



Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina

Laboratorial

ISSN: 1676-2444

jbpml@sbpc.org.br,adagmar.andriolo@g
mail.com

Sociedade Brasileira de Patologia
Clínica/Medicina Laboratorial

Ferreira Lopes, Fernanda; Fontoura Nogueira de Cruz, Maria Carmen; do Amaral Pereira,
Antonio Luiz; Dantas da Silveira, Éricka Janine; Cavalcanti Galvão, Hébel; Batista de
Souza, Lélia; de Almeida Freitas, Roseana

Análise imuno-histoquímica das citoqueratinas em ameloblastoma e tumor odontogênico
adenomatóide

Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, vol. 41, núm. 6, diciembre, 2005,
pp. 425-430

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
Rio de Janeiro, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=393541926009>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Análise imuno-histoquímica das citoqueratinas em ameloblastoma e tumor odontogênico adenomatóide

Prévia submissão em 18/07/05
Última submissão em 21/10/05
Aceito para publicação em 12/12/05
Publicado em 20/12/05

Immunohistochemical analysis of cytokeratins in ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor

Fernanda Ferreira Lopes¹; Maria Carmen Fontoura Nogueira de Cruz¹; Antonio Luiz do Amaral Pereira¹; Éricka Janine Dantas da Silveira¹; Hébel Cavalcanti Galvão²; Lélia Batista de Souza²; Roseana de Almeida Freitas²

unitermos

Ameloblastoma
Tumor odontogênico adenomatóide
Citoqueratina
Imuno-histoquímica

resumo

Objetivo: O presente trabalho teve por objetivo traçar o perfil das citoqueratinas (CKs) 7, 8, 10, 13, 14, 18 e 19 em ameloblastomas e tumor odontogênico adenomatóide (TOA) visando contribuir para o entendimento da histogênese desses tumores e somar com os resultados já relatados na literatura. **Material e método:** do arquivo do Laboratório de Anatomia Patológica do Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) foi selecionada uma amostra com dez casos de ameloblastomas e oito de TOA para o estudo imuno-histoquímico, utilizando-se anticorpos anti-CKs pelo método da estreptoavidina-biotina. **Resultados:** Observou-se que nos ameloblastomas a CK 14 esteve presente em todos os casos, enquanto a CK 19 foi observada nas células periféricas (oito casos) e nas centrais (cinco casos). Para os TOA, observou-se imunopositividade para a CK 14 em todos os casos, enquanto a CK 19 esteve marcada predominantemente nas células ductais (seis casos). **Conclusão:** As citoqueratinas são expressas de forma variada nos ameloblastomas e nos TOA, os quais preservam CK típicas do germe dental em estágios avançados do desenvolvimento, confirmando sua origem exclusiva a partir do epitélio odontogênico e não se evidenciando CK características do epitélio escamoso.

abstract

Objectives: The aim of the present study was to describe the immunohistochemical expression of cytokeratins (CKs) 7, 8, 10, 13, 14, 18 and 19 in the epithelial components of ameloblastomas and adenomatoid odontogenic tumor (AOT). The results were compared and histogenesis discussed. Material and method: Specimens of ten ameloblastomas and eight adenomatoid odontogenic tumors were examined by immunohistochemistry using streptavidin-biotin-peroxidase complex method and anti-CKs antibody. The sample was obtained from Department of Oral Pathology, Federal University of Rio Grande do Norte. Results: Immunohistochemical reactivity for CK14 was detected in all cases of ameloblastomas, and the expression of CK19 was diffusely present in peripheral cells (eight cases) and in central cells of five ameloblastomas. In AOTs, immunopositivity for CK14 was detected in all cases, whereas CK 19 was predominantly expressed in ductal cells (six cases). Conclusion: The CKs was expressed by several forms in ameloblastomas and AOTs, that have shown typical CKs of dental germ suggesting that these tumors have odontogenic epithelial differentiation, whereas it has not evinced proper CKs of squamous epithelial.

key words

Ameloblastomas
Adenomatoid odontogenic tumor
Cytokeratin
Immunohistochemistry

1. Doutorandos em Patologia Oral pelo Programa de Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN).

2. Professora-doutora do Programa de Patologia Oral da UFRN.

Introdução

Os tumores odontogênicos representam um grupo de lesões de comportamento biológico e tipos histológicos diversos. O ameloblastoma e o tumor odontogênico adenomatóide (TOA) são classificados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como tumor de epitélio odontogênico e tumor de epitélio odontogênico com ectomesenquima e formação ou não de material calcificado, respectivamente⁽⁶⁾.

