

# FIBROMA DE CÉLULAS GIGANTES: ESTUDO HISTOQUÍMICO DA MATRIZ EXTRACELULAR E ANÁLISE COMPARATIVA COM HIPERPLASIA FIBROSA INFLAMATÓRIA UTILIZANDO OS MÉTODOS HORTEGA, TRICRÔMICO DE AZAN, VERMELHO CONGO e WEIGERT VAN GIESON

Flávia Rodrigues Curi Frascareli

Graduada em Odontologia no Centro Universitário de Maringá - CESUMAR; Ex-bolsista de Iniciação Científica pelo programa PROBIC-CESUMAR. E-mail: fla\_frascareli@hotmail.com

Juliana Fernandes Bianchi

Graduada em Odontologia no Centro Universitário de Maringá - CESUMAR; Ex-bolsista de Iniciação Científica pelo programa PROBIC-CESUMAR. E-mail: juferbi@hotmail.com

Lucieni Cristina Marques da Silva Pereira

Técnica do Laboratório de Patologia Bucal do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR. E-mail: lucinga@yahoo.com.br

Tércio Leonel Monteiro

Técnico do Laboratório de Patologia Bucal do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR. E-mail: tleomonteiro@yahoo.com.br

Vanessa Cristina Veltrini

Docente Dra. do Curso de Odontologia do Centro Universitário de Maringá-CESUMAR; Responsável pelo Laboratório de Patologia Bucal do Centro Universitário de Maringá - CESUMAR. E-mail: vanessa.veltrini@cesumar.br

**RESUMO:** O fibroma de células gigantes é uma lesão bucal de aspecto clínico inespecífico, quadro microscópico peculiar, etiologia obscura e frequência possivelmente subestimada. Sua matriz extracelular não se assemelha àquela vista em lesões fibrosas, de natureza traumática, o que dificulta até mesmo sua classificação. O objetivo deste estudo foi analisar por meio de técnicas histoquímicas a matriz extracelular conjuntiva de 22 lesões selecionadas à partir do arquivo do Laboratório de Histopatologia do CESUMAR (Disciplina de Patologia Bucal - Curso de Odontologia), sendo 11 Fibromas de Células Gigantes e 11 Hiperplasias Fibrosas Inflamatórias. Os métodos de coloração empregados - HORTEGA, TRICRÔMICO DE AZAN, VERMELHO CONGO e WEIGERT VAN GIESON - têm a finalidade de evidenciar fibras reticulares, fibras colágenas, material amilóide e fibras elásticas, respectivamente. A análise das lâminas demonstrou que a presença e a distribuição desses constituintes são as mesmas nas duas lesões estudadas, embora as fibras elásticas tenham sido mais abundantes no Fibroma de Células Gigantes (talvez pela ausência de mediadores químicos da inflamação), corroborando para a hipótese de que os fibroblastos gigantes multinucleados, embora diferentes do ponto de vista morfológico, preservam as características funcionais dos fibroblastos mononucleares vistos na Hiperplasia Fibrosa Inflamatória.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fibroma; Histoquímica; Lesões Bucais.

## GIANT CELLS FIBROMA: IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF EXTRACELLULAR MATRIX AND COMPARATIVE ANALYSIS WITH INFLAMMATORY FIBROUS HYPERPLASIA USING HORTEGA, AZAN TRICHROME, CONGO RED AND WEIGERT VAN GIESON METHODS

**ABSTRACT:** The Giant Cells Fibroma is an oral lesion of unspecific clinical aspect, peculiar microscopic picture, obscure etiology and, possibly, underestimated frequency. Its extracellular matrix does not resemble those seen in other fibrous lesions, of traumatic nature, what makes its classification even more difficult. The aim of this study is to evaluate, through histochemical techniques, the extracellular matrix of 22 lesions selected at the Oral Pathology Laboratory of CESUMAR (University Center of Maringá, Paraná - Brazil), being 11 Giant Cells Fibromas and 11 Inflammatory Fibrous Hyperplasias. The methods that were used - HORTEGA, AZAN TRICHROME, CONGO RED and WEIGERT VAN GIESON - have the purpose of evidencing reticular fibers, collagenous fibers, amyloid material and elastic fibers, respective-

ly. The analysis of tissue slices demonstrated that presence and distribution of these components are the same in both lesions, but elastic fibers are more abundant in Giant Cells Fibroma (maybe because it lacks inflammatory mediators), corroborating for the hypothesis that the giant multinucleated fibroblasts, although different in their morphologic aspect, preserve the functional properties of mononuclear ones, seen in Inflammatory Fibrous Hyperplasias.

