



INTRODUÇÃO

Diversos estudos tentam esclarecer o potencial de células epiteliais do folículo pericoronário de originar cistos e tumores odontogênicos. Para tanto, são usadas diversas técnicas de coloração histológica e de reação imunoistoquímica.

REFERENCIAL

Folículo pericoronário é uma estrutura que recobre a coroa de dentes inclusos, que se caracteriza por apresentar tecido conjuntivo com quantidades variáveis de epitélio, na forma de ilhas de epitélio odontogênico e/ou epitélio reduzido do órgão do esmalte (Kramer et al, 1992, Kim e Ellis, 1993).

O potencial proliferativo e a capacidade de originarem cistos e tumores odontogênicos das células epiteliais do folículo pericoronário ainda não estão completamente elucidados (Edamatsu et al, 2005; Saraçoglu, 2005; Matsumoto et al, 2006; Baumgart et al, 2006; Brkic et al, 2010).

Ki-67 é um antígeno nuclear presente em todas as fases ativas do ciclo celular, a imunodeteção desta proteína é um consagrado marcador de células em proliferação (JALAVA et al, 2006).

As AgNORs são proteínas que indicam as regiões organizadoras nucleolares ativas, as quais têm afinidade pela prata e aparecem como pontos preto-acastanhados dentro do núcleo. Sua quantificação permite inferir a respeito da velocidade com que as células estão proliferando (Ploton et al, 1986; Oliveira et al, 2005).

A presença e imunolocalização do receptor de fator de crescimento epidérmico (EGFR) estão relacionadas com a capacidade de resposta a estímulos das células epiteliais odontogênicas (Damjanov et al, 1986; Gulkesen et al, 2001; Herbst et al, 2004; Baumgart et al, 2007).

OBJETIVO

O objetivo deste estudo é avaliar o potencial proliferativo destas células por meio da imunomarcagem de Ki-67 e EGFR, e impregnação argêntica das regiões organizadoras nucleolares ativas pela técnica de AgNOR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram selecionados 46 folículos pericoronários de terceiros molares inclusos apresentando tecido conjuntivo com quantidade variável de infiltrado inflamatório e presença de epitélio sob a forma de epitélio reduzido do órgão do esmalte e/ou ilhas e cordões de epitélio odontogênico. De cada caso foram feitos 4 cortes histológicos, submetido às seguintes técnicas:

- histoquímica da hematoxilina e eosina – análise morfológica;
- histoquímica de AgNOR – atividade proliferativa;
- imunoistoquímica para a marcação do Ki-67;
- imunoistoquímica para a marcação do EGFR.

Foram capturadas imagens de todo o epitélio presente em cada uma das lâminas com uma câmera digital acoplada a um microscópio, conectados a um computador. As imagens foram analisadas pelo programa QCapture®.

Os cortes corados pela técnica HE foram capturados para realização da análise morfológica e seleção dos casos.

As imagens obtidas das lâminas submetidas à técnica de AgNOR, foram capturadas em um aumento de 1000x. Foram quantificadas as AgNORs/núcleos de células, não ultrapassando cem células por imagem, calculando-se posteriormente a média de AgNORs/núcleo.

As imagens das lâminas marcadas com Ki-67, foram capturadas em um aumento de 400x e foram considerados positivos os núcleos que apresentaram coloração marrom.

As imagens correspondentes ao epitélio marcado com EGFR serão capturadas em um aumento de 400x. A partir delas será realizada uma análise, com base no compartimento celular imunomarcado.

