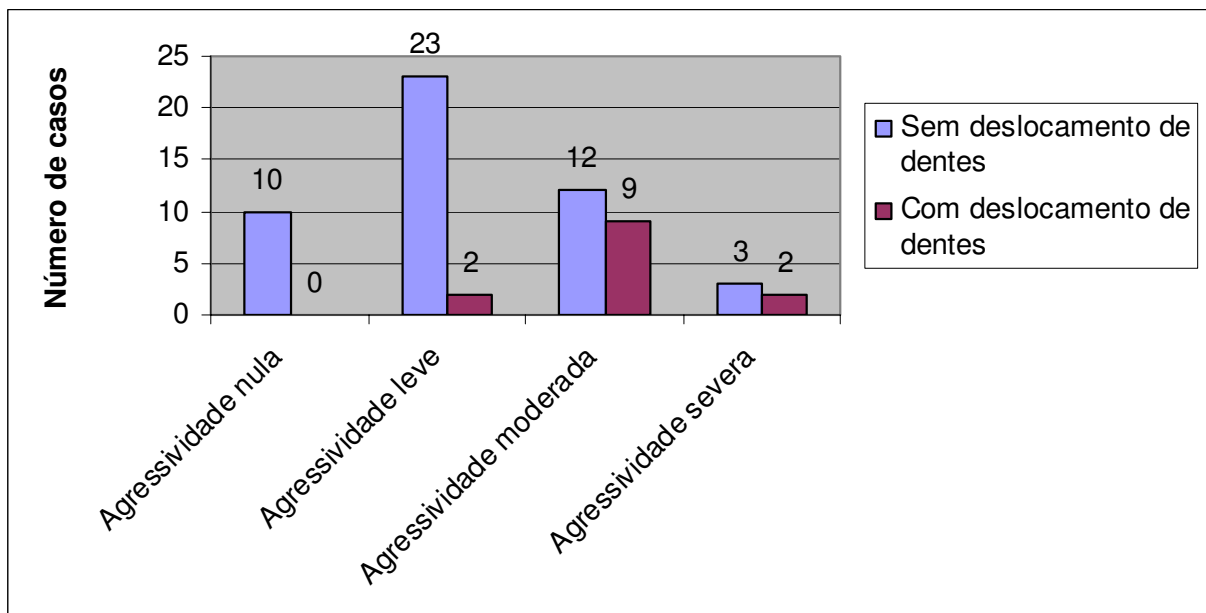


FIGURA 10 – LCGP: deslocamento de dentes adjacentes X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões ($\chi^2 = 12,20$; $p = 0,007$)

4.1.2 Graus de Agressividade Clínico-Radiográfica da LCGP

Com base nos achados clínicos e radiográficos das lesões estudadas (61 casos), notou-se que 10 casos (16,40%) apresentaram-se com agressividade clínico-radiográfica nula (grau 0), ao passo que a maioria dos casos (51 casos – 83,60%) mostrou-se com algum grau de agressividade (graus 1 a 6) (Fig. 11).

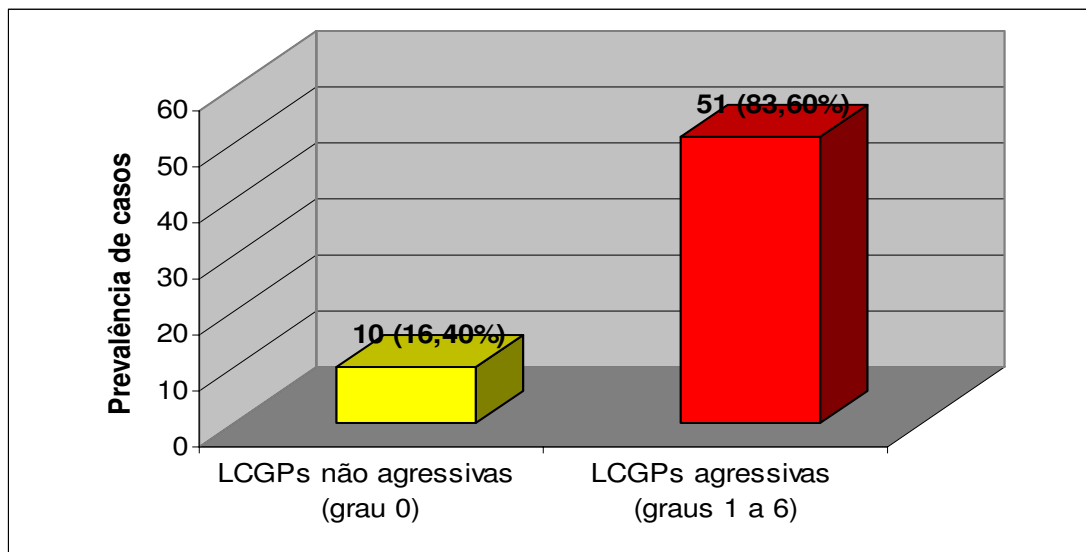


FIGURA 11 – LCGP: prevalência de casos X presença agressividade clínico-radiográfica das lesões

Constatou-se maior prevalência de LCGP com faixa de agressividade clínico-radiográfica leve/graus 1 e 2 (19 a 21%) a moderada/graus 3 e 4 (16 a 18%), sendo interessante ressaltar que nenhuma lesão se mostrou extremamente agressiva (graus 7 ou 8), conforme expresso na Figura 12.

