

GUILLERMO MARTÍNEZ MATA

**Mixomas Odontogênicos:  
análise clinicopatológica e  
imunohistoquímica de 67 casos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Estomatopatologia, Área de Patologia.

Piracicaba

2005

GUILLERMO MARTÍNEZ MATA

**Mixomas Odontogênicos:  
análise clinicopatológica e  
imunohistoquímica de 67 casos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Estomatopatologia, Área de Patologia

Orientador: Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida

Banca examinadora:

Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida

Prof. Dr. Carlos Benatti Neto

Prof. Dr. Pablo Agustin Vargas

Piracicaba

2005

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

M366m

Martínez Mata, Guillermo.

Mixomas Odontogênicos: análise clinicopatológica e imunohistoquímica de 67 casos. / Guillermo Martínez Mata. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2005.

Orientador: Oslei Paes de Almeida.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Imunohistoquímica. 2. Tumores. I. Almeida, Oslei Paes de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(mg/fop)

Título em inglês: Odontogenic myxoma: clinicopathological and immunohistochemical analyse of 67 cases.

Palavras-chave em inglês (*Keywords*): 1. Immunohistochemistry. 2. Tumors

Área de concentração: Patologia

Titulação: Mestre em Estomatopatologia.

Banca examinadora: Oslei Paes de Almeida, Carlos Benatti Neto, Pablo Agustin Vargas

Data da defesa: 25/08/2005



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de MESTRADO, em sessão pública realizada em 25 de Agosto de 2005, considerou o candidato GUILLERMO MARTINE MATA aprovado.

PROF. DR. OSLEI PAES DE ALMEIDA

PROF. DR. CARLOS BENATTI NETO

PROF. DR. PABLO AGUSTIN VARGAS

2005 08 25

Aos meus pais Jorge e Eusebia, meus irmãos Silvia, Yolanda, Alejandra, Jorge, Daniel e Verónica pela constante ajuda.

## Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Unicamp, na pessoa de seu diretor, Professor **Doutor Thales de Mattos Rocha Filho**.

Ao Professor **Doutor Oslei Paes de Almeida** pela orientação para a realização desta tese.

Ao Professor **Doutor Jacks Jorge Junior**, coordenador do programa de Pós-graduação em Estomatopatologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP.

Aos Professores **Doutores Pablo Agustín Vargas, Márcio Ajudarte Lopes, Edgard Graner, Ricardo Della Coleta e Osvaldo Di Hipólito Junior** do curso de Pós-graduação em Estomatopatologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba- UNICAMP.

A **Ana Lúcia** pela correção, ajuda e boas sugestões nesta tese.

Aos Professores Doutores da Especialidade em Patologia e Medicina Bucal da Universidad Autónoma Metropolitana - Xochimilco **Velia Aydeé Ramírez Amador, Adalberto Mosqueda Taylor, Imelda González Ramírez, Estela de la Rosa García, Gabriela Anaya Saavedra e Martha González Guevara** pela grande contribuição em minha vida acadêmica.

Aos companheiros da Pos-graduação **Andréia, Carol, Eduardo, Jorge, Ito, Kenia, Lays, Lilia, Lucielma, Marco, Michelle, Gaucha, Ornellas, Kriok e Patrícia**.

A **Sabrina**, incondicional amiga.

Aos grandes amigos **Alejandra, Eduardo, Jocelyn, Miguel e Evelyn**.

Aos funcionários da Patologia **Adriano, Ana Cristina, Dona Cida, João, Rogério e Rosa**.

A **todas as outras pessoas** que direta ou indiretamente ajudaram-me, os meus sinceros agradecimentos.

# SUMÁRIO

<b>Lista de abreviaturas</b>	<b>1</b>
<b>Resumo</b>	<b>2</b>
<b>Abstract</b>	<b>3</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>4</b>
<b>2. Revisão Da Literatura</b>	<b>5</b>
3.1. Lesões odontogênicas	5
3.2. Mixomas	7
3.2.1. Mixoma cardíaco	7
3.2.2. Mixoma de tecidos moles	7
3.2.3. Mixoma odontogênico	8
3.2.3.1 Mixoma odontogênico periférico	17
3.3. Diagnóstico diferencial/Tumores da bainha nervosa	18
3.4. Filamentos intermediários	18
<b>3. Proposição</b>	<b>21</b>
<b>4. Material e Métodos</b>	<b>22</b>
<b>5. Resultados</b>	<b>24</b>
5.1. Epidemiologia	24
5.2. Características clínicas, radiográficas e localização	25
5.3. Análise histopatológica e estudos de imunohistoquímica	28
<b>6. Discussão</b>	<b>39</b>
<b>7. Conclusões</b>	<b>43</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>44</b>
<b>Anexos</b>	<b>51</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

BSA: Bovine serum albumin- albumina sérica bovina

CK: Citoqueratina

DAB: Diaminobenzidina

DMSO: Dimetilsulfóxido

FVIII-Ag: Antígeno relacionado ao fator VIII

GAG: Glicosaminoglicanas

GFAP: Gliar fibrillary acidic protein- proteína ácida fibrilar da glia

H&E: Hematoxilina e eosina

KDa: Quilodalton

LCCG: Lesão central de células gigantes

MMP-2: Metaloproteinase 2

MMP-3: Metaloproteinase 3

MMP-9: Metaloproteinase 9

MO: Mixoma odontogênico

NF: Neurofilamento

NSE: Neuron-specific enolase- enolase neurônio específico

PAS: Ácido Periódico de Schiff

PBS: Phosphate bufferes saline- solução salina tamponada com fosfato

TDCF: Tumor dentinogênico de células fantasmas

TOA: Tumor odontogênico adenomatóide

TOCC: Tumor odontogênico de células claras

$\alpha_1$ .ACT: alpha-1 antiquimiotripsina

$\alpha_1$ .AT: alpha-1 antitripsina

$\alpha$  SMA: alpha-smooth muscle actine/ alfa-actina músculo liso específica

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar as características clínicas, radiográficas, histopatológicas e perfil imunohistoquímico de 67 casos de mixomas odontogênicos (MOs), assim como relatar uma das casuísticas mais extensas da literatura mundial. Nesta pesquisa, o gênero feminino foi o mais afetado com 48 casos (71,64%) enquanto o gênero masculino foi em 19 (28,36%) (relação homem/mulher 1:2,5). A idade dos pacientes variou de 10 a 84 anos, média de 32,7. O sítio mais afetado foi a mandíbula em 27 casos (40,29%). Clinicamente, os MOs apresentaram-se como lesões assintomáticas em 29 (43,28%) casos, em 9 (13,43%) houve dor leve a moderada enquanto em outros 9 (13,43%) houve aumento de volume com evolução lenta. Radiograficamente dos 47 casos com dados disponíveis, 29 (43,28%) casos foram descritos como lesões radiolúcidas e 18 (26,86%) como mistas/multiloculares com aparência de favos de mel ou bolhas de sabão. Microscopicamente MOs apresentaram abundantes células fusiformes e estreladas homogêneas dispersas em um estroma mixóide e frouxo sem apresentar mitoses ou pleomorfismo celular. Em 6 casos (8,95%) evidenciaram presença de epitélio e 16 (23,88%) apresentaram calcificações do tipo distrófica. A reatividade de mastócitos foi positiva pela imunohistoquímica (clone AA1) em 27 casos (40,29%) e na coloração de azul de toluidina em 19 (28,35%). Treze dos 67 casos apresentaram epitélio imunoreativo para o coquetel de citoqueratinas AE1/AE3 e CK 14. Apenas 2 dos 13 casos foram positivos para CK 19 sugerindo uma possível origem odontogênica. As células fusiformes e estreladas foram reativas para vimentina em 67 casos, para  $\alpha$ -actina músculo liso específica em 27 casos (40,29%) e para desmina em 6 (8,95%). Todos os casos foram negativos para a proteína S-100 e CK 8. O anticorpo CD-34 foi positivo em 20 (29,85%) casos, evidenciando múltiplas estruturas vasculares de diversos tamanhos. O marcador de proliferação celular Ki-67 foi positivo em apenas 2 casos apesar de sua alta taxa de recorrência. Baseado nestes achados, podemos sugerir que provavelmente os MOs sejam derivados de elementos mesenquimais, possivelmente de células fibroblásticas modificadas com características de miofibroblastos, e que outras nomenclaturas seriam mais adequadas para denominar esta lesão, tais como mixomas da região maxilar ou mixomas dos ossos gnáticos.

## ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the immunohistochemical profile and clinical, radiographical and histopathological characteristics of 67 cases of odontogenic myxoma (OM), as well as to report the greatest series related in the world literature. Females were more affected with 48 cases (71,64%) whereas males were in 19 (26.83%), male-female ratio 1:2.5. The patient's age ranged from 10 to 84 years (mean 32,7 years). The most frequent site affected was mandible with 27 cases (40,29%). Clinically, 29 cases (43,28%) of OM were asymptomatic, 9 cases (13,43%) presented pain and another 9 (13.43%) showed swelling. Radiographically, we disposed of clinical information in 47 cases, of which 29 (43,28%) cases were radioluced lesions and 18 (26,86%) were described as mixed/multilobular lesions of honey/comb or soap/bubble appearance. Microscopically, OM was constituted by a myxomatous background with spindle-shaped and stellate cells. Mitoses and pleomorphism were absent. Epithelium was present in 6 (8,95%) cases and 16 (23.88%) presented dystrophic calcifications. Immunohistochemical analyses revealed that 27 cases (40.29%) were positives for mast cell (clone AA1) and 19 (28,35%) positives for toluidine blue. Thirteen cases (19,47%) were positives for the antibody PAN CK AE1/AE3 and CK 14 respectively. Only 2 cases (2,98%) were positives for CK 19 suggesting an possible odontogenic origin. The spindle-shaped and stellate cells showed positivity for vimentin in 67 cases, 27 cases (40,29%) for  $\alpha$ -smooth muscle actin positives and 6 (8,95%) for desmin. All 67 cases were S-100 and CK 8 negatives. Twenty cases (29,85%) were immunopositives for CD-34, demonstrating multiples blood vessels. Expression of the marker of cellular proliferation Ki-67 was low, being present only in two cases. Based on these findings, we can suggest that OM probably derives from mesenchymal elements, possibly modified fibroblasts with miofibroblastic differentiation, and that others nomenclatures as mixoma of the jaws could be suggest for this lesion.

## 1. INTRODUÇÃO

Os tumores e lesões derivados de tecidos odontogênicos constituem um grupo de entidades heterogêneas de particular interesse uma vez que apresentam características clínicas e histológicas especiais. Algumas destas lesões apresentam alta frequência e recorrência por serem localmente infiltrativas. Neste contexto é prudente mencionar que estas lesões têm sua origem a partir de eventos que implicam nos processos indutivos necessários para o desenvolvimento dentário, podendo ser derivados de epitélio, ectomesênquima e/ou estruturas mesenquimais que são ou fizeram parte da formação das estruturas dentárias (Reichart & Phillipsen 2004).

A maioria dos tumores odontogênicos é classificada de acordo com suas características epidemiológicas, clínicas, histológicas e ultraestruturais, o qual tem contribuído para determinar sua etiopatogênese. O MO é classificado classicamente como uma lesão tumoral desenvolvida a partir de estruturas dentárias, no entanto a sua etiopatogênese ainda é motivo de discussão (Adekeye *et al.*1984). Múltiplos relatos têm tentado esclarecer sua origem, a maioria deles apontando para uma etiologia mesenquimal, principalmente derivada de fibroblastos modificados ou miofibroblastos. Estes relatos são fundamentados por estudos imunohistoquímicos e ultraestruturais, feitos por microscopia eletrônica e/ou biologia molecular. O estudo e a determinação da etiopatogênese dos MOs representa um importante avanço para o entendimento da doença, o que refletirá em novas formas de abordagens terapêuticas que poderão resultar em índices de recorrência menores. O objetivo deste trabalho foi analisar as características clínicas, radiográficas, histopatológicas e a expressão de marcadores imunohistoquímicos em 67 casos de MOs provenientes do Departamento de Diagnóstico Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, UNICAMP, Brasil.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 LESÕES ODONTOGÊNICAS**

A maioria dos tumores odontogênicos é classificada de acordo com suas características epidemiológicas, clínicas, histológicas e ultraestruturais, o qual tem contribuído a determinar sua etiopatogênese. Em 1867 o fisiologista francês Paul Broca propôs pela primeira vez uma classificação de lesões derivadas de tecidos dentários. Em 1971 foi publicada a primeira classificação de lesões odontogênicas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) tendo como base as sugestões propostas por Pindborg (1958) e Gorlin (1961) que descreveram as interações epitélio-mesênquima durante o desenvolvimento normal das estruturas dentárias. Assim, os tumores odontogênicos foram classificados em 18 lesões, 13 delas benignas e 5 malignas (Pindborg *et al.* 1971). Em 1992 foi publicada uma segunda edição da classificação proposta em 1971, pela OMS (Kramer *et al.* 1992). Em julho de 2003 no livro “Pathology and Genetics of Tumours of the Head and Neck” da OMS foi aprovada uma nova classificação de tumores odontogênicos como mostra o quadro 1.

**Quadro 1.**

Neoplasias e lesões tumorais desenvolvidas a partir de estruturas odontogênicas\*\*.

Tumores benignos	Tumores malignos	Outras neoplasias
<b>Epitélio odontogênico/estroma fibroso sem ectomesênquima</b>	<b>Carcinomas</b>	<b>Neoplasias ósseas</b>
Ameloblastoma	Ameloblastoma maligno metastizante	Fibroma ossificante
Sólido/multicístico	Carcinoma ameloblástico	<b>Lesões não neoplásicas</b>
Extraósseo/periférico	Primário	Displasia fibrosa
Desmoplásico	Secundário intraósseo	Displasias ósseas
Unicístico	Secundário extraósseo	LCCG
Tumor odontogênico calcificante	CEC intraósseo primário	Querubismo
TOA	Sólido	Cisto ósseo traumático
Tumor odontogênico cístico queratinizante**	Derivado de CO	Cistos ósseo simples
Tumor odontogênico escamoso	Derivado de Tumor cístico odontogênico queratinizante	
<b>Epitélio odontogênico com ectomesênquima com/sem formação de tecidos duros</b>	Ca. odontogênico de células claras	
Fibroma ameloblástico	Ca. odontogênico de células fantasmas	
Fibrodentinoma ameloblástico	<b>Sarcomas</b>	
Fibroodontoma ameloblástico	Fibrosarcoma ameloblástico	
Odontoma complexo	Fibrodentinossarcoma e fibroodontossarcoma ameloblástico	
Odontoma composto		
Odontoameloblastoma		
TOCC		
TDCF		
<b>Mesênquima/ectomesênquima com/sem epitélio odontogênico</b>		
Fibroma odontogênico		
Mixoma/fibromixoma odontogênico		
Cementoblastoma		

TOA: Tumor odontogênico adenomatóide.

TOCC: Tumor odontogênico de células claras.

TDCF: Tumor dentinogênico de células fantasmas.

LCCG: Lesão central de células gigantes.

\*Tumor odontogênico cístico queratinizante, antes queratocisto odontogênico.

\*\* Reichart PA, Phillipsen HP. Odontogenic tumors and allied lesions. 1ª Ed Quintessence Publishing Co Ltd. 2004, p 189-197.

