

# **HISTOQUÍMICA DOS TECIDOS MINERALIZADOS NAS LESÕES DE DISPLASIA FIBROSA E FIBROMA CEMENTO-OSSIFICANTE PERIFÉRICO\***

Taciana Marco FERRAZ\*\*

Terezinha de Oliveira NOGUEIRA\*\*\*

- **RESUMO:** Neste estudo avaliamos histologicamente duas lesões fibro-ósseas benignas, especificamente a displasia fibrosa e o fibroma cimento-ossificante periférico do complexo maxilo-mandibular. Estas duas lesões apresentam padrões histológicos muito semelhantes, caracterizando-se por formação de tecido conjuntivo com focos de mineralização de aspecto variável. Muitas vezes, o diagnóstico histológico final só é fornecido após estudo do exame radiográfico e da história clínica do paciente. Sendo assim, a partir da utilização de técnicas histoquímicas específicas para tecido calcificado, tais como a Técnica de Von Kossa, a de Gallego e da Purpurina, era nosso intuito verificar o auxílio que estas poderiam fornecer, facilitando o estudo histológico dessas lesões. As lâminas em parafina das lesões citadas foram coradas utilizando-se as três técnicas em questão, porém apenas a técnica de Von Kossa mostrou resultados de interesse que nos auxiliaram na diferenciação histológica das duas lesões em estudo.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Displasia fibrosa; fibroma ossificante, cimento.

## **Introdução**

Embora Menzel, em 1842, tenha sido o primeiro a descrever a entidade patológica fibroma ossificante, foi Montgomery que, em 1927,

---

\* Trabalho subvencionado pela Fapesp (Processo 94/2404-9).

\*\* Cirurgiã-dentista - 12245-000 - São José dos Campos - SP.

\*\*\* Departamento de Patologia - Faculdade de Odontologia - UNESP - 12245-000 - São José dos Campos - SP.

denominou-o "fibroma ossificante". Subseqüentemente, com a introdução do termo "displasia fibrosa" por Lichtenstein em 1938, foi sugerido que as lesões no complexo maxilo-mandibular previamente denominadas fibro-osteoma ou fibroma ossificante deveriam ser chamadas de displasias fibrosas. Recentemente, esta tendência parece estar se revertendo e as duas lesões têm sido consideradas como entidades clínicas distintas.<sup>6</sup>

A displasia fibrosa é uma condição idiopática na qual o tecido ósseo é gradualmente substituído por uma proliferação de tecido conjuntivo fibroso. O tecido mesenquimal forma tecido ósseo/osteóide, que surge no local da lesão por um processo de metaplasia. O tecido fibro-ósseo resultante é mal formado e estruturalmente inadequado.<sup>9</sup>

A etiologia desta condição permanece desconhecida, muito embora várias teorias tenham sido propostas. Muitos pesquisadores aceitam a premissa de que a displasia fibrosa representa um crescimento hamartomatoso, não-neoplásico, resultante da atividade desordenada da célula mesenquimal. Tem sido proposto também que esta lesão resulta de uma parada na maturação do tecido mesenquimal no estágio de osso imaturo. Uma outra hipótese sugere que se trata de uma reação anormal do osso relacionada a um episódio traumático localizado. Alternativamente, tem sido ainda sugerida como possível a ocorrência de um distúrbio endócrino, manifestando-se como uma alteração focal do osso. Não se determinou uma base hereditária para a displasia fibrosa.<sup>9</sup>

As displasias fibrosas são classificadas em "monostótica" e "poliostótica" conforme envolvam um ou mais ossos, respectivamente. São descritos dois tipos de displasia fibrosa poliostótica, aparentemente separados:

a) displasia fibrosa envolvendo um número variável de ossos, embora grande parte do esqueleto esteja normal, acompanhada de lesões pigmentadas da pele ou manchas "café-com-leite". É a do tipo Jaffe;

b) displasia fibrosa mais acentuada, envolvendo quase todos os ossos do esqueleto, acompanhada de lesões pigmentadas da pele e distúrbios endócrinos de vários tipos. É chamada de Síndrome de Albright.