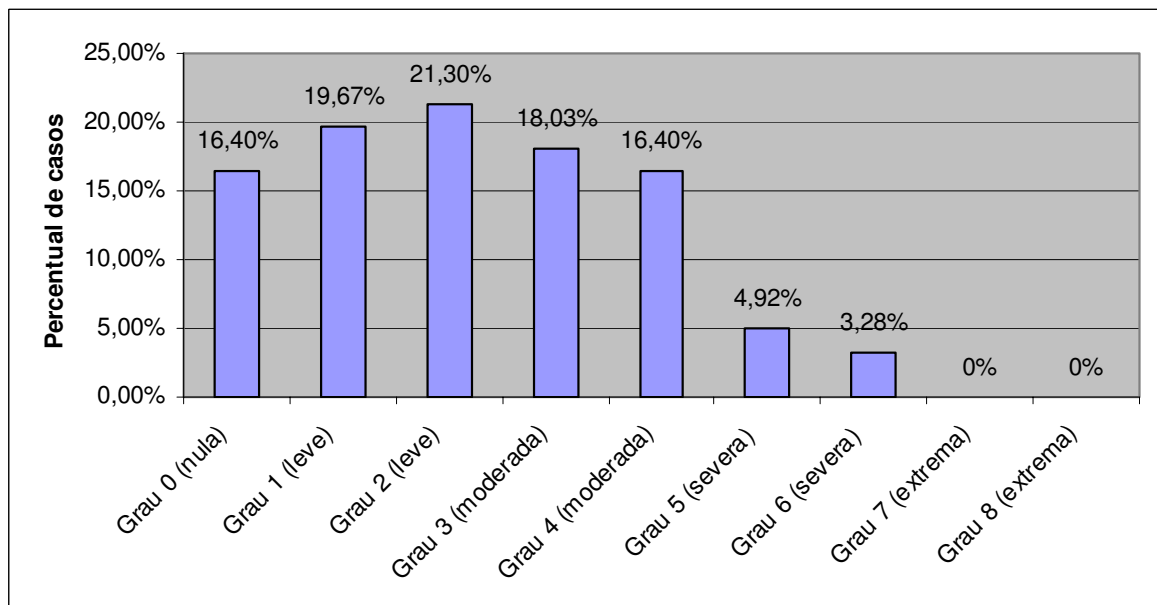


FIGURA 12 – LCGP: prevalência de casos X grau de agressividade clínico-radiográfica das lesões

Os “graus de agressividade clínico-radiográfica” das lesões obtidas, após serem colocados no formato de “faixas de agressividade clínico-radiográfica”, permitiram constatar

a prevalência de lesões (25 casos – 40,98%) na faixa de agressividade leve (graus 1 e 2), seguida de lesões na faixa de agressividade moderada (21 casos – 34,43% / graus 3 e 4) e de severa agressividade (05 casos – 8,20% / graus 5 e 6). Em 10 lesões (16,39%) não se constatou nenhuma agressividade (grau zero), conforme resultados expressos na Figura 13.

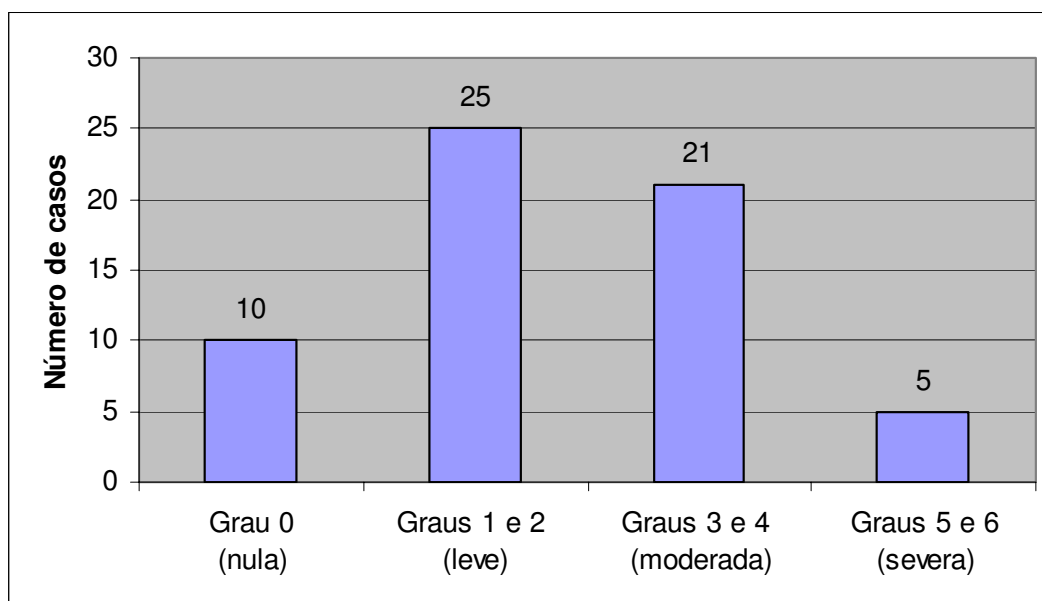


FIGURA 13 – LCGP: prevalência de casos X faixa de agressividade clínico-radiográfica das lesões

Um exemplo clínico de LCGP pertencente à faixa de agressividade clínico-radiográfica leve (grau 1) está apresentado no ANEXO F e nos ANEXOS D e E (caso 22).

Os dados clínicos e radiográficos dos 15 casos elegíveis para o estudo histoquímico-imunohistoquímico estão descritos individualmente nos Anexos D e E.

4.2 Estudo Histopatológico da LCGP / Confirmação Diagnóstica e Presença de Osso Imaturo

O estudo histopatológico (coloração H.E.) usado para a confirmação diagnóstica e verificação da presença ou não de tecido ósseo imaturo nos 61 casos elegíveis, revelou como resultado, aspecto histopatológico padrão, razão pela qual se segue única descrição.

O exame histopatológico revelou massa tecidual não encapsulada mostrando, de permeio ao tecido conjuntivo, várias células mesenquimais de núcleos ovóides e numerosos

focos de células gigantes multinucleadas. Existiam ainda inúmeros vasos sanguíneos de pequeno calibre, partículas de hemossiderina. Áreas de inflamação crônica podiam ser vistas no interior do tecido conjuntivo e áreas de inflamação aguda, na superfície da lesão, próximas às áreas de ulceração, quando presentes. Quase sempre, as lesões se encontravam revestidas por epitélio pavimentoso estratificado ceratinizado e, por vezes, ulcerado (Figs. 14 e 15).