## 2.2 MIXOMAS

O Mixoma é uma neoplasia mesenquimal benigna que ocorre em diversas localizações como coração, osso, derme, tecidos aponeuróticos, trato geniturinário e músculo esquelético. Em 1863 Rudolph Virchow empregou pela primeira vez o termo mixoma para descrever um tumor que apresentava histologicamente abundante substância mucóide semelhante ao cordão umbilical, com presença de células de aspecto estrelado e fusiforme (Alphin *et al.* 1993). Desde então, são consideradas uma neoplasia mesenquimal verdadeira constituída por células fusiformes e estreladas indiferenciadas sobre um estroma mixóide. Hoje, é universalmente aceito que os mixomas são originários de células mesenquimais primitivas que possuem características de fibroblastos modificados que perderam a capacidade de produzir colágeno maduro e secretar fibras de colágeno imaturas, assim como ácido hialurônico em excesso (Amano *et al.* 2003).

### 2.2.1 MIXOMA CARDÍACO (MC)

No coração, o mixoma é a neoplasia primária benigna mais freqüente que acomete os adultos, sendo o átrio direito a porção mais afetada (75%) (Kumar *et al.* 2005; Amano *et al.* 2003). Clinicamente provoca sintomas clínicos como febre e mal-estar generalizado, além de ocasionalmente provocar embolia pela fragmentação da massa tumoral. Histopatologicamente é constituído por células estreladas ou arredondadas (células lipídicas), células endoteliais, fibras musculares lisas e um estroma abundante composto por glicosaminoglicanas, coberto por uma camada de endotélio (Kumar *et al.* 2005). Os MCs podem estar associados em 10% dos casos à Síndrome de Carney que é uma doença hereditária autossômica dominante caracterizada por múltiplos mixomas cardíacos e cutâneos, manchas pigmentadas e hiperatividade endócrina. Imunohistoquimicamente é positivo para vimentina, CD 34 e trombomodulina (Rosai 2004; Amano *et al.* 2003).

### 2.2.2 MIXOMA DE TECIDOS MOLES (MTM)

É uma neoplasia rara que ocorre mais em adultos e afeta freqüentemente as mulheres. Uma grande quantidade deles se desenvolve intramuscularmente e múltiplos mixomas são relacionados à displasia fibrosa dos ossos. Microscopicamente o mixoma de

tecidos moles está constituído por uma proliferação de células fusiformes sem atipia, estroma mucóide abundante e espaços vasculares finos. Tem sido comprovado que as células neoplásicas são fibroblastos modificados negativos para a proteína S-100 e desmina, e positivos para vimentina. Os diagnósticos diferenciais incluem lesões com componentes mixóides como lipossarcoma mixóide, mixofibrossarcoma, condrossarcoma, leiomiossarcoma, rabiomiossarcoma, neurofibroma mixóide e angiomixoma agressivo (Kumar *et al.* 2005; Rosai 2004).

### 2.2.3 MIXOMA ODONTOGÊNICO (MO)

É uma neoplasia benigna localmente infiltrativa, constituída por células fusiformes, angulares e arredondadas dispersas em um abundante estroma mucóide (Reichart & Phillipsen 2004).

A frequência dos MOs varia, dependendo da casuística, entre 3 – 18,01% do total de tumores odontogênicos (Regezi *et al.* 1978, Mosqueda *et al.* 1997). O gênero feminino é mais comumente afetado, apresentando uma relação homem: mulher que varia de 1:1,3 a 1:2,4 (Mosqueda *et al.* 1997, Ochsenius *et al.* 2002, Simon *et al.* 2004). O intervalo da idade pode ir de 3 meses a 64 anos com uma média variando de 24,3 a 34 anos (Mosqueda *et al.* 1997, Lu *et al.* 1998, Simon *et al.* 2004).

Geralmente é uma lesão assintomática de evolução lenta que provoca expansão das corticais ósseas vestibulares e linguais/palatinas. Em alguns casos, quando atinge grandes dimensões, é possível encontrar perfuração destas estruturas ósseas podendo provocar infiltração em tecidos moles adjacentes, interferindo ocasionalmente na oclusão e provocando assimetria facial (Reichart & Phillipsen 2004, Kaffe *et al.* 1997). Se houver contigüidade da lesão com o seio maxilar, este pode ser invadido parcial ou totalmente por tecido tumoral, podendo ocorrer obstrução nasal, hemoptise e proptose (Kaffe *et al.* 1997). Anatomicamente os MOs acometem mais freqüentemente a região mandibular (66,4%-71,43%) que a maxilar (28,57%-33,6%) (White *et al.* 1975, Kaffe *et al.* 1997). A região posterior é a mais afetada tanto na maxila (73%) como na mandíbula (65,1%) (Kaffe *et al.* 1997).

Radiograficamente o MO apresenta-se como uma lesão radiolúcida unilocular em 47,6% dos casos e como uma lesão expansiva multilocular em 52,4%, podendo apresentar bordas pouco definidas (com aspecto de bolhas de sabão ou favos de mel) ou escleróticas e bem definidas (Peltola *et al.* 1994). Quando apresentam grandes dimensões, freqüentemente mostram bordas festonadas seguindo o trajeto das raízes dentárias. O deslocamento dentário é visto em 74% dos casos, enquanto a rizólise em 9,5% (Peltola *et al.* 1994). As lesões uniloculares apresentam um tamanho menor que 4cm, enquanto as multiloculares são maiores que 4cm (Peltola *et al.* 1994, Kaffe *et al.* 1997). Em 7,5% dos casos é possível notar algumas radiopacidades no interior da lesão, que correspondem a finas trabéculas ósseas vistas principalmente nas lesões multiloculares (Kaffe *et al.* 1997).

O MO é constituído por um estroma mucóide abundante e frouxo com células estreladas, arredondadas ou fusiformes e normalmente não apresenta mitoses ou pleomorfismo celular. Os espaços vasculares são escassos sendo o estroma relativamente avascular (Reichart & Phillipsen 2004). Os MOs podem eventualmente apresentar algumas células inflamatórias, assim como remanescentes de epitélio odontogênico imersos no estroma mucóide, embora isto não seja considerado critério indispensável para estabelecer o diagnóstico. É possível encontrar ocasional hialinização do estroma periepitelial (Reichart & Phillipsen 2004, Lo Muzio *et al.* 1996, Rotenberg *et al.* 2004). A presença de calcificações distróficas tem sido relatada como pequenas esferas irregulares de aspecto cementóide (Rennie *et al.* 1985, Oygur *et al.* 2001).

Uma grande quantidade de tumores odontogênicos pode apresentar características histológicas similares aos tecidos epiteliais e/ou mesenquimais presentes nas diferentes fases da odontogênese normal (Adekeye *et al.* 1984). Nos MOs, a semelhança do estroma e das células com tecido mesenquimal dental primitivo pode causar confusão na interpretação de sua patogênese. O MO é definido classicamente como uma lesão tumoral desenvolvida a partir de estruturas dentárias, no entanto a sua etiopatogênese ainda é motivo de discussão. A histogênese, patogênese e tratamento adequado dos MOs ainda não foram bem estabelecidos, como é possível observar em diferentes trabalhos (Cernea & Katz 1957, Zimmerman & Dahlin 1958, Large *et al.* 1960, Ghosh *et al.* 1973, Harrison *et al.* 1973, Westwood *et al.* 1974, Simes *et al.* 1975, Kangur *et al.* 1975). Múltiplos relatos, feitos por

imunohistoquímica e microscopia eletrônica, têm tentado esclarecer sua origem, embora sem uma concordância (Lombardi *et al.* 1988, Moshiri *et al.* 1992, Jaeger *et al.* 2000). A maioria deles concorda com uma origem mesenquimal, principalmente derivada de fibroblastos modificados ou miofibroblastos (Gundlach & Schulz 1977, Hasleton *et al.* 1978). Lucas (1972) justifica que o MO deriva das estruturas dentárias por várias razões. Primeiro, pela alta frequência em adolescentes; segundo, pela associação com dentes ausentes ou inclusos e terceira, pela presença ocasional de epitélio odontogênico imerso num estroma neoplásico mixóide.

Em 1947, Thoma & Goldman relataram amplamente as características histopatológicas dos MOs, assim como Stout (1948), em uma das primeiras séries publicadas, com 26 casos. Barros *et al.* (1969) relatou uma série de 21 casos provenientes de um centro de referência em Buenos Aires, Argentina, no período de 1961-1966 incluindo-os em uma análise de 74 casos relatados na literatura mundial, totalizando uma casuística de 95 casos. Nessa pesquisa foram analisadas as seguintes características epidemiológicas: sexo, localização, idade, sintomas, tempo de evolução, comportamento das lesões e tratamento empregado. O intervalo de idade desses casos variou de 17 meses a 65 anos com uma idade média de 28,5 anos. A maioria dos MOs nesta série, apresentou-se de forma assintomática. O tempo mínimo e máximo da aparição dos sintomas até a data de diagnóstico foi de 1 semana e 15 anos, respectivamente e a evolução dos MOs foi considerada benigna e localmente infiltrativa, e em apenas um dos casos foi relatada transformação maligna com metástase e morte do paciente. O período de acompanhamento variou de 6 meses a 23 anos, com média de 4 anos e uma porcentagem de recorrência de 26% em 50 casos que tiveram este acompanhamento. O tratamento mais comumente reportado foi a curetagem (42 de 68 casos), enquanto a ressecção radical foi feita em 25 casos; a radioterapia foi empregada em apenas 1 caso sem apresentar resultados significativos. Os índices de recorrência foram mais associados ao tratamento conservador-curetagem (74,6%) do que nos casos onde a cirurgia radical foi empregada. Também relataram que os MOs apresentaram-se radiograficamente como uma lesão predominantemente osteolítica com eventual deslocamento dentário e reabsorção radicular pouco freqüente. Macroscopicamente os tumores não eram encapsulados, eram

multilobulados e apresentavam consistência gelatinosa. Microscopicamente os casos de MOs relatados por Barros *et al.* (1969) mostraram características histológicas monomórficas, constituídos por uma proliferação de células estreladas basófilas com escasso citoplasma e com núcleo hipercromático, espalhadas em um material extracelular eosinófilo, positivo para a coloração de Ácido Periódico de Schiff (PAS). Também observaram algumas células granulares do tipo mastócito, embora não tivesse infiltrado inflamatório. Nenhum dos casos estudados apresentou epitélio odontogênico, mitoses ou células atípicas.

White *et al.* (1975), analisaram 9 casos de MOs incluindo as características clínicas, histológicas e um estudo de microscopia eletrônica de transmissão. A idade média descrita foi de 26,5 anos com uma faixa etária variando de 11 a 62 anos. A relação homem:mulher foi de 5:4. O local mais afetado foi a mandíbula (7 casos), sendo o número restante localizado na maxila. O tratamento em 6 casos foi a curetagem enquanto a ressecção em bloco foi feita em 2 pacientes. Foi observada recorrência em 1 dos casos, cinco anos depois do tratamento, o qual não foi especificado. A análise de microscopia eletrônica de transmissão revelou que as células dos MOs apresentavam um complexo de Golgi proeminente e múltiplas redes de retículo endoplasmático rugoso, sendo provavelmente células secretoras ativas. Além disso, foi encontrado material granular no retículo endoplasmático sugestivo de material sintetizado secretado nos espaços extracelulares (material mixóide).

Gundlanch & Schulz (1977) fizeram um estudo retrospectivo e analisaram as características clínicas e citomorfológicas de 9 MOs. A idade média foi de 34 anos, com variação de 8 a 70 anos. O sintoma mais freqüente foi a dor (7 casos) e a mandíbula a única região afetada. Microscopicamente, os MOs apresentaram poucas células, constituídas por um citoplasma pequeno, de aspecto fusiforme distribuídas em um estroma de fibras delicadas, sendo que 10-30% delas foram positivas para fosfatase alcalina. Também avaliaram 2 espécimes de MO por meio de microscopia eletrônica, encontrando a presença de basicamente dois tipos celulares: fibroblastos e mixoblastos (fibroblastos modificados). As células do tipo fibroblasto apresentaram características estruturais de fibroblastos bem diferenciados, fusiformes a estrelados, com núcleo escuro e abundante heterocromatina

disposta perifericamente no núcleo, com presença de nucléolo denso. O retículo endoplasmático encontrava-se bem desenvolvido e com múltiplas cisternas. O complexo de Golgi encontrava-se pouco desenvolvido, e observaram também algumas mitocôndrias, rodeadas por uma matriz densa. Os corpos lisossomais possuíam um número variável de vacúolos lipídicos. As segundas células encontradas (mixoblastos) apresentaram um citoplasma contendo múltiplos segmentos de retículo endoplasmático rugoso e quantidades variáveis de ribossomos, poucas mitocôndrias, sem presença de organelas vesiculares, assim como um Complexo de Golgi abundante. O achado mais significativo dos mixoblastos foi a presença de um conglomerado de filamentos no citoplasma dispostos de forma desorganizada e presente em maior quantidade quando comparado aos fibroblastos presentes na mesma lesão. Lindner *et al.* (1974) e Westwood *et al.* (1974) sugeriram que estes filamentos são precursores de colágeno que após serem liberados na matriz extracelular são separados por enzimas, diversos peptídeos e finalmente são polimerizados, sendo esses achados posteriormente confirmados por Goldblat *et al.* em 1976.

Hasleton *et al.* (1978) também comprovaram a presença de células do tipo miofibroblasto, as quais apresentavam miofilamentos parecidos aos encontrados nas células de tecido muscular liso previamente relatadas por Westwood *et al.* (1974) e Goldblat *et al.* (1976). Eles analisaram um caso de MO por meio de microscopia convencional e microscopia eletrônica de transmissão, encontrando só um tipo de células, fusiformes, com contornos irregulares e associadas a um material amorfo que representava mucopolissacarídeos. No citoplasma dessas células foi possível observar delicadas estruturas fibrilares, enquanto o núcleo apresentava proeminência, projeções nucleares irregulares, nucléolo pequeno assim como um retículo endoplasmático rugoso apresentando cisternas dilatadas. Não foi possível observar vacúolos lipídicos, identificando células do tipo fibroblastos em pequena proporção.

Adekeye *et al.* (1984) relataram as características clínicas, tratamento e patogênese dos MOs em uma série de 18 casos. Nesta série, mencionam que freqüentemente esta lesão pode ser comparada com mesênquima dental e por isso é aceito que derivam de estruturas dentárias embrionárias. Outra estrutura que tem sido comparada com MOs, segundo este autor, é o folículo dental em desenvolvimento pela ocasional presença de epitélio

odontogênico e a semelhança do material de aspecto mixomatoso encontrado em ambas entidades. Além disso, mencionam que determinar a natureza dos MOs é controverso, já que alguns autores consideram-no como uma lesão de amplo espectro, a qual pode desenvolver-se de uma lesão prévia de características mixóides e posterior progressão para uma lesão mais colagenizada do tipo fibroma. Outros autores consideram-no como um processo degenerativo de uma lesão fibrosa desenvolvida a partir de tecidos do folículo dental, ligamento periodontal ou polpa dentária que finaliza em uma lesão mixomatoso. Outras entidades que devem ser consideradas são as lesões desenvolvidas a partir de estruturas neurais, já que possuem características clínicas similares às encontradas nos MOs (idade, sexo, localização, evolução clínica) assim como algumas características histológicas comuns. Adekeye *et al.* (1984) sugerem que MO pode ser uma neoplasia cuja origem pode ser difícil de determinar e que deve se considerar outras entidades no diagnóstico diferencial como um neurofibroma intraósseo ou menos provavelmente um fibroma odontogênico, por ambos poderem apresentar degeneração mixóide.

