

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

JOYCE NATIELE DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA, MICROSCÓPICA E DA  
DENSIDADE VASCULAR EM FIBROMA DE CÉLULAS GIGANTES**

Alfenas/MG

2017

JOYCE NATIELE DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA, MICROSCÓPICA E DA  
DENSIDADE VASCULAR EM FIBROMA DE CÉLULAS GIGANTES**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)  
Orientador: Prof. Dr. Alessandro Antônio Costa Pereira.

Alfenas/MG  
2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central – Campus Sede

S586c Silva, Joyce Natiele da.  
Caracterização clínico-patológica, microscópica e da densidade vascular em fibroma de células gigantes / Joyce Natiele da Silva. -- Alfenas -- MG, 2018.  
71 f. : il. –

Orientador: Alessandro Antônio Costa Pereira.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) – Universidade Federal de Alfenas, 2018.  
Bibliografia.

1. Fibroma. 2. Células gigantes. 3. Imuno-histoquímica. 4. Vasos sanguíneos. I. Pereira, Alessandro Antônio Costa. II. Título.

CDD–617.6



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG  
Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas  
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Alfenas/MG . CEP 37130-000



JOYCE NATIELE DA SILVA

**Caracterização Clínico-Patológica, Microscópica E Da Densidade Vascular Em  
Fibroma De Células Gigantes**

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a  
Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de Mestre em  
Ciências Odontológicas pela Universidade  
Federal de Alfenas. Área de concentração:  
Odontologia.

Aprovado em: 20/12/2017

Prof. Dr. Alessandro Antônio Costa Pereira  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas  
UNIFAL-MG

Assinatura: \_\_\_\_\_

Profa. Dra. Natália Galvão Garcia  
Instituição: Universidade de São Paulo  
USP

Assinatura: \_\_\_\_\_

Profa. Dra. Juliana dos Santos Neves  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas  
UNIFAL-MG

Assinatura: \_\_\_\_\_

Dedico este trabalho a Deus e à minha família, em especial aos meus pais: Antônio e Helena e minha irmã: Thamires pela confiança e carinho depositado em todo este trajeto. Ao meu namorado: Lineker pelo amor e compreensão em momentos de ausência e minha madrinha: Maria Aparecida por me incentivar a seguir a carreira docente.

## AGRADECIMENTOS

Agradecer, tarefa respeitosa e digna de demonstrar o quanto resultamos das vontades de Deus e dos incentivos das pessoas que nos amam. Agradeço inicialmente ao nosso bondoso Pai por permitir o seguimento de todo esse caminho com aprendizado, bençãos e força.

Aos meus pais e minha irmã que viveram juntos a mim este sonho e que com todo o amor e simplicidade me orientaram a prosseguir naquilo que eu almejava. Agradeço cada oração, palavra de estímulo e conforto.

Ao meu namorado que acompanhou de perto minha carreira, estudos e foi compreensivo perante minha ausência. Por ter ouvido por horas os assuntos que não compreendia, os meus planos e minhas ansiedades.

À minha madrinha Maria Aparecida Barreto pelo incentivo que mesmo à distância se tornava um conforto. Amiga que longe fisicamente se fez perto, procurando saber como estava o mestrado e desejando sucesso em cada primeiro passo.

Ao professor Dr. Alessandro Antônio Costa Pereira por sua receptividade, orientação e exemplo de mestre e profissional, permitindo-me acompanhar a rotina do laboratório. Agradeço por toda amizade, confiança e respeito dispensados a mim nesses dois anos que passei como mestranda. Ser orientada por este grande profissional é motivo de orgulho. Estou certa de que a orientação recebida foi valiosa e que honrarei a missão de educar.

Ao professor Dr. João Adolfo Costa Hanemann por abrir as portas da Clínica de Estomatologia para que eu pudesse executar meus estágios e absorver os conhecimentos tão valiosos ofertados por ele.

À professora Dr<sup>a</sup> Marina Lara de Carli e ao professor Dr. Felipe Fornias Sperandio pelo auxílio nas recorrentes necessidades e parceria em publicações de artigos.

À professora Dr<sup>a</sup> Raquel Lopes Martins Souza do laboratório de Patologia por conceder a utilização do laboratório, pelo qual é responsável, para realização da pesquisa.

À instituição Unifal-MG com toda sua infra-estrutura, funcionários, professores e alunos da qual me acolheram com respeito e permitiram que meu aprendizado e pesquisa fosse executada.

À Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, na figura de sua pró-reitora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eva Burguer.

À Faculdade de Odontologia da Unifal-MG, na figura do coordenador prof. Dr. Victor Humberto Orbegoso Flores local onde exerci estágio docente, participei de disciplinas e adquiri experiência.

Ao professor Dr. Denismar Alves Nogueira pela contribuição na análise estatística deste trabalho e ao prof. Matheus Pereira de Araújo pela ajuda durante a execução da metodologia.

À Professora Dr<sup>a</sup> Maria Ângela Rodrigues do laboratório de patologia e à funcionária Maria Helena Miranda Moraes pelo convívio sempre alegre com horas enriquecedoras de conversas, com palavras doces de amizade.

Aos colegas do mestrado em especial a Bianca, Mayara e Clenivaldo pelo companheirismo durante toda esta etapa. Só nós sabemos o quanto nos empenhamos para chegar até aqui, das longas jornadas de estudos e viagem para adquirir os conhecimentos.

À Unifenas campus - Varginha com seus professores em especial, Patrícia Pereira Lucif, Eduardo Pereira Guimarães, Érika Pasqua Tavares e Andressa Araújo Swerts que alimentaram a minha expectativa quando ainda era graduanda a exercer a carreira docente. E esse agradecimento se estende também à funcionária Michele Soares que durante a graduação observou em mim o dom de ensinar.

Aos profissionais da Prefeitura Municipal de Elói Mendes, em especial à Ângela Maria Bueno, Ana Carolina Bueno e Regiane Aparecida da Silva que me compreenderam e respeitaram meu trabalho.

Por fim, a todos que acreditaram em meu potencial e torceram pela minha formação e também àqueles que me desafiaram e por alguma razão eu quis surpreendê- los.

“E, tudo o que pedirdes em oração,  
crendo, o recebereis.”

Leitura Bíblica: MATEUS 21, 22.

## RESUMO

O fibroma de células gigantes (FCG) é considerado uma lesão neoplásica, onde as células gigantes mono, bi ou multinucleadas, e as células fusiformes e estreladas representam a sua principal característica. A fim de contribuir para um melhor conhecimento do perfil biológico dessa lesão, este trabalho teve como objetivo analisar os aspectos clínico-patológicos e microscópicos em hematoxilina e eosina de 25 casos de FCG e da densidade vascular média dessas mesmas lesões do Laboratório de Patologia Bucal do Departamento de Patologia e Parasitologia da Universidade Federal de Alfenas, por meio da imuno-histoquímica utilizando o CD 34. Em relação ao dados clínicos, os resultados revelaram que 68% dos casos de FCG eram do gênero feminino e 86,7% correspondiam ao tipo leucoderma. A faixa de 51-60 anos teve maior frequência com 31,3% e 72% dos casos eram assintomático. Quando submetido ao teste estatístico, a língua e a mucosa jugal se revelaram as localizações de maior ocorrência do FCG, 32% e 20% respectivamente. Microscopicamente no FCG o epitélio era hiperplásico (88%) e pararaqueratinizado (60%); 76% e 64% apresentaram poucas células na lâmina própria e na faixa subepitelial respectivamente, 44% apresentaram cristas longas no epitélio e 72% fibras espessas em todo o tecido conjuntivo. Em relação à quantidade de vasos sanguíneos, 72% dos FCG apresentaram pouca ou discreta vascularização e 64% não eram vasodilatados e nem hiperêmicos. Em 60% havia discreta inflamação e até 5 células gigantes por campo e 48% dessas células eram mononucleadas. A imuno-histoquímica utilizando o CD 34 foi realizada e a densidade vascular média (DVM) em uma área de 56 mm<sup>2</sup> na região subepitelial teve mediana de: 6,84 com  $p= 0.0679$  (0,13 microvasos por mm<sup>2</sup>) e na região profunda: 3,67 com  $p= 0.0679$  (0,07 microvasos por mm<sup>2</sup>). Na região subepitelial o valor de  $p$  foi ( $p= 0,5133$ ) e região profunda ( $p= 0,9526$ ) não havendo portanto, diferença estatística quando verificado a DVM entre as lesões e também do número de vasos nos casos com diferentes quantidades de células gigantes. A caracterização clínico-patológica, microscópica e da DVM do FCG se faz necessário em novas pesquisas por ser uma neoplasia em discussão com as outras lesões fibrosas.

**Palavras-Chave:** fibroma. Células gigantes. Imuno-histoquímica. Vasos sanguíneos.

## ABSTRACT

Giant Cell Fibroma (GCF) is considered to be a neoplastic lesion mainly constituted by giant cells, either mono or binucleated, and fusiform and stellate cells. In order to elucidate the biological behavior of GCF, this study aimed to analyze the clinicopathologic and microscopic aspects in hematoxylin and eosin of 25 GCF cases and the mean vascular density of these same lesions of the Oral Pathology Laboratory collection at the Department of Pathology and Parasitology of the Federal University of Alfenas, using immunohistochemistry using CD34. Regarding clinical data, the results indicated that 68% of GCF cases belonged to females, whilst 86.7% corresponded to white patients. The most frequent age range was 51-60 (31.3%), and 72% of cases were asymptomatic. Statistical analyses revealed tongue and buccal mucosa as the most frequent sites for GCF (32 and 20%, respectively). Microscopically, GCF lesions presented hyperplastic (88%) and parakeratinized (60%) epithelium; 76% and 64% of the lesions contained few cells in the lamina propria and in the sub-epithelial portion, respectively. 44% showed elongated epithelial crests and 72% presented thick fibers spread throughout all the connective tissue. Concerning the amount of blood vessels, 72% of GCF were related to mild or discrete vascularization, and 64% of those vessels were not congested or hyperemic. 60% of GCF showed discrete inflammation and up to 5 giant cells per observed field, being 48% of these cells mononucleated. CD34 immunohistochemistry was conducted in and the medium vascular density (MVD) in a 56 mm<sup>2</sup> area in the sub-epithelial region presented a median of 6.84 and a P value of 0.0679 (0.13 microvessels per mm<sup>2</sup>) and in the deep region 3.67 (P=0.0679 – 0.07 microvessels per mm<sup>2</sup>). In the sub-epithelial region the P value was 0.5133 and in the deep region 0.9526, therefore lacking statistically significant differences regarding MVD among lesions and number of vessels in cases with different quantities of giant cells. The clinicopathologic, microscopic and MVD characterizations of GCF should indeed be further explored, as GCF is a neoplastic disease to be considered among other fibrous oral lesions.

**Keywords:** fibroma. Giant cells. Immunohistochemistry. Blood vessels.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Ilustração da captura dos campos utilizando o software AxioVision Rel 4.8.2 (Carl Zeiss, Jena, Alemanha) .....	<b>31</b>
Figura 2-	Contagem manual dos vasos sanguíneos (x em vermelho) feito no Programa AxioVision 4.....	<b>31</b>
Figura 3-	Aspecto microscópico do FCG com epitélio pavimentoso estratificado e o tecido conjuntivo fibroso com células gigantes. HE e objetiva de 10X.....	<b>39</b>
Figura 4-	Aspecto microscópico do FCG com epitélio pavimentoso estratificado, hiperplásico e paraqueratinizado. HE e objetiva de 20X.....	<b>40</b>
Figura 5-	Aspecto microscópico de faixa subepitelial e lâmina própria pouco celularizada e presença de fibras colágenas espessas. HE e objetiva de 20X.....	<b>42</b>
Figura 6-	Aspecto microscópico do FCG com células gigantes mono e binucleadas, algumas com morfologia estrelada. HE e objetiva de 40X.....	<b>45</b>
Figura 7-	Expressão imuno-histoquímica do CD 34 em vasos sanguíneos no FCG. Objetiva de 10X.....	<b>46</b>
Figura 8-	Expressão imuno-histoquímica do CD 34 em vasos sanguíneos em região subepitelial. Objetiva de 40X.....	<b>48</b>
Figura 9-	Expressão imuno-histoquímica do CD 34 em vasos sanguíneos em região profunda. Objetiva de 40X.....	<b>50</b>

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1-	Frequência e porcentagem de gênero.....	<b>34</b>
Gráfico 2-	Frequência e porcentagem sobre localização clínica.....	<b>38</b>
Gráfico 3-	Variação da DVM na região Subepitelial (56 mm <sup>2</sup> ).....	<b>47</b>
Gráfico 4-	Variação da DVM na região subepitelial (mm <sup>2</sup> ).....	<b>47</b>
Gráfico 5-	Variação da DVM na região profunda (56 mm <sup>2</sup> ).....	<b>48</b>
Gráfico 6-	Variação da DVM na região profunda (mm <sup>2</sup> ).....	<b>49</b>
Gráfico 7-	Relação da DVM com a quantidade de células gigantes (subepitelial).....	<b>50</b>
Gráfico 8-	Relação da DVM com a quantidade de células gigantes (profunda).....	<b>51</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Imunomarcadores utilizados em pesquisas no FCG e relação dos autores que os utilizaram.....	19
Tabela 2-	Resultados das pesquisas imuno-histoquímicas realizadas em FCG.....	20
Tabela 3-	Anticorpo primário utilizado na reação imuno-histoquímica.....	29
Tabela 4-	Informações sobre os pacientes e história da doença atual.....	33
Tabela 5-	Frequência e porcentagem sobre a cor da pele.....	34
Tabela 6-	Frequência e porcentagem sobre idade.....	35
Tabela 7-	Frequência e porcentagem sobre sintomatologia.....	35
Tabela 8-	Informações sobre os dados clínicos.....	36
Tabela 9-	Informações sobre biópsia e medida macroscópica.....	37
Tabela 10-	Frequência e porcentagem do tipo de biópsia realizada.....	38
Tabela 11-	Frequência e porcentagem do epitélio hiperplásico, atrófico, ortoqueratinizado e paraqueratinizado.....	39
Tabela 12-	Frequência e porcentagem da presença e forma das cristas epiteliais.....	40
Tabela 13-	Frequência e porcentagem da lâmina própria e faixa subepitelial celularizada.....	41
Tabela 14-	Frequência e porcentagem das características das fibras colágenas.....	41
Tabela 15-	Frequência e porcentagem da quantidade de vasos sanguíneos.....	42
Tabela 16-	Frequência e porcentagem da hiperemia e dilatação dos vasos sanguíneos.....	43
Tabela 17-	Frequência e porcentagem do infiltrado inflamatório.....	43
Tabela 18-	Frequência e porcentagem da quantidade de células gigantes...	44
Tabela 19-	Frequência e porcentagem do número de núcleos.....	44
Tabela 20-	Localização clínica de maior ocorrência.....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Bax</b>	-Proteína pró-apoptótica
<b>BCL 2</b>	-Proteína anti-apoptótica
<b>CD 31</b>	-Grupo de diferenciação CD 31 (do inglês “Cluster of Differentiation”)
<b>CD 34</b>	-Grupo de diferenciação CD 34 (do inglês “Cluster of Differentiation”)
<b>CD 68</b>	-Grupo de diferenciação CD 68 (do inglês “Cluster of Differentiation”)
<b>DVM</b>	-Densidade vascular média
<b>F</b>	-Feminino
<b>FCG</b>	-Fibroma de Células Gigantes
<b>GFAP</b>	-Proteína ácida fibrilar glial (do inglês “Glial Fibrillary Acidic Protein”)
<b>GP</b>	-Granuloma Piogênico
<b>HE</b>	-Hematoxilina e eosina
<b>HFI</b>	-Hiperplasia Fibrosa Inflamatória
<b>HHF-35</b>	-Actina músculo específica HHF-35
<b>Ki-67</b>	-Anticorpo monoclonal Ki-67, relacionado à proliferação celular
<b>LCA</b>	-Anticorpo monoclonal “Antígeno Comum dos Leucócitos”
<b>M</b>	-Masculino
<b>mm<sup>2</sup></b>	-Milímetro quadrado
<b>MNF 116</b>	-Anticorpo de citoqueratina MNF 116
<b>PCNA</b>	-Antígeno Nuclear de Proliferação Celular
<b>P63</b>	-Proteína tumoral P63, marcador de células mioepiteliais
<b>S-100</b>	-Proteína Solúvel 100
<b>UNIFAL</b>	-Universidade Federal de Alfenas
<b>X III a</b>	-Fator de estabilização da fibrina e fibrinoligase
<b>α SMA</b>	-Actina do músculo liso alfa
<b>5B5</b>	-Anticorpo monoclonal 5B5
<b>μm</b>	-Micrômetro
<b>--</b>	-Não fornecido
<b>+</b>	-Positivo
<b>-</b>	-Negativo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
2.1	Aspectos clínicos do FCG .....	16
2.2	Aspectos microscópicos do FCG .....	17
2.3	Tratamento do FCG .....	17
2.4	Imuno-histoquímica e métodos de coloração para identificar a origem das células gigantes .....	18
2.5	Angiogênese.....	23
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
4.1	Questões éticas.....	27
4.2	Casuística e seleção da amostra.....	27
4.3	Coloração em hematoxilina e eosina.....	28
4.4	Análise microscópica: lâminas coradas em hematoxilina e eosina.....	28
4.5	Reação imuno-histoquímica.....	28
4.6	Análise microscópica: lâminas submetidas à reação imuno-histoquímica.....	30
4.7	Análise estatística.....	32
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
5.1	Aspectos clínicos.....	33
5.2	Aspectos microscópicos .....	38
5.3	Avaliação da densidade vascular média.....	45
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>60</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>61</b>
	<b>ANEXO</b> .....	<b>66</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O fibroma de células gigantes (FCG) é um tumor benigno com características clínicas semelhantes às de outras lesões fibrosas, porém com características microscópicas que permitem distingui-lo (JIMSON; JIMSON, 2013; PANDITA et al., 2014; SABARINATH; SIVARAMAKRISHNAN; SIVAPATHASUNDHARAM, 2012).