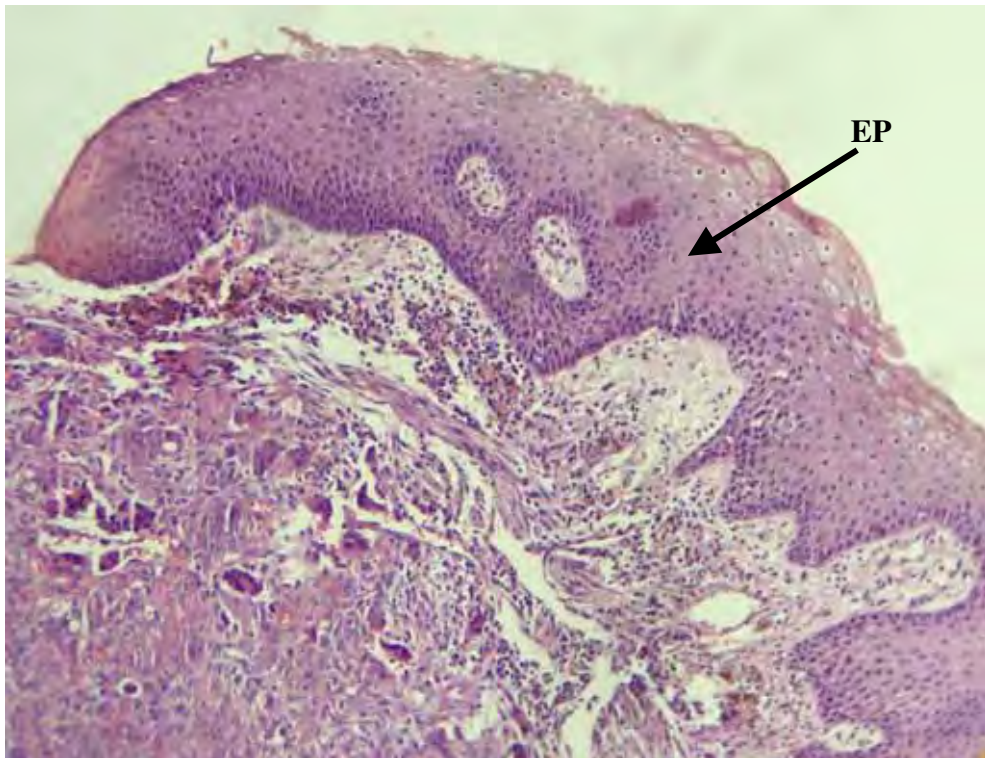


FIGURA 14 - Aspecto histopatológico de LCGP revestida por epitélio do tipo pavimentoso estratificado (seta - EP). H.E., 100X

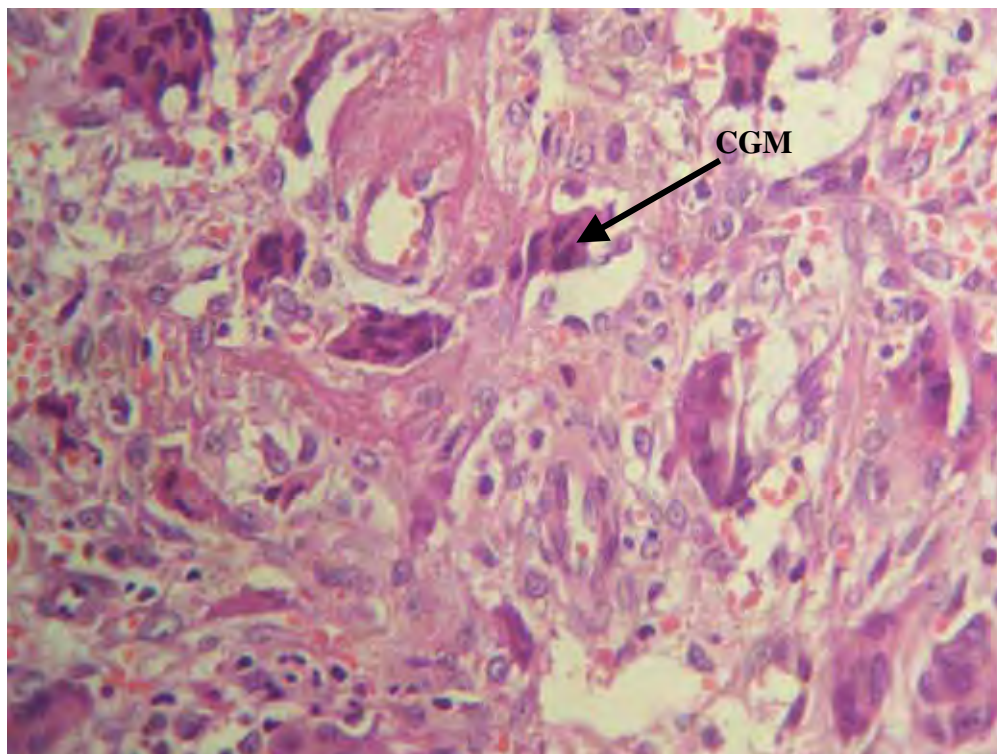


FIGURA 15 – Aspecto histopatológico da LGGP, evidenciando as células gigantes multinucleadas (seta - CGM) em meio a células mesenquimais de núcleos ovóides e hemácias. H.E., 400X

Em trinta casos (49,18%), foi possível a observação de tecido ósseo imaturo na composição histopatológica das LGGPs (Fig. 16). Observou-se uma relação estatisticamente significativa entre a presença de tecido ósseo imaturo na composição histopatológica das LGGPs e o fenômeno de recidiva das mesmas, sendo que as lesões recidivantes apresentaram quantidades significativamente maiores de osso imaturo quando comparadas às não recidivantes ($\chi^2 = 3,98$; $p = 0,045$) (Fig. 17). Por outro lado, ao se relacionar a presença de tecido ósseo imaturo nas lesões com a faixa de agressividade clínico-radiográfica das mesmas, não se obteve significância estatística ($\chi^2 = 5,58$; $p = 0,13$).

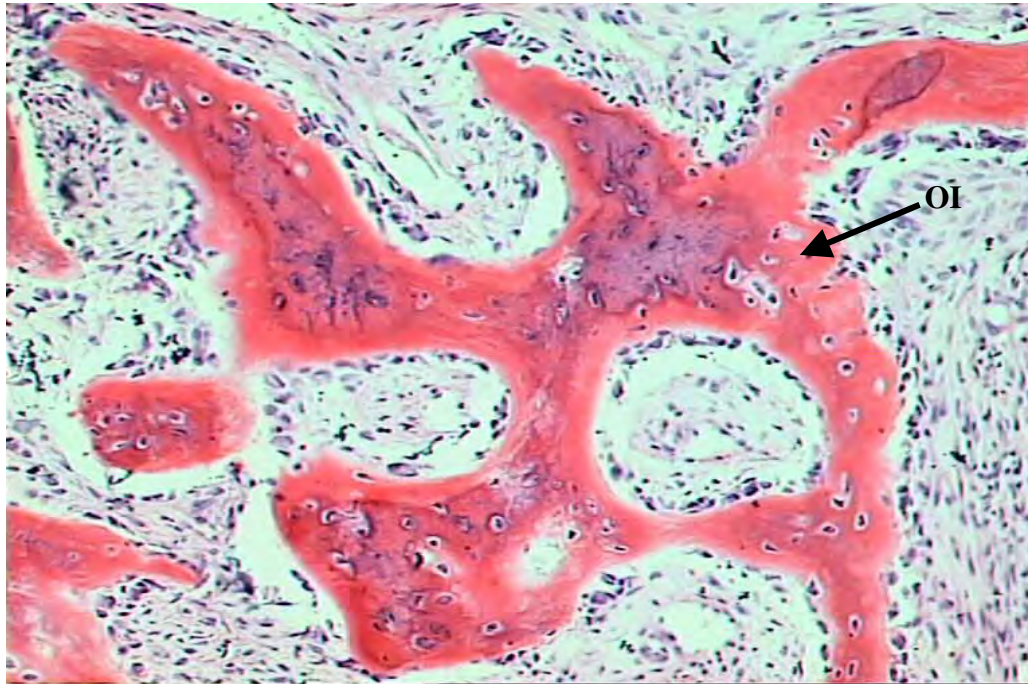


FIGURA 16 – Tecido ósseo imaturo associado à LCGP, caracterizado por trabéculas irregulares ricamente celularizadas (seta - OI). H.E., 400X