A displasia fibrosa monostótica, aquela forma de doença em que apenas um osso é envolvido, não apresenta lesões extra-esqueléticas como as que se observam nas displasias fibrosas poliostóticas.<sup>10</sup> Não obstante esta doença seja localizada, ela é bastante confusa em razão de

sua distribuição, sua variação histológica e curso clínico. As lesões da maxila podem propagar-se e envolver o seio maxilar, o zigoma, o osso esfenóide e o assoalho da órbita, sendo conhecida então como displasia fibrosa craniofacial.<sup>9</sup>

O padrão histológico da displasia fibrosa varia com a evolução e o estágio de desenvolvimento da doença. Na lesão inicial o tecido é bastante celular, com predominância de fibroblastos, podendo-se encontrar também pequenas formações de tecido mineralizado. Com a progressão da lesão, a quantidade de tecido mineralizado aumenta e gradualmente o tecido fibroso diminui, tanto em quantidade como em celularidade. Não há separação nítida entre o novo tecido mineralizado formado e o tecido ósseo circunjacente.<sup>7</sup>

O fibroma cemento-ossificante é classificado em central ou periférico, segundo a sua localização, se intra- ou extra-óssea.

O fibroma cemento-ossificante periférico pode ocorrer em qualquer idade, porém é mais comum em crianças e adultos jovens.<sup>11</sup> O aspecto clínico da lesão é característico, mas não patognomônico. É uma massa focal de tecido, bem delimitada, na gengiva, com uma base sésil ou pedunculada. Geralmente é da mesma cor da mucosa, podendo ser ligeiramente avermelhado. A superfície pode estar intacta ou ulcerada. Mais comumente parece originar-se em papila interdentária.

Radiograficamente, na maioria dos casos não se observa envolvimento aparente do osso subjacente. Todavia, em ocasiões raras pode ocorrer uma erosão superficial do osso.<sup>10</sup>

Histologicamente, a lesão é composta, basicamente, por delicadas fibras colágenas entrelaçadas, raramente dispostas em feixes isolados, entremeadas com numerosos fibroblastos em ativa proliferação. Embora possam existir figuras de mitose em pequeno número, raramente há pleomorfismo celular evidente. No conjuntivo, podemos notar a presença de tecido calcificado de aspecto variável, desde pequenos focos de trabéculas ósseas irregulares, que podem ter certa semelhança com a forma das trabéculas ósseas da displasia fibrosa, e/ou inúmeros focos de massas basófilas semelhantes a cimento (redondas, ovóides, ligeiramente alongadas ou muitas vezes lobuladas), circundadas por cementóide e cementoblasto, ou ainda calcificação distrófica. Os diferentes aspectos podem ser observados isolada ou associadamente em uma mesma lâmina. Raramente, vêem-se células da inflamação.<sup>10</sup> Com a maturação da lesão, o número de focos de material calcificado aumenta e, finalmente, coalescem. Isto explica o aumento da radiopacidade da lesão na radiografia.

Buchner et al.,<sup>3</sup> estudando 207 casos de fibroma cemento-ossificante periférico, observaram que histologicamente esta lesão apresenta tecido conjuntivo ricamente celular e áreas de mineralização, semelhantes a tecido ósseo, cimento ou na forma de calcificação distrófica.

O fibroma cemento-ossificante central pode ocorrer em qualquer idade, porém é mais comum em adultos jovens, e mostra predileção pela mandíbula.

Geralmente a lesão é assintomática até o crescimento produzir tumefação visível e deformidade moderada; o deslocamento dos dentes pode ser uma de suas características clínicas. É um tumor de crescimento relativamente lento e pode existir durante anos sem ser descoberto. Graças ao crescimento lento, as tábuas ósseas corticais e a mucosa suprajacente estariam usualmente intactas.

Esta lesão apresenta aspecto radiográfico extremamente variável, dependendo da fase de desenvolvimento. A lesão é bem circunscrita e delimitada pelo osso circunjacente, ao contrário da displasia fibrosa, que apresenta aspecto de "vidro despolido", não havendo limites nítidos entre a lesão e o tecido ósseo normal.<sup>10</sup>

Apesar de os aspectos clínicos diferirem bastante, na histopatologia há uma semelhança entre o fibroma cemento-ossificante e a displasia fibrosa do complexo maxilo-mandibular, e muitas vezes o diagnóstico final só é fornecido após o estudo do exame radiográfico e da história clínica do paciente.<sup>4</sup>

Slootweg et al.<sup>12</sup> avaliaram radiográfica e histologicamente casos de displasia fibrosa e fibroma cemento-ossificante. Deram ênfase à interface lesão-tecido ósseo normal, já que radiograficamente apresentam padrões bem diferentes. Concluíram que há uma semelhança entre os dados radiográficos e os aspectos histológicos das lesões.