Clinicamente, o FCG é uma lesão séssil ou pediculada com coloração normal da mucosa da boca, medindo de 0,5 a 1 cm, mais frequente na gengiva, podendo ocorrer também na língua, assoalho, palato, mucosa jugal e lábio (JIMSON; JIMSON, 2013; NEVILLE et al., 2016; PANDITA et al., 2014; SABARINATH; SIVARAMAKRISHNAN; SIVAPATHASUNDHARAM, 2012).

Microscopicamente, apresenta revestimento epitelial pavimentoso estratificado hiperplásico, tecido conjuntivo fibroso geralmente arranjado frouxamente, com ausência de inflamação e presença de células gigantes mono, bi e multinucleadas, fusiformes ou estreladas na lâmina própria papilar (CAMPOS; GOMEZ, 1999; JIMSON; JIMSON, 2013; MAGNUSSON; RASMUSSEN, 1995; MIGUEL; RONINSON; HUME, 1997; MIGUEL et al. 2003; ODELL; LOCK; LOMBARDI, 1994; OKAMURA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2016; SANTOS et al., 2011; TOLENTINO; CENTURION; DAMANTE, 2009).

As células gigantes encontradas no FCG podem ser encontradas também em outras lesões fibrosas bucais, como a hiperplasia fibrosa inflamatória, o fibroma, e a papila retrocanina (MIGUEL et al., 2003; ODELL; LOCK; LOMBARDI, 1994).

As células de Langerhans foram cogitadas como representando estas células gigantes do FCG, mas foram excluídas devido ao fato dos grânulos de Birbeck não serem identificados nestas células em estudos ultraestruturais. A hipótese das células gigantes derivarem de melanócitos também foi cogitada, mas não há positividade para a proteína S-100 que a sustente (BAKOS, 1992).

A busca pela origem destas células gigantes na literatura foi realizada pela imuno-histoquímica utilizando os diversos marcadores biológicos: CD68 (marcador de identificação de macrófagos), XIIIa (marcador dendrocítico), vimentina (marcador de células mesenquimais como o fibroblasto), antígeno comum de leucócitos (marcador de leucócitos), HHF-35 (marcador de miofibroblastos), neurofilamento (marcador de antígeno localizado em tumores endócrinos, neuroendócrinos e

neurais), triptase (marcador de mastócitos), PCNA (marcador de atividade proliferativa), KI-67 (marcador do ciclo celular), MNF116 (marcador de tumores epiteliais), GFAP (marcador de endotélio vascular), citoqueratina (marcador de citoplasma), prolil 4 hidroxilase (marcador de fibroblastos), bax (marcador apoptótico), bcl 2 (marcador apoptótico), P63 (marcador de células mioepiteliais), S100 (marcador de melanócitos, células da glia),  $\alpha$  SMA (marcador de miofibroblastos), desmina (é expresso em músculos lisos normais esqueléticos e cardíacos), CD31 (marcador de monócitos, vasos sanguíneos), CD34 (marcador de endotélio vascular) (CAMPOS; GOMEZ, 1999; JIMSON; JIMSON, 2013; MAGNUSSON; RASMUSSEN, 1995; MIGUEL et al., 2003; ODELL; LOCK; LOMBARDI, 1994; OKAMURA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2016).

A vimentina que foi o imunomarcador mais utilizado nas pesquisas de busca pela origem das células gigantes, é um marcador de células mesenquimais como os fibroblastos e por isso, por apresentar positividade nos casos de FCG estudados as células gigantes, mono, bi ou multinucleadas sugerem possível natureza fibroblástica (ARDILA; GUZMÁN, 2010; JIMSON; JIMSON, 2013; MIGUEL et al., 2003; SHAPIRA; AKRISH, 2011; SONALIKA, 2014).

A vascularização no FCG é geralmente proeminente, com capilares bem formados e vênulas (WEATHERS; CALLIHAN, 1974). O FCG é uma neoplasia benigna e as neoplasias apresentam crescimento tecidual excessivo, com autonomia e não dependem de continuidade de estímulo. O crescimento tumoral ocorre com a indução da angiogênese, onde há uma formação de novos vasos sanguíneos para o fornecimento de oxigênio e nutrientes essenciais para seu crescimento (MOGHADAM; ABADI; MOKHTARI, 2015). Para entender melhor a presença e a quantidade dos vasos sanguíneos no FCG é necessário a utilização de marcadores biológicos como o anti-CD34. Não foi encontrado até o momento, na literatura pesquisada, estudo imuno-histoquímico do anti-CD34 em FCG com a finalidade de analisar os vasos sanguíneos, sendo este trabalho o primeiro a realizar esta investigação. Analisar os dados clínicos e da microscopia óptica dos cortes corados em hematoxilina e eosina dos casos de FCG poderá contribuir também para entender o comportamento da lesão.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

O fibroma de células gigantes (FCG) foi descrito pela primeira vez por Weathers e Callihan em 1974, que era previamente descrito em termos como fibroma, hiperplasia fibrosa ou pólipio fibroepitelial. Por apresentar características histológicas incomuns e distintivas justificou-se a separação e reclassificação como uma entidade separada. Weathers e Callihan analisaram mais de 2.000 espécimes do serviço de patologia oral da Emory University School of Dentistry, que foram diagnosticados como fibroma, hiperplasia fibrosa ou pólipio fibroepitelial. Desse total, 108 atenderam aos critérios de reclassificação como fibromas de células gigantes após estudos com Ferro de Gomori, Fontana Masson, Branqueador de Melanina, Giemsa, Ácido Schiff, PAS, Hart, Bielschowsky (WEATHERS; CALLIHAN, 1974). Sendo assim, a partir do trabalho de Weathers e Callihan em 1974, novas pesquisas foram realizadas com o intuito de conhecer os aspectos clínicos e microscópicos do FCG.

### 2.1 Aspectos clínicos do FCG

A etiologia do FCG é incerta, parece não estar associada com trauma ou irritação crônica (NEVILLE et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; SCHMIDT et al., 2016). O FCG tende a ocorrer com idade inferior a 30 anos de idade (MEDINA; ZULUAGA, 2010; NEVILLE et al., 2016).

O FCG pode se apresentar clinicamente como nódulo assintomático, séssil ou pedunculado e ocorre com maior frequência na gengiva, principalmente a inferior, e foram encontradas também na língua, no palato, na mucosa bucal e nos lábios. Há discreta predileção pelo gênero feminino (AKRISH, 2011; MIGUEL et al., 2003; NEVILLE et al., 2016; SHAPIRA; MEDINA; ZULUAGA, 2010; SONALIKA et al., 2014).

Quanto ao tamanho, pode apresentar um diâmetro inferior a 1 cm e ter duração de um longo período e com coloração de aspecto normal (NIKITAKIS et al., 2013; PANDITA et al 2014; SABARINATH; SIVARAMAKRISHNAN; SIVAPATHASUNDHARAM, 2012).

O FCG é muitas das vezes confundido clinicamente com o papiloma e fibroma devido sua superfície papilar e à sua natureza fibrosa respectivamente.

Também é citado como diagnóstico diferencial o granuloma piogênico e lesão central de células gigantes (KUO et al., 2009; TOLENTINO; CENTURION; DAMANTE, 2009). A hiperplasia fibrosa inflamatória (HFI) também pode ser utilizada como diagnóstico diferencial, devido à sua natureza fibrosa (NIKITAKIS et al., 2013).

## 2.2 Aspectos microscópicos do FCG

Em 1974 Weathers e Callihan descreveram microscopicamente que o FCG é composto, em grande parte, de tecido conjuntivo fibroso, geralmente dispostos vagamente, às vezes até mixomatoso, mas ocasionalmente maduro. A vascularização é geralmente proeminente, com capilares e vênulas bem formadas, não existindo proliferação endotelial. A inflamação, é composta de células agudas e crônicas. A característica diagnóstica é a presença de células gigantes em grande volume, de formato angulado e estrelado. Essas células apresentam citoplasma basofílico e granular, contendo alguns vacúolos. Geralmente há um único núcleo, mas dois são frequentemente vistos. O núcleo é grande, redondo a oval e vesicular, com um padrão de cromatina granular fino e uniformemente distribuído e geralmente contém um nucléolo grande. Algumas células podem conter até oito núcleos, formando células gigantes multinucleadas. As células são mais numerosas apenas abaixo do epitélio, mas podem estar presente em todo o tumor. Em relação ao epitélio sobrejacente, é periodicamente atrófico e acantótico (WEATHERS; CALLIHAN, 1974).

Sendo assim, os trabalhos que posteriormente foram publicados descrevem que o FCG exibe características microscópicas composta por revestimento epitelial pavimentoso estratificado hiperplásico, tecido conjuntivo fibroso geralmente arranjado frouxamente, com ausência de inflamação e presença de células gigantes mono, bi e multinucleadas, fusiformes ou estreladas na lâmina própria papilar (CAMPOS; GOMEZ, 1999; JIMSON; JIMSON, 2013; MAGNUSSON; RASMUSSEN, 1995; MIGUEL; RONINSON; HUME, 1997; MIGUEL et al., 2003; ODELL; LOCK; LOMBARDI, 1994; OKAMURA et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2016 SANTOS et al., 2011; TOLENTINO; CENTURION; DAMANTE, 2009).

## 2.3 Tratamento do FCG

O tratamento para o FCG é excisão cirúrgica conservadora. O prognóstico é bom e a recorrência é rara, no entanto o acompanhamento a longo prazo é necessário para verificar se há recorrência (BAGHERI et al., 2015; JIMSON; JIMSON, 2013; NIKITAKIS et al., 2013; PANDITA et al., 2014).

#### 2.4 Imuno-histoquímica e métodos de coloração para identificar a origem das células gigantes

Alguns estudos estão sendo feitos com o objetivo de analisar mais sobre as células multinucleadas no FCG e outros que comparam com a HFI. A imuno-histoquímica é umas das técnicas utilizadas para buscar a origem das células gigantes no FCG.

A tabela 1 representa alguns dos imunomarcadores utilizados nos estudos em FCG.

Tabela 1- Imunomarcadores utilizados em pesquisas no FCG e relação dos autores que os utilizaram

Marcadores	Odell et al., 1994	Magnusson et al., 1995	Campos et al., 1999	Miguel et al., 2003	Okamura et al., 2009	Santos et al., 2011	Jimson et al., 2013	Oliveira et al., 2016
Vimentina	X	x	x	x	x		x	
S-100	X	x	x		x			
$\alpha$ SMA	X		x		x			
CD- 68	X		x		x			
Desmina	X						x	
PCNA					x		x	
Fator XIIIa	X		x					
Triptase			x			x		
HHF- 35				x	x			
Neurofilamento	X	x						
Antígeno Comum de Leucócitos		x	x					
5B5	X							
CD- 31	X							
Ki 67							x	
MNF- 116	X							
GFAP	X							
Citoqueratina		x						
Peroxidase Indireta Prolil 4 hidroxilase				x				
Bax					x			
BCL 2					x			
P 63					x			
CD- 34					x			
Anti-metaloprotease-1								X
Anti-Metaloprotease-2								X

Fonte: Do autor.

Foi verificado quantos casos cada estudo utilizou e os resultados obtidos. A tabela 2 permite a compreensão se houve positividade ou não dos imunomarcadores. Os estudos estão em ordem cronológica e os resultados expressam apenas a conclusão da imuno-histoquímica realizada, é importante salientar esse ponto, uma vez que alguns autores não realizaram somente imuno-

histoquímica mas também a técnica histoquímica, entretanto representamos aqui em tabela os resultados que propomos investigar.

Tabela 2- Resultados das pesquisas imuno-histoquímicas realizadas em FCG

Literatura	Casos utilizados	Resultados
<b>Odell et al., 1994</b>	16 casos de FCG	(-) MNF-116, S-100, GFAP, Neurofilamento, Desmina, $\alpha$ SMA, CD 31, CD 68. O fator XIII a foi positivo em 1 de 10 casos. O 5B5 positivo em 8 de 10 casos e Vimentina , positivo nos 16 casos.
<b>Magnusson et al., 1995</b>	103 casos de FCG	(+) Vimentina (-) S-100, Neurofilamento, Citoqueratina e antígeno comum de leucócitos
<b>Miguel et al., 1997</b>	8 casos de cada: GP, epulis fibroso, epulis fibroso calcificante, granuloma de células gigantes periféricas, FCG (quatro gengivais, quatro não gengivais), hiperplasia de prótese dentária e pólipos fibroepiteliais	(-) Peroxidase indireta
<b>Campos et al., 1999</b>	FCG	(+) Vimentina (-) Antígeno de leucócito comum, triptase, HLA- DR, $\alpha$ SMA, CD 68, XIIIa, S-100
<b>Miguel et al., 2003</b>	10 casos de FCG, 10 de HFI e 10 de Fibroma	O HHF-35 foi positivo em 2 casos e maioria foi positiva para Vimentina (+) Vimentina e prolil 4-hidroxilase. A maioria das células gigantes foram negativas para S-100, HHF-35, CD 68, CD 34, $\alpha$ SMA ,p 63, Bcl-2 e ocasionalmente positivas para Bax e frequentemente positivas para PCNA.
<b>Okamura et al., 2009</b>	1 caso de FCG	A porcentagem da interação entre mastócitos e células gigantes estreladas em GCF foi de 59,62%
<b>Santos et al., 2011</b>	30 casos de FCG, 30 de HFI e 10 de mucosa oral	(+) vimentina e PCNA (-) desmina e Ki 67
<b>Oliveira et al., 2016</b>	22 casos de cada: FCG, HFI e mucosa oral	Aumento da porcentagem de vasos sanguíneos imunopositivos à metaloproteinase-1 em glóbulos gigantes.

Nota: FCG: Fibroma de células gigantes.  
 HFI: Hiperplasia Fibrosa Inflamatória.  
 GP: Granuloma Piogênico.  
 (+) : Positivo.  
 (-) : Negativo.

Fonte: Do autor.

O imunomarcador mais utilizado é vimentina que marca a linhagem mesenquimal, os autores Campos e Gomez (1999), Jimson e Jimson (2013), Magnusson e Rasmusson (1995), Miguel et al. (2003), Odell, Lock e Lombardi (1994) e Okamura et al. (2009) já utilizaram e encontraram positividade nos casos de FCG. Por expressar a vimentina, as células gigantes mono, bi ou multinucleadas estreladas podem ter uma possível natureza fibroblástica.

O marcador S-100 da família de proteínas ácidas que se ligam ao cálcio, são expressas em um amplo espectro celular como macrófagos e neutrófilos astrócitos, melanócitos, ceratinócitos, células perineurais e células neuroendócrinas, dentre outras (TAKANO, 2007).

A proteína S- 100 foi utilizada por Campos e Gomez (1999), Magnusson e Rasmusson (1995), Odell, Lock e Lombardi (1994) e Okamura et al. (2009) e exibiu negatividade, o que ocorreu também com o neurofilamento dos casos de Magnusson e Rasmusson (1995) e Odell, Lock e Lombardi (1994), onde descarta-se a origem a partir de nervos periféricos.

A origem miofibroblástica das células gigantes vem sendo descartada ao longo das pesquisas. O estudo de Odell, Lock, Lombardi (1994) utilizou o MNF 116, a  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$  SMA) e o CD- 68 e não detectaram imunopositividade para estes marcadores. Campos e Gomez (1999), também obtiveram negatividade para a  $\alpha$  SMA e o CD- 68, resultados estes que levaram os autores a excluírem a possibilidade de uma origem miofibroblástica e de linhagem macrofágica possivelmente de células de Langerhans ou linfocítica respectivamente para esta lesão. No caso de FCG relatado por Okamura et al. (2009), a maioria das células gigantes foram negativas para a  $\alpha$  SMA, CD- 68 e HHF- 35. Os autores Miguel et al (2003), estudaram a expressão imuno- histoquímica do HHF-35 em 10 casos de FCG, 10 de HFI e 10 da mucosa oral e concluíram que por expressar positividade em 2 casos no FCG não há participação miofibroblástica significativa na etiopatogenia. A negatividade da desmina relatada por Jimson e Jimson (2013) e Odell, Lock, Lombardi (1994) também descarta esta origem.

Odell, Lock e Lombardi (1994) encontraram positividade para o fator XIIIa em 1 de 10 casos estudados, entretanto no trabalho de Campos e Gomez (1999) a negatividade para o fator XIIIa, exclui a possibilidade de originarem de fenótipo dendrocítico.

Os autores Magnusson e Rasmuson (1995) que avaliaram 103 casos de FCG em mucosa oral obtiveram pela análise imuno-histoquímica negatividade para citoqueratina, antígeno comum de leucócito. Posteriormente, Campos e Gomez (1999) relataram a negatividade imuno-histoquímica do antígeno comum de leucócito descartando a hipótese das células estreladas do fibroma de células gigantes serem originadas da linhagem macrofágica.

O trabalho de Miguel, Robinson e Hume (1997) demonstrou, por meio de métodos histoquímicos (Hematoxilina de Verhoeff) para marcação de fibras elásticas e imuno-histoquímicos (Peroxidase Indireta) para marcação da elastina, a ausência de fibras elásticas na matriz extracelular dos fibromas de células gigantes, em contraste com sua abundância em pólipos fibroepiteliais e hiperplasias fibrosas inflamatórias.

O caso de FCG relatado por Okamura et al. (2009) mostrou forte positividade para Prolil 4-hidroxilase, independentemente do número de núcleos e processos citoplasmáticos. A maioria das células gigantes foram negativas para CD34 e p63 e frequentemente positivas para PCNA. Jimson, Jimson (2013) também utilizaram o PCNA em 1 caso de FCG e encontraram positividade, indicando ausência de mitose e negatividade de Ki- 67. Ainda sobre o casos de Okamura et al. (2009), no citoplasma foi encontrado ocasionalmente positividade para Bax e negatividade para Bcl-2.