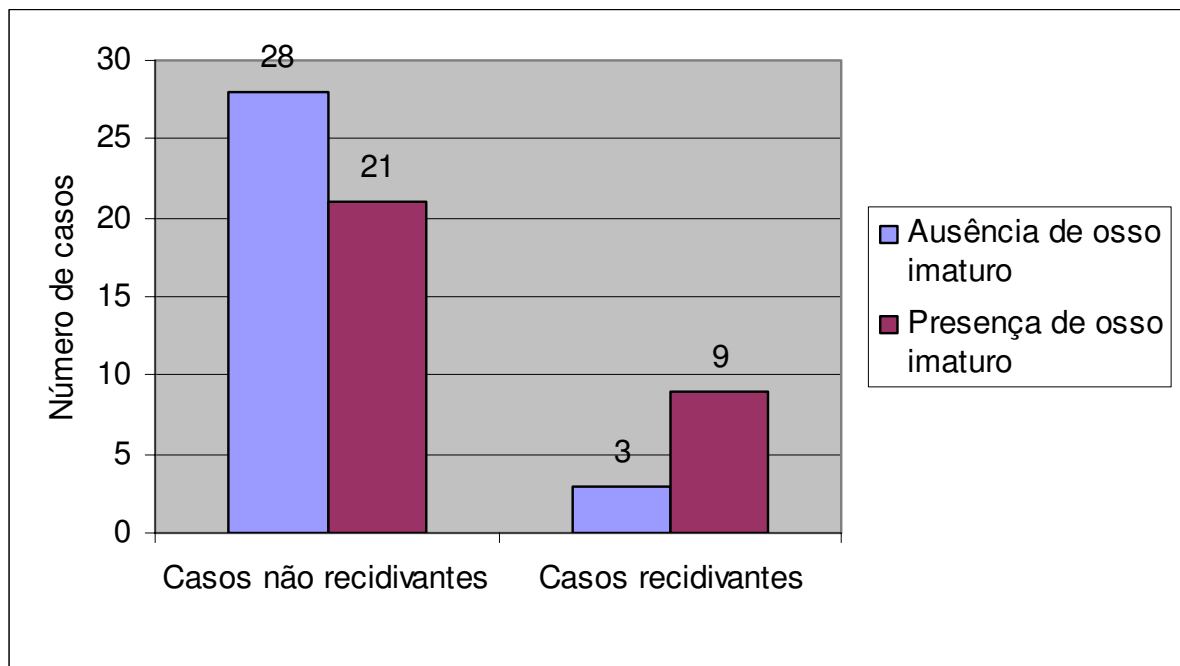


FIGURA 17 – LCGP: presença de osso imaturo X ocorrência de recidiva das lesões ($\chi^2 = 3,98$; $p = 0,045$)

4.3 Estudo Histoquímico – AgNOR

Em todos os cortes histopatológicos examinados, as AgNORs foram evidenciadas como pontos acastanhados escuros dentro do núcleo celular, exibindo principalmente forma

arredondada ou ovalada, e variações de número e diâmetro (Fig. 18). A contagem do número de núcleos, número de NORs e aferição da área de NORs por meio do programa computacional Leica QWin estão ilustradas nas Figuras 19 e 20.

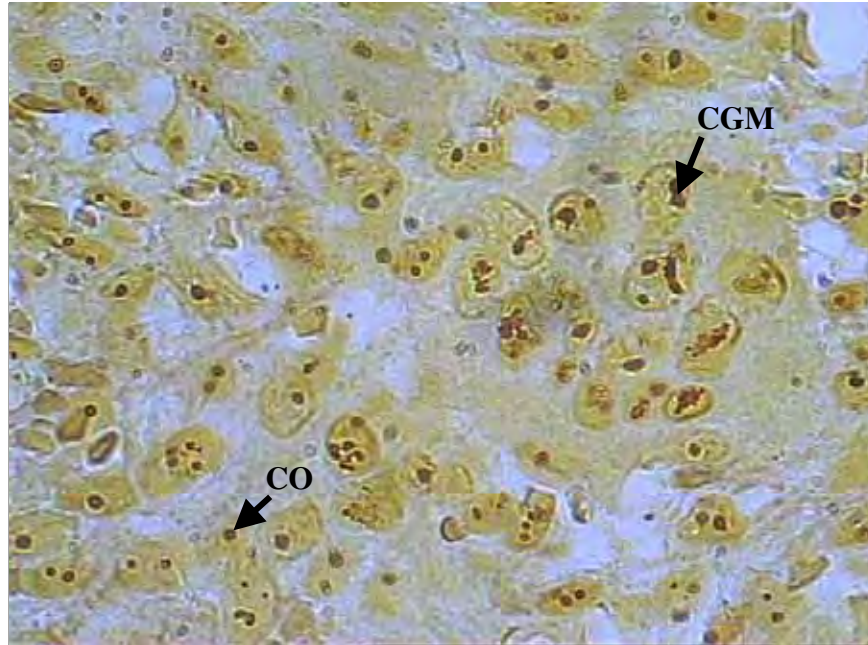


FIGURA 18 – Fotomicrografia evidenciando aspecto padrão de marcação das NORs pela prata: NORs de núcleos de células ovóides (esquerda - CO), e de uma célula gigante multinucleada (direita – CGM), 1000X