Lombardi *et al.* (1988) analisaram 2 MOs utilizando técnicas de imunohistoquímica contra anticorpos dirigidos para vimentina, NSE (neuron specific enolase), GFAP (glial fibrillary acidic protein), NF (neurofilaments), desmina, antígeno relacionado ao fator VIII (FVIII-Ag) e proteína S-100. Os resultados obtidos evidenciaram que múltiplas células neoplásicas foram reativas no citoplasma para vimentina e S-100, enquanto foram negativas para os demais anticorpos (queratina, NSE, GFAP, NF, FVII-Ag e desmina). Dessa forma, sugerem que a provável origem dos MOs é mesenquimal, pela imunopositividade para vimentina, que é uma proteína encontrada em tecidos de origem mesenquimal (por exemplo, fibroblastos). Além da positividade para vimentina, fizeram uma sugestão acerca dos achados para a reatividade celular contra a proteína S-100, sugerindo uma origem mesenquimal porém, descartando uma natureza neural.

Em 1990 Takahasi *et al.* analisaram 3 MOs com imunohistoquímica com anticorpos específicos para transferrina, ferritina, alpha-1-antiquimiotripsina ( $\alpha_1$ -ACT), alpha-1-antitripsina ( $\alpha_1$ -AT), NSE, S-100 subunidade  $\alpha$ , S-100 subunidade  $\beta$ , FVIII-Ag e citoqueratina. Segundo os achados com coloração de H&E, os MOs apresentaram três tipos diferentes de células: células fusiformes, células estreladas e células hialinas. Os diferentes

tipos celulares apresentaram um padrão de imunomarcção específico, sendo as células fusiformes positivas para transferrina, ferritina,  $\alpha_1$ -ACT,  $\alpha_1$ -ACT, proteína S-100 e vimentina, enquanto as células estreladas mostraram positividade para transferrina,  $\alpha_1$ -ACT, proteína S-100 e vimentina. As células hialinas foram positivas para  $\alpha_1$ -ACT e  $\alpha_1$ -AT. De acordo com estes achados, eles sugerem que as células neoplásicas positivas para vimentina são de origem fibroblástica e que são capazes de produzir grandes quantidades de material mixóide. Por outro lado, mencionam que a imunopositividade para ferritina revelou que os MOs estão compostos por dois tipos de células, aquelas de origem fibroblástica e outras que possuem características histiocíticas (positivas para ferritina). A positividade para os anticorpos  $\alpha_1$ -ACT e  $\alpha_1$ -AT em células dos MO sugerem que as células neoplásicas participam de forma ativa nos processos de síntese e reabsorção na patogênese de MO. Também supõem que a positividade para transferrina evidencia que as células participantes na patogênese dos MOs apresentam uma capacidade intrínseca de produção de ferro para assegurar a sua replicação, concluindo que as células dos MOs tem uma origem dupla, tanto de natureza fibroblástica quanto histiocítica.

A matriz extracelular também tem sido analisada por vários pesquisadores (Thoma 1947, Harrison *et al.* 1973, Sedano & Gorlin 1965). Esta matriz forma a maior parte dos MOs, cujo componente principal é o ácido hialurônico e em menor proporção condroitin-sulfato (glicosaminoglicanas –GAG- relação de 4:1). Slootweg *et al.* (1985) realizaram uma pesquisa para determinar a composição da matriz extracelular, relatando que está constituída por 95% de água, sendo o restante constituído por glicosaminoglicanas, principalmente ácido hialurônico (72,4%), condroitin-sulfato (18,3%), queratan-sulfato (5,0%) e dermatan-sulfato (4,3%). Os monossacarídeos presentes são hexosaminas (17,97%), ácido hialurônico e galactose (17,34%), ácido glucurônico (15,73%), glucosamina (13,9%) e galactosamina (4,07%). Além da atividade proliferativa das células dos MOs e produção da matriz extracelular pelas células neoplásicas, a capacidade de união da matriz extracelular constituída por GAG com moléculas de água contribuem para um aumento no tamanho das lesões, sendo que 1mg de tecido tumoral capta até 20 vezes o mesmo volume de água (Slootweg *et al.* 1985).

Lombardi *et al.* (1995) realizou um estudo comparativo de 7 MOs, 3 mixomas de tecidos moles, 6 folículos dentais hiperplásicos, 2 mixomas intramusculares, 12 mixomas cardíacos e 7 folículos normais por meio de uma análise de imunohistoquímica para proteína S-100,  $\alpha$ -actina músculo liso específica e CK 19. Os achados histológicos obtidos com H&E revelaram que os MOs estão constituídos por células estreladas e fusiformes, classificando-os como fibromixomas dependendo da quantidade de fibras colágenas maduras. A proteína S-100 foi positiva em 3 casos de MOs e  $\alpha$ -actina músculo liso específica foi positivo de forma moderada em todos os MOs. Os folículos e mixomas cardíacos também mostraram positividade para  $\alpha$ -actina músculo liso específico. Além de serem positivos para  $\alpha$ -actina músculo liso específico, os mixomas cardíacos foram positivos para a proteína S-100 em células fusiformes e basalóides. Contrariamente S-100 não foi positivo para papila dentária, folículos dentais hiperplásicos e mixomas de tecidos moles. Encontraram epitélio odontogênico em apenas 1 caso sendo positivo para CK 19 e esta mesma citoqueratina foi positiva em epitélio odontogênico de germes dentários, folículos mixóides e folículos dentais. Os autores sugerem que o MO tem uma origem mesenquimal e que epitélio odontogênico é apenas um achado ocasional.

No ano 2003, Fenton *et al.* relatou um caso de MO em um paciente pediátrico de 17 meses de idade, cuja análise de imunohistoquímica revelou uma lesão positiva para vimentina e negativa para  $\alpha$ -actina músculo liso específica, desmina e CD34, concordando com os relatos prévios de Lombardi *et al.* e Moshiri *et al.* (1992).

Bast *et al.* (2003) realizou um estudo para tentar determinar porquê os MOs possuem a capacidade de infiltrar as estruturas ósseas. Eles analisaram 26 espécimes de MOs, alguns folículos mixóides e tecidos pulpare. Estes estudos incluíram análises de imunohistoquímica, para determinar a proliferação celular através de Ki-67, proteínas antiapoptóticas (Bcl2, Bcl-x, Bak e Bax), assim como enzimas degradativas de colágeno como MMP2, MMP3 e MMP9. Relataram que é pequena a expressão de Ki-67 (menos de 1%) em MOs, folículos e polpas dentárias. Houve positividade para a enzima collagenase MMP2 em 90% dos casos dos MOs, enquanto para os tecidos controles (folículo e polpa dentária) não houve marcação significativa. Acreditam que a infiltração dos MOs nos espaços medulares é provocada pela liberação de enzimas degradativas de colágeno,

principalmente MMP2 e pela presença de proteínas antiapoptóticas como Bcl2 (Bast *et al.* 2003) que promovem a proliferação celular, embora os marcadores antiapoptóticos Bak e Bax foram negativos tanto nos MOs quanto nos tecidos controles, concluindo que a expressão elevada de proteínas antiapoptóticas (Bcl2) contribui para o crescimento dos MOs provocado pela inibição de morte celular de células modificadas.

Os MOs apresentam um índice elevado de recorrências, sendo determinado principalmente pelas terapêuticas empregadas. Barros *et al.* (1969) relataram uma recorrência de 26% no ano de 1969. MacDonald-Jankowski *et al.* (2002) fizeram uma revisão detalhada da literatura existente dos MOs, relatando que cerca de 48% das séries analisadas tiveram recorrências, porém não especificando números exatos. Reichart & Phillipsen (2004) relataram uma média de 25% de recorrência com um intervalo de 10-33%.

Embora os MOs sejam considerados neoplasia benignas de crescimento lento, existem relatos isolados de MOs que apresentaram transformação maligna (Lamberg *et al.* 1984, Pahl *et al.* 2004). Lamberg *et al.* (1984) relataram um caso de MO o qual apresentou uma conduta clínica agressiva e múltiplas recorrências. Depois de terem sido feitas múltiplas biópsias, comprovou-se que este caso apresentava células atípicas, pleomórficas e algumas mitoses, sendo necessário realizar uma abordagem cirúrgica radical que incluiu maxilectomia e radioterapia. A microscopia de transmissão revelou que esta lesão estava constituída por células do tipo fibroblasto e miofibroblastos. Pahl *et al.* (2001) relatou um caso de MO em um paciente de 52 anos de idade que depois de duas recorrências apresentou um comportamento biológico agressivo. Posteriormente ao tratamento (maxilectomia), foi feito um estudo histopatológico completo, o qual revelou na coloração de H&E uma neoplasia maligna constituída por abundantes células estreladas e fusiformes dispersas em um estroma mucóide sem presença de epitélio odontogênico com algumas áreas apresentando áreas de hiper celularidade com mitoses atípicas, pleomorfismo e hiper cromatismo nuclear. A análise imunohistoquímica revelou células positivas para vimentina e  $\alpha$ -actina músculo liso específica, enquanto foi negativa para proteína S-100 e citoqueratinas. Os estudos citogenéticos comprovaram alterações ultraestruturais no DNA

das células neoplásicas nesta lesão. O paciente morreu depois do tratamento, por infiltração de células neoplásicas no lobo cerebral frontal.

O tratamento do MO vai depender do tamanho e localização da lesão. Assim, nos MOs pequenos é recomendável fazer curetagem ou uma abordagem mais conservadora, em quanto que para as lesões de maior tamanho é recomendável realizar tratamentos mais radicais, os quais podem incluir ressecção em bloco para evitar recorrências. Há relatos de tratamentos a base de radioterapia, quimioterapia ou eletrocautério, porém os resultados têm sido insatisfatórios (Reichart & Phillipsen 2004).

#### 2.2.3.1 Mixoma odontogênico periférico

Os MOs podem se apresentar eventualmente de forma periférica. Estes casos geralmente apresentam-se como aumentos de volume na região de tecidos orais e paraorais (Elzay *et al.* 1978). Na área de gengiva, pode ou não ocorrer erosão óssea. A idade onde se apresentam os MOs periféricos varia de 15 a 90 anos, afetando mais frequentemente as mulheres, sendo geralmente assintomáticos e de evolução lenta. Microscopicamente apresentam características histológicas similares aos MOs centrais, podendo ou não ter epitélio odontogênico. Shimoyama *et al.* (2000) relatou um caso de MO periférico em um paciente do sexo masculino de 51 anos na área mandibular anterior, o qual apresentou-se como uma massa levemente dolorida de 1 ano de evolução, de superfície ulcerada e mobilidade do dente incisivo lateral. Radiograficamente apresentava reabsorção do osso alveolar com presença de algumas estruturas radiopacas dentro da massa tumoral. Microscopicamente a lesão estava composta por células fusiformes e estreladas de núcleos hipercromáticos e dispersas em um estroma de tecido mixóide onde estavam presentes algumas fibras de colágeno e escassas ilhas de células epiteliais de aspecto odontogênico. Imunohistoquimicamente as células fusiformes e estreladas foram positivas para vimentina e parcialmente imunoreativas para  $\alpha$ -actina músculo liso específica e negativas para proteína S-100 e citoqueratinas. O epitélio foi positivo para citoqueratinas (Shimoyama *et al.* 2000).

## **2.3 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL - TUMORES DERIVADOS DA BAINHA NERVOSA**

Entre as lesões que devem ser incluídas no diagnóstico diferencial do mixoma incluem-se aquelas derivadas de tecido nervoso, especialmente os tumores da bainha nervosa e o neurotequeoma (Kumar *et al.* 2005, Rosai 2004).

Os tumores derivados da bainha nervosa são os tumores derivados de nervos periféricos que pode ocorrer na pele, tecidos moles ou intraespinhalmente. Possuem uma aparência histopatológica semelhante ao mixoma, exceto porque apresentam estruturas fasciculares de disposição plexiforme, assim como células de aspecto epitelial, sendo denominado mixoma plexiforme (Rosai 2004).

O neurotequeoma é considerado por alguns autores como uma variante destas lesões. É uma neoplasia benigna derivada de nervos periféricos constituída por um abundante estroma mucóide com presença de múltiplas células epitelíoides que ocasionalmente apresentam algum grau de atipia. Imunohistoquimicamente é positivo para a proteína S-100, embora exista uma variante que é S-100 negativa e positiva para outros marcadores neurais, podendo ser confundida com tumores de origem melanocítica (Rosai 2004).

## **2.4 FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS**

No citoplasma celular temos diferentes estruturas que desempenham funções diversas como por exemplo, aquelas que compõem o citoesqueleto, como os microfilamentos, microtúbulos e filamentos intermediários. Nas células existem cinco tipos destes filamentos intermediários, entre os quais encontram-se as citoqueratinas para células epiteliais; filamentos de vimentina em células mesenquimais, astrócitos, células de Sertoli e células musculares lisas vasculares; filamentos de desmina em células miogênicas; neurofilamentos em células neurais e finalmente filamentos gliais em astrócitos (Moll *et al.* 1982). As citoqueratinas representam cerca de 75% de todos os filamentos intermediários do citoesqueleto protéico, cuja função principal é a organização estrutural da célula, a manutenção da forma e conferir uma resistência ao estresse mecânico. Existem 20 subtipos de citoqueratinas que são classificadas de acordo com o seu peso molecular (40,000 a

68,000 kDa), seu ponto isoelétrico e ao pH. Neste último item, as citoqueratinas são classificadas em citoqueratinas tipo I (ácidas) e citoqueratinas tipo II (neutras ou básicas). De forma geral, as citoqueratinas de baixo peso molecular (40-54 kDa) estão distribuídas em epitélios não escamosos em quanto que as de alto peso molecular (48-67 kDa), são expressas em epitélios escamosos. A expressão de citoqueratinas varia entres os epitélios nos diferentes estágios de desenvolvimento (embriogênese) e durante seu curso de diferenciação terminal. A cavidade oral apresenta uma expressão de citoqueratinas complexa, já que pode expressar um grupo heterogêneo dependendo se o epitélio corresponde à mucosa de revestimento, mastigatória ou mucosa especializada (papilas gustativas da língua). O epitélio odontogênico apresenta expressão de citoqueratinas onde freqüentemente é possível encontrar imunoreatividade para citoqueratinas específicas em epitélios simples e complexos. A tabela 1 sintetiza a expressão de citoqueratinas em diferentes estruturas da cavidade oral (Portet *et al.* 2004).

A actina é uma proteína globular de 42 kD que é o maior componente dos filamentos finos das células musculares e do sistema citoesquelético de células não musculares. A actina pode se apresentar de duas formas diferentes: actina G de formato globular e actina F de formato fibroso que é uma forma polimerizada da actina G. Suas principais funções estão relacionadas à mobilidade celular e as mudanças de forma da célula durante os ciclos celulares, além de participar na organização do citoplasma para produzir forças mecânicas estáveis dentro da célula como resposta a diversos estímulos extracelulares, adesão celular e transporte intracelular.