O trabalho de Frascareli et al (2009) utilizando os métodos Hortega, Tricrômico de Azan, Vermelho Congo e Weigert Van Gieson comparando 11 casos de fibroma de células gigantes e 11 de hiperplasia fibrosa inflamatória, evidenciou que as fibras elásticas são mais abundantes no FCG, e que apesar das células gigantes serem diferentes morfologicamente dos fibroblastos mononucleares, eles preservam as características funcionais dos fibroblastos mononucleares observados na hiperplasia fibrosa inflamatória. A negatividade para o vermelho Congo, caracterizou que as células gigantes não resultaram de degeneração, e não houve diferença na positividade para Tricrômico de Azan, quando comparado o FCG com HFI, demonstrando que o colágeno produzido pelos fibroblastos multinucleados tem, aparentemente, as mesmas características e propriedades bioquímicas daqueles sintetizado por fibroblastos mononucleares comum, ou seja, não há alteração funcional dos fibroblastos gigantes com os mononucleares.

Santos (2011), realizou análise imuno-histoquímica da triptase em mastócitos no FCG e na HFI, e encontrou menos mastócitos no FCG do que na HFI. Houve uma relação entre os mastócitos e as células gigantes do FCG e nas áreas de fibrose das duas lesões. Os mastócitos estavam em menor quantidade na região perivascular no FCG, justificado pelo autor como a possibilidade de menor vascularização dessa lesão comparada à HFI.

A comparação e estudo imuno-histoquímico de 66 casos de FCG, HFI e mucosa normal sendo 22 casos de cada, feito por Oliveira et al. (2016), utilizou os anticorpos anti-metaloproteinase-1 e anti-metaloproteinase-8. Não foram observadas diferenças significativas nas células inflamatórias, nos fibroblastos e na área total das metaloproteinase-1 e -8 entre os três grupos, a metaloproteinase-1 aparentemente atua dentro da patogênese do FCG e HFI.

Estudo feito por Schmidt et al. (2016), com o objetivo de verificar as diferenças nas fibras colágenas de fibroma de células gigantes e hiperplasia fibrosa inflamatória em comparação com a mucosa normal da boca empregando o método de coloração prico-sirius concluiu que as fibras colágenas tipo I e III nos três grupos teve distribuição semelhante, o que, segundo os autores, indica que o processo de maturação de colágeno ocorre normalmente nas duas lesões, sendo que o colágeno tipo I foi identificado no fibroma de células gigantes em indivíduos com menos de 41,5 anos de idade.

## 2.5 Angiogênese

A angiogênese é definida como a formação de novos vasos sanguíneos a partir dos vasos sanguíneos existentes. Ocorre em processos fisiológicos e patológicos, incluindo embriogênese, cicatrização de feridas, inflamação e crescimento do câncer e metástase (FOSSLIEN, 2001; JAMSHIDI et al., 2014; PEREIRA; DODAL; TAMGADGE; BHALERAO; TAMGADGE, 2016). Em adultos é considerada uma das mais importantes reações estromais (SWELLAN et al., 2005).

A angiogênese patológica é muitas vezes associada com rede de capilares caracterizados por vasos tortuosos, mal formados, altamente permeáveis e instáveis. É provável que estes efeitos sejam importantes para uma resposta inflamatória temporária ou reparadora, como uma forma de montar uma resposta imune inata (BREEN et al., 2007).

O crescimento da neoplasia depende da angiogênese, as propriedades das células tumorais para liberar fatores angiogênicos e antiangiogênicos são essenciais para a neovascularização induzida por tumores (MOGHADAM; ABADI; MOKHTARI, 2015)

A Angiogênese não pode ser medida diretamente, mas pode ser mensurada por microscopia de luz, através da quantificação dos vasos sanguíneos, onde eles estão em maior densidade. Sua presença pode ser evidenciada utilizando anticorpos com afinidade por epítomos específicos para célula endotelial (SWELLAN et al., 2005).

A densidade vascular média (DVM) é uma análise quantitativa da microvasculatura da angiogênese, que envolve a coloração imuno-histoquímica de células endoteliais de capilares utilizando anticorpos monoclonais: CD31, CD34 e CD105 e anticorpos como fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). (JAMSHIDI et al., 2014; PEREIRA et al., 2016).

Os anticorpos mais comuns utilizados para a coloração de microvasos até agora são o fator VIII, CD31 e CD34 (GARCIA et al., 2009; KUKREJA; KAPOOR; DESHMUKH; KULKARNI, 2013). Os anticorpos CD 31, CD 34 e fator VIII são considerados pan-endoteliais e utilizadas para todas as paredes vasculares, as já presentes no tecido tumoral e as neoformadas (AGARWAL et al., 2014; GARCIA et al., 2009; NETTO; BLEIL; ARLETE; COUTINHO, 2008).

O CD 34 é um proteoglicano na superfície das células endoteliais e da medula óssea e é considerado como uma molécula de adesão e como um marcador pan-endotelial. É um marcador de células hematopoiéticas primitivas e células endoteliais que qualquer estrutura celular isolada ou agrupada, com ou sem lúmen, quando imunomarcada pelo CD 34 é considerada um vaso sanguíneo (GARCIA et al., 2009; JAMSHIDI et al., 2014; PEREIRA; DODAL; TAMGADGE; BHALERAO; TAMGADGE, 2016).

Alguns pesquisadores acreditam que o CD34 não pode fazer uma distinção entre os vasos sanguíneos primários do hospedeiro e a neo-angiogênese. No entanto o CD 34 é expresso nas células endoteliais normais e neoplásicas dos vasos sanguíneos. É empregado como marcador vascular seletivo para a avaliação quantitativa da angiogênese em várias lesões quanto às suas aptidões e facilidade de uso (JAMSHIDI et al., 2014; NETTO; BLEIL; ARLETE; COUTINHO, 2008).

O CD 34 é particularmente sensível à angiogênese tumoral, pois pode apresentar claramente o estado de neovascularização durante o crescimento de um tumor (CHEN et al., 2015)

Weathers e Callihan em 1974 relataram que em sua análise de 108 lesões de FCG a vascularização era geralmente proeminente, com capilares bem formados. No trabalho feito por Oliveira et al. (2016), utilizando os anticorpos anti-metaloproteinase-1 e anti-metaloproteinase-8 em HFI e FCG, foi discutido a possível ação da anti-metaloproteinase-1 nos vasos sanguíneos promovendo a angiogênese. Este efeito pró-angiogênico serve para a proliferação de fibroblastos que sintetiza a matriz extracelular na superfície estromal, resultando em deposição excessiva de colágeno e causando um aumento de volume nessas lesões. Sugerindo que o possível papel angiogênico pode estar relacionado à HFI, mas não ao FCG, que se caracteriza histopatologicamente segundo os autores, por tecido conjuntivo exibindo escassa ou moderada vascularização.

O aumento anormal do número de células de um tecido neoplásico cria um paralelo entre as lesões neoplásicas e as hiperplasias, lesões de outra natureza. Enquanto a patogênese das hiperplasias está fundada no estímulo da proliferação celular como forma de resposta adaptativa de um tecido exposto a determinado estímulo, no caso de neoplasias o crescimento do tecido neoplásico persiste mesmo com a interrupção do estímulo original (FRANCO et al., 2015) Para que um determinado grupo de células de uma neoplasia consiga manter um crescimento sustentado é necessário que exista uma fonte de suprimento sanguíneo específico e constante (PINHO, 2005).

Não há na literatura até o momento, pesquisas sobre vascularização do FCG, as pesquisas realizadas tiveram ênfase nas células gigantes uni, bi e multinucleadas. Também não há estudo imuno-histoquímico utilizando o anti-CD 34 para esta finalidade em FCG. Sendo o FCG uma neoplasia, a vascularização também deve ser investigada.

### 3 OBJETIVOS

São objetivos da pesquisa:

- a) Analisar e discutir os dados clínicos e aspectos microscópicos de 25 casos de FCG corados em hematoxilina e eosina.
- b) Avaliar a densidade vascular média por meio do anti-CD 34 em 25 casos de FCG do Laboratório de Patologia Bucal do Departamento de Patologia e Parasitologia da Universidade Federal de Alfenas e comparar os achados entre as lesões estudadas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia deste trabalho foi desenvolvida após revisão de literatura e assim como as questões éticas estão descritas abaixo.

### 4.1 Questões éticas

O presente estudo foi desenvolvido após apreciação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da UNIFAL-MG sob número de parecer 1.854.077 (ANEXO A).

### 4.2 Casuística e seleção da amostra

Os laudos com diagnóstico de FCG foram selecionados a partir do arquivo de laudos anatomopatológicos bucais do Laboratório de Patologia Bucal do Departamento de Patologia e Parasitologia da Universidade Federal de Alfenas. Foram incluídos os casos de FCG diagnosticados no período de janeiro de 1997 a dezembro de 2016.

Os dados clínicos das fichas de solicitação de laudo anatomopatológico foram utilizados para o estudo e incluíam: gênero, cor da pele, idade do paciente, tamanho da lesão, coloração da lesão, sua duração, sintomatologia, presença de trauma, localização, diagnóstico clínico, tipo de biópsia e medida macroscópica da peça cirúrgica.

O diagnóstico microscópico da lesão baseou-se no exame das lâminas coradas com hematoxilina e eosina, seguindo os critérios microscópicos dos autores MAGNUSSON; RASMUSSEN, 1995; SANTOS, 2008; KUO et al., 2009; SCHMIDT et al., 2016.

Os critérios de exclusão foram material insuficiente para análise, bloco de parafina inadequado para cortes histológicos e casos com intensa inflamação.

#### 4.3 Coloração em hematoxilina e eosina

Os cortes microscópicos de 5 µm de espessura foram obtidos dos blocos de parafina e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE) seguindo-se os procedimentos histotécnicos de rotina do Laboratório de Anatomia Patológica Bucal da UNIFAL-MG, e montados em lâminas de vidro. Todo esse procedimento foi realizado pela equipe do Laboratório de Patologia Bucal da UNIFAL-MG. Os pesquisadores selecionaram a amostra a partir destas lâminas que já estavam prontas por meio dos critérios de inclusão e exclusão.

#### 4.4 Análise microscópica: lâminas coradas em hematoxilina e eosina

A análise microscópica foi realizada separadamente por dois examinadores previamente calibrados (a pesquisadora responsável pelo trabalho e o professor patologista responsável pelo laboratório), utilizando-se um microscópio óptico binocular (AxioLab A1 Plus- Carl Zeiss, Jena, Alemanha).

As lâminas coradas em HE foram analisadas com base nos critérios de inclusão e exclusão em microscópio de luz com objetiva de 20X. Por meio de uma análise em todos os cortes observamos se o epitélio era hiperplásico ou atrófico, paraqueratinizado ou ortoqueratinizado, cristas epiteliais ausentes, curtas ou longas, lâmina própria muito pouco, pouco ou moderadamente celularizada, quantidade de vasos sanguíneos, vasos sanguíneos dilatados e/ou hiperêmicos, fibras colágenas delicadas ou espessas, infiltrado inflamatório ausente, discreto ou moderado. Nos casos de FCG, foi observado a quantidade de células gigantes e de núcleos.

Os casos discordantes foram revistos em conjunto e os resultados obtidos por consenso.

#### 4.5 Reação imuno-histoquímica

As reações imuno-histoquímicas foram realizadas a partir dos mesmos blocos de parafina utilizados para coloração HE. Devido a material insuficiente nos

blocos de parafina das 25 lesões que foram analisadas microscopicamente, 5 foram excluídas.

Para a imunomarcção de vasos sanguíneos foi utilizado o CD 34 (QBend 10) Dako. As informações referentes ao anticorpo primário tais como: especificidade, clone, diluição, tempo de incubação e fornecedor estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3- Anticorpo primário utilizado na reação imuno-histoquímica

<b>Especificidade</b>	<b>Clone</b>	<b>Diluição</b>	<b>Tempo de Incubação</b>	<b>Fornecedor</b>
Anti-CD34	QBEnd-10	1:200	18 hs a 2-8°C	Dako

Fonte: Do autor.

Foram utilizados para as reações imuno-histoquímicas cortes microscópicos de 3 µm de espessura montados em lâminas de vidro silanizadas. Após a desparafinização e a reidratação, as amostras foram submetidas à recuperação antigênica com a finalidade de recuperar os sítios antigênicos mascarados pela fixação e inclusão do tecido em formol e parafina. Para este fim, as lâminas foram imersas em citrato de sódio pH 6,0, temperatura de 118° C por 2 minutos e submetidas a resfriamento até 90° C por 10 segundos em panela de pressão Pascal e lavadas em água destilada. Em seguida, o bloqueio da peroxidase endógena dos tecidos foi realizado com o objetivo de eliminar reações inespecíficas. Para tanto, as lâminas foram imersas em solução de peróxido de hidrogênio a 5% em tampão fosfato-salino (PBS). Posteriormente foram lavadas em água destilada, realizou-se a delimitação dos cortes com caneta hidrofóbica e lavagem em PBS. A imunodeteção das proteínas de interesse foi realizada utilizando o anticorpo anti-CD 34. A solução contendo o anticorpo foi adicionada sobre os cortes teciduais, individualmente, e as lâminas foram mantidas encubadas no anticorpo primário a 2-8° C overnight. A seguir, as lâminas foram lavadas em PBS e os cortes histológicos, ficaram sob o Envision Flex HRP Dako, por 40 minutos em temperatura ambiente. As lâminas foram lavadas em PBS e a detecção foi realizada utilizando DAB líquido DAKO, 5 minutos. Posteriormente foi realizada lavagem em água comum, contra-coloração dos cortes histológicos em solução de Hematoxilina de Harris por 3 minutos, lavados novamente em água comum, desidratação das mesmas através de imersões em concentrações crescentes de etanol (etanol 70%, 80%, 90% e etanol absoluto), diafinização em xilol e montados em Entellan Merck. O controle negativo

foi realizado com Dako Mouse IgG1. Os controles positivos e negativos foram executados simultaneamente com a amostra.

#### 4.6 Análise microscópica: lâminas submetidas à reação imuno-histoquímica

A análise microscópica e a avaliação imuno-histoquímica foram realizadas utilizando-se um microscópio óptico binocular (AxioLab AI Plus- Carl Zeiss, Jena, Alemanha) contendo uma lente objetiva AxioCam MRc de 40X/0,65, resultando num aumento final de 400X.

Para a contagem dos vasos foram considerados os critérios adaptados de Tao et al. (2007) e Weidner (1995), em que foram considerados como vasos qualquer célula ou aglomerado de células endoteliais, localizados adjacentes a estruturas vasculares e que estavam claramente separadas dos microvasos e marcadas pelo anticorpo anti-CD34, apresentando coloração marrom-acastanhada. Estruturas ramificadas foram contadas apenas como um vaso, a menos que existisse uma descontinuidade na estrutura. No entanto, uma única célula positiva não foi contada como microvaso. A avaliação foi feita por áreas com presença de vasos sanguíneos, com a captura de imagens por meio do Programa AxioVision 4 Module Interactive Measurement, versão de software AxioVision Rel 4.8.2 (Carl Zeiss Light Microscopy) em 6 campos, sendo 3 campos em região subepitelial e 3 campos em região profunda (região abaixo da subepitelial), sendo que o número de campos foram adaptados dos trabalhos de Kukreja et al. (2013), Jamshidi et al. (2014), Pereira et al. (2016). (FIGURA 1)

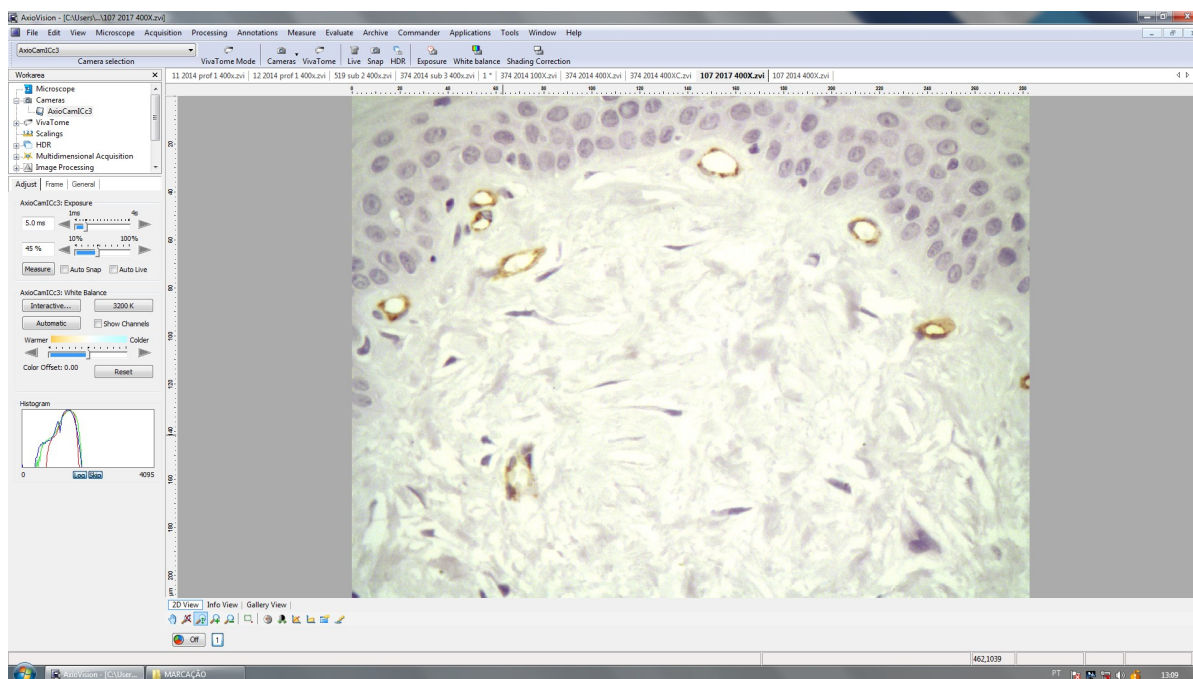


Figura 1- Ilustração da captura dos campos utilizando o software AxioVision Rel 4.8.2 (Carl Zeiss, Jena, Alemanha).

Fonte: do autor.