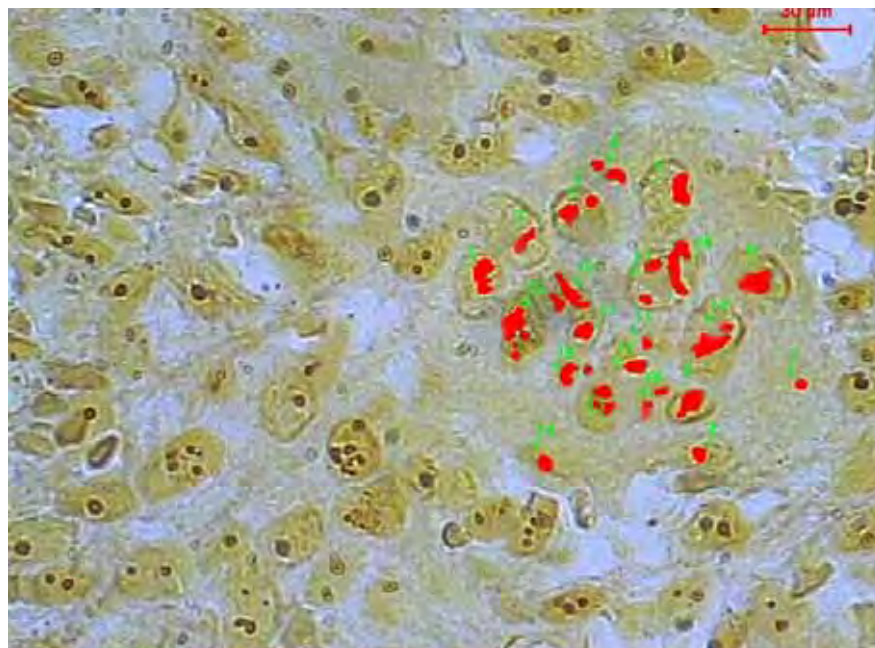


FIGURA 19 - Técnica da AgNOR - Fotomicrografia exibindo contagem dos núcleos (verde), contagem e aferição da área das NORs (vermelho) de uma célula gigante multinucleada com auxílio do programa computacional Leica QWin, 1000X

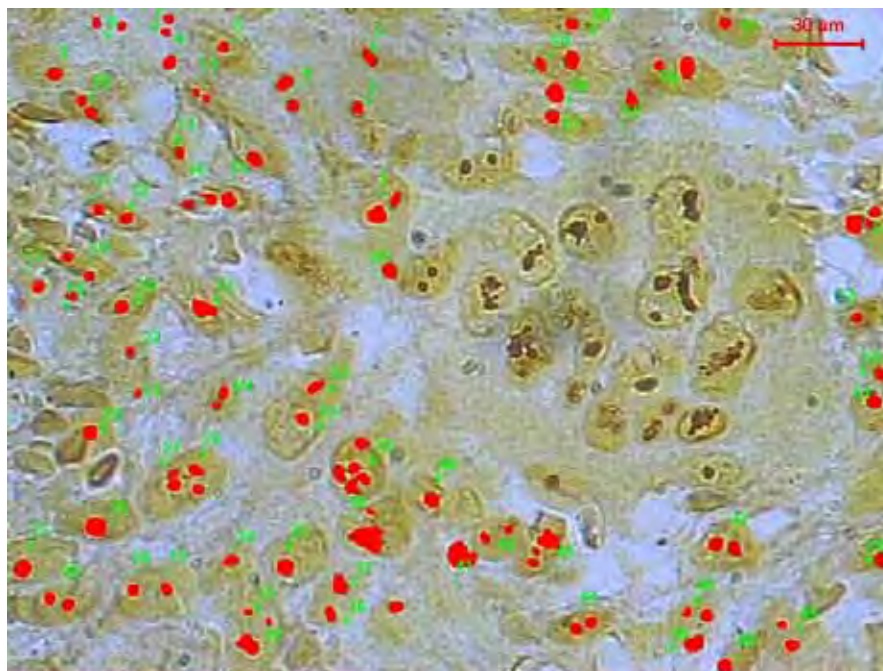


FIGURA 20 -Técnica da AgNOR - Fotomicrografia exibindo contagem dos núcleos (verde), contagem e aferição da área das NORs (vermelho) de núcleos de células ovóides, com auxílio do programa computacional Leica QWin, 1000X

Os valores da média e do desvio-padrão da contagem do número de AgNORs por núcleo celular e da medida da área das AgNORs para cada grupo de LCGPs estudado estão expressos no Quadro 5.

Quadro 5 - Valores da média e desvio-padrão do número de AgNORs por núcleo celular e área das AgNORs, separadamente nas células ovóides e nas células gigantes multinucleadas dos casos analisados

	Número de AgNORs por núcleo				Área das AgNORs (μm^2)			
	Células ovóides		Células gigantes		Células ovóides		Células gigantes	
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão
Grau 0 (n = 5)	1,36 ^a	0,12	1,26 ^a	0,05	12,29 ^a	1,81	24,84 ^a	4,84
Grau 3 (n = 5)	1,64 ^b	0,14	1,44 ^{ab}	0,06	12,68 ^a	2,18	29,16 ^a	3,78
Graus 5 e 6 (n = 5)	2,06 ^c	0,21	1,60 ^b	0,21	11,63 ^a	1,80	26,45 ^a	6,15
p valor - Teste Anova*	0,0001		0,0052		0,6979		0,4160	
Diferença mínima significativa – Teste de Tukey	0,2715		0,2157		3,2702		8,4706	

* Valores iguais ou menores do que 0,05 indicam que existe diferença estatisticamente significativa entre os três grupos estudados.

^{abc} Letras diferentes acompanhando os valores das médias indicam a existência de diferenças estatisticamente significativas.

4.4 Estudo Imunohistoquímico

A contagem dos núcleos imunorreativos e não imunorreativos foi realizada também por meio do programa computacional Leica QWin, conforme ilustrado nas Figuras 21 e 22.

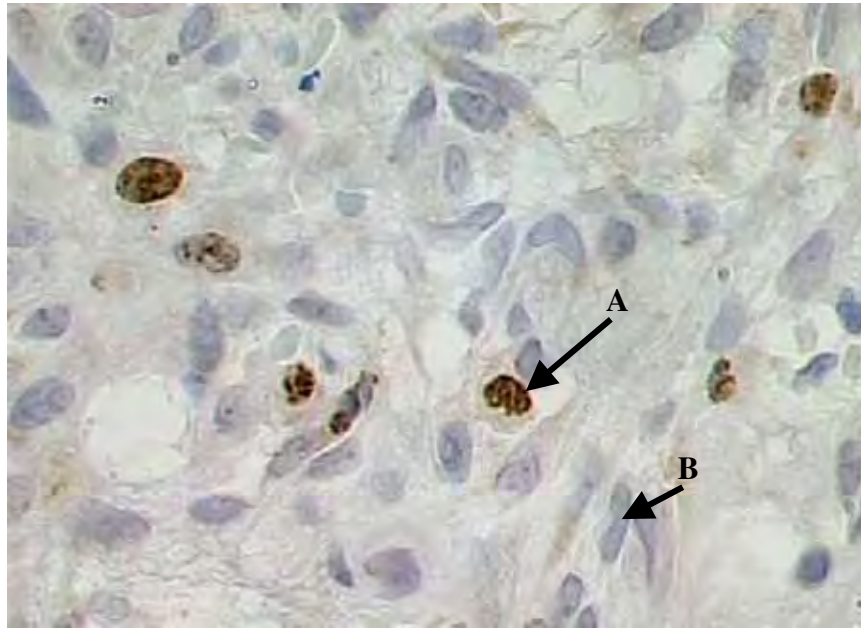


FIGURA 21 - Técnica da imunohistoquímica – Fotomicrografia evidenciando núcleos de células ovóides imunorreativos (castanhos - A) e não imunorreativos (azulados - B), Ki-67, 1000X

