



**UFBA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ – FIOCRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



**FIOCRUZ**

**Curso de Pós-graduação em Patologia Humana**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DE  
COMPONENTES CELULARES E DA MATRIZ CONJUNTIVA EXTRACELULAR  
DE MUCOCELES DA BOCA**

**JAMILE GOMES CONCEIÇÃO**

**Salvador – Bahia – Brasil**

**2012**



**UFBA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



**FIOCRUZ**

**Curso de Pós-graduação em Patologia Humana**

**CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DE  
COMPONENTES CELULARES E DA MATRIZ CONJUNTIVA EXTRACELULAR  
DE MUCOCELES DA BOCA**

**JAMILE GOMES CONCEIÇÃO**

Orientador: Dr. Jean Nunes dos Santos

Dissertação apresentada ao Colegiado do  
Curso de Pós-graduação em Patologia  
Humana, como pré-requisito obrigatório  
para obtenção do grau Mestre.

Salvador – Bahia – Brasil

2012

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do  
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

Conceição, Jamile Gomes

C744c Caracterização clínico-patológica e imuno-histoquímica de  
componentes celulares e da matriz conjuntiva extracelular de mucoceles da  
boca [manuscrito] / Jamile Gomes Conceição. - 2012.

95 f. : il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).

**Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Centro de  
Pesquisas Gonçalo Moniz, 2012.**

Orientador: Prof. Dr. Jean Nunes dos Santos, Faculdade de Odontologia.

1. Mucocele. 2. Tecido de granulação. 3. Remodelamento tecidual. I.  
Título.

CDU 616.316

A Deus pelo amor incondicional.  
Todo o crescimento, profissional e pessoal, adquirido nessa etapa foi presente Dele.

A minha mãe pelo o amor, carinho e dedicação.  
Por acreditar no meu potencial e me incentivar a lutar pelos meus objetivos.  
Sempre ao meu lado, em uma firme parceria.  
Meu alicerce e meu porto seguro.

A meu pai, que me faz encarar as dificuldades.  
É ele que me autoriza a enfrentar o mundo, como ele é.  
Meu refúgio nos momentos mais tensos.

A meu irmão querido, sempre presente em todos os momentos da minha vida.  
Meu companheiro, amigo e confidente.  
Te amo “mano velho”.

A meu padrinho João Magalhães (*in memorian*). Pela fé e pelos bons conselhos.  
Em muitos cafés da manhã ele acalmou meu coração.

A toda a minha família, pela união, apoio e compreensão.

## **AGRADECIMENTOS**

A todos os integrantes de minha família.

Que sempre me apoiam e torcem pelo meu sucesso. Obrigada também pela compreensão da minha ausência nas frequentes reuniões familiares. Aos primos, Alessandra e William pela força, principalmente nos momentos de angústia que precederam a seleção do mestrado. A prima Flávia pelas vibrações positivas e pelas impressões também rss! Tia Nica, pelos mimos, carinho e atenção. E as minhas avós, Flora e Celina, pelas orações, conselhos e incentivo.

A minha turma.

Que foi excelente, fazendo do ambiente de sala de aula um local descontraído e divertido. Amei fazer parte dessa turma tão especial. As mais recentes amigas, Di, Carol, Lena, Dani e ao trio, Barbarete, Renatinha, e eu rsss. Obrigada pelos momentos de amizade e estudo. Em especial a Carol, nossa, como eu te ocupei heim rs... muito obrigada por ser essa pessoa tão disponível e prestativa.

As meninas de iniciação científica.

Ludmila, Manuela, Laís e Fernanda, pelo suporte na imuno-histoquímica e pelos momentos de descontração.

A Dra Ana Paula e Dra Deise.

Agradeço pela oportunidade de conviver com pesquisadoras legais como vocês. Foi muito bom contar com o apoio de outros profissionais, além do orientador. A Dra Deise também por permitir que eu assistisse suas aulas de histologia em outro curso.

Aos funcionários da UFBA.

A Lourdes, Mírian e Sueli, pelo profissionalismo e auxílio nas recorrentes necessidades. A Lourdes pela amizade e bom humor.

Aos funcionários da Fiocruz-BA.

A Cris pela amizade. Obrigada pelo suporte nos momentos difíceis, e pelas alegrias nos momentos de descontração. A Ana pelo carinho, atenção e auxílio nos experimentos de imuno-histoquímica.

A Dr. Eduardo,

Por conceder a utilização do laboratório, pelo qual é responsável, para a realização dos experimentos deste trabalho. Sua gentileza, paciência e acessibilidade o torna um pesquisador admirável.

A Dra. Clarissa,

Uma pesquisadora dedicada e comprometida. Toda motivação e empenho pela ciência juntamente com a solidariedade aos colegas a torna uma profissional singular. Sua contribuição neste trabalho foi de grande valor, do início ao fim. Muito obrigada Clara.

A meu orientador, Dr Jean.

Agradeço imensamente pela receptividade. É um privilégio ter como orientador um profissional, dedicado, exigente, perfeccionista, e muito atencioso. Admiro sua motivação e entusiasmo pela pesquisa e disposição para encarar os desafios da ciência, inclusive o desafio de orientar-me, pois apareci sem precedentes, e como a única bióloga que faria parte de um grande grupo de dentistas. É incalculável o crescimento profissional e pessoal adquirido sob sua orientação.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\beta$	“beta”. Segunda letra do alfabeto grego
$\gamma$	“gama”. Terceira letra do alfabeto grego
$\mu\text{m}$	Unidade de medida de tamanho micrômetros
$^{\circ}\text{C}$	Unidade de medida de temperatura graus Celsius
%	Unidade de valor percentual
KDa	Unidade de medida de massa kilodaltons
Cm	Unidade de medida de tamanho centímetros
$\text{mm}^2$	Unidade de medida de tamanho milímetro quadrado
vaso/ $\text{mm}^2$	Vaso por milímetro quadrado
CD34	Glicoproteína CD34
CD68	Glicoproteína CD68
c-Kit	Refere-se ao receptor de mastócitos c-Kit
DP	Desvio Padrão
EPCs	Refere-se a Células Progenitoras Endoteliais
Et al	Colaboradores
F	Feminino
Fc $\epsilon$ Ri	Refere-se ao receptor de mastócitos Fc $\epsilon$ Ri
FGF	Refere-se ao Fator de Crescimento Fibroblástico
FGF-2	Refere-se ao Fator de Crescimento Fibroblástico 2
FOUFBA	Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia
H1	Refere-se ao receptor de histamina H1
H2	Refere-se ao receptor de histamina H2
Hot spots	Refere-se à área com maior marcação
H&E	Refere-se à coloração Hematoxilina-Eosina
IFN	Refere-se à Interferon
IgE	Refere-se à Imunoglobulina E
IL-1	Refere-se à Interleucina 1
IL-6	Refere-se à Interleucina 6
INF	Refere-se ao Fator de Necrose Tumoral
M	Masculino
M1	Refere-se a macrófagos ativados classicamente
M2	Refere-se a macrófagos ativados alternativamente

MC	Refere-se a mastócitos da mucosa
MDV	Refere-se a microdensidade vascular
MEC	Refere-se à matriz extracelular
MMPs	Refere-se a proteínas de matriz metaloproteinase
MMP-1	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 1
MMP-2	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 2
MMP-3	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 3
MMP-7	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 7
MMP-8	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 8
MMP-9	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 9
MMP-10	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 10
MMP-11	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 11
MMP-13	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 13
MMP-26	Refere-se à proteína de matriz metaloproteinase 26
MTC	Mastócitos do tecido conjuntivo
Nº	Número
NO	Refere-se a Oxido Nítrico
PBS	Refere-se a Solução Salina Tamponada
PDGF	Refere-se ao Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas
SCF	Do inglês, <i>stem cell factor</i>
SPARC	Refere-se a Proteínas Ácidas Ricas em Cisteína
TGF	Refere-se ao Fator de Crescimento Tumoral
Th2	Do inglês <i>T helper</i>
TIMPs	Refere-se aos Inibidores Teciduais das Metaloproteinases
TIMP-1	Refere-se aos Inibidores Teciduais das Metaloproteinases 1
TIMP-2	Refere-se aos Inibidores Teciduais das Metaloproteinases 2
UFBA	Universidade Federal da Bahia
VEGF	Refere-se ao Fator de crescimento Endotelial Vascular
VEGF-R1	Refere-se ao Receptor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular 1
VEGF-R2	Refere-se ao Receptor do Fator de Crescimento Endotelial Vascular 2



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição da faixa etária e sexo correspondente aos 100 casos de mucocele diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA, no período de 2002 a 2010. Salvador BA, 2012.....	37
Figura 2	Distribuição do tamanho correspondente aos 100 casos de mucocele diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA, no período de 2002 a 2010. Salvador BA, 2012.....	38
Figura 3	Distribuição da localização correspondente aos 100 casos de mucocele diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA, no período de 2002 a 2010. Salvador BA, 2012.....	38
Figura 4	Ilustração dos aspectos clínicos e macroscópicos de mucocele oral.....	39
Figura 5	Ilustração dos aspectos morfológicos de mucoceles oral em HE.....	33
Figura 6	Ilustração histológica de lesão de mucocele oral com múltiplas cavidades em HE.....	44
Figura 7	Ilustração histológica da parede de tecido de granulação de mucocele oral com múltiplas cavidades em HE.....	45
Figura 8	Ilustração da distribuição dos vasos sanguíneos em lesão de mucocele oral.....	48
Figura 9	Ilustração da distribuição de células mastocitárias por imunohistoquímica.....	50
Figura 10	..... Ilustração da distribuição de macrófagos por imunohistoquímica.....	51
Figura 11	Ilustração da distribuição de metaloproteinase-1 por imunohistoquímica.....	53
Figura 12	Ilustração da distribuição de metaloproteinase-9 por imunohistoquímica.....	54
Figura 13	Distribuição da fibrose correspondente aos 100 casos de mucocele diagnosticadas no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA, no período de 2002 a 2010. Salvador BA, 2012.....	55
Figura 14	Ilustração dos diferentes níveis de fibrose m lesões de mucocele oral por histoquímica para picrosirius.....	56
Figura 15	Box-plot da quantidade de células CD34, CD68 positivas e mastócitos em relação a MMP-1. Salvador-BA.....	58
Figura 16	Box-plot da quantidade de células CD34, CD68 positivas e mastócitos em relação a MMP-9. Salvador-BA.....	59
Figura 17	Box-plot da quantidade de células CD34, CD68 positivas e mastócitos em relação ao picrosirius. Salvador-BA.....	59

## RESUMO

### CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA DE COMPONENTES CELULARES E DA MATRIZ EXTRACELULAR DE MUCOCELES DA BOCA.

Mucoceles são lesões comuns da cavidade oral, causadas por alterações nos ductos excretórios de glândulas salivares menores. A fim de contribuir para um melhor conhecimento do perfil biológico destas lesões, este trabalho teve como objetivo estudar os aspectos clínico-patológicos em uma amostra de mucoceles da boca, bem como componentes celulares como vasos sanguíneos (anti-CD34), mastócitos (triptase de célula mastocitária), macrófagos (anti-CD68) e da matriz extracelular (metaloproteinase de matriz -1 e -9), por meio da técnica imuno-histoquímica. Foram estudados 100 casos de mucocele de extravasamento, o seu conteúdo de fibrose (picrossírius) e 32 casos investigados para as proteínas propostas, adotando-se critérios morfométricos e semiquantitativos. As lesões de mucocele atingiram mais o lábio inferior e a segunda e terceira décadas de vida, com média de 23.2 anos de idade ( $DP \pm 12,24$ ), sendo os homens mais acometidos pela lesão (56%). O tamanho médio foi de 1,1 cm ( $DP \pm 0,57$ ). Os vasos sanguíneos CD34 positivos estavam presentes em todos os espécimes (média de 55 microvasos por  $mm^2$ ;  $DP \pm 0,36$ ), mas a medida que se aproximavam do lúmen cístico pareciam desaparecer. Os mastócitos estavam presentes em todos os casos (média= 7.4;  $DP \pm 0,12$ ), mais concentrados na região cápsula em torno do tecido de granulação, reduzindo-se neste último. Os macrófagos estavam presentes no tecido de granulação (média= 88;  $DP \pm 0,52$ ), também em todos os casos, mas especialmente concentrados na superfície luminal e dentro da cavidade cística, sugerindo um importante papel na fagocitose de muco. MMPs apresentaram marcação variável presentes em fibroblastos, células inflamatórias e matriz extracelular, sendo MMP-1 ausente em um caso e a MMP-9 em dois. A fibrose também mostrou-se variável entre os casos. Apesar de existir associação estatística entre macrófagos e MMP1 ( $p < 0.05$ , Kruskal Wallis), diferença significativa entre os diferentes marcadores não foi encontrada ( $p > 0.05$ , Kruskal Wallis). Este estudo contribuiu para o conhecimento dos mucoceles da boca em uma amostra representativa da população da Bahia, destacando que a dinâmica de desenvolvimento de formação dessas lesões envolve migração e interação chave entre componentes celulares e da matriz extracelular importantes para o remodelamento tecidual dos mucoceles.

Palavras Chave: mucocele, tecido de granulação e remodelamento tecidual.

## ABSTRACT

CLINICAL AND HISTOPATHOLOGICAL STUDY OF ORAL MUCOCELES AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF CELLULAR AND EXTRACELLULAR MATRIX COMPONENTS. Mucocèles are common lesions of the oral cavity, caused by damage to the excretory ducts of salivary glands. The present study investigated a sample of oral mucocèles in our population, to describe their clinical and histopathological features, and to assess cell components such as blood vessels, mast cells, macrophages, and matrix metalloproteinases (MMPs – 1 and -9), using immunohistochemistry, for a better understanding of biological profile of this lesion. Histochemistry using Picrossirius red staining was also included. The sample consisted of 100 oral mucocèles, 32 of which were included for investigating both cell components and MMPs, adopting morphometrical and semi-quantitative criteria. The lesions were located most often on the lower lip and second and third decades of life, with a mean of 23.2 years ( $SD\pm 12,24$ ). Males had a higher frequency (56%) and mean size of the lesions was 1.1cm ( $(DP\pm 0,57)$ ). CD34-positive blood vessels were present in all specimens (mean, 55 microvessels per  $mm^2$ ), but as they approached the cystic lumen seemed to disappear. Mast cells were present in all cases (mean= 7.4;  $SD\pm 0,12$ ) and concentrated in the capsule surrounding the granulation tissue, although they were reduced in the latter. The macrophages were present in the granulation tissue (mean=88;  $SD\pm 0.52$ ), also in all cases, but they were especially concentrated on the luminal surface and within the cystic cavity, indicating a pivotal role in phagocytosis of mucus. MMPs showed variable immunostaining and were found in fibroblast and inflammatory cells, however, they were absent in one case of MMP1 and two cases of MMP9. Fibrosis was also variable in all of specimens. Although there was a statistical association between macrophages and MMP1 ( $P<0.05$ , Kruskal Wallis), significant difference between the different markers was not found ( $P<0.05$ , Kruskal Wallis). This study provides an important insight to the knowledge of oral mucocèles from a sample from Salvador, Bahia, Brazil. Furthermore, it highlights that the development dynamic of these lesions involves migration and interaction of key cellular and extracellular matrix components which are essential to the tissue remodeling of oral mucocèles. Keywords: mucocèle, granulation tissue, tissue remodeling

## 1 INTRODUÇÃO

Mucoceles orais são lesões císticas benignas que acometem a população em geral, frequentemente diagnosticadas por patologistas orais em suas práticas diárias (SWELAN et al., 2005). Apresentam-se como bolhas ou nódulos, em qualquer local da cavidade oral, desde que contenha glândulas salivares menores. Quando as mucoceles aparecem no assoalho da língua são denominados “Rânulas” (HAROLD; BAURMASH et al., 2003).

Sua etiologia esta associada a traumas locais ou hábitos parafuncionais como mordida em lábio com conseqüente rompimento de ductos excretórios de glândulas salivares menores, desencadeando no derramamento de muco dentro do tecido conjuntivo, e iniciação de uma resposta inflamatória reativa composta por tecido de granulação e infiltrado leucocitário (LI et al., 1997; NICO et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2006; HAYASHIDA et al., 2010).

Microscopicamente são visualizadas como uma, ou mais, cavidades inseridas no tecido conjuntivo, adjacente a glândulas salivares menores, e tipicamente circunscrita por uma parede de tecido de granulação composto por graus variados de fibrose, vasos sanguíneos e infiltrado de células inflamatórias tais como leucócitos polimorfonucleares, mastócitos, macrófagos, linfócitos e fibroblastos (GEORGE et al., 2000; BAURMASH, 2003; FREDERIC et al., 2008). O lúmen da cavidade é preenchido por material proteináceo, e frequentemente são identificados macrófagos e mucinófagos em meio a um material mucoso (GEORGE et al., 2000; IDE et al., 2002; GUIMARAES et al., 2006).

As lesões de mucoceles orais podem ser de dois tipos. Os “Cistos de Retenção de muco”, pouco frequente, são caracterizados pela presença de um revestimento epitelial ductal envolvendo o material mucoso, ou como “Mucoceles de Extravasamento” que consiste no tipo de mucocele mais frequente, caracterizada por não possuírem tal revestimento epitelial, sendo o muco envolvido apenas por uma parede de tecido de granulação como descrito anteriormente (SHAH et al., 2003; YOSHINORI et al., 2003; HAROLD; BAURMASH, 2003).

