



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

JAQUELINE LEMES RIBEIRO

**GRANULOMAS PIOGÊNICOS ORAIS: prevalência, classificação e
estudo imuno-histoquímico**

2019

JAQUELINE LEMES RIBEIRO

**GRANULOMAS PIOGÊNICOS ORAIS: prevalência, classificação e estudo
imuno-histoquímico**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Área: Patologia. Linha de pesquisa: Diagnóstico em Patologia

Orientadora: Profa. Assoc. Ana Lia Anbinder

Coorientadora: Dra. Noala Vicensoto Moreira Milhan

São José dos Campos

2019

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2019]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Ribeiro, Jaqueline Lemes

Granulomas piogênicos orais: prevalência, classificação e estudo imuno-histoquímico / Jaqueline Lemes Ribeiro. - São José dos Campos : [s.n.], 2019. 54 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Biopatologia Bucal) - Pós-graduação em Biopatologia Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2019.

Orientador: Ana Lia Anbinder

Coorientador: Noala Vicensoto Moreira Milhan

1. Hemangioma lobular capilar. 2. Actina de músculo liso. 3. CD34. 4. Mast cell. I. Anbinder, Ana Lia, orient. II. Milhan, Noala Vicensoto Moreira, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Assoc. Ana Lia Anbinder (Orientadora)

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Dr. Fábio Luiz Coracin

Universidade Nove de Julho

Campus de São Paulo

Prof^a. Dr^a. Monica Ghislaine Oliveira Alves

Universidade de Mogi das Cruzes

Campus de Mogi das Cruzes

São José dos Campos, 10 de maio de 2019.

DEDICATÓRIA

A Deus, essencial na minha vida.
À minha família, pelo apoio, amor e incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre comigo, ser meu escudo, me sustentar, me guiar em cada passo, me fortalecer, encorajar, por inúmeras vezes me acalmar e mostrar que Ele cuida de tudo.

À minha família, minha base, sem a qual eu não chegaria até aqui. Aos meus pais, Wander e Sandra, por tudo o que fizeram e fazem; difícil colocar em palavras tamanha gratidão. Obrigada por acreditarem em mim, pelo incentivo, compreensão (principalmente nos momentos de estresse) e ajuda. Aos meus irmãos, Ferdinando, Sabrina, Vitória e Elisandra, pelo companheirismo e incentivo de sempre.

Ao meu companheiro, Arthur Nevins, por todo o suporte, paciência, por ser extremamente compreensivo com minhas ausências e ansiedade, e estar sempre disposto a me ajudar, seja no que for.

À minha orientadora, Profa. Assoc. Ana Lia Anbinder, que tenho como maior exemplo de professora, orientadora e pesquisadora. Obrigada por aceitar me orientar, desde o TCC; por estar sempre à disposição quando preciso, por todo o aprendizado, apoio, paciência, incentivo, conselhos e confiança durante esse tempo.

À minha coorientadora, Dra. Noala Vicensoto Moreira Milhan, a qual também tenho como grande exemplo de pesquisadora e orientadora, por toda a ajuda (que não foi pouca), correções, companheirismo e amizade.

Aos professores da banca, pelo aceite do convite, pelo tempo dedicado a este momento e pelas contribuições científicas valiosas.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, que tem sido uma segunda casa desde 2010, nas pessoas do diretor do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Prof. Tit. Estevão Tomomitsu Kimpara e da vice-diretora, Profa. Assoc. Rebeca Di Nicoló. Ao Programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora Profa. Assoc. Luciane Dias de Oliveira, obrigada pela oportunidade e suporte.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado no período de janeiro/2017 a dezembro/2018.

Aos técnicos do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal, por estarem sempre dispostos a ajudar, em especial à Dra. Ana Lourdes Machado e

Maria Salete Faria, por colaborarem no preparo das lâminas deste trabalho, e por todo o auxílio. Aos docentes da pós-graduação e funcionários da Universidade, que colaboraram cada um à sua maneira.

Às alunas de iniciação científica, Giovanna Lotto e Luma Collino, que por vezes dedicavam seus fins-de-semana me auxiliando no laboratório. Muito obrigada!

Aos amigos da pós-graduação, Anderson, Bruna Fernandes, Carlos, Cheyenne, Elis, Fernanda, Hanna, Keila, Lígia, Nayara, Noala, Pedro, Renata, Thaís e Victor, pelo companheirismo, pelos inúmeros cafés e momentos de descontração, que com certeza tornaram esta jornada mais leve. Em especial à Noala, Bruna, Renata e Anderson, que me ajudaram muito no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos da vida, Adeísa, Bruna Caroline, Daniel, Diogo, Letícia, Natália, Rafael Oliveira e Rafael Gonzales, pelas várias conversas animadoras, por compreenderem e perdoarem minhas faltas, me apoiarem e incentivarem.

A tantas outras pessoas, que auxiliaram direta ou indiretamente na confecção deste trabalho.

*"Mas, buscai primeiro o reino de Deus, e a sua justiça, e todas estas coisas vos
serão acrescentadas"*

Mateus 6:33

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO	14
2.1 Objetivos específicos.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 Amostra e seleção dos casos	15
3.2 Análise imuno-histoquímica.....	22
3.2.1 Análise histométrica	24
3.3 Análise estatística	25
4 RESULTADOS	26
4.1 Epidemiologia e dados clínicos	26
4.2 Características histológicas (HE).....	30
4.3 Características imuno-histoquímicas	34
5 DISCUSSÃO	41
6 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS	47
ANEXO	52

Ribeiro JL. Granulomas piogênicos orais: prevalência, classificação e estudo imuno-histoquímico [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2019.

RESUMO

Granuloma piogênico (GP) é uma lesão de origem inflamatória que ocorre frequentemente em pele e cavidade oral. Existem dois subtipos histológicos: o tipo não lobular (GPNL), que é caracterizado por proliferação vascular semelhante a tecido de granulação, sem padrão de organização; e o tipo lobular (GPL) que se caracteriza pela organização dos vasos em agregados lobulares, separados por feixes de tecido conjuntivo. O objetivo deste estudo foi revisar todos os casos de granulomas piogênicos do nosso serviço de patologia bucal, a partir do ano 2000, reclassificar e correlacionar as características clínicas, microscópicas e imuno-histoquímicas com os subtipos da lesão. No levantamento foram encontrados no arquivo 197 casos diagnosticados como granuloma piogênico e hemangioma lobular capilar. Após revisão das lâminas, 9 casos foram reclassificados, e 19 foram excluídos, restando 169 casos, sendo 62 de GPL e 107 de GPNL. Foram coletados ainda dados como sexo, idade, local da lesão, tipo de nódulo, ocorrência de trauma prévio e hipótese diagnóstica clínica. Reações imuno-histoquímicas (GLUT-1, CD34, D2-40, AML e Mast cell) de 22 casos, sendo 11 lobulados e 11 não lobulados. A média de idade de acometimento foi de $38,59 \pm 16,96$ anos, com 55,62% dos casos ocorrendo em pacientes do sexo feminino (10,12% durante gravidez), com maior acometimento em gengiva (39,64%), 44,97% dos nódulos eram do tipo pediculado e 13,02% relataram trauma mecânico prévio. O GPNL ocorre mais em gengiva, enquanto GPL acomete mais lábio ($p < 0,05$). O número de microvasos (marcados por CD34), área positiva para AML e ocorrência de atrofia do epitélio são mais prevalentes em GPL ($p < 0,05$), enquanto o número de mastócitos não teve diferença estatística entre os tipos histológicos. A marcação para GLUT-1 foi negativa em todos os casos. Em conclusão, o GP corresponde a 2,25% das lesões do nosso serviço de patologia, e a maioria é do tipo não lobular. Ocorre mais em indivíduos do sexo feminino, tem predileção por sítios gengivais, e 44% dos nódulos são do tipo pediculado. O GPL ocorre em indivíduos mais jovens do que o GPNL, e em lábios; na maioria das vezes possui epitélio atrófico, não sofre processo de maturação e possui maior vascularização.

Palavras-chave: Hemangioma lobular capilar. Actina de músculo liso. CD34. Mast cell.

Ribeiro JL. Oral pyogenic granulomas: prevalence, classification and immunohistochemical study [dissertation]. São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2019.

ABSTRACT

Pyogenic granuloma (GP) is an inflammatory lesion that occurs frequently in the skin and oral cavity. There are two histological subtypes: the non-lobular type (NLCH), which is characterized by vascular proliferation similar to granulation tissue, without organization pattern; and lobular capillary hemangioma (LCH) characterized by the organization of vessels in lobular aggregates, separated by bundles of connective tissue. The purpose of this study was to review all cases of pyogenic granulomas of our oral pathology service, from the year 2000, to classify and correlate the clinical, microscopic and immunohistochemical characteristics with the subtypes of the lesion. In the survey, 197 cases diagnosed as pyogenic granuloma and lobular capillary hemangioma were found in our files. After review, 9 cases were reclassified, and 19 were excluded, remaining 169 cases, being 62 LCH and 107 NLCH. Data such as sex, age, site of lesion, type of nodule, previous trauma and clinical diagnostic hypothesis were also collected. Immunohistochemical reactions (GLUT-1, CD34, D2-40, SMA and Mast cell) of 24 cases, 11 LCH and 11 NLCH. Mean age was 38.59 ± 16.96 years, with 55.62% of cases occurring in female patients (10.12% during pregnancy), with a greater involvement in gingiva (39.64%), 44.97% of the nodules were pedunculated and 13.02% reported previous mechanical trauma. The NLCH occurs more in gingiva, while LCH affects more lips ($p < 0,05$). The number of microvessels (CD34 positive), SMA positive staining area and occurrence of epithelial atrophy are more prevalent in LCH ($p < 0,05$), while the number of mast cells had no statistical difference between histological types. In conclusion, PG corresponds to 2.25% of the lesions of our pathology service and most are NLCH. It occurs more in females, has predilection for gingival sites, and 44% of nodules are pedunculated. LCH occurs in younger individuals than the NLCH, and in the lips; most of the time it has atrophic epithelium, it does not undergo maturation process, and has greater vascularization.

Keywords: Lobular hemangioma capillary. Smooth muscle actin. CD34. Mast cell.

1 INTRODUÇÃO

Granuloma piogênico (GP) é uma lesão inflamatória, de natureza não neoplásica, muito comum em pele, porém rara em trato gastrointestinal, exceto na cavidade oral onde é frequentemente encontrada (Jafarzadeh et al., 2006). Em pele, os locais de maior acometimento são palma das mãos e pés (Alessandrini et al., 2016). Foi primeiramente descrita na literatura inglesa por Hullihen, em 1844 (Hullihen, 1844), mas o termo “granuloma piogênico” foi introduzido mais tarde, em 1904, por Hartzell (Hartzell, 1904). Atualmente, considera-se este termo errôneo, pois não reflete a verdadeira natureza do GP, uma vez que histologicamente este não representa um granuloma verdadeiro e não é causado por micro-organismos piogênicos (Kamal et al., 2012).

Tem sido etiológicamente associado a traumas crônicos de baixa intensidade, higiene oral deficiente e fatores hormonais (Kamal et al., 2012). Entretanto, a etiologia desta lesão ainda não é totalmente compreendida. Aproximadamente um terço das lesões surge após ocorrência de trauma (Jafarzadeh et al., 2006). Sugere-se que o trauma possa estimular a liberação de fatores angiogênicos pelas células da área afetada (Kamal et al., 2012).

Essa lesão pode ocorrer em uma ampla faixa etária e em ambos os sexos, porém é mais prevalente em mulheres, por volta dos 30 anos, com a maioria dos casos ocorrendo em gengiva (Saravana et al., 2009; Krishnapillai et al., 2012). Estima-se que 5% dos casos de GP ocorrem em situação de gravidez, sendo o termo “granuloma gravídico” utilizado frequentemente. Acredita-se que isto se deva ao desequilíbrio hormonal que ocorre no organismo durante a gravidez. Porém, deve haver presença de biofilme bacteriano e inflamação gengival para o desenvolvimento da lesão (Jafarzadeh et al., 2006).

Clinicamente, caracteriza-se por um aumento de volume exófito que pode apresentar-se com aparência variável, sendo sésil ou pediculado, de superfície lisa ou lobulada, coloração semelhante à mucosa ou avermelhada, e ainda com superfície íntegra ou ulcerada. O tamanho é variável, geralmente apresentando crescimento lento e assintomático (Jafarzadeh et al., 2006). Apesar de geralmente se apresentar como uma única lesão isolada existe uma rara condição em que

ocorrem múltiplos GP (Dastgheib et al., 2016; Alharbi et al., 2019). Em alguns casos, a condição ocorreu após queimaduras por líquido, e outros por motivos não conhecidos (Dastgheib et al., 2016).

Diagnósticos diferenciais clínicos de GP podem incluir lesões benignas como fibroma ossificante periférico, hemangioma, hiperplasia gengival inflamatória e lesão periférica de células gigantes, assim como lesões malignas, como sarcoma de Kaposi e linfoma não Hodgkin (Jafarzadeh et al., 2006). A Sociedade Internacional para o Estudo de Anomalias Vasculares (International Society for the Study of Vascular Anomalies, 2018), na sua classificação de 2018, classifica o GP como uma lesão vascular benigna, e que também pode ser denominada de hemangioma capilar lobular. É importante salientar que o hemangioma capilar lobular, nesta classificação, é diferente do hemangioma da infância, convencional, embora essas lesões possam apresentar semelhanças histológicas. O uso do termo “hemangioma” neste caso é controverso, pois vem sendo utilizado para nomear diferentes lesões vasculares, com diferentes comportamentos, evolução e tratamentos (Wassef et al., 2018). Clinicamente o hemangioma da infância apresenta-se como uma mácula ou aumento de volume avermelhado, que se desenvolve nos estágios finais da gestação ou início da infância, apresentando uma fase de crescimento rápido, seguida, geralmente, de regressão espontânea (Johann et al., 2007).

A denominação hemangioma capilar lobular baseia-se no padrão histopatológico de arranjos em lóbulos dos vasos sanguíneos em algumas lesões de GP (Rezvani et al., 2010; Isaza-Guzman et al., 2012). Deste modo, a literatura vem dividindo o GP em duas variantes histopatológicas: o GP tipo hemangioma capilar lobular (GPL) e o GP tipo não-hemangioma capilar lobular (GPNL). O hemangioma capilar lobular tem proliferação de vasos sanguíneos arranjadas em agregados lobulares, separados por feixes de tecido conjuntivo fibroso (Isaza-Guzman et al., 2012). O padrão não-lobular tem uma proliferação altamente vascularizada que lembra tecido de granulação (Dahiya e Kathuria, 2014). Em ambos os tipos, variados graus de inflamação podem ser observados. Quando inflamado, o hemangioma da infância pode apresentar semelhanças histológicas com o GP, e por isso outros autores acreditam que o hemangioma capilar lobular seja um tipo verdadeiro de hemangioma, diferentemente da variante não-lobular (Epivatianos et al., 2005; Rezvani et al., 2010).

Epivatianos et al. (2005) sugerem que os dois tipos de GP sejam lesões distintas. Apesar de existirem vários trabalhos sobre as características clínicas, histopatológicas e imuno-histoquímicas dos GP (Gomes et al., 2013; Parajuli et al., 2018; Vassilopoulos et al., 2018), os dois tipos de GP foram raramente comparados na literatura (Epivatianos et al., 2005; Rezvani et al., 2010; Isaza-Guzmán et al., 2012).

GP é uma lesão associada à proliferação de vasos sanguíneos. A angiogênese é descrita como a formação de novos vasos sanguíneos que é controlada por uma série de estímulos e inibidores que cooperam para estabelecer a homeostase (Saghafi et al., 2011), e ocorre durante a embriogênese, sendo que cessa ao nascimento devido a super-expressão dos fatores inibidores deste processo sobre os fatores estimuladores. Em pessoas adultas, áreas de endotélio ativo são observadas apenas em regiões que requerem novos vasos por razões específicas, como reparo, enquanto as demais regiões mantêm-se quiescentes por constante inibição mitótica/angiogênica (Chiller et al., 2003).