**KEYWORDS:** Fibroma; Histochemistry; Oral Lesions.

## INTRODUÇÃO

O fibroma de células gigantes é uma lesão bucal assintomática, de aspecto clínico inespecífico, quadro microscópico peculiar, etiologia obscura e frequência possivelmente subestimada. Acomete, preferencialmente, pacientes jovens. Microscopicamente, exibe células gigantes, de formato estrelado, frequentemente bi ou até multinucleadas. Não se sabe ao certo a origem dessas células, mas suas características fenotípicas e imuno-histoquímicas apontam para a linhagem fibroblástica (CAMPOS; GOMEZ, 1999; ODELL; LOCK; LOMBARDI, 1994). Entretanto, a matriz extracelular produzida difere, morfológicamente, daquela vista em lesões fibrosas, de natureza traumático-inflamatória, o que impede correlações esclarecedoras quanto à etiologia.

As publicações existentes na literatura, embora tenham feito progressos nas investigações imuno-histoquímicas quanto à origem das células gigantes, ainda falham e se contradizem quando tentam relacionar seus produtos de secreção com os prováveis estímulos etiológicos. Campos e Gomez (1999) relatou que essas células gigantes (mono ou multinucleadas) que caracterizam o Fibroma de Células Gigantes poderiam ser originárias de linhagem macrofágica (talvez células de Langerhans) ou linfocítica, mas essas possibilidades foram descartadas pela negatividade imuno-histoquímica para CD68 e LCA, respectivamente. De acordo com Bakos (1992), a hipótese de derivarem de melanócitos também foi cogitada, mas não há positividade para a proteína S-100 que a sustente.

A metodologia desse trabalho utiliza técnicas histoquímicas bastante acessíveis, de baixo custo, fácil execução e boa aplicabilidade em estudos da matriz extracelular. A presença, proporção e distribuição de alguns constituintes poderiam contribuir de forma significativa para uma maior compreensão da etiologia do fibroma de células gigantes, permitindo sua classificação como entidade clínica distinta ou enquadrando-a no grande grupo ao qual pertencem as chamadas lesões reacionais.

## 2 OBJETIVOS

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é analisar, comparativamente, a matriz extracelular de fibromas de células gigantes e hiperplasias fibrosas inflamatórias por meio das técnicas histoquímicas Tricrômico de Azan, Vermelho Congo, Hortega e Weigert Van Gieson.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

Vinte e dois casos foram obtidos a partir do arquivo do Laboratório de Histopatologia do Cesumar (Disciplina de Patologia Bucal - Curso de Odontologia), sendo 11 Fibromas de Células Gigantes e 11 Hiperplasias Fibrosas Inflamatórias. Os blocos de parafina (provenientes de biópsias realizadas nas clínicas de graduação, principalmente do Projeto de Extensão intitulado "Diagnóstico e tratamento de lesões bucais: atuação interdisciplinar") foram selecionados conforme a quantidade de material e então submetidos a secções teciduais de 5mm.

Para a coloração através dos métodos Vermelho Congo, Hortega e Weigert Van Gieson, utilizou-se o protocolo baseado na apostila de histoquímica da Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Patologia.

Para a coloração através do método de Tricrômico de Azan, utilizou-se o protocolo baseado no Roteiro de Histotecnologia, referente ao Curso Nacional Brasília, 1979 (VOLNEI; SIQUEIRA, 1979, p. 71-73), onde preconizam-se desparafinização e hidratação dos cortes e, em seguida, a coloração com solução de Azocarmim (0,25 g de Azocarmim, 100 ml de água destilada e 1 ml de ácido acético glacial) em uma cuba, por 20 minutos. Os cortes foram lavados por duas vezes em água destilada, passados em álcool 70, novamente em água e colocados na solução mordente (5 gramas de ácido fosfotúngstico e 100 ml de água destilada), em temperatura ambiente, por 15 minutos. Depois, foi feita a coloração com solução de azul de anilina por 5 minutos, lavagem em água corrente e desidratação em álcool 80%, 90% e 100%, clarificação e montagem, usando Xilol e Permout. Esta coloração apresentou como estruturas-alvo: o colágeno, com marcação em azul; as hemácias, com marcação vermelha; e os músculos, corados em vinho. Para o controle negativo interno foi utilizado o epitélio.