Vimentina é uma proteína de 57-60 kD que constitui uma importante proporção de filamentos intermediários que compõem o citoesqueleto celular encontrado nas células de origem mesenquimal. Estes microfilamentos intermediários participam de maneira ativa no transporte intracelular de proteínas entre o núcleo e a membrana plasmática (Schurch *et al.*1981).

A proteína S-100 é uma proteína de 20 kD que foi isolada do cérebro humano e considerada como uma proteína específica de células gliais. A maioria destas proteínas estão presentes na forma de dímeros. Existem dois monômeros em S-100 classificados como S-100A1 e S-100B que se encontram em grandes quantidades em células gliais do

sistema nervoso central e em algumas células periféricas (adipócitos e melanócitos) (Rosai 2004).

CD 34 é uma glicoproteína transmembrana codificada pelo gen 1q32, cuja função ainda é desconhecida e é expressa em células endoteliais normais, células marginais esplênicas, células dendríticas intersticiais, tecido nervoso, algumas fibras musculares, anexos cutâneos, tumores de bainha nervosa e neurofibromas (variante mixóide).

### **3. PROPOSIÇÃO**

Analisar as características clínicas, radiográficas, histopatológicas e a expressão de marcadores imunohistoquímicos de 67 casos de MOs provenientes do Departamento de Diagnóstico Oral, Área de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba–UNICAMP, Brasil.

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 67 casos de MOs oriundos do Departamento de Diagnóstico Oral, área de Patologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba (FOP/UNICAMP) em um período de 1979-2004. Dados clínicos como idade e sexo dos pacientes e a localização das lesões foram obtidos a partir dos prontuários clínicos. As análises microscópicas e imunohistoquímicas foram feitas em cortes histológicos obtidos de material incluído em parafina. Foram realizadas as colorações de Hematoxilina & Eosina (H&E), Ácido Periódico de Schiff (PAS) com/sem digestão por diastase e Azul de Toluidina (pH 2.5). Foram realizadas reações imunohistoquímicas, estando os anticorpos primários e suas especificações, bem como as titulações empregadas descritas no quadro 2.

##### Quadro 2

Lista de anticorpos primários, clones, diluições, marca comercial e tipo de recuperação antigênica empregados no estudo imunohistoquímico dos 67 casos de MO.

Anticorpo primário	Clone	Diluição	Marca comercial	Tipo de R.A.
CK AE1/AE3	AE1/AE3	1:500	Dako	Microondas
CK 5	XM 26	1:400	Novocastra	Microondas
CK 7	OV-TL 12/30	1:400	Dako	Microondas
CK 8	35 $\beta$ H11	1:200	Dako	Microondas
CK 14	LL02	1:200	Novocastra	Microondas
CK 18	DC10	1:400	Dako	Microondas
CK 19	RCK 108	1:400	Dako	Microondas
$\alpha$ -actina músculo liso específica	1 A 4	1:400	Dako	Microondas
Desmina	D33	1:1000	Dako	Microondas
Actina	HHF 35	1:800	Dako	Microondas
Vimentina	VIM 3B4	1:400	Dako	Microondas
Mastócito	AA 1	1:4000	Dako	Microondas
Ki-67	MIB-1	1:200	Dako	Microondas
CD-34	QBEnd10	1:50	Dako	Microondas
S-100		1:10000	Dako	Microondas

RA: Recuperação antigênica.

As reações imunohistoquímicas foram feitas de acordo com o seguinte protocolo:

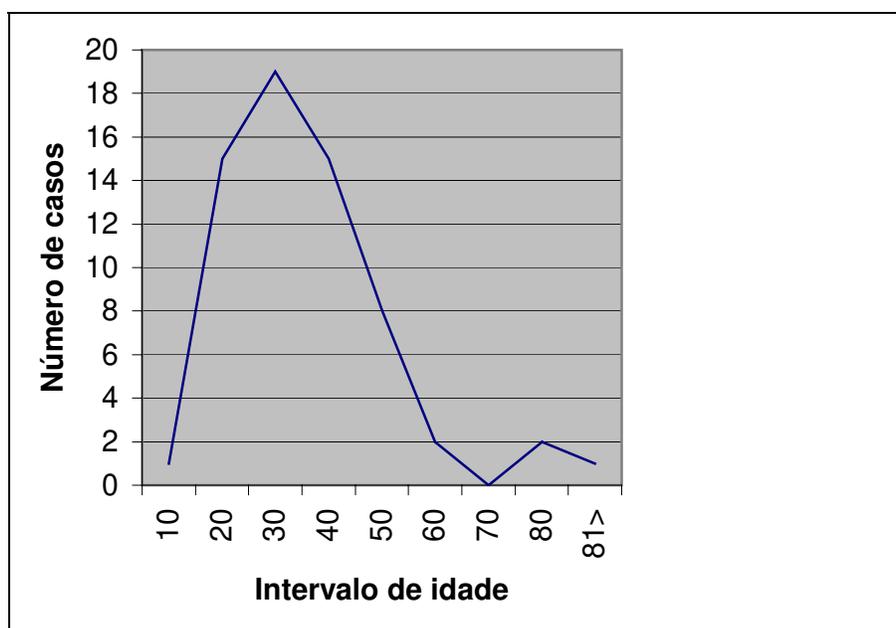
Inicialmente foram obtidos cortes parafinados de 3µm de espessura que foram montados em lâminas silanizadas. Em seguida foi realizada a 1<sup>a</sup> desparafinização (a quente) em xilol a 60°C por 30 minutos, 2<sup>a</sup> desparafinização (a frio) em xilol a temperatura ambiente por 20 minutos. Seguiu-se a hidratação dos cortes em etanol absoluto, etanol a 90%, a 70%, a 50% e lavagens em água corrente e destilada. Foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena, em água oxigenada (10 volumes) em 5 banhos de 5 minutos cada. Já a recuperação antigênica foi realizada pela fervura em forno de microondas, com solução de ácido cítrico 10mM/pH 6,0, em dois ciclos de 12 minutos cada, em potência máxima (750W), foi deixado esfriar até atingir a temperatura ambiente, seguido por lavagens em água corrente/destilada e solução salina tamponada com fosfato pH 7,4 (PBS). Posteriormente realizou-se a incubação com o anticorpo primário, diluído em solução de albumina a 1% e azida sódica a 0,1% em PBS, em câmara úmida por 18 horas a 4°C. Foram realizadas 3 lavagens em solução de PBS e incubadas com anticorpos secundários conjugados com peroxidase (Strept ABC Complex/HRP Duet, Mouse/Rabbit, Dako) por 30 minutos a 37°C na diluição de 1:500, seguido por 3 lavagens em tampão PBS. Foram então, incubadas com o complexo Streptavidina – Biotina (Dako) por mais 30 minutos, e reveladas com substrato cromogênico (3,3 diaminobenzidina – DAB, Sigma) misturando 120mg do cromógeno em 200ml de PBS mais 2 ml de água oxigenada 20 volumes e 2ml de DMSO, incubando-o em estufa de calor seco por 5 minutos a 37°C, seguido por lavagens em água corrente e finalmente em água destilada. As lâminas foram então contra-coradas com Hematoxilina de Carazzi por 5 minutos e lavadas em água corrente e destilada. Os cortes foram desidratados em 2 banhos de álcool absoluto, seguido pela diafanização em xilol por 10 minutos, mais 10 minutos em novo xilol e montagem das lâminas com Bálsamo do Canadá.

*\*A presente pesquisa foi submetida a aprovação pelo Comitê de Ética em pesquisa da FOP/UNICAMP sendo aprovado para a sua realização. O certificado da resolução está anexado ao final desta tese.*

## 5. RESULTADOS

### 5.1 CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS

Nesta casuística o intervalo de idade variou de 10 a 84 anos, com uma média de 32,7 anos, sendo a terceira década de vida a mais afetada (gráfico 1). O sexo feminino foi o mais acometido, correspondendo a 48 (71,64%) casos e 19 (28,36%) casos para o sexo masculino, tendo uma relação homem:mulher de 1:2,5. No quadro 3 apresentam-se os valores médios e intervalos de acordo com sexo e localização dos MO.



**Gráfico 1.** Frequência de idade dividida por décadas em MO onde vemos que o maior número de casos se apresentou na terceira década da vida.

### Quadro 3.

Prevalência de idades (intervalo, media, número de casos e porcentagem total) em 67 casos de MOs de acordo com sexo e localização.

	Intervalo (anos)	Media (anos)	# de casos	Porcentagem
Sexo	10-84	32.7	67	
Feminino	18-51	34.8	49	73.13
Masculino	10-84	30.7	18	26.87
Localização				
Mandíbula	12-84	29.8	27	40.3
Maxila	10-74	35	22	32.8
Desconhecido			18	26.9

## 5.2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, RADIOGRÁFICAS E LOCALIZAÇÃO EM MOs

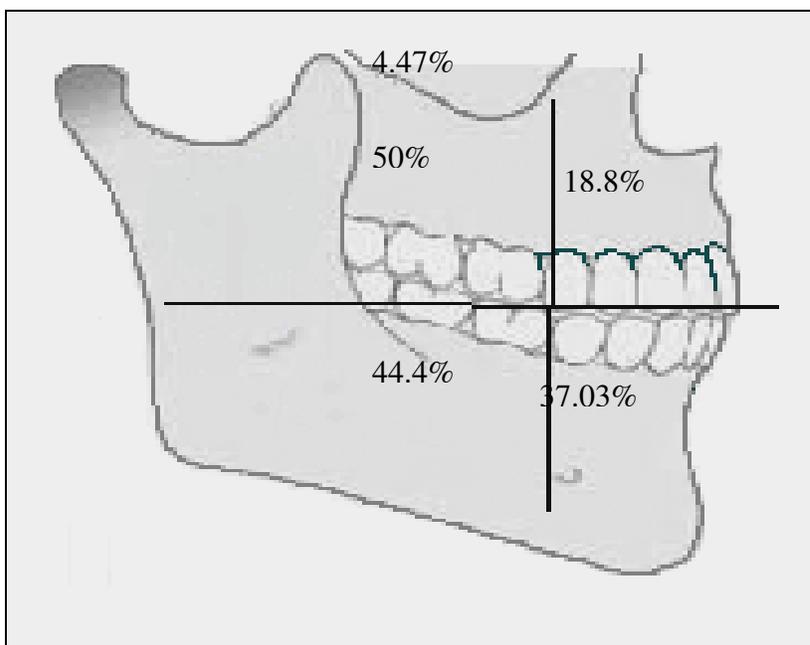
Clinicamente os MOs apresentaram uma série de sinais e sintomas heterogêneos, sendo que 29 casos (43,28%) progrediram de forma assintomática, enquanto que 9 (13,43%) casos apresentaram alguma sintomatologia, a qual manifestou-se desde um leve desconforto até dor de leve a moderado, assim como 9 (13,43%) casos tiveram manifestações específicas como aumento de volume de lenta evolução e o número restante apresentaram outras sintomatologias (parestesia e assimetria facial) dados que estão resumidos na tabela 2. Em 37 casos (55,22%) foi possível obter dados do tamanho das lesões, os quais apresentaram tamanhos que variaram de 1 a 10cm, com uma média de 5,1cm. A expansão de corticais ósseas (Fig.1) foi manifestada em 22 casos (32,83%) e em 8 casos (11,94%) foi relatado deslocamento e mobilidade de dentes adjacentes à lesão (tabela 2).



**Figura 1.** Fotografia intraoral mostrando aumento de volume na região maxilar direita com expansão de corticais ósseas e deslocamento dentário.

Topograficamente, os MOs afetaram mais comumente a mandíbula (27 casos/40,29%), enquanto 22 casos (32,83%) ocorreram na maxila; em 15 casos (22,38%) a localização foi desconhecida e 3 (4,47%) estavam localizados periféricamente na área da gengiva. Na mandíbula a região posterior foi a mais frequentemente afetada (12 casos/44,44%), 10 casos (37,03%) apresentaram-se na região mandibular anterior e em 5 casos (18,51%) a localização não foi especificada. Na maxila, a região posterior foi também a mais afetada (11 casos/50%), enquanto 4 casos (18,18%) localizaram-se na região anterior, entretanto em 6 casos (27,27%) não foi possível determinar uma localização exata e 3 casos (4,47%) comprometeram o seio maxilar (Fig. 2).

Em 47 casos (70,14%) foi possível obter dados radiográficos, dos quais 29 (43,28%) foram descritas nos prontuários como lesões radiolúcidas, 18 (26,86%) apresentaram-se como lesões multilobuladas/mistas com aspecto de favos de mel e/ou bolhas de sabão, em 20 (29,85%) casos os dados não estiveram disponíveis (Fig. 3).



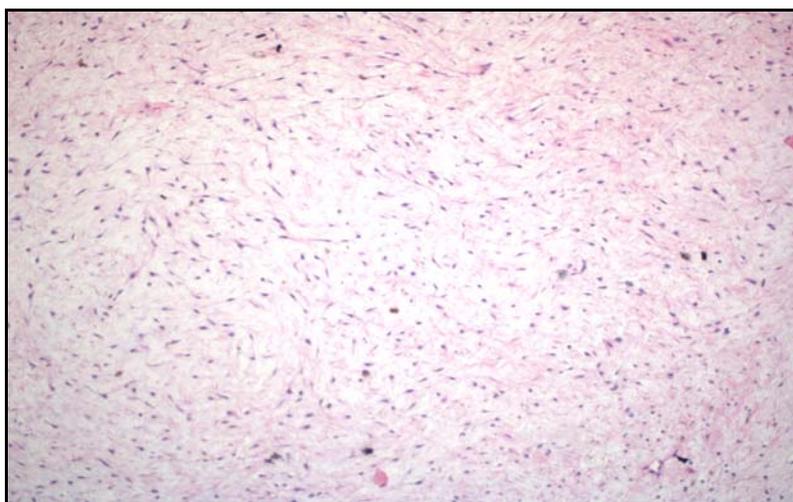
**Figura 2.** Distribuição topográfica dos MOs e porcentagem em área maxilar e mandibular. Nota-se que a lesão frequentemente afeta mais a região posterior, tanto em maxila quanto em mandíbula.



**Figura 3.** Radiografia panorâmica mostrando uma lesão osteolítica multilobulada (mixoma odontogênico) de bordas pouco definidas que provoca deslocamento dentário na região de corpo mandibular esquerdo.

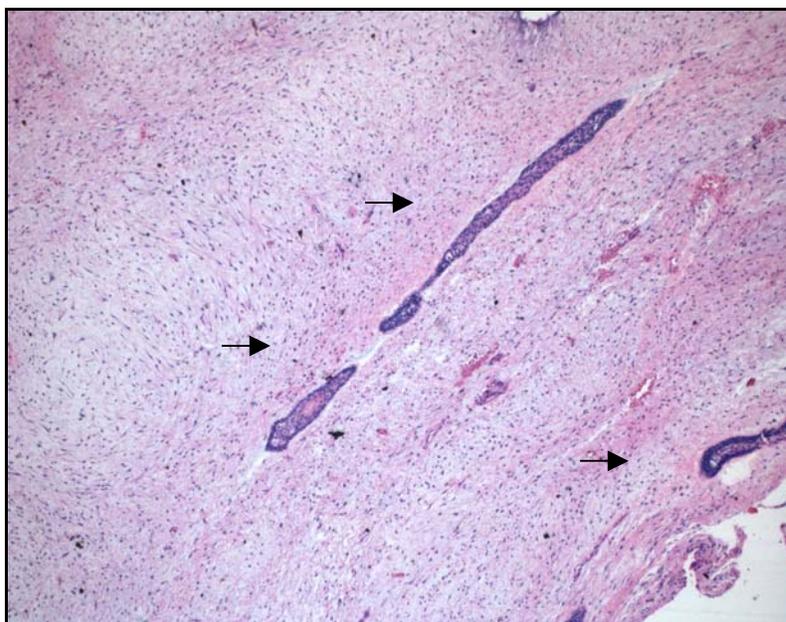
### 5.3. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E DE IMUNOHISTOQUÍMICA.

