

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

MESTRADO PROFISSIONAL

REGINA FURBINO VILLEGAS ROCHA

**ANÁLISES EPIDEMIOLÓGICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNO-
HISTOQUÍMICA DE AMELOBLASTOMAS: CASUÍSTICA DE SEIS
ANOS**

VITÓRIA

2012

REGINA FURBINO VILLEFORT ROCHA

**ANÁLISES EPIDEMIOLÓGICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA
DE AMELOBLASTOMAS: CASUÍSTICA DE SEIS ANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof^a Dr^a Karla Loureiro Almeida Coburn.

Coorientadora: Prof^a Dr^a Liliana Aparecida Pimenta de Barros

VITÓRIA

2012

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

R672a Rocha, Regina Furbino Villefort, 1966-
Análises epidemiológica, histopatológica e imuno-
histoquímica de ameloblastomas : casuística de seis anos /
Regina Furbino Villefort Rocha. – 2012.
136 f. : il.

Orientadora: Karla Loureiro Almeida Coburn.
Coorientadora: Liliana Aparecida Pimenta de Barros.
Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) –
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da
Saúde.

1. Acompanhamento terapêutico. 2. Diagnóstico molecular. 3.
Histopatologia. 4. Imunohistoquímica. 5. Tumores odontogênicos.
6. Transdução de sinal celular. I. Coburn, Karla Loureiro Almeida.
II. Barros, Liliana Aparecida Pimenta de. III. Universidade Federal
do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. IV. Título.

CDU: 616.314

REGINA FURBINO VILLEFORT ROCHA

**ANÁLISES EPIDEMIOLÓGICA, HISTOPATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA
DE AMELOBLASTOMAS: CASUÍSTICA DE SEIS ANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Aprovada em 04 de julho de 2012.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profª Drª Karla Loureiro Almeida Coburn
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora

Profª Drª Liliana Aparecida Pimenta de Barros
Universidade Federal do Espírito Santo

Profª Drª Vanessa Moraes Freitas
Universidade de São Paulo

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Luiz e Maria Madalena, que me ensinaram a valorizar o que não tem preço: a ética, o caráter, a moral e o amor a Deus, à família e ao próximo.

Ao meu esposo Arley e aos meus filhos Henrique e Beatriz por todo amor, carinho, respeito, incentivo e suporte, sem os quais não seria possível vencer essa etapa.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, sábio conselheiro, amigo fiel sempre presente, consolador, profundo conhecedor do universo e também do meu pequeno ser: o triuno, soberano e maravilhoso Deus que me ama. A Ele toda gratidão e louvor por permitir e incentivar meu crescimento científico, e me conduzir à realização e conclusão desse curso.

À Prof^a Dr^a Selva Maria Gonçalves Guerra, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica, pelo incentivo ao conhecimento mais amplo sobre os meandros da educação, e pela oportunidade de abertura de novos horizontes.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Karla Loureiro Almeida Coburn, por me introduzir ao conhecimento mais profundo da biologia molecular e às técnicas imuno-histoquímicas, pela clareza ímpar e por proporcionar muitos momentos de crescimento e aprendizado na condução da pesquisa e na elaboração de projetos acadêmicos e pessoais.

À minha coorientadora, Prof^a Dr^a Liliana Aparecida Pimenta de Barros, pelo suporte e participação fundamental nas análises histopatológicas e nas preparações das produções científicas.

Às demais professoras de Patologia Oral e Estomatologia, Prof^a Dr^a Tânia Regina Grão-Velloso e Prof^a Dr^a Rosa Maria Lourenço Carlos Maia, pelas revisões e contribuições científicas e pela gentileza com que fui sempre tratada. Também à funcionária Doralice Corrêa que nos recessos permitia, de bom grado, meu acesso ao Ambulatório 4.

À Prof^a Dr^a Leticia Nogueira da Gama de Souza por sua vivacidade, disposição, participação ativa e presença constante durante todas as etapas da fase experimental, nas discussões sobre método e nas produções científicas. Também pelos conhecimentos agregados sobre microtomia, microscopia, imuno-histoquímica e edição de imagens.

Ao chefe do Departamento de Morfologia Prof Dr Breno de Oliveira Valentim, e aos associados ao departamento Prof Dr Marco Cesar Cunegundes Guimarães, Prof Dr

Emílio de Castro Miguel, aos técnicos Christine Facco Saturnino, Jairo Pinto Oliveira, Sueli Brozeguini, Lucienne Bessoni Oliveira e Viviane Coutinho Meneguzze por todas as contribuições na realização dos protocolos experimentais.

À Profª Drª Vanessa Morais Freitas, da Universidade de São Paulo pela dedicação e parceria imprescindíveis para realização do projeto. Por partilhar conosco sua experiência e dispor de seu precioso tempo para ajudar-nos na condução da pesquisa

À graduanda Mariana Kuniashy da Universidade de São Paulo pela participação na primeira etapa da imuno-histoquímica.

À graduanda Karoline Simões Costa da Universidade Federal do Espírito Santo pela participação na análise histopatológica.

Às professoras de cirurgia bucomaxilofacial Profª Drª Daniela Nascimento Silva e Profª Drª Rossiene Motta Bertollo, pelo acesso aos prontuários clínicos, e por me ajudarem a manter o foco. Agradecimento especial à Profª Drª Daniela Nascimento Silva pela preciosa contribuição durante a qualificação.

Ao Prof Dr Edson Theodoro dos Santos Neto pela participação fundamental na produção dos instrumentos de coleta de dados e delineamento da pesquisa

À Profª Drª Maria José Gomes por apontar caminhos para a produção científica.

Ao secretário do mestrado Igor da Silva Eler e ao funcionário Clebson Rodrigues pela atenção e disposição em atender-nos não apenas quando solicitados, mas também voluntariamente.

Às minhas colegas do mestrado, por tudo o que compartilharam comigo, enriquecendo-me profissional e pessoalmente. Agradecimento especial à Ana Paula Martins Gomes Guidoni, Flávia de Fátima Zanon de Oliveira, Priscila Viola Borgo, Rosângela Simonelli Gavi e Suzy Carmelita Pereira do Nascimento, pela co-autoria em trabalhos apresentados em eventos científicos.

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

Ao Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins (LUCCAR) da Universidade Federal do Espírito Santo pela disponibilidade de equipamentos e estrutura física, essenciais na fase experimental.

Ao Laboratório de Biologia da Matriz Extracelular do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pela cooperação na realização da imuno-histoquímica.

Ao Serviço de Anatomia Patológica do Departamento de Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo pelo acesso aos dados e prontuários dos pacientes atendidos pelo serviço.

À disciplina de Cirurgia Bucomaxilofacial II do Departamento de Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo pelo acesso aos dados dos pacientes atendidos na clínica.

Aos ex-professores Prof Dr Ricardo Gottardi, Prof Dr Robson Rezende e Prof^a Dr^a Ivete Becalli pelo acesso aos prontuários dos pacientes operados em suas clínicas particulares.

Ao Laboratório de Neuromorfologia da Universidade Federal do Espírito Santo pela disponibilidade de materiais.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio e fomento ao projeto de pesquisa.

“A mente que se abre a uma nova idéia
jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

RESUMO

Ameloblastomas são tumores odontogênicos (TOs) de origem epitelial e etiologia desconhecida. Porém, estudos recentes identificaram alterações moleculares associadas ao desenvolvimento e progressão dos TOs, dentre elas as moléculas de adesão celular E-caderina e beta catenina. **Objetivos:** realizar um levantamento epidemiológico dos casos de ameloblastomas pertencentes ao arquivo do Serviço de Anatomia Patológica da Universidade Federal do Espírito Santo (SAPB-UFES), analisar suas características histopatológicas e a expressão de beta catenina nas diferentes variantes de ameloblastomas. **Método:** estudo retrospectivo dos casos de ameloblastomas registrados no SAPB-UFES, no período compreendido entre março de 2004 e dezembro de 2010. Foram coletados dados sociodemográficos, clinicorradiográficos, dados sobre acesso, diagnóstico, tratamento e seguimento desses pacientes. As análises histopatológicas foram baseadas nos critérios de Vickers e Gorlin, Waldron e El-Mofty e da Organização Mundial da Saúde. Para análise imuno-histoquímica foi utilizada a técnica indireta de imuno-peroxidase, com anticorpo primário anti beta catenina monoclonal de camundongo. Foram avaliados a intensidade e a localização da marcação. Para análise semiquantitativa foram adotados os escores: negativo, positividade focal, positividade variável e uniformidade positiva. **Resultados:** foram encontrados 13 ameloblastomas, classificados histopatologicamente como sólidos (06), unicísticos (03) e desmoplásicos (03). Todos foram imunomarcados. A intensidade de marcação variou de fraca a forte (1 a 3). A média de marcação variou de 10,82% a 13,38% no núcleo; de 39,93% a 47,61% na membrana; e de 90,01% a 98,53% no citoplasma. Entretanto não foi encontrada diferença significativa de expressão de beta catenina entre os três diferentes tipos de ameloblastomas. **Conclusão:** os resultados epidemiológicos foram semelhantes a outros estudos. A expressão citoplasmática de beta catenina evidencia o acúmulo da mesma no citoplasma e sugere alteração na via de sinalização de Wnt. Por outro lado, a redução da expressão na membrana sugere alteração na adesão celular.

Palavras-chave: Ameloblastoma, Continuidade de Assistência ao Paciente, Perda de Seguimento, Histologia, Organização Mundial da Saúde, Beta catenina, Imuno-histoquímica.

ABSTRACT

Ameloblastomas are odontogenic tumors (OTs) derived from epithelium which etiology remains unknown. However, recent studies have identified molecular changes associated with the development and progression of OTs, including cell adhesion molecules like E-cadherin and beta-catenin. **Objectives:** to conduct an epidemiological investigation of ameloblastomas cases from files of the Anatomical Pathology Service at Federal University of Espírito Santo (SAPB-UFES), analyze their histopathological features and the expression of beta-catenin in different variants of ameloblastomas. **Methods:** a retrospective study of ameloblastomas registered at SAPB-UFES between March 2004 and December 2010. Sociodemographic, clinical and imaginological data were collected, as well as data about access, diagnosis, treatment and follow up of these patients. The histopathological analyzes were based on Vickers and Gorlin, Waldron and El-Mofty and the World Health Organization criteria. Primary antibody anti beta-catenin mouse monoclonal and indirect immuno-peroxidase technique was employed for immunohistochemical analysis. Intensity and location of the immunostaining were analysed. For semiquantitative analysis the scores were: negative, focal, variable and uniformity positivity. **Results:** there were 13 ameloblastomas, histopathologically classified as solid (06), unicystic (03) and desmoplastic (03). All of them were immunostained. The intensity of immunostaining ranged from weak to strong (1-3). The mean of immunostaining ranged from 10.82% to 13.38% in the nucleus; from 39.93% to 47.61% in the membrane; and from 90.01% to 98.53% in the cytoplasm. However, there was no significant difference in expression of beta-catenin between three different types of ameloblastomas. **Conclusion:** The results were similar to other epidemiological studies. The cytoplasmic expression of beta-catenin shows accumulation in the cytoplasm and suggests changes in the Wnt signaling pathway. Moreover, the reduction of membrane expression suggests changes in cell adhesion.

Key words: Ameloblastoma; Continuity of Patient Care; Lost to Follow Up; Histology; World Health Organization; Beta-catenin; Immunohistochemical

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A-D: Ameloblastoma Desmoplásico

A-E/P: Ameloblastoma Extraósseo/Periférico

AFEC: Associação Feminina de Educação e Combate ao Câncer

AIH: Autorização de Internação Hospitalar

APC: Proteína da Polipose Adenomatosa do Colo

A-S/M: Ameloblastoma Sólido/Multicístico

A-U: Ameloblastoma Unicístico

β TRCP1: Beta-transducina repetição contendo proteína 1

β TRCP2: Beta-transducina repetição contendo proteína 2

Ca⁺: Cálcio

CACON: Centros de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia

CEO: Centro de Especialidades Odontológicas

CGSB: Coordenação Geral de Saúde Bucal

CKI: Caseína Quinase I

CNES: Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde

CONASS: Conselho Nacional de Secretários de Saúde

CRD: Domínio Rico em Cisteína

DAB: Diaminobenzidina

DAB-MS: Departamento de Atenção Básica-Ministério da Saúde

dkk-1: *Dickkopf-1*

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético

ESF: Estratégia de Saúde da Família

FZD: Receptores Frizzled

GSK3 β : Quinase glicogênio sintase 3 β

HE: hematoxilina/eosina

IACR: Agência Internacional de Pesquisa em Câncer

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

JA: Junção Aderente

LRP5/6: Lipoproteína de baixa densidade relacionada a proteína 5/6

μ m: Micrômetro

NASTS: Núcleo Especial de Desenvolvimento, Análise de Situação e Tendência em Saúde

OIDP: Impacto das condições de saúde bucal sobre a vida diária

OMS: Organização Mundial da Saúde

PTFE: Politetrafluoretileno

RMGV: Região Metropolitana da Grande Vitória

SAPB-UFES: Serviço de Anatomia Patológica da Universidade Federal do Espírito Santo

SB Brasil: Saúde Bucal Brasil

Ser/Thr: Serina/treonina

SESA: Secretaria de Estado da Saúde do Espírito Santo

sFRPs: proteínas secretadas semelhantes a Frizzled

SUS: Sistema Único de Saúde

TCF/LEF: Fator de Transcrição/ Fator Facilitador Linfóide

TOs: Tumores Odontogênicos

TOC: Tumor Odontogênico Ceratocístico

UFES: Universidade Federal do Espírito Santo

WHO: *World Health Organization*

Wnt: Proteínas Wnt

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Distribuição e tipos de CEO no Espírito Santo	32
Tabela 2 – Distribuição de casos de ameloblastomas por município de origem.....	37

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Critérios de Vickers e Gorlin	76
Tabela 2 – Casos de Ameloblastomas Sólidos/ muticísticos	80
Tabela 3 – Casos de Ameloblastomas Unicísticos	81
Tabela 4 – Casos de Ameloblastomas Desmoplásicos	82

CAPÍTULO 3

Tabela 1 – Resultados da Estatística Descritiva	122
Tabela 2 – Resultados do Teste de Kruskal Wallis	123

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 1

Gráfico 1 – Dados sobre residência e procedência dos pacientes	39
Gráfico 2 – Dados sobre faixa etária, gênero e raça dos pacientes	40
Gráfico 3 – Qualidade, natureza e localização do tumor.....	41
Gráfico 4 – Dados imagiológicos das lesões.....	43
Gráfico 5 – Dados sobre sinais e sintomas dos pacientes.....	44
Gráfico 6 – Dados sobre tratamento e recorrência	45
Gráfico 7 – Dados sobre seguimento e controle	47

CAPÍTULO 2

Gráfico 1 – Distribuição de casos por variante	78
Gráfico 2 – Distribuição de casos por subtipo histológico.....	79

CAPÍTULO 3

Gráfico 1 – Imunomarcção em A-S/M.....	114
Gráfico 2 – Imunomarcção em A-U.....	115
Gráfico 3 – Imunomarcção em A-D.....	116
Gráfico 4 – Média de marcação nos três tipos de ameloblastomas.....	118

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Figura 1 – Critérios de Vickers e Gorlin	64
Figura 2 – Variantes de ameloblastomas.....	69
Figura 3 – Exemplo de ameloblastoma com mais de um padrão histológico	70

CAPÍTULO 3

Figura 1 – Esquema da Via de Sinalização de Wnt.....	100
Figura 2 – Controles negativo e positivo.....	106
Figura 3 – Marcação dos pontos para fotografar campo.....	108
Figura 4 – Gradícula para contagem de células	109
Figura 5 – Perfil da marcação de beta catenina em A-S/M.....	111
Figura 6 – Perfil da marcação de beta catenina em A-D e A-U.....	112
Figura 7 - Exemplo de Marcação Nuclear.....	119
Figura 8 - Exemplo de Marcação Citoplasmática.....	120
Figura 9 – Exemplo de Marcação na Membrana	121

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	20
2 OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
2.2.1 Objetivos do capítulo 1	22
2.2.2 Objetivos do capítulo 2	23
2.2.3 Objetivos do capítulo 3	23
3 CAPÍTULO 1 – Diagnóstico e continuidade da assistência ao paciente com ameloblastoma: estudo retrospectivo de 6 anos	25
3.1 RESUMO	25
3.2 ABSTRACT.....	27
3.3 INTRODUÇÃO	28
3.4 MATERIAL E MÉTODO	34
3.5 RESULTADOS	35
3.6 DISCUSSÃO	48
3.7 CONCLUSÃO	50
3.8 REFERÊNCIAS	51
ANEXO A – Carta de Aprovação do Comitê de Ética.....	54
APÊNDICE 1 – Mapa das Microrregiões do Espírito Santo e municípios de origem dos pacientes	55
APÊNDICE 2 – Modelo da Ficha de Coleta de Dados	56
4 CAPÍTULO 2 – Análise de critérios histopatológicos na reclassificação de ameloblastomas: estudo retrospectivo	60
4.1 RESUMO	60
4.2 ABSTRACT	62
4.3 INTRODUÇÃO	63
4.4 MATERIAL E MÉTODO	72
4.5 RESULTADOS	74
4.6 DISCUSSÃO	83
4.7 CONCLUSÃO	85

4.8 REFERÊNCIAS	86
APÊNDICE A – Critérios diagnósticos.....	89
5 CAPÍTULO 3 – Expressão de beta-catenina em diferentes padrões histológicos de ameloblastomas: estudo imuno-histoquímico	93
5.1 RESUMO	93
5.2 ABSTRACT	95
5.3 INTRODUÇÃO	97
5.4 MATERIAL E MÉTODO	103
5.5 RESULTADOS	110
5.6 DISCUSSÃO	124
5.7 CONCLUSÃO	126
5.8 REFERÊNCIAS	127
APÊNDICE A– Ficha para Contagem de Células.....	130
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	132
7 CONCLUSÃO	134
8 ANEXOS	
8.1 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL.....	135

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os ameloblastomas são tumores odontogênicos (TOs) de origem epitelial, benignos, que representam um desafio diagnóstico por desenvolverem-se lenta e assintomaticamente (FREGNANI et al., 2010; ANGADI, 2010), e um desafio terapêutico, por apresentarem capacidade infiltrativa e alto índice de recidivas (PEREIRA et al., 2010; KUMAMOTO; OOYA, 2008; COSTA et al., 2008 LEDESMA-MONTES et al., 2007).

São tumores pouco frequentes e há poucos estudos epidemiológicos sobre a prevalência no Brasil (LAWALL, 2009), o que dificulta o estabelecimento de estratégias que estimulem o diagnóstico precoce. Para definição de estratégias em saúde é necessário compreender a situação regional, os aspectos sociodemográficos e os agravos que acometem a população (BRASIL, 2004). Portanto, cada Estado deve elaborar seu diagnóstico situacional, baseado em estudos epidemiológicos (SZPILMAN, 2011).

Os ameloblastomas também oferecem desafios quanto ao tratamento, pois requerem procedimentos de média complexidade para o diagnóstico, e de média e alta complexidade para remoção do tumor e reabilitação do indivíduo (BRASIL, 2007). Por conseguinte, os pacientes devem ser referenciados para os Centros de Odontologia Especializada (CEOs), que oferecem alguns dos procedimentos dessa natureza, como por exemplo biópsias, procedimentos de radiodiagnóstico e anatomopatologia, além de cirurgias ambulatoriais. Assim, torna-se necessário que os profissionais que atuam na atenção básica referenciem esses pacientes. Por sua vez, os profissionais dos CEOs devem encaminhar tais pacientes para internação hospitalar nos casos onde estejam indicadas ressecções cirúrgicas de maior complexidade (BRASIL, 2006).

O aprofundamento dos conhecimentos em biologia molecular e dos mecanismos de regulação gênica, bem como o avanço nas técnicas imuno-histoquímicas, possibilitaram grandes avanços diagnósticos e terapêuticos aplicáveis a diferentes tipos de tumores. Esses avanços permitiram um entendimento mais abrangente do comportamento tumoral, o que levou os patologistas da Organização Mundial da

Saúde a reformularem a classificação dos Tumores da Cabeça e do Pescoço, que foi publicada em 2005 (PHILIPSEN; REICHART, 2006). Essa edição contempla os TOs, e trouxe alterações na classificação dos ameloblastomas. Assim, segundo Gardner et al. (2005), o ameloblastoma passou a ter quatro variantes reconhecidas: *ameloblastomas sólidos/multicísticos (A-S/M)*; *ameloblastomas unicísticos (A-U)*; *ameloblastomas desmoplásicos (A-D)*; e *ameloblastomas extra-ósseos/periféricos (A-E/P)*. O correto diagnóstico histopatológico e a determinação do tipo de ameloblastoma é importante para definição da técnica cirúrgica a ser empregada (radical ou conservadora), e para o seguimento e prognóstico do paciente, pois o risco de recidiva varia de acordo com o tipo de ameloblastoma, sendo os sólidos considerados mais agressivos, com indicação de ressecção com margem de segurança (SILVA et al., 2004; ELIIS III, 2009).

A etiologia e a patogênese dos ameloblastomas permanece desconhecida, mas estudos recentes identificaram várias alterações moleculares possivelmente relacionadas a seu desenvolvimento e progressão (KUMAMOTO, 2006; RUHIN et al., 2009; GOMES et al., 2010), abrindo novas linhas de pesquisa na tentativa de se desenvolver terapias medicamentosas que possam reduzir o grau de complexidade das intervenções cirúrgicas (SAUK, 2010; KUMAMOTO, 2010).

Os estudos imuno-histoquímicos sobre os ameloblastomas estão voltados para identificação, principalmente, dos fatores relacionados ao comportamento invasivo, à possibilidade de recidivas e de malignização (RUHIN et al., 2009). Além disso, o desenvolvimento de marcadores tumorais poderá ser útil para definição de diagnóstico e prognóstico (MACDONALD; KEIKO; XI, 2009). Dentre as possíveis moléculas associadas à tumorigênese e diferenciação celular estão os reguladores do desenvolvimento embrionário, incluindo a via de sinalização de Wnt (*wingless-integrated*). Estuda-se também a correlação entre as moléculas envolvidas na adesão celular com a progressão dos tumores odontogênicos (KUMAMOTO, 2010). Dentre essas, podemos destacar as E-caderinas, proteínas transmembrana, dependentes de cálcio, que se ligam às cateninas nas junções aderentes. A beta catenina participa tanto da via canônica de sinalização de Wnt quanto na adesão celular (NANCI, 2009). Portanto, a expressão, regulação e localização da proteína beta catenina são importantes marcadores para predizer a motilidade e invasividade de tumores epiteliais (SCHLOSSHAUER et al., 2002). Como os ameloblastomas são

tumores de origem epitelial, estuda-se a possibilidade de a beta catenina estar envolvida na tumorigênese dos mesmos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um levantamento epidemiológico dos casos de ameloblastomas pertencentes ao arquivo do Serviço de Anatomia Patológica da Universidade Federal do Espírito Santo (SAPB-UFES), analisar as características histopatológicas dos mesmos e analisar a expressão de beta catenina nas diferentes variantes de ameloblastomas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos foram agrupados de acordo com cada um dos três capítulos que compõem essa dissertação. Cada capítulo será adaptado para a formatação de artigos científicos, e serão submetidos à publicação em revistas nacionais e internacionais.

2.2.1 Objetivos do capítulo 1:

Realizar um levantamento epidemiológico dos casos de ameloblastomas registrados nos arquivos do SAPB-UFES desde sua implantação em março de 2004 a dezembro de 2010

Verificar a origem dos pacientes, e como se deu o diagnóstico e a continuidade de assistência aos pacientes portadores de ameloblastoma.

2.2.2 Objetivos do capítulo 2:

Analisar os aspectos histológicos das lesões diagnosticadas como ameloblastoma pelo SAPB-UFES, e reclassificá-las com base nos critérios da última classificação da Organização Mundial da Saúde (2005).

2.2.3 Objetivos do capítulo 3:

Avaliar a expressão de beta catenina nos espécimes de ameloblastomas selecionados, por meio de um estudo imuno-histoquímico.

Analisar se há diferença na expressão de beta catenina nas diferentes variantes de ameloblastomas.

3 CAPÍTULO 1

Diagnóstico e continuidade da assistência ao paciente com ameloblastoma: estudo retrospectivo de seis anos.

3.1 RESUMO

Ameloblastomas são tumores de origem epitelial, que apesar de benignos e pouco frequentes apresentam capacidade invasiva e alto índice de recidivas. Por apresentarem progressão lenta e indolor, muitas vezes são diagnosticados após atingirem grandes proporções, comprometendo elementos dentais e ossos envolvidos na região tumoral. O diagnóstico precoce poderá reduzir mutilações, permitindo que a reabilitação dos pacientes acometidos seja de menor complexidade. Como o risco de recidiva é alto, podendo apresentar longos períodos de remissão e ressurgindo após muitos anos, a preservação por longos períodos é mandatória e preconizada pela Organização Mundial da Saúde. **Objetivo:** avaliar a procedência dos pacientes, o diagnóstico e a continuidade de assistência aos portadores de ameloblastoma, referenciados ao Serviço de Anatomia Patológica da Universidade Federal do Espírito Santo (SAPB-UFES) no período de março de 2004 a dezembro de 2010. **Método:** estudo retrospectivo, descritivo, com base em banco de dados. Dados sociodemográficos, clinicorradiográficos e macroscópicos das lesões, além de dados sobre diagnóstico, tratamento e seguimento dos pacientes foram compilados dos prontuários das disciplinas de Estomatologia e Cirurgia Bucomaxilofacial II da UFES, e tabulados em planilha Excel, para posterior obtenção da estatística descritiva. **Resultados:** foram diagnosticados treze casos de ameloblastomas (06 sólidos, 04 unicísticos e 03 desmoplásicos). Todos os pacientes residiam no estado do Espírito Santo, e nenhum foi diagnosticado em Centros Especializados de Odontologia do Sistema Único de Saúde, sendo que o diagnóstico inicial foi feito pelo SAPB-UFES em 53,84% dos casos. A média de idade foi de 33 anos e o sexo feminino foi mais afetado, não houve predileção por raça. A mandíbula foi afetada em 92,3% dos casos e a média de dentes perdidos

devido ao tumor foi de 3,22%. O tempo médio entre diagnóstico e acesso ao Serviço foi de 2,5 anos. Os intervalos de revisão foram irregulares na maioria dos casos (69,23%) e apenas seis dos 13 pacientes compareceram à consulta de seguimento no ano de 2011. **Conclusão:** Com relação ao diagnóstico à continuidade da assistência, a maioria dos pacientes recebeu diagnóstico e tratamento cirúrgico no ambulatório na UFES, tendo um intervalo de tempo entre diagnóstico e início do tratamento menor, se comparado aos pacientes diagnosticados inicialmente em outros locais. Os pacientes não tiveram seguimento de acordo com intervalos recomendados e mais de 50% não receberam tratamento reabilitador.

***Palavras-chave:** Ameloblastoma; Epidemiologia; Diagnóstico; Continuidade da assistência ao paciente; Perda de seguimento; Tumores odontogênicos

3.2 ABSTRACT

Ameloblastomas are benign and rare epithelial tumors, that shows invasiveness, and high rate of recurrence. Because they develop slowly and asymptotically, in general they are diagnosed after reach a large proportions and commit dental elements present in the region affected by the tumor. Early diagnosis can reduce mutilation as well as tooth and bone loss, and could turn the rehabilitation of affected patients easier. Long term follow-up is mandatory and recommended by the World Health Organization, since recurrences have been noted several years after the initial treatment. **Objective:** To evaluate the origin of the patients, the diagnosis and continuity of care to patients with ameloblastoma, attended by Anatomical and Pathologic Service at Federal University of Espirito Santo (APBS-UFES) from March 2004 to December 2010. **Method :** retrospective, descriptive study , based on the database. Sociodemographic, clinical, imaginological and macroscopic data, and data on diagnosis, treatment and patient follow-up of the records were retrieved from the files of Oral Pathology and Maxillofacial Surgery II (UFES) and tabulated in an Excel spreadsheet for further descriptive statistics. **Results:** Thirteen cases of ameloblastomas were diagnosed (06 solid, 04 unicystic and 03 desmoplastic). All patients were from Espírito Santo and the initial diagnosis was made by the APBS-UFES in 53.84% of cases. The average age was 33 years and females was most affected, there was no race predilection. The mandible was affected in 92.3%. The average time between diagnosis and access to the Service was 2.5 years. Only six of 13 patients attended the follow-up visit in 2011. **Conclusion:** The results of epidemiological survey were similar to other studies. Regarding diagnosis and continuity of care, most patients were diagnosed and received surgical treatment at UFES, those had a smaller interval between diagnosis and initiation of treatment, if compared to patients initially diagnosed elsewhere. The patients had no follow-up in accordance with recommended ranges and no more than 50% received reconstructive treatment.

Key words: Ameloblastoma; Epidemiology; Diagnosis; Continuity of patient care; Lost to follow-up; Odontogenic tumors.

3.3 INTRODUÇÃO

Ameloblastomas são tumores de origem epitelial (COSTA et al., 2008; KUMAMOTO; OOYA, 2008) formados por epitélio odontogênico, rico em estroma fibroso maduro, sem ectomesênquima odontogênico. Baseados em aspectos clínicos, imaginológicos, histopatológicos e comportamentais os ameloblastomas foram classificados em: *ameloblastoma sólido/multicístico (A-S/M)*; *ameloblastoma unicístico (A-U)*; *ameloblastoma extra-ósseo/periférico (A-E/P)* e *ameloblastoma desmoplásico (A-D)* por Gardner et al., (2005) O bioperfil destes ameloblastomas varia com relação à idade, distribuição, localização, características imaginológicas, e em particular, quanto ao prognóstico (REICHART; PHILIPSEN; SCIUBA, 2006).

Apesar de pertencerem à categoria de tumores benignos, apresentam comportamento invasivo, com grande capacidade infiltrativa. Apresentam ainda alto índice de recidivas (PEREIRA et al., 2010; KUMAMOTO; OOYA, 2008; COSTA et al., 2008 LEDESMA-MONTES et al., 2007) e podem sofrer malignização (SILVA et al., 2004). São tumores raros, mas representam 1% de todos os tumores que acometem a cabeça e o pescoço, correspondendo a 11% de todos os Tumores Odontogênicos (TOs). Em alguns levantamentos epidemiológicos foi o mais frequente (13 a 58%) dentre os tumores de origem odontogênica (FREGNANI et al., 2010), e de acordo com Gardner et al. (2005) o tipo sólido/multicístico é considerado o segundo mais comum dentre os TOs .

Geralmente acometem indivíduos entre 20-40 anos com incidência aumentada aos 33 anos, sendo raros em crianças (8,7-15%). Ledesma-Montes et al. (2007) realizaram um estudo no qual não encontraram ameloblastomas sólidos em pacientes com menos de 20 anos de idade. Silva et al.(2004) afirmaram que ameloblastomas unicísticos podem ocorrer em indivíduos jovens, principalmente na faixa de 16 aos 20 anos. Os ameloblastomas extra-ósseos e maxilares ocorrem em uma faixa etária ligeiramente mais alta que os ameloblastomas unicísticos, ao passo que os ameloblastomas de células granulares afetam indivíduos mais jovens. Não há predileção por sexo (LEDESMA-MONTES et al., 2007; SILVA et al., 2004), nem raça, embora alguns estudos tenham encontrado maior incidência em negros e outros em asiáticos (ANGADI, 2010). Estudos epidemiológicos demonstram

diferenças na incidência de TOs, particularmente quando são comparados estudos africanos e asiáticos com estudos norte-americanos. Estas variações na incidência são justificadas por fatores socioeconômicos, étnicos e geográficos, ou pela instituição onde os dados foram coletados (FREGNANI et al., 2010). Existem poucos estudos na literatura sobre as características clinicopatológicas de ameloblastomas na América Latina (LEDESMA-MONTES et al., 2007; FREGNANI et al., 2010).

Os ameloblastomas podem ocorrer em todas as áreas das arcadas, mas acometem predominantemente a mandíbula (80 a 85% dos casos), na região de corpo e ramo, e a maxila (SILVA et al., 2004; FENG et al., 2009). Na maxila, apesar de menos comum, geralmente acomete a área de molares, mas pode ser visto ocasionalmente na região anterior, no seio maxilar e na cavidade nasal (ANGADI, 2010).