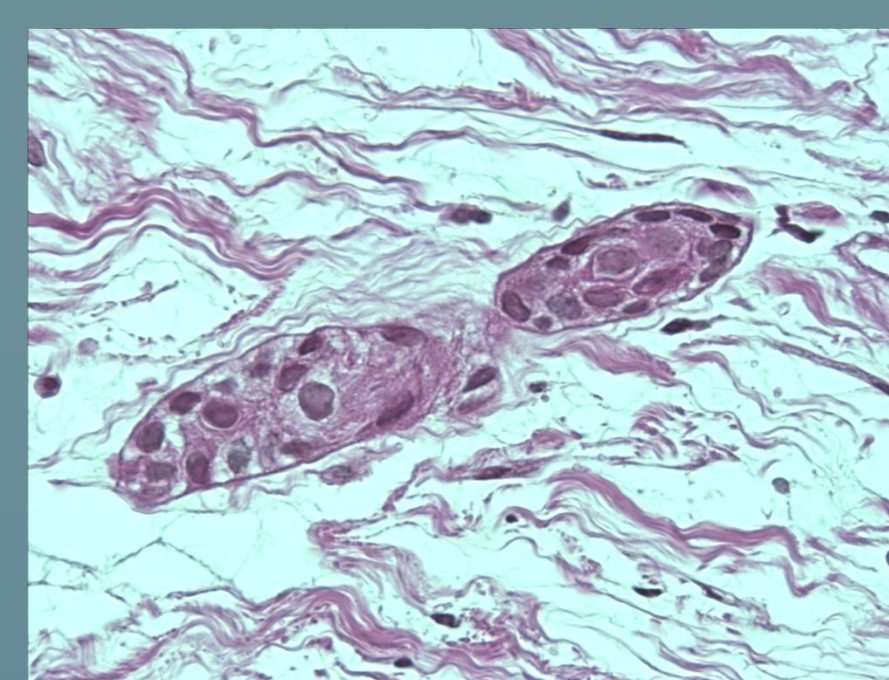


Figura 1: Ilhas de células epiteliais de folículo pericoronário coradas por hematoxilina e eosina. Aumento de 400x. Porto Alegre, 2010

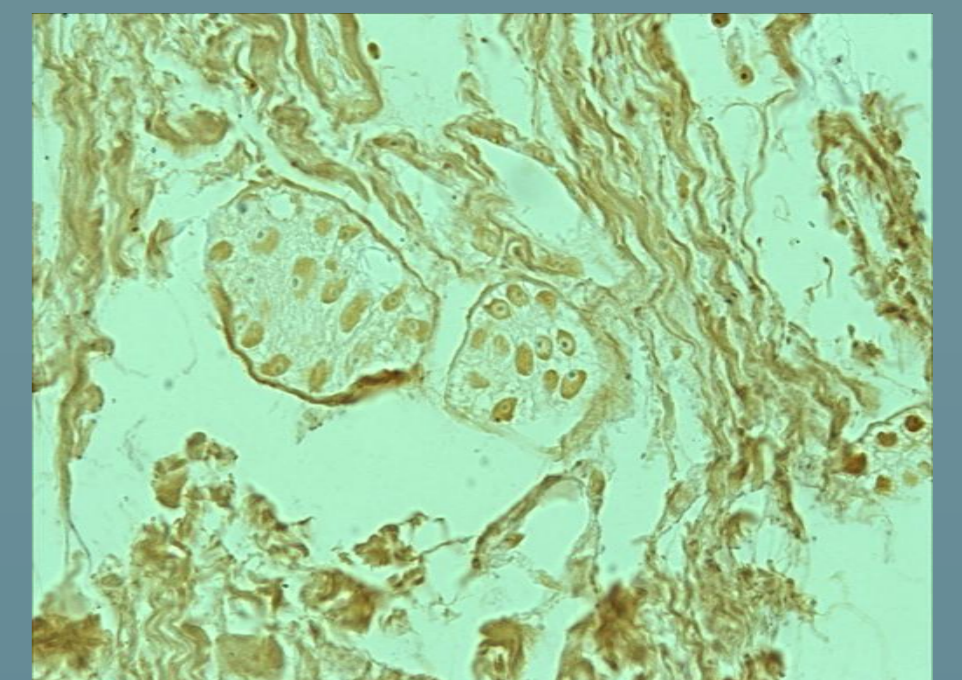


Figura 2: Ilhas de células epiteliais de folículo pericoronário impregnadas por prata evidenciando a presença de AgNOR'S intra-nucleares. Aumento de 1000x. Porto Alegre, 2010