A coloração com H&E confirmou o diagnóstico de MO nos 67 casos. Nas amostras analisadas não foi possível identificar uma cápsula fibrosa, já que os tecidos correspondiam a biópsias incisionais. Microscopicamente identificou-se uma lesão constituída por um abundante estroma fibrilar, mixóide e frouxo, com uma quantidade variável de células fusiformes, estreladas e arredondadas, assim como poucas células inflamatórias (Fig. 4). Alguns dos MOs apresentaram uma quantidade variável de fibras de colágeno mais densas que as estruturas fibrilares mixóides deste estroma.



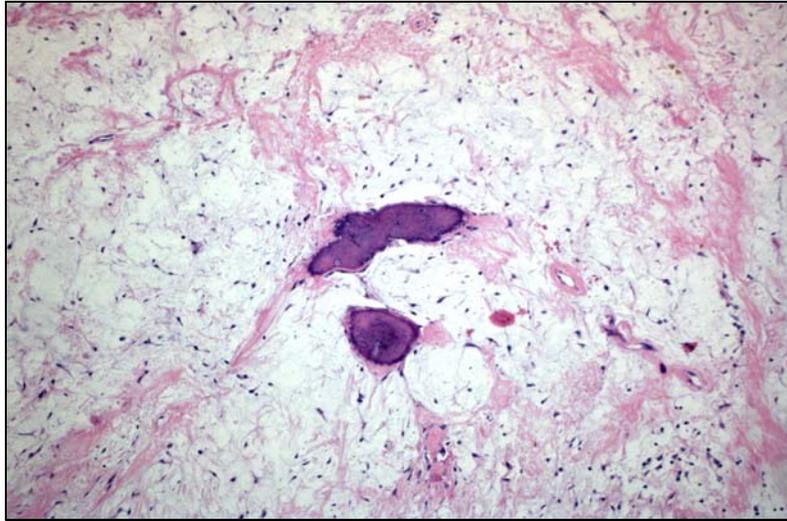
**Figura 4.** Fotomicroscopia apresentando um estroma mixóide com abundantes células fusiformes e arredondadas em disposição desordenada (H&E, 100x).

Na coloração com H&E foi possível apreciar células epiteliais em 6 dos 67 casos (8,95%), as quais estiveram dispostas em forma de ilhas, rosetas ou cordões de diversos tamanhos (Fig. 5). Os 67 casos foram negativos na histoquímica para PAS sem/com diastase.

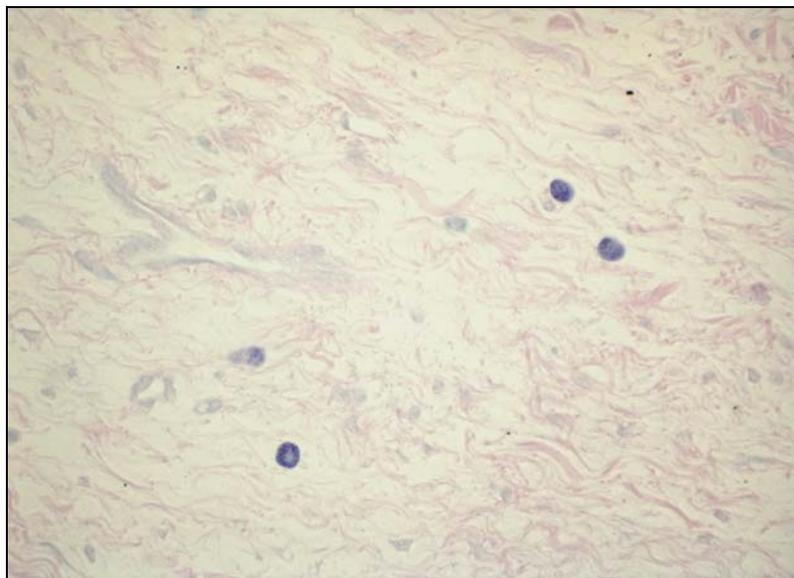


**Figura 5.** Visão microscópica em menor aumento exibindo lesão constituída por estroma mixóide e presença de ilhas de tecido epitelial (setas) (H&E, 50x).

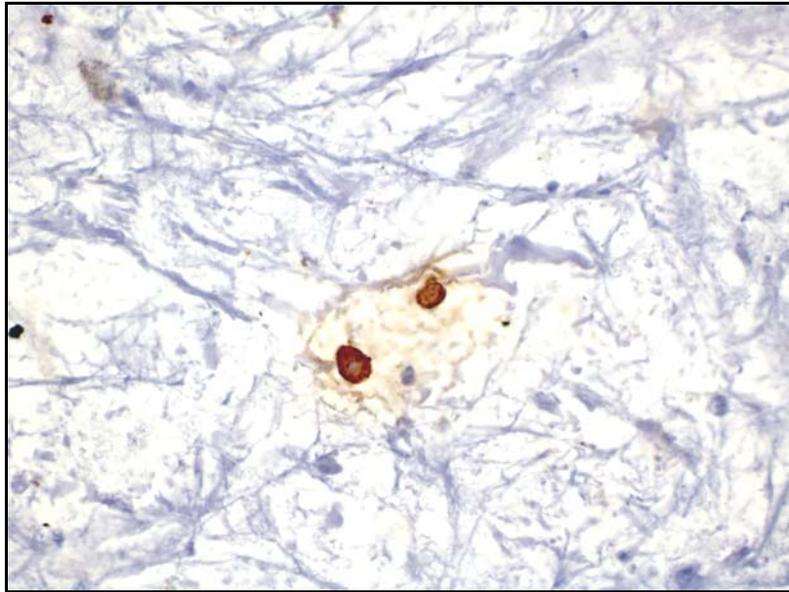
Ocasionalmente foram vistas algumas calcificações do tipo distrófica em 16 casos (23,88%) com diversos graus de maturação e de formas irregulares, algumas delas de forma esferoidal e do tipo semelhante ao cimento distribuídas no estroma (Fig. 6). Dispersas no estroma, identificou-se múltiplas células de citoplasma granular (mastócitos), através das colorações de H&E e Azul de Toluidina (pH 2,5). Através desta última coloração, evidenciou-se a presença de quantidades variáveis dessas células em 19 casos (28,35%) (Fig. 7). Já pela imunohistoquímica com o anticorpo específico para mastócitos (clone AA1), estas células foram mais evidentes, observadas em 27 casos (40,29%) tendo uma acentuada imunomarcção sugerindo que estas células estão em estado secretor e possivelmente contribuindo à patogênese do MO (Fig. 8). A comparação entre a frequência de mastócitos observados em H&E e os achados em imunohistoquímica estão resumidos na tabela 3.



**Figura 6.** Calcificações de formas irregulares imersas em um estroma mixóide e algumas fibras colágenas densas (H&E, 100x)



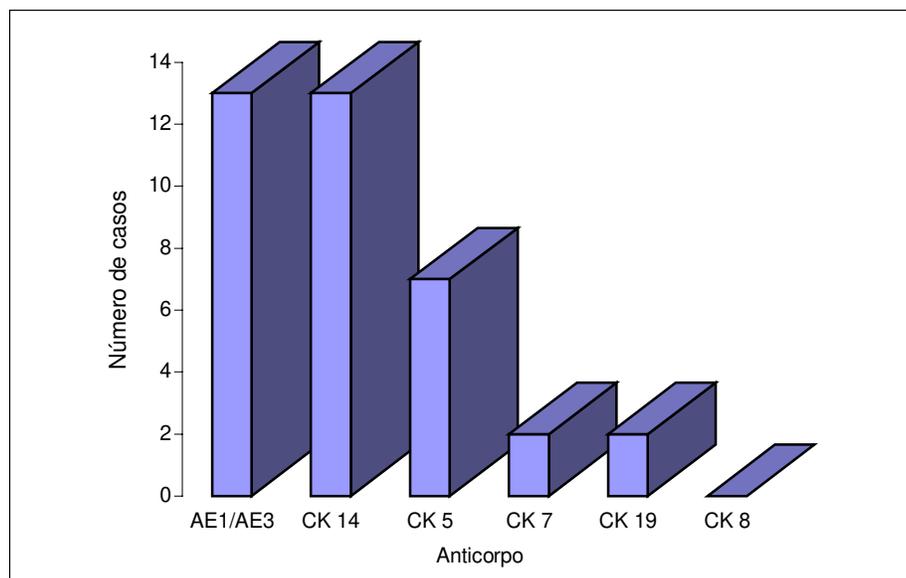
**Figura 7.** Múltiplas células granulares (mastócitos) coradas em azul escuro, presentes no estroma mixóide (Azul de Toluidina pH 2.5, 400x).



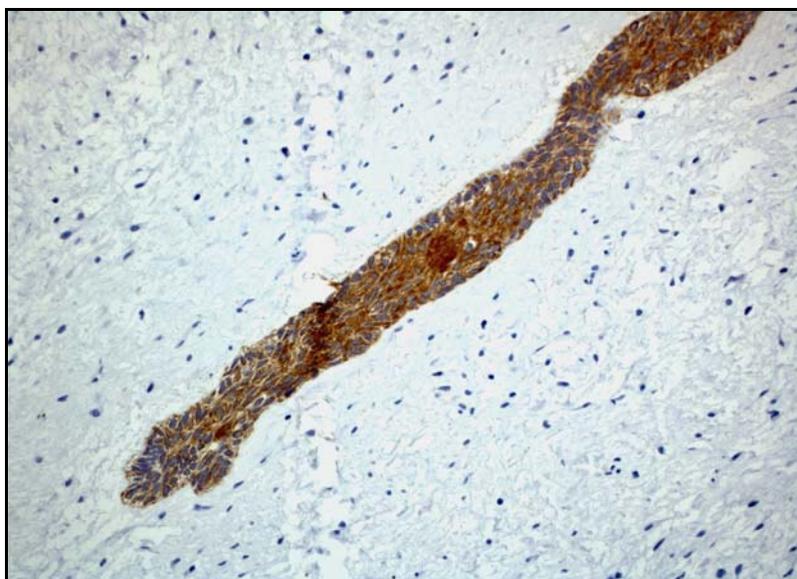
**Figura 8.** Visão microscópica em maior aumento mostrando algumas células imunoreativas para o anticorpo específico para mastócitos imersas em estroma mixóide (anticorpo para Mastócito clone AA1, 400x).

A presença de epitélio nas áreas adjacentes ou dentro dos MOs foi confirmada com um painel de citoqueratinas, objetivando descartar possíveis vasos sanguíneos colabados que pudessem ser erroneamente confundidos com tais estruturas. O gráfico 2 apresenta uma comparação entre a expressão das diferentes CKs e sua frequência nos MOs. A CK AE1/AE3 e a CK14 foram positivas em 13 dos 67 casos (19,47%) (Fig. 9 e 10), enquanto a CK5 foi positiva em 7 casos (10,44%) (Fig.11) e a CK7 em 2 (2,98%). Os 67 casos foram negativos para CK8.

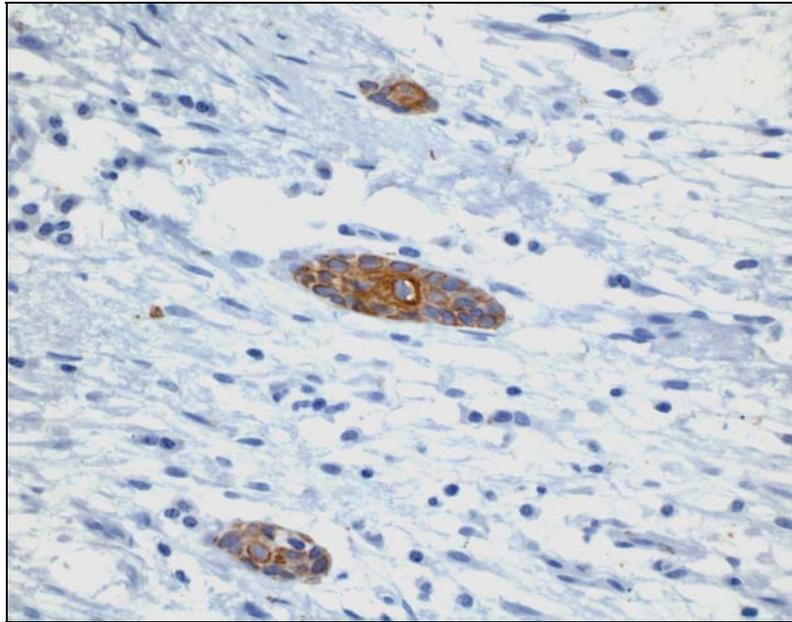
Em 2 casos (2,98%) houve a presença altamente sugestiva de epitélio odontogênico, que foi reativo para CK19, estando em um dos casos imerso na lesão (caso # 47) (Fig. 12) e o outro localizado entre o epitélio de superfície e as células tumorais (caso # 8) (Fig. 13). Os resultados da expressão das CKs estão resumidos na tabela 4.



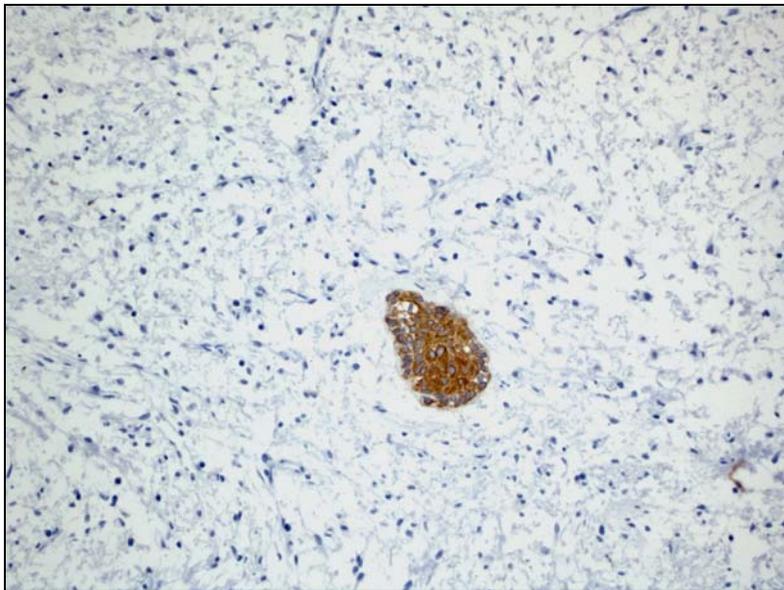
**Gráfico 2.** Comparação da frequência dos anticorpos para citoqueratinas nos casos que apresentaram epitélio em MOs.