Radiograficamente os ameloblastomas apresentam-se como áreas radiolúcidas bem definidas, multi ou uniloculares, com bordas festonadas e tipicamente descritas como bolhas de sabão ou favo de mel. Porém, o ameloblastoma unicístico apresenta-se como área radiolúcida unilocular, geralmente contendo um dente impactado. Expansão das corticais, deslocamento dental e reabsorção radicular também podem ser visualizados. Quanto ao aspecto histológico observam-se células tipo ameloblastos, dispostas em paliçada, formando cordões que se anastomosam ou ilhas de epitélio odontogênico. O citoplasma é vacuolizado e o núcleo hipercromático e com polaridade reversa (VICKERS e GORLIN, 1970).

Ainda não foi encontrada uma alteração genética específica relacionada ao aumento do risco de desenvolvimento de ameloblastomas. Eles ocorrem esporadicamente, sem qualquer predisposição genética aparente. Entretanto, alguns poucos casos foram relatados em associação com a síndrome de Gorlin Goltz. (GARDNER et al., 2005).

Quanto ao diagnóstico, pequenos tumores podem ser identificados por radiografias de rotina. Porém, por apresentarem crescimento lento e assintomático, muitas vezes só são diagnosticados depois de atingirem grandes proporções. A maioria dos pacientes queixa-se de assimetria facial e aumento de volume. O crescimento lento promove a neoformação óssea reativa, aumentando e distorcendo o arco dental. Caso o tumor seja negligenciado, poderá promover a perfuração da cortical óssea e a invasão dos tecidos moles circunjacentes, tornando extremamente difícil a excisão

cirúrgica. Dor tem sido ocasionalmente referida e pode ser atribuída a infecções secundárias. Outros sintomas são: mobilidade e deslocamento dental, reabsorção radicular, parestesia se o canal mandibular for envolvido, falhas na erupção dentária, e raramente, ulcerações através da mucosa (GARDNER et al., 2005; ANGADI, 2010).

Simon et al.(2005), em um estudo prospectivo observaram a ocorrência de alguns problemas que podem interferir no diagnóstico de TOs: *1) alguns pacientes podem não ser encaminhados para os centros de tratamento de referência; 2) pacientes referidos podem recusar-se a realizar exames e por isso não serem submetidos a tratamento, 3) alguns podem não ter recursos para custear o tratamento, 4) o diagnóstico pode não ter sido feito por falhas técnicas no processamento.*

O diagnóstico completo e preciso, com determinação do padrão histológico, é importante, pois acredita-se que o variante histológico do ameloblastoma determine não apenas seu comportamento clínico, mas seja ainda determinante para a escolha da melhor abordagem terapêutica, que frequentemente é radical, com excisão cirúrgica (SILVA et al., 2004; SUKARAWAN et al., 2010). As ressecções cirúrgicas marginais, parciais ou complexas preveem a remoção de blocos de tecido ósseo e dos dentes envolvidos na área tumoral, muitas vezes em ambiente hospitalar, com o paciente sob anestesia geral. Portanto, a reabilitação dos pacientes submetidos a tais procedimentos torna-se demorada e de alto custo, sendo muitas vezes necessários enxertos ósseos, além da reposição dos elementos dentais perdidos. Há que se considerar que, mesmo após esses procedimentos é possível que se estabeleça uma nova recidiva. Procedimentos conservadores como descompressão e enucleação podem reduzir o número de dentes a serem extraídos, mas não eliminam totalmente as perdas. As ressecções cirúrgicas podem representar um grande impacto para o paciente, não apenas do ponto de vista funcional, mas também estético e psicológico (SAUK et al., 2010).

Os resultados do Saúde Bucal Brasil 2010 apontam que há atualmente 853 Centros de Especialidades Odontológicas (CEOs) no Brasil, estando 10 deles localizados no Espírito Santo (BRASIL, 2011). Todo CEO deve realizar, dentre o elenco mínimo de atividades estabelecido, atendimento em Estomatologia, com ênfase no diagnóstico de câncer bucal (BRASIL, 2006). Poderá ainda ser realizado no CEO, por meio dos

novos procedimentos da tabela do Sistema Único de Saúde (SUS): aparelho ortodôntico/ortopédico e implante dentário osteointegrado, incluindo a prótese sobre o implante (Portaria Ministerial Nº 718/SAS de 20/12/2010). Desde 2005 o Ministério da Saúde possibilitou a emissão pelo cirurgião-dentista da Autorização de Internação Hospitalar – AIH. Estabeleceu ainda nesse mesmo ano, diretrizes para a atenção aos doentes com afecções das vias aéreas e digestivas superiores da face e do pescoço em alta complexidade, mediante a implantação de Rede Estadual/Regional de Atenção através de unidades de assistência e centros de referência. Outra ação foi o reconhecimento da necessidade da atenção odontológica no credenciamento dos Centros de Assistência de Alta Complexidade em Oncologia –CACON (BRASIL, 2012).

Dados Estaduais

O estado do Espírito Santo possui 78 municípios divididos em 10 Microrregiões de Planejamento (APÊNDICE 1), 3.514.952 habitantes, sendo que 46,8% da população reside na Região Metropolitana da Grande Vitória-RMGV. A população indígena, composta por 9.160 habitantes está concentrada na microrregião Rio Doce. Segundo o Censo 2010, 21.965 dos habitantes declararam-se de cor amarela e 293.334 de cor preta. A maioria da população é parda e branca com 1.708.769 e 1.481.678 habitantes, respectivamente (IBGE, 2010).

Segundo a Coordenação Geral de Saúde Bucal (CGSB), o estado do Espírito Santo possui dez CEOS, distribuídos em nove municípios, sendo que apenas um CEO está localizado na capital, Vitória, que possui a maior densidade populacional (TABELA 1). Apesar de possuir dez microrregiões e dez CEOs, cinco microrregiões não possuem CEO. Portanto, os nove municípios que possuem CEO estão concentrados em cinco microrregiões.

TABELA 1 – Distribuição e Tipos de CEO no Espírito Santo

MICRORREGIÃO	CEO	N CEOs	TIPO
Metropolitana	Sim	3	I e II
Central Serrana	Não		
Sudoeste Serrana	Não		
Litoral Sul	Não		
Central Sul	Sim	3	I e II
Caparaó	Sim	2	I
Rio Doce	Não		
Centro-oeste	Sim	1	III
Nordeste	Não		
Noroeste	Sim	1	I

Fonte: Coordenação Geral de Saúde Bucal

De acordo com Núcleo Especial de Desenvolvimento, Análise de Situação e Tendência em Saúde (NASTS) da Secretaria de Estado da Saúde do Espírito Santo (SESA), no ano de 2010 ocorreram 11.408 internações por causa de neoplasias, que corresponderam a 5,73% das internações (SESA, 2010).

A identificação precoce das lesões da mucosa bucal deve ser priorizada para garantir na rede assistencial atendimento integral, em todos os pontos de atenção à saúde, para acompanhamento e encaminhamento para tratamento nos níveis de maior complexidade (BRASIL, 2004).

De acordo com o Conselho Nacional de Secretários de Saúde (CONASS), as cirurgias da face e do sistema estomatognático estão elencadas no rol dos procedimentos de alta complexidade; enquanto os itens radiodiagnóstico, anatomopatologia e citologia, ações especializadas em odontologia e cirurgias ambulatoriais especializadas são listados como média complexidade (BRASIL,

2007). Portanto, o diagnóstico e o tratamento de ameloblastomas requer procedimentos de alta e média complexidade. Por conseguinte, os pacientes precisam ser referenciados pelas unidades básicas de saúde para os CEOs.

Um dos desafios institucionais da Estratégia de Saúde da Família (ESF) é a elaboração de protocolos assistenciais integrados (promoção, prevenção, recuperação e reabilitação) dirigidos aos problemas mais freqüentes do estado de saúde da população, com indicação da continuidade da atenção, sob a lógica da regionalização, flexíveis em função dos contextos estaduais, municipais e locais (BRASIL, 2012). As equipes de ESF, quando ampliadas, contam com: um dentista, um auxiliar de consultório dentário e um técnico em higiene dental, além dos integrantes usuais da equipe de ESF.

Dos 78 municípios do Espírito Santo, existem 31 com cobertura de 100% pela ESF. Dentre eles, nenhum se situa na RMGV. Os municípios que compõem a RMGV - Vitória, Fundão, Viana, Vila Velha, Cariacica, Guarapari e Serra apresentaram uma cobertura de ESF, respectivamente, de 63%, 68%, 51%, 27%, 12%, 29% e 20%. Nota-se que, apesar de a implantação da ESF ter se iniciado em 1994 no Brasil, e em 1998 no Espírito Santo, a cobertura ainda é pequena e insuficiente no Estado como um todo, mas, particularmente, nos municípios da RMGV (SZPILMAN et al., 2011).

Uma alternativa para atendimento aos pacientes em nosso estado é o Programa de Prevenção e Diagnóstico Precoce de Câncer de Boca e Lesões Bucais. Os pacientes atendidos nesse programa tem o diagnóstico microscópico emitido pelo Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo (SAPB-UFES), que foi instituído no ano de 2004. Esse serviço não está credenciado pelo SUS e recebe verbas apenas do Ministério da Educação. Possui em seu quadro três cirurgiãs-dentistas com doutorado em Patologia Bucal, diferentemente de outros serviços que contam com patologistas médicos. Para esse serviço são encaminhados pacientes de todo o estado do Espírito Santo, tanto da rede pública de saúde quanto de instituições particulares. O referido Serviço guarda em seus arquivos, espécimes de ameloblastomas removidos dos pacientes atendidos no Programa de Prevenção e nas disciplinas de Estomatologia e Cirurgia Bucomaxilofacial II. O levantamento desses casos e a organização de um banco de

dados com as informações clínicas, radiográficas e histopatológicas destes pacientes é de extrema importância para traçar o perfil epidemiológico dos casos de ameloblastomas na população atendida por esse serviço, podendo contribuir para a definição de políticas de saúde voltadas para a saúde bucal da população capixaba.

Os objetivos desse estudo foram realizar um levantamento dos casos de ameloblastomas registrados nos arquivos do SAPB-UFES, além de analisar como o paciente foi referenciado para o Serviço, e como se deu a continuidade de assistência e o seguimento do paciente.

3.4 MATERIAL E MÉTODO

Estudo descritivo, longitudinal, retrospectivo. Os dados foram compilados dos arquivos do SAPB-UFES e das disciplinas de Estomatologia e Cirurgia Bucomaxilofacial II da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFES sob número 235/10. (ANEXO 1).

Os espécimes obtidos a partir de biópsias incisionais ou excisionais de lesões de ameloblastomas, são arquivados no SAPB-UFES juntamente com os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido assinados pelos pacientes. Além de lâminas histológicas, a partir das quais foi emitido o laudo, o arquivo dispõe de peças em blocos de parafina, devidamente identificados conforme o registro no SAPB-UFES.

Os critérios de inclusão foram: *acesso ao termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelo paciente ou responsável; acesso ao prontuário do paciente; prontuário corretamente preenchido e material suficiente nos blocos de parafina para confecção de novas lâminas.*

As fontes para coleta de dados foram os prontuários dos pacientes, resgatados dos arquivos do SAPB-UFES e das disciplinas de Estomatologia e Clínica de Cirurgia Bucomaxilofacial II da UFES. Dados complementares foram coletados de arquivos

particulares de cirurgiões bucomaxilofaciais que atuam na cidade de Vitória. O instrumento foi uma ficha com subdivisões, elaborada para coleta de dados sobre identificação e dados sócio demográficos dos pacientes; dados clínicos da lesão (sintomatologia, características macroscópicas e imaginológicas); dados histológicos (características microscópicas), dados do tratamento e do seguimento desses pacientes (APÊNDICE 2).

3.5 RESULTADOS

Levantamento dos Laudos Emitidos pelo Serviço da Anatomia Patológica: com o intuito de compreender a significância do número de casos de ameloblastomas e comparar com dados epidemiológicos descritos na literatura, foi feito um levantamento de todos os tumores odontogênicos diagnosticados no SAPB-UFES, a partir do ano de sua implantação. A análise dos 782 laudos anatomopatológicos emitidos pelo Serviço entre os anos de 2004 e 2010 permitiu apurar que 7,03% eram de tumores odontogênicos diagnosticados em 31 pacientes. O tumor odontogênico com o maior número de casos foi o Tumor Odontogênico Ceratocístico (TOC), com 24 casos, seguido pelos ameloblastomas. Foram vinte e dois os laudos relacionados a ameloblastomas diagnosticados em 13 pacientes o que corresponde a 23,63% dos TOs diagnosticados no período do estudo. Dos treze casos, seis eram ameloblastomas sólidos (46,15%), quatro unicísticos (30,76%) e três desmoplásicos (23,07%). Nenhum caso de ameloblastoma periférico foi diagnosticado e a média encontrada foi de dois novos casos de ameloblastoma por ano.

Dados sobre Diagnóstico Inicial, Residência e Procedência dos Pacientes: O diagnóstico inicial do paciente portador de ameloblastoma foi emitido pelo SAPB-UFES em sete casos (53,84%), e quatro foram diagnosticados primeiramente por solicitação de dentistas a outros serviços de patologia (30,76%). Não foi possível obter essa informação em dois casos (15,38%) e nenhum paciente foi diagnosticado em CEO. A idade média em que o paciente teve o primeiro tumor diagnosticado foi de 29,38 anos, variando entre 10 e 68 anos de idade. Dentre os pacientes que foram

diagnosticados pelo Serviço, todos iniciaram o tratamento antes de se completar um ano do diagnóstico. Entretanto, entre os pacientes diagnosticados em consultórios particulares e outras instituições, o tempo médio decorrido entre o diagnóstico inicial e o acesso ao Serviço foi de 8,25 anos, sendo que um deles foi tratado de forma inadequada por sete anos, até ser encaminhado ao SAPB-UFES. Foram realizadas biópsias incisionais em 92,30% dos casos. Os exames imagiológicos mais solicitados tanto para diagnóstico como para acompanhamento, foram radiografias panorâmicas, tomografias computadorizadas de feixe cônico e radiografias oclusais, nessa ordem, realizados em clínicas particulares e pelo Instituto de Odontologia da UFES.

Todos os treze pacientes portadores de ameloblastomas residiam no estado do Espírito Santo em 10 municípios distintos. Foram atendidos pacientes provenientes de seis diferentes microrregiões: Metropolitana, Centro-Oeste, Sudoeste Serrana, Rio Doce, Caparaó e Noroeste. Oito pacientes eram moradores da RMGV (61,53%), onde há três CEOs. Os outros cinco (38,46%) eram provenientes de municípios do interior do estado, quais sejam: Colatina, Domingos Martins, Ibirajú, Lúna e Pinheiros, e dentre esses, apenas Colatina possui um CEO (TABELA 2).

Tabela 2 – Distribuição dos casos de ameloblastomas por município de origem

MICRORREGIÃO	MUNICÍPIO	CEO TIPO	N CASOS
Caparaó	Iúna	Não possui	1
Centro-oeste	Colatina	III	1
Metropolitana	Cariacica	Não possui	1
Metropolitana	Guarapari	Não possui	2
Metropolitana	Serra	I	1
Metropolitana	Vila Velha (Municipal)	I	2
Metropolitana	Vitória	II	2
Nordeste	Pinheiros	Não possui	1
Rio Doce	Ibiraçu	Não possui	1
Sudoeste Serrana	Domingos Martins	Não possui	1

Oito pacientes (69,23%) eram de procedência interna, ou seja, procuraram diretamente a disciplina de Estomatologia. Dentre os cinco que eram de procedência externa, três pacientes foram encaminhados ao Serviço por dentistas particulares (23,07%), um foi indicado pela Associação Feminina de Educação e Combate ao Câncer AFECC (7,69%), e um foi referenciado pela disciplina de Cirurgia Bucomaxilofacial II da UFES. Os dados sobre residência e procedência dos pacientes são apresentados no Gráfico 1.

Dados Sociodemográficos: A faixa etária dos pacientes ao serem cadastrados pelo SAPB-UFES variou entre 18 e 68 anos, com média de 33 anos. Cinco pacientes estavam na faixa de 21 a 30 anos e cinco na faixa de 31 a 40 anos, perfazendo 76,92% dos casos. Com relação à cor, foram diagnosticados ameloblastomas em 05 pacientes de cor parda (38,46%), 04 de cor branca e 04 de cor preta (30,76% cada). Nenhum paciente de cor amarela e indígena foi diagnosticado. Oito pacientes eram do sexo feminino (61,53%) e 5 do sexo

masculino (38,46%). Os dados sociodemográficos são apresentados a seguir (GRÁFICO 2).

Dados Macroscópicos das Lesões: Foram encontrados dez casos de primeiro tumor (76,92%), dois casos de recidiva no mesmo sítio do tumor inicial e um novo tumor em sítio diferente do sítio da primeira lesão, sendo predominante espécimes obtidos de tecido mole (61,53%). A maioria dos casos (92,30%) acometeu a mandíbula, comprometendo a porção posterior do corpo, sendo que em seis casos (46,15%), além do comprometimento da região a região média também foi afetada. Em um caso (7,69%) a lesão ultrapassou a linha média, e apenas um tumor acometeu a maxila (7,69%), na região posterior (GRÁFICO 3)

Dados sobre Residência/Procedência

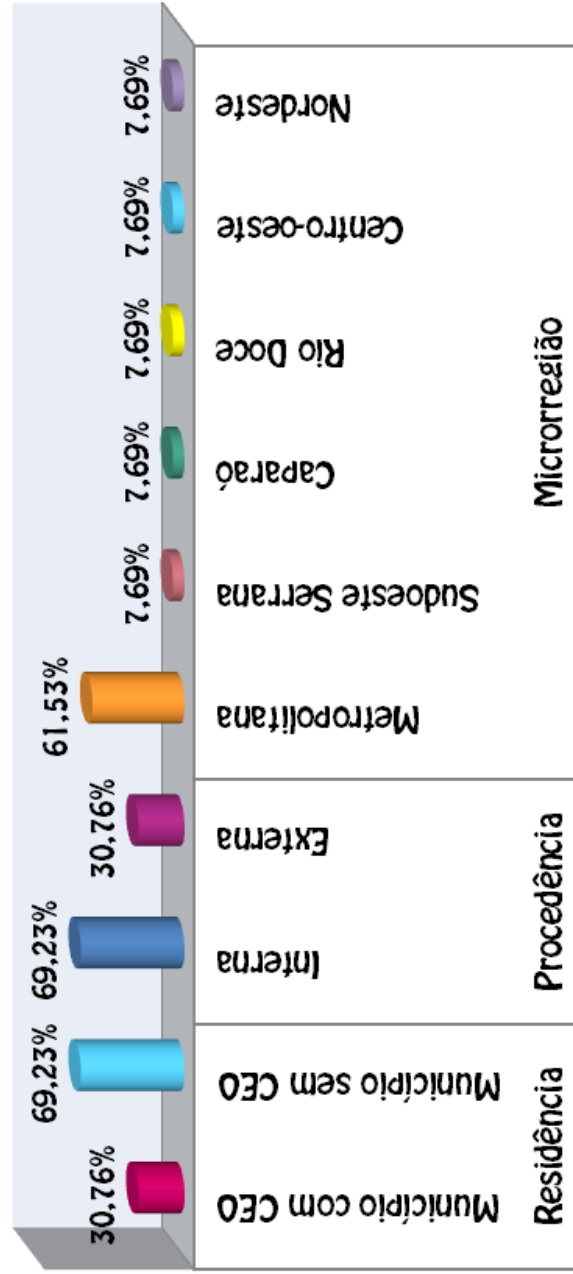


Gráfico 1 – Dados sobre a origem dos pacientes portadores de ameloblastomas referenciados ao SAPB-UFES

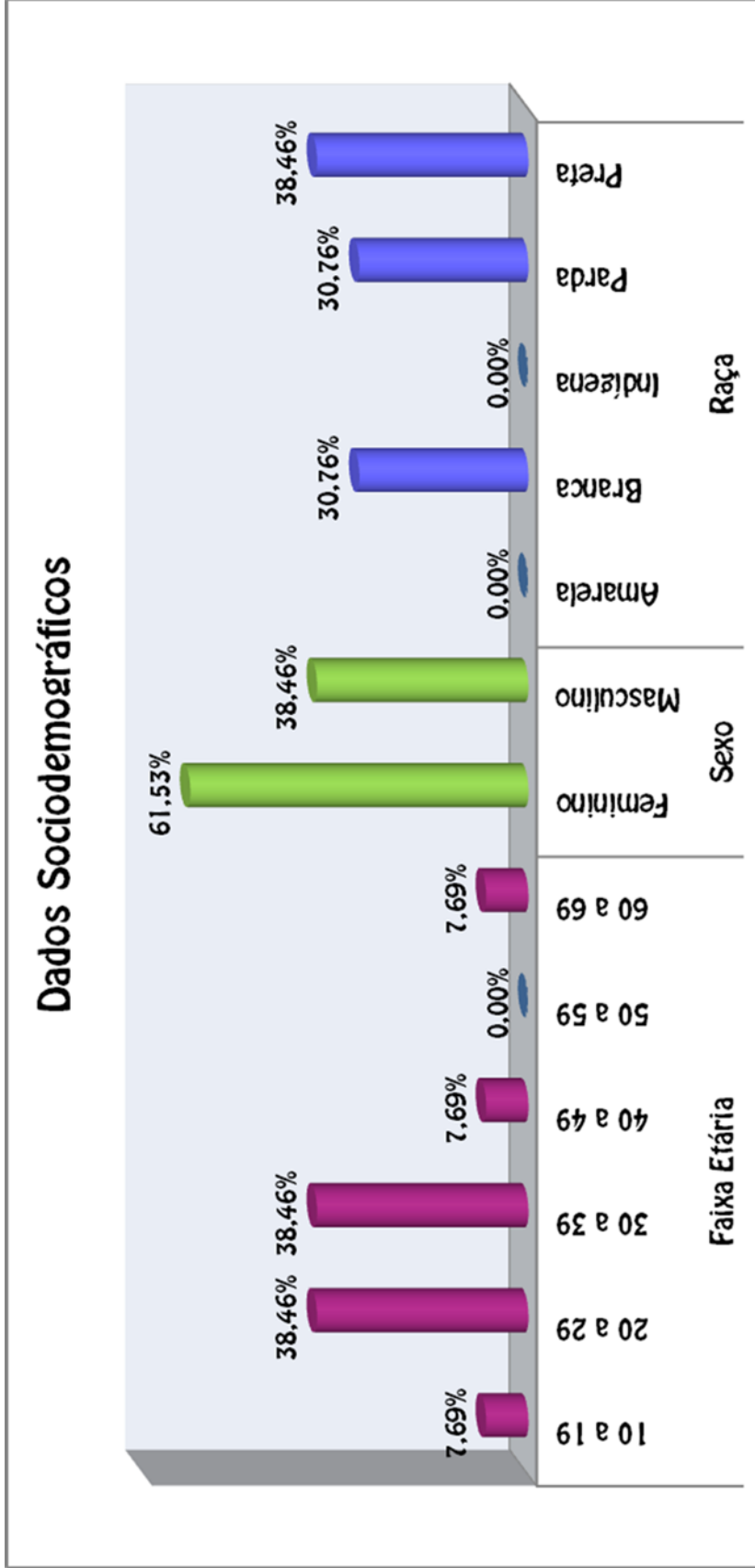


Gráfico 2 – Dados sobre faixa etária, sexo e raça dos pacientes portadores de ameloblastomas diagnosticados pelo SAPB-UFES.

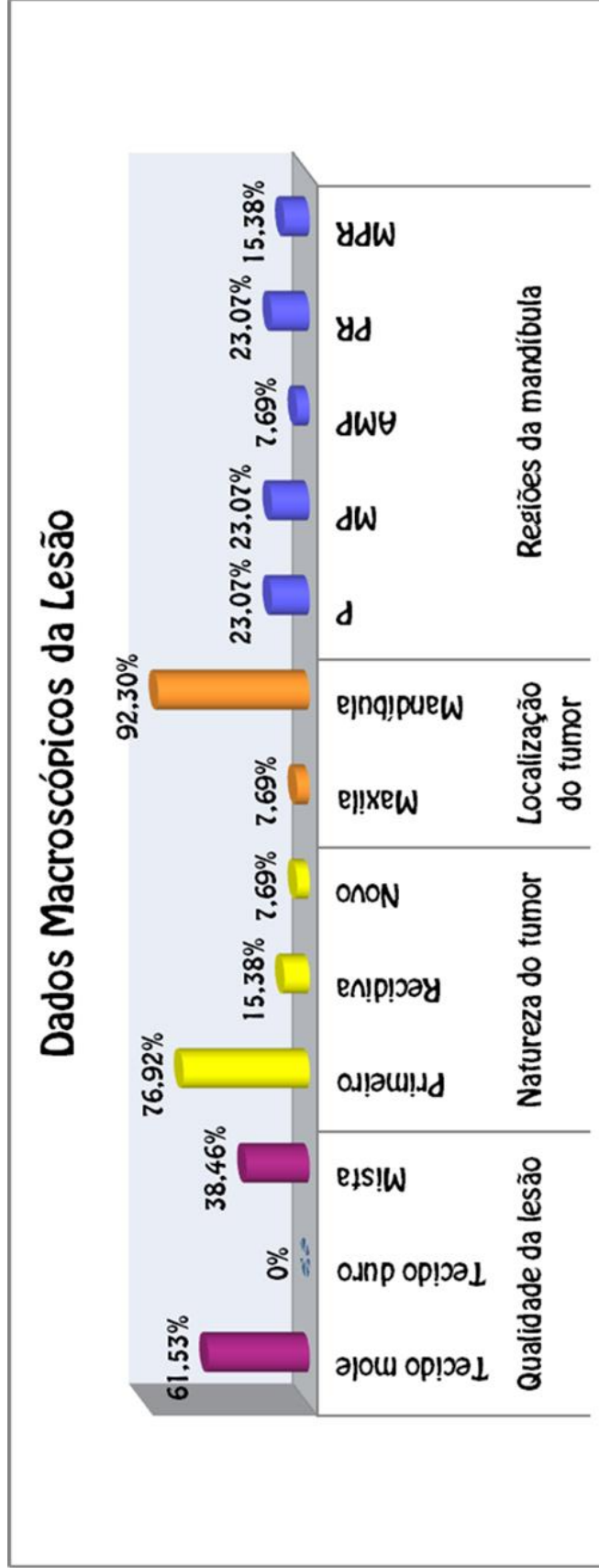


Gráfico 3 – Dados sobre qualidade, natureza e localização dos ameloblastomas diagnosticados pelo SAPB-UFES

Legenda: P: Segmento posterior do corpo da mandíbula

MP: Segmentos médio e posterior do corpo da mandíbula

AMP: Segmentos anterior, médio e posterior do corpo da mandíbula

PR: Segmento posterior do corpo da mandíbula e ramo

MPR: Segmentos médio e posterior do corpo da mandíbula e ramo

Aspectos Imaginológicos: radiograficamente, todas as lesões apresentaram bordos bem definidos, com predomínio de lesões radiolúcidas (76,92%) e multiloculares (61,53%). A expansão das corticais ósseas foi observada em nove casos (69,23%), e ocorreu reabsorção dentária em sete casos (53,84%), como mostra o Gráfico 4.

Sinais e Sintomas: os sinais e sintomas serão apresentados no gráfico 5. Uma paciente era desdentada total, e nove pacientes (69,23%) perderam dentes devido ao tumor, com média de 3,22 dentes perdidos por paciente. Foi observado deslocamento dental em cinco casos (38,46%). Quatro pacientes relataram dor (30,76%), e doze observaram aumento de volume na face (92,30%). Não encontramos informações sobre parestesia em 69,23% dos casos. A presença de secreção foi relatada em nove casos (69,23%), tendo aspecto citrino (GRÁFICO 5).

Tratamento cirúrgico e Reabilitador: dos treze pacientes registrados pelo SAPB-UFES, sete submeteram-se à cirurgia para excisão do ameloblastoma no ambulatório de Cirurgia Bucomaxilofacial II do Departamento de Clínica Odontológica da UFES (53,84%), cinco em hospitais da RMGV (38,46%) e um paciente foi operado em clínica particular. Sete pacientes foram submetidos à ressecção em bloco e dentre eles três (50%) não foram reabilitados, dois (15,38%) receberam enxerto autógeno de costela e outros dois receberam placa de reconstrução (15,38%). Um paciente submetido a tratamento conservador recebeu enxerto do Banco de Tecidos de Marília (SP) (GRÁFICO 6). Quatro pacientes apresentaram recidiva (30,76%) e apenas um caso, cujo tumor inicial acometeu a mandíbula, apresentou novo tumor na maxila, em sua porção posterior.