Têm-se hipotetizado que a atividade angiogênica observada no GPNL é devida ao desequilíbrio entre estimuladores e inibidores da angiogênese, e que os novos capilares se originam mais provavelmente de vênulas ao invés de artérias (Yuan et al., 2000). No caso do GPL, o arranjo dos vasos sanguíneos, juntamente com pouca ou ausência de inflamação em lesões não ulceradas, ou nos lóbulos mais profundos, e a falta de fatores etiológicos na maioria dos casos suportam o desenvolvimento espontâneo (Mills et al., 1980; Fechner et al., 1981; Patrice et al., 1991). Assim é possível que a variante lobulada represente um neoplasma verdadeiro que é desenvolvido sob fatores etiológicos desconhecidos, como outros neoplasmas benignos da cavidade oral. Alguns estudos vêm associando mutações genéticas ao GP (Ye et al., 2011; Lim et al., 2015; Groesser et al., 2016; Li et al., 2018). No estudo de Groesser et al. (2016) os pesquisadores encontraram mutações no gene *RAS* e *BRAF*, sugerindo que alguns GP possam ser neoplasias vasculares e não lesões reativas. Estudos imuno-histoquímicos também têm suportado o papel de fatores angiogênicos na patogênese do GP (Yuan et al., 2000; Vasconcelos et al., 2011; Vassilopoulos et al., 2011). Vários marcadores associados à angiogênese vem sendo utilizados para tentar elucidar a patogênese da lesão, como CD-34, CD-31, CD-105 (Vasconcelos et al., 2011) e VEGF (Freitas et al., 2015), assim como

outros marcadores como actina de músculo liso (AML) (Epivatianos et al., 2005), Ki-67 (Rezvani et al., 2010), CD-54 (Seyedmajidi et al., 2015), e mast cell (Ferreira et al., 2016). Além disso, os casos de GPNL foram mais frequentemente associados à fatores etiológicos óbvios do que os casos de GPL (Epivatianos et al., 2005). Deste modo, os autores acreditam que os casos de GPNL representariam uma lesão hiperplásica reativa a fatores etiológicos locais conhecidos.

O tratamento indicado para o GP é a total excisão da lesão, e remoção do estímulo possivelmente associado. A recorrência pode ocorrer (em média em 16% dos casos), seja por remoção prévia incompleta da lesão ou falha na remoção dos fatores etiológicos (Jafarzadeh et al., 2006). Alguns tratamentos alternativos à cirurgia convencional e menos invasivos têm sido explorados, como utilização de laser de diodo 940nm para retirada da lesão (Al Mohaya et al., 2016), uso de propranolol via oral (Alharbi et al., 2019) ou de uso tópico (Neri et al., 2018; Mashiah et al., 2019), e utilização de ligadura na base da lesão juntamente com aplicação tópica de timolol (Baek et al., 2018). Estes estudos utilizando fármacos obtiveram bons resultados, havendo regressão da lesão na maioria dos casos, não sendo necessária intervenção cirúrgica. O tratamento periodontal, com raspagem, aplainamento radicular, e manutenção da higiene oral, em alguns casos leva à regressão total da lesão (Frumkin et al., 2015)

Frente às divergências quanto à classificação e origem dos granulomas piogênicos, propusemos reavaliar os casos de GP do arquivo de Patologia do ICT-UNESP, para reclassificar os tipos histológicos de GP baseados nas características histopatológicas e imuno-histoquímicas, buscando também contribuir para o estudo da patogênese e desenvolvimento destas lesões. Por fim, correlacionamos os achados histopatológicos e imuno-histoquímicos com os dados epidemiológicos de maneira a melhor entender e descrever clinicamente os dois subtipos de GP.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 Objetivo geral

Analisar e comparar as características epidemiológicas, histológicas e imuno-histoquímicas de granulomas piogênicos orais.

2.2 Objetivos específicos

- a) classificar morfollogicamente os granulomas piogênicos orais diagnosticados a partir de 2000 em nosso laboratório;
- b) avaliar a prevalência em relação a sexo, idade, localização anatômica e hipótese diagnóstica clínica;
- c) correlacionar o diagnóstico com o padrão de marcação imuno-histoquímica para AML, CD34, GLUT-1, D2-40 e Mast cell.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho experimental seguiu os princípios éticos de pesquisa em seres humanos, tendo sido submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP, sob protocolo CAAE: 43557715.3.0000.0077 (ANEXO A).

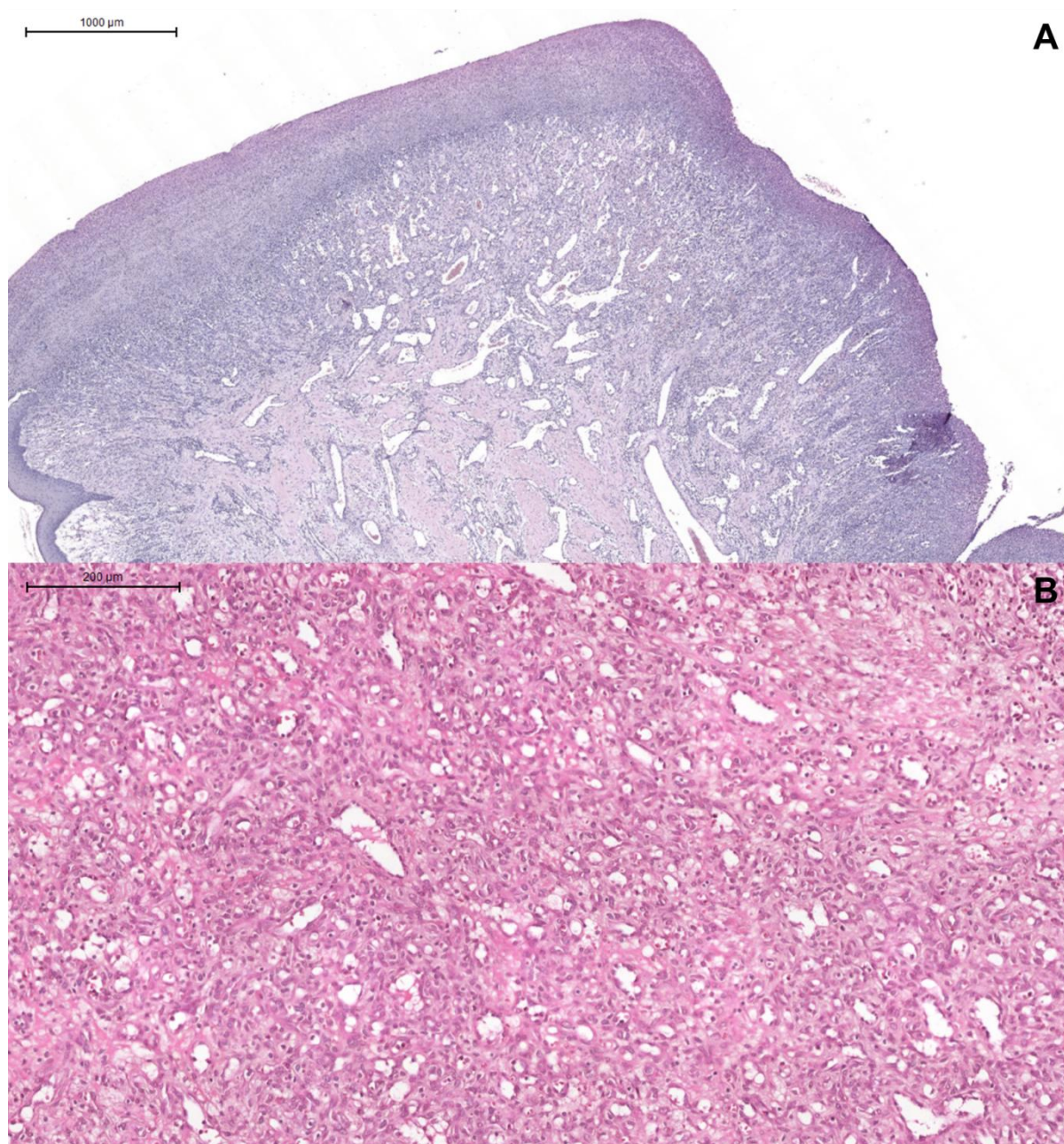
3.1 Amostra e seleção dos casos

Foram avaliadas nesse estudo lesões diagnosticadas como granuloma piogênico ou hemangioma capilar lobular entre janeiro de 2000 a outubro de 2018, no laboratório de Patologia Bucal do Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal do ICT-Unesp. Para tal, foi realizada busca nos arquivos do laboratório com os termos “granuloma piogênico” e “hemangioma lobular capilar”.

As lâminas coradas em hematoxilina e eosina de todos os casos foram avaliadas por dois examinadores (ALA, JLR) em conjunto, levando-se em conta o seguinte critério para o diagnóstico de granuloma piogênico: proliferação vascular semelhante a tecido de granulação (Goldblum et al., 2013). Casos sem lâminas ou blocos disponíveis, ou com remanescente tecidual insuficiente para novo processamento histológico foram excluídos.

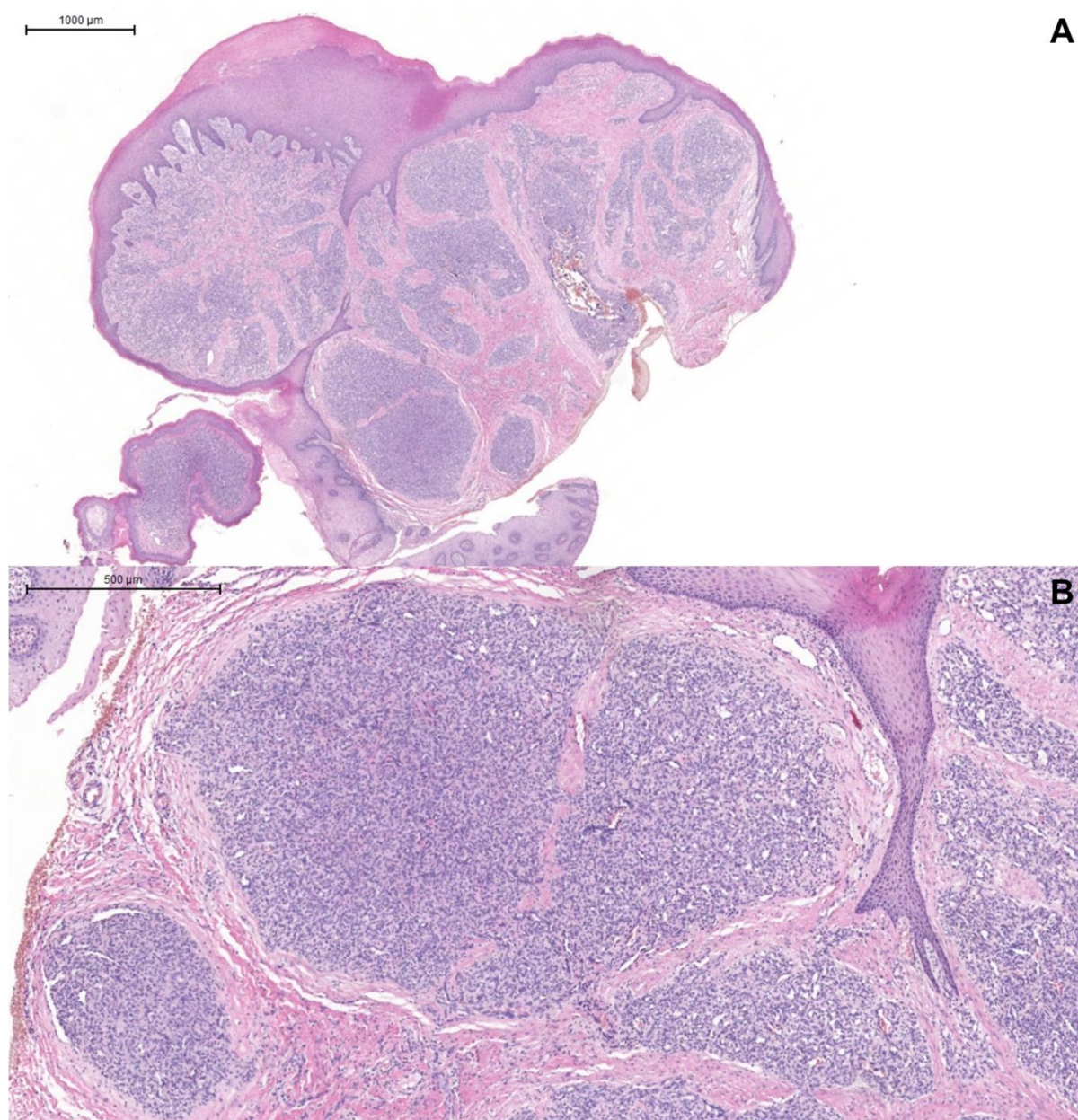
Os seguintes dados epidemiológicos das lesões confirmadas como granuloma piogênico foram tabulados: sexo, idade, gravidez, local da lesão, aparência clínica (sésil ou pediculada) e hipótese diagnóstica clínica (HDC). As lesões foram classificadas em granuloma piogênico do tipo não lobular (Figura 1) e do tipo lobular (Figura 2), de acordo com a ausência ou presença, respectivamente, de agregados lobulares separados por feixe de tecido fibroso (Isaza-Guzmán et al., 2012). Além das características diagnósticas, em todos os casos confirmados como granuloma piogênico, foram avaliados também os aspectos e critérios descritos no Quadro 1, com classificação dicotômica (presente ou ausente), na busca por outras características histológicas que possam diferenciar esses subtipos.

Figura 1 – Fotomicrografias de granuloma piogênico do tipo não lobular



Legenda: A) Imagem em HE de GPNL; lesão de aspecto nodular, com intensa proliferação de vasos, em sua maioria congestos, epitélio de revestimento com áreas de hiperplasia e lagos de plasma; B) proliferação vascular semelhante a tecido de granulação, associada a infiltrado inflamatório crônico, com fibroblastos e vasos neoformados, de tamanhos variados.
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 2 – Fotomicrografias de granuloma piogênico do tipo lobular



Legenda: A) Imagem em HE de GPL; lesão de aspecto nodular, com intensa proliferação de vasos, em arranjos lobulares, epitélio de revestimento com áreas de hiperplasia, hiperqueratinizado, e áreas de atrofia; B) proliferação vascular em agregados lobulares, separados por feixes de tecido conjuntivo fibroso.