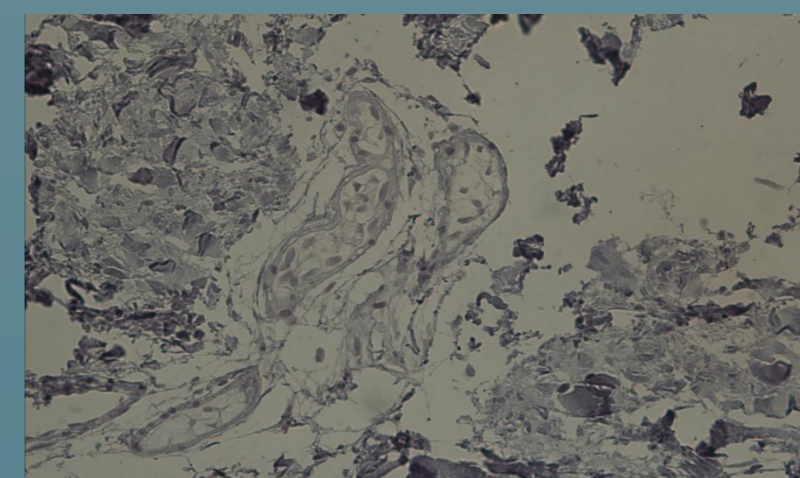


Figura 3: Ilhas de células epiteliais de folículo pericoronário submetidas a imunomarcagem por Ki-67. Observe que nenhuma das células foi marcada, demonstrando resultado negativo. Aumento de 400x. Porto Alegre, 2010

RESULTADOS PARCIAIS

A média de AgNORs por núcleo nas células epiteliais presentes na amostra está apresentada no gráfico 1.

O epitélio odontogênico dos 46 folículos pericoronários analisados não apresentou células positivas para a imunomarcagem de Ki-67.

