

Avaliação da desposição do íon cálcio em lesões fibro-ósseas benignas: estudo histoquímico

Evaluation of Calcium Ion Deposition in Benign Fibro-osseous Lesions: a Histochemical Study

Recebido em 25/02/2008
Aprovado em 09/09/2008

Ana Paula Veras Sobral^I
Chester Lorraine Tavares Herculano^{II}
Raquel Balaban^{II}

RESUMO

As Lesões Fibro-Ósseas Benignas (LFOB) são alterações caracterizadas pela substituição de osso normal por tecido conjuntivo fibroso e quantidades variáveis de mineralização. São lesões que apresentam dificuldade no diagnóstico quando observados, apenas, os aspectos histopatológicos. Torna-se interessante o conhecimento e aplicação de métodos auxiliares de diagnóstico anátomo-patológicos na tentativa de facilitar o diagnóstico dessas lesões, quando na ausência de critérios clínicos e/ou radiográficos. A técnica histoquímica de Von Kossa consiste em um método auxiliar, indicado como específico para o íon cálcio, permitindo detectar as fases de mineralização dos tecidos em formação. O objetivo deste estudo é o de tentar diferenciar entre as LFOB a forma de deposição do íon cálcio com a finalidade de individualizá-las. Foram analisados 24 casos de LFOB, sendo 6 de Displasia Fibrosa (DF), 4 de Displasia Cimento-Óssea (DCO) e 14 de Fibroma Ossificante (FO). A DF foi negativa em 3 casos; nos demais casos, havia presença de osso imaturo em que se observou fraca positividade. Os casos de DCO mostraram-se negativos em 3 casos. Por fim, 13 casos de FO foram positivos. Observamos que a mineralização derivada do ectomesênquima odontogênico sempre se mostrou positiva. A coloração de Von Kossa pode ser, portanto, uma ferramenta útil na diferenciação das LFOB.

Descritores: Displasia Fibrosa Óssea. Fibroma Ossificante. Doenças do Desenvolvimento Ósseo. Neoplasias Ósseas.

ABSTRACT

Benign fibro-osseous lesions (BFOL) are changes characterized by the replacement of normal bone by fibrous connective tissue and variable degrees of mineralization. They are difficult to diagnose when only the histopathological features are observed. Thus, in the absence of clinical and/or radiographic criteria, an auxiliary method of diagnosis may be useful. The Von Kossa histochemical technique is one such method, making it possible to detect the phases of mineralization of the tissues in formation. The purpose of this study was to identify the type of BFOL by observing the calcium ion deposition patterns. Twenty-four cases of BFOL (six of fibrous dysplasia, four of cemento-osseous dysplasia and 14 of ossifying fibroma) were analyzed. Three cases of fibrous dysplasia were positive in the immature bone structure. Three cases of cemento-osseous dysplasia were negative. Thirteen cases of ossifying fibroma were positive. It was observed that the mineralization resulting from odontogenic ectomesenchyme was always positive. The results suggest that von

^IProfessor Adjunto da Disciplina de Patologia Bucal da FOP-UPE, Doutor em Patologia Bucal pela FOUPE.

^{II}Alunos da graduação da Faculdade de Odontologia de Pernambuco-UPE.

Kossa staining may be a useful tool in the differentiation of the BFOLs.

Keywords: Fibrous Dysplasia of Bone. Fibroma, Ossifying. Bone Diseases, Developmental. Bone Neoplasms.

INTRODUÇÃO

A denominação LFOB refere-se a um grupo de alterações patológicas que apresentam como aspecto comum a substituição do osso por tecido conjuntivo fibroso, contendo quantidades variáveis de tecido mineralizado. A designação LFOB não é um diagnóstico específico e descreve, apenas, um processo, incluindo um grupo extenso de várias entidades nas quais se fazem presentes lesões de desenvolvimento (hamartomas), processos displásicos e reativos, bem como neoplasmas¹². De acordo com Waldron (1993)²², a classificação dessas patologias baseia-se, principalmente, em critérios clínicos e radiográficos, uma vez que essas lesões podem apresentar aspectos histológicos semelhantes, apesar de exibirem comportamento e prognóstico distintos, acontecendo da seguinte forma: displasia fibrosa, lesões reativas e neoplasmas fibro-ósseos benignos.