Em 1971, a Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou o fibroma cementificante e o fibroma ossificante como duas entidades distintas. O primeiro foi classificado como uma neoplasia benigna de origem odontogênica e o segundo, como uma neoplasia benigna de origem osteogênica.<sup>8</sup>

Porém, em 1992, quando a OMS divulgou uma nova classificação dos tumores, o fibroma ossificante e o fibroma cementificante foram considerados uma mesma entidade, classificados como neoplasia benigna de origem osteogênica, visto que o material semelhante a cimento que é encontrado em algumas lesões do complexo maxilo-mandibular também foi encontrado em lesões de outros ossos do corpo. Essas obser-

vações podem ser atribuídas ao fato de que a célula responsável pela formação do tecido mineralizado destas lesões pode ser tanto o cementoblasto como o osteoblasto, dependendo da localização da lesão, e na verdade estas células poderiam ser provenientes da diferenciação de uma mesma célula precursora. Segundo esta classificação, as duas lesões são agora chamadas de fibroma cimento-ossificante.<sup>7</sup>

Alguns autores, como Eversole et al.,<sup>4</sup> Balogh et al.<sup>1</sup> e Kfir et al.<sup>5</sup> sugerem que o fibroma cimento-ossificante periférico seria uma lesão hiperplásica inflamatória que apresenta material calcificado.

Ainda segundo a classificação de 1992, a displasia fibrosa do complexo maxilo-mandibular é classificada como uma lesão óssea não-neoplásica. É descrita como uma lesão bem delimitada, mas não encapsulada, ocorrendo especialmente em indivíduos jovens. Geralmente ocorre na maxila e provoca substituição do tecido ósseo normal por um tecido fibroso que contém ilhotas ou trabéculas de tecido ósseo metaplásico.<sup>7</sup>

Sendo assim, diante da dificuldade em diferenciar histologicamente as lesões fibro-ósseas benignas, e neste trabalho especificamente a displasia fibrosa e o fibroma cimento-ossificante periférico, lançamos mão de três técnicas histoquímicas, a Técnica de Gallego, de Von Kossa e da Purpurina, próprias para tecido calcificado, com o intuito de verificar como estas técnicas auxiliaram no diagnóstico histológico das lesões.

## **Material e método**

Todos os casos de displasia fibrosa e fibroma cimento-ossificante (central e periférico) do arquivo de lâminas da Disciplina de Patologia Bucal do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos (FOSJC), UNESP, foram levantados e selecionados para o estudo, e durante o levantamento não se encontrou nenhum caso de fibroma cimento-ossificante central.

Os blocos selecionados foram cortados e corados com a Técnica de Von Kossa, de Gallego e da Purpurina.

Abaixo, segue a descrição das técnicas citadas por Behmer et al.:<sup>2</sup>

a) Técnica de Von Kossa:

- desparafinar os cortes durante 30 minutos, em estufa a 57°C, e desaquecer durante 20 minutos à temperatura ambiente;

- lavar em água destilada;
- tratar pela solução de nitrato de prata a 5% por 20 a 60 minutos expondo-os a uma lâmpada de ultravioleta ou simplesmente uma lâmpada;
- lavar em água destilada;
- tratar com solução de hipossulfito de sódio por 2 a 3 minutos;
- corar pelo vermelho Naftol ou bordeaux-alumínio ou vermelho neutro 1% por 1 minuto;
- lavar em água destilada;
- desidratar pelo álcool 95%, absoluto e xilol;
- montar.