O ameloblastoma é o tumor odontogênico mais comum, o qual exibe comportamento freqüentemente agressivo, com variados tipos histológicos. O TOA é relativamente incomum, compreendendo cerca de 3% dos tumores odontogênicos e não possuindo comportamento agressivo⁽⁵⁾.

Alguns autores acreditam que os ameloblastomas se originam a partir do epitélio odontogênico em fase de desenvolvimento⁽⁵⁾, enquanto que o TOA pode surgir do órgão do esmalte pelo fato de suas células colunares das estruturas *duct-like* se assemelharem ao epitélio interno do órgão do esmalte⁽¹⁰⁾. Outros autores sugerem a origem deste último a partir de remanescentes do epitélio reduzido do órgão do esmalte⁽³⁾.

Tanto nos ameloblastomas como nos TOAs, o componente epitelial é responsável pela formação de diversos arranjos morfológicos, e, especificamente nos ameloblastomas, o arranjo estrutural dos componentes epiteliais junto à morfologia das células tumorais resulta numa grande diversidade histológica, a qual constitui variados padrões morfológicos desse tumor, como folicular, plexiforme, acantomatoso, de células granulares, células basais e desmoplásico.

As células epiteliais são caracterizadas pela presença de grupos específicos de filamentos intermediários denominados citoqueratinas (CKs), que constituem uma complexa

família com no mínimo 20 diferentes tipos de polipeptídios expressos em vários tipos de epitélio, com sua localização intercelular variando de acordo com o estágio de desenvolvimento, tipo celular, diferenciação tecidual e alterações patológicas⁽¹⁾.

Diante das controvérsias na literatura acerca da origem desses tumores, constitui objetivo desta pesquisa traçar o perfil das CKs 7, 8, 10, 13, 14, 18 e 19, em ameloblastomas e TOAs, visando contribuir para um melhor entendimento da histogênese desses tumores, além de discutir os resultados relatados na literatura.

Material e métodos

Para constituir a amostra desta pesquisa foram selecionados dez casos de ameloblastomas e oito de TOAs constantes no arquivo do Laboratório de Anatomia Patológica da disciplina de Patologia Oral do Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), provenientes tanto a partir de biópsias incisionais para os ameloblastomas como por biópsias excisionais nos casos dos TOAs. Para o estudo imuno-histoquímico foram obtidos cortes de 3µm de espessura do material emblocado em parafina. Tais cortes foram corados pelo método da estreptoavidina-biotina, conforme descrito a seguir: desparafinização; hidratação em seqüência decrescente de etanol; remoção do pigmento formólico com hidróxido de amônio a 10% em etanol 95°; tratamento prévio para incubação dos anticorpos primários; bloqueio da peroxidase endógena através de solução de metanol peróxido de hidrogênio seguido da incubação dos anticorpos anticitoqueratinas (**Tabela 1**). Entre as etapas da reação, o material foi imerso em solução tampão TRIS, pH 7,4. Posteriormente foi incubado com anticorpo secundário e com o complexo estreptavidina-biotina durante 30 minutos à temperatura ambiente e revelação da reação com diaminobenzidina,

Tabela 1 Especificação dos anticorpos utilizados, diluição, tempo de incubação e fabricante

Citoqueratinas	Clone	Recuperação antigênica	Diluição	Tempo de incubação	Fabricante
CK 7	OV-TL 12/30	Tripsina 0,1%	1:50	60'	Novocastra, UK
CK 8	TS1	Steam - citrato pH 6	1:50	60'	Novocastra, UK
CK 10	LHP1	Tripsina 0,1	1:25	60'	Novocastra, UK
CK 13	Ks-1A3	Steam citrato - pH 6	1:150	60'	Novocastra, UK
CK 14	LL002	Steam citrato - pH 6	1:20	60'	Novocastra, UK
CK 18	DC-10	Steam citrato - pH 6	1:20	60'	Novocastra, UK
CK 19	B170	Tripsina 0,1%	1:100	60'	Novocastra, UK

seguido de contracoloração com hematoxilina de Mayer e montagem da lamínula em Permount.