Quanto ao enquadramento das lesões que compõem o grupo das LFOB, grande parte não pode ser enquadrada devido à falta de informações clínicas e/ou inexistência de exame por imagem na época do diagnóstico histopatológico, inviabilizando, desta forma, o diagnóstico conclusivo¹⁷. Ao exame histopatológico, as patologias se assemelham e apenas indicam ser uma lesão fibro-óssea, dificultando, assim, o diagnóstico e tornando os critérios clínicos e radiográficos as únicas armas para a definição e classificação dessas lesões que possuem comportamento e prognóstico distintos^{12,22}.

Diante da dificuldade de diagnosticar as LFOB por sua similaridade microscópica, toma-se interessante o conhecimento e a aplicação de métodos auxiliares de diagnóstico anátomo-patológico. Recentes avanços com marcadores biológicos podem ajudar na classificação, caracterização e entendimento dessas patologias.

A técnica histoquímica de von Kossa consiste em um método auxiliar de diagnóstico indicado como específico para o íon cálcio. Tal especificidade permite-nos detectar as fases de mineralização dos tecidos em formação, oferecendo-nos importantes informações que podem viabilizar a individualidade das LFOB e o seu reconhecimento histopatológico^{11,19}.

Assim, o objetivo deste trabalho é o de avaliar a deposição do íon cálcio em LFOB através da técnica histoquímica de von Kossa com o intuito de tentar diferenciar a forma de deposição do íon cálcio na tentativa de individualizar cada uma delas.

MATERIAL E MÉTODO

Trinta e um casos diagnosticados como LFOB, sendo 7 casos de displasia fibrosa (DF), 4 casos de displasia cemento-óssea (DCO) e 20 casos de fibroma ossificante (FO) foram selecionados dos arquivos do Laboratório da Disciplina de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia de Pernambuco (FOP-UPE). Os diagnósticos foram baseados na combinação das informações clínicas, radiográficas e histopatológicas com base na classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 2002⁷. Foram confeccionados novos cortes para realização da técnica histoquímica de von Kossa e observados em microscópio de luz convencional, sendo a positividade para o íon cálcio considerada quando observada a coloração em preto de acordo com o Quadro 01.

Estrutura	Coloração
Íons Cálcio	preto
Núcleo	vermelho
Citoplasma	rosa

Quadro 01. Especificidade da coloração de von Kossa

RESULTADOS

A amostra foi constituída de 24 casos, sendo 6 de Displasia Fibrosa (DF), 4 de Displasia Cemento-Óssea (DCO) e 14 de Fibroma Ossificante (FO), uma vez que 7 lesões (1, DF e 7, FO) haviam sido descalcificadas e, portanto,

foram excluídas da amostra, já que a técnica histoquímica de von Kossa avalia a deposição de íon cálcio nas lesões que são removidas durante o processo de descalcificação. As características clínicas e radiográficas dos casos estudados estão demonstradas na Tabela 1.

Tabela 01. Características clínicas, radiográficas e positividade para a técnica de Von Kossa dos 24 casos estudados.