Em situações patológicas, para que ocorra o remodelamento tecidual, se faz necessário o surgimento de novos vasos sanguíneos que fornecem oxigênio e nutrientes para células

metabolicamente ativas, além de contribuírem na continuação do recrutamento de células e mediadores inflamatórios para o ambiente lesado (TONNESEN et al., 2000; OLSSON et al., 2011). Este processo é conhecido como angiogênese e comumente estudado através de técnicas imuno-histoquímicas utilizando marcadores para células endoteliais tais como o CD34, a fim de caracterizar a microdensidade vascular, inclusive em lesões de mucocelos orais (SWELAN et al., 2005; VASCONCELOS et al., 2011).

Os mastócitos são células localizadas próximo a vasos sanguíneos e infiltrado de células inflamatórias, conhecidos por participarem da resposta a injúria celular (ENOKSSON et al., 2011). Não há relatos na literatura do envolvimento de mastócitos em mucocelos orais, no entanto, sabe-se que em ambientes inflamatórios, produzem fatores que induz alterações vasculares, incluindo vasodilatação e aumento na permeabilidade microvascular, assim como promovem o recrutamento de células inflamatórias para o local da injúria (METCALFE et al., 1997; ENOKSSON et al., 2011; ). Além disso, secretam proteases, e têm sido associados com fibrose e respostas imunológicas crônicas (METZ et al., 2007; TEFFERI et al., 2007).

Os macrófagos, por sua vez, são as principais células da inflamação crônica destacando-se pelo seu papel na fagocitose e liberação de mediadores pró-inflamatórios tais como as metaloproteinases de matriz (ROBBINS et al., 2010). Ao serem recrutados podem interferir nos diferentes estágios da inflamação, modulando a função de variados tipos celulares envolvidos neste processo (FILHO, 2010). Em mucocelos orais, representam um elemento celular fundamental para fagocitose de muco (NICO et al., 2008; FREDERIC et al., 2008; CHI et al., 2010).

As metaloproteinases de matriz são importantes proteases que participam dos processos de remodelamento tecidual e angiogênicos. Estas proteases são classificadas de acordo com a sua estrutura e especificidade pelo substrato, e coletivamente possuem a capacidade de degradar todos os componentes da matriz extracelular (KRECICKI et al., 2003). A metaloproteinase de matriz -1 (MMP-1), ou colagenase, degrada colágenos fibrilares, enquanto a metaloproteinase de matriz -9 degrada colágeno não fibrilar, e juntamente com outras metaloproteinases de matriz fornecem condições para a migração e proliferação dos novos vasos sanguíneos contribuindo para o desenvolvimento dos processos angiogênicos (STEVENSON et al., 1999; PARKS et al., 2004; JOBIM et al., 2008). Assim, o remodelamento tecidual e desenvolvimento dos mucocelos orais pode estar relacionado ao

efeito sinérgico das metaloproteinases de matriz nestas lesões (HOQUE et al., 1998; PESCE et al., 2003; SWELLAN et al. 2005).

Vasos sanguíneos CD34 positivos, macrófagos (SWELLAN et al. 2005) componentes da matriz extracelular como a MMP-1 e MMP-9 (HOQUE et al., 1998; PESCE et al., 2003) pouco tem sido caracterizados em mucocelos orais. Em adição ao nosso conhecimento não há referência da distribuição de células mastocitárias nem tão pouco o estudo simultâneo de todos esses marcadores nessas lesões. Portanto o objetivo desse estudo foi avaliar o perfil clínico-patológico de lesões de mucocelos de extravasamento oral, bem como a distribuição desses marcadores imuno-histoquímicos a fim de fornecer subsídios para o conhecimento do perfil biológico e desenvolvimento dessas lesões.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Mucocele

#### 2.1.1 Aspectos Gerais

Mucoceles representam uma das lesões mais comuns que afetam a mucosa oral da população em geral (OLIVEIRA et al.,1993; ATA-ALI et al.,2010). Eles podem ser encontrados em outras partes do corpo, porém não com tanta freqüência como na boca (OLIVEIRA et al.,1993). Na cavidade oral, originam-se a partir de alterações patológicas em ductos de glândulas salivares menores (SHAH, 2003). Estas glândulas são encontradas em muitas partes da cavidade oral, exceto na gengiva, e são as principais responsáveis pela produção de muco, juntamente com as glândulas sublinguais (NICO et al., 2008).

Dois tipos de mucoceles são conhecidos: mucocele de retenção e mucocele de extravasamento (JINBU et al., 2003; SHAH, 2003). A mucocele de extravasamento consiste de muco extravasado no tecido conjuntivo, enquanto a mucocele de retenção ocorre como resultado do estreitamento da abertura do ducto, que dificulta a saída adequada da saliva produzida, com subsequente dilatação do ducto e tumefação (HAROLD; BAURMASH, 2003). O termo “rânula” designa mucocele localizada no assoalho da boca (NICO et al., 2008).

Mucoceles são provavelmente induzidos por trauma local, embora a maioria dos pacientes não se recordem de episódios de trauma quando questionados (NICO et al., 2008). Como o lábio inferior é mais susceptível a lesão, e o local onde a doença é encontrada com maior frequência, essa localização suporta a proposta da etiologia traumática (SHAH, 2003; NICO et al., 2008). Em mucocele de extravasamento, o resultado de trauma mecânico em ductos excretórios de glândulas salivares causa a ruptura do ducto, com conseqüente extravasamento de mucina no estroma do tecido conjuntivo adjacente (HAYASHIDA et al., 2010). O material extravasado resultante da secreção glandular é primeiro envolvido por células inflamatórias, seguido por tecido de granulação reacionário, o qual isola o muco, porém sem o envolvimento de revestimento epitelial (LI et al., 1997; GUIMARÃES et al., 2006). No entanto, apesar de não existir esse revestimento epitelial em torno do muco, ele torna-se bem encapsulado pelo tecido de granulação e por esse motivo é categorizado como um falso cisto ou pseudocisto (GUIMARÃES et al., 2006; ATA-ALI et al.,2010).

### 2.1.2 Características Clinicopatológicas

Mucoceles orais, tipicamente, apresentam-se como uma tumefação da mucosa em forma de cúpula, flutuante e móvel a palpação, devido ao seu conteúdo mucinoso, podendo apresentar variação no tamanho, de milímetros a centímetros (NEVILLE et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2006). São como vesículas de superfícies lisas e indolor, que dependendo da profundidade, vão da cor azul até a cor da mucosa oral normal (CECCONI et al., 2010). Frequentemente ocorrem na mucosa labial inferior, podendo ser confundidos com outras doenças, incluindo herpes, e quando muito superficiais podem romper espontaneamente deixando a área dolorosa (INOUE et al., 2005). Podem ser simples ou múltiplas, com duração de dias a anos, no entanto, apesar dos pacientes considerarem a doença um inconveniente, raramente causam problemas significantes (BERMEJO et al., 1999; CECCONI et al., 2010).

Histologicamente, consiste de um espaço cístico, central, contendo muco extravasado e uma parede de tecido de granulação envolvido por um tecido conjuntivo denso com quantidades variáveis de inflamação (ANASTASSOV et al., 2000; HAROLD; BAURMASH 2003; NICO et al., 2008). O tecido conjuntivo denso pode ser confundido com epitélio de revestimento cístico (HAROLD; BAURMASH, 2003). Não é incomum encontrar tecido glandular salivar bem diferenciado em áreas vizinhas (HAROLD; BAURMASH, 2003). Além disso, muitas células tais como neutrófilos, linfócitos, macrófagos entre outras, são frequentemente identificadas (FREDERIC et al., 2008). A presença de edema, congestão vascular, e infiltração de células inflamatórias também são observadas no tecido conjuntivo periférico.

Mucoceles podem apresentar variações no componente histopatológico; tais como: (1) mucoceles com alterações tipo metaplasia sinovial, que exibem uma superfície membranosa eosinofílica com uma zona linear subjacente a vários tipos celulares (CHI et al., 2010); (2) mucoceles com mixoglobuloses, variantes incomuns observadas microscopicamente, caracterizadas como estruturas globulares intraluminais, sem um envoltório epitelial e contendo um núcleo eosinofílico e amorfo (HORIE et al., 1993; SHAH, 2003); (3) e mucoceles superficiais, que são as vesículas mais superficiais, pequenas e translúcidas, que logo estouram e que podem ser confundidas com líquen plano bolhoso, herpes simples ou penfigóide benigno de mucosas (BERMEJO et al., 1999; INOUE et al., 2005).



O diagnóstico de mucocele é principalmente clínico, no entanto, a anamnese deve ser realizada coerentemente, visando coletar informações sobre traumas prévios (ATA-ALI et al., 2010). O tratamento convencional comum é a excisão cirúrgica da lesão, envolvendo o tecido glandular adjacente (ATA-ALI et al., 2010). Contudo, existem variações em técnicas que dependem, principalmente, do tamanho e localização da lesão (NICO et al., 2008). Algumas opções, especialmente para lesões maiores incluem marsupialização, criocirurgia, ablação por laser e micromarsupialização (GUIMARÃES et al., 2006). Para os mucoceles superficiais e que se resolvem espontaneamente, não há necessidade de tratamento (ATA-ALI et al., 2010).

Um resumo de séries de casos publicados na literatura inglesa estão descritos na tabela 1

Tabela 1. Dados de séries de casos de mucoceles da boca publicados na literatura inglesa

Autor	Nº de casos	Predileção pelo sexo	Proporção M:F	Média de idade	Maior tamanho	% em lábio inferior	Tratamento
COHEN L, 1965	80	Masculino	1,5:1	-	-	65%	Excisão cirúrgica
CATOLDO et al., 1970	594	Não há predileção	-	-	-	58.6%	Excisão cirúrgica
SEIFERTG et al., 1981	273	Masculino	-	-	-	66%	Excisão cirúrgica
OLIVEIRA et al., 1993	112	Não há predileção	-	-	2.0 cm	60%	Excisão cirúrgica
SHAH et al., 2003	76	-	-	-	-	89%	Excisão cirúrgica
NICO et al., 2008	36	Feminino	3.6:1	-	-	83.3%	Excisão cirúrgica
CHEN et al., 2009	955	Masculino	1.4:1	27.3 anos	-	64.5%	Excisão cirúrgica
GARCIA et al., 2009	68	Não houve predileção	-	26 anos	3.0 cm	73.5%	Excisão cirúrgica
GRANHOLM et al., 2009	298	Masculino	-	-	-	71%	Excisão cirúrgica
MORAIS et al., 2009	312	-	-	15.3 anos	-	73.7%	Excisão cirúrgica
CECCONE et al., 2010	158	Não houve predileção	-	31.9 anos	-	53%	Excisão cirúrgica
CHI et al., 2010	1.824	Não houve predileção	-	24.9 anos	4.0 cm	81.9%	Excisão cirúrgica
HAYASHIDA et al., 2010	173	Feminino	1.5:1	17 anos	-	78%	Excisão cirúrgica
JANI et al., 2010	36	Masculino	1.77:1	23.55 anos	2.0 cm	94.44%	Excisão cirúrgica
MINGUEZ-MARTINEZ et al., 2010	89	Não há predileção	-	6.1 anos	2.0cm	79.8%	Excisão cirúrgica
SYEBELE et al., 2010	50	Feminino	2.6:1	-	-	-	Excisão cirúrgica
OHTA et al., 2011	20	Masculino	1.5:1	30.8 anos	1.2 cm	-	Injeção com OK-432
WU et al., 2011	64	Não há predileção	-	-	-	89%	Excisão cirúrgica

M: Masculino

F: Feminino

- : Não há informação no artigo

## 2.2 Angiogênese

Angiogênese é definida como o crescimento de novos vasos sanguíneos a partir de vasos pré-existentes. Em adultos é considerada uma das mais importantes reações estromais (SWELAM et al., 2005), fundamental para uma série de eventos fisiológicos e patológicos, tais como, ciclo reprodutivo feminino, inflamação, reparo tecidual, crescimento, invasão e metástase de tumor (VEIKKOLA et al., 1999; VASCONCELOS et al., 2011 ). Os novos vasos sanguíneos dilatam-se e proliferam-se para fornecer nutrientes para células imunológicas, metabolicamente ativas, bem como facilitam sua locomoção em direção aos tecidos cronicamente inflamados (McDONALD et al., 2001; KUMAR et al., 2009).

A angiogênese representa um processo complexo em que vários fatores tem papéis importantes. Um dos estágios iniciais é o brotamento vascular, que depende de condições ambientais tais como: hipóxia, fatores angiogênicos, secreção de proteases, e migração de células endoteliais em uma taxa adequada para garantir o crescimento para fora do vaso, em direção a matriz extracelular (DEMIR et al., 2010). Além disso, tal processo requer digestão da membrana basal e proteínas da matriz extracelular, por metaloproteinases de matriz (MMPs), para facilitar a migração de células endoteliais (BAUER et al., 2005). Os novos vasos sanguíneos suportam o recrutamento de nutrientes e células inflamatórias para o tecido em reparo, e facilitam a remoção de debris celulares (KUMAR et al., 2009).

A angiogênese ocorre por meio de uma coordenada sinalização, que contribui para a proliferação, migração, e recrutamento de células endoteliais e de células progenitoras endoteliais (EPCs) (BREEN et al., 2007). O Fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é um importante mediador da sinalização durante angiogênese (KUMAR et al., 2009; ZHANG et al., 2011). Tal citocina é expressa por fibroblastos, macrófagos e células endoteliais (KUMAR et al., 2009). Seu efeito é mediado por dois receptores tirosino quimase, VEGF-R1 e VEGF-R2, que são expressos em células endoteliais (KUMAR et al., 2009).

A angiogênese deve ser distinguida de outros termos que, embora relacionados com a formação e crescimento de vasos sanguíneos, possuem diferentes significados, tais como vasculogênese, arteriogênese e crescimento colateral de vasos (PAERNOSTRO et al., 2010). A angiogênese patológica é muitas vezes associada com rede de capilares caracterizadas por vasos tortuosos, mal formados, altamente permeáveis e instáveis. É provável que estes efeitos sejam importantes para uma resposta inflamatória temporária, ou reparadora, como uma

forma de montar uma resposta, imune inata (BREEN et al., 2007).

Angiogênese pode ser mensurada por microscopia de luz, através da quantificação dos vasos sanguíneos, onde eles estão em maior densidade. Sua presença pode ser evidenciada utilizando anticorpos com afinidade por epítomos específicos para célula endotelial (SWELAM et al., 2005). O CD34, por exemplo, é uma glicoproteína transmembrana de 105-120 KDa, que demonstra ter alta especificidade para células endoteliais de vasos sanguíneos e para precursores de células endoteliais hematopoiéticas (VASCONCELOS et al., 2011), e são utilizados em uma diversidade de trabalhos científicos para a contagem de vasos sanguíneos em ambientes inflamatórios.

## 2.3 Mastócitos

### 2.3.1 Características Gerais

Os mastócitos são as únicas células hematopoiéticas granulocíticas que residem normalmente em todos os tecidos vascularizados e são considerados os principais sensores de sinais de perigo endógeno nos tecidos (BOYCE, 2003; ENOKSSON et al., 2011). São facilmente reconhecidos por microscopia de luz, devido a alta capacidade de seus grânulos metacromáticos reagirem com azul de toluidina. Esses grânulos representam as principais organelas celulares funcionais, cujo conteúdo é secretado para o exterior da célula após a sua ativação (RIBATTI et al., 1999; CRIVELLATO et al., 2010).

Os precursores de mastócitos entram na circulação e antes que eles possam ser identificados morfológicamente, migram para os tecidos periféricos, onde expressam seu fenótipo final sobre a influência de SCF, do inglês *stem cell factor*, e outras citocinas produzidas localmente (METCALFE et al., 1997). Os mastócitos de diferentes tecidos têm características próprias destes tecidos que se definem por diferenças na sua secreção e nos seus receptores, assim, os mastócitos da mucosa intestinal diferem daqueles da pele ou do interstício pulmonar e assim por diante (METCALFE et al., 1997).

São vistas como “células-sentinela” que devem ser pré-posicionadas nos tecidos, de forma que contribua para uma resposta rápida (ENOKSSON et al., 2011). São particularmente encontrados em associação com estruturas de tecido conjuntivo tais como vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos, e em proximidade a superfície que são a interface entre ambientes diferentes, tais como a pele, trato gastrointestinal e respiratório (METCALFE et al., 1997).

Esta localização contribui para a otimização da interação com o meio, possibilitando seu encontro com organismos invasores para orquestrar uma resposta inflamatória em defesa do hospedeiro (CRIVELLATO, 2002; MEKORY et al., 2004).

Em humanos dois grupos análogos de mastócitos são descritos e divididos em subclasses, baseado na diferença do conteúdo de protease em seus grânulos; em mastócitos do tecido conjuntivo (MTC); mastócitos da mucosa (MC) (RAO & BROWN, 2008; DELAVARY et al., 2011; DIACONU et al., 2011). Mastócitos de mucosa são menores, possuem uma menor mobilidade, tem menos grânulos, menos histamina, e menor tempo de vida que os do tecido conjuntivo (MAJNO et al., 2004). Além disso, os mastócitos do tecido conjuntivo possuem triptase e quimase, enquanto os mastócitos da mucosa possuem apenas triptase (RAO & BROWN, 2008).

