

NATÁLIA CIMADON

ANÁLISE DO POTENCIAL PROLIFERATIVO DE CÉLULAS
EPITELIAIS ODONTOGÊNICAS DE FOLÍCULOS PERICORONÁRIOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade
de Odontologia da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, como requisito parcial para
obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Profa. Dra. Márcia Gaiger de Oliveira

Porto Alegre
2012

CIP – Catalogação na Publicação

Cimadon, Natália.

Análise do potencial proliferativo de células epiteliais odontogênicas de folículos pericoronários / Natália Cimadon. – 2012.
24 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) –

Aos meus pais, Ivaldo e Hosana, meus grandes exemplos. Os primeiros passos que me ensinaram trouxeram-me até aqui. De perto ou à distância sempre fizeram todo o possível para que minha caminhada fosse tranquila e proveitosa. Ensinaram-me que o sonho de cada um é o sonho da família toda e, portanto, todos buscamos juntos realizá-lo.

A minha querida irmã, Letícia, por todos os momentos alegres, pelo incentivo e companheirismo.

Aos meus queridos avós, pela compreensão e preocupação. Em especial a minha querida avó Lourdes, que, de onde estiver sei que torce muito por mim.

Ao meu namorado, Eduardo Schwartzer, por todo amor e carinho a mim dedicados e por estar sempre presente nos momentos decisivos e alegres do final do curso.

AGRADECIMENTOS

À **Professora Márcia Gaiger de Oliveira**, pela oportunidade de crescimento e aprendizagem, mas fundamentalmente, pela amizade construída ao longo do curso.

Ao **Professor Manoel Sant'Ana Filho**, por incentivar e oportunizar a busca pelo conhecimento.

Às técnicas do Laboratório de Patologia Bucal da UFRGS, **Isabel da Silva Lauxen**, **Chris Krebs Danilevickz** e **Alessandra Magnusson** pela paciência, dedicação e amizade.

Aos demais professores da disciplina de patologia, **Professor Vinícius Carrard**, **Professora Laura de Campos Hildebrand**, **Professora Manoela Domingues Martins**, **Professor Marco Antonio Trevizani Martins**, **Professora Fernanda Visioli**, **Professora Anna Cecília Moraes Chaves** e **Professor Pantelis Varvaki Rados**, por toda a dedicação e amizade.

Às colegas de iniciação científica, **Gabriela Walter da Luz**, **Isadora Klein**, **Liana Weber** e **Nicole Marchioro**, pela grande amizade construída.

Aos alunos da pós-graduação, sempre dispostos a transmitir conhecimento e pela amizade.

RESUMO

CIMADON, Natália. **Análise do potencial proliferativo de células epiteliais odontogênicas de folículos pericoronários.** 2012. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial de proliferação das células epiteliais odontogênicas de folículos pericoronários. Para tanto, 42 casos de folículos pericoronários de terceiros molares inclusos foram submetidos à técnica histoquímica de impregnação por Prata (AgNOR) e à marcação imunoistoquímica de EGFR e Ki-67. Foram avaliados o epitélio reduzido do órgão do esmalte e/ou ilhas de epitélio odontogênico presentes em todo o tecido conjuntivo dos folículos. A média de AgNORs/núcleo (mAgNOR) resultou em 1,4295, sendo significativamente diferente entre as localizações superior e inferior. A imunomarcação de Ki-67 foi negativa para todos os casos. A análise da técnica de EGFR mostrou que a marcação prevalente foi em citoplasma e que ilhas e cordões de epitélio foram mais imunomarcados que epitélio reduzido do órgão do esmalte. A partir desses resultados, observou-se que pequena parcela dos casos, principalmente em dentes inferiores, tem potencial proliferativo. Dessa forma, não está indicada a remoção profilática de terceiros molares inclusos, mas sim o controle longitudinal do paciente.

Palavras-chave: Odontologia. Folículo pericoronário. Proliferação celular. Lesões odontogênicas.

ABSTRACT

CIMADON, Natália. **Analysis of the proliferative potential of odontogenic epithelial cells of pericoronal follicles.** 2012. 24 f. Final Paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

The aim of this study was to evaluate the potential for proliferation of odontogenic epithelial cells of pericoronal follicles. To this end, 42 cases of pericoronal follicle of third molars were submitted to the technical histochemical silver staining (AgNOR) and immunohistochemical staining of EGFR and Ki-67. The reduced epithelium of the enamel organ and/or islands of odontogenic epithelium, present in every tissue of the follicles, was evaluated. The result of mAgNOR was 1.4295 and was significantly different between the upper and lower locations. Immunostaining of Ki-67 was negative in all cases. Analysis of EGFR showed that the prevalent marking was cytoplasm and epithelial islands were more immunostained than reduced epithelium of the enamel organ. A small portion of the cases has proliferative potential, mainly in the lower teeth. Thus, the prophylactic removal of included third molars is not indicated. Longitudinal control of the patient is indicated.