Em seguida os vasos foram contados manualmente em campos de hot spots em 400x de ampliação. A densidade de microvasos foi expressa como a média do número de vasos pela área ( $56\text{mm}^2$ ). (FIGURA 2)

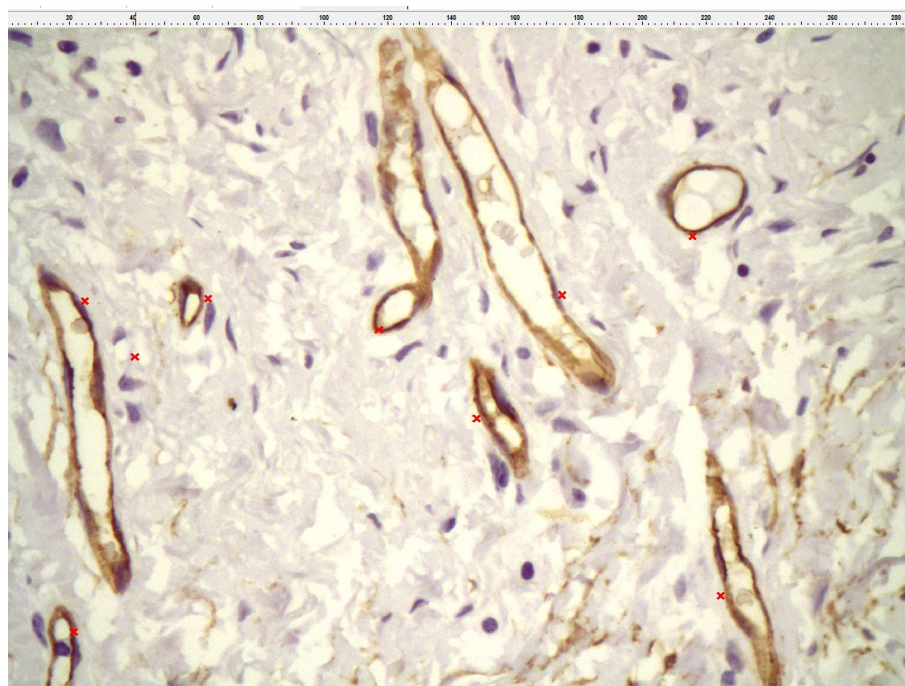


Figura 2- Contagem manual dos vasos sanguíneos (x em vermelho) feito no Programa AxioVision 4.

Fonte: Do autor.

#### 4.7 Análise Estatística

Após a realização da metodologia descrita, os registros das informações foram armazenados em um banco de dados, elaborado em planilha eletrônica no Microsoft Excel. As análises estatísticas dos aspectos clínicos e microscópicos corados em HE foram realizadas utilizando o Software SPSS versão 20, para obter a frequência e porcentagem dos critérios observados. Para a análise estatística da DVM dos cortes submetidos à imuno-histoquímica do CD 34 e para verificar a relação da DVM com o número de células gigantes, foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

## 5 RESULTADOS

Após as análises, obtivemos os resultados que estão representados por tabelas e gráficos a seguir.

### 5.1 Aspectos clínicos

O levantamento dos dados clínicos do FCG com as informações de gênero, cor da pele, idade, sintomas, duração e trauma encontra-se na Tabela 4.

Tabela 4- Informações sobre os pacientes e história da doença atual

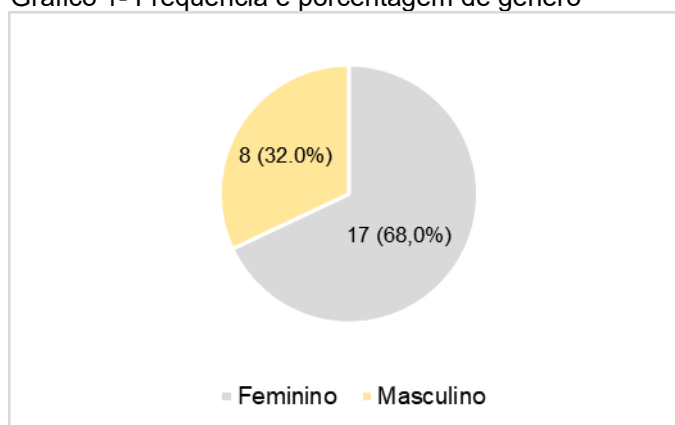
<b>Caso</b>	<b>Gênero</b>	<b>Cor da pele</b>	<b>Idade</b>	<b>Sintomas</b>	<b>Duração</b>	<b>Trauma</b>
1	F	Leocoderma	10	Assintomática	8 meses	Fricção da língua
2	F	--	15	Assintomática	1 mês	Ausente
3	M	Leocoderma	19	Assintomática	--	--
4	M	--	--	--	--	--
5	M	Leocoderma	39	Assintomática	2 anos	--
6	F	Leocoderma	--	Assintomática	6 meses	--
7	F	Leocoderma	32	Assintomática	8 meses	Ausente
8	F	Leocoderma	60	Assintomática	5 anos	Defeito de prótese
9	F	--	56	Assintomática	3 meses	Por mordida
10	F	Leocoderma	49	--	--	Prótese Removível
11	F	--	61	Assintomática	1 ano	--
12	F	--	58	--	1 ano	--
13	M	Leocoderma	54	Assintomática	8 anos	--
14	F	Leocoderma	41	Assintomática	--	--
15	M	Leocoderma	--	Assintomática	"alguns meses"	--
16	F	--	78	Assintomática	2 anos	Prótese total
17	M	Leocoderma	--	Assintomática	5 anos	--
18	F	--	74	Assintomática	"vários anos"	--
19	M	Melanoderma	--	Assintomática	--	--
20	F	Leocoderma	59	--	--	--
21	F	Melanoderma	--	--	--	--
22	F	--	49	Assintomática	--	--
23	F	Leocoderma	--	Assintomática	4 meses	--
24	F	--	--	--	1 ano	--
25	M	--	--	--	--	--

Nota: F: feminino. M: masculino --: dado não fornecido

Fonte: Do autor.

Observando o Gráfico 1, percebe-se que 17 casos eram do gênero feminino (68 %) e que 8 casos eram do gênero masculino (32%).

Gráfico 1- Frequência e porcentagem de gênero



Fonte: Do autor.

Quanto à cor da pele, 13 casos eram leucoderma e 2 eram melanoderma (52% e 8% respectivamente), sendo que 10 casos (40%) não foram fornecidos este tipo de informação. Desta forma, 86,7% dos laudos que continham esta informação correspondiam ao tipo leucoderma e 13,3% eram melanoderma (TABELA 5).

Tabela 5- Frequência e porcentagem sobre a cor da pele

Cor da pele	Frequência	Porcentagem	Porcentagem Válida*
Leucoderma	13	52,0	86,7
Melanoderma	2	8,0	13,3
Não fornecido	10	40,0	
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>

\* Porcentagem dos casos que continham a informação sobre cor da pele

Fonte: Do autor.

Para melhor compreensão, a idade dos pacientes foi dividida em décadas. A Tabela 6 demonstra que dos 25 casos estudados, 16 continham essa informação. A faixa de 51-60 anos teve maior frequência com 31,3% dos 16 casos.

Tabela 6- Frequência e porcentagem sobre idade

<b>Idade (anos)</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>	<b>Porcentagem válida*</b>
0-10	1	4,0	6,3
11-20	2	8,0	12,5
21-30	0	0	0
31-40	2	8,0	12,5
41-50	3	12,0	18,8
51-60	5	20,0	31,3
61-70	1	4,0	6,3
71-80	2	8,0	12,5
Não fornecido	9	36,0	
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>

\* Porcentagem dos casos que continham a informação sobre idade

Fonte: Do autor.

A sintomatologia também foi investigada e 18 casos eram assintomáticos (72%). Os demais 28% corresponderam aos casos que os profissionais não enviaram esta informação (TABELA 7).

Tabela 7- Frequência e porcentagem sobre sintomatologia

<b>Sintomatologia</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Assintomático	18	72,0
Não Fornecido	7	28,0
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100,0</b>

Fonte: Do autor.

Sobre a duração da lesão, como observado anteriormente na Tabela 4, 9 dos 25 arquivos não continham esta informação, sendo que aqueles em que foram fornecidos, relataram casos de meses, anos, com lesões de duração de até 5 e 8 anos. A pesquisa nos arquivos sobre trauma, também foi realizada, entretanto como observado na Tabela 4, somente 7 informaram este aspecto. Sobre os traumas citados, 3 casos estavam relacionados à prótese, 1 por fricção de língua, 1 por mordida e 2 relataram ausência de traumatologia.

Dos laudos de FCG também foram extraídas as informações de localização, coloração, tamanho, diagnóstico clínico, tipo de biópsia e medida macroscópica, que estão representadas nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8- Informações sobre os dados clínicos

<b>Caso</b>	<b>Localização</b>	<b>Coloração</b>	<b>Tamanho</b>	<b>Diagnóstico Clínico</b>
1	Dorso de Língua	Branca	0,5 mm	Hiperplasia Focal Fibroma/ Granuloma
2	Gengiva entre 34 e 35 na lingual	Normocorada	--	Piogênico/ Fibromatose Gengival
3	Gengiva lingual dos dentes 41 e 42	Normocorada	1 cm	Granuloma Piogênico/ HFI
4	Dorso de língua	Normocorada	--	Hipertrofia da papila lingual
5	Dorso de língua	Normocorada	--	HFI
6	Palato duro	Avermelhada	--	HFI e Fibroma
7	Dorso de língua	--	4 mm	Papiloma
8	Ápice de língua	--	4 mm	HFI
9	Mucosa jugal	--	3x3 mm	--
10	Região retromolar direita mais para lingual	Branca	5 mm	HFI
11	Mucosa jugal	Normocorada	0,5 cm	HFI
12	Mucosa jugal	Normocorada	0,5 cm	HFI Focal
13	Mucosa Jugal	Normocorada	1 cm	HFI
14	Mucosa Jugal	Normocorada	1,5x 0,6x mm	--
15	Dorso de língua	--	--	HFI
16	Assoalho de boca	--	--	HFI
17	Fundo de saco de véstibulo	Normocorada	--	HFI
18	Fundo de saco de véstibulo	Normocorada	1 cm	HFI
19	Parte interna do lábio inferior	--	--	Fibroma
20	Língua	Normocorada	--	HFI/ Fibroma
21	Palato duro	--	--	Adenoma Pleomórfico/HFI/ Fibroma
22	Palato mole	Esbranquiçada	--	Papiloma/ Fibroma
23	Língua	Esbranquiçada	--	HFI/ Fibroma
24	Mucosa labial inferior próximo à linha média	Normocorada	3 mm	HFI
25	Túber da maxila	Normocorada	--	HFI

Nota: -- : dado não fornecido

Fonte: Do autor.

Tabela 9- Informações sobre biópsia e medida macroscópica

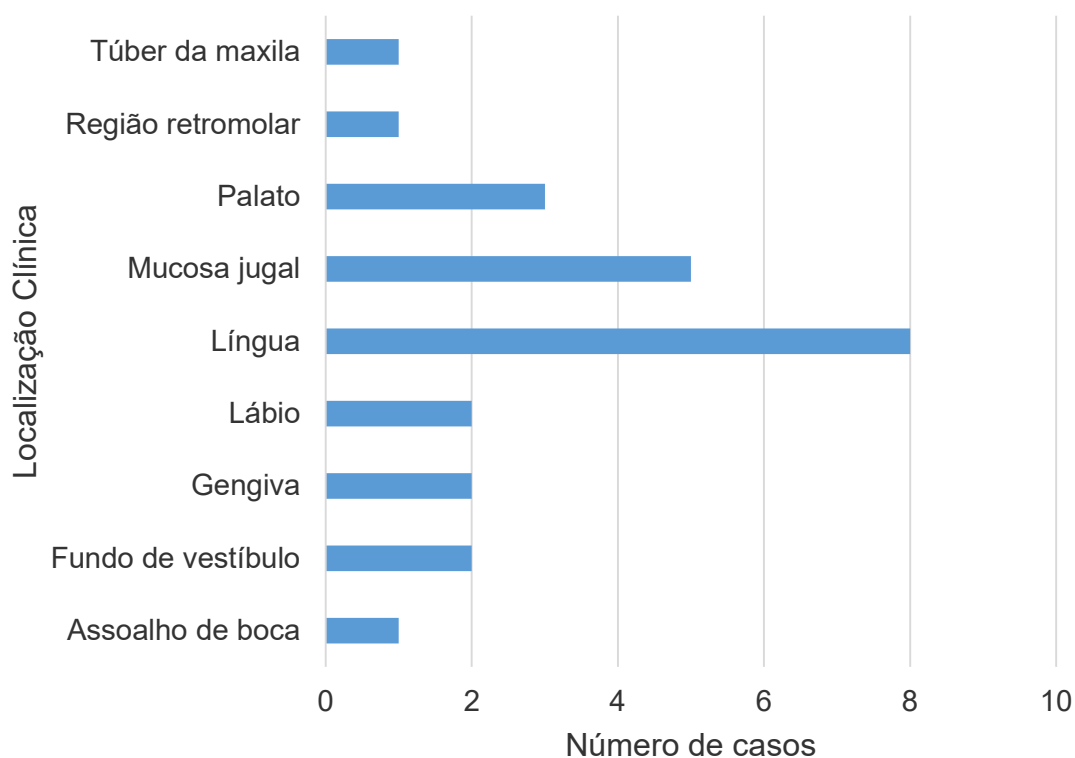
<b>Caso</b>	<b>Biópsia</b>	<b>Medida Macroscópica</b>	<b>Diagnóstico</b>
1	Total	0,5x0,3x0,2 mm	FCG
2	--	10x0,8x0,2 mm	FCG
3	Total	9x7x5 mm	FCG
4	Total	4x3x3 mm	FCG
5	Total	3x2x1,5 mm	FCG
6	Total	10x9x4 mm	FCG
7	Total	3x3x3 mm	FCG
8	Total	3x3x2 mm	FCG
9	Total	5x4x4 mm	FCG
10	Total	10x4x2 mm	FCG
11	Total	6x4x3 mm	FCG
12	Total	14x3x6 mm	FCG
13	Total	6x6x4 mm	FCG
14	Total	12x7x5 mm	FCG
15	--	5x4x3 mm	FCG
16	--	30x8x6 mm	FCG
17	Total	12x5x8 mm	FCG
18	Total	23,2x5,9x5,2 mm	FCG
19	Total	5,3x4,5x2,4 mm	FCG
20	Total	6,1x4,3x4,3 mm	FCG
21	Total	9,2x7,8x3,7 mm	FCG
22	Total	0,6x0,5x0,2 cm	FCG
23	Total	5,9x5x3,3 mm	FCG
24	Total	5,4x4,2x2,5 mm	FCG
25	Total	13,7x5,6x4,2 mm	FCG

Nota: -- dado não fornecido

Fonte: Do autor.

A língua e a mucosa jugal se revelaram as localizações de maior ocorrência do FCG, sendo 8 casos (32%) e 5 casos (20%) respectivamente. A região de assoalho de boca, retromolar e de túber da maxila foram os locais de menor ocorrência, sendo 1 caso de cada (GRÁFICO 2).

Gráfico 2- Frequência sobre localização clínica



Fonte: Do autor.

O tipo de biópsia realizado também foi investigado, pois poderá nos casos de FCG ser o próprio tratamento, quando removido pela forma excisional. Assim, a Tabela 10 demonstra que dos 25 casos, 22 (88%) realizaram biópsia excisional e 3 (12%) não informaram qual o tipo de biópsia realizada.

Tabela 10- Frequência e porcentagem do tipo de biópsia realizada

<b>Tipo de biópsia</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Excisional	22	88,0
Não fornecido	3	12,0
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100,0</b>

Fonte: Do autor.

## 5.2 Aspectos microscópicos

Após a observação das 25 lâminas de FCG coradas em HE com microscópio de luz com objetiva de 20X, foi observado que todos os casos apresentavam epitélio pavimentoso estratificado.

Na Figura 3 verifica-se o aspecto do FCG microscopicamente com objetiva de 10X.

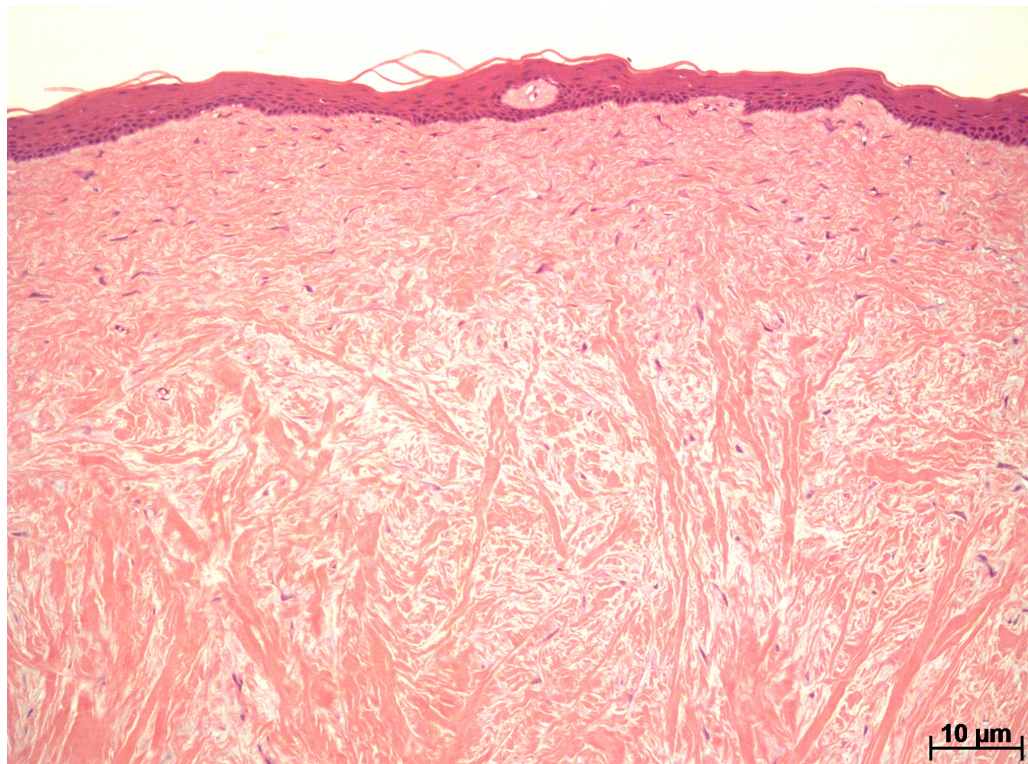


Figura 3- Aspecto microscópico do FCG com epitélio pavimentoso estratificado e o tecido conjuntivo fibroso com células gigantes. HE e objetiva de 10X.  
Fonte: Do autor.