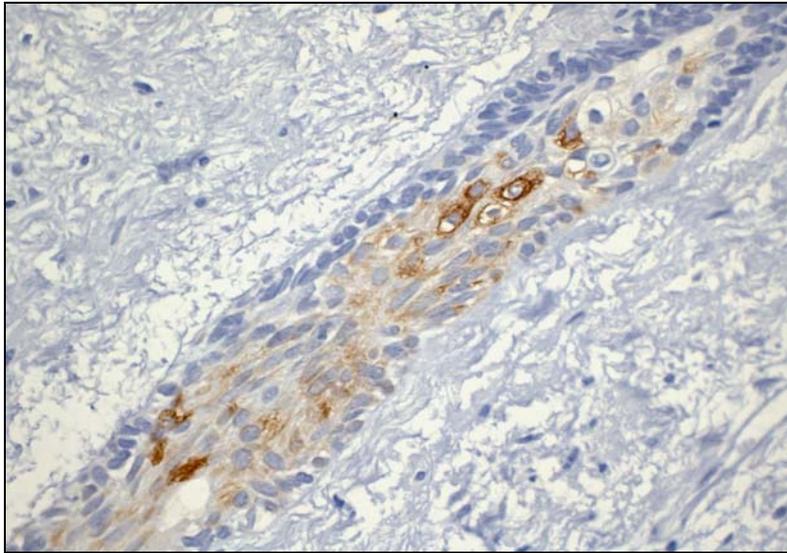
**Figura 9.** Células epiteliais imunoreativas para o coquetel de citoqueratinas AE1/AE3 dispostas em forma de ilha (anticorpo pan-citoqueratina -clone AE1/AE3-, 100x).



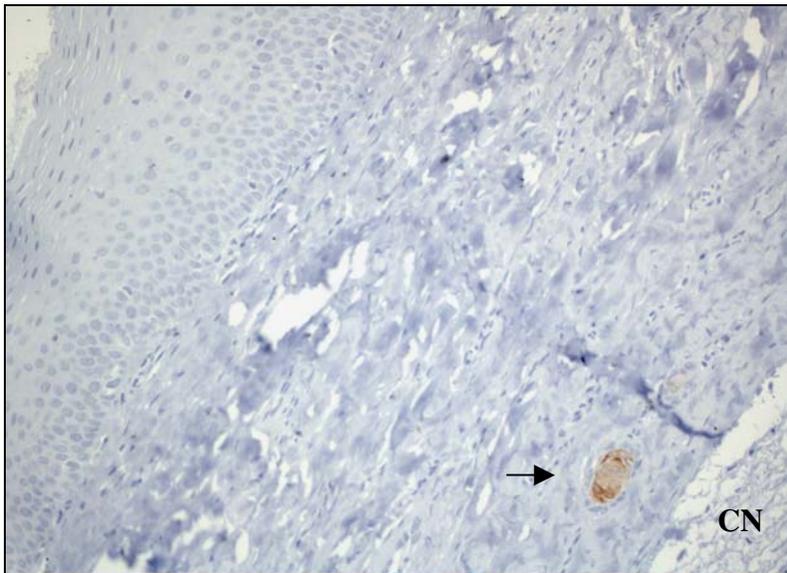
**Figura 10.** Visão microscópica em maior aumento exibindo ilhas de células epiteliais reativas para CK 14 (Clone LL02-, 400x).



**Figura 11.** Ilhas de células epiteliais imunopositivas para CK 5 (cloneXM26-, 100x).



**Figura 12.** Ilha de células epiteliais presentes no caso #47 apresentando moderada reatividade para CK 19 (clone RCK 108-, 400x).



**Figura 13.** Ilha de tecido epitelial apenas imunoreativa para CK 19 (seta) no caso # 8 localizada entre o epitélio de superfície e as células neoplásicas (CN) do MO (clone RCK108-, 50x).

A análise dos achados de imunohistoquímica para determinar a possível natureza das células fusiformes e estreladas presentes nos MOs estão resumidas na tabela 5. É importante descrever que os MOs desta casuística foram compostos principalmente por células estreladas, fusiformes e arredondadas distribuídas em um abundante estroma mixóide. A frequência de casos reativos para os diferentes anticorpos mesenquimais foi variada (gráfico 3). As técnicas de imunohistoquímica revelaram que 67 casos (100%) apresentaram positividade para o anticorpo vimentina (Fig. 14), enquanto 27 (40,29%) apresentaram-se positivos para  $\alpha$ -actina músculo liso específica (Fig.15), 10 (14,92%) para actina (HHF-35) (Fig. 16) e 6 (8,95%) para desmina (Fig.17). A imunoreatividade esteve presente tanto nas células fusiformes quanto nas células estreladas e algumas arredondadas.

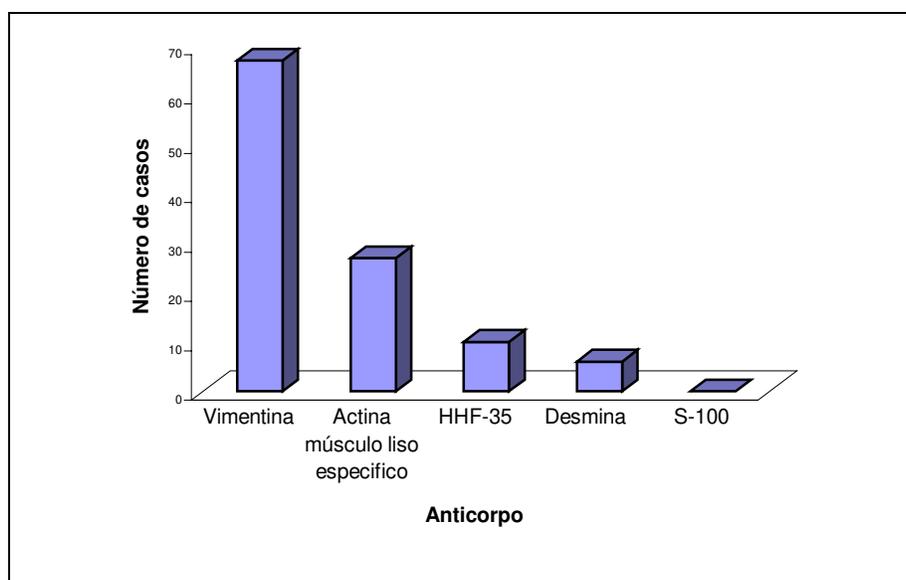
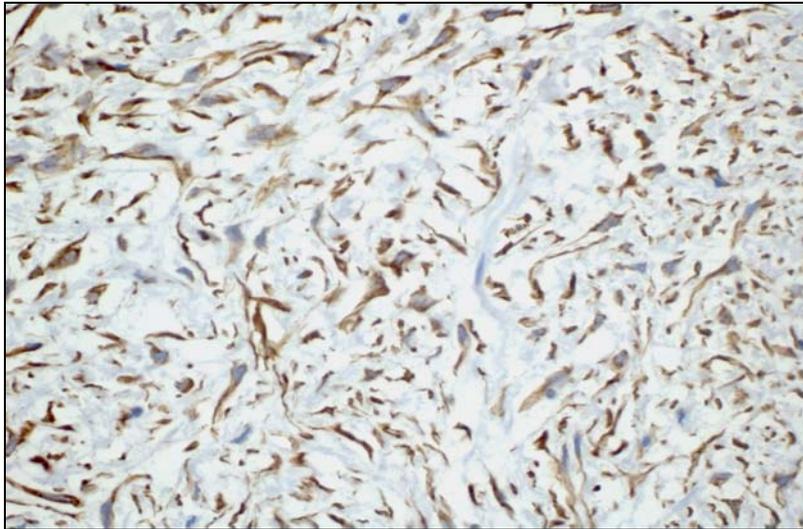
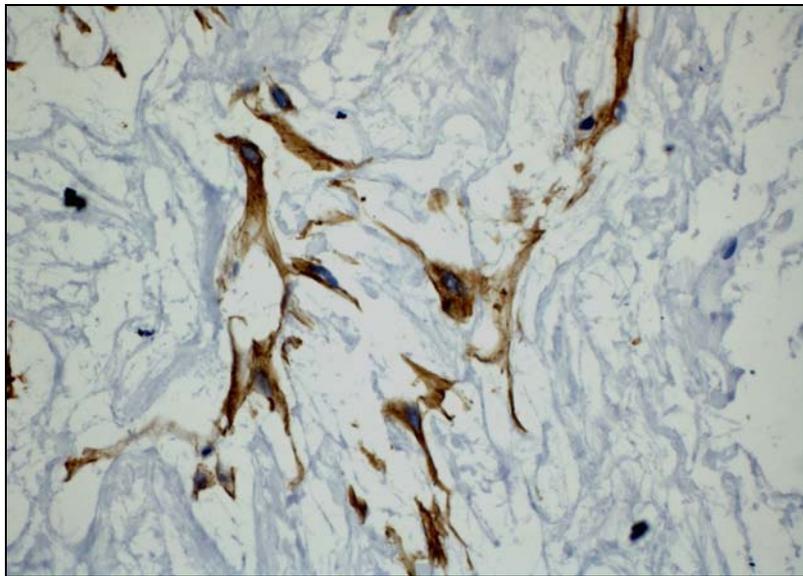


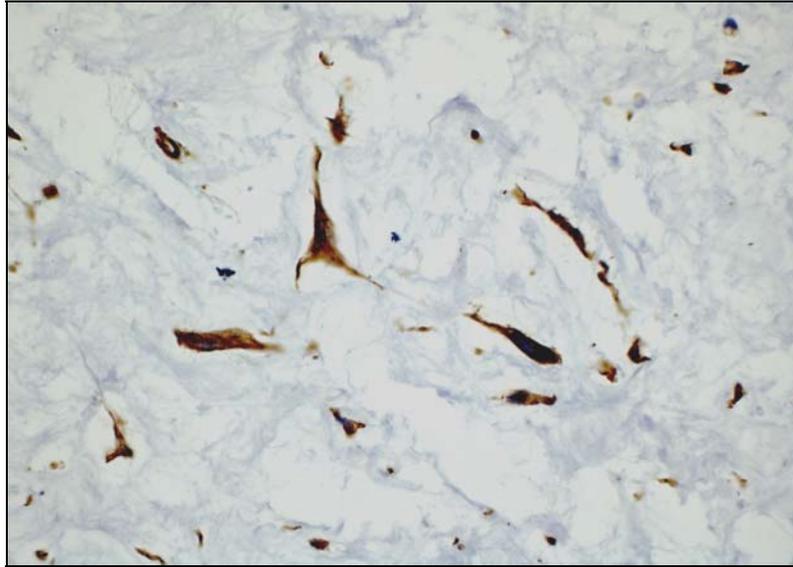
Gráfico 3. Frequência de número de casos positivos para os anticorpos mesenquimais (vimentina,  $\alpha$ -actina músculo liso específica, actina, desmina e S-100) em células fusiformes e estreladas do MO.



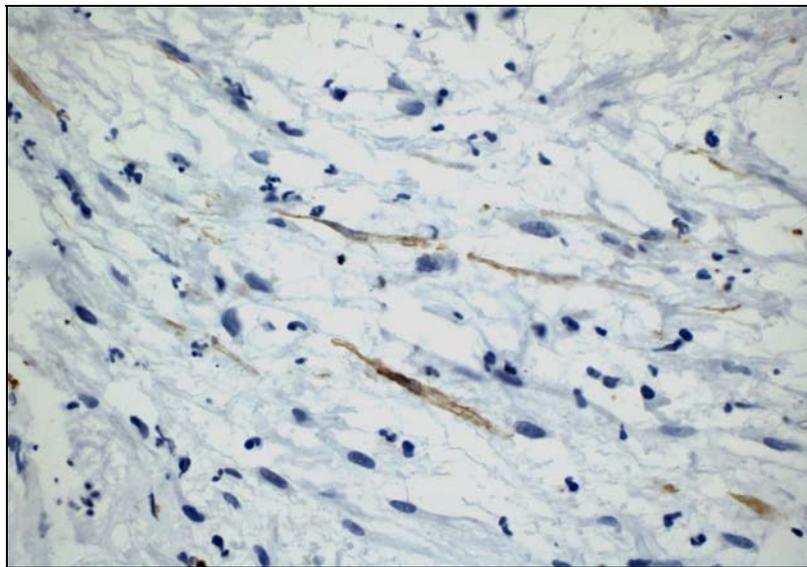
**Figura 14.** Reação imunohistoquímica para vimentina positiva em células fusiformes, estreladas e arredondadas de MO (anticorpo Vimentina – clone VIM3B4-, 200x).



**Figura 15.** Reação imunohistoquímica positiva para  $\alpha$ -actina músculo liso específica em células fusiformes e estreladas (anticorpo  $\alpha$ -actina músculo liso específico –clone 1A4-, 400x).

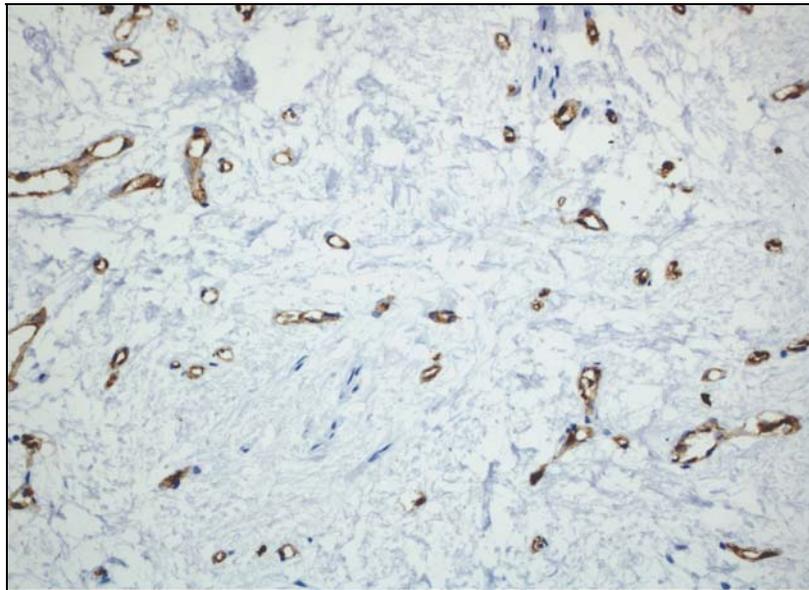


**Figura 16.** Escassas células fusiformes e estreladas imunoreativas para actina em MO (anticorpo actina -clone HHF35-, 200X).



**Figura 17.** Reação imunohistoquímica para desmina mostrando pouca reatividade em células fusiformes (anticorpo Desmina -clone D33-, 200x).

Neste trabalho encontramos 20 casos (29,85%) que apresentaram estruturas com aspecto vascular, de pequeno tamanho e constituídas por uma monocamada de células endoteliais, dispersas no estroma mixóide, positivas para o anticorpo CD-34 (Fig.18).



**Figura 17.** Reação imunohistoquímica para CD-34 demonstrando a presença de múltiplos espaços vasculares de pequeno calibre em MO (anticorpo CD-34, 200X).

O índice de proliferação nos MO foi mínimo, encontrando-se apenas 2 casos (2,98%) escassamente positivos para o marcador de proliferação celular Ki-67, onde houve uma imunoreatividade mínima em poucas células fusiformes e células estreladas. Os 67 casos apresentaram negatividade para a proteína S-100.