Estas células possuem capacidade para liberar mediadores quimiotáticos e pró-inflamatórios na interação com microrganismos, parasitas e proteínas virais, dando-lhes um significativo papel na resposta imune imediata, contra elementos ofensores (MEKORY et al., 2004).

### 2.3.2 Mastócitos na angiogênese

Os mastócitos se acumulam adjacentes a locais de angiogênese e no reparo tecidual (KAMPF et al., 2006). Essas células podem produzir muitos tipos de mediadores químicos com propriedades angiogênicas que regulam a proliferação e função de células endoteliais. Após serem ativados através de seus receptores FcεRI e c-Kit, os mastócitos liberam fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e fator de crescimento fibroblástico (FGF), conhecidos por promover angiogênese em fases iniciais da inflamação (RIBATTI et al., 1999; KAVITHA, 2008; IM et al., 2010). Além disso, os mastócitos armazenam grandes quantidades de serino proteases pré-formadas, tais como triptase e quimase, em seus grânulos (METCALFE et al., 1997). Ambas estimulam a proliferação de células endoteliais, promovem a formação de estruturas vasculares e degradam o tecido conjuntivo da matriz para fornecer espaço para o crescimento do novo vaso (RODERO et al., 2010).

Histamina de mastócitos estimula a formação de novos vasos sanguíneos através de seus receptores H1 e H2 (SÖRBO et al., 1994). Mastócitos também podem conter MMPs pré-formadas, tais como MMP-2, -9 e inibidores de metaloproteinases (TIMPs), que contribuem para a modulação da degradação da matriz extracelular. Além disso, estas células,

juntamente com seus mediadores, também podem contribuir para a fibrose estimulando a produção de colágeno através da ativação e proliferação de fibroblastos (JENNIFER et al., 1997).

## 2.4 Macrófago

### 2.4.1 Características Gerais

Os macrófagos são células derivadas de monócitos que se originam de células progenitoras mielóides da medula óssea (STAPLES et al., 2011). Após maturação, os monócitos são liberados na circulação sanguínea e entram nos tecidos, onde diferenciam-se em macrófagos residentes (ROSS et al., 2002). Estes, por sua vez, tornam-se células especializadas, como as células de Kupffer, em sinusóides do fígado, os macrófagos alveolares do pulmão, as células do sistema nervoso, e osteoclastos dos ossos (LIMA, 2006; SHARMA et al., 2010). A heterogeneidade de fenótipos de macrófagos é dependente dos estímulos locais do microambiente em que as células foram diferenciadas (GORDON, 2003; MOUSSER et al., 2008).

Os macrófagos associados à ferida têm um papel central no controle da inflamação. Após lesão, quimiocinas são liberadas no local injuriado, produzidas por plaquetas, células endoteliais, produtos de patógenos degradados e células lesadas (ROBBINS, 2005). Ao serem recrutados, os macrófagos podem interferir nos diferentes estágios da cicatrização, modulando a função de variados tipos celulares envolvidos neste processo (FILHO, 2010).

Nas fases iniciais, após injúria, os macrófagos (M1), também conhecidos como macrófagos ativados classicamente, são mais importantes para os processos de fagocitose (DELAVARY et al., 2006; RODERO et al., 2010). Os macrófagos M1 são ativados por agentes microbicidas e citocinas como Interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e Fator de necrose tumoral (EDWARDS et al., 2006). Além disso, estas células produzem importantes quantidades de óxido nítrico (NO) e secretam uma série de citocinas inflamatórias.

Por outro lado, nas fases em que a formação do novo tecido é mais pronunciada, o macrófago M2 é mais proeminente (DELAVARY et al., 2011). Macrófagos M2 são populações muito mais heterogêneas, compostas por todos os macrófagos que não correspondem as características dos macrófagos M1 (RODERO et al., 2010). Eles podem ser divididos em três subpopulações (RODERO et al., 2010). O macrófago M2a, macrófago

ativado alternativamente, promove inflamação do tipo Th2 resultando no aumento de IgE como observada em alergias e imunidade parasitária; os macrófagos M2b também promovem inflamação tipo Th2 e possuem algumas propriedades de imunoregulação; e os macrófagos desativadores, ou M2c capazes de controlar a inflamação e o remodelamento de tecido (MOUSSER et al., 2008; RODERO et al., 2010).

#### 2.4.2 Macrófagos na Angiogênese

Macrófagos são o centro da iniciação e propagação da inflamação. Eles introduzem mediadores citotóxicos em locais de injúria, secretam múltiplas citocinas que direcionam o recrutamento e maturação de outros tipos celulares, fagocitam bactérias e debris celulares, e induzem a apoptose em células senescentes (SMITH et al., 2006). Durante a angiogênese, o crescimento de novos vasos sanguíneos, processo caracterizado pela migração, proliferação, sobrevivência, atividade proteolítica e formação de estruturas tipo tubo, os macrófagos ativados secretam uma variedade de fatores pró-angiogênicos tais como VEGF e MMPs (NAM et al., 2010).

A transmigração de monócitos para o sub-endotélio está fortemente associada com a presença de MMPs (JOGHETA EI et al., 2010). Os macrófagos recentemente recrutados migram através da parede dos vasos sanguíneos e liberam enzimas que fragmentam proteínas da matriz extracelular, o que cria espaço para monócitos migrarem para o leito da ferida (DELAVARY et al., 2011). Segundo Anghelina et al. (2006), células circulantes derivadas da medula óssea são cada vez mais reconhecidas com potenciais contribuidoras para a vasculogênese em adultos e reparo tecidual. Após trauma e injúria, os níveis TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , são elevados nos tecidos lesados e os macrófagos tornam-se existentes e sensibilizados em contato com estas moléculas (RIFKIN, 2005).

## 2.5 A Matriz Extracelular na Formação do Tecido de Granulação

Os tecidos não são constituídos somente por células. Uma grande parte de seu volume é o espaço extracelular, o qual é preenchido por uma rede complexa de macromoléculas que formam a matriz extracelular (MEC) (ALBERTS et al., 2010). A MEC consiste de proteínas fibrosas (colágeno e elastina), proteoglicanas e glicoproteínas (fibronectina e laminina), organizados como macromoléculas, e contendo subunidades e diferentes regiões que interagem entre si e com domínios extracelulares de receptores de superfície celular (ALBERTS et al., 2010; HARAWAY, 2010). As proteínas matricelulares, tais como tenascina, trombospondina, proteínas ácidas ricas em cisteína (SPARC), também compõem a MEC modulando interações célula-matriz, e ajudam na regulação da resposta inflamatória e de certos fatores de crescimento (HARAWAY, 2010). As integrinas são os principais receptores de superfície celular, de moléculas da matriz extracelular, que contribuem para adesão das células na maioria dos tecidos (KALOGLU et al., 2010).

A matriz extracelular atende muitas funções além de suas funções estruturais e de proteção, incluindo suporte físico, resistência a tração, pontos de ligação para receptores de superfície celular, e como um reservatório para fatores de sinalização que modulam diversos processos, tais como angiogênese, vasculogênese, resposta inflamatória, migração, proliferação e orientação celular (McCawley et al., 2001; Badylak, 2002). Por exemplo, durante a angiogênese, as interações das células com a MEC, influenciam células endoteliais, ativando-as, e contribuindo para o recrutamento das células progenitoras endoteliais (Bauer, 2005).

A MEC pode ser remodelada por muitos processos, incluindo síntese, contração e degradação proteolítica (Larsen et al., 2006). O remodelamento está envolvido no desenvolvimento, fibrose e reparo tecidual (Larsen et al., 2006). Juntamente com a deposição da matriz extracelular, a degradação da matriz ocorre naturalmente durante o remodelamento tecidual, por ação das metaloproteinases de matriz, cruciais na angiogênese, digerindo a membrana basal e proteínas da matriz MEC (Midwood et al., 2004; Bauer, 2005; Rodrigues et al., 2010). Os fragmentos peptídicos resultantes, presentes no ambiente lesado, também atuam regulando o reparo tecidual (Midwood et al., 2004). Durante o remodelamento, a matriz é substituída pelo tecido de granulação, composto por fibroblastos, vasos sanguíneos neoformados e macrófagos, suportados por uma matriz frouxa de fibronectina, ácido hialurônico e colágeno (Figueira et al. 2010).



## 2.6 Metaloproteinases de Matriz

Uma série de proteases tem sido implicadas na degradação proteolítica da MEC, incluindo metaloproteinases de matriz, ativadores de plasminogênio, e serino proteases, sendo as MMPs as mais proeminentes (JIN et al., 2010). As metaloproteinases de matriz são endopeptidases neutras, da família das proteases dependente de zinco, altamente conservadas, e coletivamente capazes de degradar todos os componentes da MEC (KRECICKI et al., 2003; JOBIM et al., 2008). As MMPs diferem entre si estruturalmente e pela sua capacidade em degradar um grupo particular de proteínas da matriz extracelular (KERKELA et al., 2003). São classificadas de acordo com sua função e características estruturais em (1) colagenases (MMP-1, -8, -13), que degradam colágenos fibrilares nativos; (2) gelatinases (MMP-2, -9), que degradam colágenos não fibrilares, elastinas, proteoglicanas, fibronectina, entre outras MEC; (3) estromelinas (MMP- 3, -10, -11), que degradam laminina, elastina, fibronectina e proteoglicanos; (4) matrilisinas (MMP- 7, -26), que degradam componentes da membrana basal, entre outros proteoglicanos (KERKELA et al., 2003; RIBEIRO et al., 2008; MENEZES et al., 2009; MURPHY et al., 2010).

Todas são sintetizadas como pró-enzimas e secretadas de forma inativa na maioria dos casos (NAGASE et al., 1999). São ativadas por proteinases e por agentes não proteolíticos, compostos de mercúrio, espécies reativas de oxigênio e desnaturantes (NAGASE et al., 1999). Suas atividades biológicas podem ser reguladas pós-transcricionalmente e por interação, nos tecidos, com inibidores específicos de metaloproteinases (TIMPs) (LEONARDI et al., 2010). As MMPs são tradicionalmente consideradas como as maiores facilitadoras da migração celular através da quebra das barreiras da MEC (RODRÍGUEZ et al., 2010). Expressão alterada e erros na atividade de MMPs in vivo têm sido associados com o desenvolvimento de diversas patologias, incluindo doenças inflamatórias crônicas (RODRÍGUEZ et al., 2010). Além disso, as MMPs têm papéis importantes nos processos fisiológicos, como embriogênese, remodelamento de tecido normal e cicatrização de feridas (JOBIM et al., 2008).

A proteólise da membrana basal e da matriz extracelular é pré-requisito para a formação de novos vasos (JOBIM et al., 2008). A destruição tecidual que ocorre em doenças são mediadas por membros da família de MMPs (CAWLEY et al., 2001). As MMPs-1 são proteinases de mamíferos que pertencem a família das colagenases (KRECICKI et al., 2003). Elas são consideradas como as mais potentes MMPs com atividade fibrinolítica, que

desencadeia a expressão de MMP-2 por fibroblastos, e MMP-9 por macrófagos, sendo elas também produzidas por macrófagos (PESCE et al., 2003). Embora ocorra regulação transcricional de MMP-1, modificações pós-transcricionais, tais como ativação de precursores latentes pré-formados, ou formas ativas liberadas por leucócitos pode ser a chave da regulação e síntese destas proteases (SAITO et al., 2001).

A MMP-9, ou gelatinase B, são MMPs pertencentes ao grupo das gelatinases. Elas contribuem com os processos de invasão celular, através da clivagem de proteínas da membrana basal, digerindo o colágeno desnaturado e colágeno tipo IV (VISE et al., 2003; JOBIM et al., 2008; BARROS, 2011). Além disso, MMP-9 liberadas por células imunes infiltradas são necessárias para permitir a interação de VEGF com seus receptores nas células endoteliais (EZHILARASAN et al., 2009).

## 2.7 Colágeno

Colágeno, em todas as suas formas, representa a proteína mais abundante nos animais (EXPOSITO et al., 2010). É uma família de proteínas da matriz extracelular, sintetizada por fibroblastos e células afins, que desempenha um papel dominante mantendo a estrutura de vários tecidos entre outras funções importantes (MYLLYHARJU et al., 2004). Os mais abundantes, e por isso os mais importantes são os tipos I, III e IV (NETO et al., 2009). O tipo II se limita ao tecido cartilaginoso, enquanto os demais são ubíquos, mas aparecem em pequenas quantidades nos tecidos (NETO et al., 2009). Todas as moléculas de colágeno são formadas por três cadeias alfas que podem ser idênticas, ou não (EXPOSITO et al., 2010).

O tipo I é o principal colágeno fibrilar, por ser o mais comum. Ele proporciona resistência a tração em tecidos tais como tendões e córnea (MAJNO et al., 2004). São predominantes em áreas de tecido fibroso, e sua molécula contém duas cadeias alfas 1 e uma alfa 2 (NETO et al., 2009). O colágeno tipo III é composto de fibrilas e suportam órgãos distensíveis tais como vasos sanguíneos (MAJNO et al., 2004). Além disso, são formados por três cadeias idênticas (homodiméricos), e predominantes no tecido conjuntivo frouxo (EXPOSITO et al., 2010). O colágeno tipo IV é não fibrilar e um dos maiores constituintes da membrana basal (BALDO et al., 2010).

Os colágenos estão envolvidos na adesão celular, quimiotaxia e migração, e sua interação dinâmica com as células, regulam o remodelamento tecidual durante crescimento, diferenciação, morfogênese e cicatrização de feridas em muitos estágios patológicos

(MYLLYHARJU et al., 2004). Em quelóides e cicatrizes hipertróficas, por exemplo, os colágenos são abundantes e arranjados em fibras de maneira irregular, ou em forma de nódulos, associados a vasos sanguíneos recentemente formados e infiltrado de células mononucleares (SHARKER, 2010). Maior densidade de colágeno e vasos sanguíneos são característicos de tecido de granulação (SAMPAIO et al., 2009).

A montagem do colágeno após dano ocorre como um processo de muitas etapas (MORIYE et al., 2011). As fibras de colágeno jovens são mais hidratadas e menos perfeitamente alinhadas que as fibras maduras. Durante a angiogênese, a formação do tubo capilar é modulada por uma variedade de componentes da MEC, incluindo colágeno, que quando adicionado em superfícies que revestem as monocamadas de células endoteliais, contribuem para a proliferação e migração de células endoteliais (SAMPAIO et al., 2009). No tecido de granulação, o tecido conjuntivo frouxo é rico em capilares sanguíneos, leucócitos, MEC, formada principalmente por fibras colágenas finas (colágeno III), ácido hialurônico, e moderada quantidade de proteoglicanos. Com o passar do tempo, a quantidade de colágeno aumenta, e suas fibras passam a predominar na matriz extracelular, o colágeno tipo I, tendo fibras mais grossas e compactas, adquire predominância em relação ao colágeno tipo III (SIRIMARCO, 2001; ROBBINS, 2005).

### **3 PROPOSIÇÃO**

O presente estudo visa a estudar aspectos clínico-patológicos de mucoceles da cavidade oral, bem como a presença de microdensidade vascular (CD34), mastócitos, macrófagos, e proteínas da matriz extracelular (MMP-1, MMP-9, colágeno), por meio de métodos histoquímicos e imuno-histoquímicos, na tentativa de contribuir para o conhecimento do perfil biológico e desenvolvimento destas lesões.

#### **3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar dados referentes a idade, sexo, cor, consistência, tamanho, forma clínica, trauma, impressão clínica, diagnóstico histopatológico, bem como os aspectos morfológicos das lesões de mucocele da boca;
- Identificar a presença de microdensidade vascular (CD34), mastócitos, macrófagos, e proteínas da matriz extracelular (MMP-1, MMP-9 e colágeno) nas lesões de mucocele da boca;
- Verificar possível associação/correlação entre os diferentes marcadores imuno-histoquímicos e dados clínicos coletados.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Aspectos Éticos da Pesquisa**

O projeto foi enviado ao comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFBA cujo certificado consta em anexo.

### **4.2 Caracterização do Estudo**

O presente trabalho refere-se a um estudo tipo corte transversal e retrospectivo.

### **4.3 População e Amostra**

A população deste estudo foi constituída de todos os casos de lesões de boca registrados no Laboratório de Patologia Cirúrgica da FOUBA (2002 – 2010), sendo selecionados aqueles diagnosticados como mucocelos (de extravasamento ou de retenção).

### **4.4 Seleção dos Casos**

No presente trabalho foram coletados 104 casos de mucocelos da boca. Após revisão, 100 casos foram enquadrados como mucocelos (de extravasamento). Destes, foram utilizados para o estudo imuno-histoquímico, apenas os espécimes que apresentavam quantidade de material biológico adequadamente suficiente, sendo selecionados 32 casos para este fim. Todos os casos foram obtidos do arquivo do Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (FOUFBA) registrados no período de 2002 a 2010. Os casos foram selecionados e revisados, considerando-se os laudos anatomopatológicos.