Keywords: Dentistry. Pericoronal follicle. Celular proliferation. Odontogenic lesions.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
1.1	OBJETIVO	10
1.1.1	Objetivo Geral	10
1.1.2	Objetivos Específicos	10
2	ARTIGO	11
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	21
	REFERÊNCIAS	22
	ANEXO - APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA	24

1 INTRODUÇÃO

Com o fim da odontogênese, restos epiteliais da formação dentária permanecem no tecido ósseo e tecidos moles da maxila e mandíbula. Eles são divididos em quatro tipos principais: restos epiteliais de Malassez, alojados no ligamento periodontal; restos da lâmina dentária, no osso alveolar; restos do órgão do esmalte e Restos de Serres na gengiva. Estas células epiteliais odontogênicas permanecem em um estado latente e podem, de acordo com o estímulo, retornar a um estado ativo. Estudos mostram diferenças no potencial proliferativo das células epiteliais odontogênicas e sugerem que essas diferenças podem ser importantes na formação de cistos e tumores odontogênicos (CURRAN et al., 2002; BAUMGART et al., 2007). O folículo pericoronário é um tecido conjuntivo que recobre a coroa de dentes inclusos com quantidades variáveis desse epitélio, remanescente da odontogênese (KRAMER et al., 1992).

A literatura discute a prevalência do desenvolvimento de cistos e tumores associados com dentes inclusos. Para alguns autores, o potencial de desenvolvimento de lesões no tecido pericoronário é real e aumenta com a idade. Este é um fator a ser considerado no tratamento de dentes inclusos (GIROD et al., 1993; KAHL et al., 1994; VAN der LINDE et al., 1995; CURRAN et al., 2002). Outros autores consideram que o desenvolvimento de lesões a partir do epitélio de dentes não irrompidos é raro e não justificaria a remoção desse tecido (SARAÇOGLU et al., 2005).

Aldsperger et al. (2000) estudaram o tecido associado a 100 dentes impactados sem evidência radiográfica de alteração patológica. Em 34% dos casos, observou-se metaplasia escamosa consistente com cisto dentígero. Utilizando o marcador imunoistoquímico de proliferação celular PCNA (Antígeno Nuclear de Proliferação Celular), foi evidenciado que, na maioria dos casos com características císticas, as células epiteliais tinham atividade proliferativa. Para estes autores, a detecção de alterações patológicas em folículos pericoronários é maior com o exame histopatológico do que somente com o exame radiográfico.

Vários métodos têm sido aplicados para avaliar a proliferação celular baseados na capacidade de detectar fases específicas do ciclo celular. Dentre esses métodos encontramos marcadores imunoistoquímicos como Ki-67/MIB-1, PCNA e

topoisomerase II que estimam o número de células nas fases G1, S, G2 e M, e não detectam as células em G0. Entretanto nenhum desses marcadores oferece uma análise completa da capacidade de proliferação de uma população celular. Eles limitam-se a dar uma visão da quantidade de células em proliferação naquele momento, sem dar a informação de quão rápido elas estão proliferando.

O Ki-67 é um antígeno nuclear presente em todas as fases ativas do ciclo celular (G1, S, G2 e M) e ausente em G0. A detecção imunistoquímica de Ki-67 é considerada um indicador de proliferação celular e tem sido usada para avaliar o potencial proliferativo de células normais, bem como de lesões pré-neoplásicas e neoplásicas (JALAVA et al., 2006).

Para avaliação da velocidade de proliferação celular, tem-se utilizado a técnica de AgNOR. Ela consiste na impregnação pela Prata das Regiões Organizadoras Nucleolares (NORs). As NORs são componentes nucleolares que participam da síntese de RNAr. Essas estruturas possuem genes ribossomais, juntamente com um conjunto de proteínas altamente argirofílicas que são necessárias para biogênese de RNAr. (PLOTON et al., 1986).

Existe associação entre o número de AgNORs e o ritmo de proliferação celular. Células que proliferam rapidamente sintetizam proteínas em um tempo menor, passam pelo ciclo rapidamente e transmitem o componente ribossomal mais rápido para as células filhas. Assim, aumentam as estruturas nucleolares, AgNORs, onde a síntese de RNAr acontece. Por esta razão, a técnica de AgNOR tem sido proposta como um marcador confiável para a avaliação da rapidez de proliferação celular em amostras histológicas ou citológicas rotineiramente processadas. Vários estudos mostraram que em células neoplásicas a quantidade de AgNORs está diretamente relacionada com a rapidez da duplicação celular (PLOTON et al., 1986; DERENZINE et al., 1998; DERENZINE et al., 2000).