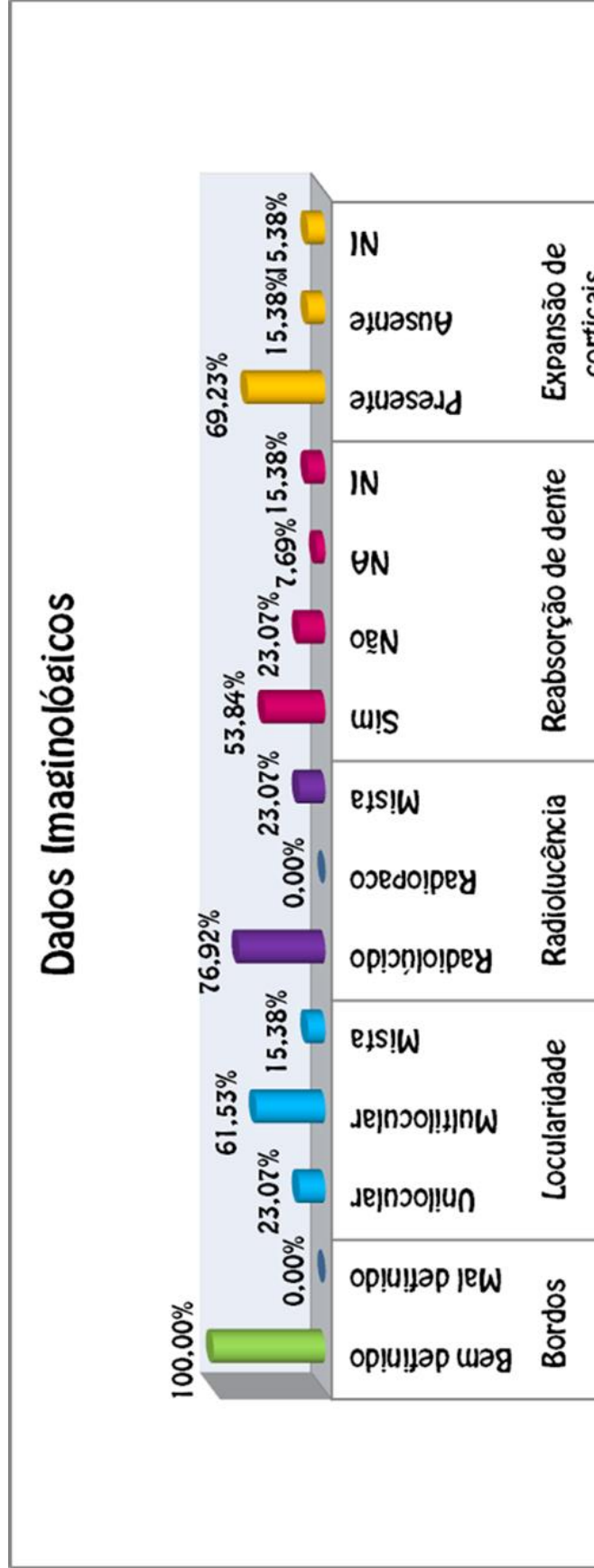


Gráfico 4 – Dados sobre aspectos imaginológicos dos ameloblastomas diagnosticados

Legenda: NA: Não se aplica

NI: Não informado

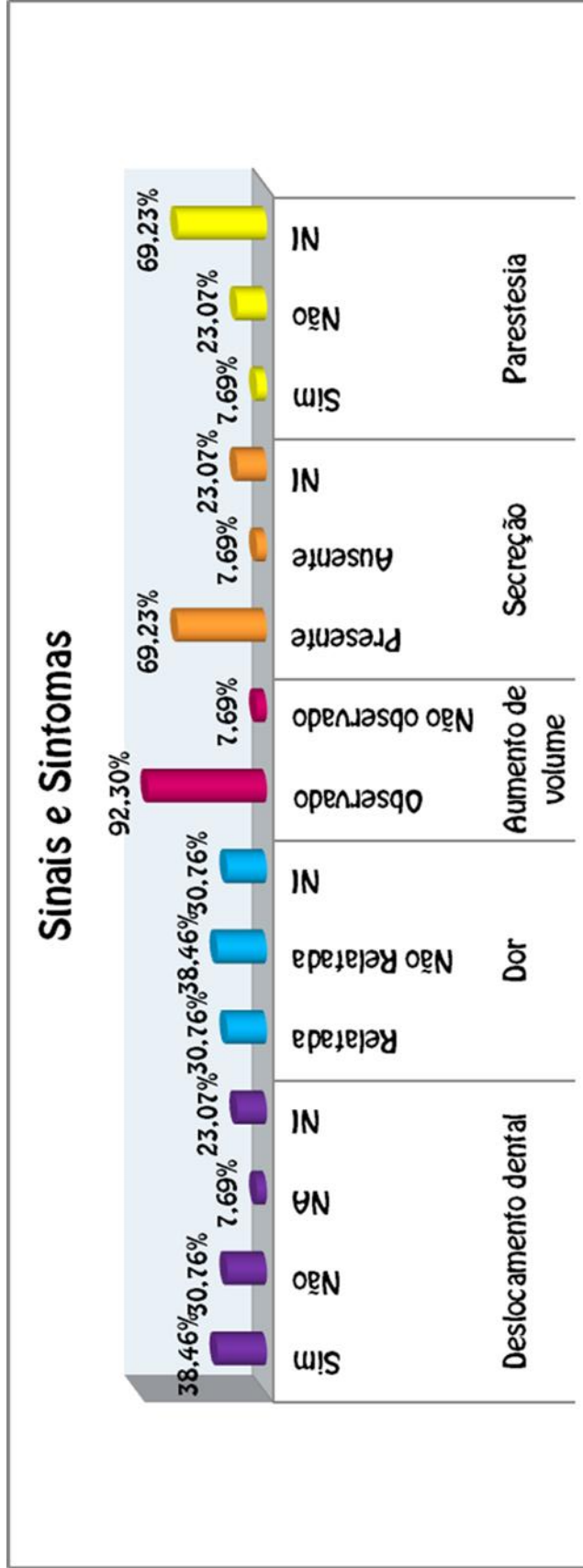


Gráfico 5— Dados sobre sinais observados e sintomas referidos pelos pacientes portadores de ameloblastoma

Legenda: NA: Não se aplica

NI: Não informado

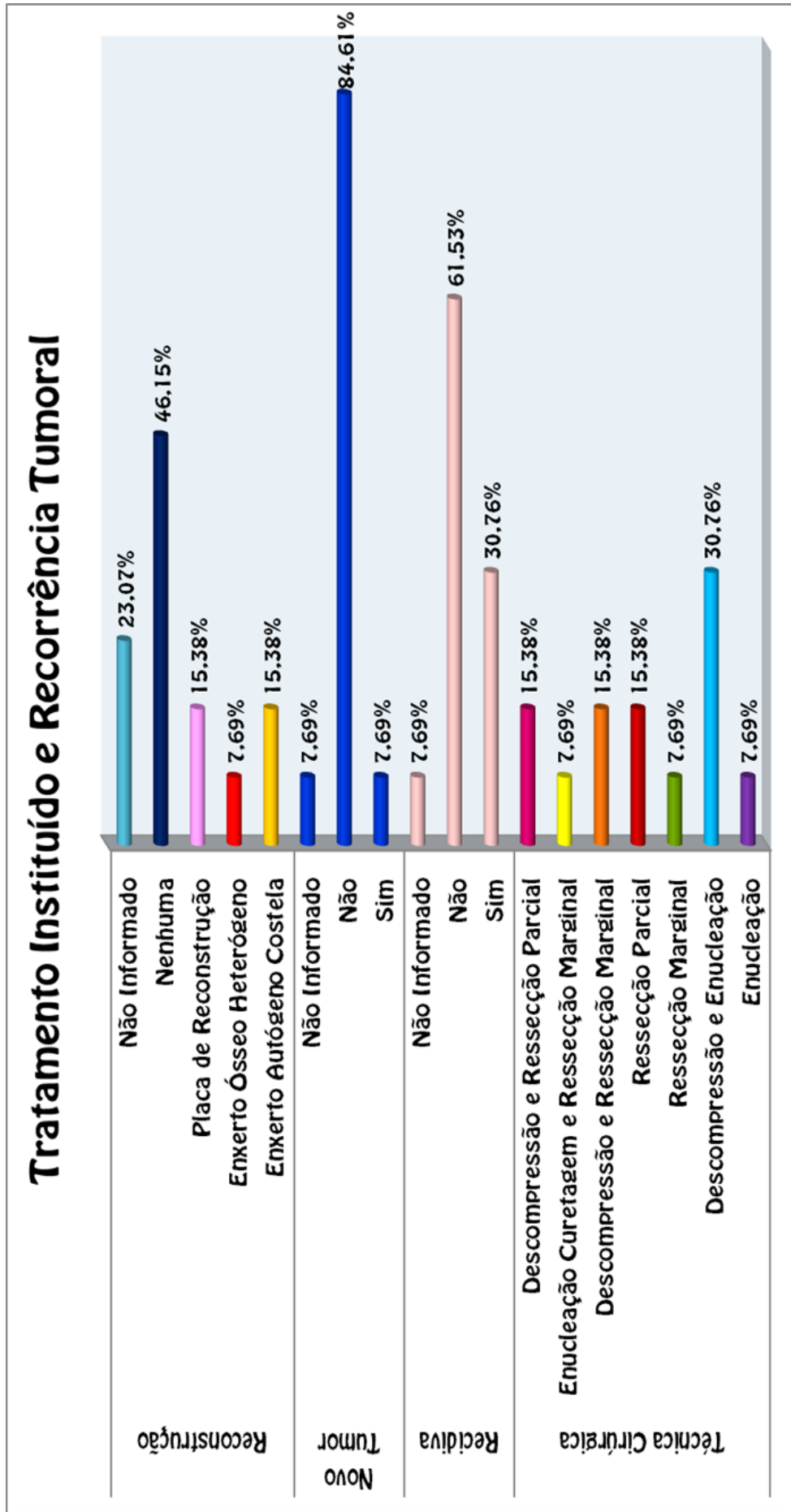


Gráfico 6: Dados sobre técnica de excisão cirúrgica e de reconstrução, e dados sobre recorrência do tumor

As consultas de revisão deram-se em intervalos irregulares em 69,23% dos casos, sendo que apenas um paciente compareceu às consultas semestralmente. Não foi possível obter essa informação em três casos. Cinco pacientes (38,46%) tiveram acompanhamento por dois a três anos, enquanto dois pacientes deixaram de ser acompanhados antes de se completar um ano de tratamento. Compareceram para consulta de revisão no ano de 2011 apenas seis pacientes (46,15%). Dois pacientes (15,38%) compareceram pela última vez em 2010 (GRÁFICO 7).

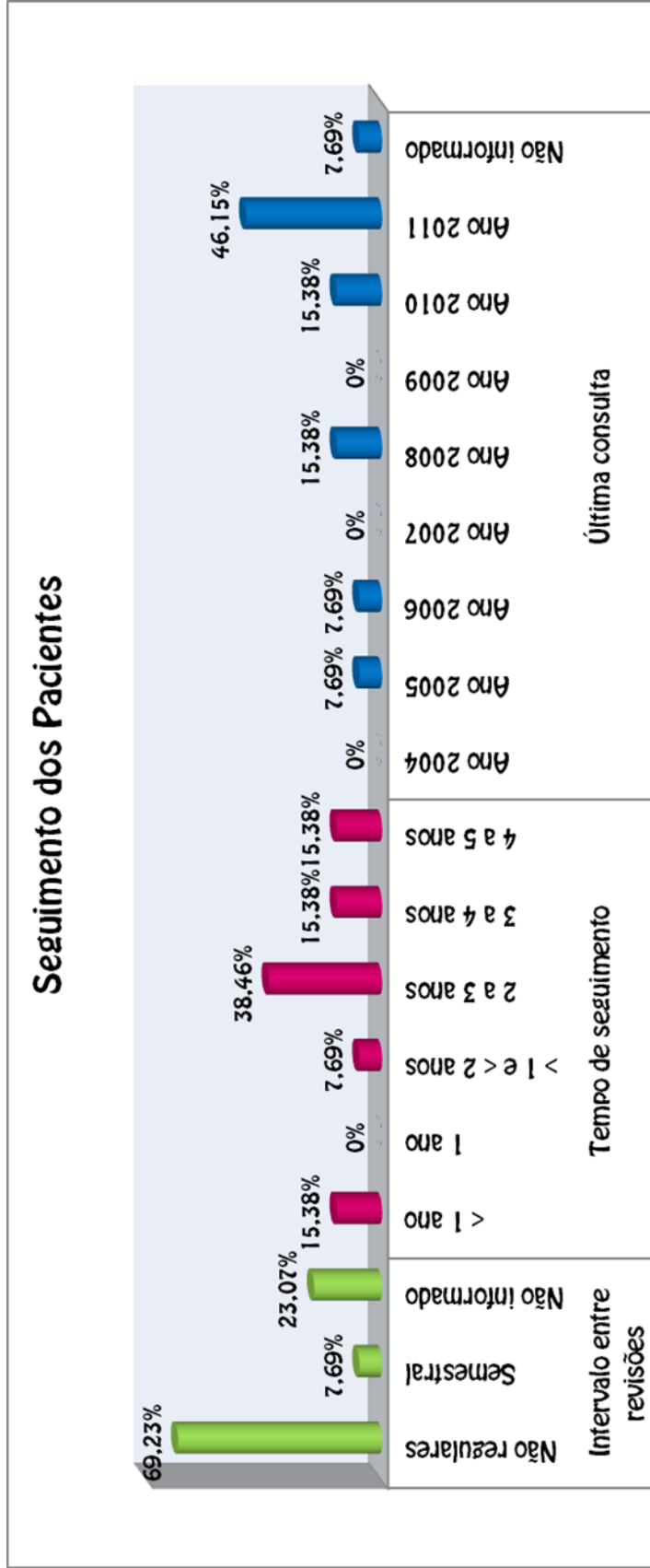


Gráfico 7: Dados sobre seguimento e controle dos pacientes tratados

3.6 DISCUSSÃO

A consciência dos agravos que acometem a população é um fator indispensável na elaboração de estratégias de assistência à saúde. Tumores pouco frequentes como os ameloblastomas podem representar desafios quanto à obtenção de uma amostra representativa da população. Entretanto, levantamentos regionais podem fornecer informações sobre ocorrência e sobre as características epidemiológicas da população local, mesmo que a amostra seja insuficiente para fazer inferências. Nessas situações, a publicação de série de casos pode ajudar na compreensão das características do agravo em questão. O índice alto de recidivas dos ameloblastomas exige um acompanhamento por longos períodos, e depende da cooperação dos pacientes em atenderem às solicitações de comparecimento para revisões em intervalos regulares. Além disso, o paciente passa por etapas definidas de diagnóstico, tratamento cirúrgico e reabilitador, que devem de preferência, ser programados por uma equipe multidisciplinar. Esse estudo teve a intenção de analisar todas as etapas desde o encaminhamento do paciente para o SAPB-UFES até as consultas de revisão.

A constatação de que mais de 50% dos diagnósticos iniciais terem sido emitidos pelo SAPB-UFES pode, em parte ser reflexo do fato de a pesquisa ter sido baseada em banco de dados de uma amostra de conveniência de um único serviço de diagnóstico. Não foi feito levantamento de outros serviços de patologia do estado (públicos ou particulares), nem dos CEOs, para que possam ser feitas comparações. Do mesmo modo, do ponto de vista epidemiológico, não se pode fazer inferências sobre a prevalência de ameloblastomas no estado do Espírito Santo. Todavia, considerando as limitações do estudo, é possível afirmar que os pacientes que foram diagnosticados pelo SAPB-UFES iniciaram o tratamento em um período de tempo inferior aos pacientes cujo diagnóstico inicial realizado por outras fontes de atendimento. Apesar de ser um tumor de crescimento lento, a demora no diagnóstico e encaminhamento para tratamento pode aumentar os danos aos tecidos do sítio da lesão.

A ocorrência de um número maior de casos na RMGV pode estar relacionada ao fato de ser a região com maior densidade populacional, ou ao fato de o Serviço ter sua sede na cidade de Vitória. Ressalta-se ainda que há apenas três CEOs na região. Entretanto não se pode determinar a razão desse maior número na RMGV pois esse estudo teve seus dados coletados em banco de dados, e os pacientes não foram arguidos sobre as razões que os levaram a procurar o SAPB-UFES.

Os ameloblastomas foram o segundo tipo mais comum de tumores odontogênicos diagnosticados pelo Serviço, em concordância com dados de Lawall (2009). Os dados epidemiológicos são concordantes com os relatos da literatura, no que se refere à idade média de 33 anos e à predileção pela mandíbula (OSTERNE et al., 2011; GARDNER et al., 2005). Gardner et al. (2005), afirmam que não há predileção por sexo, diferentemente do que foi encontrado no presente estudo, onde mais de 61,53% dos casos ocorreu em pacientes do sexo feminino. Osterne et al.(2011), também encontraram discreta predileção pelo sexo feminino em seu estudo, ao contrário de Krishnapillai e Angadi (2010) e Costa (2008), que encontraram discreta predileção pelo sexo masculino com proporção de 1,3:1. Apesar de o Espírito Santo possuir índios em seu território, nenhum caso foi relatado em indígenas. Entre as raças branca, parda e preta houve uma distribuição equilibrada, não ficando evidente predileção por nenhuma delas.

Quanto aos sinais e sintomas, nossos achados estão em concordância com a afirmação de que o tumor cresce lentamente, até que o paciente perceba um aumento de volume. Porém, tivemos quatro casos em que os pacientes relataram dor, diferente da afirmação de que é uma lesão assintomática.

Com relação à continuidade de assistência aos pacientes, é interessante notar que mais de 50% dos tumores foram submetidos a tratamento cirúrgico em ambiente ambulatorial. Por outro lado, 50% não foram reabilitados, apesar de a média de dentes perdidos ter sido superior a três, sendo que em dois casos cada um dos pacientes perdeu cinco dentes. Entretanto, para avaliar o impacto da falta de reabilitação desses pacientes serão necessários outros estudos como por exemplo, estudos de auto percepção de saúde e qualidade de vida.

A OMS recomenda que os pacientes que desenvolveram ameloblastomas sejam acompanhados periodicamente, por longos períodos, devido ao alto índice de

recidivas que o tumor apresenta. Em nosso estudo, a falta de seguimento dos pacientes fica evidente pelo fato de que apenas um paciente compareceu às revisões semestralmente, e pela constatação de que dos treze pacientes diagnosticados, apenas seis compareceram à consulta de revisão no ano de 2011. Vários fatores podem ter influência sobre as dificuldades de seguimento desses pacientes como: distância da residência ao SAPB-UFES, condições econômicas desfavoráveis, falta de compreensão da importância do seguimento e falhas no sistema de controle de chamadas.

Apesar da falta de CEOs em 5 microrregiões, o estado do ES possui condições de diagnosticar, tratar, reabilitar, e referenciar os pacientes para unidades hospitalares por meio do SUS. Como o diagnóstico não pode ser conclusivo até o resultado histopatológico, as biópsias incisionais e exames complementares devem ser realizadas nos CEOs, bem como as cirurgias conservadoras. Para os casos que necessitem de intervenções maiores, a guia de internação poderá ser emitida pelo cirurgião-dentista. Para averiguar se na prática isso é possível, serão necessários outros estudos com cálculo amostral ao invés de amostra de conveniência.

3.7 CONCLUSÃO

Os resultados do levantamento epidemiológico são semelhantes a outros estudos realizados no Brasil. Os ameloblastomas diagnosticados tardiamente promovem mutilações que requerem reabilitações complexas. A necessidade de procedimentos de média e alta complexidade para diagnóstico, tratamento e reabilitação dos ameloblastomas representam um desafio para a definição e implementação de estratégias de tratamento. Essas dificuldades fazem com que os centros especializados tornem-se referência para os pacientes portadores de ameloblastomas.

3.8 REFERÊNCIAS

ANGADI, P. V. Head and neck: odontogenic tumor: ameloblastoma. **Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.** May, 2010. Disponível em: <<http://AtlasGeneticsOncology.org/Tumors/ameloblastomID5945.html>>. Acesso em 21 de julho de 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Saúde Bucal SB Brasil 2010.** Secretaria de Atenção à Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Atenção Básica Coordenação Geral de Saúde Bucal Brasília, 2011.

_____. Conselho Nacional de Secretários de Saúde. **Assistência de Média e Alta Complexidade no SUS.** Conselho Nacional de Secretários de Saúde. Brasília : CONASS, 2007. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/colecao_progestores_livro9.pdf. Acesso em: 01 de junho de 2012.

_____. Departamento de Atenção Básica (DAB). **Desafios institucionais.** Disponível em: <http://dab.saude.gov.br/atencaobasica.php#desafios>. Acesso em : 01 de junho de 2012.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Saúde Bucal / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2006. **Cadernos de Atenção Básica**, n. 17, 92 p. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/publicacoes/cadernos_ab/abcad17.pdf. Acesso em: 01 de junho de 2012.

COSTA, D. O. P.; ECARD, M. B.; OLIVEIRA, S. P.; SILVA, L. E.; DIAS, E. P.; LOURENÇO, S. Q. C. Estudo retrospectivo dos casos diagnosticados como ameloblastoma no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Antônio Pedro entre 1997 e 2007. **J Bras. Patol .Med. Lab.**, v. 44, n. 6, p. 441-447, dez. 2008.

FENG, Y.; ZHOU, Y.; HUA, C.; TANG, X.; HE, D. Expression of Twist in different subtype of ameloblastomas. **Oral Surg Oral Med .Oral Pathol. Oral Radiol Endod.**, v. 108, n. 4, p. 565-570, Oct., 2009.

FREGNANI, E. R.; PEREZ, D. E. C.; ALMEIDA, O. P.; KOWALSKI, F.A.; SOARES, F. A.; ALVES, F. A. Clinicopathological study and treatment outcomes of 121 cases of ameloblastomas. **Int. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 39, n. 2, p. 145-149, Dec. 2010.

GARDNER, D.G.; HEIKINHEIMO, K.; SHEAR, M.; PHILIPSEN, H. P.; COLEMAN, H. Ameloblastomas. In: BARNES, L.; EVESON, J. W.; REICHART, P. SIDRANSKY, D. World Health Organization Classification of Tumors. **Pathology & Genetics of Head and Neck Tumors.** Lyon: IARC Press, 2005, p. 296-300.

IBGE. **Censo Demográfico 2010.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=es>. Acesso em: 25 de maio de 2012.

_____. **Censo Demográfico 2010: Características da População e dos Domicílios: Resultados do Universo.** Disponível em: http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=es&tema=resultuniverso_censo2010. Acesso em: 25 de maio de 2012.

KRISHNAPILLAI, R.; ANGADI, P. A clinical, radiographic, and histologic review of 73 cases of ameloblastoma in a Indian population. **Quintessence International**, v. 47, n. 5, p.e-90-e-100, May, 2010.

KUMAMOTO, K.; OOYA, K. Immunohistochemical detection of BH3-only proteins in ameloblastic tumors. **Oral Diseases**, v. 14, p. 550-555, 2008.

LAWALL, M. A. **Estudo retrospectivo de tumores odontogênicos em dois centros de estudo no Brasil e três no México.** 2009. 170 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

LEDESMA-MONTES, C.; MOSQUETA-TAYLOR, A.; CARLOS-BREGNI, R.; ROMERO de LEÓN, E.; PALMA-GUZMÁN, J. M.; PÁEZ-VALENCIA, C.; MENESES-GARCIA, A. Ameloblastomas: a regional Latin-American multicentric study. **Oral Diseases**, v. 13, n. 3, p. 303-307, May. 2007.

OSTERNE, R. L. V.; ALVES, A. P. N. N.; CAVALCANTE, R. B. Odontogenic tumors: a 5-year retrospective study in a Brazilian population and analysis of 3406 cases reported in the literature. **Oral surg Oral Med Oral Pathol Oral End**, v. 11, n. 4, p. 474-481, Apr. 2011.

PEREIRA, K. M.A.; AMARAL, B. A. SANTOS, B. R. M.; GALVÃO, H. C.; FREITAS, R. A.; SOUZA, L. B. Immunohistochemical expression of E-cadherin and b-catenin in ameloblastomas and tooth germs. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology.**, v. 109, p. 425-431, 2010.

REICHART, P. A.; PHILIPSEN, H. P.; SCIUBBA, J. J. The new classification of head and neck tumorus (WHO)-any changes? **Oral Oncology**, v. 42, p. 757-758, 2006.

SALIBA, N. A.; MOIMAZ, S. A. S; FADEL, C. B.; BINO, L. S. Saúde bucal no Brasil: uma nova política de enfrentamento para a realidade nacional. **Rev Odontol Bras Central**, v. 18, n. 48, p. 62-66, 2010.

SAUK, J. J.; NIKITAKIS, N. G.; SHEPER, M. A. Are we on the brink of nonsurgical treatment for ameloblastoma? **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod**, v. 110, n. 1, p. 68-78, 2010.

SESA. Secretaria Estadual de Saúde do Espírito Santo Núcleo Especial de Desenvolvimento, Análise de Situação e Tendência em Saúde. **Indicadores de Saúde no Espírito Santo, 2010.** Disponível em: <http://www.saude.es.gov.br/download/perfilepidemiologicoesnasts2010.pdf>. Acesso em: 29 de maio de 2012.

SILVA, B. F.; SANTOS JÚNIOR, J. C.; ABRAHÃO, M.; CERVANTES, O.; MIRANDA, S. L. Ameloblastoma: revisão da literatura. **Rev. Bras. de Cirurg. de Cabeça e Pescoço**, v. 33, n. 1, p. 7-13, jan. fev. mar. 2004.

SIMON, E. N.; MERKX, M. A.; VUHAHULA, E.; NGASSAPA, D.; STOELINGA, P. J. A 4-year prospective study on epidemiology and clinicopathological presentation of odontogenic tumors in Tanzania. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 99, n.5, p. 598-602, 2005.

SZPILMAN, A. R. M.; SHWARTZ, T. D.; RIANI, A. P. C.; SOARES, J.; BATISTA, R. M.; LIMA, R. C. D.; SILVA, M. Z. Reflexo da estratégia saúde da família na situação de saúde do estado do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v. 13, n. 2, p. 5-11, 2011.

SUKARAWAN, W.; SIMMONS, D.; SUGGS, C.; LONG, K.; WRIGHT, T. WNT5A expression in ameloblastoma and its roles in regulation enamel epithelium tumorigenic behaviors. **The American Journal of Pathology**, v. 17, n. 1, p. 461-471, Jan. 2010.

VICKERS, R. A.; GORLIN, R. J. Ameloblastoma: delineation of early histopathologic features of neoplasia. **Cancer**, v. 26, p. 699-710, Sep. 1970.

ANEXO A – Carta de Aprovação do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Vitória-ES, 09 de dezembro de 2010.

Da: Profa. Dr^a. Ethel Leonor Noia Maciel
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde


Para: Prof. (a) Karla Loureiro Almeida Coburn
Pesquisador (a) Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **“Análise da expressão de beta-catenina em ameloblastomas: um estudo imunohistoquímico e epidemiológico”**.

Senhor (a) Pesquisador (a),

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, após analisar o Projeto de Pesquisa nº. 235/10 intitulado: **“Análise da expressão de beta-catenina em ameloblastomas: um estudo imunohistoquímico e epidemiológico”** e o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, cumprindo os procedimentos internos desta Instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 08 de dezembro de 2010.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador responsável elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX.2. letra “c”.

Atenciosamente,


Prof.^a Dr.^a Ethel Leonor Noia Maciel
COORDENADORA
Comitê de Ética em Pesquisa
Centro de Ciências da Saúde/UFES

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde
Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe – Vitória – ES – CEP 29.040-091.
Telefax: (27) 3335 7504

APÊNDICE 2: Modelo de ficha de Coleta de Dados



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO –
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

FICHA PARA COLETA DE DADOS AMELOBLASTOMAS DIAGNOSTICADOS NO SERVIÇO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DO CURSO DE ODONTOLOGIA DA UFES (SAPB-UFES)

As respostas 88 significam: “**não se aplica**” e 99: “**não informado**”

IDENTIFICAÇÃO e DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS

1-Nome do paciente:	
2-Município:	3-UF:
4-Nº do laudo: ____/____/____ laudo: ____/____/____	5- Data de emissão do
6-Data de nascimento : ____/____/____	7- Idade em anos: __
8-Cor/raça: 1- Amarela 2-Branca 3-Indígena 4- Parda 5-Preta __	9-Ocupação:
10-Procendência: 1-Interno 2-Externo __	11-Sexo: 1-Feminino 2-Masculino __

DADOS CLÍNICOS DA LESÃO:

SINTOMAS/CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS/IMAGINOLÓGICAS

12-Natureza do tumor: 1-Primeiro tumor 2- Recidiva 3- Novo tumor	__
13-Qualidade da lesão: 1-Tecido mole 2-Tecido duro 3-Tecido mole e duro	__
14-Localização: Maxila: 1-Anterior 2-Média 3-Posterior 4-Seio maxilar 5- Envolve mais de uma região da maxila Mandíbula: 6- Sínfise e porção anterior do corpo 7-Porção média do corpo 8- Porção posterior do corpo 9-Ramo 10- Porção posterior do corpo e ramo 11- Porções posterior e média do corpo 12- Porções anterior, média e posterior do corpo 13 - Porções posterior e média do corpo e ramo	__
15-Bordos/margens: 1-Bem definido 2-Indefinido	__
16-Locularidade: 1-Unilocular 2-Multilocular	__
17-Radiodensidade: 1-Radiolúcido 2-Radiopaco 3-Misto	__
18-Reabsorção dentária: 1-Sim 2-Não	__
19-Deslocamento dental: 1-Sim 2-Não	__
20-Dor: 1-Relatada 2-Não relatada	__
21-Secreção: 1-Presente 2-Ausente	__
22-Aumento de volume: 1-Observado 2-Não observado	__
23-Parestesia: 1-Presente 2-Ausente	__
24-Expansão da cortical óssea: 1-Presente 2-Ausente	__
25-Tipo de lesão: 1-Ameloblastoma Sólido (A-S/M) 2-Ameloblastoma Unicístico (A-U) 3-Ameloblastoma Desmoplásico (A-D) 4-Ameloblastoma Extra-ósseo/ Periférico(A-E/P)	__

DADOS DA LESÃO- CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS (MICROSCÓPICAS)

26-Disposição do epitélio odontogênico: 1-Ilhas 2-Cordões 3-Revestimento 4-Ilhas/cordões 5- Ilhas/cordões/revestimento	__
27-Células basais do epitélio: 1- células colunares altas 2- células cuboidais	__
28-Células do interior das ilhas: 1-Tipo retículo estrelado 2-Fusiforme 3-Basal 4-Granular 5-com degeneração escamosa	__
29-Disposição em paliçada: 1-Presente 2-Ausente	__
30-Polaridade reversa: 1-Presente 2-Ausente	__
31-Hipercromatismo do núcleo das células basais: 1-Sim 2-Não	__
32-Vacuolização do citoplasma das células basais: 1-Sim 2-Não	__
33-Formações mineralizadas: 1- Presentes 2-Ausentes	__
34-Formação de queratina: 1-Sim 2-Não	__
35-Estroma: 1-Fibroso 2-Frouxo 3-Colageinizado 4-Misto Fib/Fro	__
36-Degeneração cística: 1-No interior das ilhas 2-No estroma	__
37-Cápsula cística: 1- Presente 2-Ausente	__
38-Infiltração do epitélio ameloblastomatoso na parede cística: 1-Sim 2-Não	__
39-Extensão do epitélio ameloblastomatoso na cavidade cística: Sim 2-Não	__
40-Padrão: 1-Folicular 2-Plexiforme 3- Desmoplásico 4-Folicular/ Acantomatoso 5- Folicular/ células granulares 6- Folicular/Células basais 7-Folicular/fusiforme	__
41-Classificação: 1-A-S/M folicular 2-A-S/M folicular acantomatoso 3-A-S/M folicular de céls granulares 4-A-S/M folicular de céls basais 5- A-S/M folicular de céls fusiformes 6-A-S/P plexiforme 7- A-E/P A-D 9-A-U luminal e intramural 10-A-U luminal 11-A-U luminal e intraluminal 12-A-U luminal, intraluminal e intramural	__

DADOS DO TRATAMENTO DA LESÃO

42-Diagnóstico inicial feito por: 1-Serviço Anat.Patol 2-Unidade de Saúde 3- Dentista particular	__
43-Idade do paciente na época do primeiro diagnóstico (em anos):	__
44-Tempo decorrido entre primeiro diagnóstico e o acesso ao serviço	__
45-Exames imaginológicos para diagnóstico e planejamento : 1-Panorâmica (PAN) 2-Oclusal 3-Tomografia computadorizada (TC) 4- Cone Beam (CB) 5- Ressonância Magnética (RM) 6- Panorâmica e oclusal 7-Panorâmica e periapical 8-Panorâmica e Cone Beam 8-Panorâmica e TC 10- PA 11- Panorâmica e PA 12-Panoramica,periapical e oclusal	__
46-Tipo de biópsia: 1-Excisional (EXC) 2- Incisional (INC)	__
47-Realização de biópsia antes da excisão do tumor: 1-Sim 2-Não	__
48-Tratamento: 1-Marsupialização/descompressão (MARS) 2-Enucleação (EN) 3-Descompressão e enucleação (EN) 4- Curetagem (CUR) 5-Enucleação e curetagem 6- Ressecção marginal 7- Ressecção parcial 8- Ressecção composta	__
49-Tempo de descompressão em meses:	__
50-Regressão da lesão após descompressão: 1-Sim 2-Não	__

4 CAPÍTULO 2

Análise de critérios histopatológicos na reclassificação de ameloblastomas: estudo retrospectivo

4.1 RESUMO

O reconhecimento da existência das variantes do ameloblastoma e a exclusão do ameloblastoma desmoplásico do espectro histopatológico do ameloblastoma sólido, para se tornar uma entidade distinta, foram alterações importantes trazidas pela nova classificação dos Tumores Odontogênicos, publicada em 2005 pela Organização Mundial da Saúde, e tiveram reflexo em estudos epidemiológicos com alterações na prevalência dos mesmos. **Objetivo:** analisar microscopicamente os casos de ameloblastomas diagnosticados pelo Serviço de Anatomia Patológica do Curso de Odontologia da Universidade Federal do Espírito Santo (SAPB-UFES), desde a sua instituição, em 2004 até dezembro de 2010 e reclassificar de acordo com a nova classificação da Organização Mundial da Saúde. **Método:** Os 42 espécimes de ameloblastomas embebidos em parafina e fixados com formalina 10%, pertencentes ao arquivo do SAPB-UFES, foram submetidos à cortes de 3µm de espessura e corados por hematoxilina/eosina para seleção de 13 lâminas representativas das lesões. Os dados histológicos foram coletados em uma ficha desenhada especialmente para esse fim. Foram considerados critérios de Vickers e Gorlin e de Warldron e El-Mofty, além de outras características como: a disposição do epitélio odontogênico, o tipo celular presente na camada basal e nas áreas centrais do parênquima tumoral, a formação de queratina e de estruturas mineralizadas, a densidade do estroma, degeneração cística, presença de infiltração do epitélio odontogênico nas paredes e nas cavidades císticas de cada lesão. **Resultados:** foram encontrados 06 casos de ameloblastomas sólido (04 do subtipo acantomatoso e 02 casos de plexiforme); quatro unicísticos (01 luminal; 01 luminal, intraluminal e intramural; e 02 luminal e intramural); 3 casos de desmoplásicos, sendo 02 lesões híbridas e nenhum caso de ameloblastoma periférico. **Conclusão:**

quanto às variantes sólido, unicístico e periférico, os nossos achados são semelhantes a outros estudos publicados. Entretanto, o número de casos de A-D foi elevado em comparação a outros estudos epidemiológicos.

***Palavras-chave:** Ameloblastoma; Tumores odontogênicos; Classificação; Organização Mundial da Saúde; Histologia.

4.2 ABSTRACT

The recognition of variants of ameloblastoma and the exclusion of desmoplastic pattern of the spectrum of solid ameloblastomas to become a separate entity, were major changes brought by the new classification of Odontogenic Tumors (OTs), published in 2005 by the World Health Organization (WHO). These changes impacted the epidemiological studies and the prevalence of the same OTs.