#### 4.5 Análise das Informações Clínicas

As fichas de requisição de biópsia de cada lesão foram utilizadas como fonte original de informações sobre os aspectos clínicos dos pacientes, tais como: sexo, idade, localização, cor, tamanho da lesão, consistência, forma, impressão clínica e sugestão do agente etiológico.

#### 4.6 Análise Morfológica

Para esta análise foram realizados cortes de 4 $\mu$ m de espessura do material fixado em formol e embocado em parafina. As lâminas referentes a cada caso e coradas pela hematoxilina e eosina (H&E), foram submetidas a um novo exame histológico sob microscopia de luz, onde procurou-se descrever os principais aspectos morfológicos representativos de cada lesão, bem como os graus de fibrose através da análise histoquímica para o picrosírius.

#### 4.7 Técnica Imuno-histoquímica

As amostras selecionadas, fixadas em formol a 10% e incluídas em parafina, foram submetidas a cortes de 3 $\mu$ m de espessura. Os cortes foram então estendidos em lâminas de vidro, previamente tratadas e preparadas com adesivo à base de Organosilano (3-aminopropiltriétoxi-silano). Posteriormente o material foi desparafinado em dois banhos de xilol por quinze minutos cada. Em seguida foram re-hidratados em álcool absoluto duas vezes por cinco minutos cada, e lavadas em água destilada.

Para a imuno-marcação de vasos sanguíneos, macrófagos e MMP-1 foi utilizado o Sistema EnVision<sup>TM</sup> (DAKO Corporation, Carpintaria, USA), enquanto para os mastócitos e MMP-9 utilizou-se o Histofine (Nichirei Biosciences Inc., Tokyo, Japan). As informações referentes aos anticorpos primários tais como, especificidade, clone, solução recuperadora antigênica, diluição e tempo de incubação estão descritas na Tabela 2.

Após o tratamento de recuperação antigênica, os cortes foram resfriados à temperatura ambiente, lavados duas vezes em água destilada, secos com papel absorvente e demarcados com DAKO-pen. As lâminas foram então colocadas em uma cuba de vidro e mantidas em de solução peróxido de hidrogênio 3% por 15 minutos, para o bloqueio da peroxidase endógena, em câmara escura.

Após esta etapa foi realizada nova lavagem, com água destilada, depois lavagem com tampão fosfato-salino (PBS), duas vezes por cinco minutos cada, para então ser aplicado o anticorpo primário, em solução diluente de anticorpo (Dako Corporation, Carpinteria, CA, USA). Terminado o tempo correspondente para cada anticorpo, as lâminas foram lavadas com água destilada, e depois mantida em PBS, duas vezes por cinco minutos cada. Em seguida foi aplicado sobre o tecido o polímero amplificador por trinta minutos. Após o período de incubação com os polímeros, as lâminas foram novamente lavadas com PBS para então ser feita a revelação. A revelação da reação foi feita com Diaminobenzidina (Dako Corporation, Carpinteria, CA, USA), em câmara escura durante cinco minutos, contra-coradas com Hematoxilina de Harris e lavadas com água corrente. Por fim, os cortes foram desidratados duas vezes em soluções de álcool absoluto, diafanizados em dois banhos de xilol, montados com bálsamo e cobertas com lamínulas.

Tabela 2. Especificidade, clone, tratamento para recuperação antigênica, diluição e controle dos anticorpos primários utilizados no estudo imuno-histoquímico.

Especificidade	Clone	Recuperação	Diluição	Tempo de incubação	Fabricante
CD34	QBend-10	Citrato pH 6.4 a 97°C	1:100	60 min	DAKO
Mastócito	AA1	Tripsina 1% a 37°C	1:50	60 min	NOVO CASTRA
Macrófago	KP1	Citrato pH 6.4 a 97°C	1:100	60 min	DAKO
MMP-1	Policlonal	Citrato pH 6.4 a 97°C	1:50	Overnight	DBS
MMP-9	Policlonal	Sem recuperação	1:50	60 min	DBS

Como controle positivo foi utilizado placenta (para vasos sanguíneos e MMP-1), mastocitose (para mastócitos e macrófagos), e carcinoma de mama (para MMP-9). O controle negativo consistiu na substituição do anticorpo primário por soro não imune.

## 4.8 Exame da Imuno-expressão

### 4.8.1 Índice Angiogênico

Para a contagem dos vasos foram considerados os critérios adaptados de Fontanini et al. (1997), Kyzas et al. (2004), e Tao et al. (2007), em que foram considerados como vasos qualquer célula ou aglomerado de células endoteliais, localizados adjacentes a estruturas vasculares e que estavam claramente separadas dos microvasos e marcadas pelo anticorpo anti-CD34, apresentando coloração marrom-acastanhada. Estruturas ramificadas foram contadas apenas como um vaso, a menos que existisse uma descontinuidade na estrutura. As cinco áreas, do tecido de granulação, com grande número de microvasos marcados foram identificados e em seguida os vasos foram contados em campos de *hot spots* em 200x de ampliação. A densidade de microvasos foi expressa em porcentagem como a média do número de vasos pela área (56mm<sup>2</sup>). Em adição, quando a lesão era multicística, consideramos os campos de *hot spots* como antes descritos.

### 4.8.2 Mastócitos e Macrófagos

Para a contagem dos mastócitos e macrófagos foram considerados positivas aquelas células que exibiam coloração marrom-acastanhada no tecido de granulação das lesões. A análise dessas células marcadas foi realizada através de microscopia de luz com aumento de 400x em até cinco campos mais representativos de cada espécime, sob um foco fixo com clareza de campo. A densidade das células foi expressa em porcentagem como a média do número de vasos pela área de 56mm<sup>2</sup>. Para esta análise foram considerados os critérios adaptados de Sato et al.(2006).

### 4.8.3 Componentes da Matriz Extracelular (MEC)

A expressão dos componentes da matriz extracelular (MMP-1, MMP-9) foi avaliada adaptada a partir dos critérios de Santos et al. (2011). Cinco campos histológicos com área de 56mm<sup>2</sup> foram selecionados no tecido de granulação das lesões de mucocelos orais. A imunoexpressão das metaloproteinases de matriz MMP-1 e MMP-9 foi classificada em cada caso como 0 (quando não houve marcação), + (<10% de células imunomarcadas), ++ (10% a 50% das células imunomarcadas), ou +++ (> 50% das células imunomarcadas).



#### 4.8.4 Colágeno

A avaliação da densidade de fibras de colágeno jovens (fibrose), depositadas no ambiente em decorrência da lesão, foi detectada através da histoquímica para picrosírio. As amostras foram minuciosamente analisadas em microscopia ótica por um patologista experiente. A presença dos colágenos foi classificada em cada caso como 0 (fibrose ausente), 1 (fibrose discreta), 2 (fibrose moderada) e 3 (fibrose intensa).

#### 4.9 Análise Estatística

Os cálculos estatísticos foram realizados através do programa Minitab (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). A diferença entre os grupos foram realizadas através do teste não paramétrico de Kruskal- Wallis. Teste de correlação de Pearson também foi empregado. Um valor de  $P < 0.05$  foi considerado ser estatisticamente significativo.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Aspectos Clínicos

Após revisão, um total de 100 casos de mucoceles orais, analisados no período de 2002 a 2010, arquivados no Serviço de Patologia Cirúrgica FOUFBA, foram selecionados para serem incluídos na pesquisa. Em nossa série, tivemos um total de 56 homens (56%) e 34 mulheres (34%) acometidos pela lesão (Figura 1), representando uma proporção de 1,64:1. Houve um pico de incidência igualmente visto na segunda e terceira décadas de vida (Figura 1), representando mais de 50% dos casos. A idade variou de um ano a 57 anos (média = 23.2 anos; DP±12,24).

A cor da lesão foi variável, a consistência predominante elástica e encontrava-se sob a forma de um nódulo ou bolha, cujo diagnóstico clínico consistia predominantemente de mucoceles (n=79, 79%) ou rânulas (n=10, 10%). De todos os casos, 16% (n= 16) eram mucoceles superficiais. Todos os casos foram tratados por exérese cirúrgica.

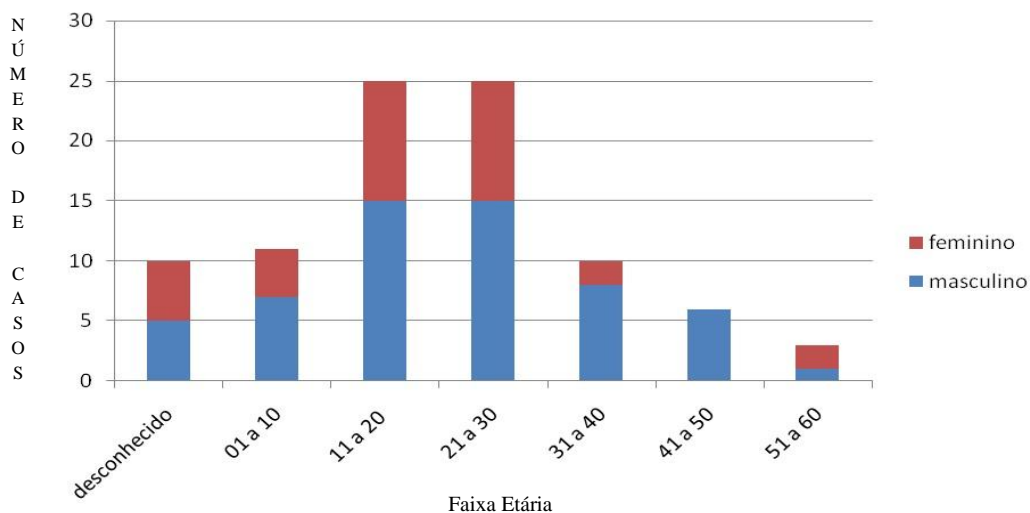


Figura 1 - Distribuição da faixa etária e sexo correspondente aos 100 casos de mucoceles diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA no período de 2002 a 2010. Salvador-BA, 2012.

Em 11 fichas de biópsias foi relatado histórico de trauma prévio, sendo 4 relacionados a mordida. O tamanho da lesão variou de 0,4 a 3,0 cm (média= 1,1 cm; DP±0,57) (Figura 2). De forma geral, as mucoceles apresentaram-se com consistência firme ou mole a palpação. Não havia informação referente à cor da lesão em 50% dos casos, contudo, algumas foram

descritas como rósea, azulada ou esbranquiçada. A maioria das lesões localizavam-se no lábio inferior (Figura 3).

Ilustrações dos aspectos clínicos e macroscópicos das lesões de mucoceles podem ser vistos na Figura 4

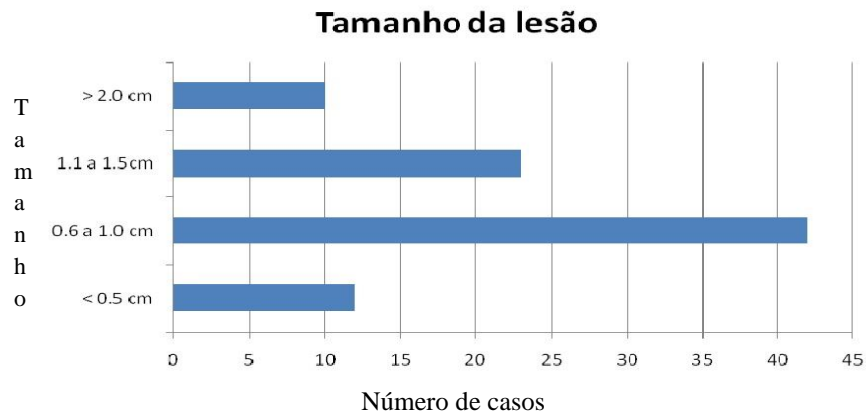


Figura 2- Distribuição do tamanho dos 100 casos de mucocele diagnosticados no Serviço De Patologia Cirúrgica da UFBA no período de 2002 a 2010. Salvador-BA, 2012.

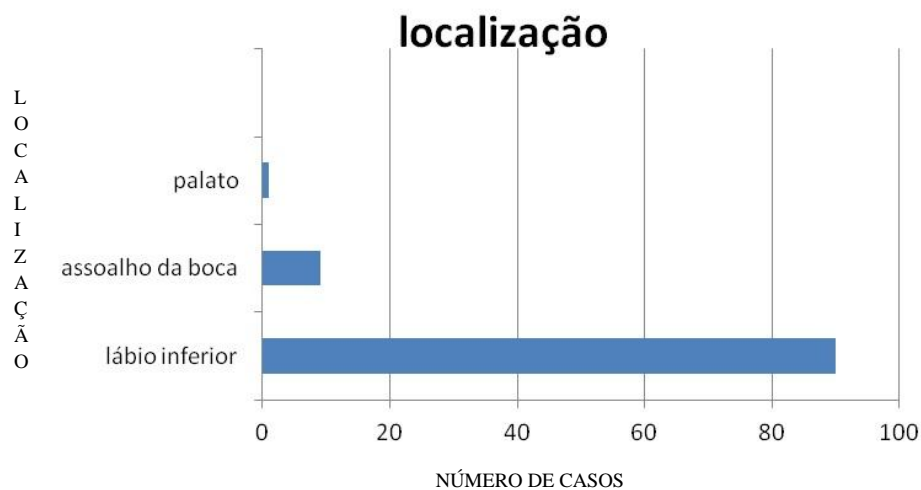


Figura 3. Distribuição da localização dos 100 casos de mucocele diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA no período de 2002 a 2010. Salvador-BA, 2012.

Figura 4 (no arquivo “fotos”)

## Um resumo dos dados clínicos estão descritos na tabela 3.

Tabela 3. Resumo dos dados clínicos dos 100 casos de mucoceles diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA no período de 2002 a 2010. Salvador-BA, 2012.

Parâmetros clínicos	Total (n)	%
<u>Cor</u>		
Rósea	22	22
Esbranquiçada	14	14
Cinza	01	01
Avermelhada	03	03
Transparente	03	03
Azulada	08	08
Parda	01	01
Translúcida	01	01
Branco	01	01
Ausência de informação	46	40
<u>Consistência</u>		
Mole	34	34
Firme	17	17
Elástica	02	02
Ausência de informação	47	47
<u>Forma</u>		
Nódulo	19	19
Circular	02	02
Bolha	21	021
Pápula	02	02
Ausência de informação	54	54
<u>Trauma</u>		
Sim	11	11
Ausência de informação	89	89
<u>Impressão Clínica</u>		
Mucocele	79	79
Fibroma	03	03
Fibroma traumático	01	01
Fibroma/mucocele	01	01
Cistoadenoma	01	01
Rânula	10	10
Ausência de informação	05	05
<u>Diagnostico histopatológico</u>		
Mucocele	90	90
Rânula	10	10

## 5.2 Aspectos Microscópicos

De um modo geral, as lesões de mucocèle exibiam estruturação nodular e eventualmente polipóide, revestidas por epitélio pavimentoso estratificado paraqueratinizado exibindo acantose sem atipias, ou com atipias reacionais, além de atrofia especialmente na região correspondente as lesões superficiais. Em algumas lesões era possível observar faixa de lâmina própria separando a lesão, enquanto em outros casos não, nem tão pouco epitélio de superfície. Ulceração foi observada em somente um dos casos.

As lesões eram únicas (n=37; 37%) ou múltiplas (n=33; 33%) formadas por parede de tecido de granulação (n=92; 92%), de espessura delgada (n=11; 11%), espessa (n=25; 25%) ou variável (n=51; 37%) circundada muitas vezes por faixa fibrosa aqui denominada de cápsula fibrosa. Eventualmente, essas cavidades eram colabadas e, por vezes não havia estruturação cística (n=69; 69%), sendo o tecido de granulação disperso pela lâmina própria ou localizado mais superficialmente e/ou ao lado de material proteináceo ou amorfo ou ainda distendendo o material proteináceo ou fibras colágenas ou por entre hemácias extravasadas quando estas estavam presentes. Outras vezes, a lesão mostrava estruturação cística ao lado de tecido de granulação organizado de forma dispersa ou como estruturas nodulares.

O tecido de granulação era composto por fibroblastos, neocapilares e leucócitos mononucleares (n=61, 61%) ou mistos (n=29; 29%), muitas vezes mostrando concentração de macrófagos próximos ao lúmen, eventualmente, ora sob a forma de células epitelióides ora sob a forma de células gigantes multinucleadas, configurando uma reação granulomatosa, neste último caso. Por vezes, também, exibia projeções pseudopapilares ou de tufos projetando-se em direção ao lúmen parecendo desprender-se da parede cística, ficando livres no lúmen. Em alguns casos, foram observados histiócitos epitelióides próximos a superfície luminal, bem como epitélio ductal em íntimo contato com a parede de tecido de granulação, parecendo ser este último formado a partir do rompimento do ducto.

O lúmen cístico quando presente era composto de um modo geral por material proteináceo (presente em 48% dos casos) em meio a numerosos mucinófagos (presente em 45% dos casos). Por vezes eram vistos leucócitos polimorfonucleares de permeio e outras vezes grumos de material proteináceo ou material amorfo ou mucóide. Em adição, um achado menos comum era a presença de esferuloses, também denominadas de mixoglobuloses (n=9;

9%). Em um caso, células gigantes multinucleadas inespecíficas estavam presentes na superfície luminal.

