

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**Avaliação do Tecido Conjuntivo de Folículos Pericoronários,
Cistos Dentígeros e Tumores Odontogênicos Ceratocísticos**

Sabrina Pozatti Moure

Porto Alegre, agosto de 2007.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**Avaliação do Tecido Conjuntivo de Folículos Pericoronários,
Cistos Dentígeros e Tumores Odontogênicos Ceratocísticos**

Linha de Pesquisa: Diagnóstico de Afecções Buco-Faciais

Sabrina Pozatti Moure

Dissertação apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de **Mestre em Odontologia**, área de concentração em **Patologia Bucal**.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Sant'Ana Filho

Porto Alegre, agosto de 2007.

DEDICATÓRIA

Aos meus maiores educadores, meus pais:

Telmo (*in memoriam*) e **Arléte**.

*“Em alguns momentos,
a frustração questiona
meu papel como educador
e os resultados negativos instigam
à assimilação da disfunção
ou ao abandono da profissão.
Outras vezes, tenho a sensação de descobertas
de mecanismos superadores
da deficiente interação professor e aluno.
Atualmente, estou na segunda alternativa.
Os resultados têm sido surpreendentes.”*
Telmo Moure, em 1999.

AGRADECIMENTOS

Aos meus **pais**, pelo incentivo à educação formal e pela educação da vida. Obrigada pelo amor e esforço incondicionais para que isso fosse possível.

Ao meu irmão **Juliano**, por me mostrar que a vida pode ser levada de forma mais leve.

A demais pessoas importantes: **Vó Célia, Paulo, Dinda, Dindo, Tio Mauro e Ju Pellini**, que entenderam e respeitaram meus momentos de ausência.

Ao professor **Régis Burmeister dos Santos**, pelo estímulo desde a época da graduação.

Ao meu orientador, professor **Manoel Sant'Ana Filho**, pela confiança depositada em mim. Agradeço-te pela compreensão, amizade e prontidão em todos os momentos que precisei. Obrigada pela oportunidade de conviver com a genialidade das tuas idéias.

Aos professores **Pantelis Varvaki Rados**, pelo exemplo de docência, **Onofre Francisco de Quadros**, pela atenção e pelo carinho sempre prestados e **João Jorge Diniz Barbachan**, pela dedicação à Patologia. Às professoras **Márcia Gaiger de Oliveira**, pela amizade e pelas inúmeras contribuições nesse e em outros trabalhos e **Anna Cecília Moraes Chaves**, por compartilhar seus conhecimentos de Estomatologia.

À **Isabel da Silva Lauxen**, pelos ensinamentos técnicos. Admiro a tua competência e agradeço-te pela paciência e significativa participação nesse estudo.

Aos meus queridos amigos, que fizeram do mestrado uma tarefa muito menos difícil para mim: **Fernanda Visioli, Elisabete Rojas, Vinícius Carrard, Leandro Nunes e Rosa Savall**. **Fer e Lisa**: obrigada pela cumplicidade, pelo respeito e carinho. Não diferente ao **Vini**, meu braço *esquerdo* “co-orientador” e amigo pra sempre. Ao **Lê**, por ser meu exemplo de determinação e otimismo; obrigada pela oportunidade. E à **Rosinha**, por regar diariamente com amor as “florzinhas” do seu jardim. “Vou embora” levando saudades de todos vocês.

À **Luciana Adolfo** e ao **Lucas Nunes**, pela presteza sempre demonstrada e pela alegre companhia.

À **Adriana Aguiar**, pelo auxílio nos assuntos burocráticos e por compartilhar vivências.

Aos colegas **Ana Luisa H. de Carvalho, Cristiano Badauy, Guilherme Sieck, Laura Hildebrand, Luhana Gedoz e Márcia Payeras** pela agradável convivência.

À professora **Anna Christina Fossati**, pelo exemplo de dedicação a ser seguido.

Aos alunos da graduação **ATO 10/1**, pela colaboração durante o meu estágio docente.

Às funcionárias da Biblioteca da Faculdade de Odontologia da UFRGS, em especial à **Norma Beatriz Ataíde**, pela ajuda no acesso à literatura.

Ao **Pedro Paulo Manso**, pelo auxílio na elaboração desse estudo.

Ao **Departamento de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz) – RJ**, por disponibilizar meios para a realização da parte prática desse trabalho.

Ao **CNPq**, por financiar meus estudos nesses últimos dois anos.

À **UFRGS**, por me oportunizar um ensino gratuito e de renome em toda a minha formação: ensinos fundamental e médio, graduação e mestrado.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar as características do tecido conjuntivo de 11 folículos pericoronários, 12 cistos dentígeros e de 14 tumores odontogênicos ceratocísticos (TOCs). A amostra foi submetida às técnicas de Hematoxilina e Eosina, Tricrômico de Masson, Picrosírius, Direct Blue e Orceína. Tricrômico de Masson foi utilizado para avaliação de diferenças de densidade e de paralelismo das fibras colágenas, bem como presença de infiltrado linfoplasmocitário. Picrosírius serviu para mensuração da quantidade de fibras colágenas; Direct Blue e Orceína, para identificação do sistema de fibras elásticas. Lâminas coradas por essas três últimas técnicas foram visualizadas em microscopia confocal a laser. Os resultados mostraram semelhança entre o folículo pericoronário e o TOC: paralelismo de fibras colágenas arranjadas em um padrão eminentemente denso, podendo conter uma camada de densidade frouxa junto ao tecido epitelial. As cápsulas de cistos dentígeros eram compostas por fibras colágenas desorganizadas, ou não paralelas, em um arranjo frouxo com presença de infiltrado linfoplasmocitário. Não foi observada marcação para fibras do sistema elástico. Com base nos resultados, conclui-se que a cápsula do TOC representa o estroma da lesão, desempenhando função de suporte e que, diferentemente, o tecido conjuntivo do cisto dentígero é parte da resposta inflamatória.

Palavras-chave: folículo pericoronário, cisto dentígero, tumor odontogênico ceratocístico, tecido conjuntivo, fibras, infiltrado linfoplasmocitário

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the connective tissue features of pericoronal follicles, dentigerous cysts and keratocystic odontogenic tumor. The sample was submitted to Hematoxylin-eosin, Masson Trichrome, Picrosirius, Direct Blue and Orcein stains. Masson Trichrome was performed to distinguish collagen fibers density and parallelism, as well as chronic infiltrate presence. Picrosirius was performed to collagen fibers quantification; Direct Blue and Orcein, to elastic system fibers identification. Picrosirius, Direct Blue and Orcein staining slides were observed by means confocal laser scanning microscope. Results showed similar features between pericoronal follicle and keratocystic odontogenic tumor: parallel collagen fibers, more tightly packed collagen fibers, and sometimes a soft layer beneath epithelial tissue. Dentigerous cyst capsule was composed by wound collagen fibers, soft packed, associated to chronic inflammatory infiltrate. It was not observed elastic system fibers labeling. Based on results, it was concluded that keratocystic odontogenic tumor capsule represent the lesion stroma, playing a support role. This finding is different from dentigerous cyst where connective tissue is produced by inflammatory response.

Key-words: pericoronal follicles, dentigerous cysts, keratocystic odontogenic tumor, connective tissue, fibers, chronic infiltrate

SUMÁRIO

1. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA	9
2. OBJETIVOS	17
REFERÊNCIAS	18
3. ARTIGO CIENTÍFICO*	23
Introdução	23
Metodologia	26
Resultados	30
Discussão	34
Referências	39
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	43

* Artigo científico de acordo com as instruções da revista Journal of Oral Pathology and Medicine

1. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

O folículo pericoronário é uma estrutura que reveste os dentes ainda não erupcionados e é histologicamente composto por tecido conjuntivo fibroso com remanescentes de epitélio odontogênico dispostos na forma de ilhas ou cordões com potencial proliferativo (KIM e ELLIS, 1993; RAKPRASITKUL, 2001; CURRAN, DAMM e DRUMMOND, 2002; KICHI et al., 2005; SARAÇOĞLU, et al., 2005; OLIVEIRA, 2006; IDE et al., 2007; da SILVA BAUMGART et al., 2007).

Discute-se, na literatura, a conduta frente a um dente não erupcionado, sendo recomendada a remoção do folículo pericoronário quando da extração desses dentes. Isso porque, devido ao potencial proliferativo das células epiteliais, mudanças patológicas podem ocorrer nessa estrutura (RAKPRASITKUL, 2001; CURRAN, DAMM e DRUMMOND, 2002; AL-KHATEEB e BATAINEH, 2006).

Essas mudanças patológicas representam uma parte das alterações que acometem a boca, tendo origem e desenvolvimento ligados à embriologia dentária (EBLING, 1977). Das alterações que podem acontecer no folículo pericoronário, o cisto dentígero e o ceratocisto odontogênico são as mais prevalentes (DONOFF et al., 1972; CALVET e QUADROS, 2002; RAKPRASITKUL, 2001; CURRAN, DAMM e DRUMMOND, 2002; AL-KHATEEB e BATAINEH, 2006).

Cisto é conceituado como uma cavidade patológica revestida por epitélio circundado por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso. A presença de tecido epitelial é indispensável para a formação do cisto, sendo um estímulo necessário para o início da proliferação desse tecido. A lesão cística parece se desenvolver, então, por proliferação das células epiteliais, o que dificultaria e impediria a nutrição das células mais centrais, levando à necrose dessas e conseqüente cavitação (ARAÚJO e ARAÚJO, 1984). Sabe-se que as células epiteliais têm seu ciclo de vida limitado, evoluindo progressivamente e descamando (HADLER e SILVEIRA, 1993). Sendo o epitélio permeável, a presença de células epiteliais descamadas e de células inflamatórias na cavidade favorece a passagem de líquido da cápsula fibrosa na tentativa de restabelecer o equilíbrio osmótico, resultando na expansão cística (ARAÚJO e ARAÚJO, 1984).

O cisto dentígero é aquele cisto que se forma ao redor da coroa de um dente que não erupcionou pela expansão do folículo pericoronário (SHEAR e SPEIGHT, 2007). Sugere-se que essa expansão aconteça pela pressão exercida na tentativa

do dente erupcionar, momento em que há obstrução venosa e conseqüente transudação da parede vascular, gerando acúmulo de líquido entre o folículo e a coroa (MAIN, 1970; ARAÚJO e ARAÚJO, 1984; BENN e ALTINI, 1996; SHEAR e SPEIGHT, 2007).

A patogênese do cisto dentífero ainda é controversa existindo, na literatura, duas teorias que tentam explicar esse fenômeno. A primeira, e mais relatada, é a teoria de desenvolvimento, que acontece em dentes maduros usualmente como resultado da impactação. Esses cistos ocorrem predominantemente em terceiros molares (BENN e ALTINI, 1996).