Para verificação da efetividade da técnica utilizou-se como controle positivo para as CKs 10, 13 e 14 espécimes com diagnóstico de hiperplasia fibrosa inflamatória, e para as CKs 7, 8, 18 e 19, fragmentos de glândula salivar menor adjacentes a fenômenos de retenção de muco. Como controle negativo omitiu-se o anticorpo primário, não sendo verificada então nenhuma marcação nos casos avaliados.

Para análise das células imunopositivas foi verificada a presença (+) e a ausência (-) de imunomarcação por tipos celulares nos tumores, sendo os resultados obtidos submetidos à análise descritiva.

Resultados

Resultados morfológicos

Os ameloblastomas constantes desta pesquisa foram classificados nos tipos plexiforme e folicular. No tipo folicular verificou-se a presença de ilhas de epitélio odontogênico semelhante ao órgão do esmalte, sendo estes ninhos constituídos por área central de células arranjadas frouxamente, lembrando o retículo estrelado do órgão do esmalte, circundados por uma única camada de células colunares com núcleos exibindo polarização invertida, evidenciando-se, ainda, focos de formações pseudocísticas. O estroma era de tecido conjuntivo fibroso denso.

Nos ameloblastomas do tipo plexiforme foram observados cordões e ninhos de epitélio odontogênico anastomosados, sendo esses cordões formados por células colunares ou cúbicas semelhantes a ameloblastos e ninhos, envolvendo

por vezes áreas centrais celulares arranjadas frouxamente. O estroma tumoral era constituído de tecido conjuntivo frouxo com numerosos vasos sanguíneos.

Nos TOAs foram observadas células epiteliais fusiformes organizadas em ninhos e, por vezes, rosetas com áreas centrais exibindo, em algumas ocasiões, material eosinofílico em seu interior. Além disso, foi verificada a presença de estruturas ductiformes delimitadas por células colunares ou cúbicas, com núcleos exibindo por vezes polarização invertida. Focos de calcificação foram ocasionalmente evidenciados.

Resultados imuno-histoquímicos

A imunopositividade para as citoqueratinas estudadas nos ameloblastomas e TOAs pode ser evidenciada nas **Tabelas 2 e 3**, respectivamente, e nas **Figuras 1, 2, 3 e 4**.

Nos ameloblastomas, a CK 14 esteve presente em todos os casos, predominantemente nas células da periferia dos ninhos tumorais, enquanto que a CK 19 foi observada tanto nas células periféricas (oito casos) como nas centrais (cinco casos).

Nos TOAs, observou-se imunopositividade para a CK 14 em todos os casos, tanto em células ductais como nas fusiformes, enquanto que a CK 19 esteve marcada predominantemente nas células ductais (seis casos).