Observando microscopicamente, o epitélio demonstrou, na maioria dos casos, ser hiperplásico 22 (88%) e paraqueratinizado 15 (60%). Algumas lesões apresentaram concomitantemente tanto áreas de epitélio hiperplásico como paraqueratinizado, tanto ortoqueratinizado como paraqueratinizado. (TABELA 11).

Tabela 11- Frequência e porcentagem do epitélio hiperplásico, atrófico, ortoqueratinizado e paraqueratinizado

	<b>Hiperplásico</b>	<b>Atrófico</b>	<b>Ortoqueratinizado</b>	<b>Paraqueratinizado</b>
	<b>Freq. (%)</b>	<b>Freq. (%)</b>	<b>Freq. (%)</b>	<b>Freq. (%)</b>
Sim	22 (88,0)	5 (20,0)	13 (52,0)	15 (60,0)
Não	3 (12,0)	20 (80,0)	12 (48,0)	10 (40,0)
<b>Total</b>	<b>25 (100,0)</b>	<b>25 (100,0)</b>	<b>25 (100,0)</b>	<b>25 (100,0)</b>

Fonte: Do autor.

Na Figura 4, verifica-se o epitélio pavimentoso estratificado, hiperplásico e paraqueratinizado.

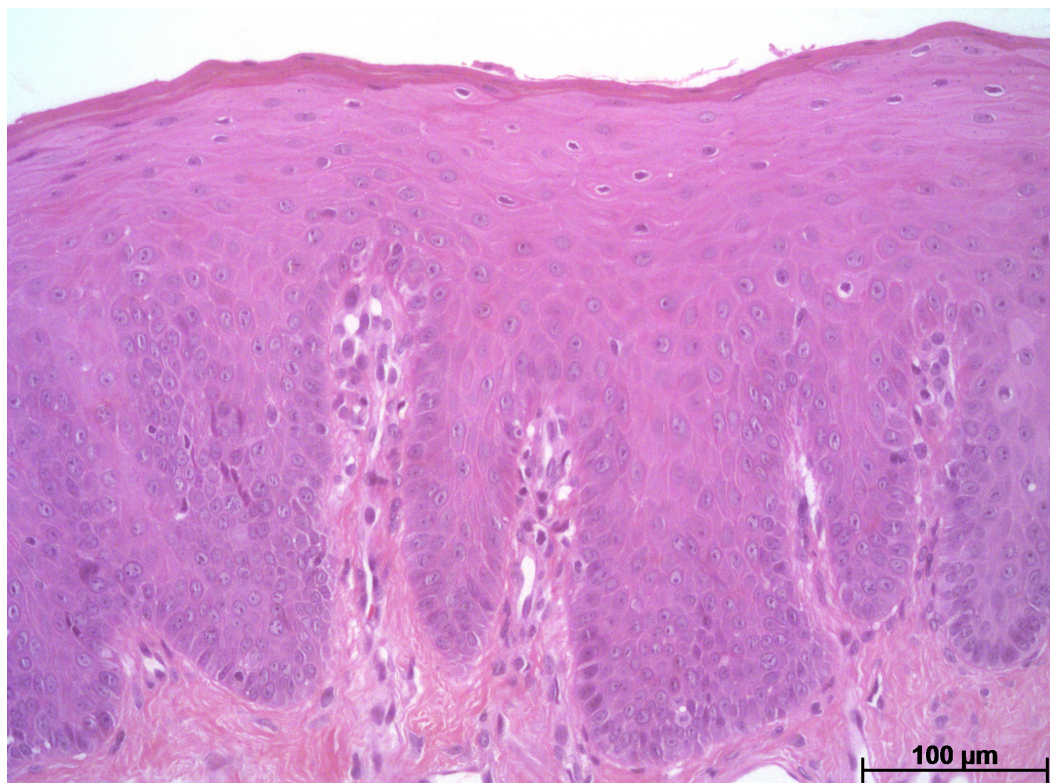


Figura 4- Aspecto microscópico do FCG com epitélio pavimentoso estratificado, hiperplásico e paraqueratinizado. HE e objetiva de 20X.  
Fonte: Do autor.

Observando as cristas epiteliais, pode-se classificar em ausentes, curtas e longas. Senso que, 44% dos casos eram longas, ligeiramente mais frequente que as curtas que corresponderam a 40% dos casos (TABELA 12).

Tabela 12- Frequência e porcentagem da presença e forma das cristas epiteliais

<b>Cristas</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Ausentes	4	16
Curtas	10	40
Longas	11	44
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100</b>

Fonte: Do autor.

A lâmina própria e a faixa subepitelial foram avaliadas durante a observação microscópica e classificadas quanto à quantidade de células em muito pouco, pouco e moderada. Com base nesses aspectos, 76% e 64% dos casos apresentaram poucas células na lâmina própria e na faixa subepitelial respectivamente (TABELA 13).

Tabela 13- Frequência e porcentagem de células da lâmina própria e da faixa subepitelial celularizada

Classificação	Lâmina própria	Faixa subepitelial
	celularizada	celularizada
	Freq. (%)	Freq. (%)
Muito pouco	1 (4,0)	1 (4,0)
Pouco	19 (76,0)	16 (64,0)
Moderada	5 (20,0)	8 (32,0)
<b>Total</b>	<b>25 (100,0)</b>	<b>25 (100,0)</b>

Fonte: Do autor.

As fibras colágenas que compõe o FCG foram observadas e classificadas quanto a sua espessura em: delicadas em toda a região, delicadas na região subepitelial e depois se tornam mais espessas, espessas em toda a região e moderadamente espessas. Dos 25 casos de FCG, 18 apresentavam em todo o tecido conjuntivo fibras espessas (72%). As fibras delicadas não foram predominantes nos casos, pois apenas 2 (8%) apresentavam essa característica. A Tabela 14 demonstra a frequência e porcentagem das quatro características de fibras colágenas.

Tabela 14- Frequência e porcentagem das características das fibras colágenas

	Frequência	Porcentagem
Delicadas	2	8,0
Subepitelial delicadas, depois se tornam mais espessas	4	16,0
Moderadamente espessas	1	4,0
Espessas	18	72,0
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100,0</b>

Fonte: Do autor.

A Figura 5 apresenta o aspecto microscópico de faixa subepitelial e lâmina própria pouco celularizada e presença de fibras colágenas espessas.

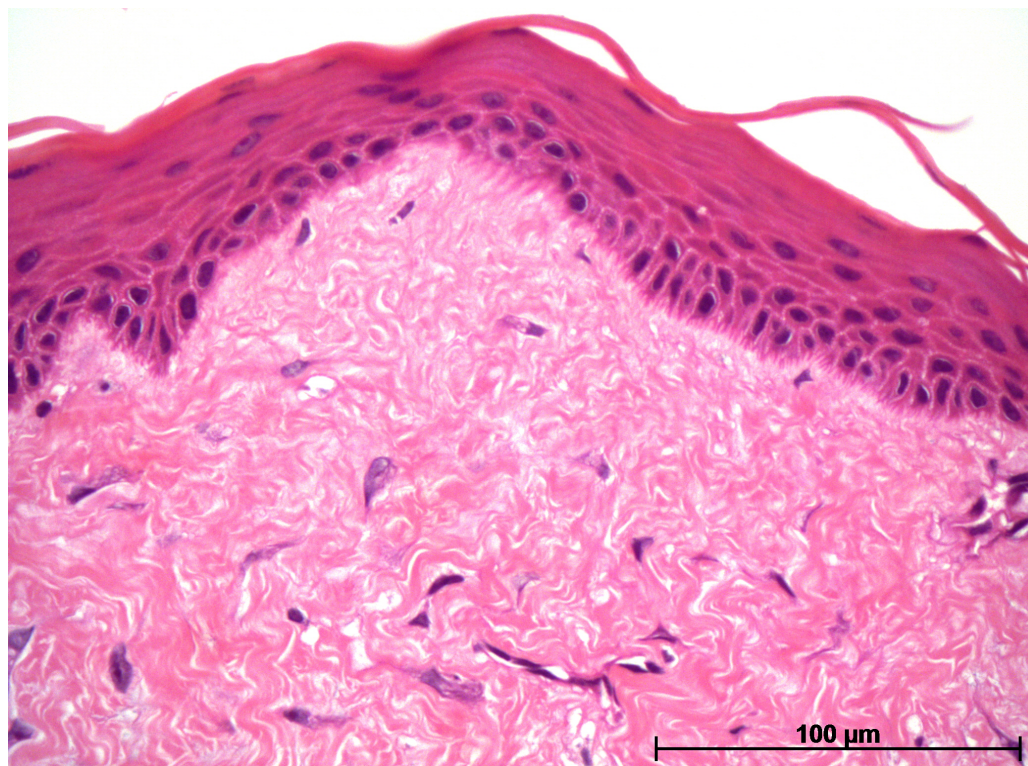


Figura 5- Aspecto microscópico de faixa subepitelial e lâmina própria pouco celularizada e presença de fibras colágenas espessas. HE e objetiva de 20X.  
Fonte: Do autor.

Em relação à quantidade de vasos sanguíneos presentes no tecido conjuntivo observado, 18 casos (72%) apresentaram pouca ou discreta quantidade de vasos sanguíneos (TABELA 15).

Tabela 15- Frequência e porcentagem da quantidade de vasos sanguíneos

<b>Quantidade Vasos Sanguíneos</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Discreto	18	72
Moderado	6	24
Intenso	1	4
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100</b>

Fonte: Do autor.

Sobre a hiperemia e dilatação destes vasos, foi realizada classificação em: dilatados e hiperêmicos, hiperêmicos somente, dilatados e não-hiperêmicos, nem dilatados e nem hiperêmicos. Assim, após análise, 64% dos casos apresentaram-se nem dilatado e nem hiperêmico (TABELA 16).

Tabela 16- Frequência e porcentagem da hiperemia e dilatação dos vasos sanguíneos

<b>Hiperemia e Dilatação dos Vasos</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Dilatados e hiperêmicos	5	20
Hiperêmicos	3	12
Dilatados e não-hiperêmicos	1	4
Nem dilatado e nem hiperêmico	16	64
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100</b>

Fonte: Do autor.

O infiltrado inflamatório foi classificado quanto à sua presença e intensidade em: ausente, discreto e moderado, sendo que 15 casos (60%), apresentaram discreta inflamação (TABELA 17).

Tabela 17- Frequência e porcentagem do infiltrado inflamatório

<b>Infiltrado Inflamatório</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Ausente	6	24
Discreto	15	60
Moderado	4	16
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100</b>

Fonte: Do autor.

A quantidade de células gigantes (Tabela 18) e de núcleos (Tabela 19) foram analisadas e como será observado nas tabelas a seguir, 60% das lesões

apresentavam até 5 células gigantes por campo, 16% de 5 a 10 células e 24% mais de 10 células. Das 25 lesões observadas, 48% das células gigantes eram mononucleadas, 36% mono e binucleadas, 8% eram mono e trinucleadas e 8% mono, bi e trinucleadas.

Tabela 18- Frequência e porcentagem da quantidade de células gigantes

<b>Quantidade de Células Gigantes</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Até 5 células	15	60
5 a 10 células	4	16
Mais de 10 células	6	24
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100</b>

Fonte: Do autor.

Tabela 19- Frequência e porcentagem do número de núcleos

<b>Número de Núcleos</b>	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Mononucleadas	12	48
Mono e binucleadas	9	36
Mono e trinucleadas	2	8
Mono, bi e trinucleadas	2	8
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>100</b>

Fonte: do autor.

Na Figura 6 com objetiva de 40X é observado células gigantes mono e binucleadas, algumas com morfologia estrelada.

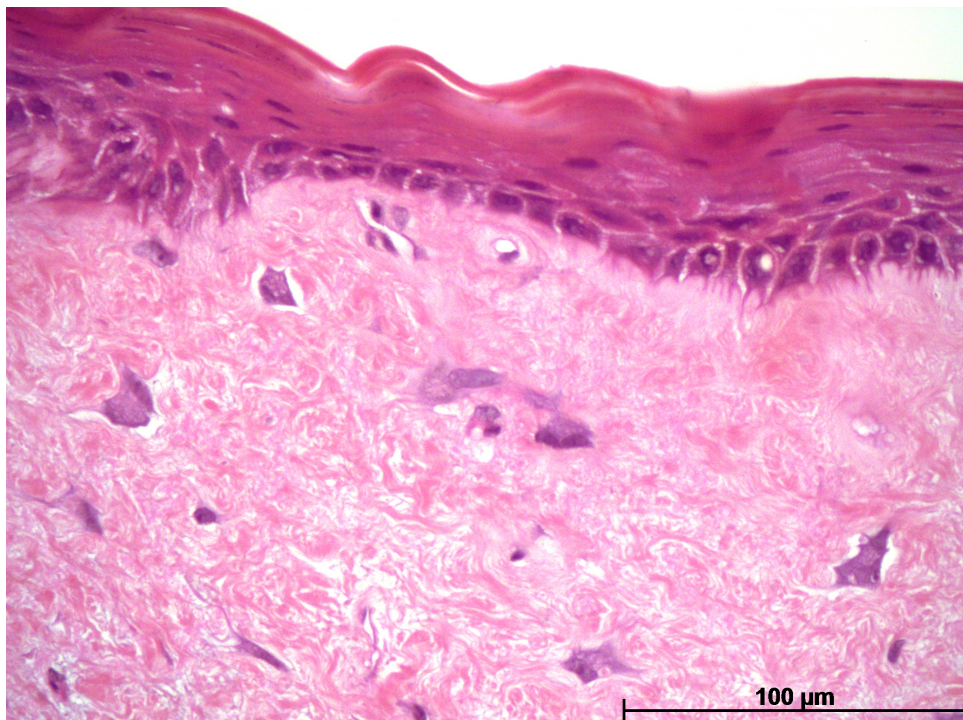


Figura 6- Aspecto microscópico do FCG com células gigantes mono e binucleadas, algumas com morfologia estrelada. HE e objetiva de 40X. Fonte: Do autor.

### 5.3 Avaliação da densidade vascular média

A expressão imuno-histoquímica do marcador CD 34 foi positiva nas células endoteliais em todas as lesões e em todas as regiões (subepitelial e profunda). A Figura 7 ilustra a expressão do CD 34 nos vasos sanguíneos com objetiva de 10x.

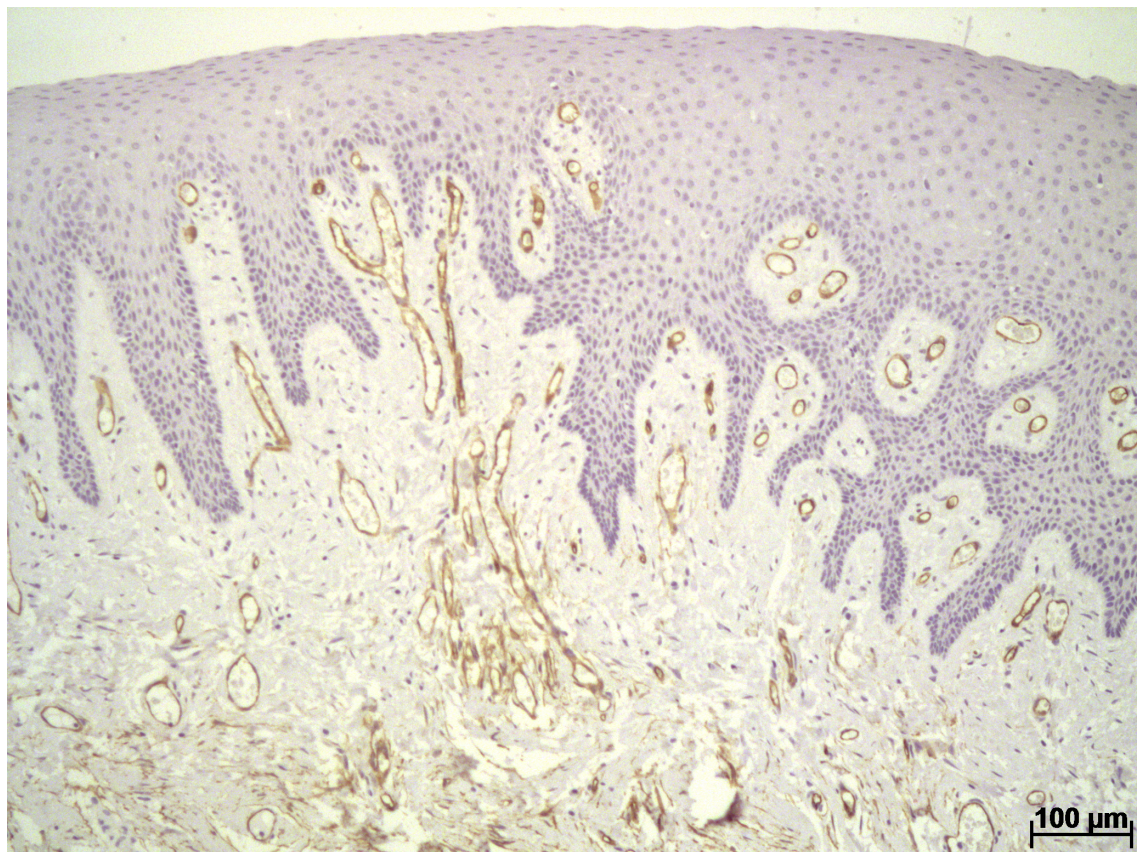
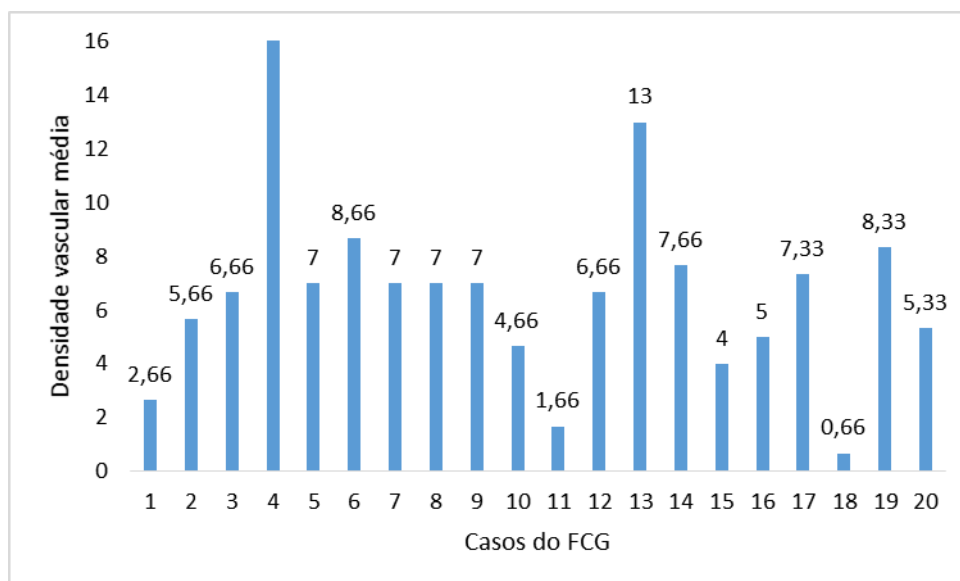