No método de coloração Vermelho Congo, os cortes foram desparafinizados e hidratados até água destilada, imersos em Vermelho Congo (1 g de vermelho congo e 100 ml de água destilada), carbonato de lítio a 1,5% (1,5 g de carbonato de lítio e 100 ml de água destilada), água corrente, Hematoxilina de Harris e, depois, em água destilada para lavar. Em seguida, foram passados rapidamente em álcool-ácido (1 ml de HCl concentrado e 99 ml de álcool 95%), água corrente, amônia diluída (1 ml de hidróxido de amônia 28° e 100 ml de água destilada) e, novamente, em água corrente. Por último, foram realizadas desidratação, clarificação e montagem. Para os controles internos desta coloração (positivo e negativo, respectivamente), foram utilizados músculo e epitélio, sendo o material amilóide a substância-alvo.

Para a coloração pelo método de Hortega, as lâminas

foram previamente tratadas com uma solução de 1:1 de albumina e glicerina e secas. Em seguida, os cortes foram desparafinizados; hidratados até água destilada; tratados com permanganato de potássio 0,2% durante 3 minutos; água destilada por 3 minutos; ácido oxálico 5% durante 3 minutos; prata a 10% com carbono de lítio 1,3% (1:1) – aquecida a 37°C durante 45 minutos no escuro; água destilada durante 5 minutos; formalina 30% por 2 minutos; água destilada por 3 minutos; cloreto de ouro 1% até o corte ficar cinza metálico; água destilada por 3 minutos; hipossulfito de sódio (tiosulfato de sódio a 5%) durante 3 minutos; lavados em água destilada; desidratados; diafanizados (álcool 90%, álcool 100% I, álcool 100% II) e montados (xilol I e xilol II).

O preparo do corante de Weigert Van Gieson foi feito misturando-se, em uma cápsula de porcelana, 2 gramas de fucsina básica, 4 gramas de resorcina e 200 ml de água destilada. A mistura foi aquecida até ebulir (permanecendo ebulindo por 1 minuto) e, em seguida, adicionou-se 25 ml de cloreto férrico a 29%. Após esfriar, filtrar e desprezar o líquido, o precipitado foi salvo e seco em estufa a 30 °C. Na cápsula de porcelana, adicionou-se 200 ml álcool 95% ao precipitado e aqueceu-se até que ele fosse dissolvido. Em seguida, após esfriar, 4 ml de ácido clorídrico 100% foram adicionados, juntamente com álcool 95%, perfazendo o volume final de 200ml. O preparo do corante de Weigert Van Gieson foi feito colocando-se 5 ml de fucsina ácida 1% (solução aquosa) em 100 ml de ácido pícrico saturado.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O termo “Fibroma de Células Gigantes” foi criado em 1974 por Weathers e Callihan para designar um grupo de lesões fibrosas benignas que haviam sido diagnosticadas anteriormente como variantes do fibroma de irritação ou do papiloma (BAKOS, L. H, 1992). Devido à semelhança de terminologia, é preciso cuidado para não confundir o Fibroma de Células Gigantes com o Granuloma de Células Gigantes, periférico ou central, com o qual não tem nenhuma relação. Trata-se de uma lesão pequena (em geral, tem menos de 1 cm de diâmetro), elevada, pediculada, papilar e assintomática, podendo estar presente há vários anos.

Magnusson e Rasmusson (1995) afirmam que o Fibroma de Células Gigantes é observado em pacientes jovens, sendo mais frequente nas três primeiras décadas de vida. Houston (1982) relata que os Fibromas de Células Gigantes apresentam um pico de ocorrência na segunda década de vida. Os resultados do nosso estudo, contudo, apontam para uma maior frequência na quarta década de vida.

No estudo de 464 casos de Houston (1982), quase 60% dos pacientes estavam abaixo da 3ª década de vida, enquanto no levantamento de 108 casos de Weathers e Callihan (1974), a prevalência foi maior na segunda e terceira décadas de vida, sendo 60% nesta última.