Discussão

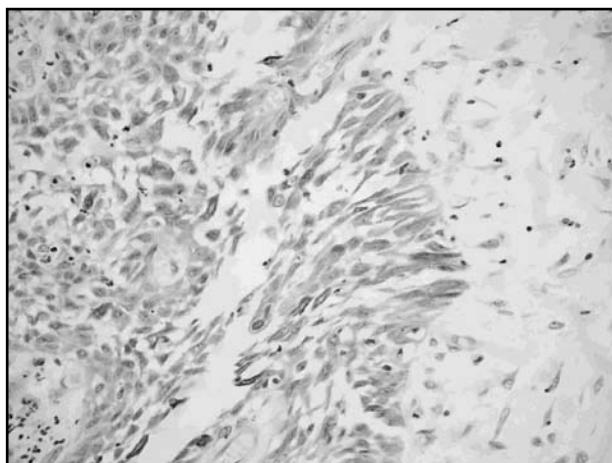
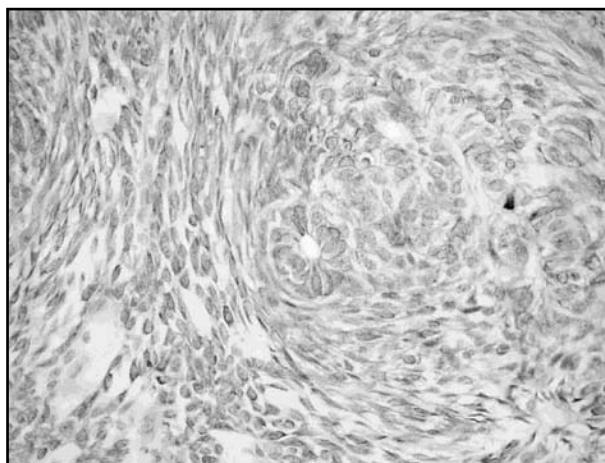
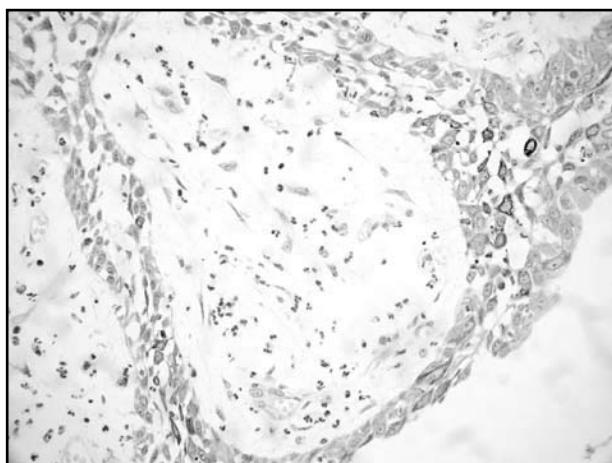
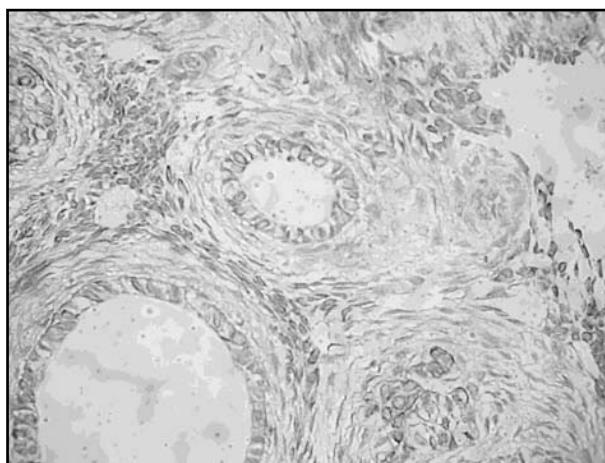
O epitélio odontogênico é responsável pelo desenvolvimento dos dentes, mas o mesmo, durante a odontogênese ou como remanescentes, pode originar, em algumas ocasiões, vários cistos e tumores odontogênicos⁽¹⁰⁾.

Tabela 2 Imunomarcação das citoqueratinas nos casos de ameloblastoma

Caso	CK 7	CK 8	CK 10	CK 13	CK 14	CK 18	CK 19
1	-	-	-	-	+	-	+
2	-	-	-	-	+	-	+
3	-	-	-	-	+	-	+
4	-	-	-	-	+	-	+
5	-	-	-	-	+	-	+
6	-	-	-	-	+	-	+
7	-	-	-	-	+	-	+
8	-	-	-	-	+	-	+
9	-	-	-	-	+	-	+
10	-	-	-	-	+	-	+

Tabela 3 Imunomarcação das citoqueratinas nos TOAs

Caso	CK 7	CK 8	CK 10	CK 13	CK 14	CK 18	CK 19
1	-	-	-	-	+	-	-
2	-	-	-	-	+	-	+
3	-	-	-	-	+	-	+
4	-	-	-	-	+	-	+
5	-	-	-	-	+	-	-
6	-	-	-	-	+	-	+
7	-	-	-	-	+	-	+
8	-	-	-	-	+	-	+

**Figura 1** – Ameloblastoma: imunomarcação para CK 14 nas células da periferia dos ninhos tumorais (SABC, 200x)**Figura 2** – Ameloblastoma: positividade para CK 19 nas células periféricas e centrais do tumor**Figura 3** – Tumor odontogênico adenomatóide: positividade para CK 14 nas células ductais e fusiformes (SABC, 200x)**Figura 4** – Tumor odontogênico adenomatóide: marcação para CK 19 nas células ductais

Os tumores que surgem do epitélio odontogênico ou derivados de seus remanescentes exibem comportamento biológico variado, podendo ser benignos e malignos e ainda exibir grande diversidade morfológica⁽⁷⁾.

Na presente pesquisa, estudamos o perfil das CKs 7, 8, 10, 13, 14, 18 e 19 em dois tumores odontogênicos de comportamentos biológicos diferentes e de histogênese ainda controversa, já que os diferentes polipeptídios de

CKs por vezes são preservados durante a transformação neoplásica e o estabelecimento de sua especificidade em certos tumores possivelmente traria esclarecimentos acerca da natureza e da patogênese das lesões. Dessa forma, para melhor entendimento dos resultados deste estudo, torna-se de suma importância o conhecimento do perfil de expressão desses filamentos intermediários durante a odontogênese.