Caso	Sexo	Idade	Imagem Radiológica	Localização	Raça	Diagnóstico	von Kossa
1	F	19		Maxila	O	DF	Positivo
2			Radiopaca	Maxila		DF	Negativo
3	F	23		Maxila	A	DF	Positivo
4	F	29	Radiopaca	Maxila	N	DF	Positivo
5	F	13	Radiolúcida/Radiopaca	Maxila	O	DF	Negativo
6	M	45	Radiopaca	Mandíbula	O	DF	Negativo
7	F	63	Radiopaca	Maxila	N	DCO	Negativo
8	F	28		Mandíbula	B	DCO	Positivo
9	F	49	Radiopaca	Mandíbula	N	DCO	Negativo
10	F	57	Radiolúcida/Radiopaca	Mandíbula	N	DCO	Negativo
11	M	19	Radiopaca	Mandíbula	B	FO	Negativo
12	F	58		Mandíbula	O	FO	Positivo
13	F	16	Radiopaca	Mandíbula	O	FO	Positivo
14	M	45		Mandíbula		FO	Positivo
15	F	40	Radiolúcida/Radiopaca	Mandíbula	N	FO	Positivo
16	F	51		Maxila	B	FO	Positivo
17	F	13	Radiolúcida/Radiopaca	Maxila	B	FO	Positivo
18	M		Radiopaca	Mandíbula	N	FO	Positivo
19	F	12		Mandíbula	N	FO	Positivo
20	F	48	Radiopaca	Maxila	B	FO	Positivo
21	F	11	Radiopaca	Mandíbula	N	FO	Positivo
22	M	42			B	FO	Positivo
23	F	47		Maxila	N	FO	Positivo
24	F	20		Maxila	N	FO	Positivo

F - Feminino, M-Masculino

B - Branco, N- Negro, A-Amarelo, O-Outros

DF – Displasia Fibrosa, DCO – Displasia Cemento-óssea, FO – Fibroma Ossificante

A DF foi negativa em 3 casos; nos demais casos, havia presença de osso imaturo onde se observou fraca positividade (Figuras 01 e 02). Três casos de DCO mostraram-se negativos. Por fim, 13 casos de FO foram positivos (Figuras 03 e 04). Além disso, observou-se que a mineralização sugestiva de

ectomesênquima odontogênico sempre se mostrou positiva (Figura 05). Tais resultados também se encontram na Tabela 01.

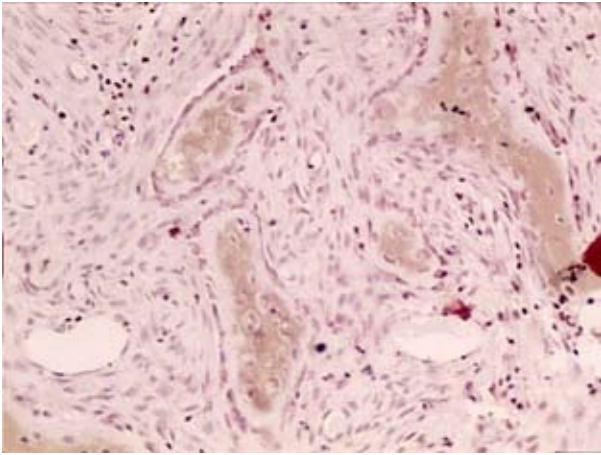


Figura 01. Coloração von Kossa positivo em DF, osso imaturo.

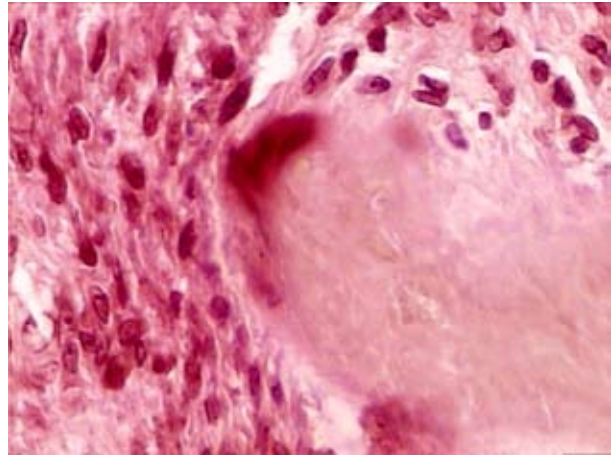


Figura 04. Coloração von Kossa positivo em FO, maior detalhe da figura 03.