Neville e colaboradores apontam para uma frequência levemente superior no sexo feminino. Nosso estudo mostra uma maior prevalência da lesão em pessoas do gênero feminino (80% dos casos). No estudo de Weathers e Callihan ver-

ificou-se uma relação de 3:1 do sexo feminino em relação ao masculino, com predileção por indivíduos caucasianos.

De acordo com Regezi e colaboradores (1992), células gigantes multinucleadas, com morfologia similar às observadas no Fibroma de Células Gigantes, são encontradas na mucosa normal e na derme, bem como em outros processos patológicos, como na Hiperplasia Fibrosa Inflamatória e no Pólipo Fibroepitelial.

A marcação positiva para Hortega se manifesta na forma de grânulos enegrecidos e está presente em estruturas ricas em fibras reticulares, como células dendríticas e paredes de vasos mais calibrosos, já que músculos lisos e nervos são positivos. A marcação é negativa em hemácias e tecido glandular (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004).

As fibras reticulares são formadas, predominantemente, por colágeno tipo III e grande quantidade de glicídios (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). O método de Hortega, no entanto, não serve para identificação específica do colágeno tipo III. Para esse fim, as técnicas imuno-histoquímicas estão mais indicadas.

Dos 11 casos de Hiperplasia Fibrosa Inflamatória corados pela técnica de Hortega, nenhum apresentou marcação positiva para fibras reticulares no tecido conjuntivo subjacente ao epitélio. Os 11 casos de Fibroma de Células Gigantes também não exibiram impregnação pela prata, exceto nas células dendríticas na camada basal do epitélio.

Nos feixes de fibras colágenas de cinco casos de Fibromas de Células Gigantes corados por Tricrômico de Azan, foram observados, com nitidez, nuances em tom bordô, sugerindo (ainda que com pouca sustentação, dada a baixa especificidade da técnica) uma diferenciação miofibroblástica. Essa constatação, entretanto, se repetiu em oito casos de Hiperplasia Fibrosa Inflamatória.

O fato é que não houve diferença no grau de impregnação pelo Tricrômico de Azan entre Fibromas de células gigantes e Hiperplasias fibrosas inflamatórias. Isso mostra que o colágeno produzido pelos fibroblastos multinucleados tem, aparentemente, as mesmas características e propriedades bioquímicas daquele sintetizado por fibroblastos mononucleares comuns. Os fibroblastos do Fibroma de células gigantes, portanto, parecem preservar a capacidade funcional.

Verificou-se também, por meio da análise das lâminas coradas, que na Hiperplasia Fibrosa Inflamatória as fibras colágenas estão dispostas de forma mais organizada, formando feixes mais longos e regulares do que os vistos no Fibroma de Células Gigantes, em geral curtos e entrecortados. Essa diferença (mais morfológica do que histoquímica) pode ser inerente às lesões ou decorrente do tempo de evolução, mais longo para as hiperplasias.

Como argüi Odell, Lock e Lombardi (1994), estudos mais recentes imuno-histoquímicos e de microscopia eletrônica têm mostrado que essas células gigantes poderiam advir da fusão de células mononucleares, provavelmente fibroblastos, com capacidade preservada de sintetizar colágeno e outras proteínas. Se essa fusão fibroblástica resulta de alteração funcional ou degenerativa, ainda não se sabe.

A positividade para Vermelho Congo denunciaria a presença de material amilóide, o que seria sugestivo da partici-

pação de alterações degenerativas precedendo ou sucedendo a fusão fibroblástica. Como essa positividade não ficou evidente nos cortes microscópicos analisados (em nenhuma das lesões), parece lógico inferir que esses fibroblastos gigantes também não estão degenerados.

A coloração em tom vinho do método Weigert Van Gieson tem como estrutura-alvo as fibras elásticas, que se ligam umas às outras formando uma malha e exibem como componente principal a elastina, uma proteína estrutural mais resistente, porém mais fina que o colágeno. As fibras elásticas estão presentes nas cartilagens dos ligamentos da coluna vertebral e na camada adventícia de vasos sanguíneos, especialmente artérias e arteríolas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). O controle negativo é representado por tecido muscular esquelético, hemácias, epitélio e capilares.

Dos onze casos de Fibroma de Células Gigantes corados pela técnica de Weigert Van Gieson, nove (81,8%) exibiram forte marcação positiva no tecido conjuntivo subjacente ao epitélio. Por outro lado, menos da metade, ou seja, apenas cinco casos (45,5%) dos 11 de Hiperplasia Fibrosa Inflamatória mostraram fibras elásticas nessa mesma região.