Objective: To analyze cases of ameloblastomas diagnosed at Anatomical and Pathology Service of the School of Dentistry, Federal University of Espírito Santo (AOPS-UFES), since its establishment in 2004 until December 2010 and to reclassify them according to the new classification of the WHO. **Methods:** 42 specimens of ameloblastomas formalin-fixed, paraffin-embedded were retrieved, sliced in 3- μ m-thick and stained by Hematoxylin/Eosin. Thirtenn representative slides of the lesions were selected. Data collection of histological features was performed in a data collection form designed especially for this purpose (Apêndice 1). Vickers and Gorlin and Warldron and El-Mofty criteria were applied, as well as other characteristics such as the arrangement of the odontogenic epithelium, cell type of basal layer and central areas, tumor parenchyma, focal keratinized areas and presence of mineralized tissues on stroma, cystic degeneration, infiltration of odontogenic epithelium on cavities and cystic walls, were observed and noted. **Results:** Six solid ameloblastoma (04 acanthomatous and 02 plexiform subtypes), four unicystic (01 luminal; 01 luminal, intraluminal and intramural; and two luminal and intramural), 03 desmoplastic (02 hybrid lesions and e strictly desmoplastic) were found. There was no cases of peripheral type. **Conclusion:** our findings are similar to other studies concerning solid, unicystic and peripheral types. However, the number of cases of AD was high compared to other epidemiological studies.

Key words: Ameloblastoma; Odontogenic tumors; Classification; World Health Organization; Histology

4.3 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde revisa periodicamente as classificações dos tumores que afetam o ser humano. No ano de 2005 foram publicados cinco novos livros, sendo o quarto livro dedicado à nova classificação dos Tumores de Cabeça e Pescoço. Esse por sua vez, traz em seu capítulo de número seis, a nova classificação dos Tumores Odontogênicos (TOs), cuja última classificação datava de 1992. Durante esse intervalo de tempo, vários estudos sobre biologia molecular e genética possibilitaram um melhor entendimento do comportamento dos TOs. O fato de alguns desses tumores apresentarem características de invasividade e, por conseguinte, serem tratados de forma radical, despertou o interesse de patologistas bucais e cirurgiões bucomaxilofaciais que catalogam e estudam esses tumores há várias décadas, buscando sobretudo o desenvolvimento de modalidades de tratamento mais adequadas principalmente, técnicas mais conservadoras (SAUK, 2010).

Em 1970 os pesquisadores Robert A. Vickers e Robert J. Gorlin publicaram um estudo sobre as características histológicas do ameloblastoma, que se tornou referência para o diagnóstico desse tipo tumor odontogênico. Segundo esses autores, os ameloblastomas apresentam: *camada basal do epitélio odontogênico formada por células colunares, dispostas em paliçada, com vacuolização do citoplasma, hipercromatismo e polaridade reversa do núcleo* (FIGURA 1)

Após a publicação da primeira edição de Tumores e Cistos Odontogênicos e Lesões Relacionadas, pela OMS, em 1971, houve um aumento no interesse dos cientistas em pesquisar esses tumores e publicar seus achados (PHILIPSEN; REICHART, 2006).

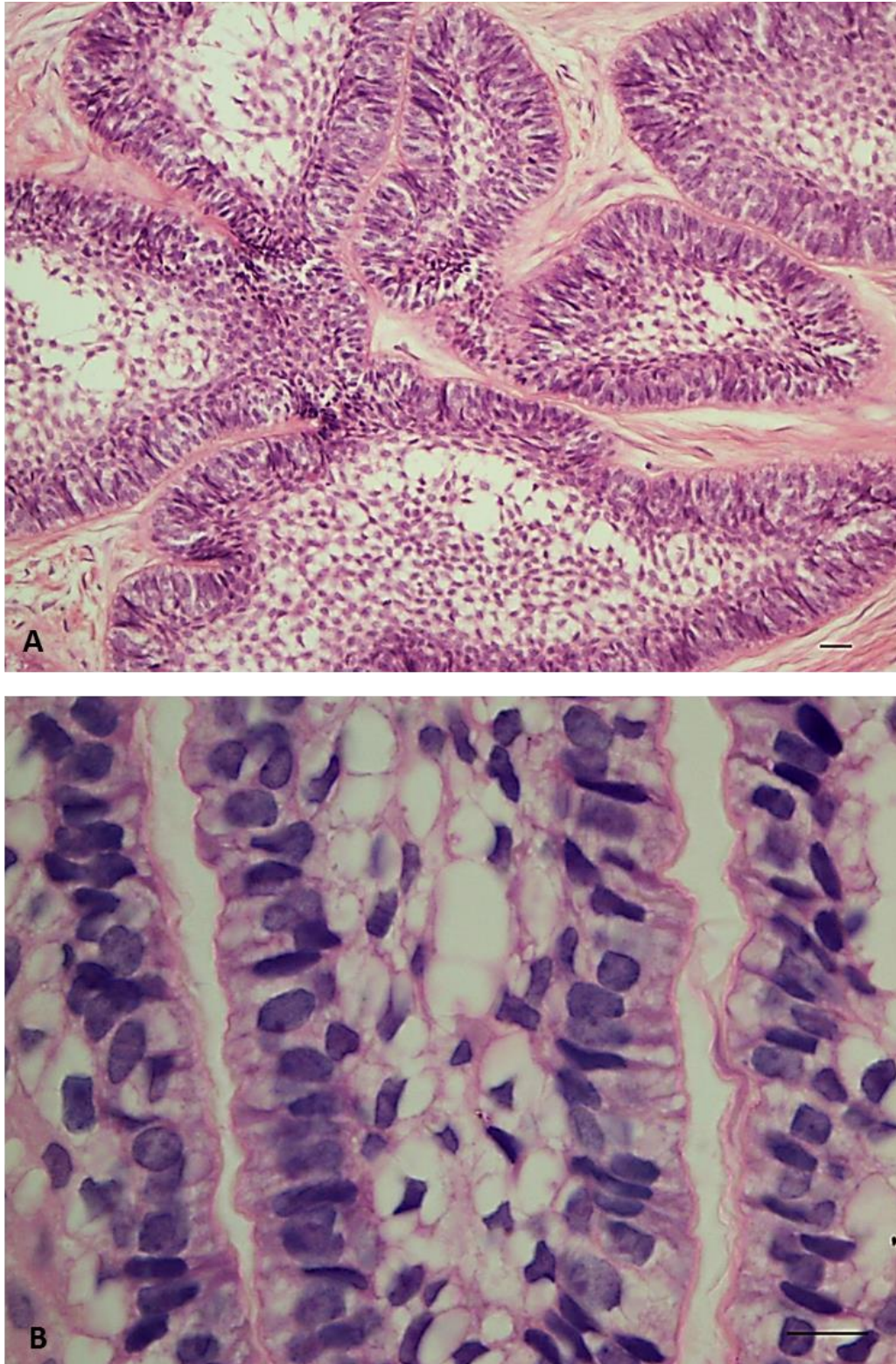


Figura1 **Cr terios de Vickers e Gorlin:**(A) Ameloblastoma folicular mostrando disposi o do ep t lio odontog nico em pali ada. Barra de escala: 20 m. (B) Ameloblastoma plexiforme mostrando vacuoliza o do citoplasma, disposi o do ep t lio odontog nico em pali ada, polaridade reversa do n cleo e hiperchromatismo nuclear. Colora o HE. Barra de escala: 10 m.

Devido aos conhecimentos adquiridos sobre a embriogênese oral e maxilofacial e sobre novas entidades tumorais, uma nova classificação foi elaborada pela OMS em 1992 (LAWALL, 2009). Em 2005 foi publicada a mais recente classificação da OMS, dividida em cinco livros. O livro sobre a classificação dos Tumores da Cabeça e do Pescoço foi publicado em julho de 2005. Participaram da elaboração do capítulo seis: *Tumores Odontogênicos e Lesões Ósseas Relacionadas* um time de renomados patologistas gerais e bucais, que utilizaram como referência para redação do capítulo os manuscritos resultantes da Conferência de Consenso Final realizada em Lyon no ano de 2003, na qual a terminologia dos tumores foi largamente debatida e acordada.

Um dado importante dessa nova classificação é que foi reconhecida a existência de variantes do ameloblastoma, sendo usado agora o termo no plural: *ameloblastomas*. Baseada no comportamento das lesões, a classificação proposta pela OMS em 2005, dividiu as lesões em benignas, malignas e não neoplásicas. As lesões benignas foram subdivididas com base nos tipos de tecido odontogênico envolvidos: *epitélio odontogênico com estroma maduro e fibroso, sem ectomesênquima odontogênico; epitélio odontogênico com ectomesênquima odontogênico, com ou sem formação de tecidos mineralizados; mesênquima e/ou ectomesênquima odontogênico com ou sem a presença de epitélio odontogênico.*

Os ameloblastomas foram incluídos no grupo de lesões benignas, derivadas do epitélio odontogênico sem ectomesênquima odontogênico, e podem originar-se de remanescentes do epitélio reduzido do esmalte, de restos epiteliais de Mallassez, ou da camada de células basais do epitélio de revestimento da mucosa oral (SILVA et al., 2004). Se estes remanescentes estiverem situados externamente ao osso, nos tecidos moles da gengiva ou mucosa alveolar, poderão dar origem a ameloblastomas periféricos. Cistos odontogênicos e o epitélio de revestimento da gengiva são outras possíveis fontes de origem (ANGADI, 2010). Como dito anteriormente, foram reconhecidas variantes dos ameloblastomas, que são quatro: *ameloblastoma sólido/multicístico (A-S/M), ameloblastoma unicístico (A-U), ameloblastoma extra-ósseos/periférico (A-E/P) e ameloblastoma desmoplásico (A-D).*

As características histológicas das quatro variantes, segundo Gardner et al.(2005), responsáveis pela elaboração do tópico ameloblastomas do capítulo 6 da nova

classificação da OMS serão transcritas a seguir, com alguns acréscimos do Atlas de Histologia da OMS, escrito por Angadi (2010).

1. Ameloblastomas Sólidos/multicísticos: existem dois padrões básicos, o folicular e o plexiforme. Em ambos a atividade mitótica e o pleomorfismo celular raramente são observados. Misturas de diferentes padrões histológicos são comumente encontradas, e as lesões geralmente são classificadas com base no padrão predominante na lesão.

1.1 Ameloblastoma Folicular: é o tipo mais comum e prontamente reconhecível histologicamente. O padrão folicular consiste em ilhas de epitélio odontogênico com uma massa central de células poliédricas que lembram o retículo estrelado do órgão do esmalte, rodeadas por uma camada única de células cuboidais ou colunares altas, hipercromáticas, bem organizadas, com núcleo posicionado do lado oposto ao pólo da membrana basal, dispostas em paliçada lembrando pré-ameloblastos. Esta camada de células periféricas tende a mostrar vacuolização do citoplasma. As células centrais podem estar folgadoamente arranjadas, semelhante ao retículo estrelado, podendo degenerar-se formando áreas císticas. Dependendo do aspecto morfológico dessas células - fusiformes, basalóides, granulares ou mostrando diferenciação escamosa - os termos ameloblastoma de células fusiformes, de células basais, granular ou acantomatoso, respectivamente, tem sido usados. Podem ser observadas ainda, células fantasmas.

1.1.1 Ameloblastoma Acantomatoso: assemelha-se a um típico ameloblastoma folicular, exceto por apresentar uma metaplasia escamosa extensa, às vezes com formação de queratina dentro das ilhas de epitélio.

1.1.2 Ameloblastoma de Células Granulares: quando as células do retículo estrelado central apresentam extensa transformação em células granulares eosinofílicas, os tumores são chamados de ameloblastomas de células granulares. Às vezes esta mudança pode ser tão extensa que as células colunares periféricas podem ser substituídas, dificultando o diagnóstico, especialmente em biópsias pequenas. Ultraestruturalmente parece que os grânulos são constituídos por organelas pleomórficas osmiofílicas, parecidas com lisossomas.

1.1.3 Ameloblastoma de células basais: mostra um padrão predominante de células basalóides, dispostas em paliçada, fortemente coradas, com citoplasma mínimo e lembrando aquelas encontradas em carcinomas de células basais.

1.2 Ameloblastoma Plexiforme: Nesse subtipo o epitélio tumoral está disposto na forma de cordões ou trabéculas anastomosados, constituídos por uma camada de células cuboidais ou colunares, as quais circunscrevem discretas áreas centrais de aspecto semelhante ao retículo estrelado. Formação cística ocorre, mas geralmente originária da degeneração do estroma, ao invés de alterações císticas do epitélio. O estroma consiste em um tecido conjuntivo disperso e vascularizado.

2 Ameloblastoma Desmoplásico: é caracterizado por uma colagenização estromal extensiva ou desmoplasia rodeada por ilhas pequenas de epitélio odontogênico formando uma entidade distinta. A formação cística é comum e áreas tipo ameloblastos estão presentes apenas em pequenos sítios. Podem ser vistos ocasionalmente calcificações do estroma fibroso e formação óssea. A avaliação histoquímica do colágeno sugere que o estroma denso não se comporta como tecido cicatricial, mas apresenta síntese ativa de proteínas da matriz extracelular. (ANGADI, 2010).

3 Ameloblastoma Unicístico (AU): Esta variante é caracterizada histologicamente como um cisto único revestido por epitélio ameloblastomatoso e é subdividida em vários subgrupos, com base no padrão e extensão da proliferação ameloblastomatoso em relação à parede cística. A classificação modificada por Ackermann et al.(1988), é a seguinte:

3.1 AU Luminal: Lesão cística revestida por epitélio que exhibe diferenciação colunar e polaridade reversa das células da camada basal. O tecido conjuntivo adjacente ao epitélio geralmente exhibe uma faixa fina e uniforme, tipo área de hialinização.

3.2 AU Luminal e intraluminal: é o tipo simples, mas exhibe um ou mais nódulos projetados para dentro do lúmen. Não é visualizada extensão para dentro da parede circunjacente de tecido conjuntivo. Ocasionalmente pode produzir um padrão plexiforme intraluminal de epitélio odontogênico que perde a típica diferenciação ameloblastomatoso, e é chamado de ameloblastoma unicístico plexiforme.

3.2.3 AU Luminal, intraluminal e intramural: há ocorrência de proliferação intramural do ameloblastoma com características do subgrupo 3.2.

3.3 AU Luminal e intramural: exibe um cisto com um revestimento luminal em combinação com nódulos intramurais de tecido ameloblastomatoso. O tecido do ameloblastoma intramural pode ser visto como uma infiltração do revestimento cístico ou como ilhas soltas de ameloblastoma folicular.

4. Ameloblastoma Periférico/extra ósseo: Apresenta-se histologicamente com padrão folicular ou plexiforme, bem como com padrão acantomatoso. Na maioria dos casos o tumor está bem separado do epitélio de revestimento, mas muitos são confluentes com a mucosa de revestimento. Pode apresentar ilhas de epitélio odontogênico, geralmente lembrando a forma folicular do ameloblastoma multicístico. Estas ilhas comumente exibem a variação acantomatosa, com áreas centrais de formação de queratina.

5 Outras Variantes Raras: variante de células claras, que podem conter células claras PAS positivas localizadas nas áreas tipo retículo estrelado. Ceratoameloblastomas papilíferos parecem derivar de áreas de ameloblastomas com queratinização, ilhas tumorais com aparência papilífera junto com áreas císticas, parecendo ceratocistos odontogênicos. Células de muco também podem ser raramente encontradas em ameloblastomas (ANGADI, 2010).

Algumas variantes são apresentadas na Figura 2.

Segundo a OMS, as lesões que apresentam ambos os padrões desmoplásico e sólido são consideradas lesões híbridas. No entanto, Melrose (1999) afirma que o uso do termo “híbrido” não tem propósito claro e pode superestimar o significado de se observar áreas de A-D em combinação com ilhas de um A-S/M. Por isso, foi adotado nesse estudo a sugestão de Fulco (2010), de se incluir critérios propostos pelo estudo de Waldron e El-Mofty (1987) para classificação dos casos de A-D.

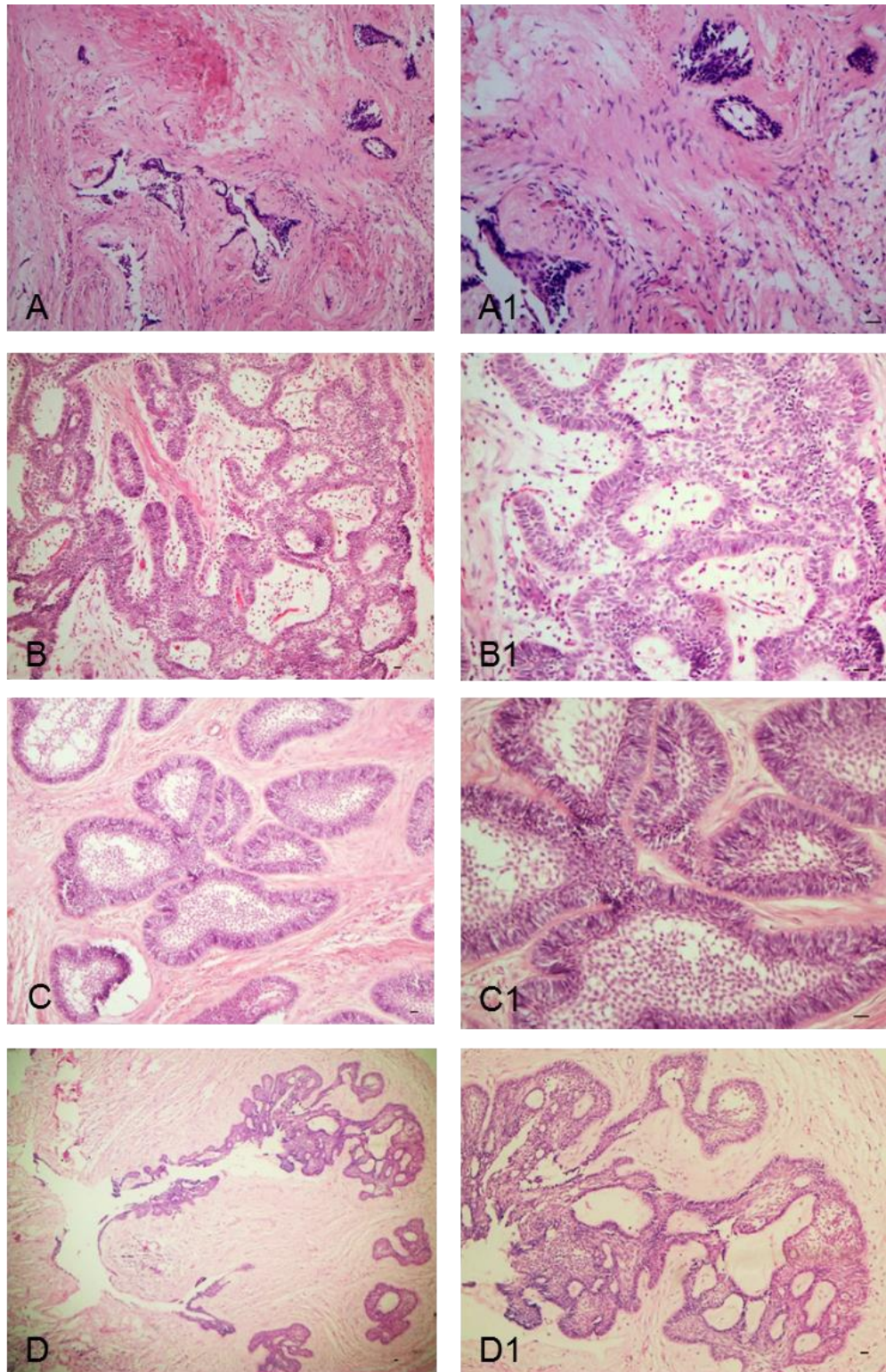


Figura 2 **Variantes de ameloblastomas.** (A) Desmoplásico: folículos irregulares em meio a um estroma colageinizado. (B) Sólido padrão plexiforme: cordões de epitélio odontogênico e estroma frouxo. (C) Sólido padrão folicular: ilhas de epitélio odontogênico e estroma denso. (D) Unicístico luminal e intramural: invasão de epitélio odontogênico na cápsula fibrosa. A1, B1, C1 e D1: mesmo corte em maior aumento. Coloração HE. Barra de escala: 20 μ m.

Segundo esses autores são considerados A-S/M as lesões constituídas pelos padrões: folicular, acantomatoso, plexiforme, de células basais e de células granulares, além das lesões constituídas por grandes massas que apresentam os padrões supracitados, associadas a áreas focais de A-D. Por outro lado, são considerados A-D as lesões constituídas exclusivamente pelo padrão desmoplásico e as lesões com esse padrão associado a raras ilhas com aspecto similar ao padrão folicular dos ameloblastomas sólidos. Já as lesões híbridas são constituídas por massas de A-D associada a grandes áreas significativas de A-S/M (FIGURA 3).

A publicação da nova classificação proposta pela OMS gerou debates no meio científico, por haverem pontos controversos, como por exemplo, a exclusão dos cistos odontogênicos e a inclusão do ceratocisto odontogênico na categoria de tumores benignos, bem como a inclusão de A-D como uma variante distinta de ameloblastomas (REICHART; PHILIPSEN E SCIUBBA, 2006). Após o ano de 2005, foram publicados na literatura novos estudos epidemiológicos sobre TOs, adotando a nova classificação. A redefinição de tumor odontogênico ceratocístico provocou um aumento na frequência e prevalência de TOs (GAITÁN-CEPEDA, et al., 2010). Ao passo que os ameloblastomas que ocupavam o segundo lugar em grandes levantamentos epidemiológicos (BHASKAR, 1968; REGEZI; KERR e COURTNEY 1978; DAYLEY; WYSOCKI; PRINGLE, 1994, MOSQUEDA-TAYLOR et al., 1997), passaram a ser precedidos na lista dos mais prevalentes pelos tumores odontogênicos ceratocísticos (TOCs), como nos estudos de Avelar et al. (2008) e Luo e Li (2009).

Como os ameloblastomas desmoplásicos foram excluídos do espectro histopatológico do ameloblastoma sólido, alguns estudos publicados após 2005 apresentam redução na prevalência dos A-S/M.

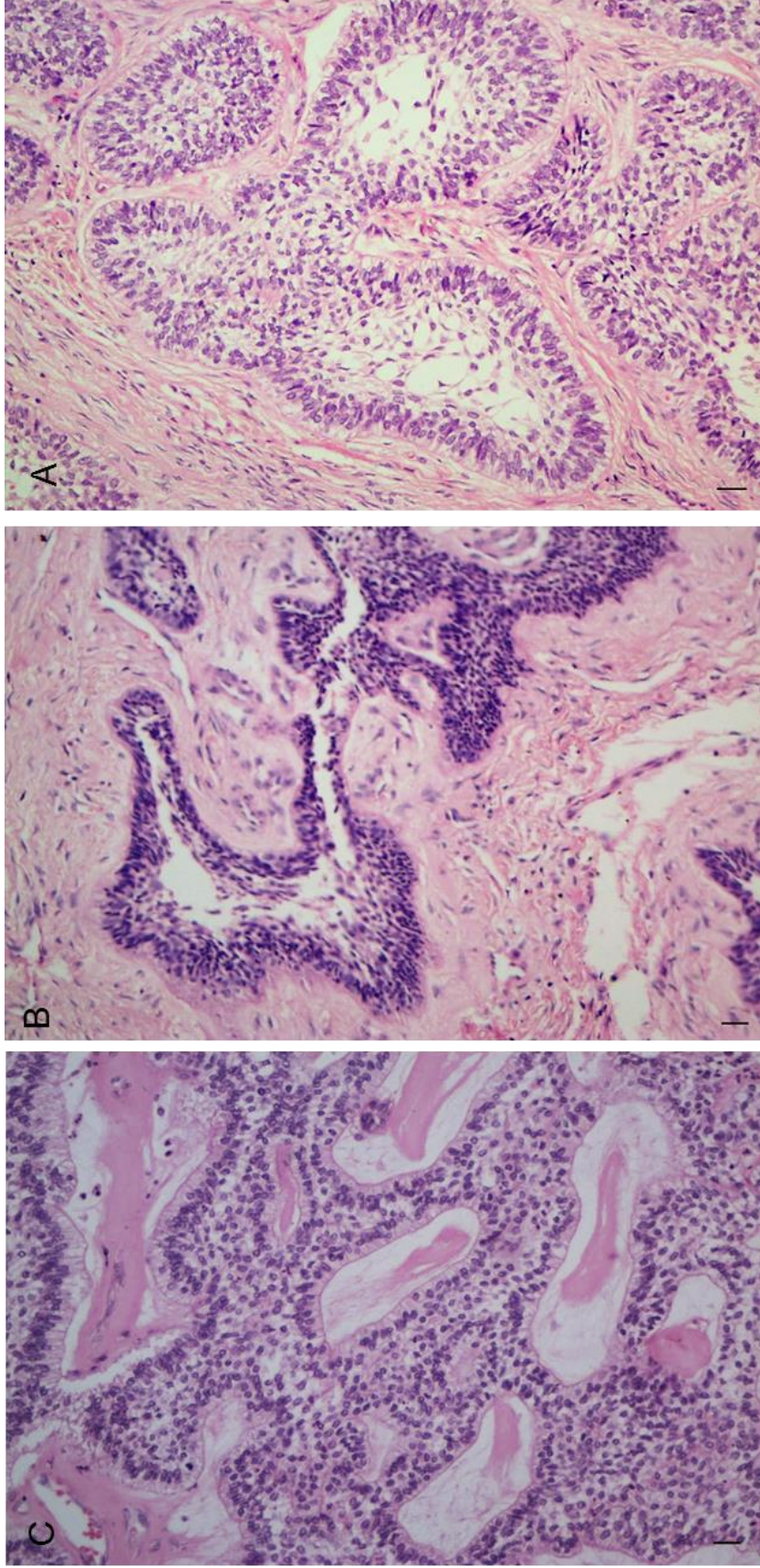


Figura 3. Três padrões histológicos no mesmo espécime. (A) Padrão folicular com ilhas de epitélio odontogênico, em meio a estroma denso; (B) Padrão desmoplásico com folículos irregulares e estroma colagenizado e (C) Padrão plexiforme com cordões de epitélio odontogênico em meio a um estroma frouxo. Coloração HE. Barra de escala: 20 μm .

Descritos pela primeira vez por Eversole, em 1984, os A-D são uma variante rara, somando entre 4% a 13% dos ameloblastomas (WALDRON; EL-MOFTY, 1987; PHILIPSEN; REICHART; TAKATA, 2001).

Afetam áreas que comumente não são afetadas pelas demais variantes, além de apresentarem diferentes características clinicorradiográficas. Na maioria dos casos o A-D só é diagnosticado após a remoção completa do tumor (SUN et al., 2009). Foi proposto que a desmoplasia característica dos desmoplásicos, tenha origem na síntese de novas proteínas derivadas da matriz extracelular, onde tais componentes desempenham um papel fundamental no suporte, na adesão, proliferação, migração e diferenciação das células tumorais, interferindo no comportamento e modulação das células tumorais (PHILIPSEN et al., 2001).

O objetivo dessa pesquisa foi analisar os aspectos histológicos de cada lesão diagnosticada como ameloblastoma pelo Serviço de Anatomia Patológica da UFES, e reclassificá-las com base nos critérios diagnósticos descritos na literatura.

4.4 MATERIAL E MÉTODO

Estudo retrospectivo de todos os casos de pacientes portadores de ameloblastomas atendidos pelo Programa de Prevenção e Diagnóstico Precoce de Câncer de Boca e Lesões Bucais cujos laudos foram emitidos pelo Serviço de Anatomia Patológica (SAPB) do Departamento de Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo, no período de março de 2004 a dezembro de 2010 (UFES). A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFES sob o número 235/10.

O SAPB-UFES guarda em seus arquivos quarenta e dois espécimes de ameloblastomas, embebidos em parafina. Esses espécimes referem-se a biópsias incisórias e excisionais de lesões tumorais provenientes de treze pacientes. Para a inclusão dos espécimes no estudo foi estabelecido que, além do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelo paciente, os blocos deveriam

conter material suficiente para confecção de novas lâminas histológicas, bem como o registro das informações sobre dados sociodemográficos do paciente e dados da lesão. Alguns espécimes que continham tecido ósseo e dentes foram submetidos ao processo de descalcificação em ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), antes da inclusão em parafina. Foram feitos cortes seriados com 3µm de espessura em micrótomo manual (Leica RM 212 RT, Leica Biosystems Nussioch GmbH, Alemanha). As navalhas utilizadas eram revestidas com politetrafluoretileno-PTFE (Duraedge, EasyPath, Brasil);

Os cortes passaram por uma solução de álcool a 30% com a finalidade de esticá-los e depois imersos em banho maria a 45°C (Lupetec BH 05), e pescados com lâminas não silanizadas, previamente limpas com álcool e devidamente identificadas.

As lâminas foram mantidas em estufa (FANEM 900Kw, modelo 310, Brasil) por 24 horas, a 40°C para secagem.

Após a desparafinização em estufa a 60°C, por 40 minutos, as lâminas foram colocadas em berços apropriados e passaram pela sequência de soluções descritas no protocolo da hematoxilina e eosina (HE) adotado pelo Grupo de Estudos em Patologia Bucal da UFES, descrito a seguir:

Desparafinização em Xilol II puro previamente aquecido a 60°C: imersão por 5 minutos, seguido por Xilol I puro em temperatura ambiente: imersão por 5 minutos e álcool/xilol (proporção 1:1): imersão por 5 minutos. Desidratação em banhos com concentração decrescente de álcool (álcool absoluto II; álcool absoluto I; álcool 90% e álcool 80%): imersão por 5 minutos cada. Lavagem em água corrente por 5 minutos. A seguir foi feita imersão por 8 minutos em Hematoxilina de Harris, previamente filtrada, e logo em seguida um mergulho em álcool ácido (1% de HCl e 99% de etanol). Os cortes foram lavados em água corrente por 5 minutos, e em seguida mergulhados em álcool 80%. Imersão em eosina por 3 minutos, e em álcool 80% e 90% por 1 minuto cada. Seguiu-se imersão em álcool/xilol (proporção 1:1), Xilol I puro e imersão por 3 minutos Xilol II puro com imersão por 3 minutos cada. Para montagem das lâminas foi utilizado Bálsamo do Canadá.

Os excessos de bálsamo foram removidos e as lâminas etiquetadas foram guardadas para secagem completa.

Após a coloração os cortes foram examinados em microscópio óptico (Olympus AX70, Olympus America Inc., NY, USA) para a seleção das treze lâminas que melhor

representassem cada lesão. As lâminas selecionadas foram etiquetadas e separadas para a reclassificação. As não selecionadas foram arquivadas. Dois examinadores foram calibrados tendo como padrão-ouro um experiente Patologista Bucal da UFES. O índice Kappa obtido foi superior a 80. Os dados sobre as características histológicas das lesões foram coletados em uma ficha desenhada especificamente para esse estudo. Os critérios de Vickers e Gorlin (1970) foram verificados em cada lâmina ao passo que os critérios de Waldron e El-Mofty (1987) foram observados para os casos de A-D. Além desses critérios, foram coletados dados sobre a disposição do epitélio odontogênico, o tipo celular presente na camada basal e nas áreas centrais do parênquima tumoral, a formação de queratina e de estruturas mineralizadas, a densidade do estroma, degeneração cística, presença de infiltração do epitélio odontogênico nas paredes e nas cavidades císticas.

Os dados sobre as características histológicas foram tabulados em planilha Excel versão 2010 (Microsoft Corporation) para posterior confecção de tabelas.

Os dados epidemiológicos, clínicos, imaginológicos, imuno-histoquímicos, bem como os dados sobre tratamento, reabilitação e seguimento dos pacientes foram descritos e discutidos em outros capítulos. Foram elaborados dois quadros com o resumo dos critérios diagnósticos para ameloblastomas, desenvolvidos com base nessas características e apresentados nos Apêndices 1 e 2.

4.5 RESULTADOS

As lâminas selecionadas para reclassificação foram provenientes da ressecção do tumor em sete casos (53,85%), de espécimes que após a ressecção foram submetidos à descalcificação em EDTA em três casos (23,07%), e de três biópsias incisórias (23,07%).

Todos os espécimes preencheram completamente os critérios de Vickers e Gorlin, como demonstrado na Tabela 1, exceto um caso que não apresentou vacuolização citoplasmática, nem polarização reversa nas células da camada basal.