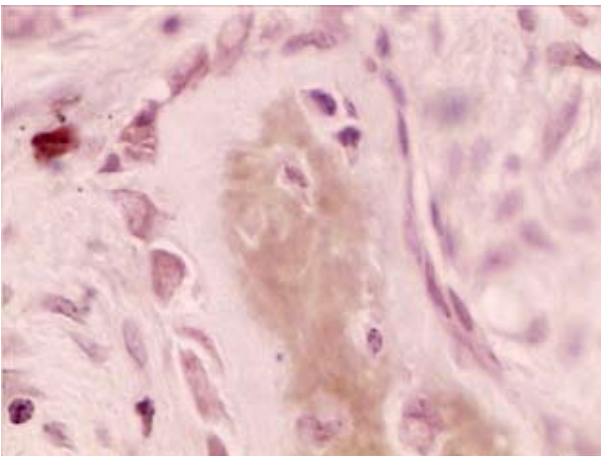


Figura 02. Coloração von Kossa positivo em DF, osso imaturo – observar os osteoblastos e osteoide sem marcação para o von Kossa (Close da figura 01).

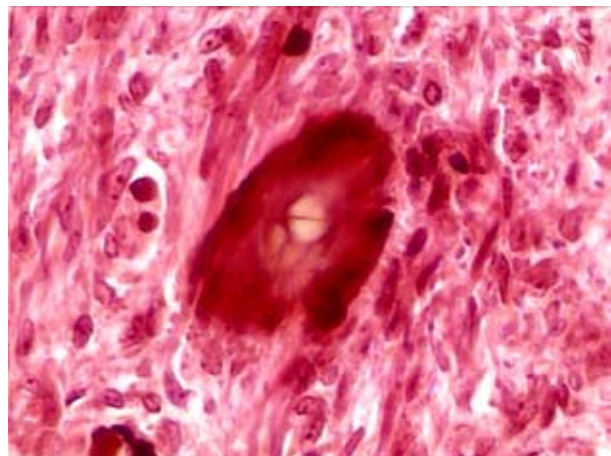


Figura 05. Coloração von Kossa positivo em mineralização oriunda de ectomesênquima odontogênico.

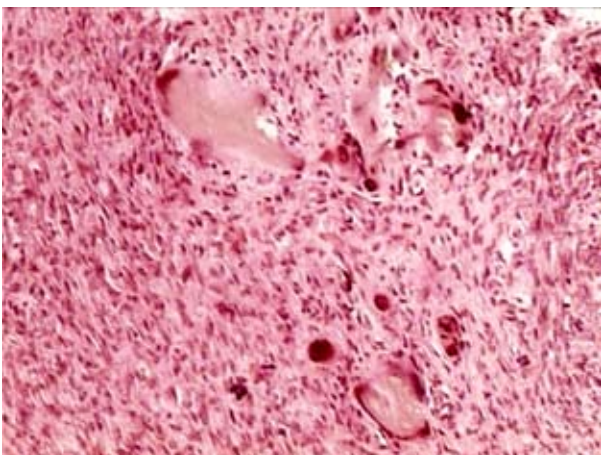


Figura 03. Coloração von Kossa positivo em FO.

DISCUSSÃO

Em relação à DF, podemos verificar que dos 6 casos aqui analisados, 5 ocorreram na maxila, em pacientes do sexo feminino e com aspecto radiográfico radiopaco. Tais achados corroboram os já descritos por Alves et al.¹, Bastos et al.², Grandi et al.⁸ e Pistóia e Figueiredo¹⁴. Esses autores afirmam que a DF consiste em uma LFOB que ocorre usualmente na maxila, exibindo aspecto radiográfico clássico de uma opacificação, sem limites definidos, descrito como “vidro despolido” ou “casca de laranja”, resultante da superposição de numerosas trabéculas ósseas não organizadas e pouco calcificadas, em decorrência da progressiva substituição de osso normal por uma proliferação de tecido conjuntivo fibroso, de estrutura imatura e desorganizada. Entretanto a DF, como

entidade patológica, é bem reconhecida, no entanto é de etiologia incerta, cuja a hipótese mais aceita é a de que se trata de um hamartoma^{2,6,9,16,22}.