Outra teoria a qual alguma evidência parece ser aceita é a da origem inflamatória (SHEAR, 1994; SHEAR e SPEIGHT, 2007). Benn e Altini, em 1996, reportaram uma série de casos de cistos dentíferos que acreditavam se originarem diretamente como resultado da inflamação. Nesses casos, os dentes envolvidos eram geralmente pré-molares ainda não maduros que irrompiam dentro de um cisto radicular presente no periápice do dente decíduo antecessor. De acordo com Shear e Speight (2007), esse fenômeno provavelmente ocorre, mas raramente, visto que os cistos radiculares que envolvem a dentição temporária não são freqüentes, enquadrando-se, de forma mais correta, na classificação de cisto folicular inflamatório. Apesar de a origem inflamatória desses cistos ser especulada, Browne (1991) afirmou que a inflamação deve ser considerada como uma conseqüência da formação cística, e não como sua causa.

O crescimento do cisto dentífero, assim como os demais cistos, parece se justificar na pressão osmótica que ocorre no interior de sua luz (ARAÚJO e ARAÚJO, 1984; TERONEN et al., 1995; NEVILLE et al., 2004). Se caracteriza, histopatologicamente, pela presença de uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso circundando um tecido epitelial composto por 2 a 4 camadas de células que revestem a cavidade cística (RAKPRASITKUL, 2001; CURRAN, DAMM e DRUMMOND, 2002; SHEAR e SPEIGHT, 2007). É comum a observação de células inflamatórias (BROWNE, 1991; BENN e ALTINI, 1996; SHEAR e SPEIGHT, 2007) bem como de remanescentes de epitélio odontogênico nas cápsulas dessas lesões (SHEAR e SPEIGHT, 2007).

O ceratocisto odontogênico, microscopicamente, é constituído por uma cápsula delgada que circunda um tecido epitelial estratificado. Nessas patologias, o tecido epitelial apresenta sua superfície corrugada e é formado por 6 a 8 camadas

de células - com células basais colunares em paliçada e hipercromáticas (BROWNE, 1971; PHILIPSEN, 2005) - que revestem uma cavidade irregular (SANT'ANA FILHO, RADOS e BREMM, 1997) que contém paraceratina. Uma característica peculiar é a união frágil entre o tecido epitelial e o tecido conjuntivo adjacente, incomum em outras lesões císticas (BROWNE, 1971; DONNOF et al., 1972; PHILIPSEN et al., 1976). Embora ainda não se saiba exatamente como tal fenômeno acontece (BROWNE, 1971; POOMSAWAT, PUNYASINGH e WEERAPRADIST, 2006), esse é um dos fatores associados à capacidade dessa lesão recidivar (SANT'ANA FILHO, RADOS E BREMM, 1997; PHILIPSEN, 2005; SHEAR e SPEIGHT, 2007).

A característica de recidiva após o tratamento cirúrgico e o crescimento que muitas vezes atinge proporções maiores do que outras lesões císticas fizeram com que essa patologia recebesse maior interesse (SHEAR e SPEIGHT, 2007).

Em 1967, Toller sugeriu que as células epiteliais dessas lesões tinham um potencial de crescimento intrínseco e foi o primeiro autor a propor sua classificação como uma neoplasia. Mais tarde, em meados da década de 80, Ahlfors, Larsson e Sjögren (1984), também propuseram que essa lesão poderia ser classificada como uma neoplasia cística benigna, uma vez que verificaram mudanças no tecido epitelial das lesões avaliadas sugestivas de atividade proliferativa. Esses autores explicaram o mecanismo de crescimento com base na pressão exercida por esse tecido em proliferação na cápsula fibrosa seguida de reabsorção do osso circundante, tal como o processo de crescimento tumoral benigno é descrito por Alberts et al. (2002).

O mecanismo de crescimento proposto por Ahlfors, Larsson e Sjögren (1984) se confirma no que outros autores apontaram: a cápsula fibrosa expande como reação à proliferação das células epiteliais (SCHARFFETTER et al., 1989), e o exsudato inflamatório tem um papel insignificante, se considerado isoladamente, no crescimento dessas lesões (TOLLER, 1970a; TOLLER, 1970b; SMITH, SMITH e BROWNE, 1983).

Alguns autores verificaram a alteração no gene supressor de tumor PTCH (BARRETO et al., 2000) bem como de proteínas envolvidas nos pontos de checagem do ciclo celular que atuam no controle de proliferação das células (LO MUZIO et al., 1999). Essas alterações, associadas às características de recidiva e mecanismo de crescimento, fizeram com que o até então denominado ceratocisto odontogênico fosse classificado pela Organização Mundial da Saúde como uma

neoplasia benigna em 2005. A partir disso, uma série de sugestões para a mudança de terminologia foram propostas; o termo tumor odontogênico ceratocístico (TOC) pareceu ser o mais adequado (PHILIPSEN, 2005) e será adotado, desse momento em diante, no presente estudo.

O potencial proliferativo das células do tecido epitelial de TOCs foi avaliado em alguns trabalhos para que se confirmasse a característica neoplásica desse tecido na lesão (KICHI et al., 2005; PHILIPSEN et al., 2005; SARAÇOĞLU, et al., 2005).

Oliveira (2006) avaliou proliferação e apoptose das células epiteliais em folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs por meio da técnica de imunohistoquímica, utilizando os marcadores EGFR, Survivin e Ki-67. Com base nos resultados, pode sugerir que as células epiteliais do folículo pericoronário e do cisto dentígero são dependentes de um estímulo para desencadear a proliferação e que, diferentemente, as células do epitélio do TOC proliferam assumindo um padrão independente, ou neoplásico.

Analisando a influência da inflamação na atividade proliferativa das células epiteliais de TOCs, de Paula et al. (2000) submeteram 10 casos dos tumores inflamados, e o mesmo número de casos livre de inflamação, à marcação imunohistoquímica (PCNA e Ki-67) e histoquímica (AgNOR). Concluíram que a inflamação induziu a um aumento no número de células em ciclo.

Com o mesmo objetivo que de Paula et al. (2000), Kaplan e Hirshberg (2004) também utilizaram os marcadores imunohistoquímicos PCNA e Ki-67 em 45 casos de TOCs. Embora os autores concordem com um aumento da proliferação celular em áreas com inflamação, afirmam que essa não afeta a atividade proliferativa de todo o epitélio.

Apesar de o tecido epitelial ter recebido atenção em estudos recentes, Vedfofte, Holmstrup e Dabelsteen, em 1982, avaliando características morfológicas, afirmaram que o tecido conjuntivo presente na cápsula do TOC também poderia desempenhar um papel na patogênese da lesão.

O tecido conjuntivo é composto de matriz extracelular e de células que são responsáveis pela formação dessa matriz. Também chamada de estroma ou interstício, a matriz extracelular do tecido conjuntivo é definida por fibras formadas predominantemente a partir de uma família de moléculas de colágeno (RUBIN et al., 2006). As fibras do tecido conjuntivo são classificadas em colágenas, reticulares e

sistema de fibras elásticas (ROSS e ROMRELL, 1995; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1997; EVERTS et al., 1998; BOURKE et al., 2000; USHIKI, 2002).

As fibras colágenas são as principais e as mais abundantes (ALBERTS et al., 2002; NOORLANDER et al., 2002; FUNG et al., 2003), sendo essenciais para a integridade estrutural dos tecidos (RUBIN et al., 2006). Essas fibras são produzidas predominantemente por fibroblastos tendo seu processo de formação complexo. As cadeias polipeptídicas de colágeno são sintetizadas em ribossomos e enviadas para o retículo endoplasmático, momento em que são denominadas cadeias pró-alfa. Cada uma dessas cadeias se combina com outras duas, enrolando-se, e forma uma molécula helicoidal de fita tripla, chamada pró-colágeno. Quando enviadas ao meio extracelular, peptídeos são removidos das moléculas de pró-colágeno convertendo-se em moléculas de colágeno. No meio extracelular, também, essas moléculas de colágeno agrupam-se em polímeros, originando fibrilas que irão se associar em feixes maiores: as fibras de colágeno (ALBERTS et al., 2002; RUBIN et al., 2006).

Segundo Ross e Romrell (1995), as fibras colágenas têm aparência de estruturas ondeadas de largura variável e comprimento indeterminado. De forma contraditória, Rubin et al. (2006) descrevem que essas fibras têm tamanhos uniformes e exemplificam a sua organização macromolecular usando como modelo a córnea. Nessa estrutura, cerca de 10 a 20 camadas de fibras de colágeno são dispostas paralelamente umas às outras (ROSS e ROMRELL, 1995; RUBIN et al., 2006) numa arquitetura descrita como altamente organizada (REICHENBERGER et al., 2000).

A densidade das fibras colágenas, em condições fisiológicas, se dá de duas formas distintas próximo à lâmina basal: junto às papilas do tecido epitelial, apresenta-se como uma camada de fibras colágenas finas e frouxamente arranjadas e, mais distante delas, dispõe-se na forma de uma camada de fibras colágenas que se agrupam em espessos feixes paralelos (ARAÚJO e ARAÚJO, 1984; BERKOVITZ, HOLLAND e MOXHAM, 2004).

É sabido que essas fibras são os principais componentes do tecido conjuntivo do folículo pericoronário e das cápsulas fibrosas que integram o cisto dentífero e o TOC (BROWNE, 1971; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1997).

Entretanto, no que se refere à densidade das fibras colágenas nessas três estruturas, a literatura traz informações pouco claras. Kim e Ellis (1993) citam que, no folículo pericoronário, essas fibras arranjam-se em padrões que variam de denso

a mixomatoso. Rakprasitkul (2001) descreve a cápsula de tecido conjuntivo de cistos dentígeros como densa. Browne, em 1971, observou em seu estudo que as fibras colágenas que compunham as cápsulas de TOCs eram dispostas circunferencialmente em um arranjo menos denso do que em outros cistos odontogênicos, embora muitos TOCs avaliados pelo autor apresentassem fibras colágenas em um arranjo denso, relativamente livre de inflamação. Já, Ahlfors, Larsson e Sjögren (1984) referem dois tipos diferentes de densidade em TOCs: uma porção de colágeno em proximidade com o epitélio, arranjada frouxamente e outra, mais distante, disposta circunferencialmente de forma densa.