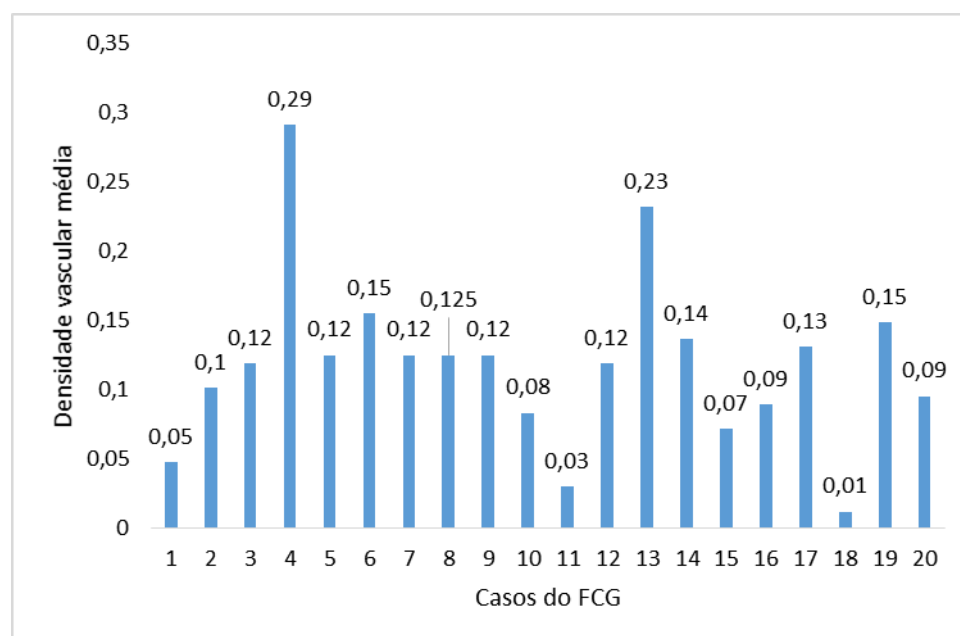
Figura 7- Expressão imuno-histoquímica do CD 34 em vasos sanguíneos no FCG.  
Objetiva de 10X.  
Fonte: Do autor.

Após a contagem de vasos, a densidade de microvasos foi expressa como a média do número de vasos pela área ( $56\text{mm}^2$ ). O teste não-paramétrico de Mann-Whitney verificou que a densidade vascular média da região subepitelial nas 3 áreas de  $56\text{mm}^2$  comparando as lesões entre si, apresentou a mediana de 6,84 com  $p. 0.0679$ . O Gráfico 3 ilustra a variação da DVM na região subepitelial nas 20 lesões em  $56\text{mm}^2$ .

Gráfico 3- Variação da DVM na região subepitelial (56 mm<sup>2</sup>)

Fonte: Do autor.

Na região subepitelial, a mediana foi de 0,13 microvasos por mm<sup>2</sup>. O Gráfico 4 ilustra a variação da densidade microvascular na região subepitelial nas 20 lesões por mm<sup>2</sup>.

Gráfico 4- Variação da DVM na região subepitelial (mm<sup>2</sup>)

Fonte: Do autor.

A Figura 8 ilustra o padrão de marcação do CD 34 nos vasos sanguíneos na região subepitelial.

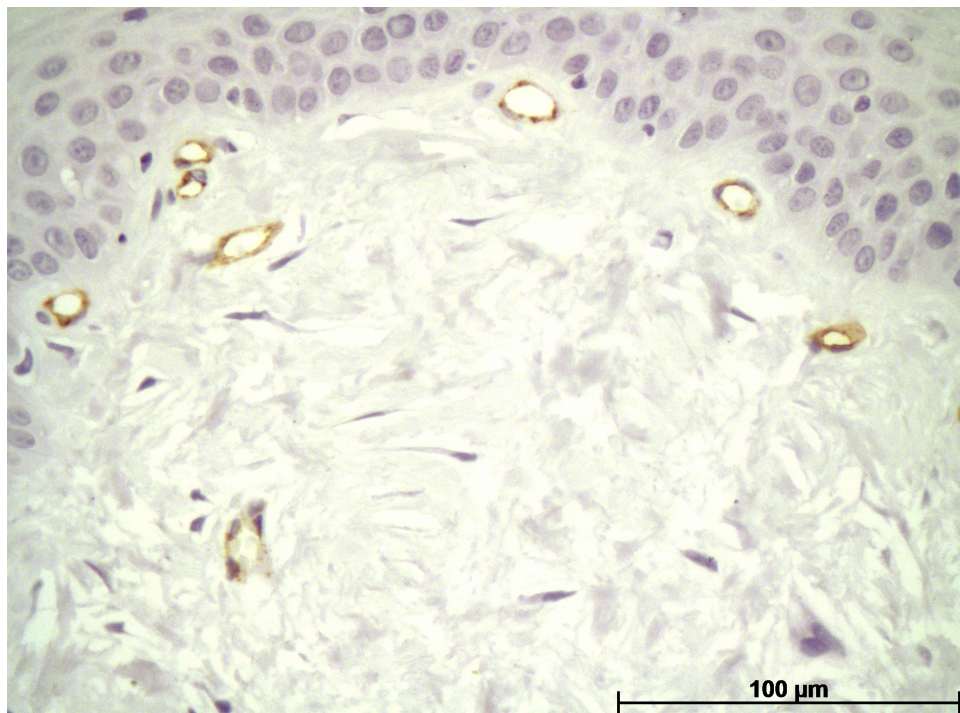
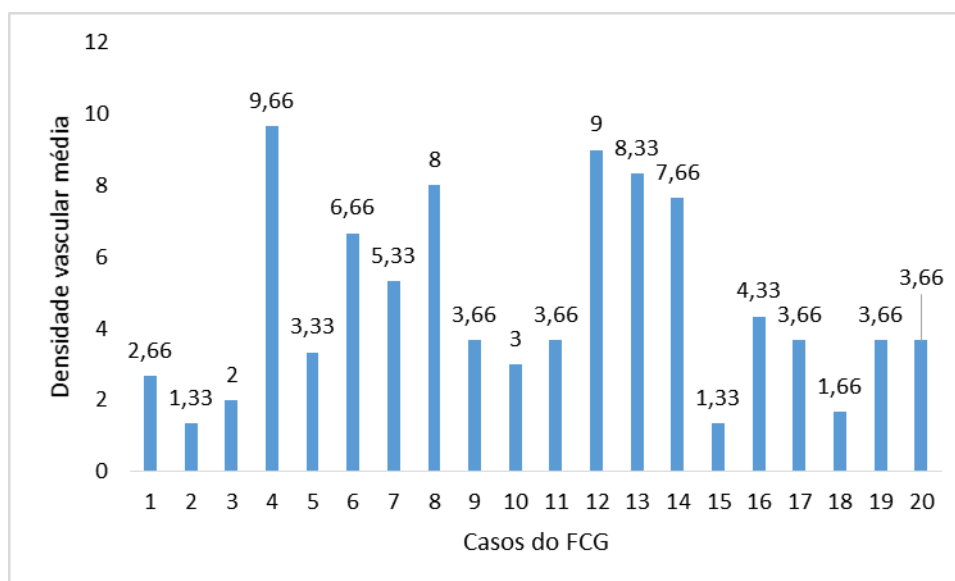


Figura 8- Expressão imuno-histoquímica do CD 34 em vasos sanguíneos em região subepitelial. Objetiva de 40X.  
Fonte: Do autor.

A densidade vascular média da região profunda nas 3 áreas de 56 mm<sup>2</sup> apresentou mediana de 3,67 com p. 0.0679. O Gráfico 5 ilustra a variação da densidade microvascular na região profunda nas 20 lesões em 56 mm<sup>2</sup>.

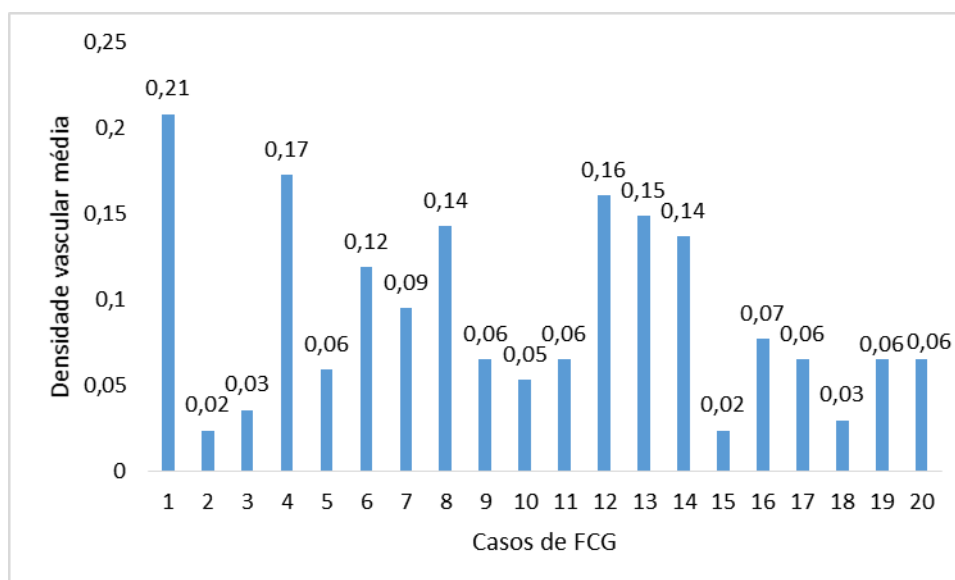
Gráfico 5- Variação da DVM na região profunda (56 mm<sup>2</sup>)



Fonte: Do autor.

Na região profunda, a mediana foi de 0,07 microvasos por  $\text{mm}^2$ . O Gráfico 6 ilustra a variação da densidade microvascular na região profunda nas 20 lesões por  $\text{mm}^2$ .

Gráfico 6- Variação da DVM na região profunda ( $\text{mm}^2$ )



Fonte: Do autor.

A Figura 9 ilustra o padrão de marcação do CD 34 nos vasos sanguíneos na região profunda.

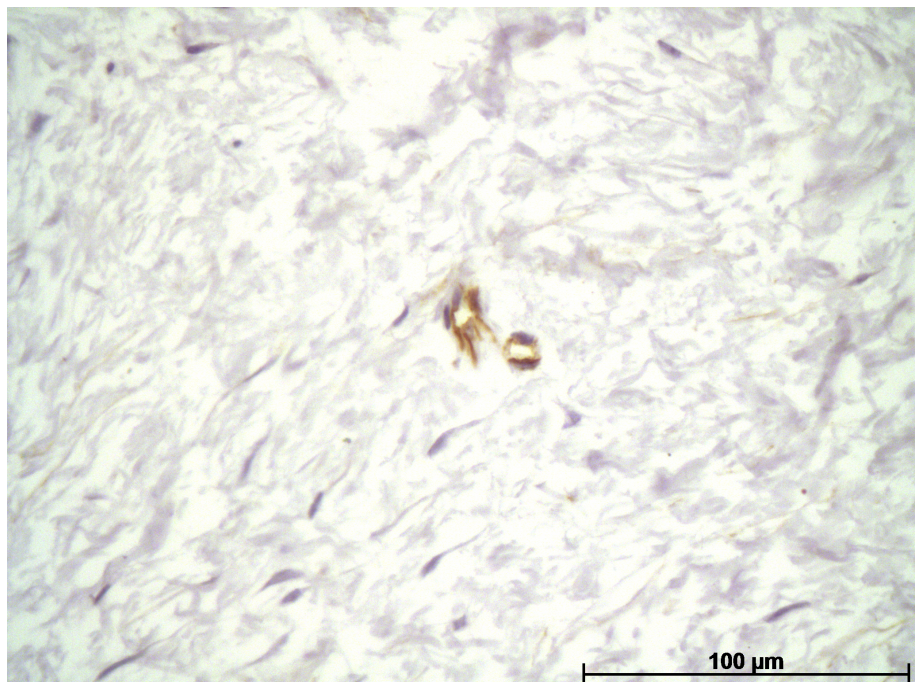
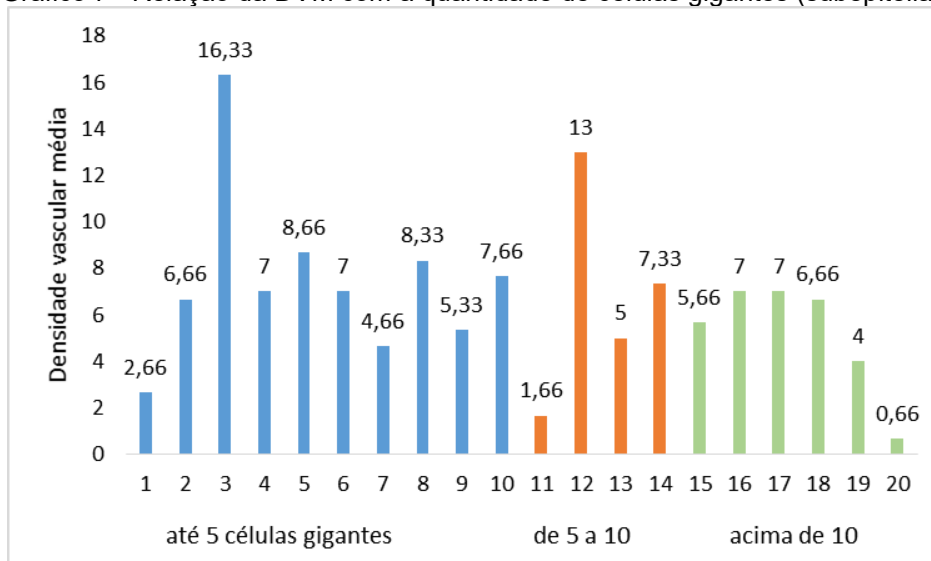


Figura 9- Expressão imuno-histoquímica do CD 34 em vasos sanguíneos em região profunda. Objetiva de 40X.  
Fonte: Do autor.

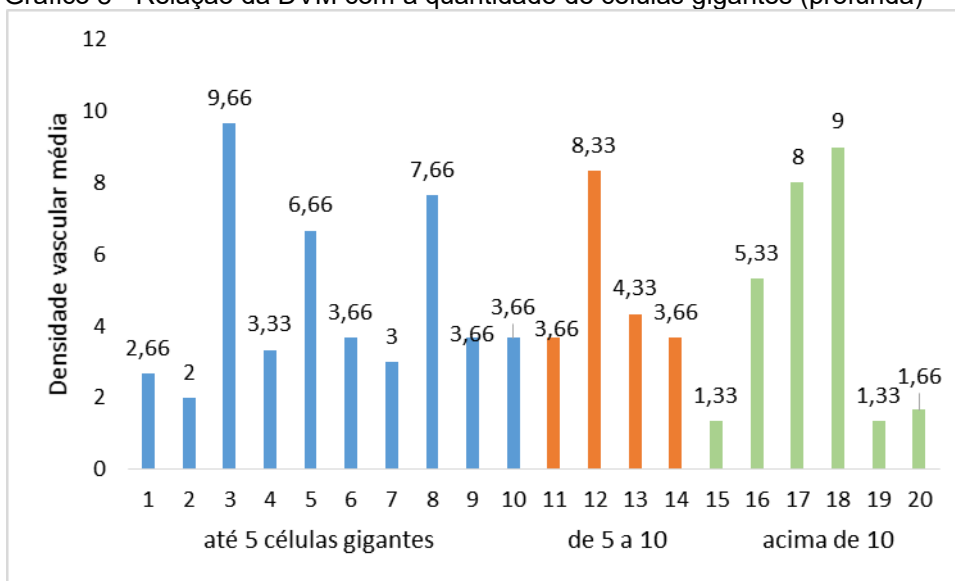
Analisando a DVM nas regiões com até 5, de 5 a 10 e acima de 10 células gigantes por campo foi observado na região subepitelial ( $p= 0,5133$ ) e região profunda ( $p= 0,9526$ ) que não houve diferença estatística do número de vasos nos casos com diferentes quantidades de células gigantes. O Gráfico 7 demonstra a DVM em área de  $56 \text{ mm}^2$  dos casos com até 5, de 5 a 10 e acima de 10 células gigantes por campo na região subepitelial e o Gráfico 8 na região profunda.

Gráfico 7- Relação da DVM com a quantidade de células gigantes (subepitelial)



Fonte: Do autor.

Gráfico 8- Relação da DVM com a quantidade de células gigantes (profunda)



Fonte: Do autor.