TABELA 1 – ANÁLISE DOS AMELOBLASTOMAS : CRITÉRIOS DE VICKERS E GORLIN

Caso	Origem da lâmina	Paliçada	Polaridade Reversa	Hipercromatismo	Vacuolização
1	Biópsia incisional	Sim	Sim	Sim	Sim
2	Biópsia excisional	Sim	Sim	Sim	Sim
3	Pós EDTA	Sim	Sim	Sim	Sim
4	Biópsia excisional	Sim	Não	Sim	Não
5	Pós EDTA	Sim	Sim	Sim	Sim
6	Biópsia excisional	Sim	Sim	Sim	Sim
7	Biópsia incisional	Sim	Sim	Sim	Sim
8	Biópsia excisional	Sim	Sim	Sim	Sim
9	Biópsia excisional	Sim	Sim	Sim	Sim
10	Biópsia incisional	Sim	Sim	Sim	Sim
11	Biópsia excisional	Sim	Sim	Sim	Sim
12	Pós EDTA	Sim	Sim	Sim	Sim
13	Biópsia excisional	Sim	Sim	Sim	Sim

Disposição do epitélio odontogênico: em seis casos (46,15%) o epitélio odontogênico apresentava-se na forma de ilhas ou folículos. Em quatro lâminas (46,15%) observamos o epitélio disposto ora em cordões ora em ilhas, enquanto a disposição unicamente em cordões foi encontrada em somente um caso (7,69%). De igual maneira, só uma lâmina (7,69%) apresentou o epitélio odontogênico somente como revestimento.

Na maioria dos casos (92,30%) as células da camada basal eram do tipo colunar alta e em um caso (7,69%) eram do tipo cuboidal. As células do parênquima tumoral mostravam arranjo frouxo, tipo retículo estrelado em sete lâminas (53,84%), e apresentaram degeneração escamosa em quatro casos (30,76%). Houve formação de queratina em cinco casos (38,46%) e nenhum caso apresentou formação de estruturas mineralizadas.

Um estroma fibroso foi encontrado em cinco casos (38,46%), ao passo que um estroma frouxo foi observado em quatro (30,76%). O estroma desmoplásico, bem colageinizado foi encontrado em três lâminas (23,07%). As degenerações do tipo císticas foram observadas tanto no estroma quanto no parênquima tumoral em sete lâminas (53,84%); e apenas no parênquima em cinco (38,46%) casos.

A presença de cápsula fibrosa foi observada em quatro lâminas (30,76%), sendo que a parede cística foi infiltrada por epitélio odontogênico em três casos (23,07%).

Classificação: dos seis A-S/M diagnosticados, quatro eram do tipo acantomatoso e dois eram plexiformes. Dentre os A-D, dois eram lesões híbridas e um apenas padrão estritamente desmoplásico. Os A-U apresentaram os subtipos luminal; luminal e intramural; e luminal intraluminal e intramural, sendo que a infiltração do epitélio odontogênico na parede cística apresentou o padrão folicular. O Gráfico 1 mostra a classificação de acordo com as quatro variantes reconhecidas pela OMS.

Os subtipos histológicos de cada variante são apresentados no Gráfico 2. As características histológicas, bem como a reclassificação das lesões estão apresentadas em três tabelas diferentes, de acordo com as três variantes de ameloblastomas encontradas nesse estudo. A tabela 2 traz os casos de A-M/S, a Tabela 3 mostra os A-U e a Tabela 4 refere-se aos casos de A-D.

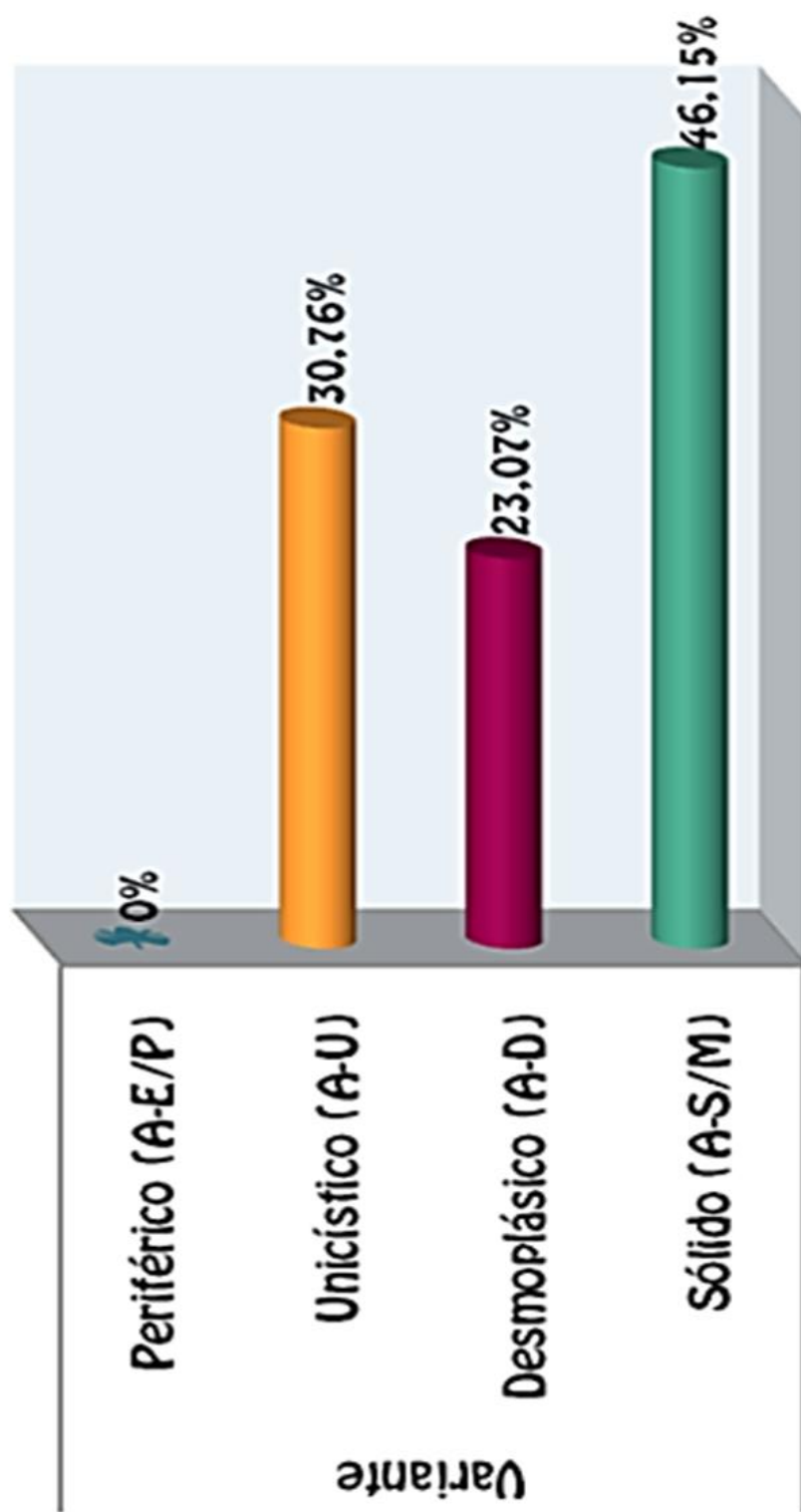


Gráfico 1 – Distribuição dos ameloblastomas diagnosticados no SAPB de acordo com a variante

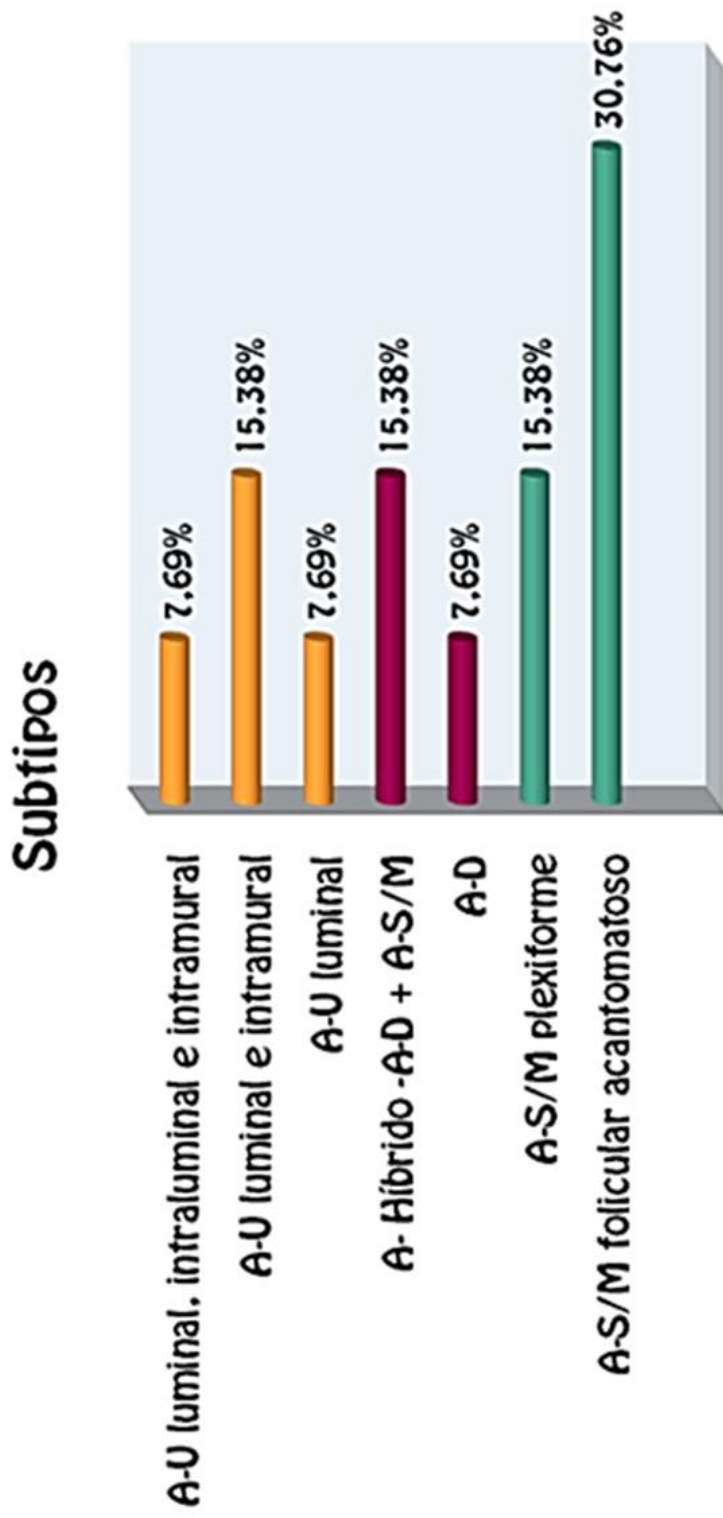


Gráfico 1 – Distribuição de casos de ameloblastomas diagnosticados no SAP-UFES por subtipo histológico

Tabela 2. Características histológicas dos Ameloblastomas Sólidos/Multicísticos diagnosticados no SAPB

Ne Identificação	Epitélio Odontogênico	Células Basais	Células Centrais	Degen. Cística	Queratina	Estroma	Padrão	Classificação
1- P 060/04	Ilhas	Colunar	Metaplasia escamosa	Parênquima	Sim	Fibroso	Folicular/Aca ntomatoso	A-S/M folicular acantomatoso
2- P 004/05	Cordões/ ilhas	Colunar	Retículo estrelado	Estroma/Pa rênquima	Não	Fibroso/ Frouxo	Plexiforme	A-S/M plexiforme
6 - P 020/07	Ilhas	Colunar	Metaplasia escamosa	Parênquima	Sim	Fibroso	Folicular/Aca ntomatoso	A-S/M folicular acantomatoso
7- P 012/08	Cordões/ ilhas	Colunar	Retículo estrelado	Estroma/Pa rênquima	Não	Frouxo	Plexiforme	A-S/M plexiforme
9- P 044/09	Ilhas	Colunar	Metaplasia escamosa	Parênquima	Sim	Fibrous	Folicular/Aca ntomatoso	A-S/M folicular acantomatoso
11- P 126/10	Ilhas	Colunar	Metaplasia escamosa	Estroma/P arênquima	Sim	Fibrous/ Frouxo	Folicular/Aca ntomatoso	A-S/M folicular acantomatoso

Tabela 3. Características histológicas dos Ameloblastomas Unicísticos diagnosticados no SAPB

Caso	Epitélio odontogênico	Células Basais	Cápsula	Infiltração na parede	Extensão intraluminal	Padrão	Classificação
4- P 039/06	Cordões	Cuboidal	Sim	Sim	Sim	Plexiforme	A-U luminal, intraluminal e intramural
10- P 016/08	Revestimento	Colunar	Sim	Não	Não	Plexiforme	A-U luminal
12- P 095/09	Ilhas	Colunar	Sim	Sim	Não	Folicular	A-U luminal e intramural
13- P 027/10	Revestimento/i-lhas e cordões	Colunar	Sim	Sim	Não	Folicular	A-U luminal e intramural

Tabela 4. Características histológicas dos Ameloblastomas Desmoplásicos diagnosticados no SAPB

Caso	Epitélio Odontogênico	Células Basais	Células Centrais	Degener. Cística	Queratina	Estroma	Padrão	Classificação
3- P 118/05	Ilhas	Colunar	Retículo estrelado	Células Centrais	Sim	Colageinizado	Desmoplásico/Folicular acantomatoso	Lesão Híbrida
5- P 083/06	Ilhas	Colunar	Retículo estrelado	Células Centrais	Sim	Colageinizado	Desmoplásico	A-D
8- P 045/08	Cordões / Ilhas	Colunar	Retículo estrelado	Parênquima	Sim	Colageinizado	Desmoplásico/Folicular acantomatoso	Lesão Híbrida

4.6 DISCUSSÃO

Os novos critérios adotados pela OMS geraram um impacto nos estudos epidemiológicos, especialmente no que tange aos ameloblastomas. Muito embora a nova nomenclatura tenha sido publicada em 2005, leva-se tempo até que essa reestruturação seja de fato aplicada. Esse trabalho propôs-se a analisar todos os casos de ameloblastomas biopsiados pelo SAPB-UFES no período de 2004 a 2010, reclassificando-os conforme os critérios adotados em 2005. Dentre os espécimes obtidos, alguns continham dentes no bloco de tecido ósseo removido durante as ressecções parciais e marginais, e os espécimes ainda se encontram em processo de descalcificação. Nesses casos usamos as lâminas obtidas dos espécimes de biópsia incisional ou de tecido mole coletados durante a biópsia excisional. Alguns casos submetidos à descompressão apresentaram diferenças entre a lâmina da biópsia incisional e a lâmina da ressecção do tumor. Porém, as causas dessa diferença não foram investigadas nesse estudo.

O fato de os espécimes preencherem os critérios de Vickers e Gorlin reforçam que as lesões foram corretamente classificadas como ameloblastomas, ao passo que a observação das demais características permitiu-nos estabelecer quais eram os padrões histológicos de cada lesão. Não foram encontradas formações de tecidos mineralizados.

Não foi diagnosticado pelo serviço nenhum caso de A-E/P, o que corrobora com os achados de Lawall (2009).

Os A-S/M foram os mais prevalentes, o que está de acordo com outros estudos epidemiológicos (BUCHNER et al., 2006; LUO E LI, 2009) e em discordância com os achados de Ledesma-Montes et al. (2007), que encontraram mais casos de A-U em seu estudo e salientaram que 70,9% dos casos de unicísticos haviam sido originalmente classificados como A-S/M plexiformes.

Os casos de A-S/M encontrados em nesse estudo apresentaram-se com os padrões folicular e plexiforme. Em dois espécimes encontramos os dois tipos de padrão, sendo essas lesões classificadas de acordo com o padrão predominante, conforme

orientação da OMS (WHO, 2005). No presente estudo houve predominância de casos de padrão folicular, o que está de acordo com o estudo retrospectivo em dois centros de estudo no Brasil e três no México realizado por Lawall (2009). Reichart e Philipsen (2004), bem como Barnes et al. (2005), consideram que a maior parte dos ameloblastomas apresenta mais de um padrão microscópico e que esse fato não apresenta significância clínica.

Waldron e El-Mofty (1987) foram os primeiros a caracterizar a lesão híbrida de ameloblastoma. À semelhança dos ameloblastomas desmoplásicos, as lesões híbridas são incomuns, constituindo entre 1,1%¹⁰ e 4,5% de todos ameloblastomas (FULCO et al., 2010).

Foram diagnosticados nesse estudo três A-D (23,07%), sendo duas lesões híbridas e um A-D, em um total de 13 casos de ameloblastomas, enquanto no estudo de Ledesma-Montes et al.(2007), foram encontrados apenas dois A-D num total os 163 ameloblastomas. Costa et al. (2008) em estudo retrospectivo de 10 anos identificaram 23 ameloblastomas e nenhum desmoplásico dentre eles. De igual forma, no levantamento de Lawall (2009) não foram encontrados A-D. No estudo de Sun e colaboradores (2009), a incidência de A-D variou de 0,9% a 12,1%.

Nas lesões híbridas, as áreas de ameloblastoma sólido geralmente se apresentam constituídas pelos padrões histológicos plexiforme e folicular. Neste último, focos de metaplasia escamosa e ceratinização também têm sido descritos. Os achados do presente estudo concordam com estas observações.

Adebiyi et al. (2006) e Waldron e El-Mofty (1987), destacam que os ameloblastomas, particularmente os de grandes dimensões, são constituídos por diversos padrões histológicos. Para estes autores, a quantidade de tecido disponível para análise desempenha influência importante na determinação do padrão histológico predominante nos ameloblastomas. Dessa forma, é possível que as diferenças identificadas entre a presente pesquisa e os estudos de Costa et al. (2008) e Lawall 2009 esteja, em parte, relacionada à quantidade de material disponível para avaliação microscópica. No presente estudo foram analisadas as lâminas oriundas da biópsia incisional e excisional, e foram obtidas lâminas após o processo de descalcificação em EDTA. Além disso, os achados histopatológicos foram complementados com as características imagiológicas e clínicas dos pacientes. As

radiografias mostraram áreas radiopacas e radiolúcidas, e em um dos casos o tumor acometeu a região anterior da mandíbula, chegando a ultrapassar a linha média.

Com relação às lesões híbridas de ameloblastoma não estão completamente esclarecidos alguns aspectos dessa variante. Não foi determinado se áreas de ameloblastoma desmoplásico sofrem transformação para um ameloblastoma sólido ou, se as alterações desmoplásicas ocorrem secundariamente no estroma de um ameloblastoma sólido (PHILIPSEN et al., 2001). Para Waldron e El-Mofty (1987), a ausência de alterações desmoplásicas apreciáveis na maioria das lesões sólidas analisadas em seu estudo alicerçaria a primeira hipótese.

Em uma das lâminas do presente estudo foi possível identificar claramente a mudança de padrão do estroma e das características das ilhas de epitélio odontogênico, na região de transição do padrão folicular para o desmoplásico. Investigações biomoleculares e imuno-histoquímicas sobre o estroma dos ameloblastomas desmoplásicos poderão elucidar as interações e sinalizações entre parênquima e estroma tumoral.

4.7 CONCLUSÃO

Os ameloblastomas sólidos foram a variante com maior número de casos. O subtipo histológico acantomatoso foi o mais encontrado. Os ameloblastomas sólidos plexiformes apresentaram áreas de padrão folicular. Os ameloblastomas unicísticos com invasão mural apresentaram os padrões folicular e plexiforme. Foi encontrado um alto percentual de ameloblastomas desmoplásicos nesse estudo. Investigações biomoleculares e imuno-histoquímicas sobre o estroma dos ameloblastomas desmoplásicos poderão elucidar as interações e sinalizações entre parênquima e estroma tumoral.

4.8 REFERÊNCIAS

ADEBIYI, K. E.; UGBOKO, V.I.; OMONIYI-ESAN, G. O.; NDUKWE, K.C.; OGINNI, F.O. Clinicopathological analysis of histological variants of ameloblastoma in a suburban Nigerian population. **Head Face Med.**, v.2, n.42, 2006. Disponível em: <http://www.head-face-med.com/content/2/1/42>.

ANGADI, P. V. Head and neck: odontogenic tumor: ameloblastoma. **Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.** May, 2010. Disponível em: <<http://AtlasGeneticsOncology.org/Tumors/ameloblastomID5945.html>>. Acesso em 21 de julho de 2010.

AVELAR, R. L.; ANTUNES, A. A., SANTOS, T. S.; ANDRADE, E. S.; DOURADO. E. Odontogenic tumors: clinical and pathology study of 238 cases. **Braz J Otorhinolaringol**, v. 74, n. 5; p.668-673, 2008.

BARNES, L.; EVERSON, J. W.; REICHART, P. A.; SIDRANSKY, D. **Pathology and Genetics of Head and Neck Tumors**, WHO Classification of Tumours, 2005

BHASKAR, S. N.; Oral Pathology in the dental office: survey of 20,575 biopsy specimens. **J Am Dent Assoc**, v. 76, n. 4, p. 761, 766. 1968.

BUCHNER, A; MERRELL, P.W.;CARPENTER ,W. M. Relative frequency of central odontogenic tumors: a study of 1,088 cases from Northern California and comparison to studies from other parts of the world. **J Oral Maxillofac Surg.**, v.64, n.9, p.1343-1352, Sep 2006.

DALEY, T.D.; WYSOCKI, G. P.; PRINGLE, G. A. Relative incidence of odontogenic tumors and oral jaw cysts in a Canadian population. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.** v. 77, n. 3, p. 276-280, 1994.

EVERSOLE, L. R.; LEIDER, A. S.; HANSEN, L. S. Ameloblastomas with pronounced desmoplasia. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 42, n. 11, p. 735-740, 1984.

FULCO, G. M.; NONAKA, C. F. W.; SOUZA, L. B.; MIGUEL, C. C.; PINTO, L. P. Ameloblastomas sólidos: estudo retrospectivo clínico e histopatológico em 54 casos. **Braz J Otorhinolaringol.**, v. 76, n. 2, p. 172-177, mar. abr. 2010.

GAITÁN-CEPEDA, L. A.; QUEZADA-RIVIERA, D.; TENORIO-ROCHA, F.; LEYVA-HUERTA, E. R. Reclassification of odontogenic keratocyst as tumor. Impact on the odontogenic prevalence. **Oral Diseases**, v. 16, p. 185-187, 2010.

GARDNER, D.G.; HEIKINHEIMO, K.; SHEAR, M.; PHILIPSEN, H. P.; COLEMAN, H. Ameloblastomas. In: BARNES, L.; EVESON, J. W.; REICHART, P. SIDRANSKY, D. World Health Organization Classification of Tumors. **Patology & Genetics of Head and Neck Tumors**. Lyon: IARC Press, 2005, p. 296-300.

GÜGHAN, O.; ERSEVEN, G.; RUACAN, S.; CELASUN, B.; AYDINTUG, Y.; ERGUN, E. et al. Odontogenic tumors. A series of 409 cases. **Aust Dent J**, v. 36, n. 6, p. 518-522, 1990.

KUMAMOTO, H.. Molecular alterations in development and progression of odontogenic tumors. **Oral Med. Pathol** n. 14, p. 121-130, 2010

LAWALL, M. A. **Estudo retrospectivo de tumores odontogênicos em dois centros de estudo no Brasil e três no México**. 2009. 170 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

LEDESMA-MONTES, C.; MOSQUETA-TAYLOR, A.; CARLOS-BREGNI, R.; ROMERO de LEÓN, E.; PALMA-GUZMÁN, J. M.; PÁEZ-VALENCIA, C.; MENESES-GARCIA, A. Ameloblastomas: a regional Latin-American multicentric study. **Oral Diseases**, v. 13, n. 3, p. 303-307, May. 2007.

LUO, H. Y.; LI, T. J. Odontogenic tumors: a study of 1309 cases in a Chinese population. **Oral Oncology**, v. 45, n. 8, p. 706-711, Aug.2009.

MELROSE, R.J. Desmoplastic ameloblastoma. **Pathol Rev.** v. 4, p. 21-27,1999.

MOSQUEDA-TAYLOR, A.; LEDESMA-MONTES, C.; CABALLERO-SANDOVAL, S.; PORTILLA-ROBERTSON, J.; RUÍZ-GODOY RIVERA, L. M.; MENESES-GARCÍA, A. Odontogenic tumors in Mexico: a collaborative retrospective study of 349 cases. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v.84, n.6, p. 672-5, Dec. 1997.

PHILIPSEN, H.P.; REICHART, P. A.; SLOOTWEG, P. J.; SLATER, L.J. Neoplasms and tumour-like lesions arising from the odontogenic apparatus and maxillofacial skeleton. In: **World Health Organization Classification of Tumors. Pathology & Genetics of Head and Neck Tumours**. Lyon:IARC Press; 2005. P.285-286.

PHILIPSEN, H.P.; REICHART, P. A. Classification of odontogenic tumours. A historical review. **Journal of Oral Pathol Med.**, v. 35, p.525-529, 2006.

PHILIPSEN HP, REICHART PA, TAKATA T. Desmoplastic ameloblastoma (including "hybrid"lesion of ameloblastoma). Biological profile based on 100 cases from the literature and own files. **Oral Oncol.**,v. 37, n. 5, p.:455-60, Jul 2001

REGEZI, J. A.; KERR, D. A.; COURTNEY, R. M. Odontogenic tumors: analysis of 706 cases. **J Oral Surg**, v. 36, n. 771-778, 1978.

REICHART, P. A.; PHILIPSEN, H. P.; SCIUBBA, J. J. The new classification of head and neck tumours (WHO)-any changes ? **Oral Oncology**, v. 42, p. 757-758, 2006.

REICHART, P. A.; PHILIPSEN, H. P. **Odontogenic tumors and allied lesions**. London. Quintessence Publishing Co. 2004.

SAUK, J. J.; NIKITAKIS, N. G.; SHEPER, M. A. Are we on the brink of nonsurgical treatment for ameloblastoma? **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod**, v. 110, n. 1, p. 68-78, 2010.

SILVA, B. F.; SANTOS JÚNIOR, J. C.; ABRAHÃO, M.; CERVANTES, O.; MIRANDA, S. L. Ameloblastoma: revisão da literatura. **Rev. Bras. de Cirurg. de Cabeça e Pescoço**, v. 33, n. 1, p. 7-13, jan. fev. mar. 2004.

SUN, Z. J.; WU, Y.R.; CHENG, N.; ZWAHLEN, R.A.; ZHAO, Y. F. Desmoplastic ameloblastoma – a review. **Oncology**, v. 45, p. 752-759, 2009.

VICKERS, R. A.; GORLIN, R. J. Ameloblastoma: delineation of early histopathologic features of neoplasia. **Cancer**, v. 26, p. 699-710, Sep. 1970.

WALDRON, C. A.; EL-MOFTY, S. K. A histopathologic study of 116 ameloblastomas with especial references to the desmoplastic variant. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 63, n.4, p. 441-451.

APÊNDICE A – Critérios Diagnósticos

CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS: BASEADO EM ASPECTOS CLÍNICOS, RADIOGRÁFICOS, HISTOPATOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS

TIPO	EPIDEMIOLOGIA	LOCALIZAÇÃO	CLÍNICA	CRESCIMENTO/ESTADIAMENTO
A-S/M	Segundo TO mais comum Sexo: sem predileção Idade: 30 a 60 anos; raro antes dos 20 Raça: diferenças descritas	Mandíbula: 80%, pref. região post Raramente cavidades sinusal/nasal Maxila: maioria região posterior Proporção maxila:mandíbula é de 1:5,4	Pequenos A-S/M podem ser assintomáticos Aumento de volume nos ossos gnáticos Dor e parestesia: raros	Crescimento lento Pode erodir a cortical óssea Pode obliterar o seio maxilar
A-E/P	1,3 a 10% dos amelo Idade: entre 9 e 92 anos. (WHO, 2005) Entre 40 e 60 anos (Regezi, 2009) Média 53 anos homens e 51 anos mulheres 64% entre 5ª e 7ª década Sexo: predileção sexo masc. (homem-mulher 1,9:1)	Áreas edêntulas circunjantes aos dentes (gingiva ou mucosa alveolar Proporção mandíbula-maxial: 2,4:1	Indolor Crescimento exofítico firme com superfície lisa, papilar Raramente se estende para o epitélio gengival Pode haver erosão ou depressão da crista óssea devido à pressão Raramente envolve o osso	
A-D	Similar ao A-S/M em relação à idade e sexo	Proporção maxila:mandíbula é de 1:1 Predominantemente na região anterior da mandíbula	Principal queixa: Aumento de volume indolor Tamanho: varia entre 1 a 8,5 cm de diâmetro Não foi reportado casos de variante extra-óssea	
A-U	Idade: média 16 anos quando associado a dente não erupcionado e 35 anos na ausência de dente não erupcionado Sexo: sem predileção Corresponde a 5 a 15% de todos os amelo	Mandíbula: em mais de 90% dos casos, geralmente na região posterior	Alguns são assintomáticos Às vezes há aumento de volume na mandíbula (posterior) Associação com 3º molar não erupcionado: mais de 80% dos casos	Lesão expansiva que pode destruir uma porção significativa do osso Não se comporta como o A-S/M Não infiltra o osso ao redor Perfuração da cortical em 25% dos casos

Fontes: **Odontogenic Tumors** –Capítulo 6 – WHO 2005

Atlas Head and Neck: Odontogenic Tumor: Ameloblastoma- WHO Tumores odontogênicos. Regezi, Sciuba, 2009. Capítulo 11

TIPO	IMAGINOLÓGICA	HISTOLÓGICA	GENÉTICA	PROGNÓSTICO
A-S/M	Radiolucência: uni ou multilocular Aspecto de cisto Bordos festonados Dente não irrompido associado Reabsorção radicular nos dentes adjacentes Aparência de "bolas de sabão" ou "favô de mel"	padrão folicular e plexiforme	34 dos 588 genes estudados mostraram diferenças se comparados ao germe dental Super-expressão do TNFRSF-1A e fos-oncogene Sub-expressão de 10 genes, incluindo SHH, caderinas 12 e 13, TGF-β1	Indicado acompanhamento por longo tempo
A-E/P		Epitélio odontogênico com mesmas características histomorfológicas dos A-S/M Estroma maduro, tecido conjuntivo fibroso Pode ter padrão folicular ou plexiforme, ou acantomatoso Geralmente está bem separado do epitélio de revestimento, mas muitos são confluentes com a mucosa de revestimento		Não mostra comportamento invasivo Tratamento conservador Índice de recorrência baixo Indicado acompanhamento por longo tempo
A-D	50% dos casos: imagem radiolúcida/radiopaca, com margens difusas, sugerindo lesão fibro-óssea. Reabsorção radicular dos dentes e formação óssea Bordos mal definidos	Domínio do componente estromal comprimindo o epitélio odontogênico. Colagenização estromal extensiva, ou desmoplasia. Pode ocorrer calcificação no estroma fibroso e ocasionalmente formação óssea. Ilhas de epitélio tumoral muito irregulares ou com formato bizarro, com forma de estrela ou pontiagudas. O centro das ilhas é hiper celular, com células fusiformes, ou escamosas. Podem ocorrer microcistos Áreas tipo ameloblasto em pequenos pontos Células periféricas: cuboidais, ocasionalmente com núcleos hiper cromáticos. Células colunares com polaridade nuclear raramente são conspícuas Geralmente encontra-se alterações mixóides do estroma justa-epitelial Trabeculado metaplástico osteóide (osteoplastia)		
A-U	Radiolucência, geralmente pericoronar, unilocular, bem corticada Pode ocorrer reabsorção radicular Radiograficamente é semelhante ao cisto dentígero (folicular)	Duas variantes histopatológicas: luminal e mural Luminal: lesão cística revestida por epitélio ameloblastomatoso. Pode apresentar extensões intraluminais, que geralmente exibem padrão plexiforme. Não há infiltração do tumor na parede fibrosa. Mural: a parede cística é infiltrada por epitélio ameloblastomatoso, que pode exibir padrão plexiforme ou folicular, ou ambos Pode ser confundido com cisto dentígero ou folículos dentais contendo muito epitélio odontogênico remanescente. Porém esses não mostram polarização nuclear		Recidiva: acima de 40% (tratados com curetagem) – Regezi, 2009 Luminal: não infiltra o osso e não requer outro tratamento além da enucleação. Indicado acompanhamento por longo tempo Mural: Se a invasão da parede cística for limitada, acompanhamento cuidadoso. Se for profunda, fazer nova abordagem cirúrgica e acompanhamento por longo tempo

Fontes: **Odontogenic Tumors –Capítulo 6 – WHO 2005**

Atlas Head and Neck: Odontogenic Tumor: Ameloblastoma- WHO Tumores odontogênicos. Regezi, Sciuba, 2009. Capítulo 11

FOLICULAR	PLEXIFORME	DE CÉL. FUSIFORMES	DE CÉLULAS BASAIS	GRANULAR	ACANTOMATOSO
Ilhas de epitélio odontogénico	Fitas/cordões de células basais que se anastomosam	Ilhas de epitélio odontogénico	Ilhas de epitélio odontogénico	Ilhas de epitélio odontogénico	Ilhas de epitélio odontogénico às vezes com formação de queratina em seu interior
Estroma fibroso	Estroma delicado, com degenerações do tipo císticas. Tecido conjuntivo frouxo vascularizado e escassamente celular	Estroma fibroso	Estroma fibroso	Estroma fibroso	Estroma fibroso
Céls basais das ilhas: camada única de células bem organizadas, cuboidais ou colunares altas, hiper Cromáticas, dispostas em paliçada, núcleo com polaridade invertida (do lado oposto à membrana basal) e citoplasma vacuolizado. Lembram pré-ameloblastos	Epitélio tumoral arranjado na forma de rede/trabéculas que são delimitadas por uma camada de células cuboidais ou colunares	Céls basais das ilhas: colunares, hiper Cromáticas, dispostas em paliçada, núcleo com polaridade invertida e citoplasma vacuolizado	Céls basais das ilhas: Céulas com citoplasma mínimo, fortemente coradas, disposição em paliçada pouco evidente, Parecidas com as do carcinoma de céls basais	Céls basais das ilhas: colunares, hiper Cromáticas, dispostas em paliçada, núcleo com polaridade invertida e citoplasma vacuolizado. Se a alteração das céls centrais for grande o suficiente para substituir as céls colunares, pode tornar difícil o diagnóstico.	Céls basais das ilhas: colunares, hiper Cromáticas, dispostas em paliçada, núcleo com polaridade invertida e citoplasma vacuolizado
Céls centrais: poliédricas, dispersas, parecidas com retículo estrelado, com áreas císticas, devido à degeneração das células tipo retículo estrelado.	Áreas com céls tipo retículo estrelado: são mínimas	Céls centrais: dispersas, fusiformes (<i>spindle-shaped</i>), com áreas císticas	Céls centrais: dispersas, basalóides, com áreas císticas	Céls centrais: mostram transformação granular extensiva, na forma de lençóis de grandes células granulares eosinofílicas dispersas, granulares, com áreas císticas	Céls centrais: dispersas, com áreas císticas diferencição escamosa, mostram metaplasia escamosa extensa, às vezes com formação de queratina,

5 CAPÍTULO 3

Expressão de beta catenina em diferentes padrões histológicos de ameloblastomas: estudo imuno-histoquímico.