Resultados esperados:

- sais de cálcio: preto;
- núcleo celular: vermelho;
- citoplasma celular: rosa.

b) Técnica de Gallego:

- desparafinar os cortes durante 30 minutos, em estufa a 57°C, e desaquecer durante 20 minutos à temperatura ambiente;
- lavar em água destilada;
- corar pela hematoxilina férrica por 6 minutos;
- lavar em água por 5 minutos;
- tratar com mordente cloreto férrico-formol-ácido nítrico por 30 segundos;
- lavar em água por 5 minutos;
- corar pela fucsina-fenicada-acética por 5 minutos;
- lavar em água destilada;
- tratar com mordente cloreto férrico-formol-ácido nítrico por 30 segundos;
- lavar em água destilada;
- corar pelo azul de anilina-ácido pícrico por 2 minutos;
- lavar em solução acética 0,1%;
- desidratar em várias acetonas, acetonas/xilol e montar.

Resultados esperados:

- núcleo celular: preto e cinza;
- fibras reticulares e colágenas: azul escuro;
- cálcio: laranja, amarelo-esverdeado;
- grânulos de mastócitos: vermelho-amarelado;
- cartilagem: púrpura e violeta;

- mucoproteína: azul violeta;
- citoplasma celular: verde escuro-marrom;
- fibras elásticas: púrpura-vermelho.

c) Técnica da Purpurina:

- desparafinar os cortes durante 30 minutos, em estufa a 57°C, e desaquecer durante 20 minutos à temperatura ambiente;
- lavar em água destilada;
- tratar pela solução alcoólica saturada (95%) de Purpurina por 5 a 10 minutos;
- lavar em solução alcoólica de cloreto de sódio a 0,75%;
- diferenciar em álcool 70% até retirar o excesso de corante;
- desidratar rapidamente em álcool 95%, absoluto e xilol;
- montar.

Resultados esperados:

- vermelho: estruturas com sais de cálcio.

## Resultado

### Displasia fibrosa

Do arquivo de lâminas da Disciplina de Patologia Bucal do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, UNESP, foram selecionados e corados 12 casos de displasia fibrosa.

Porém, apenas dois casos apresentaram resultados positivos quando corados pela Técnica de Von Kossa, e quatro casos quando corados pela Técnica da Purpurina. As lâminas coradas pela Técnica de Gallego não apresentaram os resultados esperados.

Em geral, os resultados morfológicos e histoquímicos observados nos casos de displasia fibrosa foram os seguintes:

a) resultados morfológicos: massa de tecido conjuntivo frouxo, contendo em seu interior trabéculas irregulares de tecido ósseo, por vezes bem delimitadas. Na periferia das trabéculas, observamos em alguns locais presença de osteóide e osteoblastos enfileirados delimitando as trabéculas ósseas. Também notamos a presença de um ou

outro osteoclasto na região periférica da trabécula, estando algumas destas células dentro das lacunas de Howship (Figura 1).

b) resultados histoquímicos:

- Técnica de Von Kossa: as trabéculas ósseas foram coradas em negro em razão da precipitação da prata e apresentavam limites irregulares. Observamos um aspecto granuloso, especialmente nas áreas periféricas das trabéculas. As áreas correspondentes ao osteóide não apresentavam coloração enegrecida (dois casos positivos) (Figura 2);
- Técnica da Purpurina: trabéculas calcificadas coradas em róseo, algumas bem delimitadas e outras com limites irregulares. No interior de algumas trabéculas, observou-se um aspecto granuloso. Algumas trabéculas também apresentavam os osteoplastos vazios (quatro casos positivos) (Figura 3).

### **Fibroma cimento-ossificante**

Do arquivo de lâminas da Disciplina de Patologia Bucal do Departamento de Patologia da FOSJC/UNESP foram selecionados e corados 18 casos de fibroma cimento-ossificante periférico existentes.

Apenas oito casos apresentaram resultados positivos quando corados pela Técnica de Von Kossa, e dez casos quando corados pela Técnica da Purpurina. Entretanto, nenhum deles apresentou resultado positivo quando corados pela Técnica de Gallego.