Outro fator associado com a proliferação celular em células epiteliais é a presença de fatores de crescimento como o Fator de crescimento Epidérmico (EGF), o fator de Crescimento Transformante (TGF) e seu receptor EGFR. A localização deste receptor na célula acredita-se estar associada ao modo que esta célula responde ao estímulo proliferativo. As células em ritmo de proliferação fisiológico expressam o receptor na membrana e também no citoplasma. Entretanto, quando o receptor está

localizado somente na membrana, a resposta ao estímulo proliferativo parece ser mais rápida. A presença do receptor somente no citoplasma mostra que ele está internalizado ou inativo, o que pode indicar uma resposta mais lenta. A presença e localização do EGFR em epitélio odontogênico pode ter relação com a origem de cistos e tumores odontogênicos (DAMJANOV et al., 1986; GULKESEN et al., 2001; HERBST et al., 2004; BAUMGART et al., 2007).

Baumgart et al (2007) estudaram a distribuição do EGFR em epitélio reduzido do órgão do esmalte e ilhotas de epitélio odontogênico de folículos pericoronários. Eles encontraram, na maioria dos casos, uma marcação só de citoplasma ou a combinação de membrana e citoplasma. Porém, em algumas ilhotas de epitélio odontogênico, a marcação foi somente de membrana, sugerindo que esta característica pode ser um indicador do aumento do potencial de formação de cistos e tumores odontogênicos. Os autores sugerem novos estudos que possam contribuir com o entendimento do mecanismo de desenvolvimento de cistos e tumores odontogênicos.

Este trabalho está apresentado em forma de artigo científico, pois será submetido à revista *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. Além disso, está nos moldes exigidos pela publicação.

1.1 OBJETIVO

1.1.1 OBJETIVO GERAL:

O objetivo deste estudo foi avaliar a proliferação celular em células epiteliais de folículos pericoronários (ilhas de epitélio odontogênico e epitélio reduzido do órgão do esmalte) através da presença do Receptor de Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR), e estabelecer o potencial de proliferação dessas células através da expressão imunohistoquímica de Ki-67 (percentual de células proliferativas) e da impregnação pela Prata das Regiões Organizadoras Nucleolares (rapidez de proliferação).

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Análise da expressão imunohistoquímica dos marcadores EGFR e Ki-67 em células epiteliais de folículos pericoronários
2. Análise das AgNORs em células epiteliais de folículos pericoronários
3. Correlação entre os marcadores imunohistoquímicos e a impregnação pela Prata de NORs
4. Verificar se existe diferença de proliferação celular em ilhas de epitélio odontogênico e epitélio reduzido do órgão do esmalte

2 ARTIGO

ANÁLISE DO POTENCIAL PROLIFERATIVO DE CÉLULAS EPITELIAIS ODONTOGÊNICAS DE FOLÍCULOS PERICORONÁRIOS

Natália Cimadon, Isabel da Silva Lauxen, Vinícius Coelho Carrard, Pantelis Varvaki Rados, Márcia Gaiger Oliveira. Porto Alegre – RS, Brasil.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Objetivo: Avaliar o potencial de proliferação das células epiteliais odontogênicas de folículos pericoronários.

Metodologia: 42 casos de folículos pericoronários de terceiros molares inclusos foram submetidos à técnica histoquímica de impregnação por Prata (AgNOR) e à marcação imunoistoquímica de EGFR e Ki-67. Para AgNOR, foi realizada a média de nucléolos impregnados por núcleo (mAgNOR) e o percentual de células com 1, 2, 3 e 4 ou mais AgNORs por núcleo. O Ki-67 foi avaliado quantitativamente. Para EGFR foi realizada uma análise descritiva dos padrões de marcação. Foram avaliados o epitélio reduzido do órgão do esmalte e/ou ilhas de epitélio odontogênico presentes em todo o tecido conjuntivo dos folículos.

Resultados: A mAgNOR resultou em 1,4295, sendo significativamente diferente entre as localizações superior e inferior. A imunomarcação de Ki-67 foi negativa para todos os casos. A análise da técnica de EGFR mostrou que a marcação prevalente foi em citoplasma e que ilhas e cordões de epitélio foram mais imunomarcados que epitélio reduzido do órgão do esmalte.