Outro grupo de fibras da matriz extracelular do tecido conjuntivo compreende o das fibras elásticas. Essas fibras são mais delgadas quando comparadas às fibras colágenas e sua disposição parece não ter ordem, organizando-se em forma de rede (ROSS e ROMRELL, 1995). Abundantes em estruturas como a pele, são constituídas principalmente por um componente amorfo chamado elastina (ROSS e ROMRELL, 1995; DEBELLE e TAMBURRO, 1999) associada, perifericamente, a estruturas microfibrilares retas e delgadas (TAKARADA, CATTONI e ROSE, 1975; ROSS e ROMRELL, 1995; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1997; USHIKI, 2002). A elastina é necessária para a função de muitos tecidos, sendo responsável pelas propriedades de flexibilidade, distensibilidade ou resiliência (BOURKE et al., 2000).

As fibras oxitalânicas, embora sejam consideradas por alguns autores como um grupo à parte, parecem pertencer ao sistema de fibras elásticas e estão presentes próximas à lâmina basal, além de outras localizações (USHIKI, 2002). Parte representativa dos estudos dessas fibras se detém no ligamento periodontal, embora ainda não consigam estabelecer exatamente suas reais funções (CHANTAWIBOONCHAI et al., 1998; TASHIRO et al., 2002; STASZYK e GASSE, 2004). Foi sugerido por alguns autores que as fibras oxitalânicas pudessem compreender uma variedade de fibras elásticas imaturas (SIMS, 1977; BERKOVITZ, HOLLAND e MOXHAM, 2004; STASZYK e GASSE, 2004).

Frente a condições patológicas, os componentes da matriz extracelular do tecido podem estar alterados. Processos inflamatórios e neoplásicos benignos são alguns dos exemplos dessas condições.

Na inflamação, o edema, fenômeno exsudativo associado à saída de plasma sangüíneo para o interstício, causa alteração morfológica do tecido pelo afastamento

dos seus constituintes (BOGLIOLO, 1994; RUBIN et al., 2006). Além disso, os constituintes da matriz extracelular podem ser degradados quando da liberação de mediadores químicos de processos inflamatórios, uma vez que, ao exercerem fagocitose, os fagócitos liberam para o meio extracelular hidrolases ácidas e neutras - entre elas collagenases e elastases - que podem lesar fibras colágenas e elásticas, entre outros. Arquitetura alterada e disfunção do tecido podem ser resultantes também de processos de reparo incompletamente efetivos quando do processo inflamatório prolongado (BOGLIOLO, 1994). A córnea utilizada por Rubin et al. (2006) para exemplificar a conformação macromolecular do colágeno, quando lesada, forma cicatrizes colagenosas desorganizadas. Em áreas de reparo, da mesma forma, as fibras elásticas são degradadas com dificuldade e renovadas lentamente, não sendo eficientemente repostas (ROBBINS, KUMAR e COTRAN, 1994; RUBIN et al., 2006). Nessas situações, também, as fibras oxitalânicas sofrem fragmentação e diminuem de densidade (SIMS, 1977).

Quando em neoplasias benignas, seu crescimento expansivo característico provoca compressão das estruturas adjacentes, que podem tornar-se hipotróficas. Assim, forma-se, com freqüência, uma cápsula fibrosa em torno do tumor, que é constituída pela compressão do estroma próximo à lesão (BOGLIOLO, 1994; ROBBINS, KUMAR e COTRAN, 1994; BROOKS et al., 2002).

Baseados no que a literatura dispõe de informações sobre tecido conjuntivo e no que se passou a especular a respeito do papel desse tecido da cápsula do TOC por Vedfofte, Holmstrup e Dabelsteen (1982), estudos se focaram na análise dessa estrutura.

Em 1999, Hirshberg et al. avaliaram a natureza das fibras colágenas presentes em cápsulas de cistos radiculares, cistos dentígeros e TOCs por meio do uso da técnica de Picrosírius associada à luz polarizada. Observaram que as fibras colágenas presentes nas cápsulas de TOCs exibiram um padrão frouxamente arranjado, podendo ser composto por pró-colágenos. Nas outras lesões analisadas, as fibras eram dispostas em um padrão denso, assemelhando-se a fibras normais. Os autores concluíram que o tecido conjuntivo do TOC poderia estar relacionado ao comportamento neoplásico da lesão, não somente desempenhando função de suporte.

Hirshberg et al., em 2007, analisaram os efeitos da inflamação na densidade das fibras colágenas presentes nas cápsulas de tecido conjuntivo de TOCs. Os autores utilizaram 50 casos desses tumores e os submeteram às técnicas de Hematoxilina e Eosina e de Picrosírius. A primeira técnica serviu para confirmação do diagnóstico bem como para determinar o grau de densidade da inflamação. A outra técnica foi realizada para que se distinguíssem, com microscópio de luz polarizada, fibras colágenas finas e espessas, de forma quantitativa. Notaram que 64% das cápsulas apresentavam inflamação e que essa agia diretamente no arranjo das fibras colágenas espessas; nos casos de inflamação em maior grau, as fibras colágenas espessas passaram de um arranjo frouxo para um arranjo mais denso. Esses autores também sugeriram que o tecido conjuntivo do TOC poderia ser visto como uma parte funcional da lesão.

A literatura deixa clara a preocupação quanto ao entendimento do comportamento do tecido epitelial nas diferentes lesões odontogênicas. É bem estabelecida a idéia de que remanescentes de epitélio odontogênico têm potencial proliferativo e que, quando se tratam de TOCs, essas células independem de um estímulo para desencadear a proliferação. Embora o tecido conjuntivo tenha recebido atenção, sendo reconhecido como um possível componente ativo na patogenia dessas lesões, ainda são poucos os estudos que focam nessa estrutura, trazendo até mesmo informações contraditórias.

Métodos de coloração auxiliam na identificação dos diferentes tipos de fibras do tecido conjuntivo ao microscópio óptico. O colágeno apresenta coloração azul ou verde por Tricrômico de Masson (BANCROFT e STEVENS, 1996; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1997) e vermelho por Picrosírius (DOLBER e SPACH, 1993; HIRSBERG, BUCHNER e DAYAN, 1996). Cortes histológicos de tecidos que contenham fibras colágenas corados por Picrosírius podem ser visualizados, também, em três dimensões e com uma maior resolução de imagem, por meio de microscopia confocal a laser (LENZI et al., 1999). Esse tipo de microscopia também permite a visualização de fibras elásticas, quando coradas com Direct Blue (CARVALHO e TABOGA, 1996); e oxitalânicas, com Orceína (SIMS, 1977, TASHIRO et al., 2002).

Assim, esse estudo tem por objetivo comparar o tecido conjuntivo adjacente ao tecido epitelial de folículos pericoronários, cistos dentígeros e de TOCs.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar as características do tecido conjuntivo de folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ analisar a presença, distinção de camadas, densidade e paralelismo de fibras colágenas bem como a presença de infiltrado linfoplasmocitário em folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs pela coloração de Tricrômico de Masson;
- ✓ mensurar a quantidade de fibras colágenas em folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs pela técnica de coloração de Picrosírius em microscopia confocal a laser;
- ✓ analisar a presença de fibras elásticas em folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs pela técnica de coloração de Direct Blue em microscopia confocal a laser;
- ✓ analisar a presença de fibras oxitalânicas em folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs pela técnica de coloração de Orceína em microscopia confocal a laser.

REFERÊNCIAS

- AHLFORS, E., LARSSON, Å. e SJÖGREN, S. The Odontogenic Keratocyst: a Benign Cystic Tumor? **J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 42, n. 1, p. 10–19, Jan. 1984.
- ALBERTS, B. et al. **Molecular Biology of the Cell.** 4. ed. New York: Garland Science, 2002.
- AL-KHATEEB, T. e BATAINEH, A. Pathology Associated with Impacted Mandibular Third Molars in a Group of Jordanians. **J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 64, n. 11, p. 1598–1602, Nov. 2006.
- ARAÚJO, N. e ARAÚJO, V. **Patologia Bucal.** 1. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1984.
- BARRETO, D et al. PTCH Gene Mutations in Odontogenic Keratocysts. **J. Dent. Res.** v. 79, n. 6, p. 1418-1422, Jun. 2000.
- BENN, A. e ALTINI, M. Dentigerous Cysts of Inflammatory Origin. A Clinicopathologic Study. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** v. 81, n. 2, p. 203–209, Feb. 1996.
- BERKOVITZ, B.; HOLLAND, G. e MOXHAM, B. **Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- BRANCOFT, J. e STEVENS, A. **Theory and Practice of Histological Techniques.** 4. ed. London: Churchill Livingstone, 1996.
- BOURKE, K. et al. Distribution and Synthesis of Elastin in Porcine Gingiva and Alveolar Mucosa. **J. Periodont. Res.** v. 35, n. 6, p. 361–368, Dec. 2000.
- BOGLIOLO, L. **Patologia.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.
- BROWNE, R. The Odontogenic Keratocyst. Histological Features and their Correlation with Clinical Behavior. **Br. Dent. J.** v. 131, n. 5, p. 249–259, Sep. 1971.
- BROWNE, R. **Investigative Pathology of the Odontogenic Cysts.** 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 1991.
- BROOKS, J. et al. Clinicopathologic Characterizations of Oral Angioleiomyomas. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** v. 94, n. 2, p. 221-227, Aug. 2002.
- CALVET, C. e QUADROS, O. Estudo da Prevalência de Cistos Odontogênicos de Desenvolvimento. **Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre**, v. 43, n. 1, p. 8-14, jul. 2002.

CARVALHO, H. e TABOGA, S. Fluorescence and Confocal Laser Scanning Microscopy Imaging of Elastic Fibers in Hematoxylin-eosin Stained Sections. **Histochem. Cell Biol.** v. 106, n. 6, p. 587–592, Dec. 1996.

CHANTAWIBOONCHAI, P. et al. Confocal Laser Scanning-microscopic Observations on the Three-dimensional of Oxytalan Fibres in Mouse Periodontal Ligament. **Arch. Oral Biol.** v. 43, n. 10, p. 811–817, Oct. 1998.

CURRAN, A.; DAMM, D. e DRUMMOND, J. Pathologically Significant Pericoronary Lesions in Adults: Histopathologic Evaluation. **J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 60, n. 6, p. 613–617, Jun. 2002.

DEBELLE, L. e TAMBURRO, A. Elastin: Molecular Description and Function. **Int. J. Biochem. & Cell Biol.** v. 31, n. 2, p. 261–272, Feb. 1999.

DOLBER, P. e SPACH, M. Conventional and Confocal Fluorescence Microscopy of Collagen Fibers in the Heart. **J. Histochem. Cytochem.** v. 41, n. 3, p. 465–469, Mar. 1993.