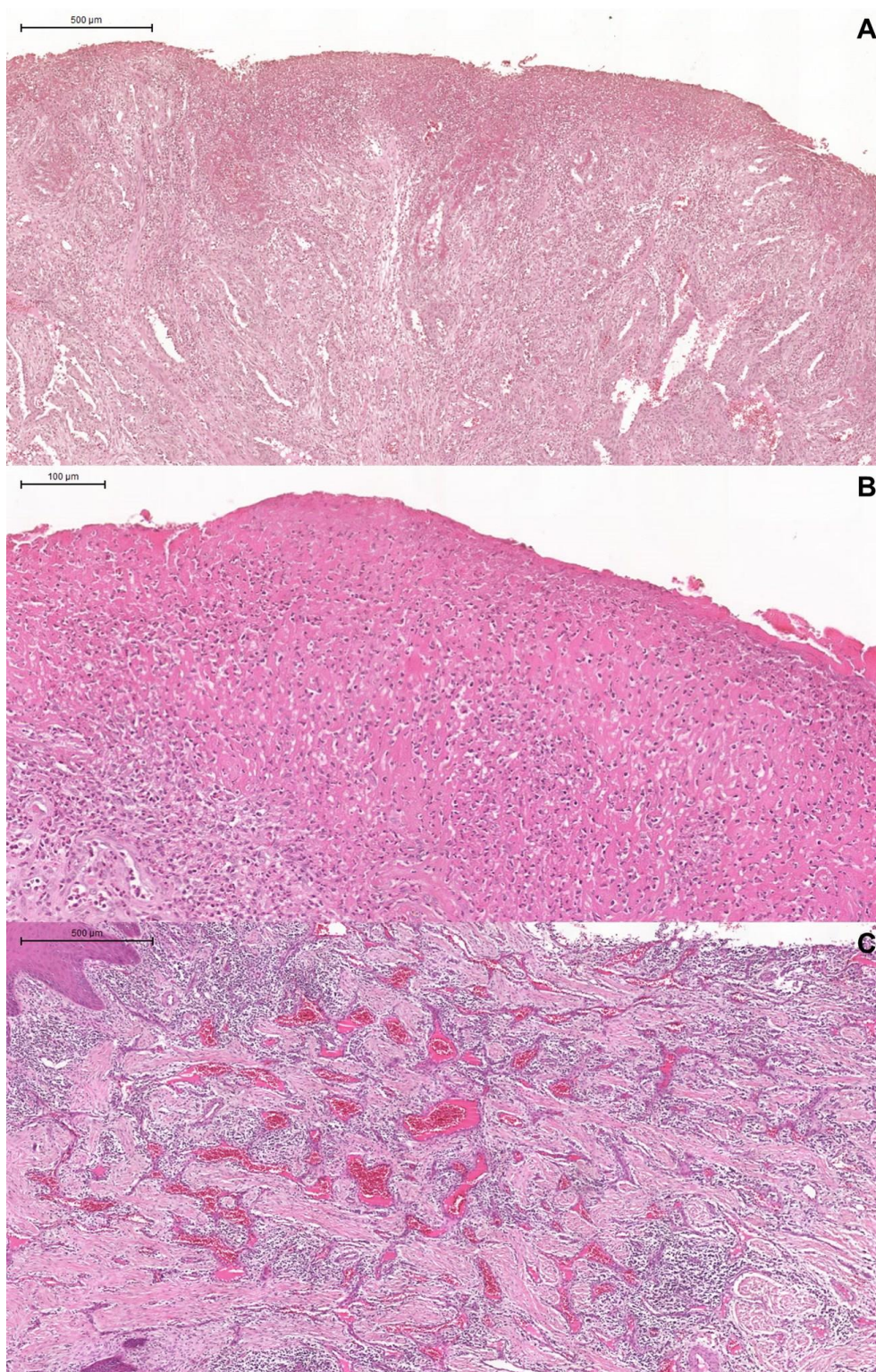
Fonte: elaborado pelo autor.

Quadro 1- Aspectos histológicos e respectivos critérios observados nos casos de granuloma piogênico

Aspecto histológico	Critério
Ulceração	Perda de epitélio de superfície (Figura 3A) e formação de membrana fibrinopurulenta (Figura 3B)
Vasos congestos	Mais de 50% dos vasos sanguíneos predominantemente congestos (Figura 3C)
Epitélio atrófico	Diminuição da espessura do epitélio em mais de 50% do epitélio de revestimento (Figura 4A)
Foco de eosinófilos	Presença de foco(s) de inflamação predominantemente eosinofílica (Figura 4B)
Aspecto maduro	Predominância de fibras conjuntivas e fibrose, porém sem formação de septos (Figura 4C)
Foco de hiperplasia endotelial papilar intravascular	Hiperplasia e/ou proliferação papilar das células endoteliais para o interior dos vasos, ou formando novos canais vasculares (Figura 5A)
Colônias bacterianas superficiais	Presença de colônias bacterianas visíveis em HE na superfície da lesão (Figura 5B)
Lagos de plasma no epitélio	Acúmulo de corpos eosinofílicos na superfície do epitélio, geralmente associado a trauma (Figura 5C)

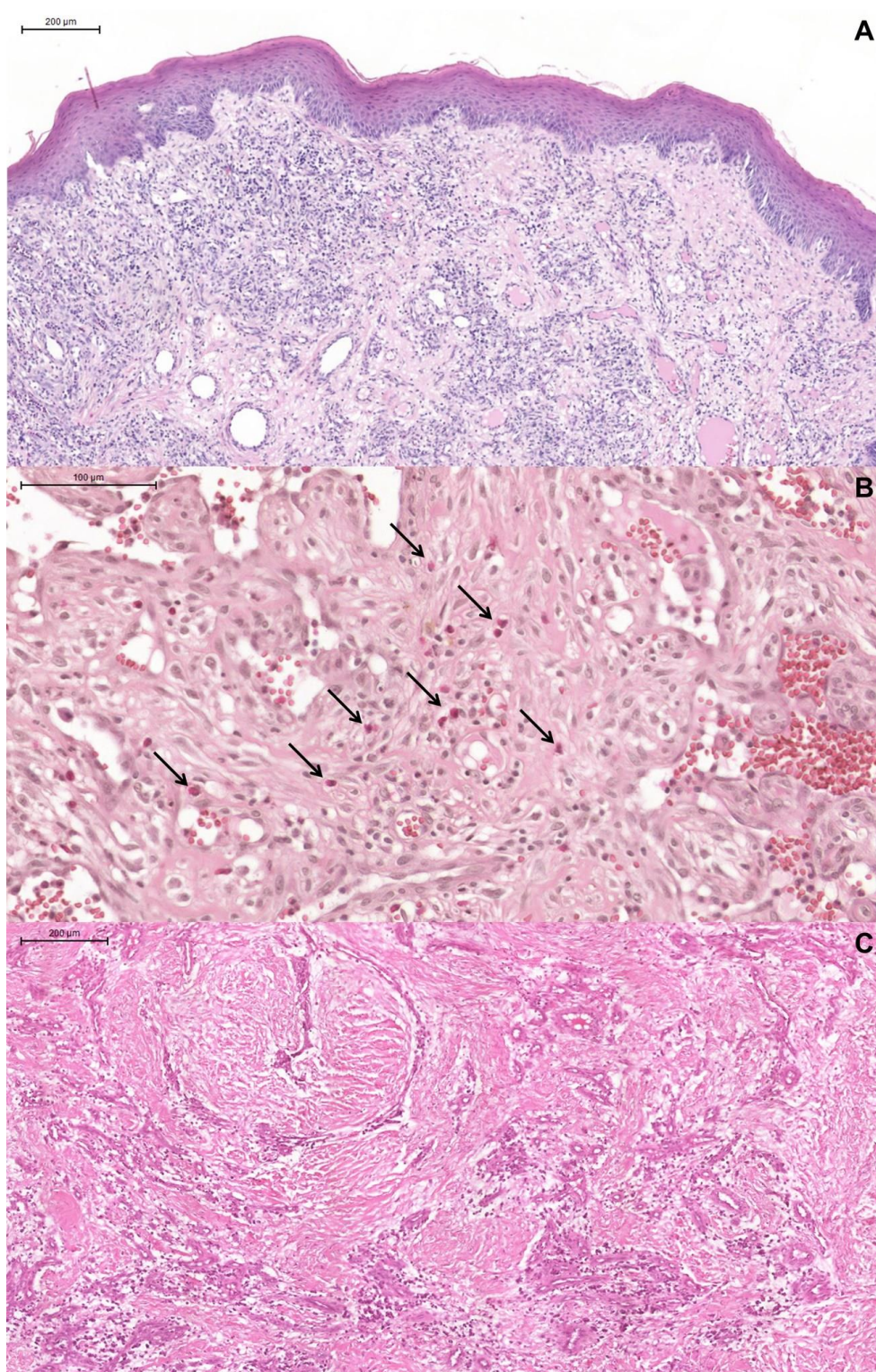
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 3 – Aspectos histológicos analisados – úlcera, membrana fibrino-purulenta e vasos congestionados



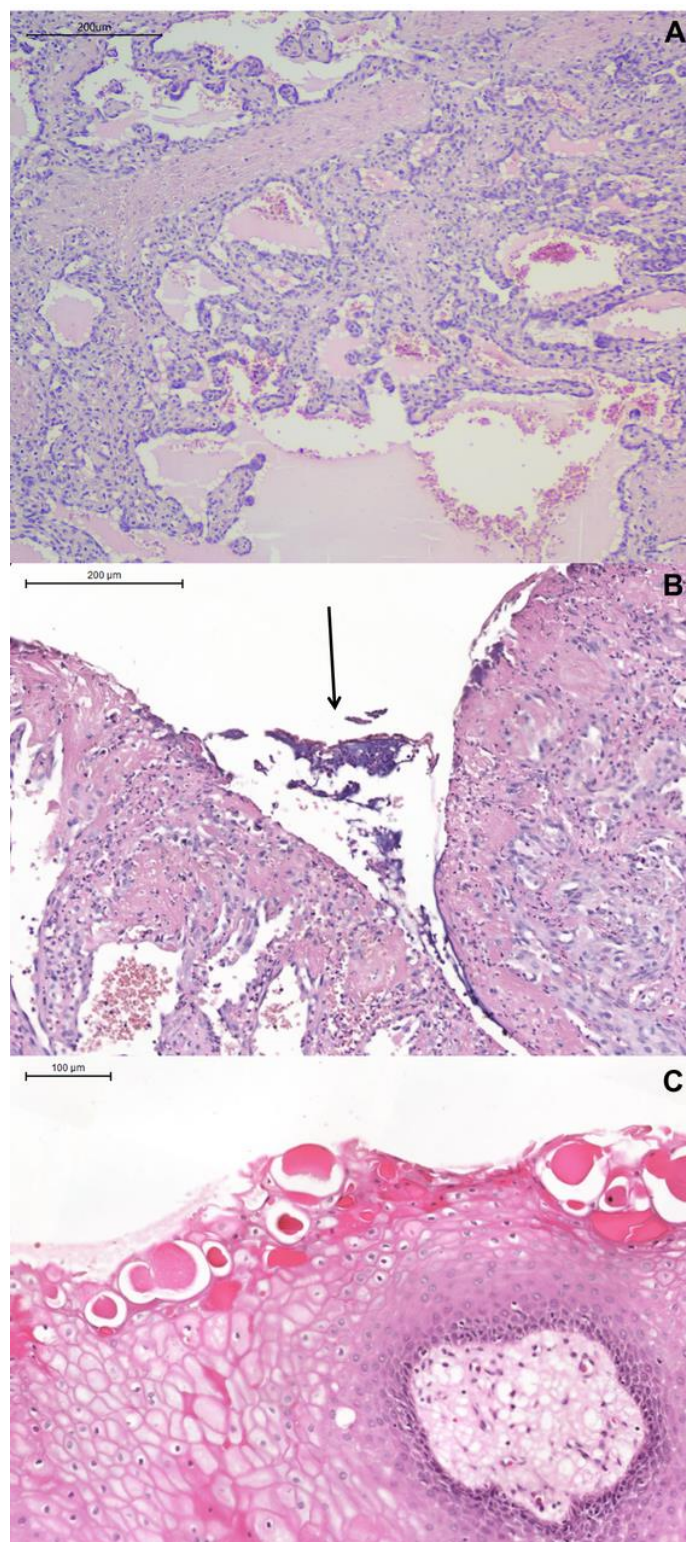
Legenda: A) úlcera na superfície da lesão, caracterizada pela perda de epitélio; e B) formação de membrana fibrino-purulenta; C) predominância de vasos congestionados, entre feixes de tecido conjuntivo, e tecido semelhante ao de granulação.
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 4 – Aspectos histológicos analisados – epitélio atrófico, foco de eosinófilos e aspecto maduro



Legenda: A) diminuição da espessura do epitélio na superfície da lesão (epitélio atrófico); B) foco de inflamação eosinofílica, com eosinófilos proeminentes (setas); C) aspecto maduro da lesão, onde a proliferação vascular dá lugar à predominância de fibras de tecido conjuntivo.
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 5 – Aspectos histológicos analisados – hiperplasia endotelial papilar intravascular, colônia bacteriana e lagos de plasma



Legenda: A) hiperplasia endotelial papilar intravascular, com células sanguíneas vermelhas no interior dos vasos; B) presença de colônia bacteriana na superfície ulcerada da lesão (seta); C) formação de lagos de plasma (*"plasma pooling"*) – acúmulo de corpos eosinofílicos, na superfície do epitélio.
Fonte: elaborado pelo autor.

3.2 Análise imuno-histoquímica

A expressão imuno-histoquímica para os anticorpos actina de músculo liso (AML), CD34, GLUT-1, D2-40 e Mast cell foi analisada em 22 casos (11 casos de GPL e 11 de GPNL) (Rezvani et al., 2010). Foram selecionados os casos com características de granuloma piogênico mais proeminentes para cada subtipo, e que ainda dispunham de remanescente tecidual adequado para confecção das lâminas.

Foram obtidos cortes de 3 µm de espessura dos blocos selecionados em lâminas silanizadas. As lâminas foram desparafinadas por dois banhos de xilol, sendo o primeiro em estufa a 60°C, e o segundo em temperatura ambiente, ambos por 15 minutos. Após a desparafinização, as lâminas foram reidratadas utilizando uma série descendente de etanóis (do álcool absoluto até álcool 85%) em banhos de 3 minutos. Para remoção dos pigmentos de formol, as lâminas foram imersas em solução alcoólica (85%) e hidróxido de amônio a 10%, por 5 minutos.

Foi realizada a recuperação antigênica através da incubação das amostras em cuba contendo citrato (solução de ácido cítrico, com pH 6.0) em banho-maria a 85°C por 30 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente, por 10 minutos, e duas vezes em água destilada para remoção do cloro.

Realizou-se então o bloqueio da peroxidase endógena das amostras em solução de metanol e peróxido de hidrogênio 20 volumes, em proporção 1:1, com dois banhos de 15 minutos. Foram feitas três lavagens com água destilada por 5 minutos e imersão em Tris durante 5 minutos.

Para secagem das lâminas foi utilizado papel absorvente, realizada a cobertura dos cortes com o anticorpo primário diluído, e então feita a incubação em câmara úmida. As especificações dos anticorpos utilizados encontram-se no Quadro 2 abaixo:

Quadro 2 – Anticorpos utilizados e especificações gerais

Anticorpo	Fabricante	Concentração	Clone	Tempo de incubação
GLUT-1	Santa Cruz	1:200	A-4	18 h
AML	Dako	1:200	1A4	1 h
D2-40	Dako	1:50	D2-40	1 h
CD34	Dako	1:50	QBend 10	1 h
Mast cell	Imgenex	1:700	AA1	1 h

Fonte: elaborado pelo autor.

Após a incubação, lavou-se rapidamente com Tris e foram realizados três banhos de 5 minutos também com Tris. Em seguida, o anticorpo secundário associado à peroxidase (livre de biotina) (Envision – Dako, Carpinteria, CA, EUA) foi incubado por 30 minutos em temperatura ambiente em câmara escura. Repetiu-se a lavagem rápida seguida por três banhos de 5 minutos com Tris.

Foi realizada secagem das lâminas e incubação do cromógeno DAB (diaminobenzidina) (Dako) por 5 minutos em câmara escura e temperatura ambiente, seguida de lavagem em água corrente por 5 minutos. Por fim, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina de Mayer (Indaiatuba, São Paulo, Brasil), filtrada, por 2 minutos, e lavou-se novamente em água corrente por 5 minutos.

As lâminas foram, então, desidratadas utilizando-se série ascendente de etanóis, diafanizadas em xilol e montadas em resina (Entellan, Darmstadt, Alemanha).

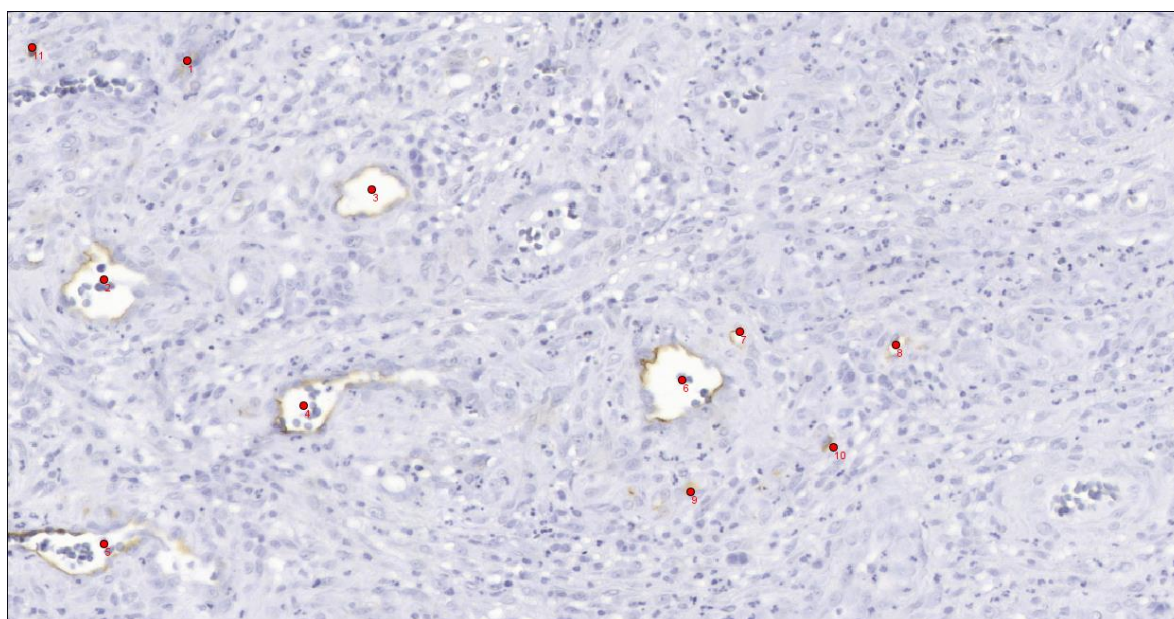
As lâminas marcadas com os anticorpos GLUT-1 e D2-40 foram avaliadas descritivamente, e as demais, escaneadas utilizando-se o aparelho Pannoramic DESK (3DHistech[®], Budapeste, Hungria) para posterior análise histométrica.