Comumente, adjacente as lesões de mucocele, lóbulos compostos por ácinos mucosos, ductos glandulares (n=81; 81%) ora ectásicos (n=66; 66%) ora metaplásicos (37; 37%) também eram vistos, assim como ductos glandulares metaplásicos exibindo projeções papilíferas. Inflamação crônica (n=19; 19%) em alguns casos permeava o tecido glandular adjacente.

Naquelas lesões, clinicamente, denominadas de rânulas, de um modo geral, o tecido de granulação era menos marcante que os mucoceles de lábio. Nas lesões de rânula, comumente era vista uma parede fibrosa ou frouxa mais espessa, com focos hemorrágicos no interstício, e, escasso material proteináceo no lúmen. Mucinófagos raramente foram vistos. Adjacente, tecido glandular de aspectos usuais também foram evidentes.

As ilustrações dos aspectos morfológicos das lesões de mucocele desse estudo podem ser vistas nas figuras 5, 6, e 7.

Um resumo das características histopatológicas está descrito na tabela 4.

Figura 5 (no arquivo “fotos”)



Figura 6 (no arquivo “fotos”)

Figura 7 ( no arquivo “fotos”)

Tabela 4. Resumo das características histopatológicas dos 100 casos de mucoceles diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA no período de 2002 a 2010. Salvador-BA, 2012.

Parâmetros histopatológicos	Total (n)	%
<u>Cavidade Cística</u>		
Única	37	37
Múltiplas	33	33
Ausente	30	30
<u>Material Proteináceo</u>		
Presente	48	48
Ausente	52	52
<u>Cápsula Fibrosa</u>		
Presente	51	51
Ausente	49	49
<u>Tecido de Granulação</u>		
Delgado	11	11
Espesso	25	25
Variável	51	51
Ausente	13	13
<u>Leucócitos Predominantes</u>		
Polimorfonucleares	5	5
Mononucleares	61	61
Mistos	29	29
Ausente	5	5
<u>Mucinófagos</u>		
Presente	45	45
Ausente	55	55
<u>Mixoglobuloses</u>		
Presente	9	9
Ausente	91	91
<u>Ductos</u>		
Ectásicos	66	66
Metaplásico	37	37
Ausente	19	19

### 5.3 Imunomarcção para o CD34

Todos os espécimes encontravam-se imunomarcados com o anticorpo anti-CD34 mostrando imunoexpressão desse antígeno no tecido de granulação das lesões de mucocele em células endoteliais de vasos sanguíneos com lúmen conspícuo, e grupos de células endoteliais sem um lúmen vascular distinto. Por vezes, a medida em que se aproximava do lúmen, células CD34 positivas pareciam desaparecer. A análise do índice angiogênico, por meio da MDV, demonstrou valores médios que variaram de 10.6 a 124.4 (média de 55 microvasos por  $\text{mm}^2$ ;  $\text{DP}\pm 0,36$ ).

Os achados imuno-histoquímicos em relação ao CD-34 pode ser visto na figura

Figura 8 ( no arquivo “fotos”)

#### 5.4 Imunomarcção de Mastócitos e Macrófagos

As células mastocitárias foram identificadas pela imunorreatividade ao anticorpo anti-triptase que revelou a existência destas células em todos os espécimes submetidos a técnica imuno-histoquímica. Os mastócitos apresentaram formato variado, predominantemente arredondados, presente no tecido de granulação da parede cística, próximos a vasos sanguíneos e, em especial, concentrados na faixa fibrosa correspondente a região capsular existente em algumas lesões. Um achado interessante era que à medida que se aproximava do lúmen, as células mastocitárias desapareciam, ou estavam reduzidas, e quando o tecido de granulação encontrava-se espalhado, raras células mastocitárias eram vistas. No entanto, por entre tecido glandular bem diferenciado, com ou sem inflamação, elas também estavam presentes. Após a contagem das células nas lesões selecionadas, foram constatados valores médios que variaram de 3 a 28.6 (média= 7.4; DP±0,12).

Os macrófagos CD68 positivos estavam presentes em todos casos. Eram representados por células arredondas, ou não, contendo no seu interior grânulos castanho-pardo, por vezes, grosseiros, os quais estavam presentes na parede de tecido de granulação, mas concentrados no lúmen e na superfície luminal. Em relação a contagem de células imunomarcadas, foram observados valores médios de macrófagos que variaram de 28.8 a 135.6 (média= 88; DP±0,52).

Os achados imuno-histoquímicos em relação as células mastocitárias e aos macrófagos podem ser vistos na figura 9 e 10, respectivamente.

Figura 9 (no arquivo “fotos”)

Figura 10 (no arquivo “fotos”)



### 5.5 Imunomarcção das Metaloproteinases de Matriz (MMP-1 E MMP-9)

As metaloproteinases de matriz (MMP-1 e MMP-9) apresentaram marcação imuno-histoquímica variável em 32 casos, presente na matriz extracelular como estrutura em massa e granular, dispostas no tecido de granulação e especialmente na região de faixa fibrosa capsular, quando presente. Fibroblastos e células inflamatórias também mostraram-se positivas a ambos os marcadores. No lúmen, era possível observar mucinófagos e macrófagos também positivos a estes marcadores. Na avaliação da expressão de MMP-1, a maioria dos casos foi classificada como escore + (n=17; 53%), seguido do escore ++ (n=11; 34,37%) e +++ (n=3; 9,37%), apenas um caso demonstrou ausência com escore 0 (n=1; 3,12%). Na avaliação do resultado imuno-histoquímico, específico para a expressão de MMP-9, a maioria dos casos foi classificada como escore +++ (n=11; 32,4%) e ++ (n=11; 32,4%), com frequências menores para os escores + (n=8; 25%) e 0 (n=2; 6,25%).

Os achados imuno-histoquímicos em relação as metaloproteinases de matriz, MMP-1 e MMP-9, podem ser vistos nas figuras 11 e 12, respectivamente.

Figura 11 (no arquivo “fotos”)

Figura 12 ( no arquivo “fotos”)

## 5.6 Caracterização Histoquímica do Colágeno

Todos os espécimes foram submetidos a avaliação histoquímica para o Picrosirius. A análise do colágeno no tecido de granulação das lesões de mucocele de extravasamento oral demonstrou a presença de fibras colágenas em 77 casos. Por meio de microscopia de luz, foi analisada a disposição das fibras colágenas nas lesões, que apresentaram níveis que variaram de ausente a intenso. Neste estudo, dos casos marcados, 35 (45,4%) apresentaram fibrose discreta, 28 (36,3%) fibrose moderada e 14 (18,2 %) fibrose intensa. (Figura 4). Além disso, também não obtivemos correlação do colágeno com o tamanho da lesão nem idade do paciente.

Os achados histoquímicos em relação ao colágeno podem ser vistos na figura 14.

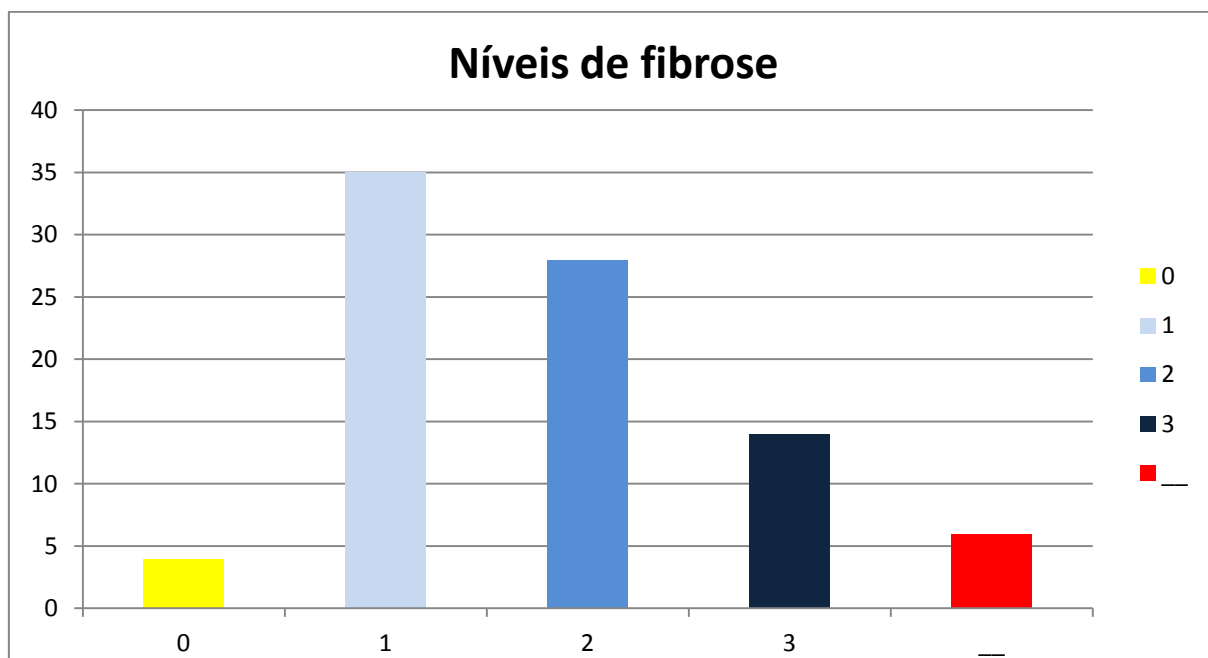


Figura 13- Avaliação dos níveis de fibrose dos 100 casos de mucocele diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA no período de 2002 a 2010. Salvador-BA, 2012.

- 0- Ausência de fibrose
- 1- Fibrose discreta
- 2- Fibrose moderada
- 3- Fibrose intensa

Figura 14 – Escores da fibrose dos casos de mucocelos orais. Salvador-BA, 2012.

**Figura 14 ( no arquivo “fotos”)**

## 5.7 Resultados Estatísticos

Um resumo da análise estatística encontra-se nas figuras 15, 16 e 17.

Não existiu associação estatisticamente significativa do número médio de microvasos com células mastocitárias ( $p=0,36$ , Kruskal Wallis), macrófagos ( $p=0,44$ , Kruskal Wallis), MMP-1 ( $p=0,11$  Kruskal Wallis), MMP-9 ( $p=0,996$ , Kruskal Wallis) e colágeno ( $p=0,408$ , Kruskal Wallis). Da mesma forma, também não existiu associação estatisticamente significativa entre o número médio de mastócitos com MMP-9 ( $p=0,237$ , Kruskal Wallis) e colágeno ( $p=0,559$  Kruskal Wallis). No entanto, houve associação estatística entre mastócitos e MMP1 ( $p=0,029$  Kruskal Wallis).

Foi observada associação estatística entre macrófagos e MMP-1 ( $p=0,014$ , Kruskal Wallis). No entanto, não houve associação estatisticamente significativa do número médio de macrófagos com células mastocitárias ( $p=0,11$ , Kruskal Wallis), MMP-9 ( $p=0,152$  Kruskal Wallis) e colágeno ( $p=0,112$  Kruskal Wallis).

Não existiu associação entre colágeno e MMP1 ( $p=0,72$ , Kruskal Wallis) e colágeno e MMP-9 ( $p=0,41$ ).

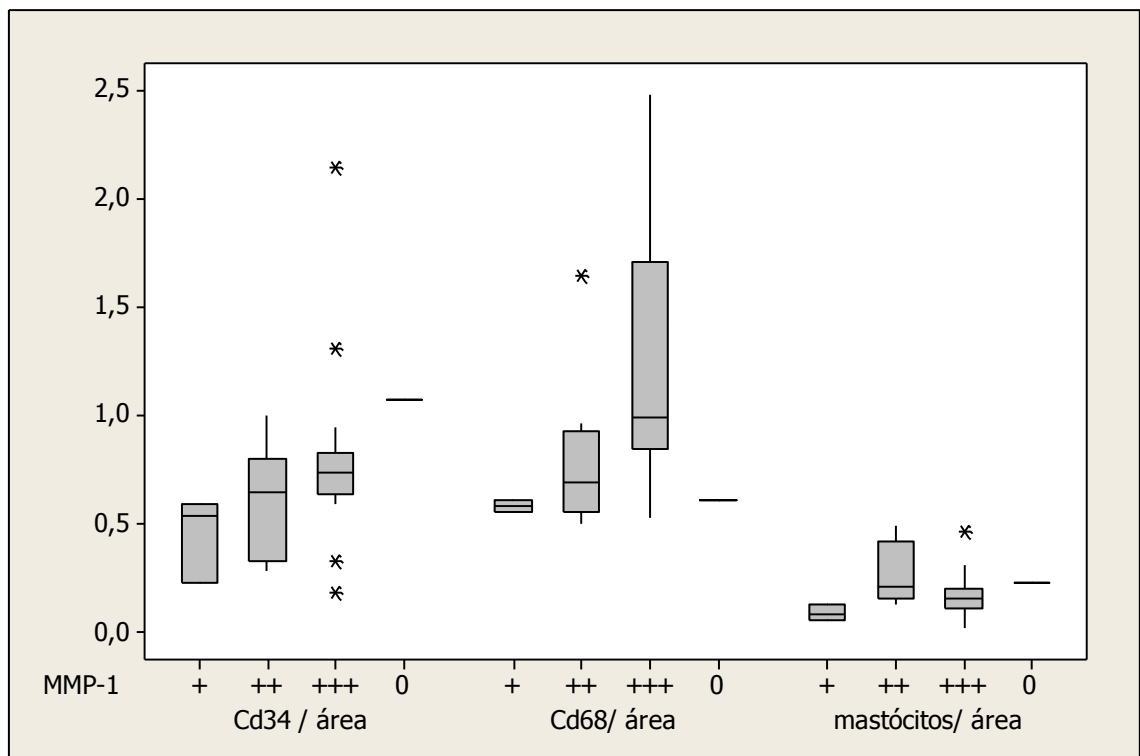


Figura 15 - Box-plot da quantidade de células CD34, CD68 positivas e mastócitos em relação ao MMP-1. Salvador-BA, 2012.

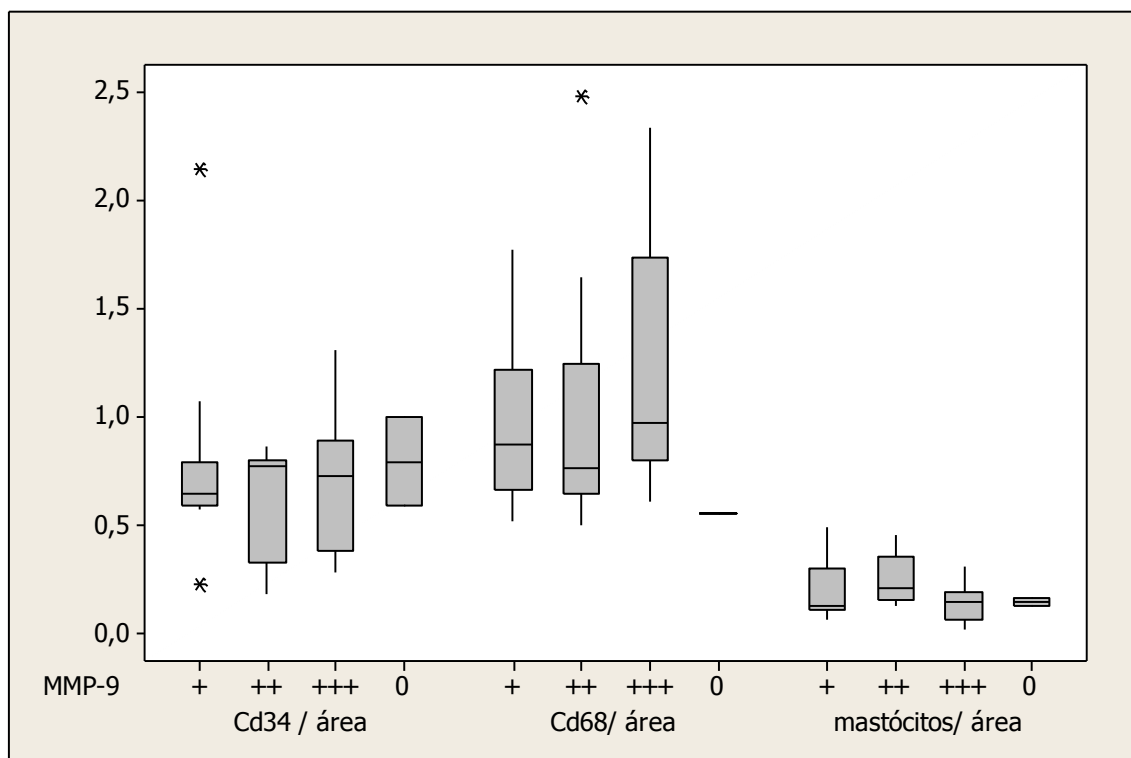


Figura 16- Box-plot da quantidade de células CD34, CD68 positivas e mastócitos em relação ao MMP-9, Salvador-BA, 2012.