DONOFF, R. et al. Keratocysts of the Jaws. **J. Oral Surg.** v. 30, n. 11, p. 800–804, Nov. 1972.

EBLING, H. **Cistos e Tumores Odontogênicos**. 3. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1977.

EVERTS, V. et al. Type IV Collagen is Associated with Microfibrils and Oxytalan Fibers in the Extracellular Matrix of Periodontium, Mesenterium and Periosteum. **J. Periodont. Res.** v. 33, n. 2, p. 118–125, Feb. 1998.

FUNG, D. et al. Investigation of the Collagen Fibril Distribution in the Medial Collateral Ligament in a Rat Knee Model. **Connec. Tiss. Res.** v. 44, n.1, p. 2–11, Jan. 2003.

HADLER, W. e SILVEIRA, S. **Histofisiologia dos Epitélios**. 1. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.

HIRSHBERG, A.; BUCHNER, A. e DAYAN, D. The Central Odontogenic Fibroma and the Hyperplastic Dental Follicle: Study with Picrosirius Red and Polarizing Microscopy. **J. Oral Pathol. Med.** v. 25, n. 3, p. 125–127, Mar. 1996.

HIRSHBERG, A. et al. Collagen Fibres in the Wall of Odontogenic Keratocysts: a Study with Picrosirius Red and Polarizing Microscopy. **J. Oral Pathol. Med.** v. 28, n. 9, p. 410–412, Oct. 1999.

HIRSHBERG, A. et al. The Influence of Inflammation on the Polarization Colors of Collagen Fibers in the Wall of Odontogenic Keratocyst. **Oral Oncology.** v. 43, n. 3, p. 278–282, Mar. 2007.

IDE, F. et al. Hamatomatous Proliferations of Odontogenic Epithelium within the Jaws: a Potential Histogenetic Source of Intraosseous Epithelial Odontogenic Tumors. **J. Oral Pathol. Med.** v. 36, n. 5, p. 229–235, May. 2007.

JUNQUEIRA, J. e CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

KAPLAN, I. e HIRSHBERG, A. The Correlation Between Epithelial Cell Proliferation in Odontogenic Keratocyst. **Oral Oncology**. v. 40, n. 10, p. 985–991, Nov. 2004.

KICHI, E. et al. Cell Proliferation, Apoptosis and Apoptosis-related Factors in Odontogenic Keratocysts and Dentigerous Cysts. **J. Oral Pathol. Med.** v. 34, n. 5, p. 280–286, May. 2005.

KIM, J. e ELLIS, G. Dental Follicular Tissue: Misinterpretation as Odontogenic Tumors. **J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 51, n. 5, p. 762–767, May. 1993.

LENZI, H. et al. Collagen Arrangement in Hepatic Granuloma in Mice Infected with *Schistosoma mansoni*: Dependence on Fiber Radiation Centers. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 32, n. 5, p. 639–643, May. 1999.

MAIN, D. The Enlargement of Epithelial Jaw Cysts. **Odontologisk Revy.** v. 21, n. 1, p. 29–49, Nov. 1970.

Lo MUZIO et al. Expression of Cell Cycle and Apoptosis-related Proteins in Sporadic Odontogenic Keratocysts and Odontogenic Keratocysts Associated with the Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome. **J. Dent. Res.** v. 78, n. 7, p. 1345-1353, Jul. 1999.

NEVILLE, B. et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

NOORLANDER, M. et al. A Quantitative Method to Determine the Orientation of Collagen Fibers in the Dermis. **The J. Histochem. Cytochem.** v. 50, n. 11, p.1469–1474, Nov. 2002.

OLIVEIRA, M. **Expressão de Ki-67, EGFR e Survivin em Epitélio Odontogênico: Relação com a Natureza das Lesões Odontogênicas**. 2006. 70f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

de PAULA, A. et al. Cell Proliferation Markers in the Odontogenic Keratocyst: Effect of Inflammation. **J. Oral Pathol. Med.** v. 29, n. 10, p. 477–482, Nov. 2000.

PHILIPSEN, H. **World Health Organization Classification of Tumours**. Pathology and Genetics. Head and Neck Tumours. Lyon, 2005.

PHILIPSEN, H. et al. Ultrastructure of Epithelial Lining of Keratocysts in Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome. **Int. J. Oral Surg.** v. 5, n. 2, p. 71–81, Apr. 1976.

POOMSAWAT, S.; PUNYASINGH, J. e WEERAPRADIST, W. Expression of Basement Membrane Components in Odontogenic Cysts. **Oral Diseases**. v. 12, n. 3, p. 290–296, May. 2006.

RAKPRASITKUL, S. Pathologic Changes in the Pericoronal Tissues of Unerupted Third Molars. **Quintessence Int.** v. 32, n. 8, p. 633–638, Sep. 2001.

REICHENBERGER, E. et al. Collagen XII Mutation Disrupts Matrix Structure of Periodontal Ligament and Skin. **J. Dent. Res.** v. 79, n. 12, p. 1962–1968, Dec. 2000.

ROBBINS, S.; KUMAR, V.; COTRAN, R. **Pathologic Basis of Disease**. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 1994.

ROSS, M. e ROMRELL, L. **Histology – Text and Atlas**. 3. ed. Williams & Wilkins: New York, 1995.

RUBIN, E. et al. **Pathology – Clinicopathologic Foundations of Medicine**. 4. ed. Philadelphia: Guanabara Koogan, 2006.

SANT'ANA FILHO, M.; RADOS, P. e BREMM, T. Prevalência de Paraceratinização e Ortoceratinização em Ceratocistos Odontogênicos. **R. Fac. Odontol. Porto Alegre**. v. 38, n. 2, p. 36–39, dez. 1997.

SARAÇOĞLU, U. et al. MIB-1 Expression in Odontogenic Epithelial Rests, Epithelium of Health Oral Mucosa and Epithelium of Selected Odontogenic Cysts: an Immunohistochemical Study. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.** v. 34, n. 5, p. 432-435, Jul. 2005.

SCARFFETTER, K. et al. Proliferation Kinetics Study of the Growth of Keratocysts. **J. J. Cranio Maxillofac. Surg.** v. 17, n. 5, p. 226-233, Jul. 1989.

SHEAR, M. Developmental Odontogenic Cysts. An Update. **J. Oral Pathol. Med.** v. 23, n. 1, p. 1–11, Jan. 1994.

SHEAR, M. e SPEIGHT, D. **Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions**. 4. ed. Western Cape: Blackwell Munksgaard, 2007.

da SILVA BAUMGART, C. et al. Epidermal Growth Factor Receptor Distribution in Pericoronal Follicles: Relationship with the Origin of Odontogenic Cysts and Tumors. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.** v. 103, n. 2, p. 240–245, Feb. 2007.

SIMS, M. The Oxytalan in the Mandibular Periodontal Ligament of the Lathyrictic Mouse. **J. Oral Pathol.** v. 6, n. 4, p. 233–250, Jul. 1977.

SMITH, G.; SMITH, A. e BROWNE, R. Protein Differences in Odontogenic Cysts Fluids. **IRCS Medical Science**. v. 11, n. 2, p. 117-117, 1983.

STASZYK, C. e GASSE, H. Oxytalan Fibres in the Periodontal Ligament of Equine Molar Cheek Teeth. **Anat. Histol. Embryol.** v. 33, n. 1, p. 17–22, Feb. 2004.

TAKARADA, H.; CATTONI, M. e ROSE, G. Ultrastructural Studies of Human Gingiva. V. Microfibrils of Elastic Nature an their Direct Penetration of the Basal Lamina in Chic Periodontics. **J. Periodontol.** v. 46, n. 5, p. 294–301, May. 1975.

TASHIRO, K. et al. Development of Oxytalan Fibers in the Rat Molar Periodontal Ligament. **J. Periodont. Res.** v. 37, n. 5, p. 345–352, Oct. 2002.

TERONEN, O. et al. Characterization of Interstitial Collagenases in Jaw Cysts Wall. **Eur. J. Oral Sci.** v. 103, n. 3, p. 141–147, Jun. 1995.

TOLLER, P. Origin and Growth of Cysts of the Jaws. **Annals Royal College Surg. Engl.** v. 40, n. 5, p. 306–336, May. 1967.

TOLLER, P. (a) Protein Substances in Odontogenic Cysts Fluids. **Br. Dent. J.** v. 128, n. 6, p. 317–322, Apr. 1970.

TOLLER, P. (b) The Osmolarity of Fluids from Cysts of the Jaws. **Br. Dent. J.** v. 129, n. 6, p. 275–278, Sep. 1970.

USHIKI, T. Collagen Fibers, Reticular Fibers and Elastic Fibers. A Comprehensive Understanding from a Morphological Viewpoint. **Arch. Histol. Cytol.** v. 65, n. 2, p. 109–126, Jun. 2002.

VEDTOFTE, P.; HOLMSTRUP, P. e DABELSTEEN, E. Human Odontogenic Keratocyst Transplants in Nude Mice. **Scand. J. Dent. Res.** v. 90, n. 4, p.306–314, Aug. 1982.

3. ARTIGO CIENTÍFICO

AVALIAÇÃO DO TECIDO CONJUNTIVO DE FOLÍCULOS PERICORONÁRIOS, CISTOS DENTÍGEROS E TUMORES ODONTOGÊNICOS CERATOCÍSTICOS POR MEIO DE MICROSCOPIAS DE LUZ E CONFOCAL A LASER

S. P. Moure¹, M. G. de Oliveira¹, I. da S. Lauxen¹, P. P. de A. Manso², V. C. Carrard¹, M. Sant'Ana Filho^{1*}

¹ *Departamento de Patologia Bucal, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil*

² *Departamento de Patologia, Instituto Oswaldo Cruz (IOC – Fiocruz – RJ), Rio de Janeiro, Brasil*

* Autor para correspondência:

Manoel Sant'Ana Filho

Faculdade de Odontologia – UFRGS

Rua Ramiro Barcelos, nº 2492 / sala 503

Porto Alegre, RS. Brasil

CEP 90035-003

Fone: (51) 3308-5011 Fax: (51) 3308-5023

e-mail: manoel@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

O folículo pericoronário é uma estrutura que recobre os dentes ainda não erupcionados composta por tecido conjuntivo fibroso que contém remanescentes de epitélio odontogênico com potencial proliferativo (1-8).

Sabe-se que esse potencial dos restos epiteliais está associado a mudanças patológicas nessa estrutura. Dentre elas, o cisto dentígero e o tumor odontogênico ceratocístico (TOC) são as mais prevalentes (2, 3, 9-11).