## 6. DISCUSSÃO

Embora os MOs sejam considerados neoplasias benignas localmente infiltrativas de origem odontogênica, algumas pesquisas têm demonstrado que a natureza desta lesão ainda é difícil de se definir. Desde que Broca descreveu pela primeira vez esta lesão em 1897, poucos trabalhos têm sido realizados para determinar a epidemiologia, características clínicas, histopatológicas e imunohistoquímicas dos MOs. Neste estudo, realizamos uma análise das características clínicas, radiográficas, histológicas e imunohistoquímicas de 67 biópsias incisórias de MOs. A idade de apresentação dos MOs variou de 10 a 84 anos a qual é similar às idades relatadas por Mosqueda-Taylor *et al.* (5 a 59 anos), Barros *et al.* (17- 65 anos), e Lo Muzio *et al.* (15 a 65 anos). Os MOs foram mais frequentes na terceira década (19 casos/28.35%) e a idade média (32,7 anos) esteve acima da relatada por Barros *et al.* (28,5 anos), e Simon *et al.* (26,1 anos). O sexo feminino foi o mais afetado em 49 casos (73,17%) com uma relação homem:mulher de 1:2,7, concordando com os relatos de Barros *et al.* (1:1.6), Lo Muzio *et al.* (1:2.3), Adekeye *et al.* (1:2.6), Gundlach *et al.* (1:3.5), Kaffe *et al.* (1:1.6), Peltola *et al.* (1:1.6) e Simon *et al.* (1:1.83) onde os MOs tem uma maior prevalência no sexo feminino.

Anatomicamente os MOs afetaram a mandíbula em 27 casos (40,29%) e a maxila em 22 (32,83%) com uma proporção maxila-mandíbula de 1:1,2, números concordantes com os relatos de Barros *et al.* (1:1.6), Peltola *et al.* (1:4.25), Adekeye *et al.* (1:1.5), Lo Muzio *et al.* (1:1.5) e Simon *et al.* (1:2.6). Em nossa casuística, a região premolar/molar mandibular foi o local mais afetado (44,4%) achado semelhante aos descritos por Adeyeke *et al.* (33%), Peltola *et al.* (33,3%) e Simon *et al.* (62,5%). Na maxila a área mais afetada foi a posterior (50%), dados concordantes com o relatado por Reichart & Phillipsen (2004) e Simon *et al.* (2004) O número restante afetou outras áreas como a região incisiva em 4 casos (18.18%) , 6 casos (27.7%) onde a localização foi desconhecida e 3 casos estiveram invadindo ao seio maxilar.

A histoquímica para PAS foi negativa nos 67 casos para a matriz extracelular, sendo compatível com os dados relatados por Barros *et al.* e Sedano & Gorlin (1965) sugerindo que a natureza da matriz mixóide pode estar constituída por abundante quantidade de substâncias ricas em glicosaminoglicanas.

O painel de imunohistoquímica para as células estreladas e fusiformes incluiu anticorpos específicos para CD-34, proteína S-100, actina,  $\alpha$ -actina específico músculo liso, desmina, vimentina, Ki-67 e anticorpo específico para mastócitos. Para analisar o epitélio presente nos MOs foi feito um painel de citoqueratinas o qual incluiu PAN AE1/AE3, 5, 7, 8, 14 e 19. Nesta pesquisa encontramos a presença de epitélio em 6 casos através do H&E: em 4 o epitélio estava localizado entre o epitélio de superfície e às células tumorais, enquanto em 2 casos as estruturas epiteliais estavam imersas dentro do estroma mixóide. A imunohistoquímica revelou a presença de epitélio em casos adicionais: a CK AE1/AE3 e CK 14 foram positivas em 13 casos, CK 5 para 7 casos, CK 7 e CK 19 positivos para 2 casos. Determinar a origem deste epitélio é difícil e controverso, já que pode existir a possibilidade de ser o próprio epitélio da superfície que tenha ficado retido durante a infiltração das células neoplásicas, ou ser tecido odontogênico que possa induzir as células mesenquimais a se proliferarem (Harrison *et al.* 1973, Adekeye *et al.* 1984). Acreditamos que a possibilidade de que estas estruturas de tecido epitelial sejam de origem odontogênica é mínima, já que fazendo uma análise dos resultados da imunohistoquímica, apenas em dois casos observamos positividade para CK 19, que sugere uma possível origem odontogênica. Nesses 2 casos, houve positividade para as CKs do tipo 5, 7, 14 e 19, que segundo os relatos de Crivelini *et al.* (2003) e Fregnani *et al.* (2003) correspondem a imunomarcadores para determinar uma possível origem odontogênica. A citoqueratina 19 também foi relatada como positiva para epitélio presente nos MOs na casuística reportada por Lombardi *et al.* (1995).

O anticorpo CD34 utilizado para marcação vascular foi positivo em 20 casos (29,8%), os quais mostraram vasos de diversos tamanhos e constituídos por células endoteliais de características normais, contrariamente ao relatado por Reichart & Phillipsen (2004) que menciona ser o MO geralmente avascular ou pouco vascularizado. Dessa forma, esta é a única pesquisa que mostra a presença de abundantes espaços vasculares utilizando-se da técnica de imunohistoquímica, em MOs.

O anticorpo dirigido contra a proteína S-100 foi empregada para descartar lesões de origem neural, especificamente tumores da bainha nervosa que compartilham algumas características clínicas e histológicas com os MOs, especificamente aqueles

tumores derivados da bainha nervosa. Em nossa casuística, os 67 casos foram negativos para S-100, concordando com Moshiri *et al.* (1992) e Lo Muzio *et al.* (1996), embora em contraste com Takahashi *et al.* (1991) que relatou positividade para S-100 em células fusiformes e estreladas em três casos de MOs, assim como Lombardi *et al.* (1995) que relatou positividade para a proteína S-100 em dois casos de MOs. A reatividade negativa para a proteína S-100 nos indica claramente que a natureza neural dos MOs nesta casuística esta descartada, assim como também confirma o diagnóstico inicial de MO e descartam outros possíveis diagnósticos diferenciais, entre os mais importantes aqueles tumores derivados da bainha nervosa e neurofibromas intraósseos.

Neste estudo realizamos técnicas de imunohistoquímica para determinar a possível presença de células positivas para actina, encontrando que 14,92% dos casos foram positivos para esta proteína, dados consistentes com os achados relatados por Moshiri *et al.* (1992) que relata células positivas para actina em três casos de MO e negatividade em tecidos de gérmen dentário, papila dentária e folículos dentários. Além disso, foi realizada imunohistoquímica para  $\alpha$ -actina músculo liso específico, na qual encontramos 26 (38,8%) casos positivos concordando com os resultados relatados por Lo Muzio *et al.* (1996) que encontrou positividade em 100% dos 10 casos estudados.

Recentemente, têm sido publicadas algumas pesquisas relatando a reatividade das células estromais de MOs por técnicas de imunohistoquímica para o anticorpo vimentina. Nesta amostra encontramos imunoreatividade contra este anticorpo em 67 (100%) casos, dados consistentes com os relatos prévios de Lombardi *et al.* (1988) , Moshiri *et al.* (1992), Chen *et al.* (1998) e Lo Muzio *et al.* (1996) onde as células dos MOs foram positivas em 100% dos casos. Heikinheimo *et al.* (1991) estudou por técnicas de hibridização *in situ* estruturas dentárias fetais e seis ameloblastomas para determinar a presença de filamentos intermediários para citoqueratinas e vimentina, encontrando que vimentina não foi reativa em tecido epitelial oral fetal, sendo porém fracamente positiva em ameloblastomas.

O índice de proliferação celular (Ki-67) neste estudo foi mínimo, em que apenas dois casos foram positivos de forma fraca. Resultados concordantes com os obtidos por Bast *et al.* (2003) que relatam uma frequência menor a 1% para marcadores de

proliferação celular nuclear, especificamente para.KI-67, porém em contraste relatam uma alta frequência de proteínas antiapoptóticas (Bcl2).

Finalmente, acreditamos que o MO é uma lesão interessante pela sua patogênese, onde nós sugerimos que esta entidade pode ter uma origem mesenquimal e que possivelmente tenha sua etiologia a partir de células fibroblásticas ou miofibroblásticas modificadas e de seus produtos secretados.

## 7. CONCLUSÃO

1. Os MOs afetaram principalmente o sexo feminino, na terceira década da vida e na região posterior da mandíbula, manifestando-se mais comumente de forma assintomática, com uma média de tamanho de 5.1cm e radiograficamente como lesões radiolúcidas osteolíticas uni ou multiloculares.
2. Histologicamente os MOs apresentaram uma abundante substância mixóide contendo poucas células fusiformes e estreladas. A presença de epitélio odontogênico não foi um achado freqüente nesta casuística, sendo que apenas 2 casos (2,98%) foram positivos para CK19, que sugere uma possível origem odontogênica.
3. Na imunohistoquímica, a positividade para vimentina,  $\alpha$ -actina músculo liso específica, actina e a negatividade para S-100 comprovaram que a maioria dos MOs trata-se de uma neoplasia benigna constituída por células com características miofibroblásticas.
4. Além disso, uma grande quantidade de MOs (27 casos) apresentaram presença de mastócitos, achado que sugere que estas células possivelmente participem de forma importante na liberação de enzimas colagenases e na capacidade infiltrativa de MO, e que possivelmente estejam associados com aquelas estruturas vasculares presentes nesta lesão.

## **BIBLIOGRAFIA\***

Adekeye EO, Avery BS, Edwards MB, Williams HK. Advanced central myxoma of the jaws in Nigeria. *Int J Oral Surg* 1984; 177-86.

Ajayi OF, Ladeinde AL, Adeyemo WL, Ogunlewe. MO. Odontogenic tumors in Nigerian children and adolescents- a retrospective study of 92 cases. *World J Surg Oncol* 2004 27: 2 (1): 39.

Amano J, Kono T, Wada Y, Zhang T, Koide N, Fujimori M, Ito K. Cardiac myxoma: Its origin and tumor characteristics. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2003; (9): 215-221.

Barros RE, Dominguez FV, Cabrini RL. Myxoma of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1969; 27 (2): 225-236.

Bast BT, Pogrel MA, Regezi JA. The expression of apoptotic proteins and matrix metalloproteinases in odontogenic myxomas. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 1463-1466.

Cernea P, Katz J. Les myxomes des maxillaires. *Réveu de Stomatologie* 1957; 58: 208-232.

Chen YK, Lin LM, Lin CC, Yan YH. Myxoid tumor of the oral cavity with features of superficial angiomyxoma: report of a case. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56: 379-382.

Crivelini MM, de Araújo VC, de Sousa SO, de Araújo NS. Cytokeratins in epithelia of odontogenic neoplasms. *Oral Dis* 2003; 9 (1);1-6.

*\*Referências bibliográficas de acordo com as normas estabelecidas pela revista Oral Oncology*

Fenton S, Slootweg PJ, Dunnebie EA, Mourits M. Odontogenic myxoma in a 17 month-old child: a case report. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; (61): 734-736.

Fregnani ER, Pires FR, Quezada RD, Shih IM, Vargas PA, de Almeida OP. Calcifying odontogenic cyst: clinicopathological features and immunohistochemical profile of 10 cases. *J Oral Pathol Med* 2003; 32 (3): 163-70

Ghosh BC, Huvos AG, Gerold FP, Miller TR. Myxoma of the jawbones. *Cancer* 1973; 31: 237-40.

Gorlin RJ. Odontogenic tumors. Em Thoma KH: *Oral Pathology*, St Louis, 1970, The C.V. Mosby Company.

Gundlach K, Schulz A. Odontogenic Myxoma. clinical concept and morphological studies. *J Oral Pathol* 1977; 6: 343-358.

Harrison JD, Eggleston DJ. Odontogenic myxoma of the maxilla: a case report and some interesting histological findings. *British J Oral Surg* 1973; 11: 43-47.

Hasleton PS, Simpson W, Craig RDP. Myxoma of the mandible- a fibroblastic tumor. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978 ; 46 (3): 396-406.

Heikinheimo K, Sandberg N, Happonen RP, Virtanen I, Bosch FX. Cytoskeletal gene expression in normal and neoplastic human odontogenic epithelia. *Lab Invest* 1991; 65(6): 688-701.

Hendler BH, Abaza NA, Quinn P. Odontogenic myxoma. Surgical management and structural study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979; 47 (3); 203-217.

Kaffe I, Naor H, Buchner A. Clinical and radiological features of odontogenic myxoma of the jaws. *Dentomaxillofac Radiol* 1997; 26: 299-303.

Kangur TT, Dahlin DC, Turlington EG. Myxomatous tumors of the jaws. *J Oral Surg* 1975; 33: 523-28.

Kezler A, Dominguez FV, Giannunzio G. Myxoma in childhood: an analysis of 10 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 1995; 53(5): 518-521.

Kim J, Ellis GL. Dental follicular tissue: misinterpretation as odontogenic tumors. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51 (7), 762-767.

Kramer IR, Pindborg JJ, Shear M. *Histologic Typing of Odontogenic Tumours*. 2d ed. Berlin: Springer-Verlag, 1992.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Pathologic basis of disease*. 7a. Ed. Elsevier Saunders 2005, Philadelphia. Pp 613-614.

Ladeinde AL, Ajayi POF, Ogunlewe MO et al. Odontogenic tumours: a review of 319 cases in a Nigerian teaching hospital. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99 (2): 191-195.

Large ND, Niebel HH, Fredericks WH. Myxoma of the jaws. Report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1960; 13: 1462-1468.

Lo Muzio LL, Nocini PF, Favia G, Procaccini M, Mignogna MD. Odontogenic myxoma of the jaws. A clinical, radiological, immunohistochemical and ultra structural study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82: 426-433.

Lombardi T, Kuffer R, Bernard J-P, Fiore-Donno G, Samson J. Immunohistochemical staining for vimentin filaments and s-100 protein in myxoma of the jaws. *J Oral Pathol* 1988; 17: 175-177.

Lombardi T, Lock C, Samson J, Odell EW. S-100, alpha-smooth muscle actin and cytoqueratin 19 imunohistochemistry in odontogenic and soft tissue myxomas. *Journal of Clinical Pathology* 1995 ; 48 (8): 759-762.

Lu Y, Xuan M, Takata T et al. A demographic study of 759 cases in a Chinese population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 86: 707-714.

Lucas RB. Pathology of tumours of the oral tissues, 2<sup>nd</sup> Ed. Churchill Livingstone, London and Edinburgh 1972, pp 156-63.

Mac Donald-Jankowski DS, Yeung R, Lee KM, Li TKL. Odontogenic myxomas in the Hong Kong Chinese: clinico-radiological presentation and systematic review. *Dentomaxillofacial Radiology* (2002) 31: 71-83.

Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982, 31 (1) 11-24. Review.

Moshiri S, Oda D, Worthington P, Myall R. Odontogenic myxoma: histochemical and ultrastructural study. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 401-403.

Mosqueda-Taylor A, Ledesma-Montes C, Caballero-Sandoval S, Portilla-Robertson J, Ruiz-Godoy RLM, Meneses-García A. Odontogenic tumors in México. A collaborative retrospective study of 349 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1997; 84:672-675.