Em germes dentais, as CKs 7, 8, 13, 14, 17 e 19 são encontradas no órgão do esmalte^(4, 9), enquanto que a CK 18 é em estágios mais precoces da odontogênese. No epitélio externo do órgão do esmalte, encontra-se a CK 7 até a 13^a semana de desenvolvimento, e o retículo estrelado sintetiza as CKs 5, 8, 18 e 19. O epitélio interno do órgão do esmalte responde positivamente às CKs 5 e 19, havendo o desaparecimento da CK 8 durante o processo de desenvolvimento.

De acordo com Chu e Weiss⁽¹⁾, na mucosa oral os filamentos intermediários de CKs encontram-se de forma variada, e as CKs 7 e 19 mostram-se presentes em epitélios simples e ocasionalmente em células basais e suprabasais de epitélios estratificados, enquanto que a CK 14 é encontrada somente em células da camada basal e as CKs 10 e 13 são características de camadas suprabasais de epitélios estratificados ceratinizados e não-ceratinizados, respectivamente.

No tocante aos ameloblastomas, estudos anteriores reportaram que suas células eram semelhantes às do órgão do esmalte, sendo as periféricas correspondentes ao epitélio interno, externo ou mesmo a ameloblastos secretores do órgão do esmalte. Similarmente aos estudos de Crivelini *et al.*⁽²⁾ e Ong'uti *et al.*⁽¹¹⁾, nós detectamos imunopositividade para as CKs 14 e 19 nos casos de ameloblastomas analisados. A CK 14 foi encontrada nas células da periferia dos ninhos tumorais, enquanto a CK 19 foi verificada tanto nas células colunares como nas centrais frouxamente organizadas. Levando-se em consideração a negatividade para as CKs 7, 8, 10, 13 e 18 nesses tumores, verifica-se que as células epiteliais dos ameloblastomas exibem perfil diferente do retículo estrelado do órgão do esmalte, assemelhando-se mais à lámina dentária, a qual expressou CK 14, com exceção de ameloblastos secretores e porções do retículo estrelado, e CK 19, em pré-ameloblastos e ameloblastos secretórios, além de parte do epitélio externo do esmalte/lâmina dental, segundo observado na pesquisa de Crivelini *et al.*⁽²⁾.

Diferentemente de Fukumashi *et al.*⁽⁵⁾, os quais detectaram positividade para as CKs 8 e 13 em ameloblastomas foliculares e plexiformes, não evidenciamos positividade

para esses filamentos intermediários, bem como para as CKs 7, 10 e 18, o que não nos permite sustentar a hipótese sugerida por esses autores de que somente o tipo plexiforme é original do ameloblastoma, demonstrando os outros tipos características de epitélio escamoso oral.

Ong'uti *et al.*⁽¹¹⁾ associaram a imunomarcação para a CK 14 e 19 em sua amostra de ameloblastomas à manutenção do fenótipo basal dessa neoplasia e talvez ao seu potencial de proliferação.

Várias pesquisas desenvolvidas com os TOAs são controversas em afirmar se eles seriam verdadeiros tumores ou possivelmente lesões hamartomatosas⁽²⁾. A natureza hamartomatosa e a histogênese a partir do epitélio reduzido do órgão do esmalte foram sugeridas por Crivelini *et al.*⁽³⁾ em virtude da presença da CK 14 nas estruturas dos TOAs estudados. Segundo esses autores, a atividade secretória de matriz de esmalte seria caracterizada por ausência da CK 14 e substituição pela CK 19, como visto nos germes dentais.

Essa hipótese não pôde ser confirmada no presente estudo, já que, além da CK 14, verificamos também a presença da CK 19 em seis casos dos TOAs estudados, tanto nas células ductais como nas fusiformes. Os resultados aqui encontrados para esses tumores justificam a classificação da OMS para essa entidade como constituída por epitélio e ectomesênquima odontogênico com formação ou não de material calcificado, já que a presença da CK 19 seria indicativa da atividade secretória dos ameloblastos para a formação de matriz de esmalte. Tal afirmativa encontra-se presente nos relatos de Leon *et al.*⁽⁸⁾, que não encontraram positividade para a CK 19 nas células fusiformes dos TOAs por eles analisados, contrariamente aos nossos relatos, os quais concordam com a origem desses tumores a partir do epitélio reduzido do órgão do esmalte, justificando sua freqüente associação com a coroa de um dente incluso.