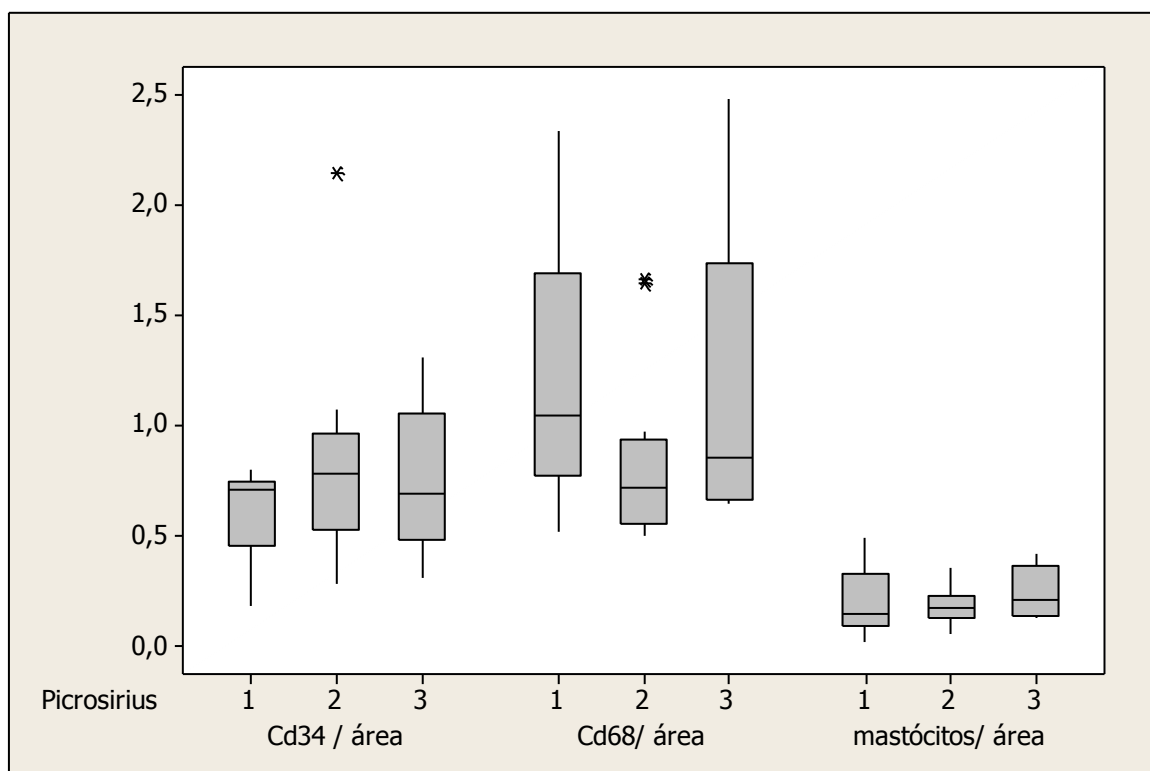


Figura 17 - Box-plot da quantidade de células CD34, CD68 positivas e mastócitos em relação ao Picrossírius, Salvador-BA, 2012.

Ao confrontar a presença desses marcadores com dados clínicos como idade e tamanho da lesão, não obtivemos correlação significativa ( $P > 0.05$ , teste de Pearson), nem tão pouco correlação entre CD 34 e macrófagos ( $p = 0,394$ ), macrófagos e mastócitos ( $p = 0,977$ ), CD34 e mastócitos ( $p = 0,448$ ).



## 6 DISCUSSÃO

Mucoceles representam uma das lesões mais comuns que afetam a mucosa oral (OLIVEIRA et al., 1993; BERMEJO et al., 1999; ANDIRAN et al., 2001; PESCE et al., 2003; XU et al., 2003; INOUE et al., 2005; FREDERIC et al., 2008). Na literatura, verifica-se uma expressiva predileção da lesão pelo lábio inferior (COHEN 1965; CATOLDO et al., 1970; SEIFERTG et al., 1981; OLIVEIRA et al. 1993; ANASTASSOV et al., 2000; GEORGE et al., 2000; JINBU et al., 2003; SHAH et al., 2003; KOPP et al., 2004; FREDERIC et al., 2008; NICO et al., 2008; CHEN et al., 2009; GARCÌA et al., 2009; GARCIA et al., 2009; GRANHOLM et al., 2009; de CAMARGO et al., 2009; MORAES et al., 2009; CECCONE et al. 2010; CHI et al., 2010; HAYASHIDA et al., 2010; JANI et al., 2010; JANI et al., 2010; JANI et al., 2010; MINGUEZ- MARTINEZ et al., 2010; SYBELE et al., 2010; OTHA et al., 2011, WU et al. 2011). Nossa série constou de 90% dos casos localizados no lábio inferior, sendo 17% classificadas como mucoceles superficiais. As rânulas representaram 10% das lesões de mucocele, porcentagem esta similar àquela descrita por Martins Filho et al. (2011).

É muito difícil afirmar a real incidência de mucocele oral, pois podem resolver-se espontaneamente, não apresentarem recidivas, além de muitos casos não serem enviados para a realização da biópsia, (SHEAR et al., 1983; OLIVEIRA et al., 1993; IDE et al., 2002; MORAES et al., 2009; de CAMARGO et al., 2009; HAYASHIDA et al., 2010). No entanto, sabe-se que são frequentemente diagnosticadas por patologistas orais (ESPINOZA et al., 2003, SWELAN et al., 2005). Em nosso serviço, de todas as lesões diagnosticadas até o presente, 16,4 % foram diagnosticadas como mucoceles.

As lesões de mucocele, geralmente, não possuem predileção por sexo (CATOLDO et al. 1970; OLIVEIRA et al., 1993; GARCÌA et al., 2009; CECCONI et al., 2010; CHI et al., 2010; JANI et al., 2010; MINGUEZ-MARTINEZ et al., 2010; WU et al., 2011). Nesta série, os homens foram mais acometidos, em uma proporção de 1.6: 1, corroborando com relatos prévios (SEIFERT et al., 1981; GRANHOLM et al. 2009; JANI et al., 2010; OHTA et al., 2011; CHEN et al., 2011). No entanto, alguns trabalhos mostraram um predileção pelo sexo feminino (NICO et al., 2008; HAYASHIDA et al., 2010; e SYBELE et al., 2010).

No presente estudo foi evidenciado uma predileção para indivíduos pertencentes, igualmente, a segunda e terceira décadas de vida, em conformidade com os trabalhos de Hayashida et al (2010) e Sybele et al.( 2010). No entanto, alguns pesquisadores relatam uma maior incidência em indivíduos mais jovens, com idade inferior ou pertencentes à segunda década de vida (OLIVEIRA et al., 1993; NICO et al., 2008; CHEN et al., 2009; GARCÍA et al., 2009; MINGUEZ–MARTINEZ et al., 2010; CHI et al.,2010; CECCONE et al., 2010). Todavia, alguns trabalhos encontraram uma maior incidência em indivíduos pertencentes à terceira década de vida (CATOLDO et al., 1970; NTOMOUCHTSIS et al., 2010; JANI et al., 2010).

Em geral, as lesões de mucocele aqui estudadas, tinham forma de bolha ou nódulo, e consistência firme ou mole a palpação. Mucoceles são descritas como uma tumefação, em forma de bolha, ou nódulo, com superfície lisa, assintomáticas, e coloração que pode variar entre rósea, azulada, translúcida ou esbranquiçada (BERMEJO et al., 1999; NICO et al., 2008; CAMPANA et al., 2005; INOUE et al., 2005; NICO et al., 2008; ATA-ALI et al., 2010). A cor azul é resultado da cianose e congestão vascular associado ao caráter translúcido do tecido distendido (HAROLD; BAURMASH, 2003). Quando superficiais, são assintomáticas e apresentam-se como pequenas vesículas, subepiteliais, translúcidas, e sem quantidade significativa de inflamação (BERMEJO et al., 1999; SHAH et al., 2002; SHAH et al., 2002; HAROLD; BAURMASH, 2003; JINBU et al., 2003; INOUE et al., 2005; INOUE et al., 2005; GUIMARAES et al., 2006; CHI et al., 2010; XU et al., 2010; MINGUEZ-MARTINEZ et al., 2010). Além disso, as mucoceles superficiais podem ser simples ou múltiplas (BERMEJO et al., 1999; CHI et al., 2010). Estes aspectos antes descritos são similares àqueles encontrados nesta série de casos.

As lesões de mucoceles podem ser congênitas, ou originadas a partir do nascimento, em qualquer idade, contudo, apesar de ser frequente em pessoas jovens, são raras em crianças menores de um ano de idade (NICO et al., 2008; MORAES et al., 2009; MINGUEZ et al., 2010). Encontramos uma lesão de mucocele em uma criança com 1.8 anos de idade.

Histologicamente, nossos casos de mucocele preenchem os critérios morfológicos descritos em relatos prévios (OLIVEIRA et al., 1993; SUGERMAN et al., 2000; PHILIP et al., 2000; IDE et al., 2002; CAMPANA et al., 2006; FREDERIC et

al.,2008; CHI et al., 2010; XU et al., 2010). As lesões, de modo geral, mostravam-se como estruturas císticas nodulares ou não, formadas por parede de tecido de granulação, circundando muitas vezes lumens preenchidos por numerosos mucinóforos em meio a material proteináceo. Uma faixa de tecido conjuntivo fibroso e denso, circundando as lesões com estruturação cística também foi observada, aqui denominada de cápsula fibrosa, presente em 51% dos casos. Este último aspecto foi observado também por outros autores (HORIE et al., 1993; LI et al.,1997; IDE et al., 2002; HAROLD; BAURSHMAN, 2003; FREDERIC et al.2008; de CAMARGO et al., 2009).

Poucas lesões não apresentaram estruturação cística bem definida (OLIVEIRA et al.,1993, CHI et al., 2010). No entanto a parede cística delimitando o muco, formada por tecido de granulação, é uma morfologia típica de mucoceles orais, frequentemente descrita como um processo reparativo, fibrovascular, em resposta ao muco acumulado no tecido conjuntivo, com quantidade variada de fibrose, fibroblastos, e infiltrado de células inflamatórias, tais como, neutrófilos, macróforos, linfócitos e histiócitos (HORIE et al., 1993; OLIVEIRA et al 1993; LI et al., 1997; GEORGE et al., 2000; IDE et al.,2002; JINBU et al., 2003; SHAH et al., 2003; MUSTAPHA et al.,2004; SWELAN et al., 2005; GUIMARÃES et al., 2006; FREDERIC et al., 2008; HENRY et al., 2008; NICO et al.2008, MORAES et al., 2009; CHI et al., 2010;). Estes elementos celulares e teciduais também foram observados em nosso estudo, além de uma densa população de vasos neoformados, embebidos dentro de uma matriz colagênica, que também contém fibronectina, e ácido hialurônico, (STEVEN et al., 1999). A formação destes novos vasos sanguíneos desempenha um importante papel na persistência da cronicidade das lesões, durante o remodelamento de doenças crônicas inflamatórias, pela proliferação de células endoteliais (RAVI et al., 1998; MC DONALD et al., 2001; TAO et al., 2007).

Um outro aspecto interessante observado neste estudo consistiu da parede de tecido de granulação, por vezes, projetando-se em direção ao lúmen, parecendo desprender-se da parede cística. Esta projeção contribuiu para a sustentação da hipótese de Ide et al. (2002) e Chi et al. (2010), que a atribuem a origem de mixoglobuloses, ou esferuloses, dentro do lúmen.. No entanto, Li et al. (1997) consideraram desconhecidos os fatores que levam a transformação de material mucoide nessas massas globulares. As mixoglobuloses ou esferuloses são estruturas globulares, pouco freqüentes, únicas, sem revestimento epitelial, sem calcificação, e contendo material fibrilar eosinofílico, por vezes fagocitadas por macróforos (HORIE et al., 1993; LI et al.,1997;SHAH et

al.,2003; HENRY et al., 2008). Estas estruturas globulares são raras em mucocelos orais (IDE et al., 2002; CHI et al., 2010) e, neste estudo, correspondeu a 9% dos casos. Tendo em vista a intensidade do trauma sobre o tecido glandular e cronicidade da lesão, especulamos que a quantidade de material mucoide extravasado pode ser tão grande que os macrófagos não conseguem fagocitar suficientemente o muco, e então o tecido de granulação já formado inicialmente migra por ação quimiotática exercida pelos próprios macrófagos para auxiliar na fagocitose, de modo a formar tais estruturas.

Existem algumas possíveis explicações para a pouca frequência da identificação de mixoglobulose. Uma delas é que macrófagos e outras células inflamatórias, dentro do lúmen, possam facilmente mascarar as estruturas globulares e dificultar sua identificação (SHAH *et al.*, 2003). Além disso, a raridade de tal aspecto morfológico pode estar relacionada com um análise histológica menos detalhada, devido a mucocelo oral ser uma lesão comum, e de fácil diagnóstico. Em um trabalho recente que incluiu 1.824 casos de mucocelos de extravasamento, apenas 0.4% dos casos apresentaram mixoglobuloses. Acreditamos que a primeira explicação para a frequência de tal morfologia deve ser a mais adequada.

Adicionalmente, uma característica rara em mucocelos são as alterações tipo metaplasia sinovial papilar, que consiste da substituição da típica parede de tecido de granulação por uma membrana exibindo vilosidades, composta por uma fina camada superficial de matriz eosinofílica, sobrejacente, revestidas por histiócitos, fibro-histiócitos, e/ou células gigantes multinucleadas (CHI *et al.*, 2010; CHI *et al.*, 2010). Em concordância com relatos prévios (LI et al., 1997; IDE et al., 2002; CHI et al., 2010), a alteração tipo metaplasia sinovial papilar é rara e, como tal não foi encontrada em nossa amostra, embora em alguns casos a parede de tecido de granulação mostrasse histiócitos epitelióides e células gigantes multinucleadas.

Embora Harold e Baurman (2003) não considerem comum encontrar tecido glandular adjacente as lesões de mucocelos orais, em nossos casos 80% das lesões apresentaram tecido glandular salivar adjacente, com alguns de seus ductos próximos a parede de tecido de granulação, sugerindo um rompimento de sua estrutura. Esta morfologia parece confirmar relatos de autores que associam a formação de mucocelos devido ao rompimento de ductos excretórios, por trauma, e consequente extravasamento de material mucoide no tecido conjuntivo adjacente (LI et al., 1997; HOQUE et al.,

1998; NICO *et al.*, 2008; FREDERIC *et al.*, 2008; de CAMARGO *et al.*, 2009; PESCE *et al.*, 2003; Moraes *et al.*, 2009; MINGUEZ- MARTINEZ *et al.*, 2010; HYASHIDA *et al.*, 2010; CHI *et al.*, 2010; OHTA *et al.*, 2011). Nos laudos correspondentes as lesões aqui estudadas, encontramos apenas 11 relatos de trauma prévio, sendo oito associados a mordidas e três sem esta informação. É importante comentar ainda que dos 80% de tecido glandular salivar adjacente às lesões, três por cento não apresentaram alterações significativas enquanto 76% estavam ectasiados e/ou metaplastiados e 19% estavam infiltrados por células inflamatórias. Outras alterações incluíram fibrose periductal, (OLIVEIRA *et al.*, 1993; ANDIRAN *et al.*, 2001; JINBU *et al.*, 2003; CAMPANA *et al.*, 2006; NICO *et al.*, 2008).

No lúmen cístico foi possível observar material proteináceo e quantidade variada de infiltração de células leucocitárias, das quais, destacaram-se principalmente os macrófagos e mucinóforos. No entanto, outros tipos de células inflamatórias, tais como, neutrófilos, linfócitos também foram visualizados nesta região. Essas características foram descritas na literatura por diversos pesquisadores. (OLIVEIRA *et al.*, 1993; GEORGE *et al.*, 2000; SUGERMAN *et al.*, 2000; ANDIRAN *et al.*, 2001; IDE *et al.*, 2002; SHAH *et al.*, 2003; XU *et al.*, 2003; GUIMARÃES *et al.*, 2006; FREDERIC *et al.*, 2008).

Os mastócitos são células hematopoieticamente derivadas, que respondem a sinais da imunidade inata e adaptativa (BARBOSA *et al.*, 2011), encontradas, principalmente, próximos a vasos sanguíneos, infiltrados de células inflamatórias e em associação com fibras do tecido conjuntivo (CRIVELATO *et al.*, 2009). Este estudo analisou a participação das células mastocitárias em lesões de mucoceles orais, por meio da triptase de células mastocitárias, que é amplamente armazenada nos grânulos de mastócitos (HALGREN *et al.*, 2006).

Observamos uma elevada densidade de mastócitos na parede de tecido de granulação próximos, muitas vezes, à vasos sanguíneos (RAO & BROW *et al.*, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2011), contribuindo para a manutenção do processo inflamatório, uma vez que estas células, bem como neutrófilos e macrófagos modulam o recrutamento, fenótipo e função dos linfócitos que contribuem para a resposta inflamatória (METCALF *et al.*, 1997; MEKORE *et al.*, 1999; KASHIWAKURA *et al.*, 2004; MARSHALL *et al.*, 2004; GALLI *et al.*, 2005; GALLI

et al., 2005; MARONE et al., 2005; NAKAE et al., 2005; BRADDING et al., 2006; NAKAE, 2006; SUTO et al., 2006) , em resposta às células T efectoras e células dendríticas (MEKORI et al., 1999; SUTO et al., 2006), interagindo também com outras células T regulatórias (MEKORI et al., 1999; SUTO et al., 2006). No entanto, apesar dos mastócitos estarem aumentados durante a inflamação, outros autores discutem em certos casos o seu efeito protetor ou deletério por diferentes mecanismos (THEOHARIDES et al., 2004).