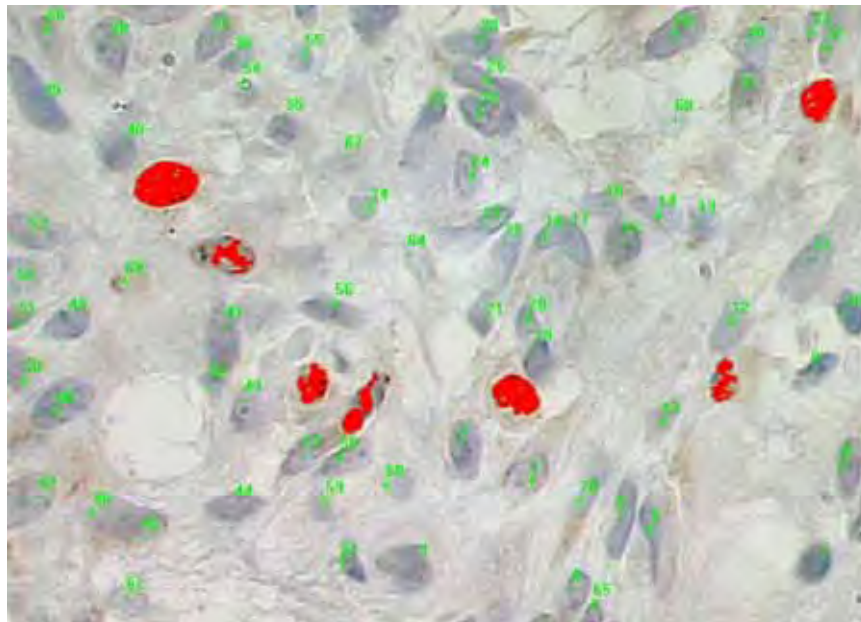


FIGURA 22 - Técnica da imunohistoquímica - Fotomicrografia evidenciando a contagem dos núcleos imunorreativos (em vermelho) e dos não imunorreativos (em verde) de células ovóides, com auxílio do programa computacional Leica QWin, Ki-67, 1000X

4.4.1 Estudo Imunohistoquímico – PCNA

De maneira geral, houve uma uniformidade de expressão do PCNA nas células ovóides das LCGPs. Estas células, quando positivas, mostravam núcleo de coloração acastanhada de intensidade variável. As células gigantes multinucleadas não se mostraram imunorreativas ao PCNA (Fig. 23).

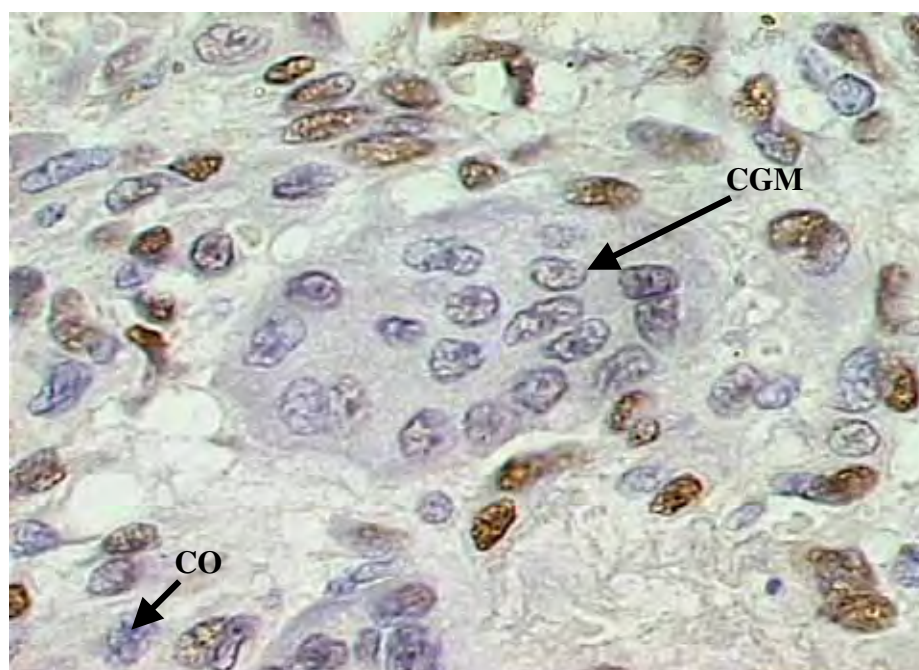


FIGURA 23 – Técnica da imunohistoquímica - Fotomicrografia evidenciando que a célula gigante multinucleada (CGM) e algumas células ovóides (CO) não são imunorreativas ao PCNA. Núcleos em castanho representam positividade na marcação. PCNA, 1000X

Comparando-se a imunoexpressividade do PCNA nas células ovóides dos três grupos analisados (agressividades clínico-radiográficas diferentes), não se observou diferença estatisticamente significativa entre os mesmos em um nível de significância de 5% - Teste Anova indicou $p = 0,0615$ e Teste de Tukey indicou diferença mínima significativa dos percentuais transformados em arco-seno igual a 0,0864 (Quadro 6).

Quadro 6 – Comparação entre as médias e desvios-padrão de células imunorreativas ao PCNA dos três grupos com diferentes agressividades clínico-radiográficas analisados

Grupo de agressividade clínico-radiográfica	Número de casos	Média da porcentagem (%) de células PCNA+	Desvio-padrão
Grau 0	5	49,45 ^a	6,51
Grau 3	5	50,75 ^a	3,99
Graus 5 e 6	5	57,44 ^a	4,40

^{abc} Letras diferentes acompanhando os valores das médias indicam a existência de diferenças estatisticamente significativas.

4.4.2 Estudo Imunohistoquímico – Ki-67

Notou-se uma imunoexpressão bem menor do que no PCNA, no entanto, de maneira geral, houve também uma uniformidade de expressão do Ki-67 nas células ovóides da lesão. Estas, quando positivas, mostravam núcleo de coloração acastanhada de intensidade variável (Fig. 24). As células gigantes multinucleadas não se mostraram reativas ao Ki-67.