3.2.1 Análise histométrica

Para a determinação da contagem microvascular, nas lâminas marcadas por CD34, as áreas mais vascularizadas foram selecionadas em baixa amplificação. Foram obtidas seis imagens utilizando-se o programa Pannoramic Viewer (3DHistech®, Budapeste, Hungria), das áreas de maior vascularização, sendo três próximas à úlcera, e três distantes da úlcera, em um aumento de 200x. Em casos não ulcerados, foram obtidas apenas três imagens.

O número de microvasos foi contado utilizando-se o programa ImageJ 1.31p (Wayne Rasband, National Institute of Health, EUA) (Figura 6). Foram considerados microvasos contáveis também aglomerados de células ou células com marcação positiva, que estivessem separadas de outros vasos ou aglomerados (Foote et al., 2005). Os mastócitos, marcados positivamente para o anticorpo Mast cell, foram contados da mesma maneira que os microvasos.

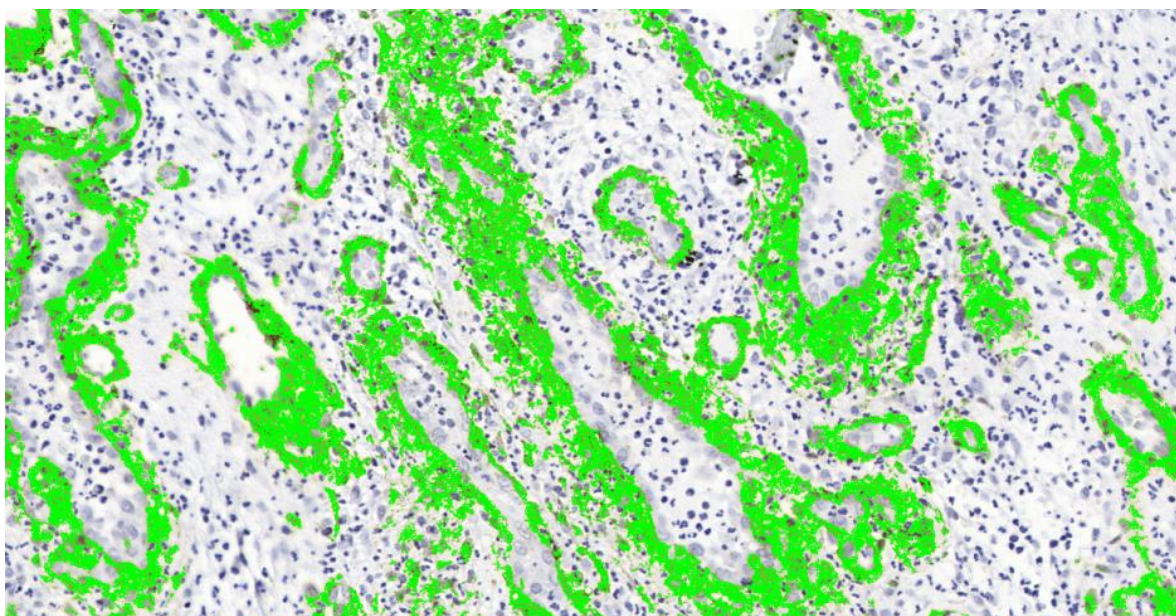
Figura 6 – Contagem de vasos sanguíneos em fotomicrografia após reação imuno-histoquímica com CD34, com auxílio do programa Image J



Legenda: Aumento original de 200x. Cada ponto vermelho corresponde a um vaso sanguíneo.
Fonte: elaborado pelo autor.

Para análise das lâminas marcadas por AML, foi utilizado o programa Opticam OPTHD (Opticam, Nashville, Tennessee, EUA), o qual seleciona por cor a região marcada positivamente e fornece a área total (Figura 7).

Figura 7 – Seleção da área marcada por AML em fotomicrografia, com auxílio do programa Opticam OPTHD



Legenda: Aumento original de 200x. Todas as células marcadas positivamente para AML estão selecionadas em cor verde.

Fonte: elaborado pelo autor.

3.3 Análise estatística

Os dados epidemiológicos e histopatológicos foram comparados entre os grupos de granulomas piogênicos lobulados e não lobulados utilizando-se o teste do Qui-quadrado, no programa Sphinx (Sphinx Brasil, Canoas, RS, Brasil). Os dados de idade, número de vasos sanguíneos marcados por CD34, área marcada por AML e número de mastócitos foram comparados entre os grupos pelo teste t de Student, no programa GraphPad Prism 6 (La Jolla, California, EUA). Para todos os testes utilizou-se $\alpha=0,05$.

4 RESULTADOS

A busca no arquivo resultou em 197 casos encontrados, que foram correspondentes a 2,25% de todas as lesões diagnosticadas no laboratório de patologia durante o período. Após análise inicial, nove casos foram reclassificados em: parúlide (2), hiperplasia fibrosa inflamatória (2), fibroma ossificante periférico (2), hiperplasia gengival inflamatória (1), fibroma de irritação (1) e granuloma ulcerativo traumático com eosinofilia estromal (1). Dos 188 casos remanescentes, 19 foram excluídos do estudo por impossibilidade diagnóstica, devido à perda de qualidade das lâminas disponíveis e remanescente tecidual insuficiente para novo processamento histológico. Dessa forma, 169 casos de granuloma piogênico foram estudados neste trabalho, sendo 62 do tipo lobular e 107 do tipo não lobular.

4.1 Epidemiologia e dados clínicos

A partir dos dados clínicos obtidos (Tabela 1), observou-se que a média de idade de acometimento foi de $38,59 \pm 16,96$ anos, com leve predileção pelo sexo feminino (1,25:1). Em 8 casos, a idade não foi informada. Do total, 75,14% dos casos ocorreram em indivíduos leucodermas, e o local mais acometido foi gengiva (39,64%), seguida por lábios (22,48%). As hipóteses diagnósticas clínicas (HDC) contidas nos exames eram diversas (Tabela 1). Alguns exemplos de hipóteses que também foram citadas: hemangioma (5), papiloma (3), hiperplasia gengival inflamatória (2), carcinoma de células escamosas (2), adenoma pleomórfico (2), “neoplasia” (1), epúlide (1), verruga vulgar (1) e malformação vascular (1). Em 14 (8,28%) dos casos, não foi fornecida uma hipótese clínica. Dentre todos os casos encontrados, incluindo ambos os sexos, apenas 17 (10,12%) ocorreram em situação de gravidez, e 22 (13,02%) tiveram história prévia de trauma mecânico documentada, sendo 12 GPL e 10 GPNL. Quando consideradas apenas mulheres, a gravidez está associada a 18,08% dos casos. Em dois casos houve recidiva, e em um dos pacientes, a primeira lesão era do tipo lobulada, e a recidiva, não lobulada.

No outro paciente, ambos eram do tipo não lobulado.

Tabela 1– Dados clínicos dos casos de granuloma piogênico estudados

Dados		Nº (%)
Idade		4 – 80 anos (38,59 ± 16,96)
Sexo	Feminino	94 (55,62%)
	Masculino	75 (44,38%)
Cor	Feoderma	4 (2,37%)
	Leucoderma	127 (75,15%)
	Melanoderma	28 (16,57%)
	Xantoderma	1 (0,59%)
	Não informado	9 (5,32%)
Localização	Gengiva	67 (39,64%)
	Lábio	38 (22,48%)
	Língua	25 (14,79%)
	Mucosa jugal	16 (9,47%)
	Palato	11 (6,51%)
	Rebordo alveolar	12 (7,1%)
Hipótese diagnóstica clínica	Granuloma piogênico	108
	HFI/Fibroma	39
	LPCG	18
	Mucocele	15
	FOP	5
	Outros	35
	Não Informado	14
Característica do nódulo	Séssil	24 (14,2%)
	Pediculado	76 (44,97%)
	Não informado	69 (40,83%)
Trauma	Sim	22 (13,02%)
	Não informado	147 (86,98%)

Legenda: A soma dos valores da hipótese diagnóstica clínica é maior do que o número de casos, pois era possível optar por mais de uma hipótese para o mesmo caso.

Fonte: elaborado pelo autor.

A comparação dos dados clínicos entre o grupo de GPL e GPNL pode ser observada na Tabela 2. Houve diferença estatística entre os grupos em relação à média de idade, porém não em relação à predileção por sexo. O GPNL tende a acometer pacientes mais velhos (41,27 ± 16,96) do que o GPL (33,55 ± 17,02), que

acomete pacientes mais jovens (Teste T de Student; $p = 0,005$).

Houve diferença estatística quanto à localização, tendo o GPL maior acometimento em lábio, enquanto o GPNL acomete mais gengiva. Quanto à característica do nódulo, hipótese diagnóstica e ocorrência de gravidez, não houve diferença estatística significativa. Na figura 8 podemos observar o aspecto clínico e histopatológico de um dos casos de GPL encontrados.

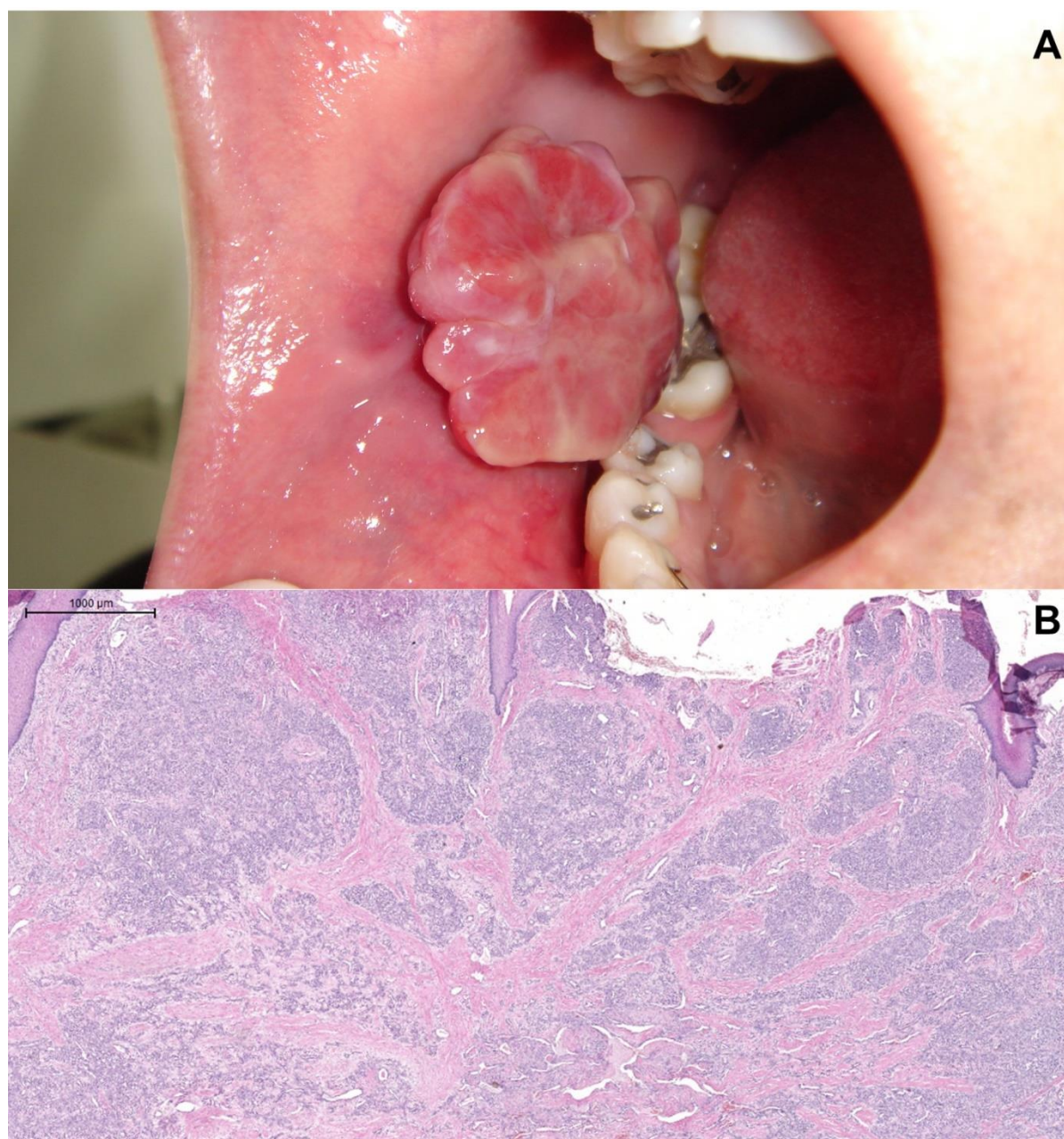
Tabela 2 – Dados clínicos dos casos de granuloma piogênico estudados-comparação entre os grupos GPL e GPNL

Dados	Lobulado (62)	Não lobulado (107)	P-valor
Faixa de idade (média $\pm$ dp)	4-70 (33,55 $\pm$ 17,02)	5 – 80 (41,27 $\pm$ 16,96)	0,005*
Sexo (n-%)	F (30 – 48,39%) M (32 – 51,61%)	F (64 – 59,81%) M (43 – 40,19%)	0,17
Cor (n-%)	Feoderma (2 – 3,22%) Leucod. (47 – 75,8%) Melanod. (9 – 14,52%) Xantoderma (0) NI (4 – 6,45%)	Feoderma (2 – 1,87%) Leucod. (80 – 74,77%) Melanod. (19 – 17,76%) Xantoderma (1 – 0,93%) NI (5 – 4,67%)	0,84
Localização (n-%)	Língua (13 – 20,97%) Gengiva (7 – 11,29%) Mucosa Jugal (11 – 17,74%) Palato (0) Lábio (29 – 46,77%) Rebordo alveolar (2 – 3,22%)	Língua (12 – 11,21%) Gengiva (60 – 56,07%) Mucosa Jugal (5 – 4,67%) Palato (11 – 10,28%) Lábio (9 – 8,41%) Rebordo alveolar (10 – 9,34%)	0,0001*
Hipótese diagnóstica clínica	GP (35) Outros (27)	GP (72) Outros (35)	0,15
Característica do Nódulo (n-%)	Séssil (7 – 11,29%) Pediculado (26 – 41,93%) NI (29 – 46,77%)	Séssil (17 – 15,89%) Pediculado (50 – 46,73%) NI (40 – 37,38%)	0,44
Gravidez (n-%)	Sim (7 – 11,29%) NI (55 – 88,71%)	Sim (10 – 9,34%) NI (97 – 90,65%)	0,68

Legenda: NI – não informado. * $p < 0,05$.

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 8 – Aspecto clínico e histopatológico de um GPL



Legenda: A) Aspecto clínico de GPL: nódulo pediculado em mucosa jugal, com evolução de 2 meses (tendo início durante gravidez), sangrante, de superfície com aspecto lobular; B) imagem microscópica apresentando agregados lobulares de vasos sanguíneos, separados por septos de tecido conjuntivo.

Fonte: elaborado pelo autor.