Segundo Tatimoto *et al.*⁽¹³⁾, uma outra hipótese que justificaria a presença da CK 19 nos TOAs seria a de que as células imunopositivas para essa proteína poderiam corresponder a ameloblastos jovens ou imaturos que não tiveram uma completa diferenciação, enquanto que as células fusiformes se originariam a partir do estrato intermediário.

As CKs 7, 8 e 13 estiveram imunomarcadas em alguns casos de TOAs estudados por Leon *et al.*⁽⁸⁾ em células cuboidais da periferia das estruturas *duct-like* (CK 13) e células de camadas suprabasais (CKs 7 e 8), o que não pôde ser verificado na presente pesquisa. Esses autores reportaram que tal achado lhes permitiu sugerir que o TOA exibe variados graus de diferenciação.

Os resultados evidenciados no presente estudo permitem sugerir que a ausência das CKs 8 e 18 nas entidades aqui analisadas reforça a tese de que os ameloblastomas e os TOAs surgem a partir de estruturas encontradas em fases mais tardias da odontogênese em virtude de essas CKs serem evidenciadas somente em estágios iniciais da odontogênese.

Ressalta-se, também, que as citoqueratinas são expressas de forma variada nos ameloblastomas e TOAs, os quais preservam CKs típicas do germe dental em estágios avançados do desenvolvimento, confirmando sua diferenciação exclusiva no sentido do epitélio odontogênico, uma vez que não se evidenciaram CKs características de epitélio escamoso.

Referências

1. CHU, P.G.; WEISS, L.M. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathol*, v. 40, p. 403-39, 2002.
2. Crivelini, M.M et al. Cyotkeratins in epithelia of odontogenic neoplasms. *Oral Dis*, v.9, p.1-6, 2003.
3. CRIVELINI, M.M.; SOUBHIA, A.M.P.; FELIPINI, R.C. Estudo da origem e natureza do tumor odontogênico adenomatóide pela imuno-histoquímica. *Pesqui Odontol Bras*, v. 18, p. 149, 2004.
4. DOMINGUES, M.G. et al. Expression of cytokeratins in human enamel organ. *Eur J Oral Sci*, v. 108, p. 43-7, 2000.
5. FUKUMASHI, K.; ENOKIYA, Y.; INOUE, T. Cytokeratins expression of constituting cells in ameloblastoma. *Bull Tokyo Dent Coll*, v. 43, p. 13-21, 2002.
6. KRAMER, I.R; PINDBORG, J.J.; SHEAR, M. The WHO Histological Typing of Odontogenic Tumours. A commentary on the Second Edition. *Cancer*, v. 15, p. 2988-94, 1992.
7. KUMAMOTO, H.; YOSHIDA, M.; OYOA, K. Immunhistochemical detection of amelogenin and cytokeratin 19 in epithelial odontogenic tumors. *Oral Dis*, v. 7, p. 171-6, 2001.
8. LEON, J.E. et al. Clinicopathological and immunohistochemical study of 39 cases of adenomatoid odontogenic tumour: a multicentric study. *Oral Oncol*, v. 41, p. 835-42, 2005.
9. PELLISSIER, A. et al. Evolution of cytokeratin expression in developing human tooth germ. *J Biol Buccale*, v. 18, p. 99-108, 1990.
10. MELROSE, R.J. Bening epithelial odontogenic tumors. *Semin Diagn Pathol*, v. 16, p. 271-87, 1999.
11. ONG'UTI, M.N; HOWELLS, G.L.; Willians, D.M. An immunohistochemical study of keratins expression in ameloblastoma from a Kenya population. *Oral Dis*, v. 5, p. 111-6, 1999.
12. SCHLOSNAGLE, D.C.; SOMEREN, A. The ultrastructure of the adenomatoid odontogenic tumor. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod*, v. 52, p. 154-61, 1981.
13. TATEMOTO, Y. et al. Adenomatoid odontogenic tumor: co-expression of keratin and vimentin. *Virchows Arch Pathol Anat*, v. 413, p. 341-7, 1988.

Endereço para correspondência

Roseana de Almeida Freitas
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Departamento de Odontologia
Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral
Av. Senador Salgado Filho, 1.787 – Lagoa Nova
CEP 59020-390 – Natal-RN
e-mail: roseana@dod.ufrn.br