O cisto dentífero é um cisto que se forma pela expansão do folículo pericoronário ao redor da coroa do dente incluso (12). Caracteriza-se, histopatologicamente, por uma cavidade revestida por tecido epitelial estratificado composto de 2 a 4 camadas de células circundados por uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso (2, 3) em que comumente são observadas células inflamatórias (13, 14).

Durante muito tempo, o TOC foi classificado como um cisto por ser composto, microscopicamente, de uma cavidade revestida por tecido epitelial. Particularmente, o tecido epitelial dessa lesão tem sua superfície corrugada e é formado por 6 a 8 camadas de células, sendo as células basais colunares em paliçada e hipercromáticas (15). Tem como peculiaridade a recidiva, que é explicada pela capacidade de uma célula gerar uma nova lesão, sendo atribuído ao tecido epitelial tal capacidade. Essa característica fez com que o TOC passasse a ser estudado por muitos autores (4-6, 16), o que levou à atual classificação que o inseriu no grupo das neoplasias odontogênicas benignas, apesar de, em 1982, já haver a proposta de que o tecido conjuntivo da cápsula de TOCs desempenhasse parte funcional dessa lesão (17).

Fazem parte do tecido conjuntivo a matriz extracelular e as células que são responsáveis pela formação dessa matriz. A matriz extracelular é composta por fibras, dentre elas: as fibras colágenas, que são as principais, e as fibras do sistema elástico (18-21), que contemplam as fibras oxitalânicas (22-23).

As fibras colágenas são usualmente organizadas de forma paralela (21, 24, 25) e em condições fisiológicas dispõem-se, em proximidade com o tecido epitelial, em um arranjo frouxo sendo seguidas por uma camada mais distante do epitélio, densamente arranjada (14, 26). Essas fibras são os principais componentes do tecido conjuntivo de folículos pericoronários, cistos dentíferos e de TOCs (27). Estudos a respeito da densidade das fibras colágenas nessas três estruturas trazem informações contraditórias (1, 2, 27, 28). Não existe na literatura estudos que contemplem as fibras do sistema elástico no folículo pericoronário e nas outras duas lesões.

Em processos inflamatórios, a densidade e organização das fibras colágenas podem estar alteradas. O afastamento dos constituintes do tecido conjuntivo torna-o mais frouxo e pode ser ocasionado pelo fenômeno exsudativo da inflamação, além de também poder ser explicado pela ação de mediadores químicos que atuam na

degradação da matriz extracelular nesse processo. Ainda, em áreas de reparo, pode haver desorganização das fibras colágenas (21, 29). Em neoplasias benignas, o crescimento expansivo característico provoca compressão do estroma adjacente (29-31).

Há poucos estudos que analisam e comparam o tecido conjuntivo de folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs (31, 32) e, muitas vezes, os resultados são conflitantes (1, 2, 27, 28). Esse estudo objetiva analisar o tecido conjuntivo adjacente ao tecido epitelial dessas três estruturas, comparando-as entre si por meio de diferentes técnicas de coloração e de dois tipos distintos de microscopia.

METODOLOGIA

SELEÇÃO E PREPARO DA AMOSTRA

A amostra utilizada provém de uma seleção de casos do arquivo do Laboratório de Histopatologia Prof. Dr. J. J. Barbachan da Faculdade de Odontologia da UFRGS. Consiste em 11 casos de folículos pericoronários, 12 casos de cistos dentígeros e 14 casos de TOCs. Os casos foram selecionados pelos exames em HE a partir dos critérios definidos pela OMS (16), conforme citado anteriormente, sendo o diagnóstico confirmado com base nas características clínicas, radiográficas e histopatológicas.

De cada bloco de parafina foram feitos 5 cortes de 3 micrometros (μm). Um dos cortes foi corado com Hematoxilina e Eosina (HE); os outros com Tricrômico de Masson (TM), Picrosírius (PS), Orceína (OR), de acordo com Bancroft e Stevens (33) e Direct Blue (DB) no Departamento de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC – Fiocruz - RJ).

Foram selecionadas áreas nos cortes corados por HE e, após, localizadas as mesmas áreas em cada um dos cortes submetidos às outras colorações.

As imagens coradas com PS, DB e OR foram capturadas em um microscópio Confocal LSM[®] 510 meta com laser HeNe 543nm e filtro LP 560 para permitir uma melhor resolução das imagens. Foram capturados 2 campos de cada caso; 1 no aumento 100x, outro no aumento 400x.

As imagens coradas com TM foram capturadas por meio de um microscópio binocular, marca Olympus[®] (modelo CX41RF) com câmera da mesma marca (modelo QColor 5, Coolet, RTV) acoplados a um computador Dell[®] (modelo Dimension 5150) e transportadas para o programa QCapture[®], versão 2.81 (Quantitative Imaging Corporation, Inc.; 2005). Devido a diferenças nos tamanhos dos fragmentos de cada amostra, a quantidade de campos capturados obtidos foi variável; oscilando de 3 a 10. Somados os casos de folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs, obteve-se 172 campos capturados no aumento 100x e 215 campos no aumento 400x.

Nos casos de folículos pericoronários, foram selecionados campos contendo remanescentes epiteliais circundados por tecido conjuntivo. Nos cistos dentígeros e

TOCs, foram capturados campos aleatórios que abrangessem uma porção de tecido epitelial e de tecido conjuntivo adjacente.

Para avaliação dos casos, o examinador foi previamente calibrado, após treinamento realizado com um patologista. A calibragem intra-examinador ocorreu por meio da reanálise de um campo a cada 10 campos observados aplicando-se o Coeficiente de Correlação Intraclasse ($p < 0,01$) e o teste do coeficiente Kappa ($p > 0,7$) para determinação do grau de concordância nas análises quantitativa e qualitativa, respectivamente. Os resultados revelaram não haver diferença estatística entre as leituras, para ambos os tipos de análise.

ANÁLISE

Na análise quantitativa, as imagens de PS capturadas em microscopia confocal foram utilizadas para mensurar a quantidade de fibras colágenas. Para um melhor contraste, optou-se por capturar as imagens em branco, tons de cinza e preto. Assim, o tecido conjuntivo apresentava-se em branco e tons de cinza - correspondendo às fibras colágenas - e em preto, que correspondia ao espaço intersticial. Da mesma forma, o tecido epitelial foi visualizado na cor preta, permitindo que, nessa análise, o examinador estivesse cego.

De cada campo, foram selecionadas áreas (μm^2) que compreendessem somente tecido conjuntivo, em sua maior extensão possível, utilizando-se o programa LSM Image Browser[®], versão 3.5 (Carl Zeiss; 2005). Essas áreas eram exportadas para outro programa, Image Pro Plus[®], versão 5.1 (Media Cybernetics, Inc.; 2005), em que se obtinham, por meio de um histograma, os números de pixels brancos, cinzas e pretos de cada uma das áreas. Como se determinou que seriam considerados como fibras colágenas somente pixels brancos e cinzas, esses valores eram somados e divididos pela soma total de pixels (brancos, cinzas e pretos), obtendo-se a proporção de colágeno para cada área. As proporções de cada área eram somadas e divididas pelo número de áreas selecionadas no campo, obtendo-se a média de proporção de fibras colágenas por campo.

Uma análise qualitativa em lâminas coradas com TM foi realizada utilizando-se os critérios e respectivos escores abaixo citados.

- ✓ Paralelismo das fibras colágenas em relação ao tecido epitelial, para:

1 = ausência de paralelismo;

2 = presença de paralelismo.

✓ Infiltrado linfoplasmocitário, para:

1 = ausência de infiltrado linfoplasmocitário;

2 = presença de infiltrado linfoplasmocitário.

✓ Distinção de camadas de fibras colágenas adjacente ao tecido epitelial e densidade dessas fibras colágenas, para:

1 = ausência de distinção de camadas e arranjo de fibras frouxo;

2 = ausência de distinção de camadas e arranjo de fibras denso;

3 = presença de distinção de camadas, sendo arranjo de fibras frouxo próximo ao epitélio seguido de arranjo de fibras denso, mais distante;

4 = presença de distinção de camadas, sendo arranjo de fibras denso próximo ao epitélio seguido de arranjo de fibras frouxo, mais distante.

Imagens de DB, para visualização de fibras elásticas, e de OR, para fibras oxitalânicas, foram analisadas de forma descritiva, sendo o controle positivo a pele para DB e vaso sanguíneo para OR. A análise descritiva baseou-se na avaliação de ausência/presença dessas fibras.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

A comparação dos resultados obtidos nos diferentes grupos foi feita por meio do software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 11.0 para Windows.

Para o tratamento estatístico, os casos de folículos pericoronários, de cistos dentígeros e de TOCs receberam a designação de grupos. Na comparação da quantidade de fibras colágenas entre eles, o teste utilizado foi Análise de Variância (ANOVA). Nessa situação, as proporções de fibras colágenas por campo eram somadas fazendo-se uma média de cada caso e de cada grupo, momento em que o examinador deixava de estar cego. Na análise qualitativa, utilizou-se o Teste χ^2 complementado pela Análise de Resíduos Ajustados. Adotou-se nível de significância de 5% para ambos os testes realizados. Não foram realizados testes

estatísticos na análise descritiva uma vez que não se observou marcação na amostra avaliada.

Essa pesquisa teve aprovação da Comissão de Pesquisa e do Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia da UFRGS nº 61/2006.

RESULTADOS

Na análise quantitativa, não houve diferença estatística na média do percentual de quantidade de fibras colágenas em relação aos diferentes grupos ($p = 0,333$), embora o grupo folículo pericoronário tenha sido o que tendeu a uma maior média desse percentual.

Na análise qualitativa, optou-se por separar e comparar os dados de cada caso de cada grupo oriundos das observações feitas nos aumentos 100x e 400x. Verificou-se não haver diferença significativa em critérios como presença de paralelismo de fibras colágenas ($p = 0,549$) e presença de infiltrado linfoplasmocitário ($p = 0,400$) entre os dois aumentos.

No entanto, no parâmetro distinção de camadas e densidade de fibras colágenas houve diferença ($p < 0,05$) quando os aumentos de cada caso de cada grupo foram comparados, indicando que as mesmas deveriam ser observadas respectivamente nos aumentos de 100x e 400x nos diferentes grupos avaliados.

Observou-se que a presença de paralelismo das fibras colágenas em relação ao tecido epitelial está associada significativamente aos casos de folículos pericoronários e TOCs no aumento 100x (Tabela 1), se repetindo quando avaliados no aumento 400x (Folículo Pericoronário = 78,7%*; Cisto Dentífero = 36,9%; TOC = 80,9%*).