4.2 Características histopatológicas (HE)

Em relação às características histopatológicas (Tabela 3), houve maior prevalência de lesões do tipo não lobuladas do que lobuladas.

A ulceração teve maior ocorrência em casos de GPNL (87,85%) do que em GPL (82,26%), porém não houve diferença significativa estatisticamente ($p > 0,05$).

Apesar de pouco mais frequente a presença de vasos congestos em GPNL, não houve diferença estatística entre os grupos. Também foi avaliada a ocorrência de atrofia do epitélio de revestimento da lesão, e houve diferença significativa entre os grupos, sendo de maior ocorrência em GPL.

Algumas lesões também sofreram maturação (10,38% dos GPNL), havendo diferença significativa entre os grupos GPNL e GPL. Na maioria das lesões avaliadas, observou-se presença de infiltrado inflamatório de intensidade variada, do tipo agudo em regiões próximas à úlceras, e crônico ou misto na profundidade da lesão. Apesar da leve predileção por GPNL, não houve diferença estatística quanto ao foco de inflamação eosinofílica entre os grupos.

Em 7 dos casos (2 em GPL e 5 em GPNL) foram encontrados focos de proliferação papilar endotelial, e a diferença estatística entre os grupos não foi significativa.

Outros aspectos avaliados foram: presença de colônias bacterianas na superfície da lesão, e formação de lagos de plasma; também não houve diferença estatística entre os grupos em nenhum dos dois aspectos.

Além das características histológicas avaliadas, também foram encontrados alguns aspectos como presença marcante de edema (Figura 9A), formação de colarete epitelial (Figura 9B), amiloidose (Figura 9C), formação óssea (Figura 10A), ocorrência de mitose (Figura 10B) e formação de trombo (Figura 10C).

O caso em que foi encontrada amiloidose é atípico, já que a associação destas condições não é comum. Tratava-se de uma lesão em língua, em paciente do sexo masculino, 58 anos de idade, e seu único relato foi um trauma prévio 5 anos antes. Não houve relato de condições sistêmicas.

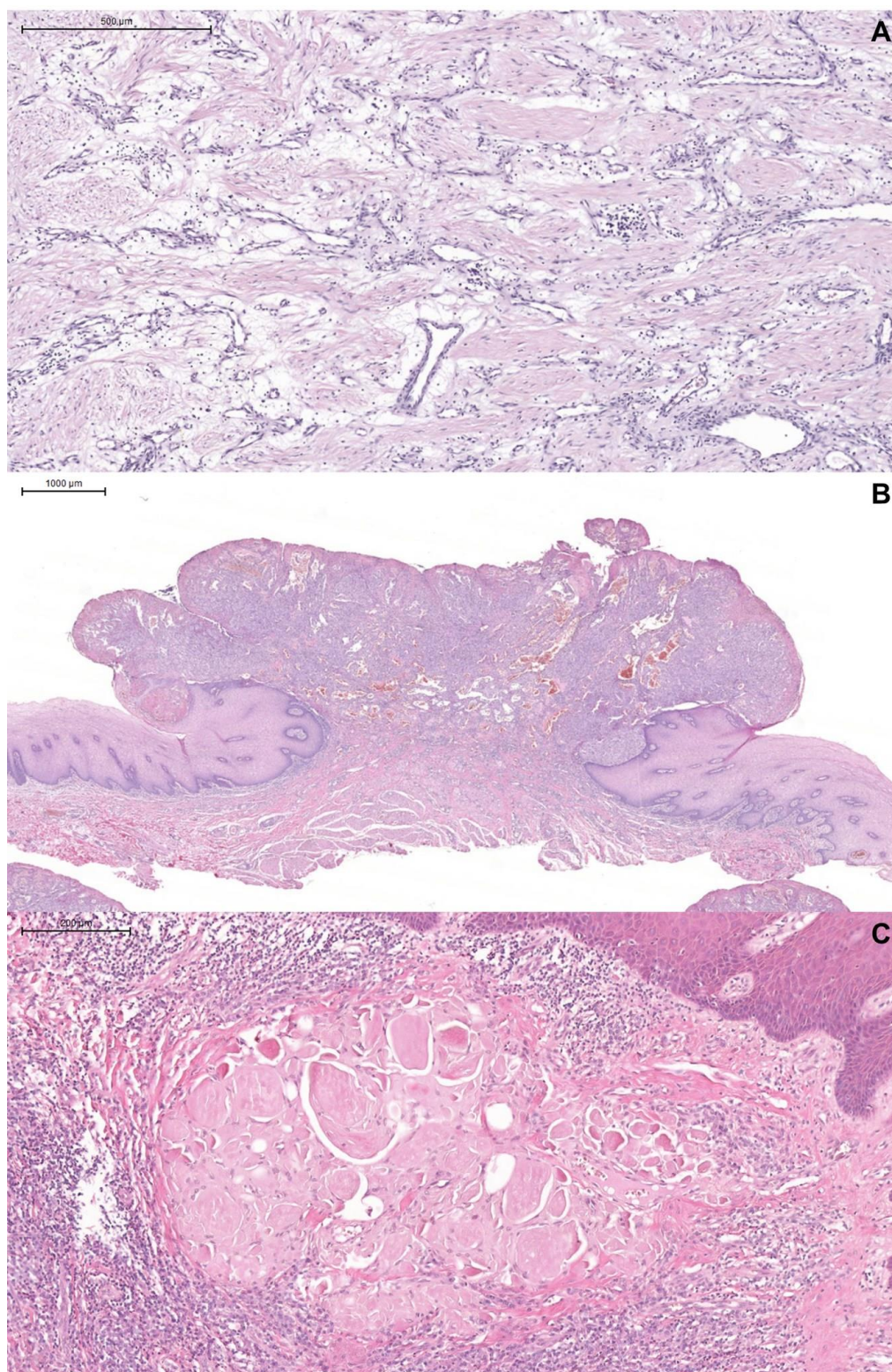
Tabela 3 – Características histopatológicas dos casos de granuloma piogênico estudados- comparação entre os grupos GPL e GPNL

Características microscópicas	GPL (%)	GPNL (%)	P-valor
Ulceração	51 (82,26%)	94 (87,85%)	0,3275
Vasos congestos	33 (53,22%)	53 (49,53%)	0,6865
Epitélio atrófico	32 (51,61%)	34 (31,77%)	0,0123*
Foco de eosinófilos	12 (19,35%)	17 (15,89%)	0,583
Aspecto maduro	0	11 (10,28%)	0,0087*
Foco de hiperplasia endotelial papilar intravascular	2 (3,22%)	5 (4,67%)	0,6407
Colônias bacterianas superficiais	35 (56,45%)	50 (46,73%)	0,2456
Lagos de plasma no epitélio	6 (9,68%)	15 (14,02%)	0,3975

Legenda: GPL = Granuloma piogênico do tipo lobular; GPNL = granuloma piogênico do tipo não lobular.*p < 0,05 (Teste Qui quadrado).

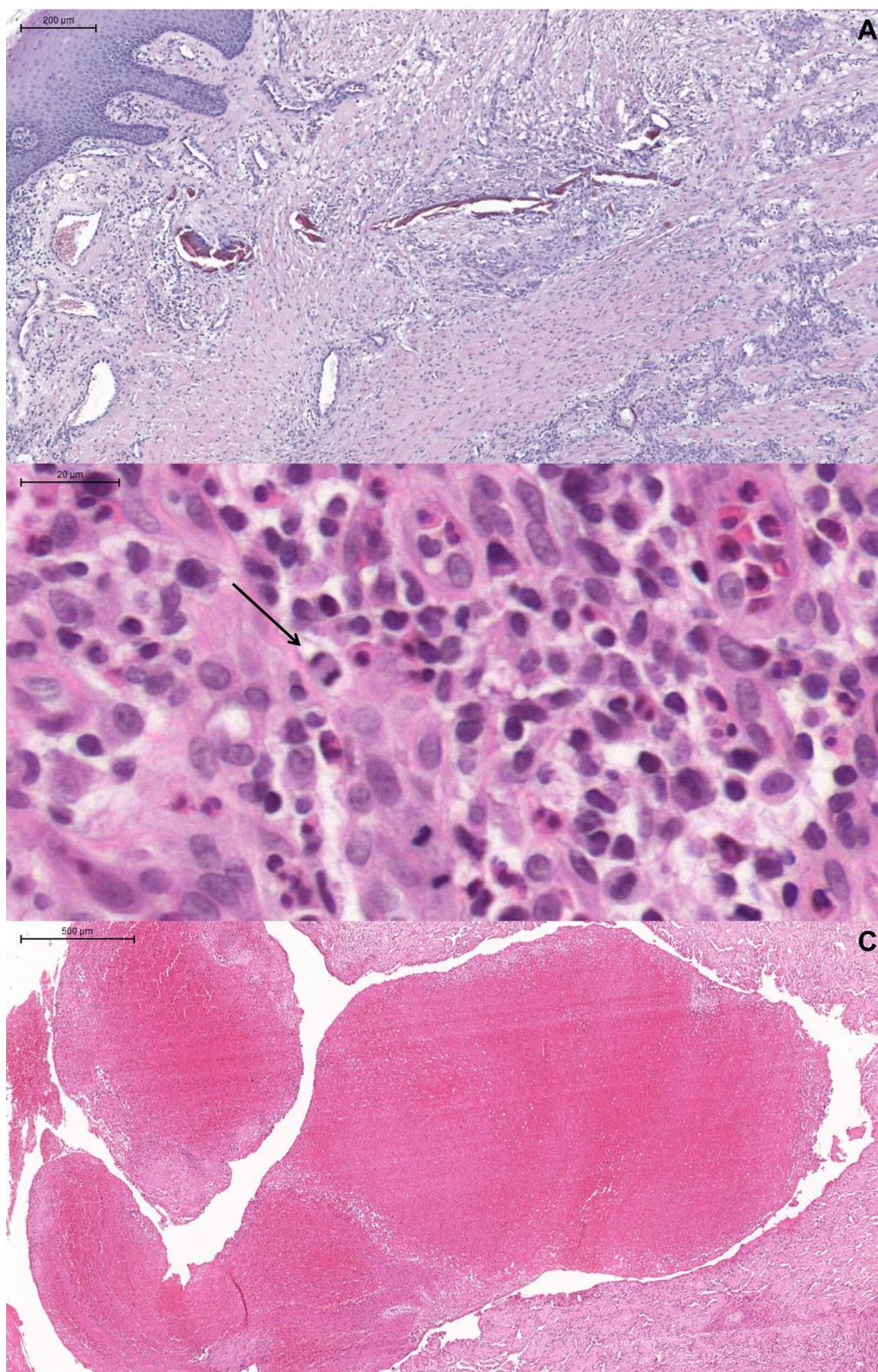
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 9 – Achados histológicos - edema, colarete epitelial e amiloidose



Legenda: A) edema intralesional; B) formação de colarete epitelial; C) amiloidose em caso atípico.
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 10 – Achados histológicos – formação óssea, mitose e formação de trombo



Legenda: A) formação óssea no interior da lesão; B) presença de mitose (seta); C) formação de trombo.

Fonte: elaborado pelo autor.

4.3 Características imuno-histoquímicas

Nas duas localizações (perto e distante da úlcera), houve diferença estatística significativa, tendo o GPL maior número de vasos marcados por CD34 do que o GPNL (Tabela 4). Na comparação da média total de vasos de cada tipo, também houve diferença estatística significativa (Figura 11).

Após seleção por cor da área marcada positivamente para AML, foi feita a soma da área total em micrometros², e feitas as médias. Nas duas localizações (perto e distante da úlcera), houve diferença estatística significativa, tendo o GPL maior área de marcação positiva que o GPNL (Tabela 4). Na comparação da média total de cada tipo, também houve diferença estatística significativa (Figura 12).

Após contagem do número total de mastócitos marcados positivamente em cada área, foram feitas as médias. Nas duas localizações (perto e distante da úlcera), não houve diferença estatística significativa (Tabela 4). Na comparação da média total de mastócitos de cada tipo, também não houve diferença estatística significativa (Figura 13).

Todas as lâminas foram negativas para reação imuno-histoquímica GLUT-1, marcando positivamente apenas hemácias e junções intercelulares da camada basal do epitélio (Figura 14).

Houve positividade de marcação em vasos linfáticos para reação imuno-histoquímica D2-40 (Figura 15). As lesões demonstraram maior quantidade de vasos linfáticos marcados próximos à úlcera e ao epitélio de revestimento do que na profundidade da lesão.

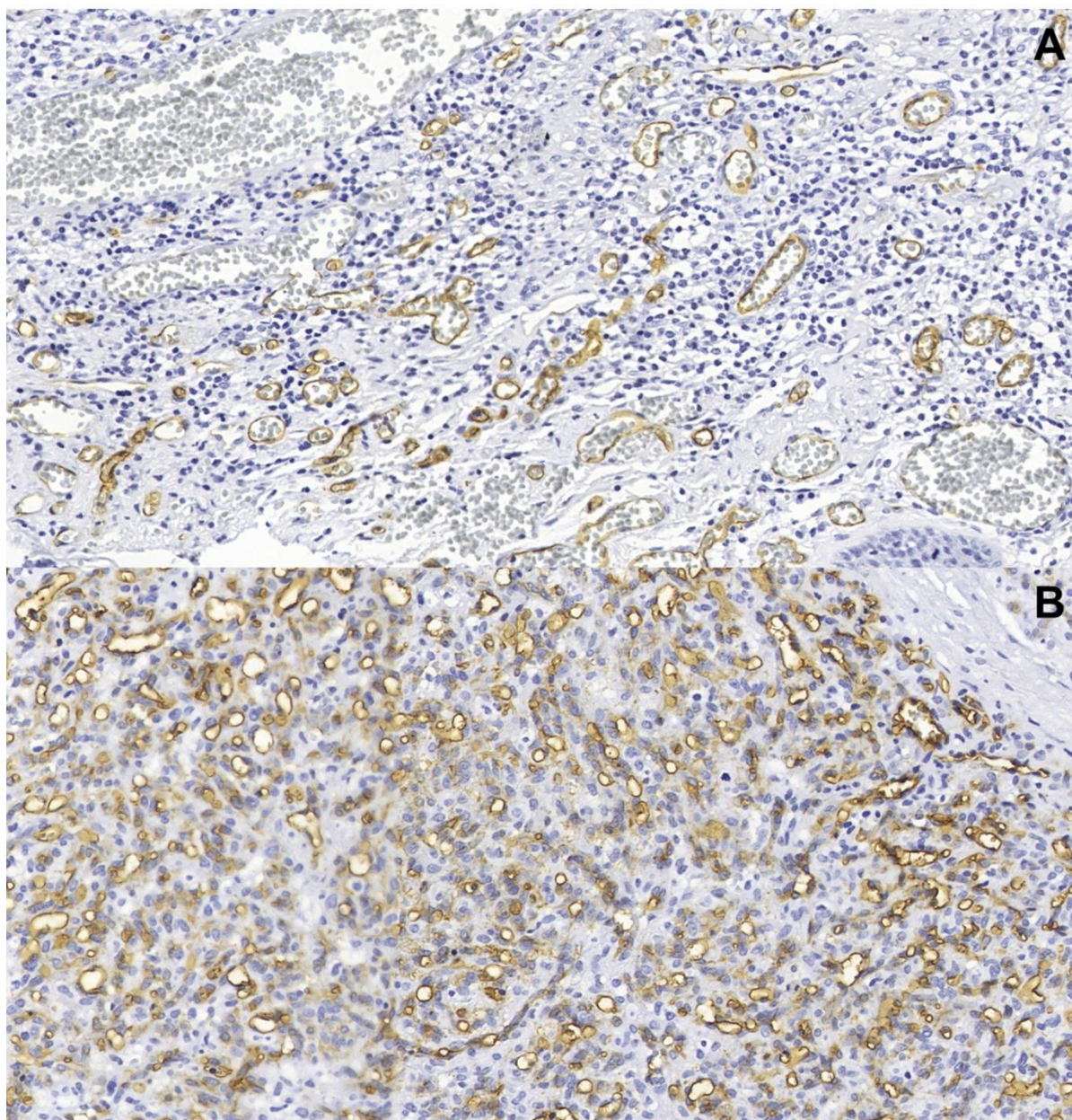
Tabela 4 – Número de vasos sanguíneos (após marcação imuno-histoquímica com CD34), área marcada por actina de músculo liso (AML) e número de mastócitos (após marcação com Mast cell) - comparação entre os grupos GPL e GPNL

	GPL	GPNL	P-valor
Quantidade de vasos sanguíneos (média ± DP)			
Perto da úlcera	91,24 ± 25,97	47,57 ± 33,18	0,001*
Distante da úlcera	137,7 ± 47,21	63,45 ± 10,05	0,0004*
Total	114,5 ± 35,12	51,57 ± 23,63	< 0,0001*
Área marcada por actina de músculo liso (média ± DP)			
Perto da úlcera	6419,84 ± 4003 μm^2	2555,38 ± 1910 μm^2	0,003*
Distante da úlcera	9162,25 ± 6587 μm^2	3285,56 ± 3785 μm^2	0,006*
Total	7791,05 ± 4986 μm^2	3008,07 ± 2727 μm^2	0,003*
Número de mastócitos (média ± DP)			
Perto da úlcera	21,76 ± 10,74	21,33 ± 11,76	0,9
Distante da úlcera	45,73 ± 24,85	47,25 ± 11,91	0,39
Total	32,18 ± 16,42	35,31 ± 17,86	0,6

Legenda: Legenda: GPL = Granuloma piogênico do tipo lobular; GPNL = granuloma piogênico do tipo não lobular.*p < 0,05 (teste t de Student).