Ochsenius G, Ortega A, Godoy L, Peñafiel C, Escobar E. Odontogenic tumors in Chile: a study of 362 cases. *J Oral Pathol Med* 2002; 31; 415-420.

Oygur B, Dolanmaz D, Tokman B, Bayraktar S. Odontogenic myxoma containing osteocement-like spheroid bodies: report of a case with an unusual histopathological feature. *J Oral Pathol Med* 2001; 30: 504-506.

Peltola J, Magnusson B, Happonen R-P, Borman H. Odontogenic myxoma- a radiographic study of 21 tumours. *British J Oral Maxillofac Surg* 1994; 32: 298-302.

Pahl S, Henn W, Binger T, Stein U, Remberger K. Malignant odontogenic myxoma of the maxilla: case with cytogenetic confirmation. *J Laryngol Otol* 200; 114 (7): 535-5.

Pindborg JJ, Kramer IRH, Torloni H. Histological typing of odontogenic tumours, jaw cysts and allied lesions. World Health Organization, Geneva 1971, p 31.

Portet S, Vassy J, Hogue CW, Arino J, Arino O. Intermediate filaments networks: in vitro and in vivo assembly models. *C R Biol* 2004, 327(11): 970-6).

Reichart PA, Phillipsen HP. Odontogenic tumors and allied lesions. 1<sup>a</sup> Ed Quintessence Publishing Co Ltd. 2004, Pp 189-197.

Regezi J, Kerr DA, Courtney RM, Arbor A. Odontogenic tumors. Analysis of 706 cases. *J Oral Surg* 1978; 36: 771-778.

Rennie JS, MacDonald DG, Critchlow HA. Unusual myxomatous odontogenic tumour with calcification. *Int J Oral Surg* 1985; 14: 307-310.

Rosai J. *Surgical Pathology*. 9a. Ed India, Mosby 2004 pp 2425-26, 2270-71.

Rotenberg BW, Daniel SJ, Nish IA, Ngan BY, Forte V. Myxomatous lesions of the maxilla in children: a case series and review of management. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2004; 68(10): 1251-1256.

Sappino AP, Surch W, Gabbiani G. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: expression of cytoskeletal proteins as marker of phenotypic modulations. *Lab Invest* 1990; 63 (2): 144-161.

Sedano HO, Gorlin J. Odontogenic Myxoma: some histochemical considerations. *Arch Oral Biol* 1965; 10: 727-729.

Simes RJ, Barros RE, Klein-Szanto AJP, Cabrini RL. Ultrastructure of an odontogenic myxoma. *Oral Surg* 1975; 39: 640-46.

Simon EN, Merk MA, Vuhahula E, Ngassapa D, Stoeling PJ. Odontogenic myxoma: a clinicopathological study of 33 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33 (4); 333-337.

Slootweg PJ, Van Den Bos T, Straks W. Glycosaminoglycans in myxoma of the jaw: a biochemical study. *J Oral Pathol* 1985; 14, 299-306.

Slootweg PJ, Wittkampf RM. Myxoma of the jaws. An analysis of 15 cases. *J Maxillofac Surg* 1986; 14: 46-52.

Stout AP. Myxoma, the tumour of primitive mesenchyme. *Ann Surg* 1948; 127: 706.

Takahashi H, Fujita S, Okabe H. Immunohistochemical investigation in odontogenic myxoma. *J Oral Pathol Med* 1991; 20: 114-119.

Tamme T, Soots M, Kulla A, Karu K, Hanstein SM, Sokk A, et al. Odontogenic tumours, a collaborative retrospective study of 75 cases covering more than 25 years from Estonia. *J Craniomaxillofac Surg* 2004; 32 (3): 161-5.

Thoma KH, Goldman HM. Central myxoma of the jaw. *Am J Orthodontics & Oral Surg* 1947; 33: 532.

Westwood RM, Alexander RW, Bennett DE. Giant odontogenic myxoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1974; 37 (1): 83-92.

White DK, Chen SY, Mohnac AM, Miller AS. Odontogenic myxoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1975; 39 (6): 901-917.

Zimmerman DC, Dahlin DC. Myxomatous tumours of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1958; 11: 1609.

## ANEXOS.

### I. TABELAS

Tabela 1.

Expressão das diferentes CK nos epitélios da cavidade oral.

<b>Estrutura epitelial</b>	<b>Expressão positiva</b>	<b>Expressão (-)</b>
<b>Epitélio da superfície</b>		
Botões gustativos	7,8,18,19,20	
Células de Merkel	7,8,18,19,20	
Dorso de língua	1,4,5,6,10,13,14,16,19	
Epitélio estratificado não queratinizado	4,5,6,13,14,16,19	7,8,18
Epitélio estratificado queratinizado	1,2,5,6,10,11,14,16	7,8,18
<b>Epitélio odontogênico</b>		
Epitélio externo do órgão do esmalte	5,7,8,14,19	1,2,10,11
Epitélio reduzido órgão do esmalte	5,6,13,14,16,17,19	1,2,4,10,11,13
Epitélio interno do órgão do esmalte	5,14,19	
Lâmina dental	5,7,8,19	
Órgão do esmalte	5,7,8,14,17,18,19	
Restos de Malassez e de Serres	5,7,13,14,15,,17,19	
Retículo estrelado	5,7,8,14,18,19	
<b>Epitélio de glândulas salivares</b>		
Ácidos	8,18	20
Células basais	7,19	20
Células mioepiteliais	4,5,6,13,14,16,17,19	20
Células luminas proximais aos acinos	13,16	20
Ductos excretorios	4,5,6,13,14,16,18,19	20
Ductos intercalares e estriados	7,8,18,19	20

Tabela 2.

Distribuição de sexo, idade, sintomatologia, deslocamento dentário, expansão de corticais e tamanho dos 67 casos de MO.

# de caso	Idade	Gênero	Localização	Síntomas	Desloc. Dent.	Exp. cort	Tamanho
1	25	F	MSA	ASSINTOM	NÃO	NÃO	5 cm
2	29	F	MIA	ASSINTOM	NÃO	NÃO	5 cm
3	36	F	MIP	ASSINTOM	NÃO	NÃO	3 cm
4	46	F	MIA	ASSINTOM	NÃO	NÃO	6 cm
5	28	F	MIA	AUM VOL	NÃO	SIM	4 cm
6	12	F	MIA	ASSINTOM	NÃO	NÃO	2 cm
7	10	F	MSP	DOR	NÃO	NÃO	10 cm
8	84	F	MIP	ND	NÃO	NÃO	ND
9	29	F	MSP	PARESTESIA	NÃO	NÃO	10 cm
10	20	F	MSP	DOR	NÃO	SIM	8 cm
11	32	F	ND	ND	NÃO	NÃO	ND
12	51	M	MIP	ASSINTOM	NÃO	NÃO	3 cm
13	32	F	MSP	ASSINTOM	NÃO	NÃO	ND
14	18	M	MI	ASSINTOM	NÃO	NÃO	1 cm
15	50	M	PERIF	ASSINTOM	NÃO	NÃO	4 cm
16	31	F	MS	ASSINTOM	NÃO	NÃO	ND
17	43	M	MS	AUM VOL	NÃO	SIM	5 cm
18	29	F	MIA	ND	NÃO	NÃO	ND
19	20	F	MAS	DOR	NÃO	NÃO	2 cm
20	21	F	MIA	ASSINTOM	SIM	NÃO	8 cm
21	32	F	MSM	ASSINTOM	NÃO	NÃO	4 cm
22	30	F	MSM	DOR	NÃO	SIM	3 cm
23	29	M	ND	ASSINTOM	NÃO	NÃO	ND
24	16	F	ND	ASSINTOM	NÃO	NÃO	ND
25	26	M	ND	ASSINTOM	NÃO	NÃO	ND
26	ND	M	ND	ND	ND	NÃO	ND
27	ND	F	ND	ND	ND	NÃO	ND

28	40	F	PERIF	ULCERADO	SIM	NÃO	ND
29	25	F	ND	ND	NÃO	NÃO	ND
30	56	F	MI	DOR	SIM	NÃO	3. cm
31	31	F	MIP	ASSINTOM	NÃO	NÃO	3 cm
32	26	M	*SEIO MAX	ASSINTOM	NÃO	NÃO	3 cm
33	17	F	MIP	DOR	NÃO	NÃO	5 cm
34	35	F	MI	ASSINTOM	NÃO	NÃO	6 cm
35	43	F	MSA	ASSINTOM	NÃO	SIM	8 cm
36	74	F	MSA	ASSINTOM	NÃO	NÃO	3 cm
37	24	M	MIP	ASSINTOM	SIM	NÃO	8 cm
38	43	M	*SEIO MAX	DOR	NÃO	NÃO	4 cm
39	17	F	MIP	ASSINTOM	SIM	SIM	7 cm
40	25	F	MSP	ASSINTOM	NÃO	NÃO	3 cm
41	28	F	*SEIO MAX	ASSINTOM	NÃO	SIM	6 cm
42	32	F	MSP	ASSINTOM	NÃO	SIM	3 cm
43	50	M	MSP	ASSINTOM	NÃO	SIM	4 cm
44	32	F	MIP	ASSINTOM	NÃO	SIM	9 cm
45	ND	M	MI	ND	NÃO	SIM	4 cm
46	23	F	MIP	AUM VOL	NÃO	SIM	5 cm
47	19	M	MIA	AUM VOL	NÃO	SIM	8 cm
48	36	F	MS	AUM VOL	NÃO	SIM	6 cm
49	20	M	*SEIO MAX	ASIM FAC	NÃO	SIM	ND
50	38	M	MS	AUM VOL	NÃO	SIM	ND
51	13	F	MIP	DOR	NÃO	SIM	4 cm
52	39	M	MS	ASIM FAC	NÃO	NÃO	ND
53	25	F	MIP	MOV DENT	SIM	SIM	ND
54	38	F	MI	AUM VOL	NÃO	SIM	ND
55	71	M	MSP	DOR	SIM	NÃO	ND
56	25	F	MIA	ASSINTOM	NÃO	SIM	ND
57	26	F	ND	AUM VOL	SIM	NÃO	ND
58	34	F	GENG INF	PERIF	NÃO	NÃO	ND
			AN				

59	23	F	MIP	AUM VOL	NÃO	SIM	ND
60	ND	F	MIA	AUM VOL	NÃO	SIM	ND
61	19	F	MIA	ASSINTOM	NÃO	ND	ND
62	18	F	ND	ND	ND	ND	ND
63	41	F	ND	ND	ND	ND	ND
64	18	F	ND	ND	ND	ND	ND
65	20	M	ND	ND	ND	ND	ND
66	19	M	ND	ND	ND	ND	ND
67	48	F	ND	ND	ND	ND	ND

Exp. Cort.: Expansão de corticais ósseas.

D.D: deslocamento dentário.

MSA: Maxilar superior anterior.

MSP: Maxilar superior posterior.

MIA: Maxilar inferior anterior.

MIP: Maxilar inferior posterior.

ND: Não disponível.

\*Seio Max: invadindo seio maxilar.

Tabela 3.

Resumo de dados da presença de células granulares (mastócitos) quando vistos com H&E e quando analisados com imunohistoquímica específica para mastócito (clone AA1).

<b># Cas o</b>	<b>Azul toluidina</b>	<b>Imuno p/ mastócito</b>
3	Positivo	Positivo
4		Positivo
5	Positivo	Positivo
11		Positivo
12	Positivo	Positivo
13		Positivo
14	Positivo	Positivo
15	Positivo	Positivo
16	Positivo	Positivo
17		Positivo
20	Positivo	
21		Positivo
23	Positivo	Positivo
24	Positivo	Positivo
26		Positivo
32	Positivo	Positivo
35		Positivo
38		Positivo
40		Positivo
41	Positivo	
43	Positivo	Positivo
47	Positivo	Positivo
48	Positivo	Positivo

---

50	Positivo	
52		Positivo
53		Positivo
55		Positivo
56	Positivo	
57	Positivo	Positivo
58		Positivo
60	Positivo	Positivo
61	Positivo	

---

Tabela 4.

Número de casos que apresentaram tecido epitelial na histoquímica para H&E e imunoistoquímica para citoqueratinas.

# Cas o	H&E	CK AE1/3	CK 5	CK 7	CK 14	CK 19
6		Positivo			Positivo	
8	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
13		Positivo	Positivo		Positivo	
16		Positivo			Positivo	
26	Positivo	Positivo			Positivo	
34	Positivo	Positivo	Positivo		Positivo	
35		Positivo			Positivo	
38		Positivo			Positivo	
43	Positivo	Positivo	Positivo		Positivo	
46		Positivo	Positivo		Positivo	
47	Positivo	Positivo	Positivo		Positivo	Positivo
				Positivo		
50		Positivo			Positivo	
58	Positivo	Positivo	Positivo		Positivo	

Tabela 5.

Número de casos que apresentaram imunoreatividade para anticorpos dirigidos contra actina,  $\alpha$ -actina músculo liso específica, vimentina e CD34.

# Casos	Actina (HHF 35)	$\alpha$ AML	Vimentina	CD 34
1				Positivo
3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo		Positivo	
5			Positivo	
7	Positivo	Positivo	Positivo	
8			Positivo	Positivo
9	Positivo		Positivo	
10			Positivo	Positivo
11		Positivo	Positivo	
12			Positivo	Positivo
13		Positivo	Positivo	Positivo
14			Positivo	
15			Positivo	
16		Positivo	Positivo	Positivo
17				Positivo
18		Positivo	Positivo	
19	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
20		Positivo	Positivo	
21		Positivo		Positivo
22		positivo		
23			Positivo	
24			Positivo	

---

26				Positivo
28			Positivo	Positivo
30			Positivo	Positivo
31			Positivo	
32			Positivo	Positivo
33		Positivo	Positivo	Positivo
34	Positivo		Positivo	
35		Positivo	Positivo	
36		Positivo	Positivo	
37	Positivo		Positivo	Positivo
38			Positive	
39	Positivo	Positivo	Positivo	
40		Positivo	Positivo	
42	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
43			Positivo	
44			Positivo	
45			Positivo	
46		Positivo	Positivo	
48			Positivo	
47		Positivo	Positivo	
48		Positivo	Positivo	
49			Positivo	
50			Positivo	
51		Positivo	Positivo	
52			Positivo	
53		Positivo	Positivo	
54		Positivo	Positivo	
55		Positivo	Positivo	
56			Positivo	

---

---

57			Positivo	
58	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
60		Positivo	Positivo	

---



**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**  
**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**  
**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**



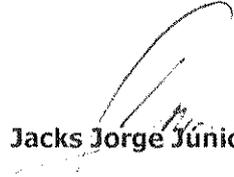
**CERTIFICADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "**Mixomas odontogênicos: Análise clinicopatológica e imunohistoquímica**", protocolo nº **074/2005**, dos pesquisadores **OSLEI PAES DE ALMEIDA** e **GUILLERMO MARTINEZ MATA**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 06/07/2005.

The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project "**Odontogenic mixomas: Clinicopathological and imunohistochemical analysis**", register number **074/2005**, of **OSLEI PAES DE ALMEIDA** and **GUILLERMO MARTINEZ MATA**, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 06/07/2005.

  
Cinthia Pereira Machado Tabchoury

Secretária  
CEP/FOP/UNICAMP

  
Jacks Jorge Júnior  
Coordenador  
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.  
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.