Conclusões: Observou-se que as células epiteliais odontogênicas de alguns folículos pericoronários, principalmente inferiores, possuem potencial proliferativo.

O folículo pericoronário é uma estrutura que recobre a coroa de dentes inclusos e se caracteriza por apresentar tecido conjuntivo e quantidades variáveis de epitélio remanescentes da odontogênese, na forma de ilhas, cordões e/ou epitélio reduzido do órgão do esmalte¹.

As NORs são proteínas associadas a expressão do DNA ribossomal, que tem relação direta com a atividade proliferativa das células. Dessa forma, a quantificação das AgNORs permite inferir a respeito da velocidade com que as células estão proliferando². Ki-67 é um antígeno nuclear presente nas fases ativas do ciclo celular. A imunodeteção desta proteína é um consagrado marcador de proliferação celular³. 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^{4,5}.

O potencial proliferativo e a capacidade das células epiteliais odontogênicas de originarem cistos e tumores odontogênicos ainda não estão completamente elucidados. Estudos mostram diferenças nesse potencial proliferativo e sugerem que esse fato pode ser importante na formação de cistos e tumores odontogênicos^{6,7}.

O objetivo desse estudo foi avaliar o potencial proliferativo das células epiteliais odontogênicas por meio de imunomarcção de Ki-67 e EGFR, e da quantificação das AgNORs.

MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra foi selecionada do arquivo do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre, Brasil). Foram analisadas todas as lâminas com diagnóstico histopatológico de folículo pericoronário, entre os anos de 2000 a 2009. Todos os casos deveriam apresentar tecido conjuntivo com quantidade variável de infiltrado inflamatório e presença de epitélio odontogênico sob a forma de epitélio reduzido do órgão do esmalte e/ou ilhas e cordões de epitélio odontogênico. Foram excluídos todos os casos que apresentassem um revestimento de epitélio estratificado (mais de duas camadas) e os casos com quantidade insuficiente de epitélio odontogênico para a realização de todas as técnicas. De um total de 256, foram selecionados 42 casos de folículos pericoronários. Os dados relativos à idade, gênero e localização do dente incluso (superior ou inferior) foram obtidos das fichas de biópsia.

De cada bloco de parafina foram feitos quatro cortes de 4µm, os quais foram submetidos a diferentes técnicas de estudo: coloração de Hematoxilina e Eosina (HE), Impregnação pela Prata das NORs (realizada de acordo com protocolo estabelecido por Ploton et al. em 1986²), Imunodeteccção de Ki-67 e de EGFR. Para as marcações imunoistoquímicas, foram utilizados os reagentes e técnicas descritos na Tabela 1. Foi utilizado Diaminobenzidine (DAB, Dako) como cromógeno. Todos os cortes foram contracorados com hematoxilina de Harris e as lâminas montadas com Permount (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ-USA). Os controles negativos foram obtidos pela omissão do anticorpo primário.

Tabela 1: Reagentes e técnica imunoistoquímica.

Anticorpo	Clone/Marca	Diluição	Recuperação antigênica	Controle +
Ki-67	Clone MIB-1 Dako Cytomation, Carpinteria, CA-USA	1:50µl	Solução de baixo pH(6,0) (Dako, Carpinteria, CA-USA) Micro-ondas	Carcinoma Espinocelular de Boca
EGFR	Clone EGFR- 113 Novocastra, Newcastle uT-UK	1:30µl	Solução de baixo pH(6,0) (Dako, Carpinteria, CA-USA) Panela de pressão	Pele

Avaliação das lâminas:

As lâminas coradas por HE foram capturadas em aumento de 400x e foi realizada a análise morfológica dos tecidos, bem como a quantidade de epitélio apresentada. As que passaram pela técnica de impregnação por Prata foram capturadas em aumento de 1000x, com óleo de imersão, e foi procedida a contagem do número de AgNORs por núcleo em todas as células epiteliais com auxílio do programa ImageJ® (desenvolvido por National Institutes of Health – USA – domínio público). Foi feita a média de AgNORs (mAgNOR) e o percentual de células com 1, 2, 3 e 4 ou mais AgNORs (pAgNOR) por núcleo de cada lâmina.

Tanto as lâminas que passaram por imunodeteção de Ki-67, quanto as de EGFR foram capturadas em aumento de 400x e foram consideradas positivas toda coloração marrom nas células epiteliais odontogênicas independente da intensidade. Para o Ki-67 foi feita uma análise quantitativa dos núcleos positivos, em todas as células epiteliais. Já o EGFR foi analisado descritivamente, ou seja, quanto à presença da marcação e sua localização (citoplasma, membrana, ou citoplasma + membrana). Em todas as leituras de lâmina foi feita análise do tipo de epitélio odontogênico presente (ilhas e/ou cordões e epitélio reduzido do órgão do esmalte).