## 6 DISCUSSÃO

A identificação do FCG como uma entidade separada por Weathers e Callihan acrescentou uma nova dimensão à discussão, a apresentação clínica e epidemiológica da maioria das lesões fibrosas da boca são bastante semelhantes, assim, a identificação é dependente da diferenciação histopatológica (JIMSON; JIMSON, 2013; PANDITA et al., 2014; SABARINATH; SIVARAMAKRISHNAN; SIVAPATHASUNDHARAM, 2012; WEATHERS; CALLIHAN, 1974).

O FCG representa 1% das lesões orais e 5% de todas as lesões fibrosas da boca (PANDITA et al, 2014). A etiologia é incerta, parece não estar associada com trauma ou irritação crônica (NEVILLE et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; SCHMIDT et al., 2016).

As mulheres tem sido observadas em uma ligeira predominância da frequência do FCG (MEDINA; ZULUAGA, 2010; MIGUEL et al., 2003; NEVILLE et al., 2016; SHAPIRA; AKRISH, 2011; SONALIKA et al., 2014). Em nossa análise dos prontuários dos pacientes, o gênero feminino foi o mais acometido (68,0%) e esse mesmo gênero foi relatado nos casos de Barboza et al. (2016), Campos et al. (2010), Medina e Zuluaga (2010), Pandita et al. (2014) e Weathers e Callihan (1974). Como observado, a frequência do gênero feminino foi o dobro do masculino, o que difere da “ligeira” predominância relatada pelos demais trabalhos já publicados.

Aproximadamente 93-97% dos FCGs se desenvolvem em leocodermas e apenas 3-7% das lesões ocorrem em outras raças (KUO et al., 2009). Os resultados deste estudo indicaram um predomínio para ocorrência em leucoderma sendo 86,7% dos casos que continham essa informação. Os trabalhos publicados sobre o FCG até o momento não procuraram informar esse critério para que possamos comparar nessa pesquisa. Em nossa pesquisa foi observado que alguns cirurgiões-dentistas ao encaminhar essas lesões geralmente não disponibilizaram todas as informações como a cor da pele, idade, sintomatologia, coloração clínica e tipo de biópsia realizada. Isso demonstra não só para este estudo como também para as outras lesões que são enviadas para o exame anatomopatológico, a necessidade de estimular os profissionais a disponibilizarem todas as informações do paciente e do aspecto clínico da lesão, visto que contribuirão para o diagnóstico microscópico, para o arquivamento do pedido de solicitação de exame e para pesquisas futuras.

O FCG pode ocorrer em qualquer idade, mas apresenta pico de incidência na segunda década de vida, com cerca de 60% das lesões ocorridas nas três primeiras décadas (KUO et al, 2009). Constatou-se na literatura casos de FCG em uma das três primeiras décadas nos trabalhos de: Weathers e Callihan (1974) (prevalência nas primeiras três décadas de vida), em trabalhos de relato de caso como Swan (1988) (6 anos), Campos et al. (2010) (11 anos), Jimson, Jimson (2013) (25 anos), Nikitakis et al. (2013) (7 anos), Sonalika et al. (2014) (19 anos) e Butorano et al. (2015) (24 anos). Em nosso trabalho, a prevalência foi na 4ª e 5ª década de vida o que não é comum, entretanto, há relatos de caso em pessoas acima de 40 anos de idade, como os de Medina e Zuluaga (2010) (45 anos), Pandita et al. (2014) (45 anos) e Bagheri et al. (2015) (54 anos).

Frequentemente, o FCG apresenta-se como nódulo assistomático (MEDINA; ZULUAGA, 2010; MIGUEL et al 2003; NEVILLE et al., 2016; SHAPIRA; AKRISH, 2011; SONALIKA et al., 2014). Assim como nos casos relatados por: Bagheri et al. (2015), Nikitakis et al. (2013), Pandita et al. (2014) e Shapira; Akrish (2011), em nosso trabalho, a maioria dos casos (72%) eram assintomáticos.

O FCG apresenta-se em uma maior frequência em região de gengiva. Na Tabela 20 observamos as localizações clínicas de maior ocorrência relatadas em pesquisas com grandes números de casos de FCG. Podemos inferir da tabela, que a localização mais frequente foi a gengiva, seguida pela língua e palato mas foram relatados também na mucosa bucal, nos lábios, assoalho de boca e outras regiões.

Tabela 20 - Localização clínica de maior ocorrência do FCG

<b>Autores</b>	<b>Weathers, et al., (1974)</b>	<b>Houston (1982)</b>	<b>Bakos (1992)</b>	<b>Magnusson et al., (1995)</b>	<b>Kuo et al., (2009)</b>	<b>Sabarinath et al., (2012)</b>	<b>TOTAL</b>
<b>Número de PACIENTES</b>	108	464	116	103	24	21	836
<b>Localização</b>							
Gengiva	48	227	32	55	7	14	383
Língua	18	102	22	24	8	3	177
Mucosa Bucal	16	27	23	12	1	2	81
Palato	16	86	16	4	3	2	127
Lábio	2	12	5	1	-	-	10
Assoalho de boca	1	1	1	-	1	-	4
Não especificado	4	7	-	7	-	-	18
Outros	3	3	2	16	4	-	28

Fonte: Do autor.

Em nosso estudo as localizações foram: assoalho de boca, fundo de vestibulo, gengiva, lábio, língua, mucosa jugal, palato, região retromolar e túber da maxila. Observamos assim que a gengiva, a localização mais frequente relatada na literatura, em nossa pesquisa isso não ocorreu, sendo a língua (8%) e mucosa jugal (5%) as mais frequentes. O trabalho de Kuo et al. (2009) também obteve a língua como a região de maior ocorrência. Butorano et al. (2015), Shapira e Akrish (2011) e Sonalika et al. (2014) relataram casos de FCG em língua. Entretanto, na literatura, além desses trabalhos com grande números de casos, outros autores também descreveram em gengiva como: Barboza et al. (2016), Campos et al. (2010), Medina e Zuluaga (2010) e Nikitakis et al. (2013).

A coloração do FCG pode-se apresentar de aspecto normal (NIKITAKIS et al., 2013; PANDITA et al., 2014; SABARINATH; SIVARAMAKRISHNAN; SIVAPATHASUNDHARAM, 2012;). Neste estudo, a coloração clínica foi predominante normal (13 casos), semelhante à mucosa saudável, o mesmo descrito

nos trabalhos de: Barboza et al. (2016), Butorano et al. (2015), Medina e Zuluaga (2010), Pandita et al. (2014), Sonalika et al. (2014) e Swan (1988).

O papiloma e o fibroma podem ser confundidos com o FCG devido sua superfície papilar e à sua natureza fibrosa respectivamente. Outras lesões são citadas como diagnóstico diferencial: o granuloma piogênico e lesão central de células gigantes (TOLENTINO; CENTURION; DAMANTE, 2009; KUO et al., 2009). A HFI também, devido à sua natureza fibrosa (NIKITAKIS et al., 2013). O caso descrito por Jimson, Jimson (2013) teve a HFI como um dos diagnósticos clínicos e Pandita et al. (2014) em seu caso, o fibroma. Semelhante à estes relatos, o diagnóstico clínico mais citado neste presente estudo foi a HFI seguido por fibroma sendo 18 e 7 casos respectivamente. Segundo Nikitakis et al., 2013, o fibroma tem predileção pela mucosa jugal e é geralmente maior que 1 cm. A HFI tem aparência clínica semelhante, porém a ausência de células gigantes que são achados histopatológicos do FCG pode estabelecer o diagnóstico.

A excisão cirúrgica simples é o tratamento de escolha para o FCG e é geralmente bem sucedida (BAGHERI et al., 2015; JIMSON; JIMSON, 2013; NIKITAKIS et al., 2013; PANDITA et al 2014). Dos casos que continham essa informação, 88% foi realizado biópsia excisional, os autores: Bagheri et al. (2015), Jimson, Jimson (2013), Kuo et al. (2009), Pandita et al. (2014) e Shapira e Akrish (2011), também relataram esse procedimento.

As características microscópicas são compostas por revestimento epitelial pavimentoso estratificado hiperplásico, tecido conjuntivo fibroso geralmente arranjado frouxamente, com ausência de inflamação e presença de células gigantes mono, bi e multinucleadas, fusiformes ou estreladas na lâmina própria papilar (CAMPOS; GOMEZ, 1999; JIMSON; JIMSON, 2013; MAGNUSSON; RASMUSSEN, 1995; MIGUEL; RONINSON; HUME, 1997; MIGUEL et al., 2003; ODELL; LOCK; LOMBARDI, 1994; OKAMURA et al. 2009; OLIVEIRA et al., 2016; SANTOS et al., 2011; TOLENTINO; CENTURION; DAMANTE, 2009). Microscopicamente, neste estudo, o FCG apresentou-se em todos os casos com presença de epitélio pavimentoso estratificado. Sendo que esse epitélio demonstrou na maioria das lesões ser hiperplásico (88%) e paraqueratinizado (60%). Houve uma ligeira predominância de cristas longas (44%). Essas informações demonstram que as características microscópicas do epitélio do FCG não diferem de outras lesões fibrosas como por exemplo da hiperplasia fibrosa inflamatória, um crescimento

reativo focal que assim como o FCG também apresenta microscopicamente, epitélio pavimentoso estratificado, hiperplásico e queratinizado como descrita pelos autores Barros; Campos; Cabral (2014); Pedron et al. (2007) e Tolentino; Centurion; Damante (2009).

O FCG, a HFI e o fibroma constituem algumas das mais frequentes lesões fibrosas dos tecidos moles orais. Segundo Miguel et al. 2003, todas as três lesões podem apresentar tecido conjuntivo denso e fibroso. Consentindo com essa informação, nossos resultados demonstraram que dos 25 casos, 18 apresentavam em todo o tecido conjuntivo fibras colágenas espessas e na faixa subepitelial e lâmina própria 76% e 64% dos casos apresentavam poucas células.

As células gigantes apresentam a principal característica do FCG. Vários imunomarcadores já foram utilizados com o intuito de descobrir a origem destas células. Até o momento, a vimentina foi a mais utilizada, um marcador de células mesenquimais como os fibroblastos. Segundo os autores Ardila; Guzmán, 2010, Jimson; Jimson, 2013, Miguel et al, 2003, Shapira; Akrish, 2011 e Sonalika, 2014, por apresentar positividade nos casos de FCG estudados, as células gigantes, mono, bi ou multinucleadas sugerem possível natureza fibroblástica. Com a importância da presença destas células para o diagnóstico do FCG realizou-se neste estudo, a análise destas, onde a maioria das lesões (60% do casos) apresentaram até 5 células gigantes por campo e 24% mais de 10 células. Este trabalho é o pioneiro a realizar esse tipo de pesquisa de observação dos aspectos microscópicos observando esses parâmetros, o que inclui a observação de células gigantes em HE. Ressalta-se aqui a importância de realizar mais estudos nesse aspecto, pois as últimas investigações voltaram-se para a origem das células gigantes e não para a quantidade destas.

As células mononucleares são mais frequentemente encontradas, mas as células multinucleadas podem também estar presentes. Estas células são mais proeminentes apenas abaixo do epitélio e são menos comuns ou ausente na porção central (PANDITA et al., 2014). Das 25 lesões observadas, 48% das células gigantes eram mononucleadas, 36% mono e binucleadas, 8% eram mono e trinucleadas e 8% mono, bi e trinucleadas. Os autores Miguel et al., 2003 e Odell; Lock; Lombardi, 1994, descreveram que as células gigantes encontradas no FCG podem ser vistas também em outras lesões fibrosas bucais, como a hiperplasia fibrosa inflamatória, o fibroma e a papila retrocanina, assim como outras partes do

corpo, parecendo fazer parte do espectro normal de resposta tecidual a injúrias. Nossos resultados demonstram que é necessário mais estudos com o intuito de padronizar o número de células gigantes suficientes para fazer o diagnóstico de FCG e conhecer o frequente número de núcleos, já que outras lesões fibrosas também apresentam estas células.

Dentre as características microscópicas do FCG, inclui a ausência ou presença de discreta inflamação, para isso, foram excluídas no início da coleta da amostra os casos que apresentavam intenso infiltrado inflamatório, sendo assim, 60% apresentaram discreta inflamação. Pandita et al. (2014) ao observar microscopicamente um caso de FCG em gengiva, verificou poucas células inflamatórias no tecido conjuntivo.

Segundo Brasileiro Filho 2016 e Franco et al., 2015, nas inflamações ocorrem alterações vasculares o que incluem o aumento dos vasos sanguíneos, hiperemia e congestão para facilitar a passagem sucessiva de líquido, macromoléculas de células sanguíneas para o interstício. E, na fase de reparo das lesões haverá angiogênese para substituir o endotélio lesado. O FCG apresenta vascularização proeminente especialmente na zona subepitelial (PANDITA et al., 2014). Em relação à quantidade de vasos sanguíneos presentes no tecido conjuntivo observado em HE, 18 casos (72%) apresentaram pouca ou discreta quantidade de vasos sanguíneos. Sobre a hiperemia e dilatação destes vasos, 64% dos casos apresentaram-se nem dilatado e nem hiperêmico. Devido à discreta inflamação acima citada e à predominância de discreta quantidade de vasos sanguíneos e ausência de hiperemia e dilatação vascular, sugere-se que a presença dos vasos sanguíneos nestas lesões não denota uma resposta inflamatória.

A angiogênese em adultos é considerada uma das mais importantes reações estromais (SWELLAN et al., 2005). O crescimento da neoplasia depende de células tumorais para liberar fatores angiogênicos e antiangiogênicos essenciais para a neovascularização induzida por tumores (MOGHADAM; ABADI; MOKHTARI, 2015). A DVM é uma análise quantitativa da microvasculatura da angiogênese, que envolve a coloração imuno-histoquímica de células endoteliais de capilares utilizando como um dos anticorpos o CD 34 (JAMSHIDI et al., 2014; PEREIRA; DODAL; TAMGADGE; BHALERAO; TAMGADGE, 2016). Sendo o FCG um tumor (JIMSON; JIMSON, 2013; PANDITA et al., 2014; SABARINATH; SIVARAMAKRISHNAN; SIVAPATHASUNDHARAM, 2012), se fez necessário nesta

pesquisa além da análise dos vasos sanguíneos em HE, a análise imunohistoquímica do CD 34, representado pela DVM.

Na região subepitelial, a mediana da DVM em uma área de 56 mm<sup>2</sup> foi de: 6,84 com  $p= 0.0679$  (0,13 microvasos por mm<sup>2</sup>) e na região profunda: 3,67 com  $p= 0.0679$  (0,07 microvasos por mm<sup>2</sup>). Com esses valores, o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, demonstra que os dados são estatisticamente iguais. Isto significa que, não há variação entre as 20 lesões quando estudada a DVM seja na região subepitelial ou seja na região profunda. Isso demonstra a necessidade de mais estudos com essa metodologia e maior número de amostra, visto que nessa pesquisa, devido aos poucos casos diagnosticados entre os períodos de 1997 a 2016, por ser uma neoplasia que corresponde 1% das lesões orais, a amostra não pode ser maior. Entretanto, apesar dos valores de  $p$ ., observando nos gráficos das variações da DVM foi possível verificar que entre as lesões, há uma variação alternando entre valores de 0,66 a 16 na região subepitelial e 1,33 a 9,66 em região profunda, mas estatisticamente não se pode afirmar. Pode haver diferença de uma lesão para outra, com maior quantidade de vasos sanguíneos do que comumente se encontra no FCG? Bem, para se estabelecer esta afirmação mais estudos deverão ser realizados, visto que este trabalho foi o primeiro a realizar este tipo de análise.

Como esta lesão é caracterizada pela presença de células gigantes, pesquisamos se lesões com maiores números de células gigantes por campo, apresentam maiores números de vasos sanguíneos e observamos na região subepitelial ( $p= 0,5133$ ) e região profunda ( $p= 0,9526$ ) que não houve diferença estatística entre o número de vasos sanguíneos nos casos com diferentes quantidades de células gigantes.

Metaloproteinases de matriz é um grupo bem regulado de proteases que desempenha um importante papel no remodelamento tecidual e degradação da matriz extracelular em processos angiogênicos (SAITO et al., 2001; STEVENSON et al.,1999), entre outros. Estas enzimas proteolíticas causam alteração estrutural e funcional dos componentes da matriz extracelular e são produzidas por uma variedade de tipos celulares, incluindo fibroblastos, macrófagos, neutrófilos e células endoteliais (HOQUE et al.,1998; STEVENSON et al.,1999; TCHOUGOUNOVA et al., 2005). Os pesquisadores Oliveira et al. (2016), utilizaram os anticorpos anti-metaloproteinase-1 e anti-metaloproteinase-8 em HFI e FCG, para discutir a possível ação da anti-metaloproteinase-1 nos vasos sanguíneos promovendo a angiogênese.

Este efeito pró-angiogênico serve para a proliferação de fibroblastos que sintetiza a matriz extracelular na superfície estromal, resultando em deposição excessiva de colágeno e causando um aumento de volume nessas lesões. Após análise dos resultados, sugeriram que o possível papel angiogênico pode estar relacionado à HFI, mas não ao FCG, que se caracteriza histopatologicamente segundo os autores, por tecido conjuntivo exibindo escassa ou moderada vascularização. Por ainda não apresentar trabalhos publicados com a DVM em FCG, não podemos estabelecer ou comparar se a DVM deste trabalho representa uma variação baixa ou alta. Entretanto, sugerimos que novas pesquisas sejam realizadas pois até o momento os estudos voltaram-se para as células gigantes.

A caracterização clínico-patológica, microscópica e da DVM do FCG se faz necessário em novas pesquisas por ser uma neoplasia em discussão com as outras lesões fibrosas. Como demonstrado neste trabalho, sua localização clínica pode variar e microscopicamente apesar das células gigantes serem pela literatura, de origem fibroblástica, pouco se sabe sobre a vascularização e até mesmo sua relação com estas células. Os marcadores atualmente utilizados não podem diferenciar células endoteliais em repouso e ativas. Isso enfatiza a necessidade de um marcador específico para os vasos neoangiogênicos ativos. Também são necessários marcadores para distinguir os vasos normais dos vasos intratumoral e peritumoral. A pesquisa futura também se beneficiaria com uma padronização do protocolo de pesquisa.