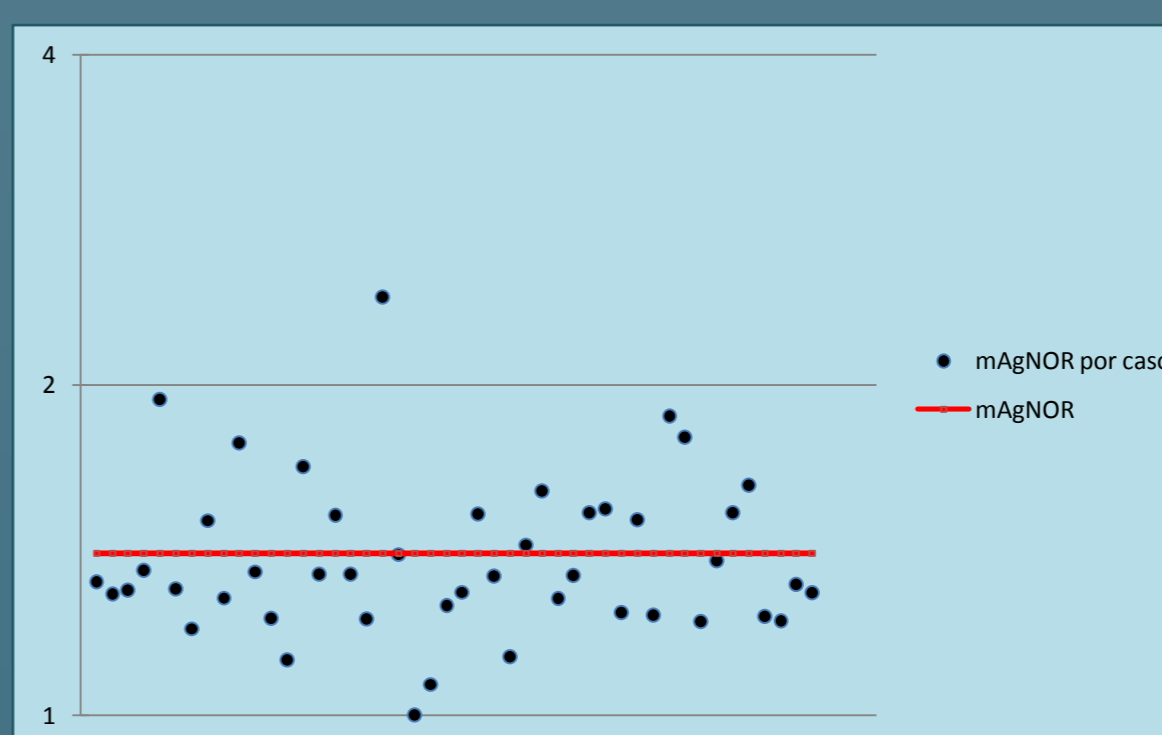


Gráfico 1: Cada ponto no distribuidor representa o mAgNOR de cada caso. A linha em vermelho representa a mAgNOR de todos os casos.

CONCLUSÃO

O mAgNOR resultou em 1,4 o que demonstra que a velocidade de proliferação das células epiteliais de folículos pericoronários é fisiológica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A próxima etapa do trabalho será a marcação imunoistoquímica de EGFR, captura das imagens e análise descritiva. Após os resultados de mAgNORs, Ki-67 e EGFR serão analisados em conjunto.

Damjanov I, Mildner B, Knowles BB. Immunohistochemical localization of the peidermal growth factor receptor in normal human tissues. Lab Invest 1986; 55:588-92.

Kramer IR, Pindborg JJ, Shear M. The WHO histological typing of odontogenic tumors. A commentary on the second edition. Cancer 1992; 70:2988-94

Curran AE, Damm DD, Drummond JF. Pathologically significant pericoronary lesions in adults: histopathologic evaluation. J Oral Maxillofac Surg 2002;60:613-7.

Girod SC, Gerlach KL, Kreuger G. Cysts associated with long-standing third molars. Int J Oral maxillofac Surg 1993; 2:110-2.

Saraçoglu U, Kurt B, Günhan O, Güven B. 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; 34:432-5

Van der Linden W, Cleaton-Jones P, Lowrie M. Diseases and lesions associated with third molars: review of 1001 cases. Oral Surg Oral med Oral Pathol Oral radiol Endod 1995; 79:142-5.

Jalava P, Kuopiot T, Juntti-Patinen L, Kotkansalo T, Kronquist P, Collan Y. Ki-67 immunohistochemistry: a valuable marker in prognostication but

with a risk of misclassification: proliferation subgroups formed based on Ki-67 immunoreactivity and standardized mitotic index. Histopathology 2006; 48:674-82

Gulkesen KH, Kilicarslan B, Altunbas HA, Karpuzoglu G. EGFR and p53 expression and proliferative activity in parathyroid adenomas: an immunohistochemical study. APMIS 2001; 109:807-4.

Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004; 59:21-6.

Baumgart CS, Lauxen IS, Sant'Ana Filho M, Quadros OF. Epidermal growth factor receptor distribution in pericoronary follicles: relationship with the origin of odontogenic cysts and tumors. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2007; 103:240-5.

Edmatsu M, Kumanoto H, Ooya K, Echigo S. Apoptosis-related factors in the epithelial components of dental follicles and dentigerous cysts associated with impacted third molars of the mandible. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2005;99:17-23.

Oliveira MG, Lauxen IS, Neto MM, Rados PV, Jaeger F, Kaizer MR, Sant'ana Filho M. Tongue squamous cell carcinoma: relationship between argyrophilic nucleolar organizer (AgNORs) and histopathologic grading. Applied Cancer Research 2005;25:20-4.