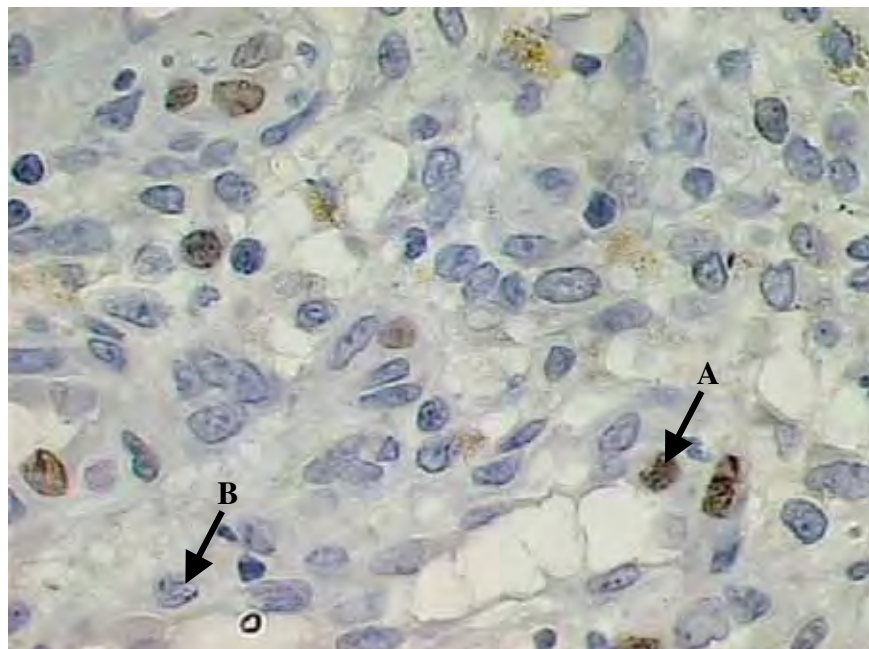


FIGURA 24 - Fotomicrografia evidenciando aspecto padrão de imunomarcção ao Ki-67: núcleos de células ovóides imunorreativos (castanhos - A) e não imunorreativos (azulados - B), 1000X

Comparando-se a imunoexpressividade do Ki-67 nas células ovóides dos três grupos analisados (agressividades clínico-radiográficas diferentes), observou-se diferença estatisticamente significativa do Grupo graus 5 e 6 (agressividade severa) em relação aos Grupos com grau 0 (agressividade nula) e grau 3 (agressividade moderada) em um nível de significância de 5% - Teste Anova indicou $p = 0,0048$ e Teste de Tukey indicou diferença mínima significativa dos percentuais transformados em arcoseno igual a 0,0724 (Quadro 7).

Quadro 7 – Comparação entre as médias e desvios-padrão de células imunorreativas ao Ki-67 dos três grupos com diferentes agressividades clínico-radiográficas analisados

Grupo de agressividade clínico-radiográfica	Número de casos	Média da porcentagem (%) de células Ki-67+	Desvio-padrão
Grau 0	5	4,95 ^a	2,08
Grau 3	5	5,66 ^a	1,72
Graus 5 e 6	5	10,30 ^b	2,46

^{abc} Letras diferentes acompanhando os valores das médias indicam a existência de diferenças estatisticamente significativas.

4.4.3 Estudo Imunohistoquímico – p53

Os 15 casos avaliados mostraram células ovóides e células gigantes multinucleadas não imunorreativas ao p53, não havendo distinção entre os três grupos estudados, com diferentes agressividades clínico-radiográficas (Fig. 25).

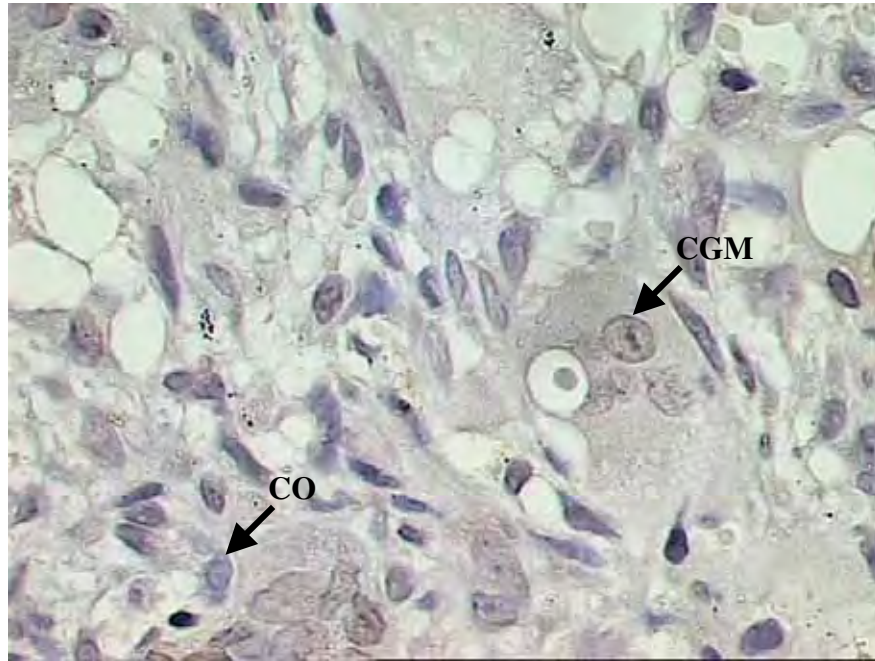


FIGURA 25 - Técnica da imunohistoquímica – Fotomicrografia de LCGP, evidenciando que tanto as células gigantes multinucleadas (CGM), quanto as células ovóides (CO), são não imunorreativas ao p53, 1000X

ANEXO F - Descrição e figuras de um caso clínico estudado neste trabalho

Paciente do sexo feminino, 31 anos de idade, leucoderma, procurou atendimento odontológico devido a lesão nodular ulcerada na porção vestibular do rebordo alveolar superior, na região desdentada correspondente aos dentes 22 e 23. A lesão possuía base pediculada, 2,5 cm no seu maior diâmetro, coloração rósea-avermelhada (Fig. 1), era assintomática, com evolução de 4 meses. A relação causa-efeito provável era o trauma da prótese parcial removível superior provisória (Fig. 2). Não se constataram sinais de anormalidade na superfície do osso subjacente à lesão (Fig. 3). Pelas características de benignidade da lesão, optou-se pela sua biópsia excisional com bisturi convencional associada à cauterização do leito cirúrgico (Figs. 4 a 6). O pós-operatório com 15 dias mostrou-se dentro da normalidade (Fig. 7). O diagnóstico de LCGP foi confirmado a partir de exame histopatológico (Fig. 8). Não foram notados episódios de recidiva num seguimento clínico de 06 meses. A partir do grau elaborado no presente trabalho para dosagem da agressividade clínico-radiográfica, classificou-se a lesão como pertencente ao grau 01 (faixa de agressividade clínico-radiográfica leve).