Em geral, os resultados morfológicos e histoquímicos observados nos casos de fibroma cimento-ossificante periférico estudados foram os seguintes:

a) resultados morfológicos: massa de tecido conjuntivo frouxo, contendo em seu interior trabéculas ou massas de tecido ósseo, massas de cimento ou alguns casos de calcificação distrófica. As trabéculas ósseas apresentavam-se bastante volumosas, bem delimitadas e com os osteoplastos e os osteócitos bem nítidos. Na periferia das trabéculas, observamos em alguns locais presença de osteóide e osteoblastos enfileirados margeando a trabécula óssea. Também notamos a presença de um ou outro osteoclasto na região periférica da trabécula, estando algumas destas células dentro das lacunas de Howship (Figura 4).

b) resultados histoquímicos:

- Técnica de Von Kossa: as trabéculas ou massas de tecido ósseo, os focos de calcificação distrófica e as massas de cimento estavam ho-

moganeamente corados em negro e apresentavam-se bem delimitados. No interior das trabéculas ósseas observamos osteoplastos nitidos (Figura 5);

- Técnica da Purpurina: as trabéculas ou massas de tecido ósseo, os focos de calcificação distrófica e as massas de cimento apresentavam-se corados em róseo, com delimitação regular. No interior das trabéculas observamos osteoplastos vazios (Figura 6).

Na parte mais central de algumas trabéculas, observamos um aspecto granuloso. As áreas de osteóide na periferia das trabéculas apresentavam-se coradas em róseo, porém em tom mais claro do que o observado nas regiões mais centrais dessas trabéculas.

Apresentamos adiante algumas microfotografias (Figuras 1 a 6) para ilustração de nossos resultados.

## **Discussão**

O estudo histopatológico das lesões bucais, por meio de técnicas especiais de coloração, é muito importante pois pode auxiliar na determinação dos diagnósticos histológicos.

Neste estudo utilizamos três técnicas histoquímicas para coloração de tecido mineralizado, com o objetivo de mostrar diferenças entre dois tipos de lesão fibro-óssea benigna, ou seja, o fibroma cimento-ossificante e a displasia fibrosa.

Outra finalidade de nosso estudo foi avaliar a eficiência e a viabilidade da introdução dessas técnicas histoquímicas no Laboratório de Patologia de nossa faculdade.

A Técnica de Gallego não apresentou os resultados descritos pelo autor para nenhuma das duas lesões estudadas. Não conseguimos detectar o problema ocorrido, já que todos os passos da técnica foram seguidos corretamente.

A Técnica da Purpurina apresentou resultados positivos em alguns casos, porém esta coloração não mostrou diferenças entre as lesões estudadas. Notamos também que, em algumas lâminas referentes a casos de fibroma cimento-ossificante periférico e de displasia fibrosa, o tecido mineralizado não foi corado por esta técnica. Considerando-se que todas as lâminas foram submetidas aos mesmos passos da técnica, uma possibilidade para a não coloração de algumas delas pode ter sido o baixo teor de cálcio das mineralizações.

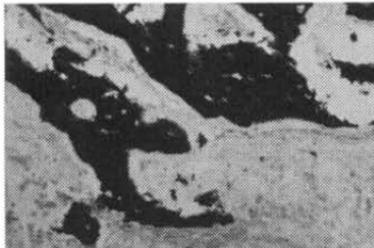
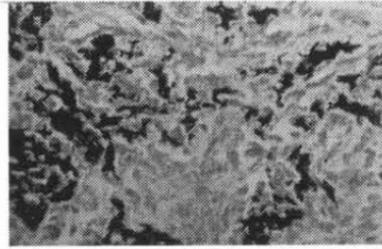
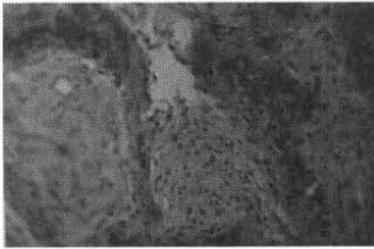


FIGURA 1 - Displasia fibrosa: observar as finas trabéculas de tecido ósseo metaplásico. Técnica H&E - aumento 160x.

FIGURA 2 - Displasia fibrosa: observar as trabéculas de tecido mineralizado semelhante a tecido ósseo coradas em negro com delimitação irregular e aspecto granuloso, especialmente nas áreas periféricas das trabéculas. Técnica Von Kossa - aumento 160x.

FIGURA 3 - Displasia fibrosa: observar as trabéculas de tecido mineralizado semelhante a tecido ósseo coradas em róseo. Técnica Purpurina - aumento 160x.

FIGURA 4 - Fibroma cemento-ossificante periférico: observar as massas de tecido mineralizado semelhantes a tecido ósseo. Técnica H&E - aumento 160x.