Tabela 1. Distribuição do percentual de paralelismo das fibras colágenas nos grupos folículo pericoronário, cisto dentífero e TOC (coloração com TM - aumento 100x):

Paralelismo de Fibras Colágenas	grupo						p
	Folículo Pericoronário		Cisto Dentífero		TOC		
	variável	%	variável	%	variável	%	
Presença	31	81,6*	22	41,5	68	84,0*	<0,001
Ausência	7	18,4	31	58,5	13	16,0	
Total de campos	38		53		81		

Fonte: Laboratório de Histopatologia Prof. Dr. J. J. Barbachan da Faculdade de Odontologia – UFRGS

* valores associados à presença de paralelismo quando comparados ao grupo Cisto Dentífero

No que diz respeito ao infiltrado linfoplasmocitário, esse esteve presente numa maior proporção de casos de cistos dentíferos tanto no aumento 100x (Tabela 2), quanto no aumento 400x (Folículo Pericoronário = 0%; Cisto Dentífero = 73,8%*; TOC = 18,0%).

Tabela 2. Distribuição do percentual de infiltrado linfoplasmocitário nos grupos folículo pericoronário, cisto dentífero e TOC (coloração com TM - aumento 100x):

Infiltrado linfoplasmocitário	grupo						p
	Folículo Pericoronário		Cisto Dentífero		TOC		
	variável	%	variável	%	variável	%	
Presença	1	2,6	34	64,2*	24	29,6	<0,001
Ausência	37	97,4	19	35,8	57	70,4	
Total de campos	38		53		81		

Fonte: Laboratório de Histopatologia Prof. Dr. J. J. Barbachan da Faculdade de Odontologia – UFRGS

* valor associado à presença de infiltrado linfoplasmocitário quando comparado aos demais grupos

Na avaliação de distinção de camadas e densidade de fibras colágenas, a análise estatística mostrou que folículos pericoronários estão associados com a presença de distinção das camadas (Tabela 3; 100x). Cistos dentíferos relacionam-se com ausência de distinção, mas para fibras arranjadas de forma frouxa (Tabela 3; 400x). TOCs estão associados à ausência de distinção das camadas de fibras em arranjo denso (Tabela 3; 100x e 400x).

Tabela 3. Distribuição do percentual de distinção de camadas e densidade de fibras colágenas nos grupos folículo pericoronário, cisto dentífero e TOC (coloração com TM - aumentos 100x e 400x):

Distinção de Camadas/ Densidade de Fibras Colágenas	grupo						p
	Folículo Pericoronário		Cisto Dentífero		TOC		
	variável	%	variável	%	variável	%	
100x							
Ausente/ frouxo	1	2,6	13	24,5*	11	13,6	<0,001
Ausente/ denso	5	13,2	15	28,3	35	43,2*	
Presente/ frouxo – denso	32	84,2*	25	47,2	35	43,2	
Presente/ denso – frouxo	0	0	0	0	0	0	
total de campos	38		53		81		
400x							
Ausente/ frouxo	8	13,1	34	52,3*	24	27,0	<0,001
Ausente/ denso	18	29,5	16	24,6	43	48,3*	
Presente/ frouxo – denso	35	57,4*	15	23,1	22	24,7	
Presente/ denso – frouxo	0	0	0	0	0	0	
total de campos	61		65		89		

Fonte: Laboratório de Histopatologia Prof. Dr. J. J. Barbachan da Faculdade de Odontologia – UFRGS

* valores associados aos respectivos critérios quando comparados aos demais grupos

Na análise descritiva das técnicas de coloração com DB e OR não foram observadas marcação para fibras elásticas e oxitalânicas, respectivamente.

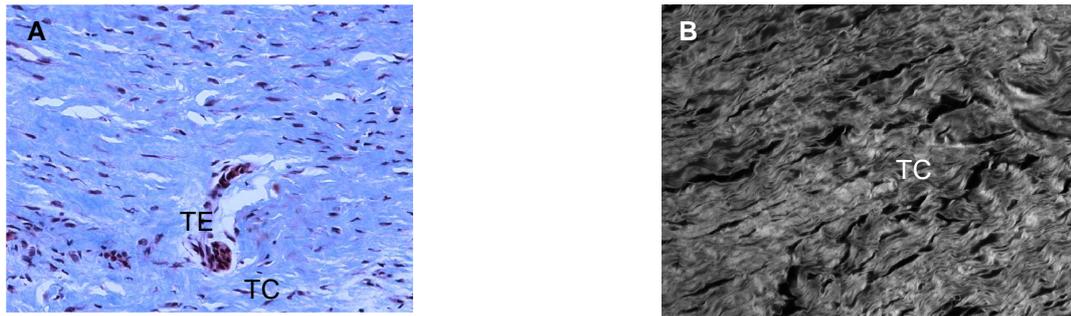


Figura 1: Fotomicrografias de folículo pericoronário. A - Ilhas de epitélio odontogênico (TE) circundadas por tecido conjuntivo (TC) com distinção de camadas de fibras colágenas, sendo as mais distantes do epitélio dispostas paralelamente (coloração com TM - aumento original 400x). B – No tecido conjuntivo (TC), nota-se a maior quantidade de fibras colágenas (média 43,5%) quando comparada à Figura 2B (coloração com PS; microscopia confocal a laser – aumento original 400x).

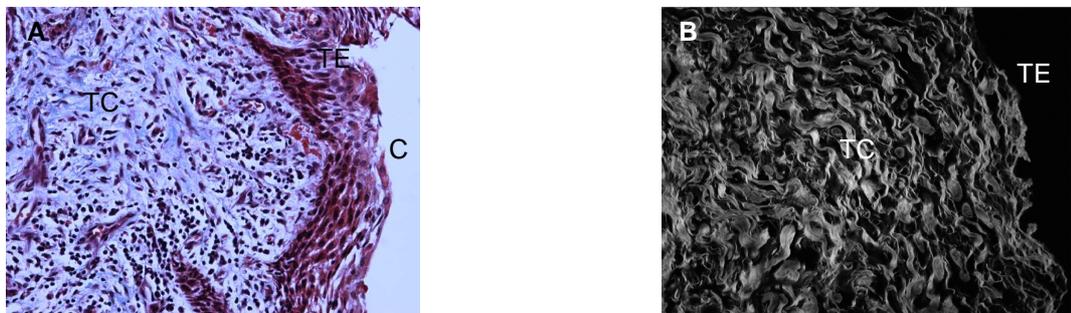


Figura 2: Fotomicrografias de cisto dentígero. A - Cavidade (C) revestida por tecido epitelial de revestimento (TE) e tecido conjuntivo (TC) adjacente com infiltrado linfoplasmocitário e fibras colágenas dispostas em um arranjo frouxo e não paralelo (coloração com TM – aumento original 400x). B – Tecido epitelial de revestimento (TE) circundado por tecido conjuntivo (TC), em que se nota a menor quantidade de fibras colágenas (média 37,5%), quando comparada à Figura 1B (coloração com PS; microscopia confocal a laser – aumento original 400).



Figura 3: Fotomicrografias de TOC. A - Cavidade (C) revestida por tecido epitelial de revestimento (TE) com células basais colunares dispostas em linha reta à cápsula delgada de tecido conjuntivo (TC), que contém fibras colágenas com distinção de camadas e paralelas (coloração com TM – aumento original 100x). B - Tecido epitelial de revestimento (TE) circundado por tecido conjuntivo (TC). Nota-se a maior quantidade de fibras colágenas (média 38,8%) em relação à Figura 2B (coloração com PS; microscopia confocal a laser – aumento original 400x).

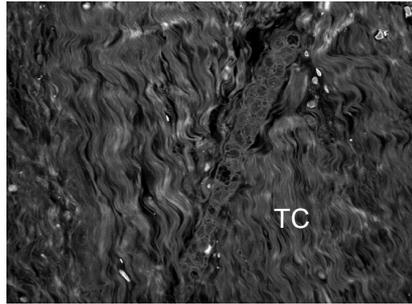


Figura 4: Fotomicrografia de um folículo pericoronário capturado em microscopia confocal a laser. Tecido conjuntivo fibroso (TC) com ausência de marcação de fibras elásticas. Pontos brancos compatíveis com hemácias (coloração com DB – aumento original 400x).

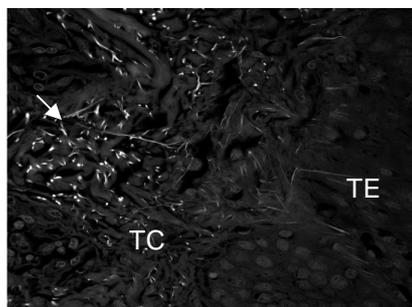


Figura 5: Fotomicrografia da amostra utilizada como controle positivo (pele). Tecido epitelial de revestimento (TE) e tecido conjuntivo fibroso (TC) com presença de fibras elásticas – seta (coloração com DB – aumento original 400x).

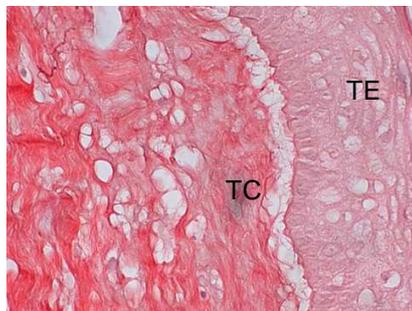


Figura 6: Fotomicrografia de um TOC capturado em microscopia confocal a laser. Tecido epitelial de revestimento (TE) e tecido conjuntivo fibroso (TC) com ausência de marcação de fibras oxitalânicas (coloração com OR – aumento original 400x).

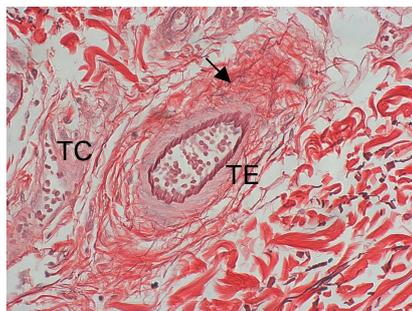


Figura 7: Fotomicrografia da amostra utilizada como controle positivo (vaso sanguíneo). Tecido epitelial de revestimento (TE) e tecido conjuntivo fibroso (TC) com presença de fibras oxitalânicas – seta (coloração com OR – aumento original 400x).

DISCUSSÃO

A análise quantitativa do colágeno é encontrada na literatura (34-36) e o uso de microscopia confocal a laser pode auxiliar esse tipo de análise por oferecer um alto grau de resolução de imagens (37). Características morfológicas podem ser avaliadas também por meio de análise qualitativa (38), utilizando-se critérios rigorosos aplicados por um examinador treinado e calibrado. O presente estudo foi baseado nesses dois tipos de análise e utilizou como ferramentas microscopias de luz e confocal a laser.