## 7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados concluímos que a caracterização da densidade vascular média não foi significativa em relação à caracterização clínico-patológica e microscópica do FCG. As células gigantes não parecem chegar até a lesão por meio dos vasos sanguíneos. Este trabalho é pioneiro na realização deste tipo de pesquisa, tornando-se necessário mais investigações.

Sugerimos novas pesquisas avaliando o número de células gigantes necessárias para estabelecer o diagnóstico de FCG e uma análise ultraestrutural para compreender melhor a presença destas células. Embora seja uma neoplasia pouco comum, o seu diagnóstico diferencial se baseia em lesões fibrosas encontradas frequentemente.

## REFERÊNCIAS

- AGARWAL, D. et al. Characterization, Localization and Patterning of Lymphatics and Blood Vessels in Oral Squamous Cell Carcinoma: A Comparative Study Using D2-40 and CD-34 IHC Marker. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, Índia, v. 8, n. 10, p. 86-89, oct. 2014.
- BAGHERI, F. et al. Giant Cell Fibroma of the Buccal Mucosa with Laser Excision: Report of Unusual Case. **Case Report , Iran J Pathol**. v. 10, n. 4, p. 314–317, 2015.
- BARBOSA, T. P. M. et al. Lesões Bucais Associadas ao Uso de Prótese Total. **Rev.Saúde.Com**, Bahia, Brasil, v. 7, n. 2, p. 133-142, 2011.
- BARBOZA, C. A. G. et al. Gingival giant cell fibroma of unusual size. **Rev Cubana Estomatol**, Cuba, v. 53, n.2, p. 62-66, 2016.
- BARROS, R. M. G.; CAMPOS, K. S. M.; CABRAL, L. M. Relato de Caso Clínico de Hiperplasia Inflamatória. **Revista Odontológica de Araçatuba**, Araçatuba, Brasil v. 35, n. 2, p. 15-18, jul./dez. 2014.
- BAKOS, L. H. The giant cell fibroma: a review of 116 cases. **Am J Dent**. v. 5, p. 32-35, 1992.
- BÍBLIA SAGRADA. A.T. MATEUS. Aparecida, São Paulo, **Santuário**, 2006. cap.21, p.1490.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.
- BREEN, E.C. VEGF in Biological Control. **Journal of Cellular Biochemistry**, China, v.102, p. 1358–1367, 2007.
- BUTORANO, M. A. G. M. et al. Giant Cell Fibroma: A Case Report Concerning an Unusual Lesion of the Oral Cavity. **International Journal of Medical and Pharmaceutical Case Reports**.v. 2, n. 1, p. 1-4, 2015.
- CAMPOS, É.; GOMEZ, R. S. Immunocytochemical Study of Giant Cell Fibroma. **Braz Dent J**. Belo Horizonte, v. 10, n. 2, p. 89-92, 1999.
- CAMPOS, M. S. et al. Giant Cell Fibroma of the Maxillary Gingiva in Children: A Case Report. **Journal of Dentistry for Children** v. 77, n. 3, p. 174- 176, 2010.
- CHEN, Z. et al. Expression of cluster of differentiation 34 and vascular endothelial growth factor in breast cancer, and their prognostic significance. **Oncology Letters**, v. 10, p. 723-729, 2015.
- DAMASCENO, L. S. **Imunolocalização de Miofibroblastos em Processos Proliferativos Não Neoplásicos Gengivais**. 2008. 75f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas com ênfase em Periodontia)- Pontifícia Universidade Católica

de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

FRANCO, M. et al. **Patologia Processos Gerais**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2015.

FERREIRA, E. C. N. **Ação Biológica de Miofibroblastos na Cicatrização e em outros Processos Patológicos ( Revisão de Literatura)**. 2008. 47 f. Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, título de Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais. Salvador, 2008.

FOSSLIEN, E. Review: Molecular Pathology of Cyclooxygenase-2 in Cancer-induced Angiogenesis. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, Houston, v. 31, n. 4, p. 325-348, 2001.

FRASCARELI, F. R.C. et al. Fibroma de Células Gigantes: Estudo Histoquímico da Matriz Extracelular e Análise Comparativa com Hiperplasia Fibrosa Inflamatória utilizando os Métodos Hortega, Tricrômico de Azan, Vermelho Congo e Weigert Van Gieson. **Revista Saúde e Pesquisa**. Maringá, v. 2, n. 1, p. 65-68, jan./abr. 2009.

GARCIA, C. J. F. S. et al. Cytophotometric expression of the tumor markers CD-34 and factor VIII in colorectal câncer. **Rev. Col. Bras. Cir.** Rio de Janeiro, v. 36, n. 1, p. 56- 64. 2009.

HOQUE, M. O. et al. Significant correlation between matrix metalloproteinase activity and tumor necrosis factor- $\alpha$  in salivary extravasation mucoceles. **J oral pathol Med**. v. 27, p. 30-33, 1998.

HOUSTON, G. D. The giant cell fibroma: A review of 462 cases. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. v. 53, n. 6, p. 582- 587, 1982.

IBM Corp. Released 2011. **IBM SPSS Statistics for Windows**, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

JAMSHIDI,S. et al. An Immunohistochemical Survey to Evaluate the Expression of CD105 and CD34 in Ameloblastoma and Odontogenic Keratocyst. **J Dent Shiraz Univ Med Sci**. Irã. v.15, n. 4, p. 192-198, dec. 2014.

JIMSON, S.; JIMSON, S. Giant Cell Fibroma: A Case Report with Immunohistochemical Markers. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. Índia, v. 7, n. 12, p. 3079-3080, dec. 2013.

KUKREJA, I; KAPOOR, P; DESHMUKH, R; KULKARNI, V. VEGF and CD 34: A correlation between tumor angiogenesis and microvessel density-  
animmunohistochemical study. **J Oral Maxillofac Pathol**. v. 17, n. 3, p. 367- 373, 2013.

KUO, R. C. et al. Clinicopathological study of oral giant cell fibromas. **J Formos Med Assoc**. v. 108, n. 9, p.725-729, 2009.

LÚCIO, P. S. C. et al. Myofibroblasts and their relationship with oral squamous cell carcinoma. **Braz J Otorhinolaryngol**. v. 79, n. 1, p. 112- 118, 2013.

MAGNUSSON, B.C; RASMUSSEN, L.G. The giant cell fibroma. A review of 103 cases with immunohistochemical findings. **Acta Odontol Scand.** v. 53, n. 5, p. 293-296, 1995.

MEDINA, A. C. M; ZULUAGA, G. I. C. Escisión de un fibroma de células gigantes con láser de diodo: Informe de un caso. **Av. Odontostomatol.** v. 26, n.3, p. 161-164, 2010.

MIGUEL, A. J.; ROBINSON, P. A.; HUME, W. J. Histochemical and Immunohistochemical Localisation of Elastic System Fibres in Focal Reactive Overgrowths of Oral Mucosa. **Journal Oral Pathology e Medicine**, Munksgaard, v. 26, n. 4, p. 153-158, apr. 1997.

MIGUEL, M. C. C. et al. Immunohistochemical expression of vimentin and HHF-35 in giant cell fibroma, fibrous hyperplasia and fibroma of the oral mucosa. **J Appl Oral Sci.** v. 11, n. 1, p. 77- 82, 2003.

MOCANU, L.; CÎMPEAN, A. M.; RAICA, M. Expression of cytokeratin MNF116 and vimentin in pleural serous effusions. **Romanian Journal of Morphology and Embryology.** v. 48, n. 3, p. 291–294, 2007.

MOGHADAM, S. A.; ABADI, A. M.; MOKHTARI, S. Immunohistochemical analysis of CD 34 expression in salivary gland tumors. **J. Oral. Maxillofac. Pathol.** v.19, n. 1, p. 30-33, 2015.

NETTO, G. C; BLEIL, C. B; ARLETE, H; COUTINHO, L. M. B. Immunohistochemical evaluation of the microvascular density through the expression of TGF- $\beta$  (CD 105/endoglin) and CD 34 receptors and expression of the vascular endothelial growth factor (VEGF) in oligodendrogliomas. **Neuropathology.** v. 28, p. 17- 23, 2008.

NEVILLE, B.W. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial.** 4<sup>a</sup>. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

NIKITAKIS, N. G. et al. Giant Cell Fibroma in Children: Report of Two Cases and Literature Review. **J Oral Maxillofac Res.** v. 4, n. 1, p. 1- 7, jan./ mar. 2013.

ODELL, E. LOCK, C. LOMBARDI, T. Phenotypic characterisation of stellate and giant cells in giant cell fibroma by immunocytochemistry. **J Oral Pathol Med.** v. 23, p. 284-287. 1994.

OKAMURA, K. et al. Giant Cell Fibroma of the tongue: report of a case showing unique S-100 protein and HLA-DR immunolocalization with literature review. **Oral Med Pathol.** v. 13, jan. 2009.

OLIVEIRA, H. C. et al. MMP-1 and MMP-8 expression in giant cell fibroma and inflammatory fibrous hyperplasia. **Pathol Res Pract.** v. 2012, n.12, p. 1108-1112, dez. 2016.

PANDITA, V. et al. Giant Cell Fibroma: A Histologic Case Report. **J Periodontal Med Clin Pract**, v. 1, p. 107-111, jan./apr. 2014.

PEDRON, I. G. et al. Hiperplasia Fibrosa Causada por Prótese: Remoção Cirúrgica com Laser Nd:YAP. **Rev. Clín. Pesq. Odontol.** v. 3, n. 1, p. 51- 56, jan./abr. 2007.  
PEREIRA, T; DODAL, S; TAMGADGE, A; BHALERAO, S; TAMGADGE, S.  
Quantitative evaluation of microvessel density using CD34 in clinical variants of ameloblastoma: An immunohistochemical study. **J Oral Maxillofac Pathol.** v. 20, n. 1. p. 51- 58. jan/ apr. 2016.

PINHO, M. S.L. Angiogênese: o gatilho proliferativo. **Revista Bras Coloproct.** v. 25,n. 4, p. 396-402, out/ dez. 2005.

SABARINATH, B.; SIVARAMAKRISHNAN, M.; SIVAPATHASUNDHARAM, B. Giant Cell Fibroma: A clinicopathological study. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology.** v. 16, sep./dec. 2012.

SAITO, S.; TROVATO, M. ; YOU, R. Role of matrix metalloproteinases 1, 2, and 9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in chronic venous insufficiency. **J Vasc Surg.** v. 34, n. 5, p.930-938, 2001.

SANTOS, P. P.; NONAKA, C.F.; PINTO, L. P. et al. Immunohistochemical expression of mast cell tryptase in giant cell fibroma and inflammatory fibrous hyperplasia of the oral mucosa. **Ach. Oral. Biol.** v. 56, n. 3, p. 231- 237. Oct. 2011.

SHAPIRA, M.; AKRISH, S. A 6-year-old Girl With a Lesion on the Tongue. **Pediatric Annals**, v. 40, n. 2, Feb. 2011.

SCHMIDT, M. J. et al. Histochemical analysis of collagen fibers in giant cell fibroma and inflammatory fibrous hyperplasia. **Elsevier, Acta Histochemica.** v. 118, p. 451-455, 2016.

SMITHA, G. P. et al. Comparison of Myofibroblasts Between Solid/Multicystic Ameloblastoma and Unicystic Ameloblastoma: An Immunohistochemical Analysis. **Journal of Clinical and Diagnostic Research.** v. 10, n. 5, p. 52-57, may. 2016.

SONALIKA, W. G. et al. Giant Cell Fibroma of Tongue: Understanding the Nature of an Unusual Histopathological Entity. **Hindawi Publishing Corporation Case Reports in Dentistry.** v. 2014.

STEVENSON, W. G. S. Matrix metalloproteinases in angiogenesis:a moving target for therapeutic intervention. **The Journal of Clinical Investigation.** v. 103, n. 9, p. 1237-1241, 1999.

SWAN, R. H. Giant Cell Fibroma. A Case Presentation and Review. **J. Periodontol.** v. 59, n. 5, p. 338- 340, May. 1988.

SWELAM, W.; YONEMOCHI, H.I.; SAKU, T. Angiogenesis in mucous retention cyst? A human in vivo-like model of endothelial cell differentiation in mucous substrate. **J oral pathol med.** v.34, p.30-38, 2005.

TAKANO, G. H. S. **Perfil Imunoistoquímico dos Tumores Neuroendócrinos**. Dissertação ( Mestre em Ciências Médicas)- Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. Brasília, 2007.

TAO, X.; HUANG, Y.; LI, R. et al. Assessment of local angiogenesis and vascular endothelial growth factor in the patients with atrophic-erosive and reticular oral lichen planus. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. v. 103, p. 661-669, 2007.

TOLENTINO, E. S.; CENTURION, B. S.; DAMANTE, J. H. Fibroma de Células Gigantes: Considerações Gerais e Relato de Caso. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 21, n.3, p. 277-81, set./dez. 2009.

TCHOUGOUNOVA, E.; LUNDEQUIST, A.; FAJARDO, I. A Key Role for Mast Cell Chymase in the Activation of Pro-matrix Metalloprotease-9 and Pro-matrix metalloprotease-2. **The journal of biological chemistry**. v. 280, n. 10, p. 9291-9296, 2005.

WEATHERS, D. R.; CALLIHAN, M. D. Giant Cell Fibroma. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. v. 37, p. 374-384. 1974.

WEIDNER, N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. **Breast Cancer Res Treat**. V. 36, p.169-180. 1995.

## ANEXO

## ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALFENAS

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** ANÁLISE DA EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DA DESMINA, MNF116,S-100 E COLORAÇÃO PRICO-SIRIUS NO FIBROMA DE CÉLULAS GIGANTES E NA HIPERPLÁSIA FIBROSA INFLAMATÓRIA

**Pesquisador:** Joyce Natiele da Silva

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 60344316.0.0000.5142

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.854.077

**Apresentação do Projeto:**

Projeto de Mestrado em Ciências Odontológicas. Versão 2. O fibroma de células gigantes é considerado uma lesão não neoplásica, onde as células gigantes mono, bi ou multinucleadas, as células fusiformes e estreladas representam a sua principal característica. Estas células gigantes não são exclusivas desta lesão, sendo encontradas em outras lesões fibrosas como a hiperplasia fibrosa inflamatória, esta por sua vez é considerada um crescimento reativo focal relacionada com a irritação crônica causada principalmente por próteses ou devido à desajustes oclusais. O objetivo deste estudo é analisar descritiva e comparativamente a presença ou ausência de células gigantes na matriz extracelular, sua quantidade e a distribuição em 50 lesões selecionadas a partir do arquivo de laudos do Laboratório de Patologia da Universidade Federal de Alfenas, sendo os últimos 25 casos de fibroma de células gigantes e 25 de hiperplasia fibrosa inflamatória correspondentes às localizações dos casos de fibroma de células gigantes. Será utilizado a técnica de coloração prico-sírius para evidenciar o colágeno e a imuno-histoquímica dos marcadores desmina, MNF116 e S-100. Embora tenham ocorrido progressos nas investigações imuno-histoquímicas quanto à origem das células gigantes e sua existência nessas lesões, sua natureza ainda não foi estabelecida, sendo necessárias novas pesquisas.

**Endereço:** Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700  
**Bairro:** centro **CEP:** 37.130-000  
**UF:** MG **Município:** ALFENAS  
**Telefone:** (35)3299-1318 **Fax:** (35)3299-1318 **E-mail:** comite.etica@unifal-mg.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALFENAS



Continuação do Parecer: 1.854.077

**Objetivo da Pesquisa:**

O objetivo deste estudo será analisar descritiva e comparativamente por meio da expressão imunohistoquímica dos marcadores desmina, MNF116 e S-100 a quantidade e a distribuição da imunomarcagem nas células gigantes de fibroma de células gigantes e de hiperplasia fibrosa inflamatória e investigar se há diferenças nas fibras colágenas nestas lesões pela técnica de coloração prico-sirius.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos - O risco é mínimo, pois o que pode ocorrer é extravio de material.

Benefícios - Aplicação dos resultados para a saúde humana e melhora da qualidade de vida.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A metodologia da pesquisa está muito bem referenciada com trabalhos atualizados. O cronograma de execução está coerente com os objetivos propostos e com o tempo de tramitação do projeto.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Projeto de pesquisa: OK;

Termo de dispensa do TCLE: OK;

TCUD: OK;

Termo de Colaboração: OK;

Folha de rosto: OK;

Autorização para realização da pesquisa: OK.

**Recomendações:**

Nenhuma.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado

**Considerações Finais a critério do CEP:**

O Colegiado do CEP acata o parecer do relator.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_794411.pdf	17/11/2016 14:15:57		Aceito
Outros	JOYCE_TCUD.pdf	17/11/2016 14:14:10	Joyce Natiele da Silva	Aceito

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700

Bairro: centro

CEP: 37.130-000

UF: MG

Município: ALFENAS

Telefone: (35)3299-1318

Fax: (35)3299-1318

E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE  
ALFENAS



Continuação do Parecer: 1.854.077

Outros	Termo_de_Colaboracao.pdf	21/09/2016 19:56:18	Joyce Natiele da Silva	Aceito
Outros	Dispensa_do_termo_de_consentimento.pdf	21/09/2016 19:55:31	Joyce Natiele da Silva	Aceito
Outros	Autorizacao_para_Realizacao_da_Pesquisa.pdf	21/09/2016 19:54:49	Joyce Natiele da Silva	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Joyce_Projeto_de_Pequisa.pdf	21/09/2016 19:54:04	Joyce Natiele da Silva	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Plataforma.pdf	21/09/2016 19:34:31	Joyce Natiele da Silva	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

ALFENAS, 02 de Dezembro de 2016

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700  
 Bairro: centro CEP: 37.130-000  
 UF: MG Município: ALFENAS  
 Telefone: (35)3299-1318 Fax: (35)3299-1318 E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br