Todas as imagens foram capturadas através de microscópio binocular (Olympus®, modelo CX41RF) com câmera digital (Olympus®, modelo Qcolor 5, coollet, RTF), acoplados a um computador DELL® (modelo Dimension 5150) utilizando o programa QCapture®.

Os dados foram analisados através de Teste Exato de Fisher para a verificação de associação entre as variáveis qualitativas; Teste Mann-Whitney e Teste Kruskal-

Wallis para a comparação dos valores das variáveis que não apresentaram distribuição normal; Teste t-student e Análise de Variância para a comparação das variáveis com distribuição normal em seus dados. Para todos os testes o nível de significância máximo assumido foi de 5% ($p \leq 0,05$) e o software utilizado para a análise estatística foi o SPSS versão 10.0.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil (Projeto 13423, ata 12/08).

RESULTADOS

A amostra do estudo foi composta por 42 folículos. Trinta desses pacientes eram mulheres e doze homens. As idades variaram entre 13 e 26 anos. Dezesesseis dentes eram superiores e 26 inferiores. Com a análise morfológica dos tecidos, observou-se que os folículos apresentaram restos epiteliais (RE), em forma de ilhas e cordões, ou epitélio reduzido do órgão do esmalte (EROE), ou ainda as duas variações em um mesmo folículo (OE/RE) (Tabela 2).

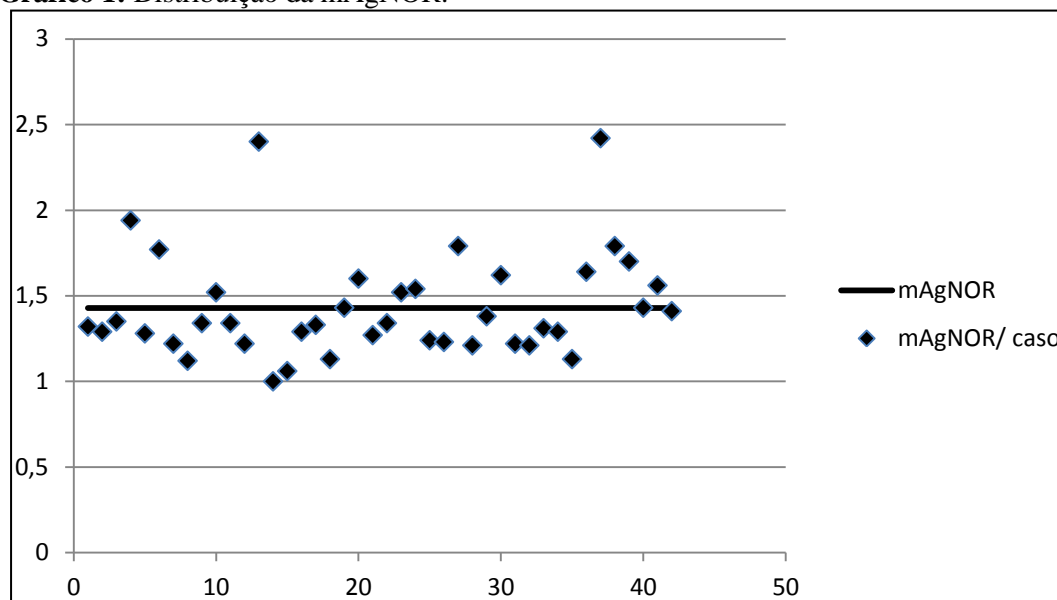
Tabela 2: Perfil da amostra.

		Frequência	%
Idade	13-18	26	61,9
	19-26	16	38,1
Gênero	Feminino	30	71,4
	Masculino	12	28,6
Localização	Superior	16	38,1
	Inferior	26	61,9
Morfologia epitelial	RE	9	21,4
	EROE/RE	3	7,1
	EROE	30	71,4

A técnica histoquímica de impregnação por Prata (AgNOR) resultou em média geral (mAgNOR) de 1,4295, apresentando diferença significativa entre casos de dentes superiores e dentes inferiores (Tabela 3). No Gráfico 1, podemos observar a distribuição da mAgNOR de cada caso, em relação a média final.

Tabela 3: mAgNOR.

	Localização	N	mAgNOR	Desvio padrão	P
mAgNOR	Superior	16	1,31	0,14	0,041*
	Inferior	26	1,51	0,36	

Gráfico 1: Distribuição da mAgNOR.

A porcentagem de nucléolos marcados (pAgNOR) não mostrou diferença significativa entre os grupos (Tabela 4).