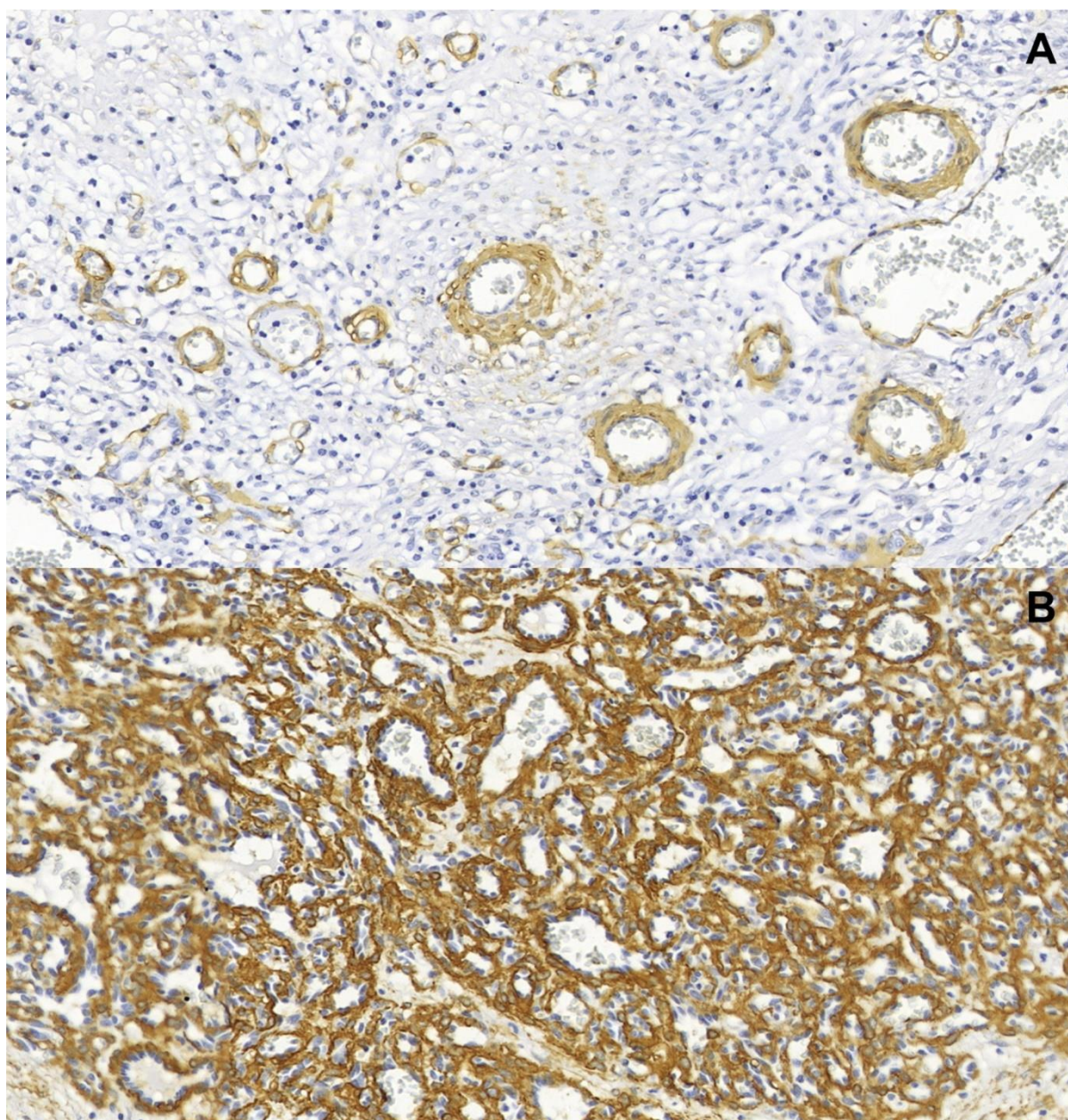
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 11 – Reação imuno-histoquímica CD34



Legenda: marcação positiva de endotélio vascular através da reação imuno-histoquímica CD34. A) Granuloma piogênico não lobular; B) Granuloma piogênico lobular. Observa-se maior número de vasos em B. Aumento original de 200x.
Fonte: elaborado pelo autor.

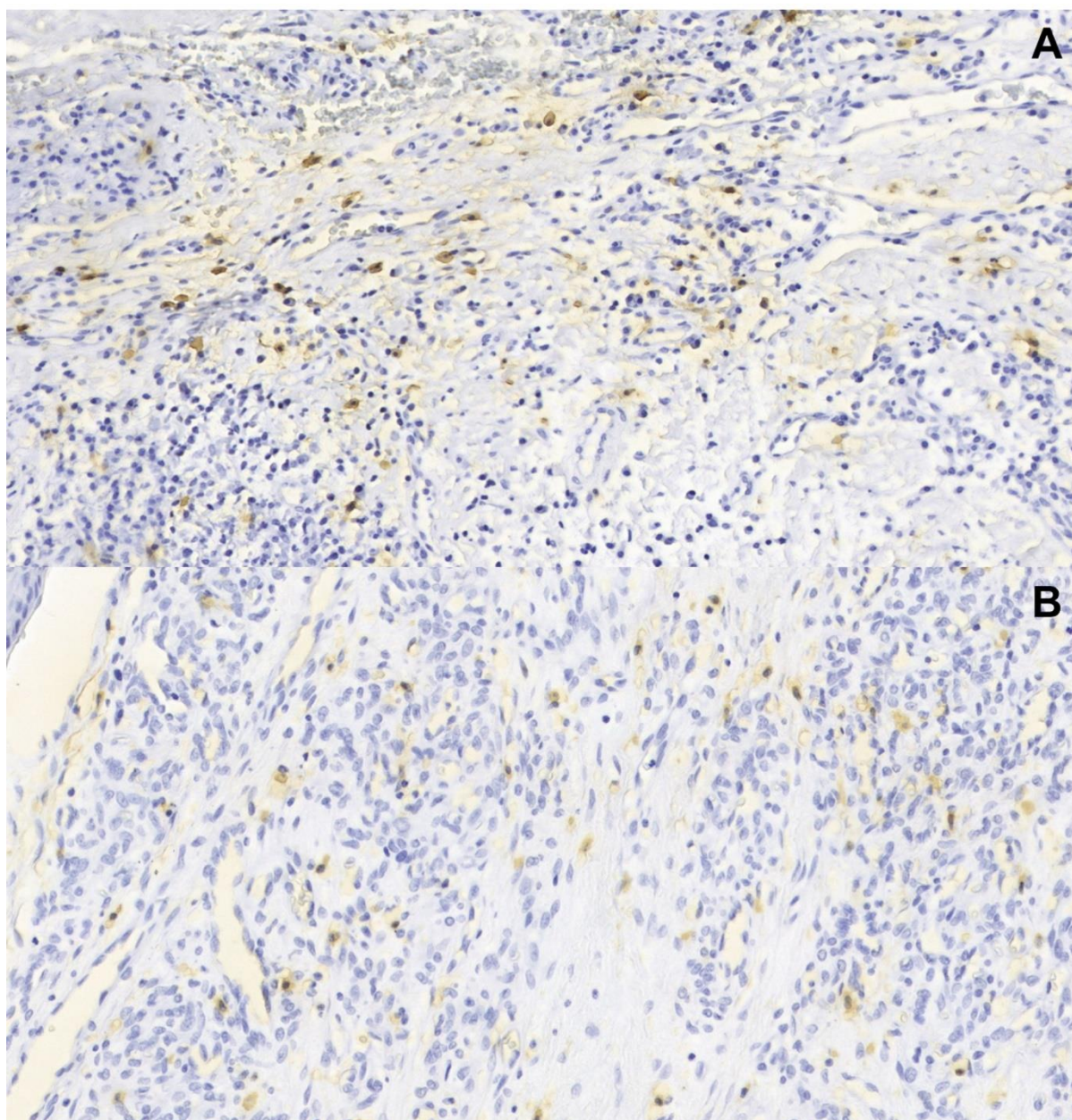
Figura 12 – Reação imuno-histoquímica AML



Legenda: paredes vasculares marcadas positivamente por reação imuno-histoquímica AML. A) Granuloma piogênico não lobular; B) Granuloma piogênico lobular. Observa-se maior área marcada em B. Aumento original de 200x.

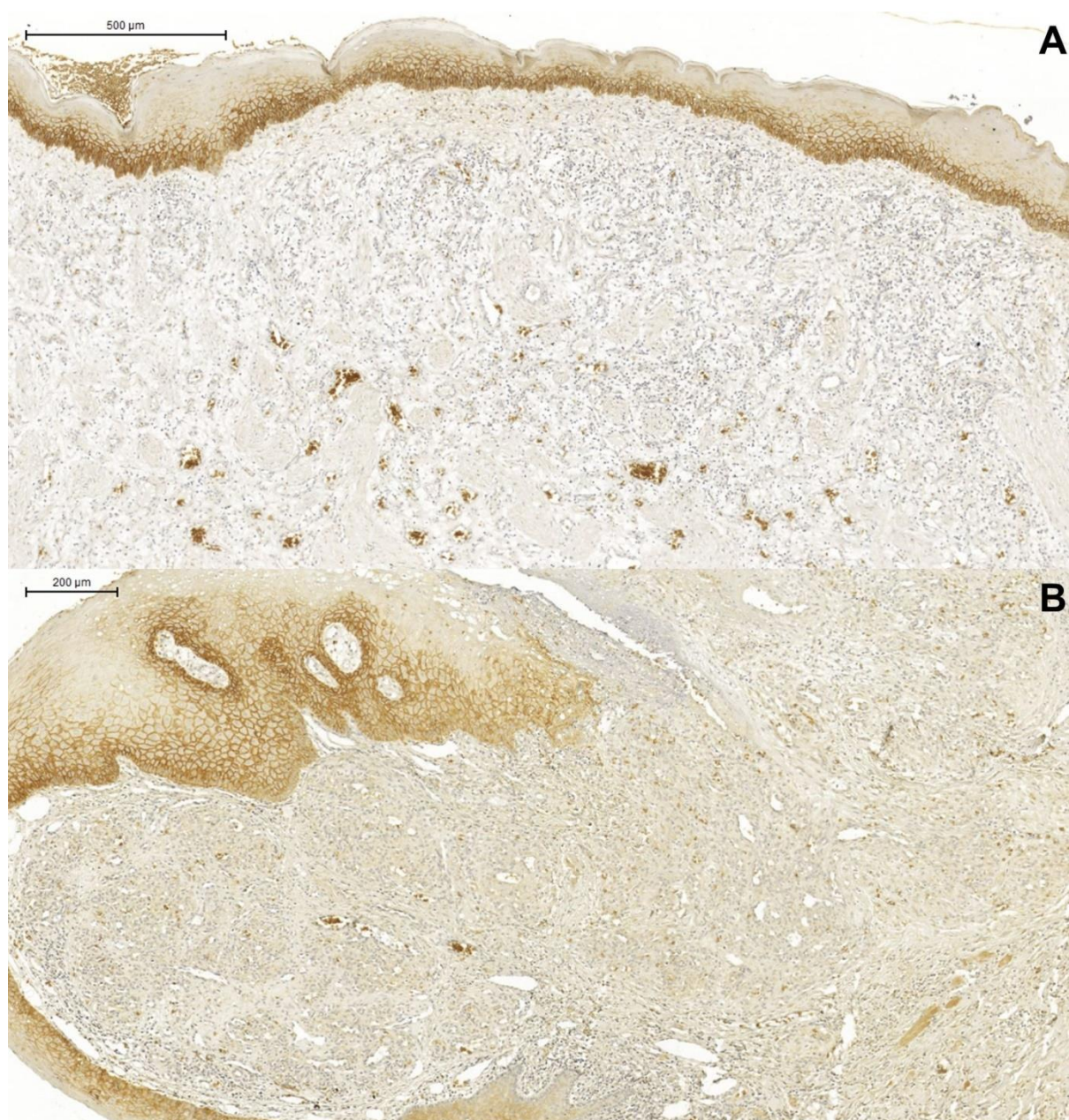
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 13 – Reação imuno-histoquímica Mast cell



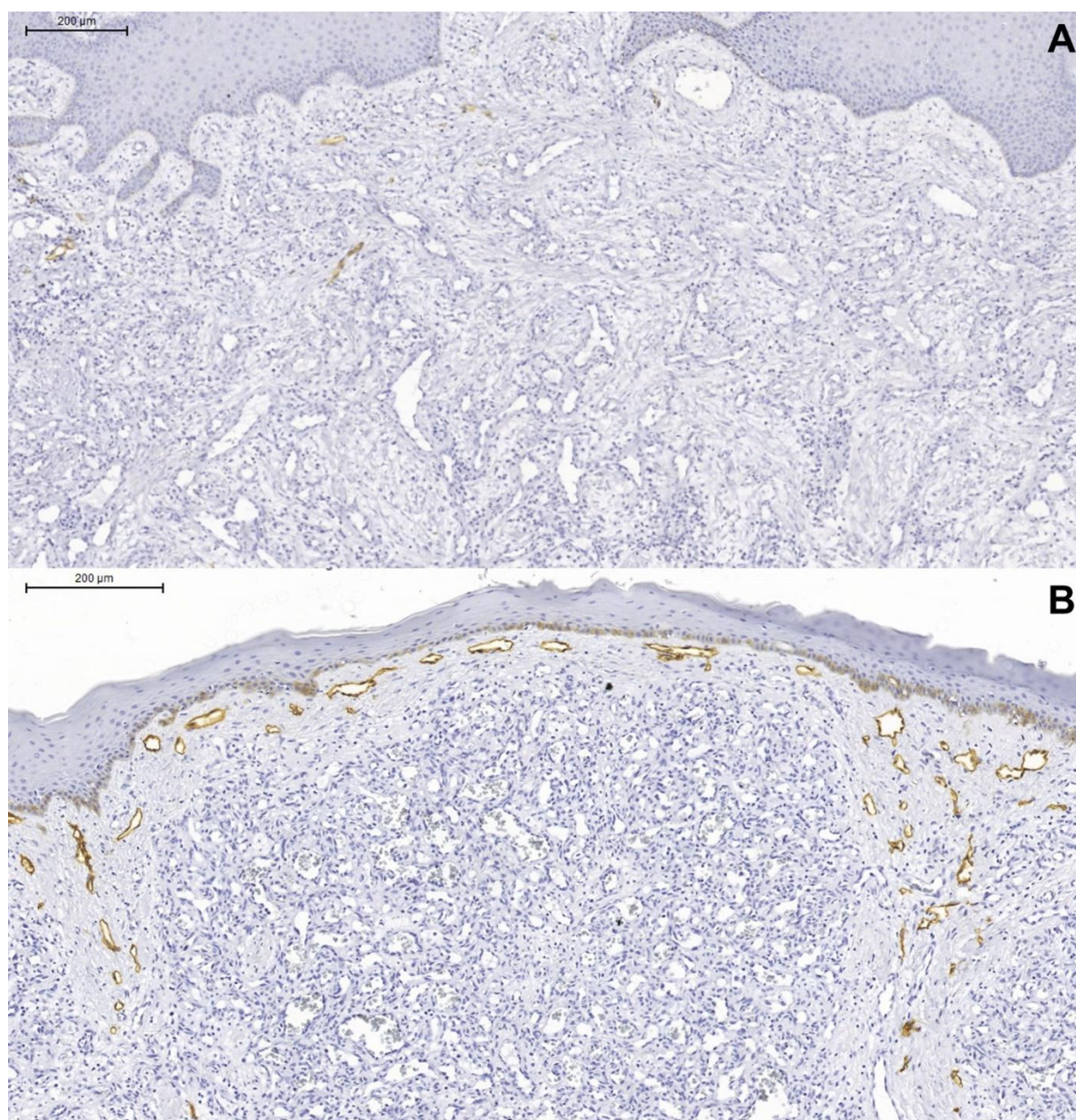
Legenda: mastócitos marcados positivamente por reação imuno-histoquímica. A) Granuloma piogênico não lobular; B) Granuloma piogênico lobular. Aumento original de 200x.
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 14 – Reação imuno-histoquímica GLUT-1



Legenda: Ausência de marcação de células lesionais para reação imuno-histoquímica GLUT-1; marcação positiva de hemácias e junções intercelulares da camada basal do epitélio. A) Granuloma piogênico não lobular; B) Granuloma piogênico lobular.
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 15 – Reação imuno-histoquímica D2-40



Legenda: marcação positiva de vasos linfáticos presentes em feixes de tecido conjuntivo, para reação imuno-histoquímica D2-40. Os vasos linfáticos localizam-se principalmente sob o epitélio. A) Granuloma piogênico não lobular; B) Granuloma piogênico lobular. Fonte: elaborado pelo autor.