5.1 RESUMO

Beta catenina é uma proteína multifuncional que participa da formação do citoesqueleto, unindo-se às caderinas nas junções aderentes, e desempenhando importantes funções na adesão e motilidade celular. Desempenha ainda um papel chave na via canônica da sinalização *Wingless type* (Wnt). O acúmulo citoplasmático e a expressão nuclear de beta catenina está associado a tumorigênese. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a expressão de beta catenina em variantes distintas de ameloblastomas diagnosticados na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) entre os anos de 2004 a 2010. **Método:** Doze espécimes de ameloblastomas (06 sólidos, 04 unicísticos e 03 desmoplásicos) foram submetidos à técnica imuno-histoquímica para detecção de beta catenina. Os cortes foram submetidos à reação imuno-histoquímica contra beta catenina (anticorpo monoclonal de camundongo, MAB2081 Chemicon, 1:500) e contra coloração com hematoxilina de Mayer. Foram obtidas imagens com câmera AxioCam e programa Axiovision. A análise da imuno-histoquímica incluiu a localização e a intensidade da expressão de beta catenina em cada variante de ameloblastoma. **Resultados:** a expressão de beta catenina foi detectada no núcleo, na membrana celular e no citoplasma dos tecidos tumorais. O ameloblastoma folicular apresentou forte marcação nas células colunares da camada basal e fraca imunorreatividade nas células centrais do tipo retículo estrelado. O ameloblastoma plexiforme mostrou forte marcação nas células periféricas e fraca reatividade nas células do interior do parênquima tumoral. Uma reação muito fraca foi observada no estroma em ambos os padrões, folicular e

plexiforme. Além disso observou-se forte marcação no núcleo, especialmente nas células da camada basal do epitélio odontogênico dos folículos. **Conclusão:** Houve alteração no padrão de expressão de beta catenina nos ameloblastomas investigados. A uniformidade positiva de marcação citoplasmática em todas as três variantes indica que houve acúmulo de beta catenina no citoplasma das células tumorais. A marcação nuclear variou de negativa a positividade variável, demonstrando que em alguns casos houve translocação de beta catenina para o núcleo. A análise quantitativa não encontrou diferença significativa com relação à imunomarcação nuclear, citoplasmática e na membrana, entre as variantes sólido, desmoplásico e unicístico. A causa da alteração na expressão de beta catenina em ameloblastomas deve ser investigada, e pode estar relacionada à alterações na via de sinalização de Wnt ou à alterações no complexo responsável pela degradação e manutenção de níveis baixos de beta catenina no citoplasma.

***Palavras-chave:** Beta-catenina; Imuno-histoquímica; Ameloblastoma

5.2 ABSTRACT

Beta-catenin is a multifunctional protein involved on the cytoskeleton bound to cadherin family, and plays an important role in cellular movement and adhesion, as well as a signaling factor involved in canonical Wingless type pathway. Cytosol accumulation and nuclear expression of beta-catenin triggers Wnt signaling activation and is known to be associated with tumorigenesis. The aim of this study was to detect the expression of beta-catenin in different variants of ameloblastomas diagnosed at Federal University of Espírito Santo (UFES), Brazil, between 2004-2010 and to compare with clinical aspects and behavior of these tumors.

Methods: Twelve formalin-fixed, paraffin-embedded samples of human ameloblastomas were retrieved from files of UFES (6 solid/multicystic, 4 unicystic and 3 desmoplastic). The histopathologic patterns found were follicular, plexiform, desmoplastic and acanthomatous. Tissue sections from all specimens were obtained and submitted to immunohistochemical reaction against beta-catenin (mouse monoclonal, MAB2081 Chemicon, 1:500) with further counterstaining with Mayer's hematoxylin. Images were obtained with AxioCam and Axiovision system. The analysis included the location and intensity of beta-catenin expression on each ameloblastoma variant. **Results:** expression of beta catenin was detected in the nuclei, cell membrane and cytoplasm of neoplastic odontogenic tissues. Follicular ameloblastoma showed strong reactivity in peripheral columnar cells and weak reactivity in central polyhedral cells. Plexiform ameloblastoma showed strong reactivity in peripheral cuboidal cells and weak reactivity in central polyhedral cells. Very weak reactivity was noted on estroma in both, follicular and plexiform, patterns. Moreover, strong immunoreaction of β -catenin was observed in the nuclei of tumor cells, especially in columnar cells which form the basal layer of islands of odontogenic epithelium in follicular pattern.

Conclusion: The pattern of expression of beta-catenin has changed in all ameloblastomas. Uniform positive cytoplasmic immunostaining in all three variants indicates that there was accumulation of beta catenin in the cytoplasm of tumor cells. The nuclear staining ranged from negative to positive variable, wich demonstrated that there was translocation of beta-catenin into the nucleus in some cases. The

quantitative analysis did not show significant difference of immunostaining in nucleus, cytoplasm and cell membrane, between the solid, desmoplastic and unicystic variants. The cause of the abnormal expression of beta-catenin in ameloblastomas should be investigated, and may be related to changes in the Wnt signaling pathway or in the complex that maintaining beta-catenin in low levels on the cytoplasm.

Key words: Beta-catenin; Immunohistochemistry; Ameloblastoma

5.3 INTRODUÇÃO

Ameloblastomas são tumores derivados do epitélio odontogênico residual, cuja etiologia ainda é desconhecida (GARDNER, et al., 2005; SUKARAWAN et al., 2010). Seu comportamento invasivo e o alto índice de recidivas despertaram o interesse em determinar as causas de tais características, e o desenvolvimento de técnicas terapêuticas que permitam oferecer aos pacientes um tratamento mais conservador e menos mutilante (SAUK et al., 2010). Uma das ambições da pesquisa atual é identificar a etiologia dos tumores odontogênicos, grupo ao qual pertencem os ameloblastomas, e os diferentes mecanismos moleculares que levam à sua formação. Almejam-se terapias medicamentosas que reduzam o tamanho das lesões para evitar as abordagens cirúrgicas muito agressivas (RUHIN et al., 2009).

A comprovação da participação da beta catenina em outros tumores que afetam o corpo humano gerou interesse de patologistas bucais no estudo da expressão dessa proteína em ameloblastomas, na tentativa de correlacionar a expressão com o comportamento do tumor (SEKINE et al., 2003; TANAHASHI et al., 2008). Cateninas são um grupo de proteínas que interagem com o domínio intercelular da E-caderina, resultando no complexo E-caderina/beta catenina/alfa catenina ou E-caderina/gama catenina/alfa catenina (HINCK et al., 1994). As caderinas são proteínas transmembrana, dependentes do íon cálcio, que interagem com caderinas da célula adjacente. Por sua vez, as cateninas são proteínas adaptadoras citoplasmáticas que interagem com o domínio citoplasmático da caderina, com o citoesqueleto e várias outras proteínas, incluindo quinases e moléculas de supressão tumoral que estão associadas às junções aderentes. Junções aderentes (JAs) são necessárias para manutenção das camadas epiteliais pela regulação do crescimento celular e adesão entre células. Na zônula de adesão temos E-caderina, alfa e beta catenina e filamentos de actina (NANCI, 2008).

Beta catenina é a proteína homóloga em vertebrados da proteína Armadillo (Arm) identificada na drosófila (THORSTENSEN, L.; LOTHE, R. A, 2003). A estrutura primária da beta catenina compreende um domínio amino-terminal de

aproximadamente 130 aminoácidos, uma região central de 12 repetições imperfeitas de 42 aminoácidos conhecidos como *arm repeats* (porque são homólogos às repetições na proteína Armadillo), e um domínio carboxi-terminal de 110 aminoácidos. O terminal amino é importante para regular sua estabilidade, enquanto o terminal carboxila funciona como um domínio ativador da transcrição gênica (WILLERT e NUSSE, 1998).

Além de sua atuação na adesão celular, as beta cateninas são proteínas efetoras da via de sinalização de Wnt, cuja ativação é capaz de modular diversas funções celulares. (CADIGAN; NUSSE, 1997). A família Wnt é constituída por glicoproteínas secretadas, ricas em cisteína, cujo nome advém da fusão do nome *wingless*, um gene pertencente à drosófila, com o nome do seu homólogo em vertebrados, *integrated* (GILBERT, 2003; CADIGAN; NUSSE, 1997). Essas proteínas se ligam a proteínas transmembrana de sete passagens do tipo frizzled, que contém um domínio extracelular rico em cisteína –(CRD - do inglês *Cystein Rich Domain*) (BHANOT et al.,1996). As proteínas Wnt sinalizam sobre a membrana celular por interação com receptores em forma de serpentina da família Frizzled (Fzd), podendo ativar várias vias: *Wnt/β-catenina ou via canônica; via Wnt/Ca⁺² envolvendo a proteína Kinase A; via de polaridade celular planar; via envolvendo a proteína Kinase C, que atua na miogênese muscular.*

Na ausência da via de sinalização canônica a beta catenina citoplasmática associa-se a um complexo citoplasmático formado pela proteína APC (do inglês *Adenomatous Polyposis Coli protein*), pela quinase glicogênio sintase 3β (GSK3β), (PEIFER, 2000; POLAKIS, 2000; WODARZ; NUSSE, 1998) e caseína quinase I (CKI). A fosforilação de beta catenina na sua região N-terminal por essas quinases resulta na poliubiquitinação de beta catenina pelos complexos proteicos βTRCP1 (do inglês *beta transducing containing-protein 1*) ou βTRCP2 e na sua degradação intracelular mediada por proteases (LIU e MILLAR 2010).

Para que a via canônica de Wnt seja ativada, é preciso que Wnt se ligue a frizzled e ao seu co-receptor LRP5/6 (do inglês *Low Density Lipoprotein –LDL- receptor Related Protein 5/6*), formando um complexo na superfície celular (TAMAI et al., 2000). Isso ativa a proteína citoplasmática *dishevelled* resultando na inativação do complexo protéico responsável pela degradação de beta catenina livre no citoplasma. Isso

permite que esta proteína se estabilize no citoplasma. Assim, o aumento da sinalização de Wnt resulta em diminuição da fosforilação e promove a redução da degradação de beta catenina e conseqüentemente o acúmulo da mesma no citoplasma (KRISHNAN et al., 2006). Uma vez acumulada no citoplasma, ela é translocada para o núcleo onde se associa ao fator de transcrição TCF/LEF do inglês *transcription factor/Lymphoid enhancer factor*), ativando a transcrição de diversos genes alvos da via de Wnt. (FIGURA 1)

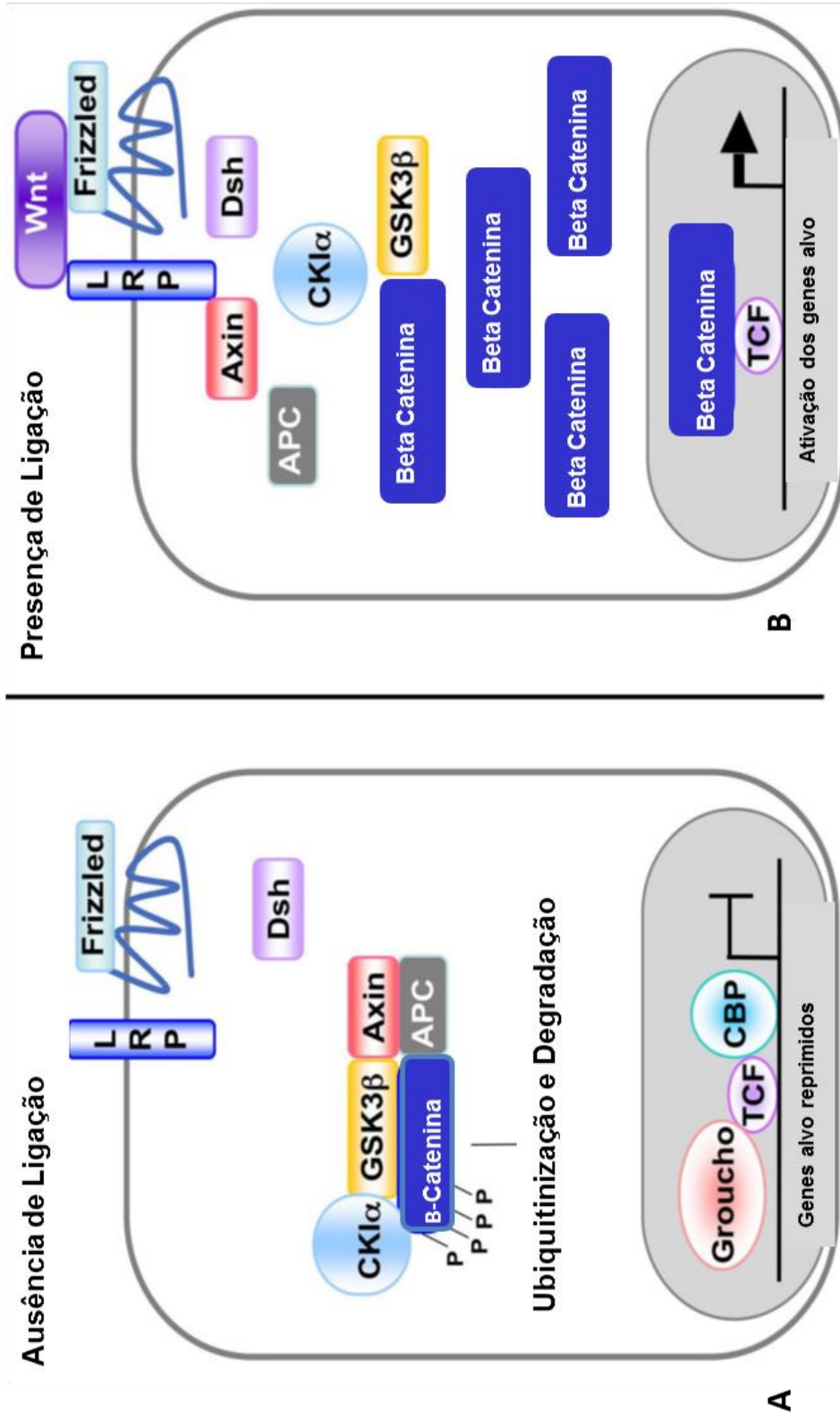


Figura 1. Via canônica de Wnt. (A). Na ausência de sinalização a ação do complexo de destruição (CK1 alfa, GSK3 beta, APC, Axin) cria uma beta catenina hiperfosforilada, que é ubiquitinizada e degradada pelo proteossoma. (B). Quando Wnt se liga ao complexo receptor Fizzled/LRP5/6, leva a uma estabilização da beta catenina hiperfosforilada, que interage com as proteínas TCF/LEF no núcleo, e ativam a transcrição. Na via canônica, CK1 alfa, GSK3 beta, APC, e Axin atuam como reguladores negativos e outros componentes como reguladores positivos

A via de sinalização Wnt/beta catenina desempenha um papel crítico no desenvolvimento, na embriogênese, na regulação de células tronco, na transformação celular e em processos celulares como proliferação e migração, e na adesão intercelular, incluindo adesão, mobilidade e metástase de células cancerosas. Portanto, mutações nos componentes dessa via de sinalização vem sendo associadas com câncer, desordens hereditárias, alterações no desenvolvimento e outras doenças (CLEVERS, 2006).

O desenvolvimento e crescimento dos tumores de origem odontogênica dependem da interação de numerosos genes e moléculas. A maioria dos genes envolvidos no desenvolvimento dental foi identificada nos últimos anos (RUHIN et al., 2009). Porém, com relação aos ameloblastomas, ainda não foi identificada uma alteração genética específica relacionada ao aumento do risco de seu desenvolvimento. (GARDNER et al., 2005).

A expressão de beta catenina em ameloblastomas vêm sendo investigada e alguns trabalhos têm encontrado uma expressão aberrante dessa proteína nesses tumores, sem que tenha sido traçado ainda um paralelo claro entre essa expressão e a agressividade da lesão (PEREIRA et al., 2010). Alguns autores observaram em determinados tipos de ameloblastomas uma moderada expressão citoplasmática e nuclear de beta catenina, sem que houvesse, contudo, mutações no gene que codifica essa proteína (CTNNB1), justificando assim que o aumento dessa expressão estaria relacionado a outros fatores (SEKINE et al., 2003; MIYAKE et al., 2006). Desde que se demonstrou que beta catenina está frequentemente mutada em diversos cânceres (POLAKIS, 2000), sendo expressa de forma acentuada e assim levando a uma hiperativação da via, o uso de inibidores da via de Wnt passou a ser vislumbrado como uma alternativa capaz de controlar o avanço de lesões tumorais num futuro não muito distante (MACDONALD et al., 2009).

A via de sinalização Wnt está envolvida na carcinogênese e três genes reguladores da via Wnt, APC (*adenomatous polyposis coli*), CTNNB1 (*beta-catenin*) e AXIN (*axina*) estão frequentemente mutados em cânceres humanos primários. Em estudo com seis ameloblastomas e oito carcinomas odontogênicos, Siriwardena et al. (2009), encontraram acúmulo de beta catenina no núcleo das células de todos os ameloblastomas e em seis dos oito carcinomas. Entretanto a mutação do CNNTB1

só foi encontrada em um carcinoma. Mutações de APC foi encontrada em 50% dos ameloblastomas e 25% dos carcinomas.

Com o objetivo de esclarecer o papel da genética no desenvolvimento de ameloblastomas, Tanahashi et al. (2008), analisaram beta catenina e ciclina D1 em 18 casos. Os pesquisadores procuravam por mutações na CTNNB1, APC, AXIN1 E AXIN2, e concluíram que mutações nestes genes não estão relacionadas com o acúmulo de beta catenina no núcleo das células, e que a expressão da ciclina D1 é acelerada independentemente da beta catenina em ameloblastomas.

O gene CTNNB1 codifica a proteína beta catenina. O éxon 3 desse gene é considerado uma área preferencial para ocorrência de mutações em tumores humanos, de forma que essas chegam a ocorrer a uma taxa até 100 vezes superior ao normal. Esse éxon codifica os resíduos críticos de Serina/Treonina (Ser/Thr), que são sítios de ligação para caseína quinase 1 – CK1- (Ser 45) e de fosforilação pela quinase glicogênio sintase 3 beta -GSK-3 β - (Ser 33, 37 e Thr 41) sendo, portanto o local de reconhecimento pela proteína β -TrCP, e de marcação para degradação da beta catenina. Portanto, mutações nesse éxon aumentam a estabilidade da proteína beta catenina. De fato, mutações somáticas no éxon 3 foram descritas em uma grande variedade de tumores em humanos, incluindo carcinoma colorretal, tumor desmoide, carcinoma endometrial, hepatocarcinoma celular, hepatoblastoma, carcinoma gastrointestinal, meduloblastoma, melanoma, carcinoma de ovário, carcinoma pancreático, carcinoma de próstata, carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, e carcinoma da tireoide (THORSTENSEN e LOTHE, 2003).

Um grande desafio das pesquisas biomédicas atuais está relacionado com a determinação dos sinais de transdução que modulam a localização, degradação e função da beta catenina. Recentemente foi estabelecido que a fosforilação da beta catenina pela quinase Src é necessária para sua dissociação da E-caderina com consequente perda da adesividade celular (COLUCCIA et al., 2006).

A expressão, regulação e localização da proteína beta catenina são importantes marcadores para predizer a motilidade e invasividade de tumores epiteliais (SCHLOSSHAUER et al., 2002).

Os estudos imuno-histoquímicos que avaliaram a expressão de beta catenina em ameloblastomas até a presente data, observaram diferentes padrões de expressão em diferentes tipos de ameloblastomas (SEKINE et al.;2003; KUMAMOTO e OOYA, 2005; MIYAKE et al., 2006; SATHI et al., 2007; PEREIRA et al., 2010), e diferenças quanto à localização da imunomarcacão (KUMAMOTO e OOYA, 2005; MIYAKE et al., 2006; SATHI et al., 2007; TANASHI et al., 2008; SIRIWARDENA et al., 2009; PEREIRA et al., 2010). Todavia não conseguiram correlacionar o aumento da expressão de beta catenina com mutaões em CTNNB1 (SEKINE et al.;2003; MIYAKE et al., 2006). A elucidacão do significado da alteracão do padrão de expressão de beta catenina em ameloblastomas poderá abrir perspectivas para futuras aplicacões terapêuticas e prevençãõ de recidivas.

Dessa forma, esse trabalho tem por objetivo a análise da intensidade e da localizacão da imunomarcacão de beta catenina em diferentes variantes de ameloblastomas, que apresentam graus de invasividade, de recidivas e prognósticos diferentes.

5.4 MATERIAL E MÉTODO

Estudo retrospectivo de 12 casos de ameloblastomas, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Foram selecionados doze casos de ameloblastomas (06 sólidos, 04 unicísticos e 03 desmoplásicos), biopsiados entre os anos de 2004 e 2010 no Programa de Prevençãõ e Diagnóstico Precoce de Câncer de Boca e Lesões Bucais e na disciplina e Cirurgia Bucomaxilofacial II do Curso de Odontologia da UFES. Os blocos estavam incluídos em parafina e arquivados no Serviço de Anatomia Patológica Bucal do Departamento de Clínica Odontológica da UFES (SAPB-UFES), responsável pela emissãõ dos laudos histopatológicos.

Coleta de dados: O instrumento para coleta de informações sobre a imunomarcação foi uma ficha desenhada para esse estudo (APÊNDICE 1).

Preparação do tecidos: Os blocos de parafina retirados do arquivo do SAPB-UFES, foram obtidos segundo o protocolo de preparação dos tecidos adotado pelo Programa de Prevenção e Diagnóstico Precoce do Câncer de Boca e Lesões Buciais, que determina a fixação dos espécimes em uma solução tamponada de formol 10% e inclusão em parafina. Os espécimes que possuem tecidos mineralizados, como dentes e osso, são desmineralizados em solução de ácido etilendiamino tetra acético (EDTA), antes da inclusão em parafina. Os blocos com os casos de ameloblastomas selecionados foram submetidos a microtomia para obtenção de cortes 3 µm de espessura e corados com hematoxilina e eosina (HE) para confirmação dos diagnósticos. O protocolo de HE e as características histopatológicas foram descritos no capítulo 2.

Imuno-histoquímica: Para a análise imuno-histoquímica, os blocos de parafina foram submetidos à microtomia manual para a obtenção de cortes de 3 µm de espessura (Leica RM 212 RT, Leica Biosystems Nussioch GmbH, Alemanha). As navalhas utilizadas eram revestidas com politetrafluoretileno - PTFE (Duraedge, EasyPath, Brasil), e a montagem foi feita em lâminas silanizadas (Immunoslide, EasyPath, Brasil). Os cortes foram desparafinizados em estufa a 60°C por 40 minutos, e diafanizados em três banhos de xilol: xilol II; xilol I e álcool/xilol, tendo cada banho a duração de 05 minutos. Em seguida foram reidratados em concentrações decrescentes de etanol (100%, 90% e 80%) e água, cada banho também com duração de 5 minutos. A remoção do pigmento formólico foi feita com solução de hidróxido de amônio (10%) em etanol (95%) por 10 minutos. Os cortes foram lavados com TBS-Tween (TBST) por 3 vezes, sendo 5 minutos cada banho, e em seguida foram submetidos à recuperação antigênica, utilizando uma solução tampão citrato (ácido cítrico a 10mM e 0,05% de Tween 20 com pH 6), aquecida entre 95 e 100°C, por 30 minutos. O sistema de detecção por polímeros foi o NovoLink Novocastra (Leica Microsystems, Nussioch GmbH, Alemanha). Para neutralizar a peroxidase endógena foi utilizado Peroxidase Block por 5 minutos seguido de lavagem em TBST 2 vezes de 5 minutos. As seções foram incubadas com Protein Block por 5 minutos e novamente lavadas em TBST 2 vezes de 5 minutos. O anticorpo primário utilizado foi o monoclonal anti beta catenina

(MAB2081 clone 5H10 Chemicon/Millipore isotipo IgG1; diluição de 1:500) por 60 minutos, em temperatura ambiente e câmara úmida. Os cortes foram novamente lavados em TBST 2 vezes de 5 minutos e incubados com Post Primary Block durante 30 minutos, seguidos de lavagem em TBST 2 vezes de 5 minutos. A seguir os cortes foram incubados com Polymer por 30 minutos e lavados em tampão TBST 2 vezes de 5 minutos. Foi adicionado 50 µl de DAB Chromogen a 1ml de DAB Substrate Buffer (Polymer) para desenvolver a atividade de peroxidase por 5 minutos. As lâminas foram enxaguadas em água e contrastadas com Hematoxilina. Procedeu-se novo enxágue das lâminas em água durante 5 minutos seguida de desidratação, soltura e montagem das secções, com meio de montagem Ervmount (EasyPath, Brasil). O controle positivo foi feito pela aplicação dos mesmos passos da técnica de imuno-histoquímica em um corte de epitélio da mucosa oral, e o controle negativo foi feito pela omissão do anticorpo primário (FIGURA 1).

Avaliação da imuno-histoquímica e análise estatística: A reatividade imuno-histoquímica para beta catenina foi avaliada por um único examinador, previamente calibrado por um experiente morfolologista. As lâminas foram examinadas em microscópio óptico (Olympus AX70, Olympus America Inc., NY, USA) com objetiva Olympus UPlan FI 20x/0.50 (aumento de 200x) para avaliar a intensidade da coloração no estroma e no parênquima tumoral, sendo atribuídos valores de 0 a 3, onde: *escore 0 corresponde à não marcação; escore 1 refere-se à marcação leve; escore 2 marcação moderada e escore 3 indica forte marcação* Hsu et al. (1981). Após análise da intensidade de marcação foi escolhido o melhor corte da lâmina para definição dos campos a serem fotografados para avaliação da localização e do padrão de marcação.

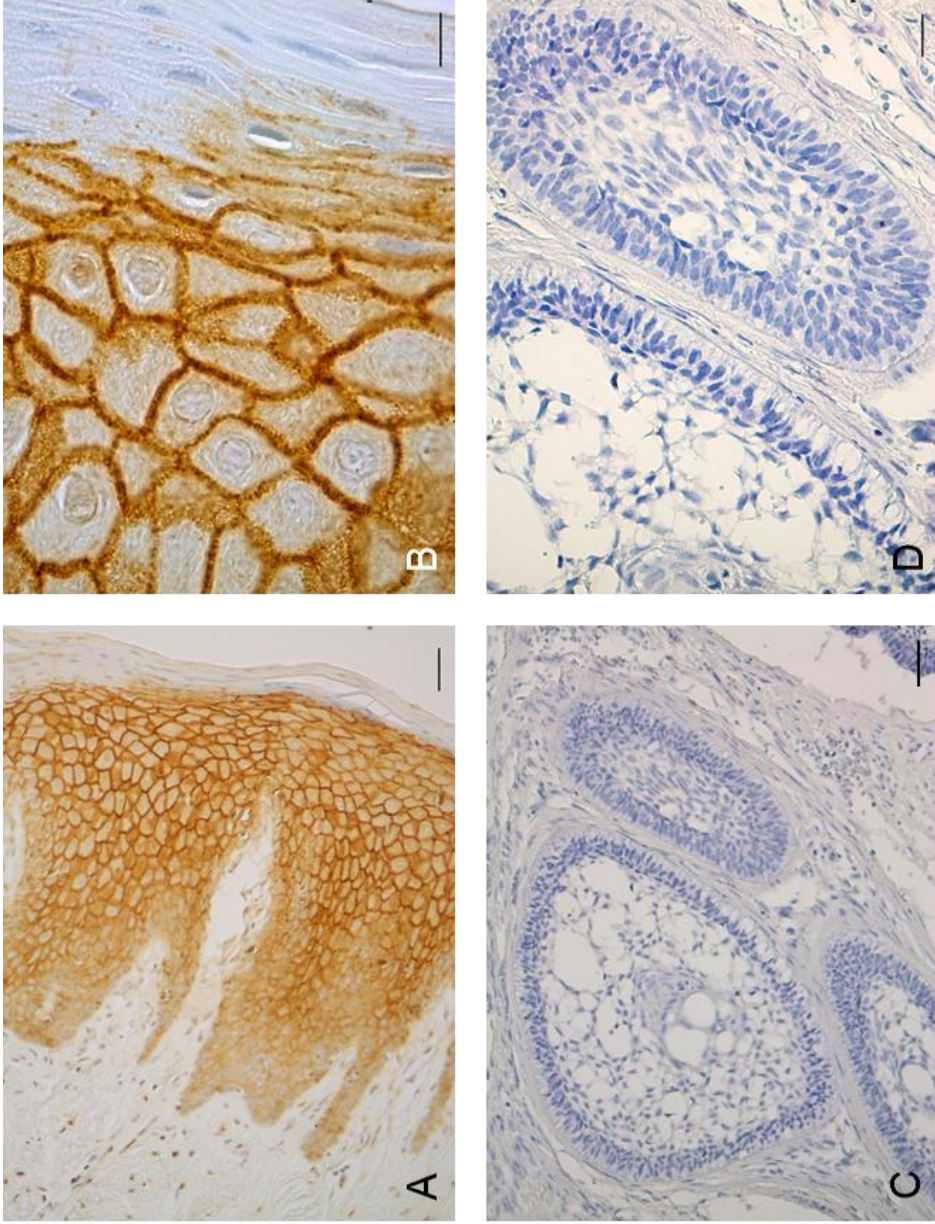


Figura 2 Controle Positivo: (A e B) Adesão entre células do epitélio de revestimento da mucosa oral imunomarcado pela mesma técnica aplicada aos espécimes de ameloblastomas, mostrando forte marcação na membrana. (B) **Controle Negativo:** (C e D) omissão do anticorpo primário e coloração do ameloblastoma acantomatoso com Hematoxilina de Mayer. A , C e D: barra de escala 20 μ m e em B: barra de escala 10 μ m

Escolhido o corte, a lâmina foi retirada do microscópio e recebeu em seu verso marcação em cinco pontos aleatórios sob o corte selecionado com marcador permanente para vidros (Pilot Pen do Brasil S.A, S.P, Brasil) (FIGURA 3)

O corte foi então examinado com objetiva Olympus UPlan FI 100x/1.30 oil ∞ /0.17 e óleo de imersão. Cinco imagens dos cinco campos próximos aos pontos de marcação foram capturadas com a câmera AxioCam ERc5s (Carl Zeiss Vision GmbH, Alemanha) e o programa AxioVision Release 4.8.2 (Carl Zeiss Vision GmbH, Alemanha) e salvas nos formatos TIF e ZIV para posterior análise.

As imagens dos cinco campos foram montadas em programa PowerPoint (Microsoft Inc, 2010) com sobreposição de uma gradícula com 12 divisões (FIGURA 4).