Um achado interessante observado, neste estudo, foi a concentração dos mastócitos na faixa fibrosa correspondente à cápsula fibrosa, embora não observássemos associação com o colágeno presente no tecido de granulação das lesões. Isso pode ser explicado pela ação mitógena para células epiteliais e fibroblastos por estas células, participando então do remodelamento tecidual (CAIRNS et al., 1996; SOMMERHOFF, 2001). Além disso, sabe-se que as células mastocitárias induzem fibrose como resultado da síntese de colágeno (PRUSSIH et al., 2003; ABEL et al., 2008). Provavelmente isso é devido à liberação de moléculas fibrogênicas tais como TGF- $\beta$ , PDGF, bFGF, VEGF e TIMPS (TEFFERI et al., 2007). Depreende-se desse estudo que a participação das células mastocitárias em mucocelos parece estar mais relacionada a perpetuação da reação inflamatória existente e ao remodelamento tecidual às custas de fibrose do que com os diferentes aspectos morfológicos que a lesão pode apresentar.

Os macrófagos também constituem importantes tipos celulares envolvidos no remodelamento tecidual de lesões crônicas, pois secretam moléculas moduladoras de processos inflamatórios (TONNESEN et al., 2000; MOUSSER et al., 2008), inclusive contra corpos estranhos e invasão de agentes microbianos (EL- ROUBY et al., 2010). No presente estudo, células CD 68 positivas foram observada em todos os espécimes de mucocelo oral (CHI et al., 2010), tanto no tecido de granulação, como também dentro do lúmen da cavidade pseudo-cística. Este achado foi semelhante ao relatado em outros estudos sobre mucocelos orais (SURGERMAN et al., 2000; SWELAN et al., 2005). Portanto, sabendo-se que esta lesão está frequentemente associada a trauma local, com conseqüente extravasamento de muco no tecido conjuntivo adjacente ao ducto rompido (NICO et al., 2008; SHAH et al., HAYASHIDA et al., 2010), estes macrófagos estão envolvidos tanto na fagocitose de muco e debris celulares, sendo por isso denominados de mucinófagos (KURODA, 1989).

Além dos macrófagos residentes, outra população destas células é recrutada, em resposta a níveis elevados de mediadores inflamatórios, tais como, fator de necrose tumoral (TNF), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), e interleucina-1 (IL-1), e tornam-se ativos para desempenharem seu papel na modulação de citocinas em associação com fibroblastos, contribuindo para a formação do tecido de granulação, (SMITH et al., 2006; CIBOROWSKI et al., 2007; RODERO et al., 2010), tecido este característicos de lesões de mucocele oral de extravasamento. Além disso, em fases mais avançadas de lesões inflamatórias crônicas, há uma transição dos fenótipos de macrófagos pró inflamatórios (M1) para anti-inflamatórios (M2), estes últimos diminuem inflamação, controlam a resposta imune tipo 1, induzem encapsulação e promovem neoangiogenese (MOUSSER et al., 2008; RODERO et al., 2010; BRECHT et al., 2011; DELAVARY et al., 2011; SINDRILARU et al., 2011). Apesar de utilizarmos um marcador para macrófagos (CD68), que não diferencia o fenótipo M1 do M2, pode-se especular que nas biópsias em que a lesão encontra-se no estágio inicial de desenvolvimento deve haver uma predominância dos macrófagos M1, possivelmente, em razão da fagocitose de muco extravasado ainda presente no microambiente tecidual, de tal forma que com o desenvolvimento da lesão, o fenótipo M2, provavelmente, seria o tipo predominante. Outros estudos devem ser realizados para tentar esclarecer este aspecto.

Os macrófagos são considerados as principais fontes de moléculas pró-inflamatórias tais como interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), fator de transformação do crescimento-beta (TGF- $\beta$ ) (GABAY et al., 2006), defensinas (FREDERIC et al., 2008) e metaloproteinases de matriz (PESCE et al., 2003). Devido à marcante presença de macrófagos em nossas amostras, é provável que moléculas pró-inflamatórias, secretadas por macrófagos, também possam estar presentes nesse ambiente, em consequência do recrutamento e persistência dos macrófagos na lesão. Adicionalmente, sabe-se que macrófagos secretam interleucinas, interferons, fator de necrose tumoral, fator de crescimento de fibroblastos e TGF- $\beta$ , o que torna evidente a participação dessa população celular na síntese de colágeno e remodelamento tecidual (ROBINS,), embora não fôssemos capazes de detectar associação entre macrófagos e o colágeno no tecido de granulação.

Evidências histológicas sugere um papel de enzimas proteolíticas no remodelamento tecidual da parede do tecido de granulação, em lesões de mucocelos orais, (HOQUE et al., 1998).

Metaloproteinases de matriz é um grupo bem regulado de proteases que desempenha um importante papel no remodelamento tecidual e degradação da matriz extracelular em processos angiogênicos (STEVENSON et al.,1999; SAITO et al., 2001), entre outros. Estas enzimas proteolíticas causam alteração estrutural e funcional dos componentes da matriz extracelular e são produzidas por uma variedade de tipos celulares, incluindo fibroblastos, macrófagos, neutrófilos e células endoteliais (HOQUE et al.,1998; STEVENSON et al.,1999; TCHOUGOUNOVA et al., 2011; CHOU et al., 2011).

A MMP-1 é uma enzima colagenolítica observada em áreas de remodelação tecidual quer fisiológica quer patológica, presente em fibroblastos, macrófagos, queratinócitos, células endoteliais, e outros tipos celulares e teciduais, cujos os substratos são os colágenos I especialmente, além dos colágenos II e III e componentes da matriz extracelular como fibronectina, laminina e tenascina (LYNCH; MATRISIAN, 2002; NABESCHIMA et al., 2002). Neste estudo, a MMP1 esteve presente no tecido de granulação em especial fibroblastos e células inflamatórias como macrófagos, demonstrando que esses componentes celulares são importantes fontes dessa colagenase, conforme relatam Shin et al. (2002), Pesce et al. (2003) e Ketelhut et al. (2011). A faixa fibrosa capsular também mostrou esta metaloproteinase, uma vez que as metaloproteinases regulam a deposição de matriz (BORDEN; HELLEE, 1997; GOMEZ et al., 1997; SAARIALHO, 1997; SAVAGE et al., 1997; TARLTON et al., 1997; MADLENER et al., 1998; SAARIALHO, 1998; SANG, 1998; PARKS, 1999; MURPHY; GAVRILOVIC, 1999; ARUMUGAM et al., 1999; KAHARI; NHOMEH et al., 1999; MA et al., 1999; KOSTOULAS et al., 1999; VAALAMO et al., 1999). Portanto, é possível que a MMP1 participe da remodelação tecidual desde os estágios iniciais até os mais tardios da lesões de mucocelo.

A MMP-9, ou gelatinase B é uma protease conhecida por desempenhar um importante papel na degradação da membrana basal (SAITO et al., 2001; PESCE et al., 2003; SANTOS et al.,2011), devido a sua capacidade para degradar o colágeno tipo IV (JOBIM et al., 2008; HENRIQUES et al., 2011). Em nossos casos, a MMP-9 apresentou



marcação imuno-histoquímica variável, presente na matriz extracelular, no tecido de granulação em fibroblastos e células inflamatórias, além daquelas presentes no lúmen e especialmente na região de faixa fibrosa capsular, quando presente. De acordo com Heidinger et al. (2006) e Henriques et al. (2011), células inflamatórias e epiteliais secretam essa MMP.

HOQUE *et al.*, 1998; SHAH *et al.*, 2003; SWELAM *et al.*, 2005; também observaram presença dessas MMPs em mucoceles orais. Neste sentido, ao considerarmos os resultados de ambas as MMP1 e MMP9 neste estudo, acreditamos que estas metaloproteinasas sejam reguladores importantes da migração celular e deposição de matriz, contribuindo para a expansão e desenvolvimento das lesões de mucoceles, uma vez que MMPs é um contribuidor chave para cronicidade de feridas (SHI L *et al.*, 2011). Esta hipótese parece ser verdadeira, uma vez que ao lado de TIMPs, as MMPs modulam a migração celular, inflamação e angiogênese, os quais representam eventos chaves na evolução do reparo de feridas, bem como feridas crônicas e cicatriz fibrosa (SALO *et al.*, 1994; SALAMONSEN, 1996; TARLTON *et al.* 1997 MADLENER *et al.*, 1998; SANG 1998; SAARIALHO 1998; ARUMUGAM *et al.*, 1999; PARKS 1999; MURPHY;GRAVILOVIC, 1999; NWOMEH *et al.*, 1999; KOSTOULAS 1999; VAALAMO *et al.*, 1999).

Angiogênese principalmente em adultos resulta do equilíbrio entre fatores pró e antiangiogênicos, sendo importante no desenvolvimento e reparo teciduais e homeostase (SHWORAK, 2004). Está implicada em uma série de eventos como, ciclo reprodutivo feminino, inflamação, reparo tecidual, crescimento, invasão e metástase tumoral (VEIKKOLA *et al.*, 1999; VASCONCELOS *et al.*, 2011), sendo o CD34 utilizado como marcador para a quantificação da microdensidade vascular em mucoceles (SWELAM *et al.*, 2005).

A alteração na microdensidade vascular em doenças crônicas pode ser resultado do aumento das necessidades metabólicas dos tecidos devido à superprodução de fatores de crescimento que estimulam o crescimento de novos vasos sanguíneos e remodelamento tecidual (OLSSON *et al.*, 2011). Estes novos vasos sanguíneos fornecem nutrientes necessários para a sustentação do metabolismo celular (TONNESEN *et al.*, 2000). Neste trabalho, todos os casos mostraram vasos CD34 positivos com diferença quantitativa média variável, o que mostra que em mucoceles orais há uma grande migração e mobilização de células CD34 provavelmente devido a

lesão ao tecido glandular salivar., contribuindo assim para o desenvolvimento da lesão. Swelam et al. (2005) também evidenciaram células CD34 positivas no lúmen de cistos de retenção do lábio inferior, destacando que a linhagem monocítica/macrofágica são as principais fontes de células endoteliais nestas lesões. Anghelina et al. (2006) demonstraram *in vitro* que macrófagos e monócitos, provenientes da circulação sanguínea, possuem a capacidade de diferenciarem-se em estruturas tipo capilares, aspecto este sugestivo da diferenciação em células endoteliais e formação de novos vasos sanguíneos. É importante comentar que a medida que se aproxima do lúmen cístico, as células CD34 positivas desapareciam, embora encontrássemos algumas dessas células presentes também neste compartimento cístico. É possível que o desaparecimento de células CD34 positivas seja devido ao remodelamento da lesão. Dessa forma, como descrito anteriormente macrófagos/monócitos influenciam associação entre células CD34 e macrófagos, uma vez que as últimas células descritas secretam uma variedade de fatores pró-angiogênicos (NAM et al., 2010).

Durante a degradação dos componentes da matriz extracelular, nos processos angiogênicos, é importante que haja uma ação de sinergismo entre diversas enzimas proteolíticas, como também de seus inibidores, (HOQUE et al., 1998; PESCE et al., 2003; HENRIQUES et al., 2011). A exemplo disso, em um estudo com camundongos deficientes de MMP-9, foi relatado que esta protease constitui um fator crítico na resposta a injúrias, e que sua ausência repercute no retardo da resposta inflamatória, além de diminuir os níveis de VEGF, principal mitógeno para células endoteliais. No entanto, nesse estudo não foi detectado alterações na microdensidade vascular nos extratos da ferida destes camundongos, sendo possível que outras MMPs sejam capazes de compensar a ausência da MMP-9 neste modelo (KYRIADES et al., 2010). Contudo, em outro estudo envolvendo MMPs, a adição de seus inibidores, naturais ou sintéticos, demonstraram uma correlação positiva entre níveis de MMPs e angiogênese (ARDI et al., 2007). Nosso trabalho está de acordo com o de Kyriades et al. (2010), pois não encontramos associação de MMP-9 com a microdensidade de vasos sanguíneos, nem com os outros componentes, aqui estudados, que constituem a lesão. No entanto, é possível que ambas as MMPs (-1 e -9) estejam atuando em sinergismo umas com as outras, bem como, com outros componentes necessários ao remodelamento da lesão. No entanto, outros estudos como aqueles envolvendo zimografia possam, de fato, esclarecer este aspecto.

O envolvimento das MMPs na degradação do colágeno é outro pré requisito de crucial importância para os processos angiogênicos. Para que ocorra a migração das células endoteliais e o desenvolvimento de novos capilares há dependência não só das células e citocinas presentes, mas também da produção e organização dos componentes da matriz extracelular, incluindo o colágeno, tanto no tecido de granulação, quanto na membrana basal endotelial (MENDONÇA et al., 2009). Neste estudo, a maioria dos casos mostrou marcação para o Picrosirius, onde se observou um predomínio de fibrose leve a moderada. O colágeno é importante na adesão celular, quimiotaxia e migração, cuja interação dinâmica com outros elementos celulares regula o remodelamento tecidual, durante crescimento, diferenciação, morfogênese e cicatrização de feridas em muitos estágios patológicos (MYLLYHARJU et al., 2004).

Além disso, a formação do tubo capilar é induzida pela adição de colágeno sobre a superfície de monocamada de células endoteliais (DONALD et al., 1989), sendo o colágeno tipo I importante nessa formação, apesar de outros autores relatarem que esse colágeno não promova a formação do lúmen a partir de células endoteliais (BRUANE et al., 2011). Segundo Boscolo et al. (2001) a produção de colágeno inicia-se a partir de 15 minutos após a injúria, sendo detectável de 4 a 7 dias de desenvolvimento. Contudo, no trabalho de Oricchio et al. (2011), um dia após crioinjúria, já foi possível observar alteração no padrão de marcação e distribuição do colágeno tipo I e III através de imuno-marcação, com padrão de intensidade maior para ambos os tipos de colágenos.

A densidade de mastócitos, em nosso estudo, foi estatisticamente significativa, quando correlacionados com a expressão de MMP-1. Este resultado pode estar relacionado com a capacidade que os mastócitos ativados possuem para iniciar a degradação da matriz extracelular pela ativação de pró-metaloproteinases de matriz, através da secreção de serino proteases armazenadas em seus grânulos, triptase e quimase, que ativam a ação proteolítica das MMPs, para desempenharem seu papel na proteólise da MEC (KOVANEN et al., 2009; MARGUELIS et al., 2009). Apesar desses resultados envolvendo a célula mastocitária e a expressão de MMP1, Girolamo et al. (2000), Milne et al. (2001) e Naeese et al. (2003) demonstraram esse achado no endométrio, na gengiva, no tecido sinovial e linhagem de células mastocitárias humanas, respectivamente. No entanto, embora Jeong et al. (2006) apontem para o envolvimento de células mastocitárias em condições cirróticas e de fibrose, os seus resultados mostraram um concentração maior de fibrose em ratos deficientes de

mastócitos do que no controle, uma vez que não havia células mastocitárias expressando MMP1 que pudesse degradar a matriz extracelular. Esses achados parecem ser conflitantes e, dessa forma, outros estudos devem ser realizados para esclarecer este aspecto. É importante mencionar que macrófagos também expressam MMP1, MMP-3, MMP-9, TIMP-1 e TIMP2 em outras lesões (SHAPIRO et al., 1992; GALIS et al., 1994; GALIS et al., 1995).

Em relação aos outros componentes aqui estudados não encontramos associação com os mastócitos.

De acordo com Anghelina et al., (2006) e Mousser et al. (2010), os macrófagos contribuem para a angiogênese, por secretarem VEGF (TAO et al., 2007; BRECHT et al., 2011) e por meio da produção de MMPs, que são capazes de degradar componentes da matriz extracelular, processos também importantes para a formação de novos vasos sanguíneos (SPEIDL et al., 2011). Obtivemos uma associação positiva entre macrófagos e MMP-1, além da presença de MMP-1 nestas células (PESCE et al., 2003). Especulamos que os macrófagos possam estar secretando MMP-1 ou ativando-a através da secreção de outras proteases que sejam ativadoras de MMPs.

Além dos macrófagos e MMPs, as células mastocitárias participam da angiogênese, acumulando-se em locais de neovascularização (GRUBER et al., 1995; WALGENBACH et al., 2002) por liberar Fator de crescimento fibroblástico básico (FGF-2), fator de células tronco, fator de crescimento vascular endotelial (VEGF), fator de crescimento epidérmico e fator de crescimento derivado de plaquetas (HIRIMATSU ; SHUJITODA, 2003). Do mesmo modo, as suas endopeptidases também tem ação pró-angiogênica (BLAIR et al., 1997; MURAMATSU et al., 2000) Embora, não tenhamos evidenciado diferença significativa entre as células mastocitárias e vasos CD34 positivos, acreditamos no envolvimento dessas proteínas e os mucocelos estudados aqui.

Por fim, este estudo contribuiu para o conhecimento dos mucocelos da boca em um Centro de Referência de Patologia Bucal no Estado da Bahia, destacando que a dinâmica de desenvolvimento da formação dessas lesões envolve migração e interação chave entre componentes celulares e da matriz extracelular importantes para a formação e remodelamento tecidual dos mucocelos.