No que diz respeito às DCO, a literatura tem relatado uma alta incidência no gênero feminino, raça negra e na faixa etária entre a 4ª e a 6ª décadas de vida^{3,10,12,13}. Verificamos, também, essa alta prevalência no sexo feminino, e, apesar de só termos 4 casos estudados, todos eram em pacientes do sexo feminino (Tabela 01).

Já é sabido que existem casos de tendência familiar de DCO. Esses casos apresentam características um pouco diferentes da forma não hereditárias nos seguintes aspectos: podem estar presentes em crianças, são DCO florida, não há predileção em mulheres negras, a taxa de crescimento parece ser maior, e a área de sínfise mandibular é a região anatômica mais afetada⁴. Gostaríamos de chamar atenção para o fato de que dos 4 casos examinados neste trabalho, 3 encontravam-se na mandíbula, região anatômica mais comum nas formas de DCO de padrão hereditário. Verificamos esses dados, mas não podemos obter tais informações em relação à hereditariedade, pois os casos estavam arquivados.

Para concluirmos a discussão da caracterização da nossa amostra em relação aos casos de FO, verificamos que os pacientes do sexo feminino e a mandíbula eram o sexo e a localização anatômica mais comum. Para El-Mofty et al.⁵, Grandi et al.⁸, Neville et al.¹² e Tuji et al.²⁰, a maioria dos casos de FO envolvem a mandíbula, principalmente na região de pré-molares e molares, afetando, na maioria dos casos, pacientes do sexo feminino. Radiograficamente, essa lesão se apresenta unilocular, bem circunscrita, podendo mostrar borda esclerótica e, dependendo do estágio de evolução em que se encontre, pode mostrar-se mista ou completamente radiopaca^{3,6,12}. Acreditamos que o fato de termos encontrado mais lesões de aspecto radiolúcido e misto se deva ao fato de essas lesões, ainda, estarem em estágios iniciais da maturação do processo de mineralização.

A importância de se obter êxito em pesquisas voltadas para diagnóstico baseadas apenas em exames histopatológicos é importante, uma vez que atualmente o diagnóstico desses tipos de lesões baseia-se em informações clínicas e radiográficas e apresentam um relativo e elevado grau de subjetividade. Como foi relatado, o objetivo principal deste estudo foi o de estabelecer parâmetros objetivos para poder diferenciar histologicamente, por meio da técnica de Von Kossa, as LFOB. Outros autores já procuraram alternativas diante dessa mesma problemática.

Rados¹⁵ realizou um estudo histomorfométrico comparativo entre a DF, o FO e Fibroma Cementificante (FC). Observou-se, no FO, que as células do tecido conjuntivo fibroso tem uma tendência a transformar-se em células secretoras de matriz orgânica mineralizada. A DF demonstrou uma marcada relação entre a presença de vasos sanguíneos e zonas de hemorragia, além de ser comprovada a presença de osteoblastos, rodeando as trabéculas mineralizadas. O FC apresentou matriz orgânica não mineralizada e uma menor quantidade de células no seu interior. A variável mais confiável para diferenciar as três lesões entre si seria a forma das trabéculas, predominante os "cemetículos" do FC, "caracteres chineses" na DF e trabéculas retangulares no FO. De acordo com Ferraz e Nogueira⁶ o padrão histológico destas lesões varia com a evolução e o estágio de desenvolvimento da doença. Na lesão inicial, o tecido é bastante celular, predominando fibroblastos ou secretora de matriz mineralizada, podendo-se encontrar pequenas formações de tecido mineralizado, que, com a progressão da lesão, aumenta em quantidade, enquanto o tecido conjuntivo fibroso diminui tanto em quantidade quanto em celularidade, não existindo separação nítida do osso normal com o tecido mineralizado formado.