FIGURA 5 - Fibroma cemento-ossificante periférico: observar as massas de tecido mineralizado semelhantes a tecido ósseo coradas densamente em negro com delimitação regular. Técnica Von Kossa - aumento 160x.

FIGURA 6 - Fibroma cemento-ossificante periférico: observar as massas de tecido mineralizado semelhantes a tecido ósseo coradas em róseo com delimitação regular. Técnica Purpurina - aumento 160x.

A Técnica de Von Kossa foi a que apresentou os melhores resultados, mostrando diferenças entre as lesões. Porém, também em alguns casos, não houve coloração por esta mesma técnica. O mesmo problema do teor de cálcio das mineralizações, citado antes, pode ter interferido nos resultados desta técnica.

Devemos considerar também o tempo de vida dos blocos de parafina, uma vez que alguns deles estavam estocados há mais de vinte anos. Outro ponto a considerar seria o problema da fixação dos materiais.

## Conclusão

Após a realização deste trabalho podemos concluir que das três técnicas histoquímicas estudadas, a Técnica de Von Kossa foi a que apresentou os melhores resultados. A Técnica de Gallego não mostrou nenhum resultado positivo nos casos estudados.

Podemos sugerir que a utilização da Técnica de Von Kossa auxilia na diferenciação histológica entre as duas lesões estudadas, pois o aspecto enegrecido da coloração apresentou-se bastante diferente. Nos casos de displasia fibrosa observamos um aspecto granuloso, especialmente na periferia das mineralizações. Nos casos de fibroma cimento-osificante periférico notamos uma delimitação bem nítida das mineralizações e um aspecto bem compacto na parte escurecida.

FERRAZ, T. M., NOGUEIRA T. de O. Histochemistry of the mineralized tissues on fibro-osseous lesions: fibrous dysplasia and peripheral cemento-ossifying fibroma. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.27, n.1, p.87-98, 1998.

- **ABSTRACT:** *On this research work, two fibro-osseous lesions were histochemically studied. Considering the histological similarity of both lesions it was a purpose of this work to try three different histochemical techniques to help in the histological differentiation of these lesions. The techniques utilized were: Von Kossa, Gallego and Purpurin. The results were positive and remarkable and showed differences observed could help in the histological diagnosis of them.*
- **KEYWORDS:** *Fibrous dysplasia, fibroma ossifying, cementifying.*

## Referências bibliográficas

- 1 BALOGH, K. et al. Condrogenesis in peripheral fibromas of the gingiva. Histochemical demonstration of oxytalan fibers and mucopolysaccharides. *J. Oral Pathol.*, v.15, p.169-71, 1986.
- 2 BEHMER, O. A. et al. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo: Edart, 1976. 256p.
- 3 BUCHNER, A. et al. The histomorphologic spectrum of peripheral ossifying fibroma. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.63, p.452-61, 1987.
- 4 EVERSOLE, L. R. et al. Fibrous displasia. A nosologic problem in the diagnosis of fibrous-osseous lesions of the jaws. *J. Oral Pathol.*, v.1, p.189, 1972.
- 5 KFIR, Y. et al. Reactive lesions of the gingiva. A clinicopathological study of 741 cases. *J. Periodontol.*, v.51, p.655-61, 1980.
- 6 KHANNA, J. N. et al. Giant ossifying fibroma. Case report on a bimaxillary presentation. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.21, p.233-5, 1992.
- 7 KRAMER, I. R. H., PINDBORG J. J., SHEAR, M. Histological typing of odontogenic tumors. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION. *International histological classification of tumors*. Genève: W. H. O., 1992. p.118.
- 8 PINDBORG J. J., KRAMER, I. R. H. Histological typing of odontogenic tumors, jaw cysts and allied lesions. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION. *International histological classification of tumors*, n.5. Genève: W. H. O., 1971.
- 9 REGESI, J. A., SCIUBA, J. J. *Patologia bucal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 390p.
- 10 SHAFER, W. G. et al. *Tratado de patologia bucal*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. 837p.
- 11 SHAPIRO, A. Peripheral ossifying fibroma. Report of a case. *J. Dent. Que.*, v.28, p.13-5, 1991.
- 12 SLOOTWEG, P. J. et al. Differential diagnosis of fibrous-ossous jaw lesions. *J. Cranio-Maxillofac. Surg.*, v.18, p.210-4, 1990.