Na avaliação qualitativa do colágeno, compararam-se as análises feitas nos aumentos de 100x e 400x. Os parâmetros distinção de camadas e densidade de fibras colágenas apresentaram diferenças, mostrando que o tipo de arranjo pode ser definido com mais precisão no aumento 400x e que presença de distinção pode ser melhor visualizada em aumento 100x. Acredita-se que essa informação possa justificar a descrição pouco clara de densidade de fibras colágenas em folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs em alguns estudos (1, 2, 27).

O folículo pericoronário mostrou freqüentemente disposição de fibras colágenas com distinção de duas camadas. Essas fibras colágenas, quando próximas às ilhas de epitélio odontogênico, arranjavam-se em um padrão frouxo e eram seguidas, na porção mais distante, por tecido conjuntivo que se dispunha em um arranjo denso. Araújo e Araújo (14) assim como Berkovitz, Holland e Moxham (26) referem essas duas formas distintas de densidade de fibras colágenas em proximidade com o epitélio de mucosa, confirmando a relação entre tecido epitelial e tecido conjuntivo, em condições livres de alterações. Embora sem diferença ($p = 0,333$), a análise quantitativa mostrou que os casos de folículos pericoronários representam o grupo com uma maior média percentual de quantidade de fibras colágenas, o que se confirmou na porção mais externa - ou distante das ilhas epiteliais - dessas estruturas, quando avaliadas de forma qualitativa. Nessa porção, as fibras colágenas dispunham-se paralelamente umas às outras da mesma forma como a organização dessas fibras é descrita pela maioria dos autores (21, 24, 25).

A baixa porcentagem de infiltrado inflamatório em folículos se explica pelo fato de esse ter sido um critério de exclusão para os casos selecionados para esse grupo no presente estudo.

Os resultados das análises quantitativa e qualitativa das fibras colágenas nos casos de folículos pericoronários se assemelham às características encontradas em condições livres de alterações (21, 24, 25), levando-o a ser considerado como controle nesse estudo.

Os cistos dentígeros apresentaram arranjo frouxo das fibras colágenas (Tabela 3; 400x), dispostas sem paralelismo (Tabela 1) e não mostraram distinção de camadas (Tabela 3; 400x). A literatura cita a presença de inflamação como um achado microscópico comum em cistos dentígeros (27, 39), o que foi confirmado nessa amostra avaliada. Isso poderia explicar o arranjo frouxo das fibras colágenas, o que seria um efeito provocado pelo exsudato inflamatório. Por outro lado, Rakprasitkul (2), descreve um tecido conjuntivo fibroso denso nas cápsulas de cistos dentígeros. Como este autor não traz detalhes da avaliação como método de captura das imagens e aumento utilizados, é possível que os mesmos tenham influenciado os seus resultados. A realização da análise numa porção de tecido conjuntivo mais distante do epitélio poderia mostrar um colágeno de arranjo mais denso, como o resultado de fenômenos produtivos da inflamação. Além disso, a análise da presença de distinção de camadas poderia ser prejudicada caso um aumento maior do que 100x fosse utilizado.

A associação entre presença de infiltrado linfoplasmocitário e densidade das fibras colágenas, na região próxima ao epitélio de cistos dentígeros, é interpretada com base nos fenômenos exsudativos e de reparo das inflamações crônicas. Na inflamação, a presença de plasma exsudado no interstício gera afastamento dos constituintes do tecido conjuntivo, dentre eles, fibras colágenas, o que diminui a densidade dessas fibras no tecido. Mediadores químicos liberados na inflamação podem degradar esses componentes da matriz extracelular do tecido conjuntivo. Ainda, as proteínas plasmáticas exsudadas aumentam a pressão oncótica no local, favorecendo a retenção de líquido fora dos vasos. Esse fenômeno pode ser agravado pela sobrecarga da circulação linfática e pela compressão de vasos pelo exsudato, que perdem a eficiência de drenagem, mantendo o edema. A presença do edema dá condições para a continuidade do processo inflamatório e os fenômenos reparativos que se estabelecem posteriormente podem resultar em disposição desorganizada das fibras colágenas, que foi definida na análise desse estudo como não paralela (21, 29).

A inflamação encontrada na maioria dos casos de cisto dentífero permite, também, que se especule a respeito de sua patogenia. Sabe-se que para que ocorra a formação de um cisto é indispensável a presença de um tecido epitelial com capacidade proliferativa (14). Essa capacidade foi confirmada por da Silva Baumgart et al. (8), que avaliaram as células dos remanescentes de epitélio odontogênico e epitélio reduzido do órgão do esmalte presentes em folículos pericoronários e com base nos seus resultados sugeriram que essas estariam envolvidas na formação de cistos e tumores. Entretanto, Oliveira (6) sugeriu que um estímulo inicial parece ser necessário para que ocorra a proliferação dessas células epiteliais nos cistos dentíferos. Se a erupção dentária pode gerar um processo inflamatório (13, 39), acredita-se que fatores quimiotáticos pró-mitóticos da inflamação presentes no tecido conjuntivo possam atingir o epitélio reduzido do órgão do esmalte do folículo pericoronário, cujos receptores estão na membrana e no citoplasma (8), dando início à formação do cisto dentífero. A partir do estímulo, essas células epiteliais proliferam continuamente de acordo com a característica inerente desse tecido (40). Isso explicaria o fato de, mesmo na presença da inflamação no processo eruptivo, nem todo folículo pericoronário desenvolver um cisto. Indo de encontro ao que está se sugerindo como patogenia do cisto dentífero nesse estudo, Browne (27) conceituou a inflamação como uma consequência da formação cística, e não como sua causa.

Além de ter explicação na presença de exsudato inflamatório, a presença de um tecido conjuntivo frouxo na cápsula, em proximidade com o epitélio do cisto dentífero se justifica na expansão adicional desse cisto. Essa expansão adicional acontece pela constante renovação das células epiteliais, fazendo com que as células descamadas aumentem a tensão osmótica, recrutando mais líquido plasmático e/ou intersticial da cápsula. Tal mecanismo é proposto também por Shear e Speight (12) e pode justificar a densidade frouxa das cápsulas desses cistos mesmo na ausência de características inflamatórias.

Os TOCs apresentaram arranjo denso de fibras colágenas - sendo a maioria delas disposta de forma paralela. Esses achados dão respaldo a esse crescimento neoplásico benigno do tumor que expande e comprime os tecidos adjacentes à lesão (41, 29, 30). O fato dos casos de TOC serem compostos por uma cápsula em que havia distinção de camadas de fibras reforça essa hipótese (Tabela 3; 100x).

Portanto pode-se supor que, mesmo expandindo e comprimindo o estroma adjacente, essas lesões cresçam lentamente mantendo uma camada de fibras colágenas de densidade frouxa em contato com o tecido epitelial, o que foi observado nos folículos pericoronários, que foram as estruturas consideradas como controle nesse estudo.

A manutenção da morfologia em parte considerável dos casos de TOCs sugere que o tecido conjuntivo seja o estroma dessa lesão, fazendo com que se discorde do que a literatura tem referido. Ela define o tecido conjuntivo como uma parte funcional do tumor, não somente desempenhando função de suporte (17, 31, 32).

Browne (15) e Hirshberg et al. (31) descrevem um padrão frouxamente arranjado de fibras colágenas nas cápsulas de TOCs. No presente estudo, essa lesão apresentou 43,2% de fibras colágenas arranjadas de forma densa e o mesmo percentual com distinção de duas camadas de fibras, sendo as fibras mais distantes do tecido epitelial também arranjadas densamente. Apesar dos resultados conflitantes, o primeiro autor observou alguns casos de TOCs contendo uma cápsula de tecido conjuntivo denso, o que também foi observado nesse estudo.

A explicação para essa diferença de achados parte da afirmação de Hirshberg et al. (32), que sugere que o padrão frouxo descrito pode se tornar mais denso quando as cápsulas dos TOCs encontram-se inflamadas. Nessa amostra, optou-se por capturar campos de tecido conjuntivo adjacente ao tecido epitelial - região em que células e exsudato inflamatórios estavam presentes em 29,6% dos casos - esse infiltrado linfoplasmocitário condensou a cápsula. Por ser caracteristicamente delgada, os campos capturados incluíam a cápsula em toda a sua extensão (Figura 3A), diferentemente do cisto dentígero, sendo caracterizada como densa. Isso explica, também, o fato de mesmo com a presença de cerca de 30% de inflamação nos TOCs, a cápsula de tecido conjuntivo ter sido definida como densa no presente estudo.

O infiltrado inflamatório não parece ter relação com o crescimento do TOC, pois suas células proliferam independente do estímulo, como é característica de uma neoplasia (42). Alguns autores observaram um baixo índice de células inflamatórias (13, 43-45, 46) nesses tumores e esse achado se assemelha ao encontrado no presente estudo. No entanto, atribui-se provavelmente a presença de

inflamação secundária naqueles casos avaliados com presença de infiltrado inflamatório (29%, Tabela 2).

A literatura não apresenta informações a respeito da presença de fibras do sistema elástico em folículos pericoronários, cistos dentígeros e TOCs. A maior parte dos estudos que contemplam as fibras oxitalânicas na região bucal se detém no ligamento periodontal, região em que as fibras elásticas são incomuns (23, 47, 48). Nesse estudo (Figuras 4 e 6), o sistema de fibras elásticas não está detectável por meio das técnicas de coloração com DB e OR no folículo pericoronário e nas duas lesões analisadas.