5 DISCUSSÃO

O granuloma piogênico é uma lesão vascular, muito comum em pele e mucosa (Akamatsu et al., 2015). Embora seja uma lesão muito comum na clínica odontológica diária, ainda existem divergências quanto a sua origem, principalmente no que se refere às suas variantes histológicas, e tem sido dividido em tipo lobular e não lobular (Rezvani et al., 2010). Até onde vai nosso conhecimento, os dois tipos histológicos têm sido pouco estudados de forma comparativa na literatura. Portanto, após levantamento de todas as lesões em nosso arquivo de Patologia bucal, classificamos, examinamos e comparamos as características clínicas, histológicas e imuno-histoquímicas dos GPL e GPNL.

Os estudos epidemiológicos do GP mostram que essa lesão é mais comum em mulheres, sendo que apenas um levantamento encontrou prevalência maior em homens (Akamatsu et al., 2015). A média de idade relatada é entre a segunda e quarta décadas de vida (Jafarzadeh et al., 2006; Isaza-Guzmán et al., 2012; Kamal et al., 2012; Park et al., 2017). Na maioria das vezes, o GP se apresenta de forma pediculada, e o local de acometimento mais citado é a gengiva, tendo, as outras localizações preferência variável. Nossos resultados corroboram os da literatura.

Acredita-se que a preferência por mulheres jovens ocorra devido aos efeitos vasculares dos hormônios femininos (Jafarzadeh et al., 2006). A etiologia e patogênese desta lesão não são totalmente compreendidas. Estudos *in vitro* mostraram que hormônios sexuais femininos são potenciais reguladores da produção de diversos fatores de crescimento, como fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), em vários tipos celulares (Park et al., 2017; Kanda et al., 2005). Porém, além da influência hormonal, a presença de biofilme bacteriano é necessária para a inflamação gengival. Em muitos casos que ocorrem durante a gravidez, a lesão regride após o parto (Jafarzadeh et al., 2006).

Em nosso estudo, também avaliamos a prevalência da lesão de acordo com a cor dos indivíduos acometidos. Em 75,14% dos casos, a lesão ocorreu em indivíduos leucodermas. Comparando os dois tipos de GP, os indivíduos leucodermas também foram os mais acometidos em ambos. Não encontramos na literatura outro estudo que avaliasse este dado. O Brasil é um país onde a

composição racial é muito miscigenada, e a classificação de cor não é algo fácil de realizar, podendo, então, justificar a maior ocorrência das lesões em pacientes denominados leucodermas. Devido ao componente histórico, pode ser que haja maior dificuldade de pessoas negras/pardas terem acesso a um cirurgião-dentista. Até o momento, não foi encontrado na literatura algum relato sobre maior prevalência em alguma raça determinada.

Toida et al. (2003) observaram que as hipóteses diagnósticas clínicas mais citadas foram, epúlide, fibroma de irritação, granuloma piogênico, “tumor benigno”, “tumor”, granuloma, papiloma e carcinoma, respectivamente. Em nosso levantamento, a HDC mais citada foi GP, seguida de hiperplasia fibrosa inflamatória/fibroma de irritação (que por representarem a mesma lesão, foram agrupadas) e lesão periférica de células gigantes. Acreditamos que esta variedade de lesões como HDC deve-se às características variáveis que o GP pode apresentar, muitas vezes se assemelhando a outras lesões.

Em nosso estudo, 22 casos (13,02%) tiveram histórico de trauma, sendo 12 GPL e 10 GPNL, e o restante (147 – 86,98%) não foi informado. Alguns estudos relatam que parte dos casos pode acompanhar um relato prévio de trauma mecânico (Jafarzadeh et al., 2006; Koo et al., 2017). Epivatianos et al. (2005) encontraram relação entre fatores etiológicos conhecidos e a ocorrência de GPNL, sendo a etiologia do GPL geralmente desconhecida. Porém, a informação de ocorrência ou não de trauma não estava presente em muitos de nossos casos. Isto pode ter ocorrido devido à falta de relato por parte do paciente, por não achar que o trauma esteja associado com a lesão, por não se lembrar; ou por falta de relato do cirurgião-dentista durante o preenchimento da história da lesão, o que se tornou uma limitação.

Quando comparados, GPL e GPNL, Epivatianos et al. (2005) observaram diferença apenas na apresentação clínica. Enquanto os casos de GPL se apresentaram em sua maioria de forma sésil, os GPNL eram pediculados. Em nosso estudo, não encontramos diferença estatística significativa em relação ao tipo de nódulo, mas estes dados estavam presentes apenas em 59,52% dos casos ($p = 0,44$). Rezvani et al. (2010) observaram que ambas as variantes afetaram mais mulheres, sendo que o GPL acometeu pacientes ligeiramente mais jovens do que GPNL. Quanto a localização os autores observaram que os casos de GPL

ocorreram em gengiva e lábios, enquanto que o GPNL ocorreu exclusivamente em gengiva. Nós também avaliamos separadamente as duas variantes, e no nosso estudo também houve diferença na localização, com a variante GPL sendo mais comum em lábio e a GPNL na gengiva, e na idade de acometimento, sendo os GPL de maior ocorrência em pacientes mais jovens que o GPNL. Quanto à gravidez, não obtivemos diferença estatística entre GPL e GPNL.

Alguns autores os classificam como granuloma piogênico tipo hemangioma lobular capilar e tipo não hemangioma lobular capilar, baseado no arranjo lobular dos vasos na lesão (Rezvani et al., 2010; Isaza-Guzman et al., 2012). Apesar da denominação, hoje em dia não são considerados hemangiomas, como os hemangiomas da infância e congênitos.

Avaliamos algumas características microscópicas, comparando os dois tipos histológicos. Estas características foram escolhidas após avaliarmos todas as lâminas coradas em HE, e notarmos as que mais se repetiam e nos chamavam a atenção. Em sua maioria, os GP, tanto lobulares quanto não lobulares, eram ulcerados. Outra característica interessante que avaliamos foi a presença de focos de hiperplasia endotelial papilar intravascular, que é uma lesão vascular não neoplásica, incomum (Inoue et al., 2011). Em sete casos encontramos associação com essa lesão, e um deles foi publicado recentemente (Milhan et al., 2018). Não houve diferença estatística no acometimento entre GPL e GPNL. Dos aspectos microscópicos avaliados, encontramos diferenças estatísticas associadas aos dois tipos de GP apenas em relação ao epitélio atrófico e o aspecto maduro da lesão. O epitélio atrófico foi observado, em sua maioria, nos GPL (51,61%), diferente do GPNL (31,77%) onde o epitélio se encontrava sem alterações de espessura ou ausente/ulcerado. Apesar de ser possível que o GP sofra processo de maturação, em concordância com Epivatianos et al. (2005), em nossos casos ocorreram apenas em GPNL, podendo sugerir que há diferentes caminhos de evolução destes dois tipos histológicos da lesão.

Para a diferenciação entre GP e hemangioma, têm-se empregado a imuno-histoquímica (GLUT-1). Dentre os marcadores mais utilizados para tentativa de diferenciação entre GPL e GPNL estão o VEGF (fator de crescimento vasculoendotelial), actina de músculo liso (AML), GLUT-1, D2-40, CD34, CD105, CD31 e Ki-67. Para realizarmos nossas análises imuno-histoquímicas, foram obtidas

seis imagens das áreas de maior vascularização, sendo três próximas à úlcera, e três distantes da úlcera. Epivatianos et al. (2005) encontraram diferença entre os tipos histológicos quanto ao diâmetro luminal dos vasos, sendo predominantemente maiores no GPNL. Neste trabalho, não avaliamos o diâmetro, e sim a quantidade média de vasos. No GPL encontramos maior número de vasos marcados por CD34, do que no tipo GPNL. A marcação para AML (μm^2) também foi maior no GPL do que no GPNL.

Em uma revisão recente foi observado que os GP são positivos para CD34, CD31 e negativos para GLUT-1, enquanto o hemangioma é sempre positivo para este último marcador (Johnson et al., 2018). Não houve diferença na marcação entre os casos lobulares e não lobulares, sendo que apenas as junções intercelulares do epitélio e hemácias foram positivas para GLUT-1. Realizamos também a marcação com D2-40, a qual evidenciou poucos vasos linfáticos, no tecido conjuntivo, próximo ao epitélio, demonstrando que a lesão era, de fato, de origem vascular sanguínea.

Além do papel em reações alérgicas, os mastócitos também contribuem em vários processos biológicos, inclusive na reparação tecidual e na angiogênese, a partir da liberação de mediadores como histamina, VEGF, Interleucina-6 (IL-6) e Interleucina-8 (IL-8), que aumentam a permeabilidade endotelial e vasodilatação, facilitando a migração de células inflamatórias (Komi et al., 2019). O estudo de Ferreira et al. (2016) sugere que a presença de mastócitos no GP contribua para a estrutura do tecido conjuntivo, e com a função angiogênica. Os autores encontraram uma relação entre a quantidade de microvasos e a quantidade de mastócitos, em lesões reativas, como GPL, HFI e LPCG. Em nossa análise, não correlacionamos a quantidade de microvasos com o número de mastócitos.

Rezvani et al. (2010) concluíram, com a utilização do Ki-67, que o GPL possui maior atividade proliferativa, podendo se comportar de forma mais agressiva do que o GPNL, e que se assemelha mais a uma neoplasia do que a uma lesão reativa. Uma limitação em nosso estudo foi a não realização do marcador imuno-histoquímico Ki-67, que seria um marcador importante para a análise do grau de atividade proliferativa entre os dois tipos de GP, e talvez para a diferenciação entre as duas lesões. Além do Ki-67, outro marcador imuno-histoquímico que poderia ser avaliado é a molécula de adesão intercelular (ICAM-1 ou CD54). ICAM-1 é uma glicoproteína associada a reações imunológicas e inflamatórias (Muller, 2011), e sua

expressão é aumentada em condições inflamatórias (Seyedmajidi et al., 2015). A avaliação deste marcador poderia evidenciar as diferenças entre os tipos histológicos quanto à sua natureza. O estudo de Truss et al. (2006) avaliou citogeneticamente um GPL de cavidade nasal, e foi encontrada uma deleção clonal (21)(q21.2q22.12), que sugere uma natureza mais neoplásica do que reativa para esta lesão. Além deste, outros trabalhos realizaram avaliação citogenética desta lesão, encontrando mutações nos genes *RAS* (Lim et al., 2015; Groesser et al., 2016) e *BRAF* (Groesser et al., 2016; Li et al., 2018). Estes estudos nos mostram que apesar de haver indícios que sugiram uma natureza neoplásica do GP, ainda há controvérsias, visto que foram encontrados resultados diferentes quanto às mutações genéticas.

Neste estudo retrospectivo, avaliamos clinicopatologicamente 169 casos de GP orais, que é um grande número de casos, quando comparado a outros estudos encontrados na literatura (Akamatsu et al., 2015; Toida et al., 2003). Encontramos diferenças clínicas, histológicas e imuno-histoquímicas entre os dois tipos de GP. Os GPL ocorrem em pacientes mais jovens, têm preferência por lábios, em sua maioria possuem epitélio atrófico, não sofrem processo de maturação e possuem maior número de vasos. Estas diferenças encontradas podem sugerir que os dois tipos histológicos sejam diferentes e possuam diferentes origens, porém, outro marcador imuno-histoquímico, como Ki-67, poderia ser realizado para confirmação.

6 CONCLUSÃO

Com este estudo concluímos que:

- a) Dos casos diagnosticados como GP, 5,3% tiveram correção diagnóstica, 36,69% eram lobulares e 63,31% não lobulares;
- b) granuloma piogênico ocorre mais em indivíduos do sexo feminino, leucodermas, tem predileção por sítios gengivais, e 44% dos nódulos são do tipo pediculado. O granuloma piogênico do tipo lobular ocorre em indivíduos mais jovens do que o tipo não lobular, e em lábios; na maioria das vezes possui epitélio atrófico, não sofre processo de maturação;
- c) o granuloma piogênico do tipo lobular é mais vascularizado do que o tipo não lobular, tendo maior número de vasos (CD34 positivos) e maior área positiva para actina de músculo liso; os dois tipos não possuem diferença na quantidade de mastócitos.

REFERÊNCIAS*

- Akamatsu T, Hanai U, Kobayashi M, Miyasaka M. Pyogenic granuloma: a retrospective 10-year analysis of 82 cases. *Tokai J Exp Clin Med.* 2015;40(3):110-4. PubMed PMID: 26369264.
- Al-Mohaya MA, Al-Malik AM. Excision of oral pyogenic granuloma in a diabetic patient with 940nm diode laser. *Saudi Med J.* 2016;37(12):1395-400. doi: 10.15537/smj.2016.12.15941. PubMed PMID: 27874157.
- Alessandrini A, Bruni F, Starace M, Piraccini BM. Periungual pyogenic granuloma: the importance of the medical history. *Skin Appendage Disord.* 2016;1(4):175-8. doi: 10.1159/000444302. PubMed PMID: 27386461.
- Alharbi M, Eber AE, Perper M, ALFalah M, Al-Khenaizan S, Alomair IA, et al. Multifocal congenital pyogenic granuloma successfully treated with oral propranolol. *Pediatr Dermatol.* 2019;36(1):e41-e43. doi: 10.1111/pde.13689. PubMed PMID: 30318648.
- Baek YS, Kwon SH, Jeon J. Combination of ligation and timolol before surgical excision of pyogenic granuloma. *J Am Acad Dermatol.* 2018;78(6):e141-e142. doi: 10.1016/j.jaad.2017.12.065. PubMed PMID: 29307642.
- Chiller KG, Frieden IJ, Arbiser JL. Molecular pathogenesis of vascular anomalies: classification into three categories based upon clinical and biochemical characteristics. *Lymphatic Research and Biology.* 2003;1(4):267-81. doi: 10.1089/153968503322758076.
- Dahiya R, Kathuria A. Extrajugival pyogenic granuloma histologically mimicking capillary hemangioma. *J Indian Soc Periodontol.* 2014;18:641–3. doi:10.4103/0972-124X.142463.
- Dastgheib L, Maghami Z, Aslani FS. Infantile multiple large pyogenic granuloma on burned skin. Case report and review of literature. *An Bras Dermatol.* 2016;91(2):212-4. doi: 10.1590/abd1806-4841.20164060. PubMed PMID: 27192522.
- Epivatianos A, Antoniadou D, Zaraboukas T, Zairi E, Pouloupoulos A, Kiziridou A, et al. Pyogenic granuloma of the oral cavity: comparative study of its clinicopathological and immunohistochemical features. *Pathol Int.* 2005;55:391–7. doi: 10.1111/j.1440-1827.2005.01843.x.
- Fechner RE, Cooper PH, Mills SE. Pyogenic granuloma of the larynx and trachea. An etiological and pathologic misnomer for granulation tissue. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1981;107:30–2.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [atualizado 04 nov 2015; acesso em 25 jun 2017]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Disponível em: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Ferreira SV, Xavier FC, Freitas Mda C, Nunes FD, Gurgel CA, Cangussu MC, et al. Involvement of mast cells and microvessels density in reactive lesions of oral cavity: a comparative immunohistochemical study. *Pathol Res Pract*. 2016;212(9):761-6. doi: 10.1016/j.prp.2016.05.007.