A quantidade de fibras elásticas parece ser menor na Hiperplasia Fibrosa Inflamatória, comparada ao Fibroma de Células Gigantes, possivelmente por conta da capacidade proteolítica dos mediadores químicos inflamatórios que, fragmentando e/ou digerindo as fibras, impediriam a impregnação do corante, justificativa também cogitada por Miguel, Robinson e Hume (1997).

Nos cortes que apresentaram vasos de grande diâmetro, observamos que as fibras elásticas apareciam bastante evidentes, não só nas paredes vasculares como também no tecido conjuntivo entre os vasos, talvez por este sofrer compressão hemodinâmica, o que estimularia a produção de fibras elásticas pelos fibroblastos estromais.

Miguel, Robinson e Hume (1997) demonstraram, através de métodos histoquímicos (Hematoxilina de Verhoeff) para marcação de fibras elásticas e imuno-histoquímicos (Peroxidase Indireta) para marcação da elastina, ausência de fibras elásticas na matriz extracelular dos Fibromas de Células Gigantes, em contraste com sua abundância em Pólipos Fibro-epiteliais e Hiperplasias Fibrosas. Diferenças marcantes na metodologia poderiam justificar a divergência entre os resultados do trabalho citado e os encontrados em nosso estudo.

## CONCLUSÃO

A análise das lâminas demonstrou que a presença e a distribuição desses constituintes são as mesmas nas duas lesões estudadas, embora as fibras elásticas tenham sido mais abundantes no Fibroma de células gigantes (talvez pela ausência de mediadores químicos da inflamação), corroborando para a hipótese de que os fibroblastos gigantes multinucleados, embora diferentes do ponto de vista morfológico, preservam as características funcionais dos fibroblastos mononucleares vistos na Hiperplasia Fibrosa Inflamatória. A análise das lâminas também demonstrou que a fusão de fibroblastos, responsável pela formação das células gigantes que caracterizam o Fibro-

ma de Células Gigantes, não parece resultar de degeneração, dada a negatividade para Vermelho Congo, nem de alteração funcional, já que não houve diferença na positividade para Tricrômico de Azan, na comparação com a Hiperplasia Fibrosa Inflamatória.

## REFERÊNCIAS

BAKOS, L. H. The Giant Cell Fibroma: a review of 116 cases. *Ann Dent*, Virginia, v. 51, n. 1, p. 32-35, 1992.

CAMPOS, É.; GOMEZ, R. S. Immunocytochemical Study of Giant Cell Fibroma. *Braz Dent J*, Belo Horizonte, v. 10, n. 2, p. 89-92, 1999.

HOUSTON, G. D. The giant cell fibroma. A review of 464 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 53, n. 6, p. 582-7, jun.1982

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 10. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2004.

MAGNUSSON, B. C.; RASMUSSEN, L. G. The Giant Cell Fibroma: a review of 103 cases with immunohistochemical findings. *Acta Odontol Scand*, Göteborg, v. 53, n. 5, p. 293-296, oct. 1995.

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

NEVILLE, B. W. et al. Tumores dos tecidos moles. In: NEVILLE, B. W. et al. *Patologia Oral e Maxilofacial*. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 1998. p. 353-404.

ODELL, E. W.; LOCK, C.; LOMBARDI, T. L. Phenotypic characterization of stellate and giant cells in giant cell fibroma by immunocytochemistry. *Journal Oral Pathology e Medicine*, Munksgaard, v. 23, n. 6, p. 284-287, jul.1994.

REGEZI, J. A.; NICKOLOFF, B. J.; HEADINGTON, J. T. Oral submucosal dendrocytes: factor FXIIIa+ and CD34+ dendritic cell populations in normal tissue and fibrovascular lesions. *J Cutan Pathol*, v. 19, p. 398-496, 1992.

VOLNEI, W. G.; SIQUEIRA, W. C. *Roteiro de Histotecnologia*. Curso Nacional Brasília. Brasília, DF: [S. n.], 1979.

WEATHERS, D. R.; CALLIHAN, M. D. Giant-cell fibroma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, v. 37, n. 3, p. 374-84, mar. 1974.

Recebido em: 9/02/2009

Aceito em: 31/03/2009