O padrão histológico da DF mostra trabéculas irregulares de osso imaturo em forma de "C" ou semelhantes a caracteres chineses em um estroma

compacto de fibras colágenas entrelaçadas e delicadas, com proliferação fibroblástica^{3,16,21,22}. Quanto ao aspecto histopatológico da DCO, observa-se proliferação fibroblástica, contendo pequenos focos de formação osteoide ou corpos cementoides basofílicos arredondados, que, em estágios avançados, mostra um depósito progressivo de osso ou material semelhante a cimento, e, finalmente, uma massa densa calcificada^{3,12,13,18}. O FO apresenta um tecido conjuntivo fibroso de graus variados de celularidade, contendo material calcificado em forma de trabéculas de osteoide e osso ou calcificações ovoides basofílicas que lembram osso. A maioria das lesões não se apresentam encapsuladas, porém são compactas e bem distinguidas do osso normal^{5,12}. É diferenciado do cementoblastoma benigno pela elaboração e tipo do material do cimento⁵.

Ferraz e Nogueira⁶ avaliaram histologicamente duas LFOB, especificamente a DF e o FO. Neste estudo foi utilizado três técnicas histoquímicas específicas para tecidos calcificados (von Kossa, a de Gallego e a de Purpurina). Das três técnicas histoquímicas utilizadas, apenas a técnica de von Kossa mostrou resultados de interesse que auxiliaram na diferenciação histológica das lesões em estudo. Na DF, as trabéculas ósseas foram coradas em negro em razão da precipitação da prata e apresentavam limites irregulares. Observou-se um aspecto granuloso especialmente nas áreas periféricas das trabéculas. As áreas correspondentes ao osteoide não apresentavam coloração enegrecida. Neste trabalho, a DF foi negativa em 3 dos 6 casos analisados. No entanto, é interessante perceber que somente nos casos de osso imaturo é que se observou um início de positividade, enquanto que, no osso maduro, o resultado foi sempre negativo. Nos casos de DCO, observou-se que 3 dos 4 casos mostraram-se negativos, sendo que aqui não se observou nenhuma associação com a maturação óssea e/ou cementária, como ocorreu nos casos de DF.

No FO, Ferraz e Nogueira⁶ observaram que as trabéculas ou massas de tecidos ósseos, os focos de calcificações distróficas e as massas de cimento

apresentavam-se corados em róseo, com delimitação regular. No interior das trabéculas, foram observados osteoclastos vazios. Na parte mais central de algumas trabéculas, observou-se um aspecto granuloso. As áreas de osteoide na periferia das trabéculas apresentavam-se coradas em róseo, porém em tom mais claro que o observado nas regiões mais centrais dessas trabéculas. Em nosso estudo, apenas 01 caso dos 14 casos de FO analisados mostrou-se positivo, sendo que neste caso a negatividade pode ter ocorrido devido à associação com cisto ósseo aneurismático.

Por fim, é possível perceber que, quando há a participação do epitélio ectomesenquimal odontogênico, a reação à técnica de von Kossa mostrou-se positiva. Nos demais casos, é provável que haja a formação a partir da diferenciação mesenquimal. Este resultado sugere que a DF provavelmente não tenha origem ectomesenquimal, como sugere a última classificação OMS⁷ e, sim, mesenquimal.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados, sugere-se que a coloração de von Kossa pode ser útil na diferenciação das LFOB, quando da ausência dos parâmetros clínicos e radiográficos.

REFERÊNCIAS

1. Alves AL, Canavarros F, Vilela DSA, Granato L, Próspero JD. Displasia Fibrosa: relato de três casos. *Rev bras otorrinolaringol.* 2002; 68(2):288-92.
2. Bastos EP, Torres, SR, Louro RS, Cardoso AS. Displasia fibrosa dos maxilares: revisão da literatura e relato de dois casos. *Rev bras odontol.* 2001; 58(2):99-110.
3. Carvalhais JN, Barreto DC, Castro WH, Santiago Gomez R. Diagnóstico das lesões fibro-ósseas benignas da maxila e da mandíbula. *Revista do CROMG.* 1997 Jul/Dez; 3(2):91-6.