Foram compilados em uma tabela (APÊNDICE 1) o número total de células (N Cel), o número de células sem marcação (Cel SM), o número de células marcadas (Cel M) e a localização da marcação no citoplasma (MC), na membrana (MM) e no núcleo (MN), de cada uma das 12 subdivisões do campo. A contagem das 12 subdivisões foi somada para se obter o total do campo e os percentuais de cada item contado. O mesmo procedimento foi repetido para os demais 4 campos, e ao final foi feita a soma dos 5 campos mensurados, e o cálculo do percentual. Assim foi obtido o número proporcional de células de cada lâmina. Em seguida, foram atribuídos os limiares de positividade preconizados por Hsu et al. (1981), definidos como: negativo, positividade focal (1%-25% das células tumorais coradas); positividade variável (25%-75% coradas); uniformemente positiva (mais de 75% coradas) para cada lâmina.

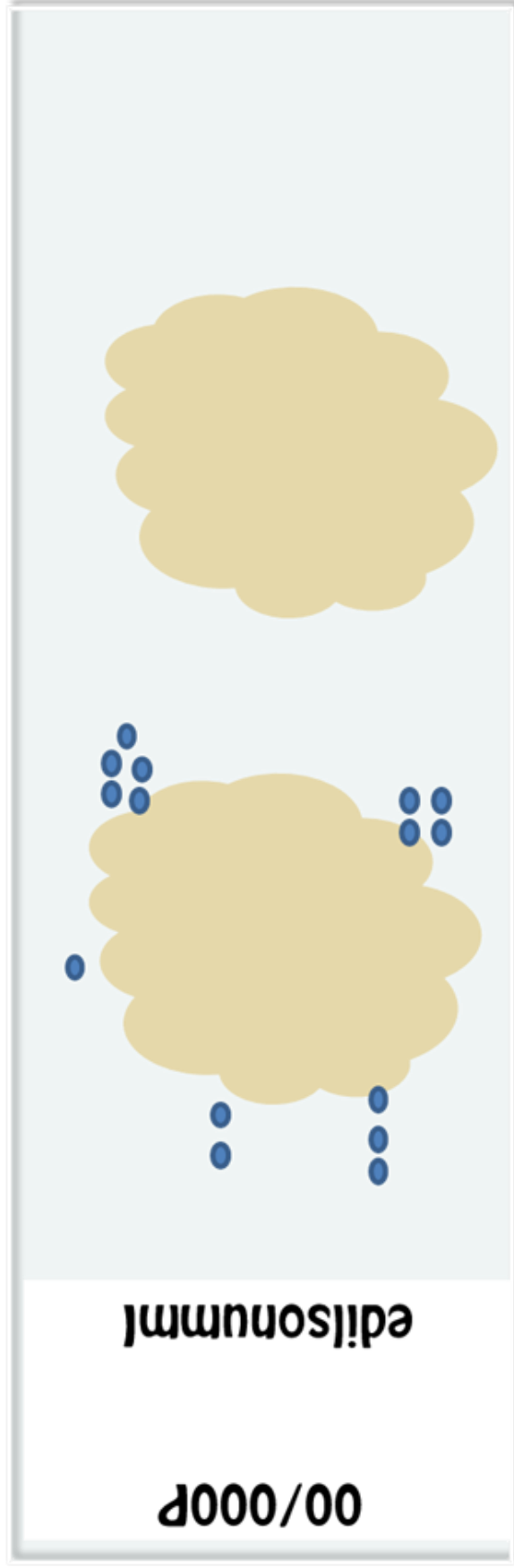


Figura 3 . Marcação aleatória de cinco pontos, no verso do melhor corte da lâmina.

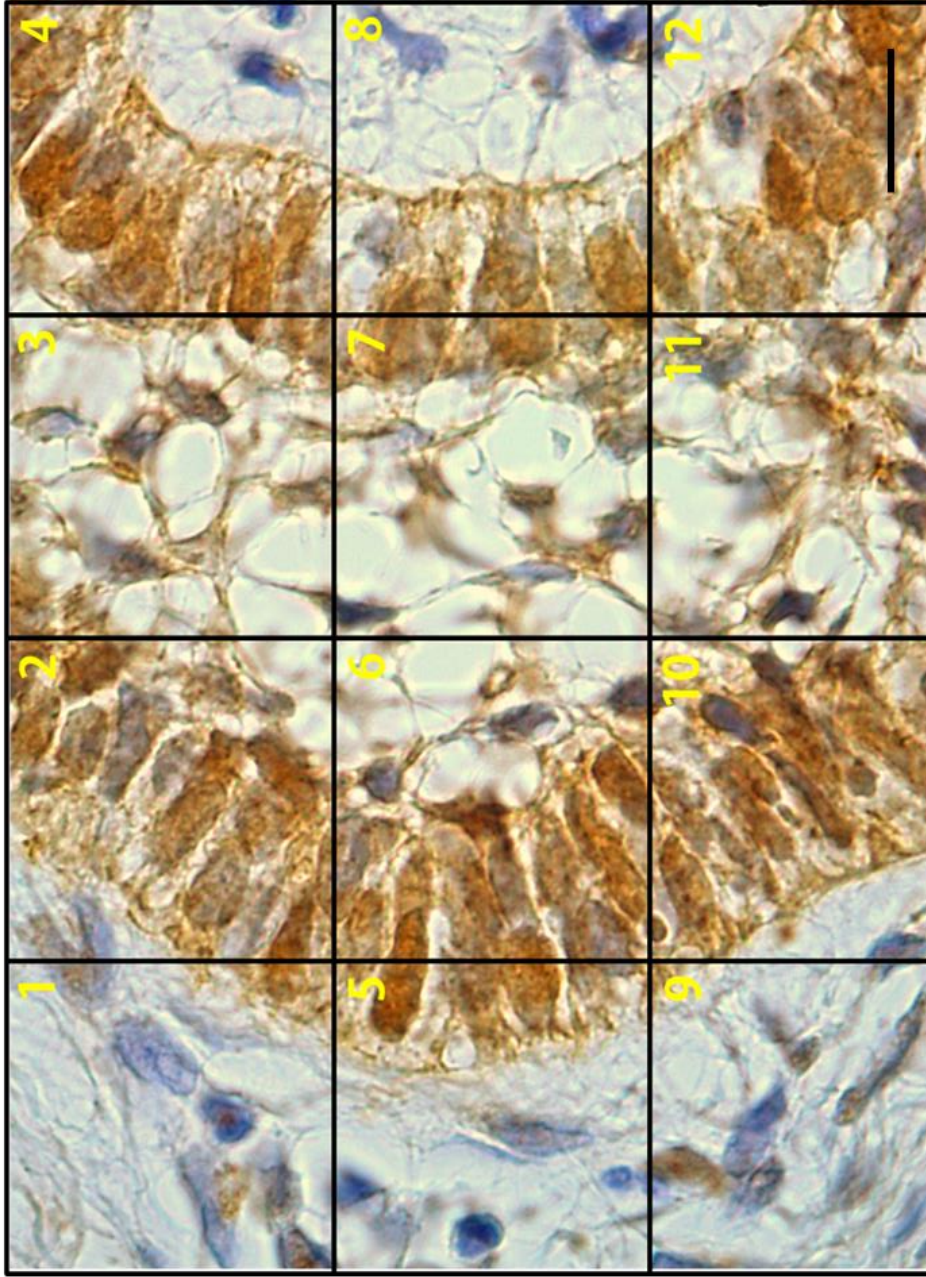


Figura 4 .Fotomicrografia de um campo de ameloblastoma plexiforme com marcação para beta catenina. Gradícula com 12 divisões sobreposta a um dos cinco campos da lâmina, para contagem das células e análise da imunomarcação. Barra de escala: 10 μ m.

Os casos foram separados por variante de ameloblastoma e distribuídos em três grupos diferentes. Foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para testar a diferença entre os três grupos distintos de ameloblastomas do estudo: sólido, unicístico e desmoplásico. Para indicar significância estatística, será considerado $p < 0.05$.

5.5 RESULTADOS

Foi detectada expressão de beta catenina no núcleo, na membrana e no citoplasma das células tumorais, em todos os espécimes avaliados nesse estudo, com intensidade de marcação variando de 1 (leve) a 3 (forte), em diferentes espécimes.

Comparado ao controle positivo onde epitélio oral mostra expressão de beta catenina na membrana, a expressão nos ameloblastomas mudou de padrão, sendo mais expressa no citoplasma, com expressão diminuída na membrana. Houve também marcação nuclear.

Quanto à localização da marcação nos diferentes tipos de ameloblastomas, foi observada nos ameloblastomas acantomatosos forte reatividade na camada periférica dos folículos e marcação mais fraca nas células centrais. Os ameloblastomas plexiformes exibiram marcação mais acentuada na camada basal do que nas demais células. Em ambos os padrões a marcação no estroma foi fraca. Uma marcação nuclear forte foi observada especialmente nas células colunares da camada basal das ilhas de epitélio odontogênico (FIGURA 5). Os ameloblastomas desmoplásicos e unicísticos apresentaram forte marcação nas células da camada basal do epitélio odontogênico (FIGURA 6).

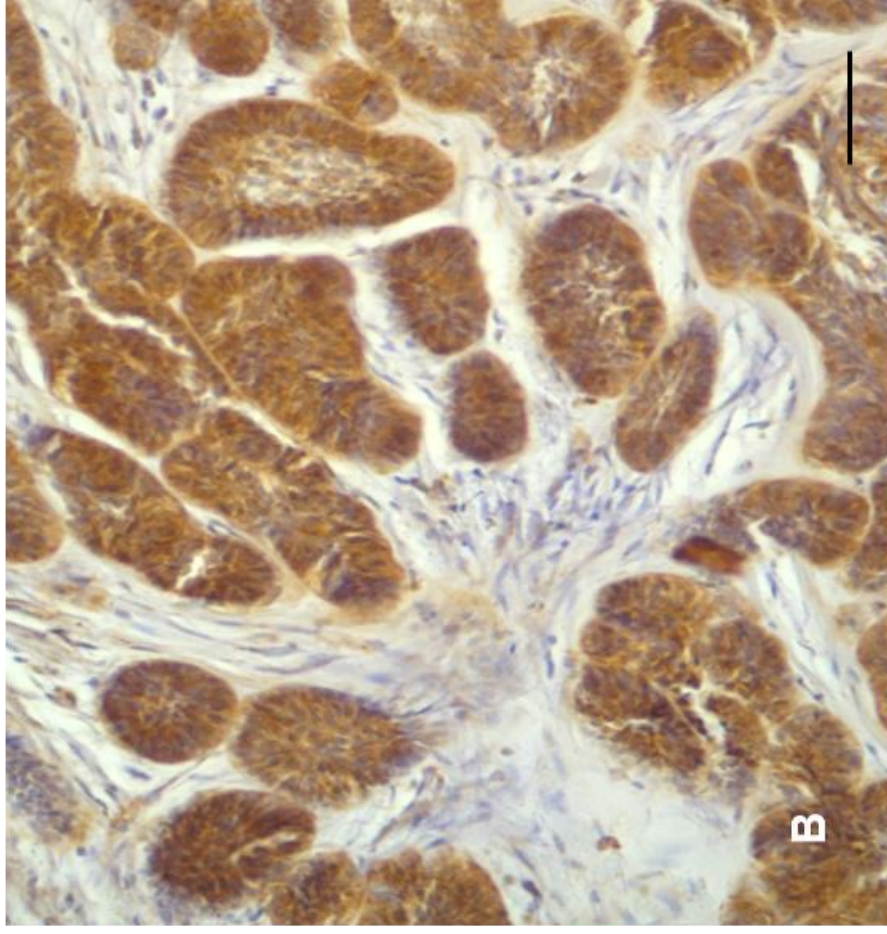
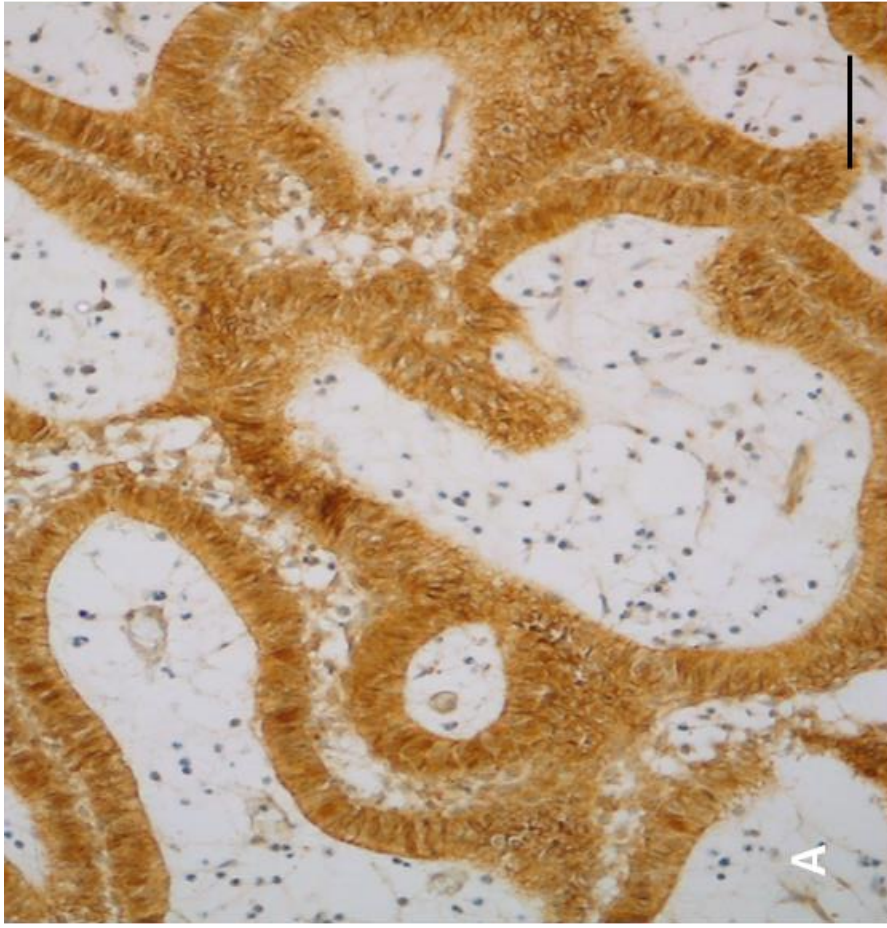


Figura 5 Perfil da marcação de beta catenina. (A) Ameloblastoma plexiforme com forte marcação nas células basais colunares e fraca marcação no estroma. (B) Ameloblastoma folicular com forte marcação nas células basais colunares e fraca marcação no estroma. O parênquima tumoral mostra marcação mais forte nas células periféricas e mais fraca nas células centrais. Barra de escala 20µm.

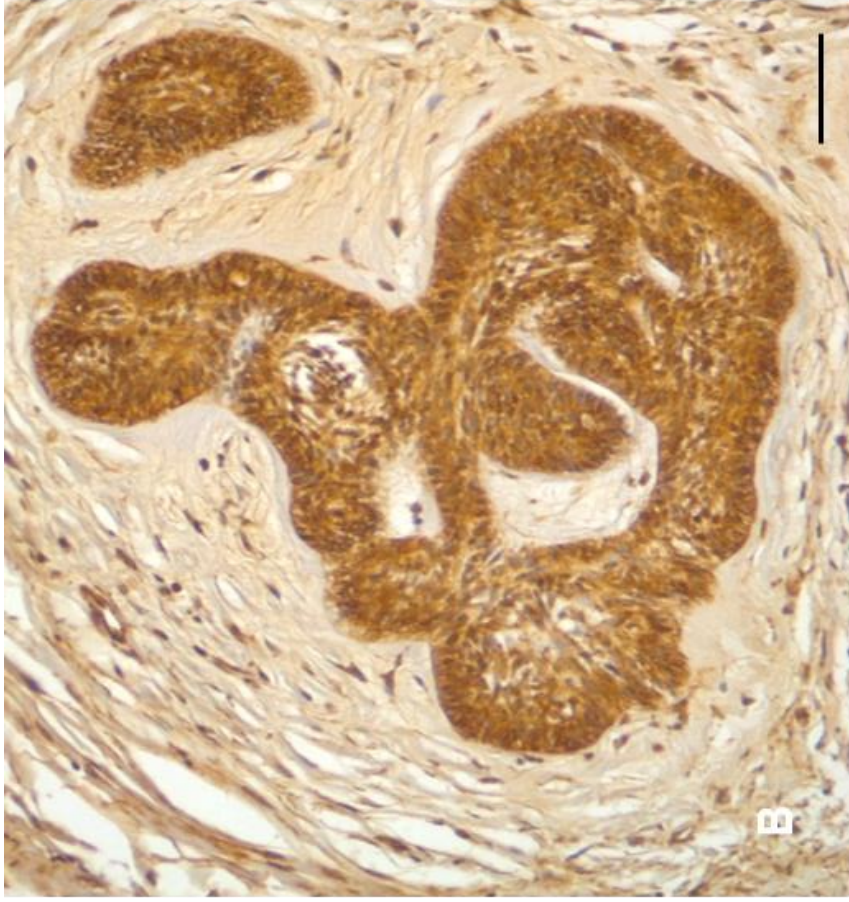
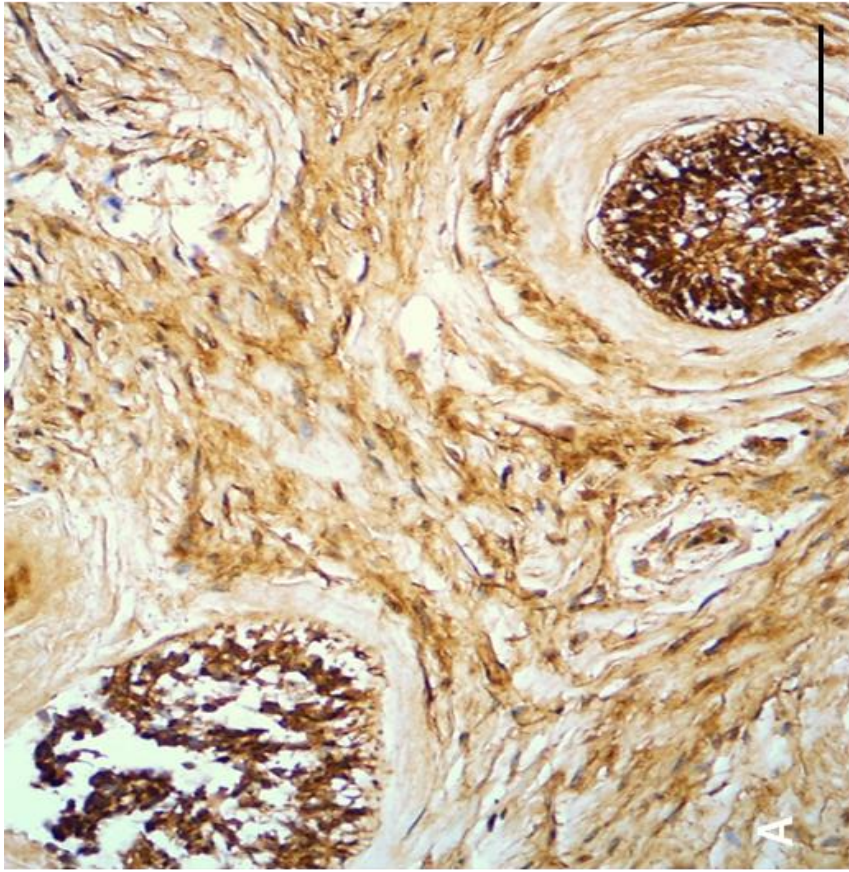


Figura 6 Perfil da marcação de beta catenina.. (A) Ameloblastoma desmoplásico com forte marcação nas ilhas de epitélio odontogênico. (B) Porção intramural de ameloblastoma unicístico, com forte marcação nas células periféricas. Barra de escala 20µm.

Os resultados da imunomarcção nuclear nos seis ameloblastomas sólidos apresentaram-se como: negativa em um caso, positividade focal em quatro casos e positividade variável em um caso. A reatividade na membrana mostrou-se positivamente variável em todos os seis casos, ao passo que a reatividade no citoplasma foi uniformemente positiva em todos os A-S/M. Os resultados estão demonstrados no Gráfico 1.

A reatividade nuclear nos ameloblastomas unicísticos foi negativa em um caso e teve positividade variável em 2 casos. A marcação na membrana teve positividade variável em dois casos e um caso apresentou positividade focal. Em dois casos houve 100% de marcação no citoplasma e o terceiro mostrou também uniformidade positiva, apesar de não ter marcação citoplasmática em 100% das células. Os resultados estão agrupados no Gráfico 2.

Os ameloblastomas desmoplásicos apresentaram positividade focal para marcação nuclear em dois casos e positividade variável em um terceiro caso. A marcação na membrana mostrou positividade focal em um caso e variável em 2 casos, ao passo que a marcação no citoplasma apresentou-se uniformemente positiva, com 100% de marcação em dois dos três casos de A-D, como mostra o Gráfico 3.

A expressão de beta catenina no núcleo, no citoplasma e na membrana podem ser exemplificadas pelas Figuras 7, 8 e 9.

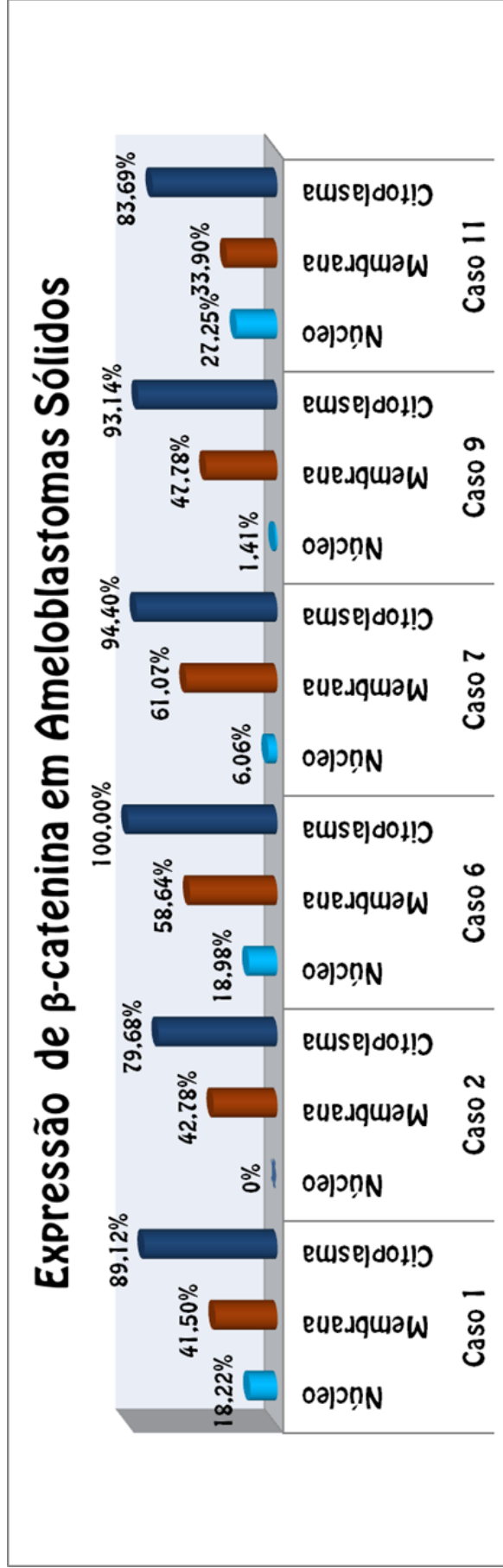


Gráfico 1: Imunomarcagem no núcleo, na membrana e no citoplasma, nos seis casos de ameloblastomas sólidos diagnosticados pelo SAPB-UFES.

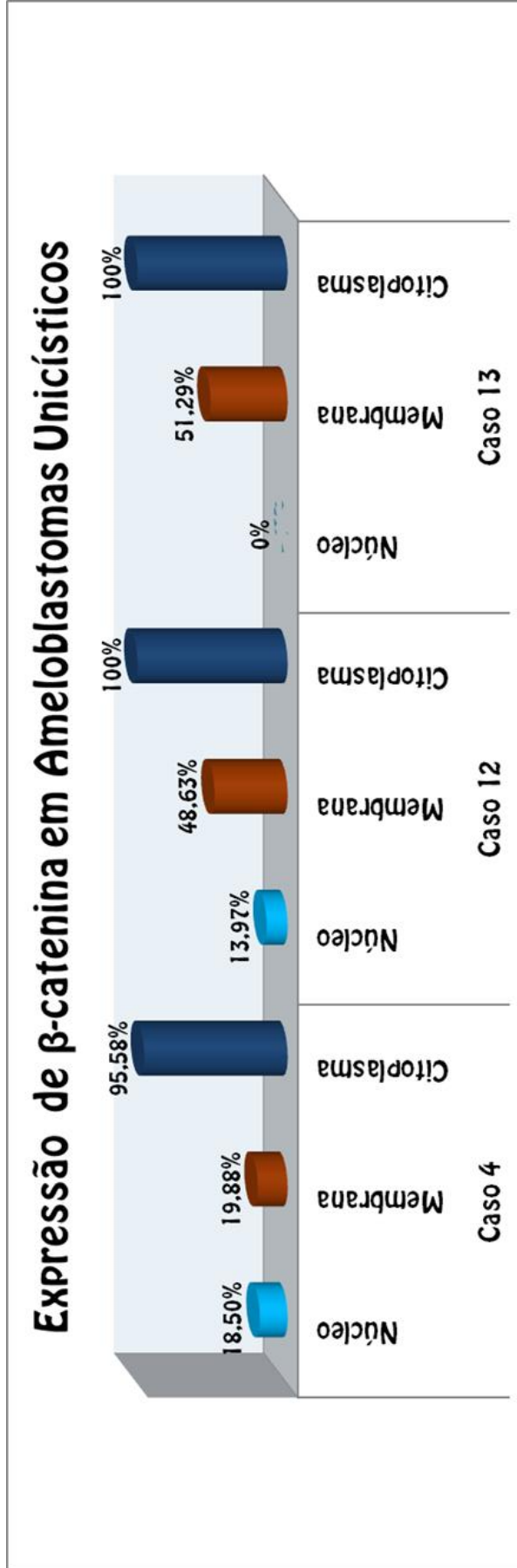


Gráfico 2: Imunomarcagem no núcleo, na membrana e no citoplasma, nos três casos de ameloblastomas unicísticos diagnosticados pelo SAPB-UFES.

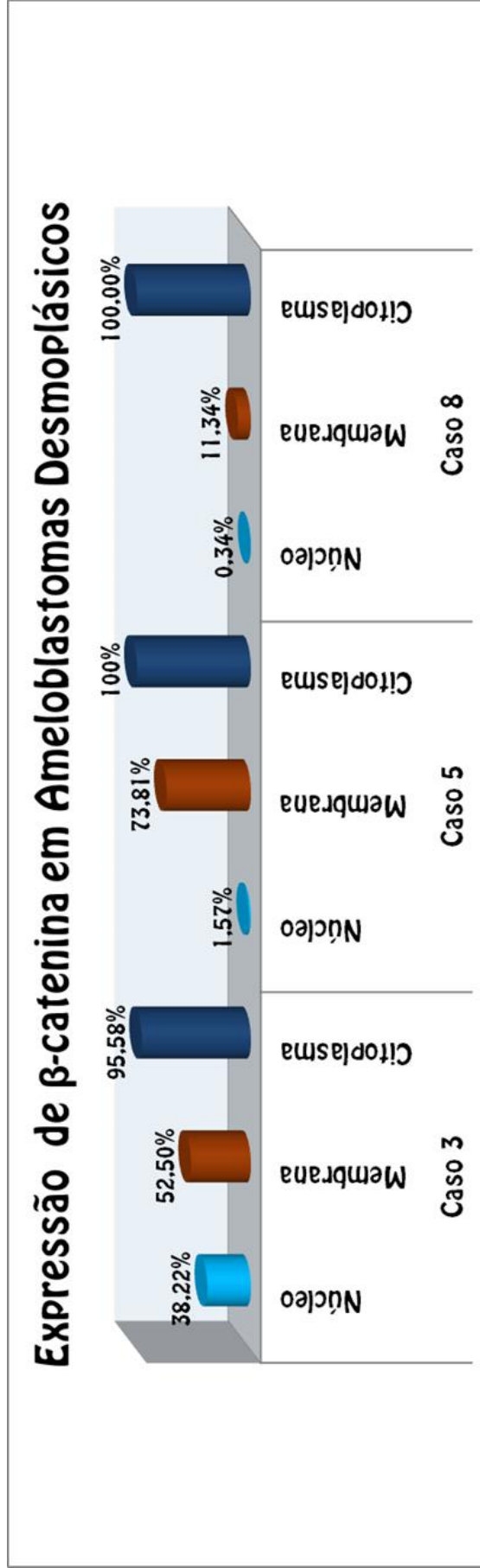


Gráfico 3: Imunomarcagem no núcleo, na membrana e no citoplasma, nos três casos de ameloblastomas unicísticos diagnosticados pelo SAPB-UFES.

O Gráfico 4 mostra a média da marcação nuclear e citoplasmática de beta catenina em todas as três variantes de ameloblastomas da amostra desse estudo. Foi encontrada positividade focal para marcação nuclear e uniformidade positiva para marcação citoplasmática.

Os resultados da estatística descritiva estão resumidos na Tabela 1. A média de marcação variou de 10,82% a 13,38% no núcleo, de 39,93% a 47,61% na membrana e de 90,01% a 98,53% no citoplasma. A mediana e o desvio padrão também são mostrados na mesma tabela. Como a amostra era pequena e não apresentou distribuição normal, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparar as medidas de beta catenina nos três diferentes tipos de ameloblastomas. Os resultados do teste estão agrupados na Tabela 2, onde se pode verificar que não foram encontrados resultados estatisticamente significantes, ou seja as medidas de beta catenina não diferem entre os grupos sólido, unicístico e desmoplásico.

Média de Marcação Nuclear e Citoplasmática nos Três Tipos de Ameloblastomas

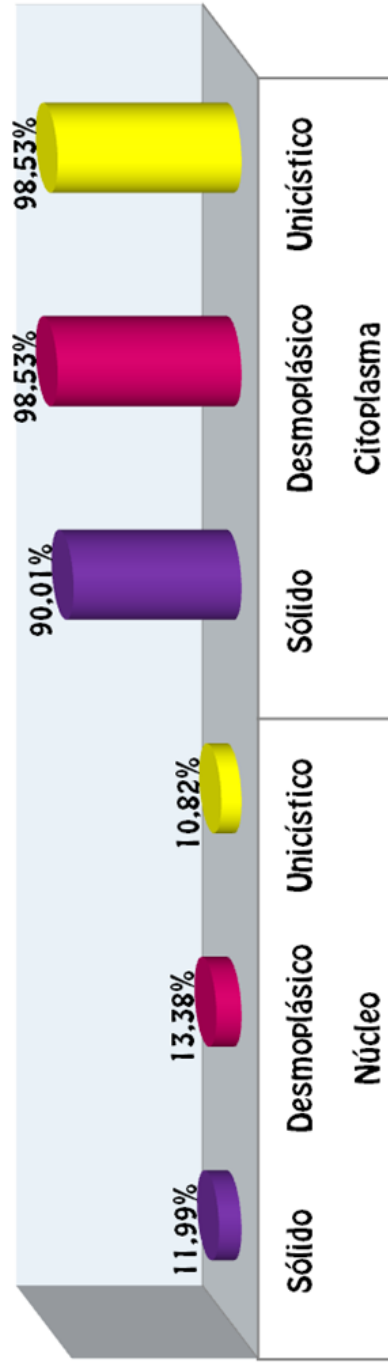


Gráfico 4 Imunomarcção nuclear e citoplasmática nas três variantes de ameloblastomas diagnosticados no SAPB.