Tabela 4: pAgNOR

	Localização	n	pAgNOR	Desvio padrão	P
pAgNOR1	Superior	16	72,78	12,12	0,104
	Inferior	26	64,45	20,33	
pAgNOR2	Superior	16	22,96	10,77	0,612

	Inferior	26	24,84	11,99	
pAgNOR3	Superior	16	3,85	3,36	0,243
	Inferior	26	8,30	11,20	
pAgNOR4	Superior	16	0,32	0,62	0,431
	Inferior	26	2,46	7,23	

A imunomarcção de Ki-67 apresentou resultado negativo para todos os casos. Já a imunomarcção de EGFR foi positiva em 86% dos campos analisados, sendo distribuídos entre membrana (4%), citoplasma (70,31%) e membrana mais citoplasma (10,71%). Ademais, as ilhas e cordões de epitélio mostraram-se mais positivas ao EGFR do que o epitélio reduzido do órgão do esmalte. Entre as ilhas e cordões de epitélio, 71,07% foi imunomarcado, enquanto que 28,93% do epitélio reduzido foi evidenciado. Houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

DISCUSSÃO

A presença de dentes impactados e seu respectivo folículo pericoronário pode estar relacionada à formação de cistos e tumores odontogênicos. Entretanto, a forma como isso ocorre ainda não está elucidada⁷. Resultados mostram que prevalência de lesões císticas de origem odontogênica é de 22,20%, enquanto que tumores de origem odontogênica representam 61% das lesões neoplásicas encontradas nos maxilares^{8,9}. Vários estudos apontam que a mandíbula costuma ser o sítio mais afetado por lesões de origem odontogênica⁸⁻¹¹.

Nesse trabalho, observamos que as células epiteliais dos folículos pericoronários estudados apresentaram mAgNOR de 1,31 para superiores e 1,51 para inferiores, diferindo significativamente entre si. Além disso, apesar de não apresentar diferença estatisticamente significativa, vale observar que, em pAgNOR de 3 e 4 ou mais, os folículos provenientes de dentes inferiores apresentaram resultados mais expressivos quando comparados aos superiores. Isso aponta o fato de que as células de alguns folículos de dentes inferiores proliferam de forma mais acelerada.

Muitos trabalhos mostraram que em células neoplásicas a quantidade de AgNORs está diretamente relacionada com a velocidade de proliferação^{2,12,13}. A mAgNOR resultou em 1,4295, correspondendo a um estado fisiológico de proliferação quando comparadas a estudos com células malignas, que apresentam de 3 a 7 nucléolos impregnados por Prata em cada célula¹³. Nesse trabalho, dois casos em particular apresentaram valores de mAgNOR próximos a 2,5, mostrando que eles estavam com a velocidade de proliferação mais alta.

A localização do receptor EGFR na célula pode estar associada ao modo que esta célula responde ao estímulo proliferativo. As células em ritmo de proliferação fisiológico expressam o receptor na membrana e também no citoplasma. Entretanto, quando o receptor está localizado somente na membrana, a resposta ao estímulo proliferativo parece ser mais rápida. A presença do receptor somente no citoplasma mostra que ele está internalizado ou inativo, o que pode indicar uma resposta mais lenta^{4,5,7,14}. Nos folículos estudados, 70,31% da imunomarcação ocorreu somente em citoplasma. Isso significa que o receptor já foi internalizado pela célula e torna-se pouco provável uma reação a estímulo proliferativo. Entretanto, é necessário observar que uma pequena parcela da amostra (4%) apresentou imunomarcação apenas em membrana celular, o que torna essas células mais reativas perante um estímulo. Nosso resultados estão de acordo com Baumgart et al., que encontrou 52% dos casos marcados em citoplasma, 47,3% em citoplasma + membrana e 7% apenas em membrana⁷.

O Ki-67 estima o número de células nas fases G1, S, G2 e M e não detectam as células em G0¹⁴. Como a imunomarcação de Ki-67 teve resultado negativo nos folículos analisados, significa que as células encontram-se na fase G0, ou seja, em fase de latência. Entretanto ele limita-se a dar uma visão da quantidade de células em proliferação naquele momento, sem dar a informação de quão rápido elas estão proliferando¹⁵. Dessa forma, as análises de EGFR e AgNOR, juntas, complementam esses resultados.