4. Coleman H, Altini M, Kieser J, Nissenbaum M. Familial florid cemento-osseous dysplasia: a case report and review of literature. *J Dent Assoc S Afr*. 1996 Dec; 51(12):766-70.
5. El-Mofty SK. Cemento-ossifying fibroma and benign cementoblastoma. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 1999 Nov; 16(4):302-07.
6. Ferraz TM, Nogueira TO. Histoquímica dos tecidos mineralizados nas lesões de displasia fibrosa e fibroma cemento-ossificante periférico. *Rev Odontol UNESP*. 1998;27(1):87-98.
7. Fletcher CDM, Unni Kk, Mertens F. Pathology & genetics Tumours of soft tissue and bone. The Who Classifications tumours of soft tissue and bone. Lyon-France; 2002.
8. Grandi G, Maito FDM, Rados PV, Sant'Ana Filho M. Estudo epidemiológico das lesões ósseas diagnosticadas no Serviço de Patologia Bucal da PUCRS. *Rev Cir Traumatol Buco-maxilo-fac*. 2005;5(2):67-74.
9. Marzola C, Lobo SE, Consolaro A, Toledo Filho JL, Pastori CM, Zorzetto DLG. Displasia fibrosa dos maxilares: apresentação de dois casos clínicos. *Rev Assoc Paul Cir Dent*. 1996; 50(6):485-488.
10. Miura TL et al. Displasia cementária periapical: caso clínico. 1999. Disponível em: www.aboms.org.Br/displasia.htm.
11. Mizuno M, Kuboki Y. Osteoblast-Related Gene Expression of Bone Marrow Cells during the Osteoblastic Differentiation Induced by Type 1 Collagen. *J Biochem*. 2001 Jan;129(1):133-8.
12. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Patologia Oral & Maxilofacial*. 2 ed. Philadelphia: Saunders; 2004.
13. Pistóia GD, Pistóia AD, Martins Neto M, Oliveira CF. Displasia cemento-óssea florida: revisão de literatura. *Revista Dentística on line*. 2001; 2(5). Disponível em: <http://www.ufsm.br/dentisticaonline/>.
14. Pistóia AD, Figueiredo MAZ. Lesões pseudotumorais de maior prevalência na infância. *Rev Odonto Ciência*. 2000;15(29):125-36.
15. Rados PV. Discriminação histológica entre displasia fibrosa monostótica, fibroma ossificante e fibroma cementificante. *Rev Fac Odontol Porto Alegre*. 1987; (28/29):48-59.
16. Reis SRA, Marchionni AMT, Andrade MGS, Lyra GCA, Matos JLF. Displasia fibrosa da mandíbula: relato de um caso. *Rev Fac Odontol Univ Fed Bahia*. 1997;16-17(17):79-82.
17. Sobral APV, Almeida RAC, Mantesso A, Souza RS, Araújo NS. Levantamento epidemiológico de lesões fibro-ósseas benignas diagnosticadas no período entre os anos de 1971 a 1997 no Laboratório de Patologia Bucal da FOUASP. *Revista Brasileira de Patologia Oral*. 2003;2:18-23.
18. Studart-Soares EC, Scortegagna A, Azoubel E, Pezzi LPG, Sant'ana Filho M. Lesões fibro-ósseas: displasia cemento óssea periapical x displasia cemento-óssea florida. *Rev Fac Odontol Porto Alegre*. 1998;39(2):26-30.
19. Sunderland EP, Smith CJ, Sunderland R. A histological study of the chronology of initial mineralization in the human deciduous dentition. *Arch Oral Biol*. 1987;32(3):167-74.
20. Tuji FM, Ferreira AC, Almeida SM, Manzi F R. Fibroma cemento-ossificante: Relato de um caso clínico. *Rev Odonto Ciência*. 2002;17(38):327-30.

21. Vivone W, Costa C, Boraks S, Panella J. Displasia fibrosa monostótica. Rev Inst Cienc Saúde, Odontol, Farm, Bioquim Vet. 1994;12(1):35-7.

22. Waldron CA. Fibrous-osseous lesions of the jaws. J Oral Maxillofac Surg. 1993;51(8): 828-35.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Ana Paula Veras Sobral

Rua Monte Alverne, 107/05, Hipódromo

Recife/PE – Brasil

CEP 52041-610

e-mail: anapvsobral@yahoo.com.br; anapvsobral@hotmail.com