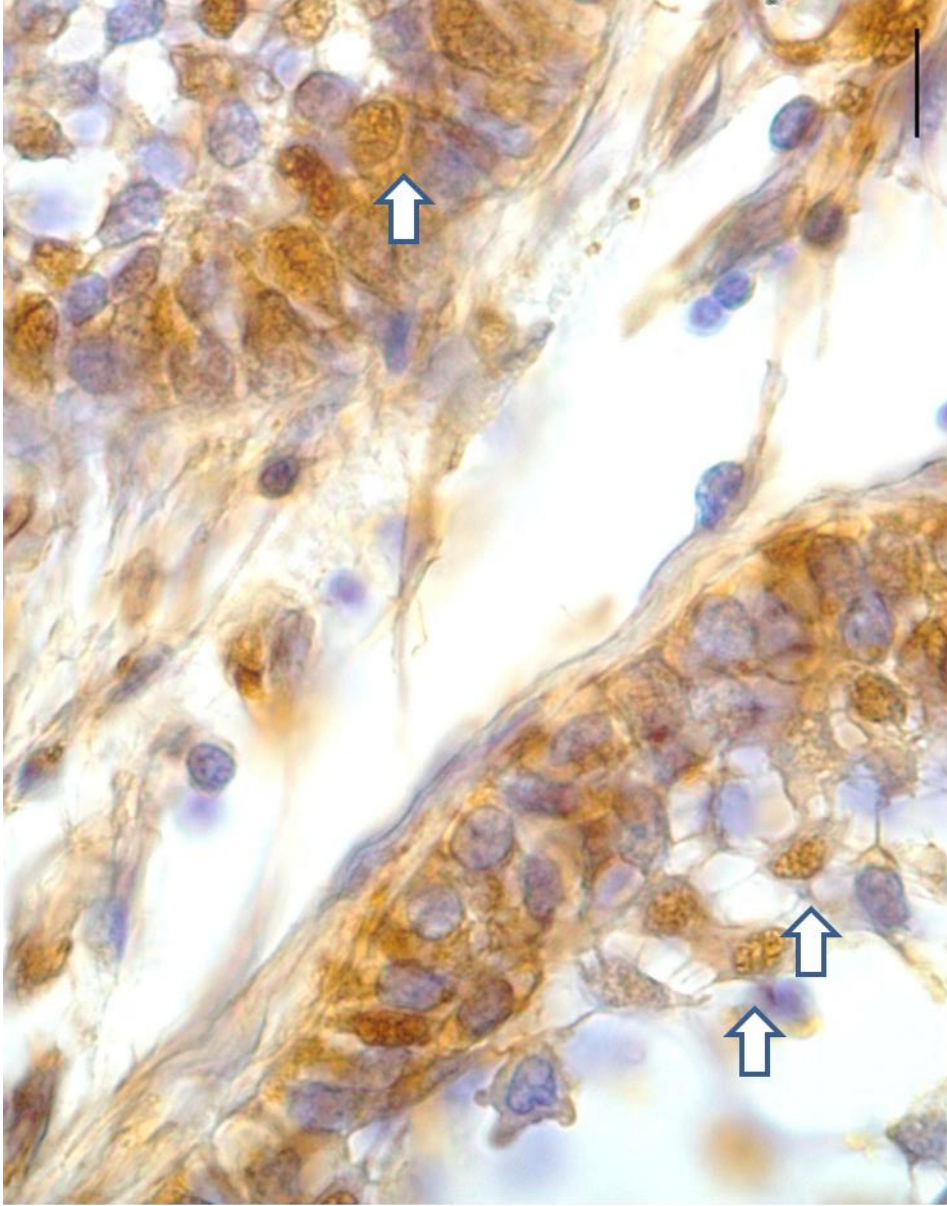


Figura 7 **Caso 11** cujo resultado para marcação nuclear foi de 27,25%. As setas apontam núcleos imunomarcados. Barra de escala: 10µm.

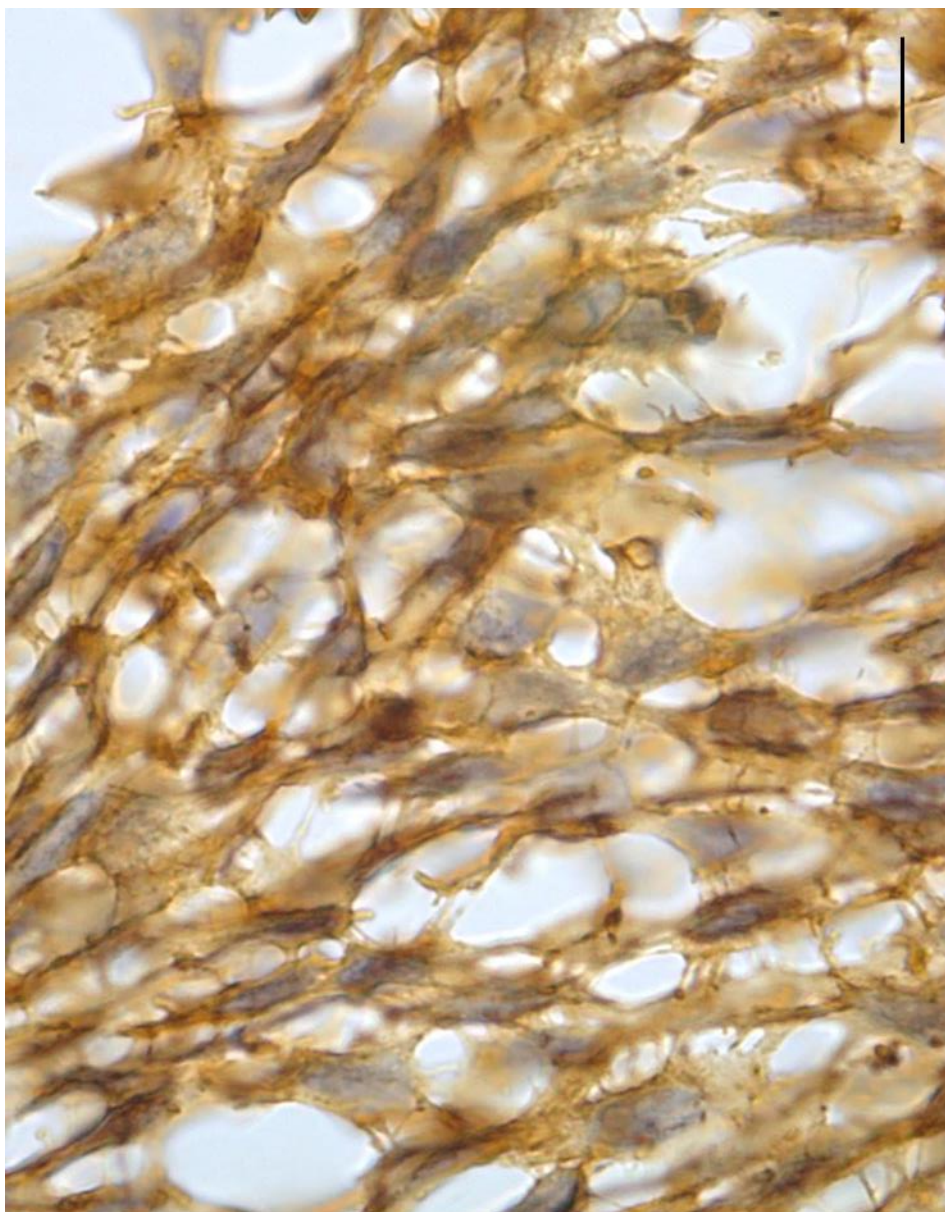


Figura 8 **Caso 5** cujo resultado para marcação citoplasmática foi de 100%. Núcleos corados pela hematoxilina de Mayer. Barra de escala: 10µm.

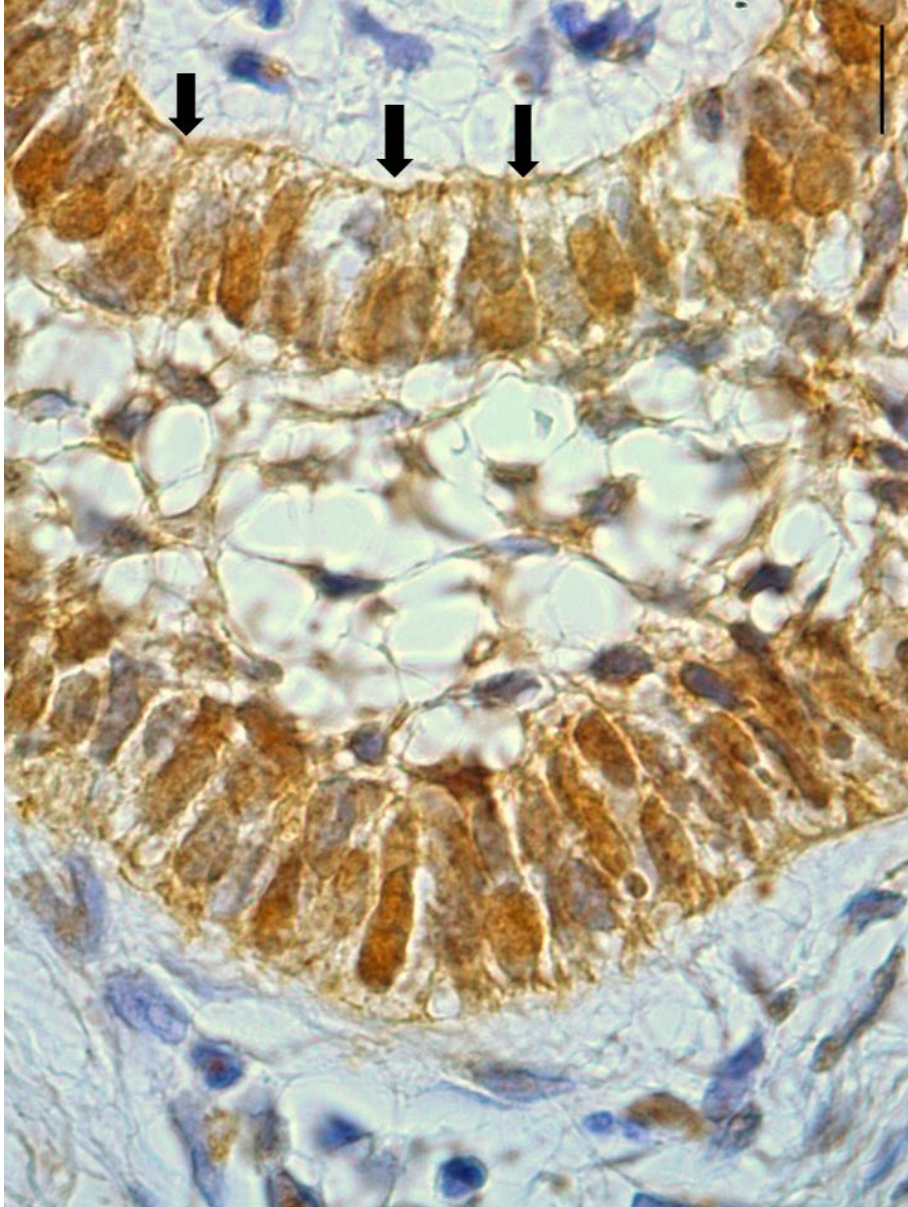


Figura 9 **Caso 7** cujo resultado para marcação na membrana foi de 61,07%.
As setas. Apontam membrana imunomarcada.. Barra de escala: 10µm.

Tabela 1 – Resultados da estatística descritiva

Variáveis	Grupos	Mediana	Média	Desvio-padrão
	A-S/M	12,14	11,99	11,06
Beta catenina no núcleo	A-D	1,57	13,38	21,52
	A-U	13,97	10,82	9,64
	A-S/M	45,28	47,61	10,50
Beta catenina na membrana	A-D	52,50	45,88	31,76
	A-U	48,63	39,93	17,42
	A-S/M	91,13	90,01	7,43
Beta catenina no citoplasma	A-D	100,00	98,53	2,55
	A-U	100,00	98,53	2,55

Tabela 2 – Resultados do teste de Kruskal-Wallis.

Variáveis	Grupos	PostosMédios	p-valor
	A-S/M	6,75	
Beta catenina núcleo	A-D	6,67	0,933
	A-U	5,83	
	A-S/M	6,50	
Beta catenina membrana	A-D	7,33	0,852
	A-U	5,67	
	A-S/M	4,17	
Beta catenina citoplasma	A-D	8,83	0,066
	A-U	8,83	

5.6 DISCUSSÃO

O comportamento biológico agressivo do ameloblastoma tem representado um desafio terapêutico para os profissionais de saúde. Seu perfil invasivo e recidivante implica na escolha por tratamentos cirúrgicos radicais, que envolvem muitas vezes a ressecção de grandes porções ósseas contendo ou não elementos dentários. É com o intuito de evitar situações como essas que os pesquisadores têm dedicado seu tempo a investigar novos marcadores biomoleculares possivelmente envolvidos no crescimento e patogênese dos ameloblastomas. Esse trabalho teve como objetivo analisar a expressão da proteína beta-catenina em ameloblastomas registrados no SAPB-UFES, comparando se essa expressão mostrava-se de forma diferenciada nos diferentes subtipos tumorais. Como todas as amostras utilizadas nesse estudo foram fixadas em formalina e incluídas em parafina foi necessária a utilização da técnica de recuperação antigênica, para permitir a ligação dos anticorpos aos epítomos.

Não havia casos de ameloblastomas granulares na amostra desse estudo, o que impossibilita comparações com o estudo de Sathi et al. (2007), que restringiu-se à análise da expressão de beta catenina em ameloblastomas granulares.

Sekine et al. (2003), encontraram diferenças quanto a localização da imunomarcacão entre ameloblastomas sólidos de padrões foliculares, que exibiram uma marcação moderada no núcleo e no citoplasma; e nos plexiformes que tiveram expressão predominantemente na membrana. Todavia a análise foi qualitativa e os autores só pesquisaram a expressão em dez ameloblastomas sólidos. No estudo feito com amostras do SAPB-UFES encontramos três diferentes variantes, o que impossibilita comparações.

Kumamoto e Ooya (2005) não encontraram expressão nuclear de beta catenina em A-D, diferente do que foi observado nesse estudo, onde um caso de desmoplásico mostrou positividade variável para marcação nuclear. Todavia, houve semelhança entre os resultados daqueles autores com essa pesquisa no que se refere à

marcação citoplasmática, onde ambos os estudos apresentaram casos de uniformidade positiva para marcação na membrana.

Nesse estudo a marcação citoplasmática foi uniformemente positiva em todos os casos, o que difere dos resultados de Miyake et al. (2006), que encontraram marcação difusa na membrana dos A-S/M foliculares e plexiformes. O presente estudo teve dois casos de A-S/M plexiforme, onde um caso foi negativo para marcação nuclear e o segundo apenas positividade focal. Entretanto, a marcação na membrana teve positividade variável e a marcação do citoplasma foi uniformemente positiva em ambos os casos.

Também foi observada nesse estudo imunomarcação em todos os casos e em todas as três variantes de ameloblastomas pesquisadas, o que difere dos resultados de Tanashi et al. (2008), que encontraram marcação nuclear em onze casos (08 A-S/M e 03 A-U), e marcação na membrana e/ou expressão citoplasmática focal em 16 dos 18 casos. A marcação nuclear foi observada apenas nos casos com padrão folicular, principalmente nas células colunares periféricas, e ocasionalmente nas células centrais poliédricas.

Com relação à marcação nuclear, os resultados desse estudo são discordantes do estudo de Siriwardena et al. (2009), pois esses encontraram forte marcação no núcleo em todos os ameloblastomas. No presente estudo, a marcação nuclear variou de negativo a positividade variável. Todavia, além de diferenças no anticorpo e no sistema de detecção, os autores utilizaram escores diferentes do preconizado por Hsu et al. (1981), o que torna os métodos das duas pesquisas diferentes.

Foram encontrados resultados semelhantes ao de Pereira et al. (2010), que observaram expressão de beta catenina tanto nas células tipo retículo estrelado como nas células da camada basal, tipo ameloblastos, tanto nos ameloblastoma sólidos como nos unicísticos. Porém dentre os 21 ameloblastomas avaliados, a reatividade nuclear foi observada somente nas células neoplásicas em quatro ameloblastomas (03 sólidos e 01 unicístico), o que difere dos resultados encontrados nos doze casos pesquisados nesse estudo, onde foi observada marcação nuclear em oito casos. Todavia, os critérios de avaliação foram diferentes,

pois utilizamos o limiars de positividade de Hsu et al. (1981) e Pereira et al. (2010) utilizaram os critérios de Freitas (2009).

5.7 CONCLUSÃO

A uniformidade positiva para imunomarcção de beta catenina no citoplasma dos ameloblastomas desse estudo indica que beta catenina se acumula no citoplasma, ao invés de seguir a via de degradação normal. Estudos mais abrangentes envolvendo amostras frescas de ameloblastoma seriam úteis para uma investigação mais detalhada sobre quais elementos poderiam estar alterados e levando a esse aumento da expressão de beta catenina em locais diferentes do observado no epitélio oral. Apesar de ainda não ter sido demonstrado associação entre mutações em CTNNB1 e aumento da expressão de beta catenina no núcleo, essa hipótese deverá ser testada em amostras maiores e com metodologia validada. Também deve-se investigar alterações na via de Wnt e no gene APC.

5.8 REFERÊNCIAS

- BHANOT, P.; BRINK, M.; SAMOS, C.H.; HSIEH, J. C.; WANG, Y.; MACKE, J. P.; ANDREW, D.; NATHANS, J.; NUSSE, R. A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. **Nature**, v.382, n. 6588, p.225-30, 1996.
- CADIGAN K.M.; NUSSE, R. Wnt signaling: a common theme in animal development. **Genes & Development**, v. 11, n. 24, p. 3286-3305, 1997.
- CLEVERS, H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. **Cell**. v.127, n.3, p. 469-80, Nov., 2006.
- COLUCCIA AM, BENATI D, DEKHIL H, DE FILIPPO A, LAN C, GAMBACORTI-PASSERINI C. SKI-606 decreases growth and motility of colorectal cancer cells by preventing pp60(c-Src)-dependent tyrosine phosphorylation of beta-catenin and its nuclear signaling. **Cancer Res**, v.66, n.4, p. 2279-86, Feb., 2006.
- GARDNER, D.G.; HEIKINHEIMO, K.; SHEAR, M.; PHILIPSEN, H. P.; COLEMAN, H. Ameloblastomas. In: BARNES, L.; EVESON, J. W.; REICHART, P. SIDRANSKY, D. World Health Organization Classification of Tumors. **Pathology & Genetics of Head and Neck Tumors**. Lyon: IARC Press, 2005, p. 296-300.
- GILBERT, S. F. **Developmental Biology**. 7 ed, Sinauer Associates, Sunderland, p.303-338, 2003.
- HINCK, L.; NÄTHKE, I.S.; PAPKOFF, J.; NELSON, W.J. Beta-catenin: a common target for the regulation of cell adhesion by Wnt-1 and Src signaling pathways. **Trends Biochem Sci**, v.19, n.12, p.538-42, Dec. 1994.
- HSU, S. M.; RAINE, L.; FANGER, H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. **J. Histochem Cytochem**, v. 29, p. 577-580.
- KRISHNAN V, BRYANT HU, MACDOUGALD OA Regulation of bone mass by Wnt signaling. **J Clin Invest** , v.116, n. 5, p.1202-9, May., 2006.
- KUMAMOTO, H.; OOYA, K. Immunohistochemical detection of β -catenin ad adenomatous polyposis coli in ameloblastomas. **J Oral Pathol Med**, v. 34, p. 401-406.2005.
- LIU, F.; MILLAR, S. E. Wnt/beta-catenina signaling in oral tissue development and disease. **Journal of Dental Research**, v. 89, n. 4, p. 318-330, Apr. 2010.
- MACDONALD, B. T.; TAMAI, K.; HE, X. Wnt/ β catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. **Dev Cell**, v. 17, n.1, p. 9-26, July, 2009.
- MIYAKE, T.; TANAKA, Y.; KATO, K.; TANAKA, M.; SATO, Y.; IJIRI, R.; INAYAMA, Y.; ITO, Y.; AOKI, S.; KAWABE, R.; TOHNAI, I. Gene mutation analysis and immunohistochemical study of beta-catenin in odontogenic tumors. **Pathology International**, v. 56, p. 732-737, 2006.

NANCI, A. **Ten Cate Histologia oral: desenvolvimento, estrutura e função**. 7ed Elsevier, 2008.

PEREIRA, K. M.A.; AMARAL, B. A. SANTOS, B. R. M.; GALVÃO, H. C.; FREITAS, R. A.; SOUZA, L. B. Immunohistochemical expression of E-cadherin and b-catenin in ameloblastomas and tooth germs. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**., v. 109, p. 425-431, 2010.

PEIFER, M.; POLAKIS, P. Wnt signaling in oncogenesis and embryogenesis: a look outside the nucleus. **Science**, v. 287, p. 1606-1609, Mar. 2000.

POLAKIS, P. Wnt signaling and cancer. **Genes & Development**. v. 14, p. 1837–1851, 2000.

RUHIN, V.; DESCROIX, A.; PICARD, A.; BERDAL, A. Tumorigenèse des maxillaires. Recherche et perspective. **Rev Stomatol Chir Maxillofac**, v.110, p. 227-232, 2009.

SAUK, J. J.; NIKITAKIS, N. G.; SHEPER, M. A. Are we on the brink of nonsurgical treatment for ameloblastoma? **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod**, v. 110, n. 1, p. 68-78, 2010.

SCHLOSSHAUER, . PW.; ELLENSON, L. H.; SOSLOW, R. A. Beta-catenin and E-cadherin expression patterns in high-grade endometrial carcinoma are associated with histological subtype. **Mod Pathol** v., 15, n.10, p.1032-7, Oct 2002.

SEKINE, S.; SATO, S.; TAKATA, T.; FUKUDA, Y.; ISHIDA, T.; KISHINO, M.; SHIBATA, T.; KANAI, Y.; HIROHASHI, S. Beta-catenin mutations are frequent in calcifying odontogenic cysts, but rare in ameloblastomas. **The American Journal of Pathology**., v. 163, n. 5, p. 1707-1712, Nov. 2003.

SIRIWARDENA, B. S. M. S.; KUDO, Y.; OGAWA, I.; TILAKARATNE, W. M.; TAKATA, T. Aberrant β -catenin expression and adenomatous polyposis coli gene mutation in ameloblastoma and odontogenic carcinoma. **Oral Oncology**, v. 45, p. 103-108, 2009.

SUKARAWAN, W.; SIMMONS, D.; SUGGS, C.; LONG, K.; WRIGHT, T. WNT5A expression in ameloblastoma and its roles in regulation enamel epithelium tumorigenic behaviors. **The American Journal of Pathology**, v. 17, n. 1, p. 461-471, Jan. 2010.

TANASHI, J.; DAA, T.; YADA, N.; KASHIMA, K.; KONDOH, Y.; YOKOYAMA, S. Mutational analysis of Wnt signaling molecules in ameloblastoma with aberrant nuclear expression of β -catenin. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 37, p. 565-570, 2008.

THORSTENSEN, L.; HOLM, R.; LOTHE, R. A.; TROPÉ, C.; CARVALHO, B.; SOBRINHO-SIMÕES, M.; SERUCA, R. WNT-inducible signaling pathway protein 3, WISP-3, is mutated in microsatellite unstable gastrointestinal carcinomas but not in endometrial carcinomas. **Gastroenterology**, v. 124, n. 1, p. 270-271, Jan 2003.

WILLERT, K.; NUSSE, R. Beta-catenin: a key mediator of Wnt signaling. **Current opinion in genetic & development**, v. 8, n. 1, p. 95-102, 1998.

WODARZ, A.; NUSSE, R. Mechanism of Wnt signaling in development. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 14, p.59–88, 1998.

Caso/Campo/Grade	N Cel	Cel SM	Cel M	MC	MM	MN	%Cel SM	%Cel M	% MC	%MM	%MN
1.4.1											
1.4.2											
1.4.3											
1.4.4											
1.4.5											
1.4.6											
1.4.7											
1.4.8											
1.4.9											
1.4.10											
1.4.11											
1.4.12											
TOTAL do CAMPO 4											

Caso/Campo/Grade	N Cel	Cel SM	Cel M	MC	MM	MN	%Cel SM	%Cel M	% MC	%MM	%MN
1.5.1											
1.5.2											
1.5.3											
1.5.4											
1.5.5											
1.5.6											
1.5.7											
1.5.8											
1.5.9											
1.5.10											
1.5.11											
1.5.12											
TOTAL do CAMPO 5											
TOTAL 5 CAMPOS											

Legenda:**N Cel:** total de células**Cel SM:** células sem marcação**MC:** marcação citoplasmática**MM:** marcação na membrana**MN:** marcação nuclear

MARCAÇÃO NO ESTROMA: ()SIM ()NÃO

MARCAÇÃO NO PARÊNQUIMA: ()SIM ()NÃO

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O levantamento da casuística de seis anos do SAPB-UFES permitiu a identificação de treze casos de ameloblastomas, com resultados similares a outros levantamentos epidemiológicos, exceto pelo número proporcionalmente alto de ameloblastomas desmoplásicos. Como o pesquisador teve acesso a todos os blocos de parafina e às informações dos prontuários e inclusive aos exames complementares, foi possível a coleta de um elevado número de dados e a confirmação dos diagnósticos dos desmoplásicos, com análise dos aspectos imaginológicos e clínicos. Além disso, os levantamentos epidemiológicos anteriores a 2005, consideravam os ameloblastomas desmoplásicos como pertencentes ao grupo dos ameloblastomas sólidos, o que pode subestimar o número de casos de ameloblastomas desmoplásicos.

Foi observado também que o acompanhamento do paciente por longo período de tempo após a remoção da lesão, e os procedimentos de reabilitação podem ser de difícil aplicação, sendo necessário analisar quais as principais dificuldades enfrentadas, para assim planejar estratégias de continuidade de assistência aos pacientes portadores de ameloblastomas.

A OMS preconiza acompanhamento por longos períodos para todos os casos de ameloblastomas. Todavia, deve-se ressaltar a importância de um diagnóstico detalhado para o planejamento cirúrgico e o esquema de seguimento do paciente, visto que, tumores mais agressivos requerem tratamento mais radical e acompanhamento regular e rigoroso. A análise histopatológica com critérios bem estabelecidos pela comunidade científica, descritos na classificação dos Tumores Odontogênicos publicada pela OMS em 2005, permitiu uma reclassificação bem fundamentada desses ameloblastomas. Pode-se confirmar ainda a assertiva de que um mesmo tumor pode apresentar mais de um padrão, o que comprova a necessidade de análises detalhadas das lâminas, e se possível das lâminas referentes às biópsias excisionais.

Ainda não existe um biomarcador específico para ameloblastomas que possa determinar o prognóstico ou o grau de agressividade do tumor. Entretanto, os

resultados da análise imuno-histoquímica das amostras desse estudo permitiram a constatação de uma alteração na expressão de beta catenina nas células tumorais. O acúmulo citoplasmático de beta catenina ficou evidenciado pela uniformidade de marcação em todas as três variantes estudadas. As causas desse acúmulo no citoplasma não foram investigadas nesse estudo, mas podem sugerir uma ativação da via canônica de Wnt. Alguns pesquisadores já investigaram a possibilidade de o aumento da expressão de beta catenina no núcleo estar associado à mutações em CTNNB1, sem obterem comprovação dessa hipótese. Contudo, o aumento da expressão nuclear de beta catenina em ameloblastomas deve continuar a ser investigado, pois a ligação de beta catenina à TCF/LEF promove a transcrição de proteínas como Myc e ciclina D1, que estão envolvidas na formação de tumores. Estudos multicêntricos com protocolos padronizados e investigadores calibrados podem ser uma alternativa para a investigação das particularidades dos ameloblastomas, especialmente nos quesitos invasividade e recorrência. A comprovação da participação de beta catenina na tumorigênese de ameloblastomas poderá ser útil para a criação de biomarcadores que possibilitem o prognóstico, o acompanhamento dos pacientes afetados, ou mesmo no desenvolvimento de terapias medicamentosas.

Por fim, as possibilidades de estudo poderiam ser ampliadas se existissem para comercialização, linhagens imortais de células formadoras do epitélio odontogênico, para investigação dos fatores responsáveis pela iniciação e progressão do tumor.

7 CONCLUSÃO

No presente estudo não foi possível estabelecer correlações diretas entre a expressão de beta catenina e comportamento dos três tipos de ameloblastomas investigados. Porém, as investigações sobre as possíveis causas de diferentes graus de invasividade dos ameloblastomas podem possibilitar a descoberta de novas modalidades de tratamento. Estudos prospectivos com acompanhamento dos casos diagnosticados e tratados, associando dados clínicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos poderão contribuir para uma melhor compreensão da etiopatogenia e comportamento dos ameloblastomas.

8 ANEXO – Referências da Introdução Geral

ANGADI, P. V. Head and neck: odontogenic tumor: ameloblastoma. **Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.** May, 2010. Disponível em: <<http://AtlasGeneticsOncology.org/Tumors/ameloblastomID5945.html>>. Acesso em 21 de julho de 2010.

BRASIL Ministério da Saúde. **Diretrizes Nacionais de Saúde Bucal**. Brasília 2004.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Saúde Bucal / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2006. **Cadernos de Atenção Básica**, n. 17, 92 p. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/publicacoes/cadernos_ab/abcdad17.pdf. Acesso em: 01 de junho de 2012.

_____. Conselho Nacional de Secretários de Saúde. **Assistência de Média e Alta Complexidade no SUS**. Conselho Nacional de Secretários de Saúde. Brasília : CONASS, 2007. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/colec_progestores_livro9.pdf. Acesso em: 01 de junho de 2012.

COSTA, D. O. P.; ECARD, M. B.; OLIVEIRA, S. P.; SILVA, L. E.; DIAS, E. P.; LOURENÇO, S. Q. C. Estudo retrospectivo dos casos diagnosticados como ameloblastoma no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Antônio Pedro entre 1997 e 2007. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 44, n. 6, p. 441-447, dez. 2008.

ELLIS III, E. Tratamento cirúrgico das lesões patológicas da boca. In: HUPP, J. R. **Cirurgia oral e maxilofacial contemporânea**. Elsevier. 5ed. Rio de Janeiro, 2009.

FREGNANI, E. R.; PEREZ, D. E. C.; ALMEIDA, O. P.; KOWALSKI, F.A.; SOARES, F. A.; ALVES, F. A. Clinicopathological study and treatment outcomes of 121 cases of ameloblastomas. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 39, n. 2, p. 145-149, Dec. 2010.

GOMES, C.C; DUARTE, A. P.; DINIZ, M. G.; GOMEZ, R. S. Current concepts of ameloblastoma pathogenesis. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 39, p.585-591, 2010.

KUMAMOTO, H. Molecular pathology of odontogenic tumors. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 35, p. 65-74, 2006.

KUMAMOTO, H.; OOYA, K. Immunohistochemical detection of BH3-only proteins in ameloblastic tumors. **Oral Diseases**, v. 14, p. 550-555, 2008.

KUMAMOTO, H. Molecular alterations in the development and progression of odontogenic tumors. **Oral Med Pathol**, v. 14, p. 121-130. 2010.

LAWALL, M. A. **Estudo retrospectivo de tumores odontogênicos em dois centros de estudo no Brasil e três no México**. 2009. 170 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Odontologia de Bauru. Universidade de São Paulo.

LEDESMA-MONTES, C.; MOSQUETA-TAYLOR, A.; CARLOS-BREGNI, R.; ROMERO de LEÓN, E.; PALMA-GUZMÁN, J. M.; PÁEZ-VALENCIA, C.; MENESES-GARCIA, A. Ameloblastomas: a regional Latin-American multicentric study. **Oral Diseases**, v. 13, n. 3, p. 303-307, May. 2007.

MACDONALD, B. T.; KEIKO, T.; XI, H. Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. **Dev Cell**, v. 17, n. 1, p. 9-26, Jul. 2009.

RUHIN, V.; DESCROIX, A.; PICARD, A.; BERDAL, A. Tumorogénese des maxillaires. Recherche et perspective. **Rev Stomatol Chir Maxillofac**, v.110, p. 227-232, 2009.

SAUK, J. J.; NIKITAKIS, N. G.; SHEPER, M. A. Are we on the brink of nonsurgical treatment for ameloblastoma? **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod**, v. 110, n. 1, p. 68-78, 2010.

SCHLOSSHAUER, P.W.; ELLENSON, L. H.; SOSLOW, R. A. Beta-catenin and E-cadherin expression patterns in high-grade endometrial carcinoma are associated with histological subtype. **Mod Pathol** v., 15, n.10, p.1032-7, Oct 2002
SUN, Z. J.; WU, Y.R.; CHENG, N.; ZWAHLEN, R.A.; ZHAO, Y. F. Desmoplastic ameloblastoma: a review. **Oncology**, v. 45, p. 752-759, 2009.

SILVA, B. F.; SANTOS JÚNIOR, J. C.; ABRAHÃO, M.; CERVANTES, O.; MIRANDA, S. L. Ameloblastoma: revisão da literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço**, v. 33, n. 1, p. 7-13, jan. fev. mar. 2004.

SZPILMAN, A. R. M.; SHWARTZ, T. D.; RIANI, A. P. C; SOARES, J.; BATISTA, R. M.; LIMA, R. C. D.;SILVA, M. Z. Reflexo da estratégia saúde da família na situação de saúde do estado do Espírito Santo. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde**, v. 13, n. 2, p. 5-11, 2011.