Com base nos resultados expostos, sugere-se que o tecido conjuntivo do cisto dentígero seja um tecido reacional, servindo para a manutenção do processo inflamatório que, por sua vez, é parte da lesão. Também acredita-se que esse cisto possa ter sua origem na inflamação causada durante o processo de erupção dentária. Ainda, observa-se a similaridade de características encontradas nas cápsulas de TOCs quando comparadas com folículos pericoronários da amostra avaliada, permitindo que se afirme que as fibras do tecido conjuntivo desse tumor desempenhem função de suporte, constituindo o estroma da lesão.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Departamento de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC – Fiocruz – RJ - Brasil) e a Marcelo Pelajo Machado e Luzia Caputo por disponibilizarem recursos para as colorações especiais e utilização do microscópio confocal a laser. Esse estudo foi financiado pela FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul; Edital PROAP 04/2005, Processo 0410882) e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

REFERÊNCIAS

1. KIM J, ELLIS G. Dental Follicular Tissue: Misinterpretation as Odontogenic Tumors. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; **51**: 762–767.
2. RAKPRASITKUL S. Pathologic Changes in the Pericoronal Tissues of Unerupted Third Molars. *Quintessence International* 2001; **32**: 633–638.
3. CURRAN A, DAMM D, DRUMMOND J. Pathologically Significant Pericoronal Lesions in Adults: Histopathologic Evaluation. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; **60**: 613–617.
4. KICHI E, ENOKIYA Y, MURAMATSU T, HASHIMOTO S, INOUE T, ABIKO Y, SHIMONO M. Cell Proliferation, Apoptosis and Apoptosis-related Factors in Odontogenic Keratocysts and Dentigerous Cysts. *J Oral Pathol Med* 2005; **34**: 280–286.
5. SARAÇOĞLU U, KURT B, GÜNHAN Ö, GÜVEN O. MIB-1 Expression in Odontogenic Epithelial Rests, Epithelium of Health Oral Mucosa and Epithelium of Selected Odontogenic Cysts: an Immunohistochemical Study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005; **34**: 432-443.
6. OLIVEIRA M. Expressão de Ki-67, EGFR e Survivin em Epitélio Odontogênico: Relação com a Natureza das Lesões Odontogênicas. 2006. 70f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
7. IDE F, OBARA K, YAMADA H, MISHIMA K, SAITO I, HORIE N, SHIMOYAMA T, KUSAMA K. Harmatomatous Proliferations of Odontogenic Epithelium within the Jaws: a Potential Histogenetic Source of Intraosseous Epithelial Odontogenic Tumors. *J Oral Pathol Med* 2007; **36**: 229–235.
8. da SILVA BAUMGART C, LAUXEN I, SANT´ANA FILHO M, de QUADROS O. Epidermal Growth Factor Receptor Distribution in Pericoronal Follicles: Relationship with the Origin of Odontogenic Cysts and Tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; **103**: 240–245.
9. DONOFF R, GURALNICK W, CLAYMAN L. Keratocysts of the Jaws. *J Oral Surg* 1972; **30**: 800–804.
10. CALVET C, QUADROS O. Estudo da Prevalência de Cistos Odontogênicos de Desenvolvimento. *Rev. Fac. Odontol. Porto Alegre* 2002; **43**: p. 8-14.

11. AL-KHATEEB T, BATAINEH A. Pathology Associated with Impacted Mandibular Third Molars in a Group of Jordanians. *J Oral Maxillofac Surg* 2006; **64**: 1598-1602.
12. SHEAR M, SPEIGHT D. Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions. Western Cape: Blackwell Munksgaard, 2007.
13. MAIN D. The Enlargement of Epithelial Jaw Cysts. *Odontologisk Revy* 1970; **21**: 29–49.
14. ARAÚJO N, ARAÚJO V. Patologia Bucal. São Paulo: Artes Médicas, 1984.
15. BROWNE R. Investigative Pathology of the Odontogenic Cysts. Boca Raton: CRC Press, 1991.
16. PHILIPSEN H. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics. Head and Neck Tumours. Lyon, 2005.
17. VEDTOFTE P, HOLMSTRUP P, DABELSTEEN E. Human Odontogenic Keratocyst Transplants in Nude Mice. *Scand J Dent Res* 1982; **90**: 306–314.
18. EVERTS V, NIEHOF A, JANSEN D, BEERTSENW. Type IV Collagen is Associated with Microfibrils and Oxytalan Fibers in the Extracellular Matrix of Periodontium, Mesenterium and Periosteum. *J Periodont Res* 1998; **33**: 118–125.
19. BOURKE K, HAASE H, LI H, DALEY T, BARTOLD P. Distribution and Synthesis of Elastin in Porcine Gingiva and Alveolar Mucosa. *J Periodont Res* 2000; **35**: 361–368.
20. USHIKI T. Collagen Fibers, Reticular Fibers and Elastic Fibers. A Comprehensive Understanding from a Morphological Viewpoint. *Arch Histol Cytol* 2002; **65**: 109–126.
21. RUBIN E et al. Pathology – Clinicopathologic Foundations of Medicine. Philadelphia: Guanabara Koogan, 2006.
22. SIMS MR. The Oxytalan in the Mandibular Periodontal Ligament of the Lathyrictic Mouse. *J Oral Pathol* 1977; **6**: 233–250.
23. STASZYK C, GASSE H. Oxytalan Fibres in the Periodontal Ligament of Equine Molar Cheek Teeth. *Anat Histol Embryol* 2004; **33**: 17–22.
24. ROSS MH, ROMRELL LJ. Histology – Text and Atlas. New York: Williams & Wilkins, 1995.

25. REICHENBERGER E, BAUR S, SUKOTJO C, OLSEN B, KARIMBUX N, NISHIMURA I. Collagen XII Mutation Disrupts Matrix Structure of Periodontal Ligament and Skin. *J Dent Res* 2000; **79**: 1962–1968.
26. BERKOVITZ BKB, HOLLAND GR, MOXHAM BJ. Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal. Porto Alegre: Artmed, 2004.
27. BROWNE R. The Odontogenic Keratocyst. Histological Features and their Correlation with Clinical Behavior. *Br Dent J* 1971; **21**: 249–259.
28. AHLFORS E, LARSSON Å, SJÖGREN S. The Odontogenic Keratocyst: a Benign Cystic Tumor? *J Oral Maxillofac Surg* 1984; **42**: 10–19.
29. BOGLIOLO L. Patologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.
30. ROBBINS SL, KUMAR V, COTRAN RS. Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: Saunders, 1994.
31. HIRSHBERG A, SHERMAN A, BUCHNER A, DAYAN D. Collagen Fibres in the Wall of Odontogenic Keratocysts: a Study with Picrosirius Red and Polarizing Microscopy. *J Oral Pathol Med* 1999; **28**: 410–2.
32. HIRSHBERG A, LIB M, KOZLOVSKY A, KAPLAN I. The Influence of Inflammation on the Polarization Colors of Collagen Fibers in the Wall of Odontogenic Keratocyst. *Oral Oncology* 2007; **43**: 278–282.
33. BRANCOFT JD, STEVENS A. Theory and Practice of Histological Techniques. London: Churchill Livingstone, 1996.
34. FRANK C, MCDONALD D, SHRIVE N. Collagen Fibril Diameters in the Rabbit Medial Collateral Ligament Scar. A Longer Term Assessment. *Connect Tis Res* 1997; **36**: 261–269.
35. NOORLANDER M, MELIS P, JONKER A, NOORDEN C. A Quantitative Method to Determine the Orientation of Collagen Fibers in the Dermis. *J Histochem Cytochem* 2002; **50**: 1469–1474.
36. FUNG D, NG G, LEUNG M, TAY D. Investigation of the Collagen Fibril Distribution in the Medial Collateral Ligament in a Rat Knee Model. *Connect Tis Res* 2003; **44**: 2–11.
37. CARVALHO HF, TABOGA SR. The Applicability of Hematoxylin-eosin Staining Plus Fluorescence or Confocal Laser Scanning Microscopy to the Study of Elastic Fibers in Cartilages. *C R Acad Sci Paris, Science de la vie/Life sciences* 1996; **319**: 991–996.

38. LENZI H, KIMMEL E, SCHECHTMAN H, PELAJO-MACHADO M, VALE B, PANASCO M, LENZI J. Collagen Arrangement in Hepatic Granuloma in Mice Infected with *Schistosoma mansoni*: Dependence on Fiber Radiation centers. *Braz J Med Biol Res* 1999; **32**: 639–643.
39. BENN A, ALTINI M. Dentigerous Cysts of Inflammatory Origin. A Clinicopathologic Study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; **81**; 203–209.
40. HADLER W, SILVEIRA S. Histofisiologia dos Epitélios. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.
41. SCARFFETTER K, BALZ-HERRMANN C, LAGRANGE W, KOBERG W, MITTERMAYER C. Proliferation Kinetics Study of the Growth of Keratocysts. *J Cranio Maxillofac Surg* 1989; **17**: 226-233.
42. ALBERTS B, BRAY D, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WATSON J. Molecular Biology of the Cell. New York: Garland Science, 2002.
43. TOLLER P (a). Protein Substances in Odontogenic Cysts Fluids. *Br Dent J* 1970; **128**: 317–322.
44. TOLLER P (b). The Osmolarity of Fluids from Cysts of the Jaws. *Br Dent J* 1970; **129**: 275–278.
45. SMITH G, SMITH A, BROWNE R. Protein Differences in Odontogenic Cysts Fluids. *IRCS Medical Science* 1983; **11**: 117-117.
46. SHEAR M. Inflammation in Dental Cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1964; **17**: 757–767.
47. TASHIRO K, SAWADA T, INOUE S, YANAGISAWA T. Development of Oxytalan Fibers in the Rat Molar Periodontal Ligament. *J Period Res* 2002; **37**: 345–352.
48. CHANTAWIBOONCHAI P, WARITA H, KEIICHI O, KUINIMICHI S. Confocal Laser Scanning-microscopic Observations on the Three-dimensional of Oxytalan Fibres in Mouse Periodontal Ligament. *Arch Oral Biol* 1998; **43**: 811–817.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A observação dos resultados permite que se façam algumas considerações em diferentes pontos de abordagem. A primeira delas diz respeito à metodologia e sugere a atenção quanto aos critérios de obtenção de imagens e de análise dessas, bem como a especificação mais clara de tais informações em estudos que têm por objetivo avaliar o tecido conjuntivo. Também do ponto de vista metodológico, conclui-se que análises qualitativas têm validade se adequadamente realizadas, podendo ser utilizadas com sucesso na observação de características do tecido conjuntivo, por exemplo, e com auxílio de microscopia convencional.

Outra consideração se baseia no sistema classificatório dos cistos e tumores odontogênicos. Acredita-se que esse sistema deva ser mais bem analisado, visto que a classificação do cisto dentígero como um cisto de desenvolvimento gera confusão na literatura, não tendo significado algum na patogenia da lesão. Partindo da divisão das lesões odontogênicas em cistos e tumores, propõe-se que se abandone a utilização dos subtipos que separam os cistos em “de desenvolvimento” e “inflamatórios”.

No que tange à importância clínica, os resultados desse estudo trazem informações que confirmam o que a literatura tem proposto. Recomenda-se a remoção do folículo pericoronários quando da extração de dentes não erupcionados devido à possibilidade de desenvolvimento de lesões odontogênicas. No que se refere ao cisto dentígero, isso se baseia no conhecimento de que o processo inflamatório oriundo da tentativa de erupção dentária pode ser responsável pelo início de sua formação. Em se tratando de TOCs, é importante que se leve em consideração, no planejamento e execução da conduta clínica, a sua natureza neoplásica benigna.