**FIGURA 1** – Aspecto clínico da lesão.



FIGURA 2 - Prótese parcial removível superior traumatizante, representando provável relação de causa-efeito.



FIGURA 3 - Radiografia periapical da região da lesão mostrando ausência de reabsorção óssea.

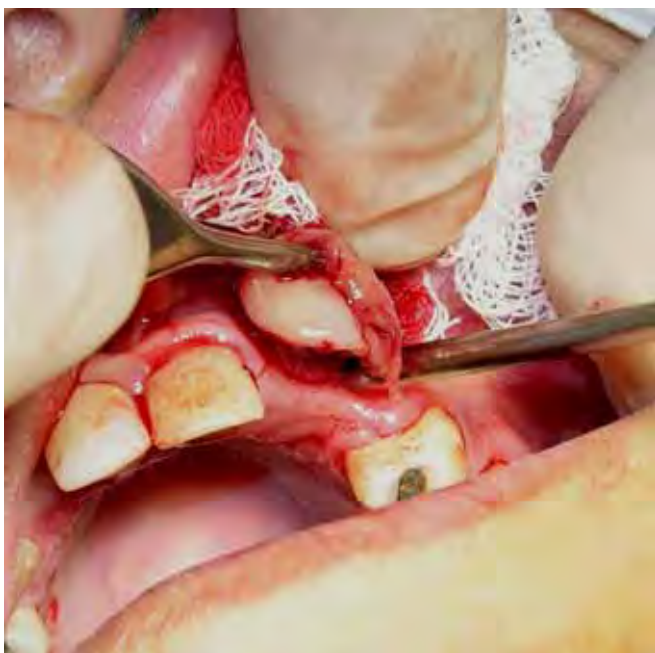


FIGURA 4 – Aspecto da biópsia excisional da lesão realizada com bisturi convencional.



FIGURA 5 - Cauterização do leito cirúrgico após excisão do crescimento tecidual.



FIGURA 6 – Aspecto clínico do leito cirúrgico após cauterização.



FIGURA 7 – Pós-operatório normal de 15 dias.

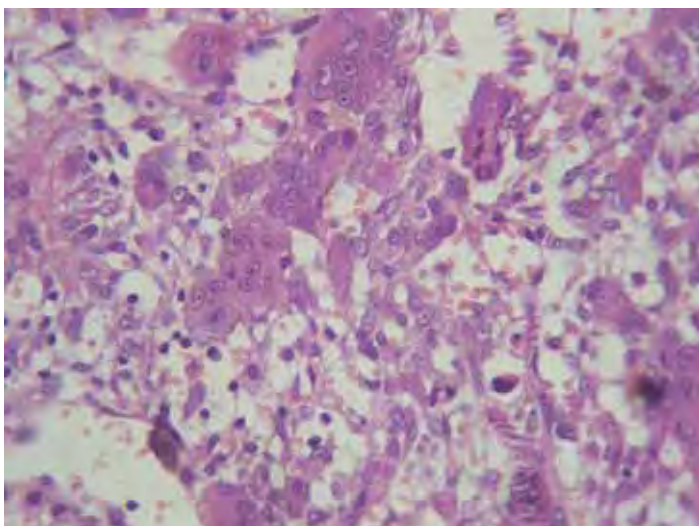


FIGURA 8 - Aspecto histopatológico da lesão, evidenciando células gigantes multinucleadas em meio a um estroma de tecido conjuntivo, H.E., 400X.

ANEXO G – Pareceres dos Comitês de Ética em Pesquisa

unesp  UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA –CEP-

Fl.: 111
PROC. 2005-01089
RUIZ *BR*

OF. 101/2005
CEP
SFCD/bri

Araçatuba, aos 30 de junho de 2005

Referência Processo FOA 2005-01089

O Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa desta Unidade, tendo em vista o parecer favorável do relator que analisou o projeto "Lesão de células gigantes periférica da cavidade bucal: estudo clínico-radiográfico retrospectivo e avaliação da agressividade pela histoquímica do Agnor e imunoistoquímica" expede o seguinte parecer:

Aprovado:

Informamos a Vossa Senhoria que de acordo com as normas contidas na resolução CNS 215, deverá ser enviado relatório parcial em 23/06/2006 e o relatório final até 23/12/2006.


Prof. Dr. Stefan Fiúza de Carvalho Dekon
Coordenador do CEP

Ilmo. Senhor
Dr. João Paulo de Carli
Campus de Araçatuba-SP-

Ciente. De acordo.
26/07/2005
João Paulo de Carli
Dr. João Paulo de Carli

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária -
Rua José Bonifácio, 1193 CEP 16015-050 Araçatuba - SP
Tel (18) 620-3203 E-mail: diretor@fod.unesp.br



UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

DIVISÃO DE PESQUISA – VRPPG

Comitê de Ética em Pesquisa

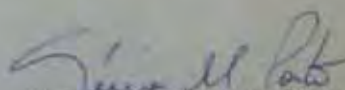
CAMPUS I - Km 171 - BR 285, Bairro São José, Caixa Postal 611
CEP 99001-970 Passo Fundo/RS - Fone (54) 316-8370 / Fax (54) 316-8372

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA

O Comitê de Ética em Pesquisa - UPF em reunião no dia 25/05/05, apreciou o projeto de pesquisa "Lesão de células gigantes periférica da cavidade bucal: estudo clínico-radiográfico retrospectivo e avaliação da agressividade pela histoquímica do AgNOR e imunoistoquímica", registro no CEP 621/2005 do pesquisador João Paulo de Carli. Após análise o projeto foi considerado relevante e claro em seus aspectos teóricos e metodológicos. Em relação aos aspectos éticos o Comitê houve por bem **APROVAR** o protocolo e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido apresentados por estarem de acordo com a resolução CNS 196/96 e suas complementares.

O pesquisador deverá apresentar relatório final ao CEP até 15/03/06.

Passo Fundo, 25 de maio de 2005.


Prof. Sérgio Machado Porto
Coordenador Comitê de Ética em Pesquisa
VRPPG - UPF