Quanto ao perfil da amostra, era composta por pacientes entre 13 e 26 anos, observando-se maior prevalência do gênero feminino. Além disso, 61,9% dos dentes eram inferiores. As lesões císticas de origem odontogênica ocorrem na grande maioria em pacientes do gênero feminino, na segunda década de vida e em mandíbula⁸. Já as lesões neoplásicas de origem odontogênica tem distribuição variada. Na grande maioria das vezes, elas são diagnosticadas em mulheres. Odontoma e fibroma ameloblástico

costumam ocorrer na primeira e segunda década de vida. Já ameloblastoma, tumor odontogênico adenomatóide e mixoma aparecem a partir da terceira ou quarta década¹¹.

Dentes inclusos ou impactados recebem frequentemente indicação de remoção cirúrgica. As razões das indicações são risco de compressão de feixes nervosos, traumas físicos, reabsorções de dentes vizinhos, infecções e estabelecimento de lesões císticas ou tumorais¹⁶. A incidência e desenvolvimento de lesões associadas a terceiros molares inclusos diferem muito entre os estudos¹⁶. NORDENHAM et al.¹⁷ aponta 4,5% dos casos e BRUCE et al.¹⁸ reportou 6,2% das lesões desenvolvidas em torno de terceiros molares. Em estudo que avaliou 666 pacientes com indicação de remoção do terceiro molar inferior, 82% deles tinha alguma entidade patológica associada ao elemento dentário. Das lesões presentes, 92,5% tinha origem infecciosa, 3,13% traumática, 4,37% correspondia a cistos paradentais e nenhum tumor ou cisto odontogênico foi encontrado. A maior parte desses pacientes era mulher e tinha entre 20 e 29 anos de idade¹⁹.

Esse estudo mostrou que, na faixa etária estudada, um pequeno número de folículos pericoronários apresenta epitélio com potencial de proliferação. Além disso, essa parcela de casos se concentra principalmente na localização inferior. Esse local é o mais prevalente na ocorrência de cistos e tumores odontogênicos. Dessa forma, não está indicada a remoção profilática de terceiros molares inclusos, mas sim o controle longitudinal do paciente, por meio de avaliação clínica e radiográfica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kramer IR, Pindborg JJ, Shear M. The WHO histological typing of odontogenic tumors. A commentary on the second edition. *Cancer*. 1992; 70:2988-94
2. Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himber G, Pigeon F, Adnett JJ. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organiser regions at the optical level. *Histochem J*. 1986; 8:5-14.
3. Jalava P, Kuopiot T, Juntti-Patinem 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
4. Damjanov I, Mildner B, Knowles BB. Immunohistochemical localization of the epidermal growth factor receptor in normal human tissues. *Lab Invest*. 1986;55:588-92.
5. Gulkesen KH, Kilicarslan B, Altunbas HA, Karpuzoglu G. EGFR and p53 expression and proliferative activity in parathyroid adenomas; an immunohistochemical study. *APMIS*. 2001;109:870-4.
6. Curran AE, Damm DD, Drummond JF. Pathologically significant pericoronal lesions in adults: histopathologic evaluation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2002; 60:613-7.
7. Baumgart CS, Lauxen IS, Sant'Ana Filho M, Quadros OF. 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; 103:240-5.
8. Prockt AP, Schebela CR, Maito FDM, Sant'Ana-Filho M, Rados PV. Odontogenic Cysts: Analysis of 680 Cases in Brazil. *Head and Neck Pathol*. 2008; 2:150–156.
9. Rodrigues TLC, Rodrigues FG, Carodos AB, Gandelmann IHA, Cavalcante MAA. Benign tumors of the jaws: a 10-year retrospective analysis. *Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-Fac*. 2010; 10: 91-96.
10. Pontes CGC, Neto AIT, Ribeiro ILH, Sarmiento VA, Santos JN, Azevedo RA. Epidemiology of odontogenic cysts and tumors treated under general anesthesia in a philanthropic hospital in Salvador, Bahia. *Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-Fac*. 2012; 12: 91-98.
11. Santos JN, Pinto LP, Figueiredo CRLV, Souza LB. Odontogenic tumors: analysis of 127 cases. *Pesqui Odontol Bras*. 2001; 15:308-313.
12. Derenzine M, Treré D, Pession A, Montanaro L, Sirri V, Ochs RL. Nucleolar function and size in cancer cells. *Am J Pathol*. 1998; 152:1291-1297.
13. Derenzine M, Treré D, Pession A, Govoni M, Sirri V, Chieco P. Nucleolar size indicates the rapidity of cell proliferation in cancer tissues. *J Pathol*. 2000; 191:181-186.
14. Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004; 59:21-6.
15. Jalava P, Kuopiot T, Juntti-Patinem 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

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

17. Nordenram A, Hultin M, Kjellman O, Ramstrom G. Indications for surgical removal of the mandibular third molar. *Swed Dent J*. 1987; 11: 23-9.