Foot RL, Weidner N, Harris J, Hammond E, Lewis JE, Vuong T, et al. Evaluation of tumor angiogenesis measured with microvessel density (mvd) as a prognostic indicator in nasopharyngeal carcinoma: results of rtog 9505. *Int J Radiation Oncology Biol Phys*. 2005;61(3):745-53. doi: 10.1016/j.ijrobp.2004.07.694.

Freitas TM, Miguel MC, Silveira EJ, Freitas RA, Galvão HC. Assessment of angiogenic markers in oral hemangiomas and pyogenic granulomas. *Exp Mol Pathol*. 2005;79(1):79-85. doi: 10.1016/j.yexmp.2005.02.006. PubMed PMID: 16005715.

Frumkin N, Nashef R, Shapira L, Wilensky A. Nonsurgical treatment of recurrent gingival pyogenic granuloma: a case report. *Quintessence Int*. 2015;46(6):539-44. doi: 10.3290/j.qi.a33992. PubMed PMID: 25941680.

Goldblum JR, Folpe AL, Weiss SW. *Enzinger & Weiss's Soft tissue tumors*. 6th ed. St. Louis: Saunders; 2013.

Gomes SR, Shakir QJ, Thaker PV, Tavadia JK. Pyogenic granuloma of the gingiva: a misnomer? – A case report and review of literature. *J Indian Soc Periodontol*. 2013;17(4):514-9. doi: 10.4103/0972-124X.118327. PubMed PMID: 24174735.

Groesser L, Peterhof E, Evert M, Landthaler M, Berneburg M, Hafner C. BRAF and RAS mutations in sporadic and secondary pyogenic granuloma. *J Invest Dermatol*. 2016;136(2):481-6. doi: 10.1038/JID.2015.376. PubMed PMID: 26802240.

Hartzell MB. Granuloma pyogenicum. *J Cutan Dis Syph*. 1904;22:520-5.

Hullihen SP. Case of aneurism by anastomosis of the superior maxillare. *Am J Dent Sci*. 1844;3(3):160-2. PubMed PMID: 30749326.

Inoue H, Miyazaki Y, Kikuchi K, Fujinami M, Yoshida N, Ide F, et al. Intravascular papillary endothelial hyperplasia of the oral cavity. *J Oral Sci*. 2011;53(4):475-80.

International Society for the Study of Vascular Anomalies - ISSVA [Internet]. [cited 2019 march]. Classification of Vascular Anomalies ©2018. Available from: <http://www.issva.org/UserFiles/file/ISSVA-Classification-2018.pdf>

Isaza-Guzmán DM, Teller-Carrero CB, Laberry-Bermúdez MP, González-Pérez LV, Tobón-Arroyave SI. Assessment of clinicopathological characteristics and immunoexpression of COX-2 and IL-10 in oral pyogenic granuloma. *Arch Oral Biol*. 2012;57(5):503-12. doi:10.1016/j.archoralbio.2011.11.004.

Jafarzadeh H, Sanatkhan M, Mohtasham N. Oral pyogenic granuloma: a review. *Journal of Oral Science*. 2006;48(4):167-75.

Johann ACBR, Salla JT, Gomez RS, Aguiar MCF, Gontijo B, Mesquita RA. Glut-1 in oral benign vascular lesions. *Oral Diseases*. 2007;13:51-5. doi: 10.1111/j.1601-0825.2006.01246.x.

Johnson EF, Davis DM, Tollefson MM, Fritchie K, Gibson LE. Vascular tumors in infants: case report and review of clinical, histopathologic, and immunohistochemical characteristics of infantile hemangioma, pyogenic granuloma, noninvoluting congenital hemangioma, tufted angioma, and kaposiform hemangioendothelioma. *Am J Dermatopathol*. 2018;40(4):231-9. doi: 10.1097/DAD.0000000000000983.

Kamal R, Dahiya P, Puri A. Oral pyogenic granuloma: various concepts of etiopathogenesis. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2012;16(1):79-82. doi: 10.4103/0973-029X.92978.

Kanda N, Watanabe S. Regulatory roles of sex hormones in cutaneous biology and immunology. *J Dermatol Sci*. 2005;38(1):1-7. doi: 10.1016/j.jdermsci.2004.10.011.

Komi DEA, Khomtchouk K, Santa Maria PL. A review of the contribution of mast cells in wound healing: involved molecular and cellular mechanisms. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019; Feb 7. doi:10.1007/s12016-019-08729-w [Epub ahead of print]

Koo MG, Lee SH, Han SE. Pyogenic granuloma: a retrospective analysis of cases treated over a 10-year. *Arch Craniofac Surg*. 2017;18(1):16-20. doi: 10.7181/acfs.2017.18.1.16. PubMed PMID: 28913297.

Krishnapillai R, Punnoose K, Angadi PV, Koneru A. Oral pyogenic granuloma – a review of 215 cases in a south indian teaching hospital, Karnataka, over a period of 20 years. *Oral Maxillofac Surg*. 2012;16:305-9. doi: 10.1007/s10006-012-0315-z.

Li G, Adams E, Eshleman JR, Eberhart CG. No BRAF V600E mutation identified in 28 periocular pyogenic granuloma. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*. 2018;34(6):525-7. doi: 10.1097/IOP.0000000000001075. PubMed PMID: 29406329.

Lim YH, Douglas SR, Ko CJ, Antaya RJ, McNiff JM, Zhou J, et al. Somatic activating RAS mutations cause vascular tumors including pyogenic granuloma. *J Invest Dermatol*. 2015;135(6):1698-700. doi: 10.1038/jid.2015.55. PubMed PMID: 25695684.

Mashiah J, Hadj-Rabia S, Slodownik D, Harel A, Sprecher E, Kutz A. Effectiveness of topical propranolol 4% gel in the treatment of pyogenic granuloma in children. *J Dermatol*. 2019;46(3):245-8. doi: 10.1111/1346-8138.14740. PubMed PMID: 30593715.

Milhan NVM, Torquato LC, Costa V, De Marco AC, Carvalho YR, Anbinder AL. A mixed form of intravascular papillary endothelial hyperplasia in an uncommon location: case and literature review. *Dermatol Online J*. 2018;24(2). pii: 13030/qt2dk039r1. PubMed PMID: 29630155.

Mills SE, Cooper PH, Fechner RE. Lobular capillary hemangioma: the underlying lesion of pyogenic granuloma. A study of 73 cases from the oral and nasal mucous membranes. *Am J Surg Pathol*. 1980;4:470-9.

Muller WA. Mechanisms of leukocyte transendothelial migration. *Annu Rev Pathol*. 2011;6:323-44. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130224. PubMed PMID: 21073340.

Neri I, Baraldi C, Balestri R, Piraccini BM, Patrizi A. Topical 1% propranolol ointment with occlusion in treatment of pyogenic granulomas: an open-label study in 22 children. *Pediatr Dermatol*. 2018;35(1):117-20. doi: 10.1111/pde.13372. PubMed PMID: 29266656.

Parajuli R, Maharjan S. Unusual presentation of oral pyogenic granulomas: a review of two cases. *Clin Case Rep*. 2018;6(4):690-3. doi: 10.1002/ccr3.1435. PubMed PMID: 29636941.

Park SH, Lee JH, Tak MS, Lee HJ, Choi HJ. A research of pyogenic granuloma genesis factor with immunohistochemical analysis. *J Craniofac Surg*. 2017;28:2068-72. doi: 10.1097/SCS.00000000000004148.

Patrice SJ, Wiss K, Mulliken JB. Pyogenic granuloma (lobular capillary hemangioma): a clinicopathological study of 178 cases. *Pediatr Dermatol*. 1991;8:267-76.

Rezvani G, Azarpira N, Bitra G, Zeynab R. Proliferative activity in oral pyogenic granuloma: a comparative immunohistochemical study. *Indian J Pathol Microbiol*. 2010;53:403-7. doi: 10.4103/0377-4929.68242.

Saghafi S, Amoueian S, Montazer M, Bostan R. Assessment of VEGF, CD-31 and Ki-67 immunohistochemical markers in oral pyogenic granuloma: a comparison with hemangioma and inflammatory gingivitis. *Iran J Basic Med Sci*. 2011;14(2):185-9.

Saravana GHL. Oral pyogenic granuloma: a review of 137 cases. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2009;47(4):318-9.

Seyedmajidi M, Shafaei S, Hashemipour G, Bijani A, Ehsani H. Immunohistochemical evaluation of angiogenesis related markers in pyogenic granuloma of gingiva. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(17):7513-6. PubMed PMID: 26625754.

Toida M, Hasegawa T, Watanabe F, Kato K, Makita H, Fujitsuka H, et al. Lobular capillary hemangioma of the oral mucosa: clinicopathological study of 43 cases with a special reference to immunohistochemical characterization of the vascular elements. *Pathol Int*. 2003;53(1):1-7. PubMed PMID: 12558863.

Truss L, Dobin SM, Donner LR. Deletion (21)(q21.2q22.12) as a sole clonal cytogenetic abnormality in a lobular capillary hemangioma of the nasal cavity. *Cancer Genet Cytogenet*. 2006;170(1):69-70.

Vasconcelos MG, Alves PM, Vasconcelos RG, da Silveira ÉDJ, Medeiros AMC, de Queiroz LMG. Expression of CD34 and CD105 as markers for angiogenesis in oral vascular malformations and pyogenic granulomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2011;268(8):1213-7. doi: 10.1007/s00405-010-1472-z. PubMed PMID: 21221622.

Vassilopoulos SI, Tosios KI, Panis VG, Vrotsos JA. Endothelial cells of oral pyogenic granulomas express eNOS and CD105/endoglin: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med*. 2011;40(4):345-51. doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00969.x. PubMed PMID: 21073538.

Wassef M, Blei F, Adams D, Alomari A, Baselga E, Berenstein A, et al. Vascular anomalies classification: recommendations from the international society for the study of vascular anomalies. *Pediatrics*. 2015;136(1):e203-14. doi: 10.1542/peds.2014-3673. PubMed PMID: 26055853.

Ye C, Pan L, Huang Y, Ye R, Han A, Li S, et al. Somatic mutations in exon 17 of the TEK gene in vascular tumors and vascular malformations. *J Vasc Surg*. 2011;54(6):1760-8. doi: 10.1016/j.jvs.2011.06.098. PubMed PMID: 21962923.

Yuan K, Jin YT, Lin MT. The detection and comparison of angiogenesis-associated factors in pyogenic granuloma by immunohistochemistry. *J Periodontol*. 2000;71(5):701-9.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética

INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Prevalência, reclassificação e estudo imuno-histoquímico de lesões vasculares benignas bucais

Pesquisador: Ana Lia Anbinder

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 43557715.3.0000.0077

Instituição Proponente: Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos - UNESP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.033.301

Data da Relatoria: 17/04/2015

Apresentação do Projeto:

As lesões vasculares benignas compõem um grupo específico de lesões que comumente afetam a região oral, tendo seu diagnóstico geralmente baseado em suas características clínicas. No entanto, o diagnóstico destas lesões é difícil e muitas vezes costuma-se classificá-las genericamente como hemangiomas. O objetivo do presente estudo é revisar todos os casos de lesões vasculares benignas do nosso serviço de patologia bucal de acordo com a classificação mais recente da Sociedade Internacional para o Estudo de Anomalias Vasculares (ISSVA), além de realizar o estudo imuno-histoquímico das mesmas. Desta maneira, poderemos também contribuir para o estudo das características histológicas deste grupo de lesões especialmente em boca, levando ao diagnóstico e tratamentos corretos. Serão revisados os laudos de 12 mil casos do nosso serviço e selecionados os que apresentem diagnóstico de quaisquer lesão vascular benigna. Serão coletados ainda dados como sexo, idade, local da lesão e hipótese diagnóstica clínica. Todas as lâminas coradas em hematoxilina e eosina (HE) lesões serão avaliadas morfológicamente por dois patologistas

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12245-000

UF: SP

Município: SÃO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph@focj.unesp.br

INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA CAMPUS SÃO JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP



Continuação do Parecer: 1.033.301

experientes. Em levantamento prévio, encontramos em nosso arquivo 242 diagnósticos de granuloma piogênico, 2 malformações vasculares, 79 hemangiomas e 27 linfangiomas. Os dados serão tabulados e a prevalência das lesões, determinada. Serão ainda realizadas colorações histoquímicas (tricrômico de Masson e resorcina-fucsina de Weigert) e imuno-histoquímicas (PCNA, CD34, VEGF, PCNA, GLUT-1, D2-40 (vasos linfáticos) e S100) de até 10 casos de cada diagnóstico. Depois das reações, o padrão de marcação será avaliado e as lâminas serão classificadas qualitativa e/ou semi-quantitativamente. Os dados serão avaliados e correlacionados de acordo com o diagnóstico final de cada lesão, e apresentados em forma de tabelas e gráficos. Palavras-chave: hemangioma, granuloma piogênico, imuno-histoquímica Instituição sede: Instituto de Ciência e Tecnologia-Campus São José dos Campos- Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Reclassificação diagnóstica histológica, análise da prevalência das lesões vasculares benignas do arquivo do laboratório de Patologia Bucal do

Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal do ICT-UNESP de São José dos Campos.

Objetivo Secundário:

Reclassificar morfológicamente as lesões vasculares benignas do arquivo do laboratório de Patologia Bucal do Departamento de Biociências e

Diagnóstico Bucal do ICT-UNESP de São José dos Campos de acordo com os critérios atuais propostos pela ISSVA, correlacionando o diagnóstico

com o padrão de marcação: a) Histoquímica com Tricrômico de Masson e Weigert b) Imuno-histoquímica para PCNA, CD34, VEGF, GLUT-1, D2-40 e

S100. B. Avaliar a prevalência das lesões estudadas em relação a sexo, idade e localização anatômica e hipótese diagnóstica clínica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não Há riscos.

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777

Bairro: Jardim São Dimas

CEP: 12.245-000

UF: SP

Município: SAO JOSE DOS CAMPOS

Telefone: (12)3947-9078

Fax: (12)3947-9010

E-mail: ceph@fosjc.unesp.br

**INSTITUTO DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA CAMPUS SÃO
JOSÉ DOS CAMPOS - UNESP**



Continuação do Parecer: 1.033.301

Benefícios:

O projeto beneficia comunidade científica de modo que garante dados corretos do banco de casos clínicos da Universidade de São José dos Campos. Além disso permite realização de outras pesquisas científicas com utilização desses dados. A exatidão dos dados garante diagnósticos mais precisos e também condutas e prescrições adequadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

NDC

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequado

Recomendações:

NDC

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

NDC

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

O Colegiado confirma o parecer da relatora.

SAO JOSE DOS CAMPOS, 23 de Abril de 2015

**Assinado por:
Denise Nicodemo
(Coordenador)**

Endereço: Av. Engº Francisco José Longo 777
Bairro: Jardim São Dimas **CEP:** 12.245-000
UF: SP **Município:** SAO JOSE DOS CAMPOS
Telefone: (12)3947-9078 **Fax:** (12)3947-9010 **E-mail:** ceph@fosjc.unesp.br