18. Bruce RA, Frederickson GC, Small GS. Age of patients and morbidity associated with mandibular third molar surgery. *J Am Dent Assoc*. 1980; 101: 240-5.

19. Knutsson K, Brehmer B, Lysell L, Rohlin M. Pathoses associated with mandibular third molars subjected to removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996; 82:10-7

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo mostrou que, na faixa etária estudada, um pequeno número de folículos pericoronários apresenta epitélio com potencial de proliferação. Além disso, essa parcela de casos se concentra principalmente na localização inferior. Esse local é o mais prevalente na ocorrência de cistos e tumores odontogênicos. Dessa forma, não está indicada a remoção profilática de terceiros molares inclusos, mas sim o controle longitudinal do paciente, por meio de avaliação clínica e radiográfica.

REFERÊNCIAS

Aldelsperger J, Campbell JH, Coates DB, Summerlin D-J, Tomich CE. Early soft tissue pathosis associated with impacted third molars without pericoronal radiolucency. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;89:402-6.

Baumgart CS, Lauxen IS, Sant'Ana Filho M, Quadros OF. 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; 103:240-5.

Bruce RA, Frederickson GC, Small GS. Age of patients and morbidity associated with mandibular third molar surgery. *J Am Dent Assoc.* 1980; 101: 240-5.

Carrard, V. Sant'Ana Filho M, Rados PV, Chaves ACM, Lauxen IS. Quantification of silver-staining nucleolar organizer region in epithelial cells of tongue of mice after exposure to, or intake of, alcohol. *Alcohol.* 2004;34:233-238.

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

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

Derenzine M, Treré D, Pession A, Montanaro L, Sirri V, Ochs RL. Nucleolar function and size in cancer cells. *Am J Pathol.* 1998; 152:1291-1297.

Derenzine M, Treré D, Pession A, Govoni M, Sirri V, Chieco P. Nucleolar size indicates the rapidity of cell proliferation in cancer tissues. *J Pathol.* 2000; 191:181-186.

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.

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

Glosser JW, Campbell JH. Pathologic change in soft tissues associated with radiographically "normal" third molar impactions. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1999; 37:259-60.

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.

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

Knutsson K, Brehmer B, Lysell L, Rohlin M. Pathoses associated with mandibular third molars subjected to removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996; 82:10-7

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

Kahl B, Gerlach KL, Hilgers RD. A long term follow-up radiographic evaluation of asymptomatic impacted third molars in orthodontically treated patients. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1994; 23:279-85.

Nordenram A, Hultin M, Kjellman O, Ramstrom G. Indications for surgical removal of the mandibular third molar. *Swed Dent J.* 1987; 11: 23-9.

Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himber G, Pigeon F, Adnett JJ. Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organiser regions at the optical level. *Histochem J.* 1986; 8:5-14.

Pontes CGC, Neto AIT, Ribeiro ILH, Sarmiento VA, Santos JN, Azevedo RA. Epidemiology of odontogenic cysts and tumors treated under general anesthesia in a philanthropic hospital in Salvador, Bahia *Rev Cir Traumatol Buco-Maxilo-Fac.* 2012; 12: 91-98.

Prockt AP, Schebela CR, Maito FDM, Sant'Ana-Filho M, Rados PV. Odontogenic Cysts: Analysis of 680 Cases in Brazil. *Head and Neck Pathol.* 2008; 2:150–156.

Rodrigues TLC, Rodrigues FG, Carodos AB, Gandelmann IHA, Cavalcante MAA. Benign tumors of the jaws: a 10-year retrospective analysis. *Rev. Cir. Traumatol. Buco-Maxilo-fac.* 2010; 10: 91-96.

Santos JN, Pinto LP, Figueiredo CRLV, Souza LB. Odontogenic tumors: analysis of 127 cases. *Pesqui Odontol Bras.* 2001; 15:308-313.

Saraçoğlu 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: na immunohistochemical study. *Int J Oral maxillofac Surg.* 2005; 34:432-5

Van der Linden W, Cleaton-Jones P, Lownie 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.

ANEXO – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA

Sistema Pesquisa - Pesquisador: Marcia Gaiger De Oliveira

Projeto Nº: 13423

Título: ANALISE DO POTENCIAL PROLIFERATIVO DE CELULAS EPITELIAIS ODONTOGENICAS DE FOLICULOS PERICORONARIOS

COMISSAO DE PESQUISA DE ODONTOLOGIA:

Parecer:

APROVADO EM REUNIÃO DA COMPESQ X CEP EM 04/12/08, ATA UNIFICADA 12/08.