## 7 CONCLUSÕES

Baseados nos resultados desse estudo, pode concluir que:

1. Os mucoceles da boca tem predileção pelo lábio inferior, sendo os seus aspectos clínico-patológicos semelhantes aos descritos na literatura. Adicionalmente, os seus aspectos morfológicos mimetizam as fases da inflamação culminando com a fibrose.
2. Os mastócitos são frequentes e parecem exercer papel importante na fibrose encontrada nos mucoceles orais, como demonstrada pelo Picrosírius e contribuem para a manutenção do microambiente inflamatório da lesão, especialmente, nos estágios iniciais, uma vez que desaparecem a medida que se aproximam do lúmen cístico.
3. Os macrófagos representa o componente celular mais freqüente nos mucoceles orais, contribuindo para a manutenção do microambiente inflamatório e fagocitose de muco, bem como para os diferentes aspectos morfológicos da lesão.
4. Ao lado dos mastócitos, macrófagos e vasos sanguíneos CD34 positivos, as metaloproteinases de matriz 1 e 9 contribuem para interação e migração dessas células, bem como para a formação, desenvolvimento e remodelamento tecidual dos mucoceles.
5. A grande mobilização de vasos sanguíneos, demonstrada pelo CD34, em todos os estágios da lesão, especialmente, nos estágios iniciais da lesão, indica que os mucoceles da boca poderia ser um modelo ideal para o estudo da angiogênese.
6. A densidade de mastócitos e macrófagos poderia induzir o remodelamento tecidual pelo recrutamento e ativação das MMPs em mucoceles orais.

Anexo 1. Dados clínicos dos 100 casos de mucoceles diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da UFBA no período de 2002 a 2010

Nº	Idade	Sexo	Cor	Consistência	Tamanho	Forma Clínica	Trauma	Impressão clínica	Diagnóstico Histopatológico
1	15	F	Rósea	Mole	2.0 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
2	8	M	Esbranquiçada	Mole	-	Circular	-	Mucocele	Mucocele
3	20	M	Rósea	Mole	0.9 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
4*	27	M	-	Mole	0.5 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
5	38	M	-	Mole	1.5 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
6*	-	F	Esbranquiçada	Firme	0.9 cm	Circular	-	Mucocele	Mucocele
7	21	M	-	Firme	1.0 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
8	24	F	Rósea	Mole	1.2 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
9*	11	M	-	-	-	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
10	24	M	Rósea	Mole	0.9cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
11*	10	M	Esbranquiçada	Mole	0.5 cm	Nódulo	-	-	Mucocele
12	13	F	Cinza	-	0.8 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
13	10	F	Rósea	Mole	0.8 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
14	12	M	Rósea	Firme	1.0 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
15*	16	F	-	-	1.0 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
16	-	F	-	-	2.0 cm	Bolha	-	-	Mucocele
17	11	M	-	Mole	2.0 cm	-	sim	Mucocele	Mucocele
18	21	M	-	Mole	1.5 cm	-	sim	Mucocele	Mucocele
19	6	M	Rósea	Mole	1.8 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
20	23	F	Avermelhada	Firme	1.1 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
21	35	F	Esbranquiçada	Mole	1.0 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
22	-	F	Rósea	Firme	1.2cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
23	-	F	Esbranquiçada	Firme	1.3 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
24	-	M	Esbranquiçada	Mole	1.0 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
25	31	M	Rósea	-	1.0 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
26	21	F	Transparente	-	0.6 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
27	30	F	Rósea	Mole	1.2 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
28	20	M	avermelhado	-	0.9 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
29*	52	F	Rósea	Firme	2.0 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
30	-	M	Azulada	Mole	0.4 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
31	20	M	Transparente	-	1.7 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
32	6	F	-	Mole	0.8 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
33	4	F	Esbranquiçada	Mole	0.6 cm	-	Sim	-	Mucocele
34	57	F	-	Mole	1.7 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
35	-	M	Rósea	-	1.2 cm	-	-	Fibroma	Mucocele
36	33	M	Esbranquiçada	-	0.4 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
37	32	M	Azulada	Firme	2.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
38	17	M	Rósea	Mole	1.0 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
39*	36	M	Rósea	Mole	1.0 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
40	23	F	Esbranquiçada	-	1.3 cm	Nodular	-	Mucocele	Mucocele
41*	28	M	Esbranquiçada	-	1.0 cm	Nódulo	-	Fibroma	Mucocele
42	15	M	Esbranquiçada	Mole	0.9 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
43	27	M	-	-	0.9 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
44	29	M	Azulada	Mole	2.2 cm	-	Sim	Mucocele	Mucocele

45	45	M	Rósea	Mole	2.0 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
46	24	F	Rósea	Mole	1.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
47	32	M	Azulada	Firme	0.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
48	-	F	-	-	3.0 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
49	22	M	-	Mole	1.3 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
50	24	M	-	Firme	1.3 cm	Nódulo	-		Mucocele
51	18	M	-	Firme	1.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
52	14	F	-	Mole	0.7 cm	-	-	-	Mucocele
53	19	F	-	-	1.1 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
54	42	M	-	-	0.7 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
55*	14	F	Avermelhado	Mole	0.5 cm	Nódulo	-	Fibroma traumático	Mucocele
56	57	M	-	-	0.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
57	31	M	-	-	2.2 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
58	4	M	-	-	0.4 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
59	15	M	-	-	0.8 cm	-	Sim	Mucocele	Mucocele
60	16	M	-	-	0.5 cm	Bolha	-	Fibroma/mucocele	Mucocele
61	15	M	-	-	0.9 cm	-	Sim	Mucocele	Mucocele
62	28	M	-	-	1.0 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
63	29	M	Rósea	-	1.0 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
64	31	M	-	-	0.4 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
65	23	M	-	Firme	1.1 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
66	44	M	-	-	0.6 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
67	33	M	-	-	0.7 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
68*	19	F	Rósea	Mole	0.9 cm	Nódulo	sim	Mucocele	Mucocele
69	21	F	-	-	0.6 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
70	-	M	Esbranquiçada	-	0.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
71*	42	M	Esbranquiçada	Firme	1.1 cm	Bolha	-	Mucocele	Mucocele
72	39	F	Esbranquiçada	Elástica	0.7 cm	Pápula	-	Cistoadenoma	Mucocele
73	15	F	Rósea	-	1.1 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
74	22	F	Parda	-	0.6 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
75*	-	M	-	-	0.7 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
76*	6	M	-	-	0.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
77	27	M	-	-	1.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
78	22	F	-	-	0.6 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
79*	14	M	-	Firme	0.7 cm	-	Sim	Fibroma	Mucocele
80	19	M	-	-	0.7 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
81*	43	M	-	-	0.6 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
82	50	M	Rósea	-	0.7 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
83	1.8	F	Azulada	Firme	1.2 cm	Nódulo	Sim	Mucocele	Mucocele
84	14	F	Azulada	-	1.5 cm	-	Sim	Mucocele	Mucocele
85	6	M	Azulada	-	0.8 cm	-	-	Mucocele	Mucocele

86	16	F	Rósea	-	1.1 cm	Pápula	-	Mucocele	Mucocele
87*	23	F	Translúcida	Elástica	1.2 cm	Bolha	Sim	Mucocele	Mucocele
88	16	M	Rósea	Firme	0.5 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
89	26	F	-	-	2.0 cm	-	-	Mucocele	Mucocele
90	5	M	-	Firme	1.1 cm	Nódulo	-	Mucocele	Mucocele
91	45	F	-	Mole	0.8cm	-	-	Rânula	Rânula
92	39	F	-	Mole	0.9cm	-	-	Rânula	Rânula
93	15	F	azulada	Mole	1.2 cm	-	-	Rânula	Rânula
94	19	M	-	-	1.5 cm	-	-	Rânula	Rânula
95	-	F	transparente	-	2.8 cm	-	-	Rânula	Rânula
96	-	F	-	-	1.3 cm	-	-	Rânula	Rânula
97	-	F	branco	-	3.0 cm	-	-	Rânula	Rânula
98	-	M	-	Mole	1.0 cm	-	-	Rânula	Rânula
99	-	-	-	-	-	-	-	Rânula	Rânula
100	25	M	-	Mole	1.0 cm	-	-	Rânula	Rânula



## Referências

Abel M & Vliagoftis H. Mast cell-fibroblast interactions induce matrix metalloproteinase-9 release from fibroblasts: role for IgE-mediated mast cell activation. *J Immunol.* 2008;180:3543–3550.

Alberts B, Bray D, Lewis J et al. *Biologia Molecular da Célula*, 5ª Edição, Artmed Editora. 2010.

Anastassov GE, Haiavy J, Solodnik P et al. Submandibular gland mucocele. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology.* 2000;89:159-163.

Andiran N, Sarikayalar F, Unal OF et al. Mucocele of the anterior lingual salivary glands: from extravasation to an alarming mass with a benign course. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2001;61(2):143-7.

Anghelina M, Krishnan P, Moldovan L et al. Monocytes/macrophages cooperate with progenitor cells during neovascularization and tissue repair-conversion of cell columns into fibrovascular bundle. *American journal of pathology.* 2006; 168:529- 541.

Ardi V, Kupriyanova TA, Deryugina EI et al. Human neutrophils uniquely release TIMP-free MMP-9 to provide a potent catalytic stimulator of angiogenesis. 2007; 104(51):20262-7.

Arumugam S, Jang YC, Chen-Jensen C et al. Temporal activity of plasminogen activators and matrix metalloproteinases during cutaneous wound repair. *Surgery.* 1999;125:587–93.

Ata-Ali J, Carrillo C, Bonet C et al. Oral Mucocele: Review of the Literature. *J Clin Exp Dent.* 2010;1:10-13.

Badylak S F. The extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction. *Seminars in cell & developmental biology.* 2002; 13: 377–383.

Baldo C, Jamora C, Yamanouye N et al. Mechanisms of Vascular Damage by Hemorrhagic Snake Venom Metalloproteinases: Tissue Distribution and In Situ Hydrolysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010; 4(6):e727.

Barbos-Lorenzi VC, Buranello PA, Roque-Barreira MC et al. The lectin ArtinM binds to mast cells inducing cell activation and mediator release. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;16;416(3-4):318-24.

Barros SS, Henriques AC, Pereira KM. Immunohistochemical expression of matrix metalloproteinases in squamous cell carcinoma of the tongue and lower lip. *Archives of oral biology*. 2011;56(8):752-60.

Bauer SM, Bauer RJ, Liu Z et al. Vascular endothelial growth factor-c promotes vasculogenesis, angiogenesis, and collagen contraction in three-dimensional collagen gels. *Journal of vascular surgery*. 2005; 41: 600-707.

Bermejo A, Aguirre JM, López P et al. Superficial mucocele. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999; 88:469-7.

Blair RJ, Meng H, Marchese MJ et al. Human mast cells stimulate vascular tube formation. Tryptase is a novel, potent angiogenic factor. *J Clin Invest*. 1997;99: 2691-700.

Bornstein P & Sage H. Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Cell biology*. 2002; 14:608-616.

Borden P & Heller RA. Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1997;7:159-78.

Boyce JA & Boston MD. Mast cells: beyond Ige. *J allergy clin immune*. 2003; 111: 24-32.

Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:1277–1284.

Brecht K, Weigert A, Hu J et al. Macrophages programmed by apoptotic cells promote angiogenesis via prostaglandin E2. *The FASEB Journal*. 2011;24: 2408- 2417.

Breen EC. VEGF in Biological Control. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2007; 102:1358–1367.

Cairns JA & Walls AF. Mast cell tryptase is a mitogen for epithelial cells. Stimulation of IL-8 production and intercellular adhesion molecule-1 expression. *J Immunol*.1996;156:275–283.

Cairns JA & Walls AF. Mast Cell Tryptase Stimulates the Synthesis of Type I Collagen in Human Lung Fibroblasts. *J. Clin. Invest*. 1997; 99: 1313–1321.

Campana F, Sibaud V, Chauvel A et al. Recurrent Superficial Mucoceles Associates With Lichenoid Disorders. *J Oral Maxillofac Surg*. 2006; 64:1830-1833.

Catoldo E & Mosadomi A. Mucoceles of the oral mucous membrane. *Arch Otolaryngol*. 1970;91(4):360-5.

Cecconi DR , Achilli A, Tarozzi M et al. Mucoles of the oral cavity: A large case series (1994-2008) and a literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010;15:427-431.

Chen JY, Wang WC, Chen YK. A retrospective study of trauma-associated oral and maxillofacial lesions in a population from southern Taiwan. *J Appl Oral Sci*. 2010;18(1):5-9.

Chi AC, Haigney RJ, Spagnoli DB et al. Papillary synovial metaplasia-like change in oral mucoceles: a rare and previously undescribed histopathologic

variant of a common oral lesion. *Surg oral med oral pathol radiol endod.* 2010;109:268-273.

Chi AC, Lambert PR, Richardson MS et al. Oral mucoceles: a clinicopathologic review of 1,824 cases, including unusual variants. *J oral maxillofac surg.* 2010; 1086-93.

Ciborowski P, Kadiu I, Rozek W et al., Investigating the human immunodeficiency virus type one-infected monocyte-derived macrophage secretome. *Virology.* 2007;1: 198–209.

Clark RAF. Wound repair. Overview and general consideration. In:Clark RAF, ed. *The molecular biology of wound repair.* 2nd ed. New York: Plenum Press, 1996:3–50.

Cohen L. Mucoceles of the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1965;19:365-72.

Crivellato EA, Travan L, Ribatti D. Mast cells and basophils in inflammatory angiogenesis. *Int arch allergy immunol.* 2010;151:89–97.

de Camargo Moraes P, Bönecker M, Furuse C. Mucocele of the gland of Blandin-Nuhn: histological and clinical findings. *Clin Oral Investig.* 2009;13(3):351-3.

Delavary BM, Veer WM, Egmond MV et al. Macrophage in skin and repair. *Immunobiology.* 2011; 753-762.

Demir R, Yaba A, Huppertz B et al. Vasculogenesis and angiogenesis in the endometrium during menstrual and implantation. *Acta histochemica.* 2010; 112:203-214.

Diaconu NC, Rummukainen J, Naukkarinen A et al. Mast cell chymase is present in uterine cervical carcinoma and it detaches viable and growing cervical squamous carcinoma cells from substratum in vitro. *Arch dermatol res.* 2011; 303(7):499-512.

- Edwards JP, Zhang X, Frauwirth K et al. Biochemical and functional characterization of three activated macrophage population. *J. Leukoc. Biol.* 2006;80:1298-1307.
- El-Rouby DH. Association of macrophages with angiogenesis in oral verrucous and squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 2010;39(7):559-64.
- Enoksson M, Lyberg K, Westerberg C et al. Mast cells as sensors of cell injury through il-33 recognition. *The journal of immunology.* 2011;186: 2523- 2528.
- Espinoza I, Rojas R, Aranda W. Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. *J Oral Pathol Med.* 2003;32(10):571-5.
- Exposito JY, Valcourt U, Cluzel C et al. The fibrillar collagen family. *Int. J. Mol. Sci.* 2010;407-426.
- Ezhilarasan R, Jadhav U, Mohanam I et al. The hemopexin domain of MMP-9 inhibits angiogenesis and retards the growth of intracranial glioblastoma xenograft in nude mice. *Int J Cancer.* 2009;15:306–315.
- Filho GB, Reis LFL, Barbosa AJA. Bogliolo, Patologia. 8 edição. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 2010.
- Franco MB, Montenegro MR, Brito T et al. *PATOLOGIA - Processos Gerais – 5°ed.*
- Frederic MK, Yamaai T, Mizukawa N et al. Expression of human  $\beta$ -defensin -1, -2, and -3 in non-inflamed pseudocyst, mucoceles. *Oral Diseases.* 2008;14:652-657.
- Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Research & Therapy.* 2006; 8(Suppl 2):S3.

Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW and Libby P: Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1994;94: 2493-2503.

Galis ZS, Sukhova GK, Kranzhofer R et al. Macrophage foam cells from experimental atheroma constitutively produce matrix-degrading proteinases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92: 402-406.

Galli SJ, Nakae S, Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol.* 2005;6:135–142.

García JY, Tost AJE, Aytés LB et al. Treatment of oral mucocele - scalpel versus CO2 laser. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2009; 14 (9):469-74.

Girolamo ND & Wakefield D. In vitro and in vivo Expression of Interstitial Collagenase/MMP-1 by Human Mast Cells. *Developmental Immunology.* 2000; 7: 131-142;

Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol.* 1997;74:111–22.

Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nat Rev Immunol* 2003;3:27-35.

Granholm C, Olsson BK, Walhjalt H. Oral mucoceles; extravasation cysts and retention cysts. A study of 298 cases. *Swed Dent J.* 2009;33(3):125-30.

Gruber BL, Marchese MJ, Kew R. Angiogenic factors stimulate mastcell migration. *Blood.* 1995;86:2488–93.

Guimarães MS, Hebling J, Filho VA et al. Extravasation mucocele involving the ventral surface of the tongue (glands of Blandin-Nuhn). *Int Journal of Pediatric Dentistry.* 2006;16:435-439.

Hallgren J & Pejler G. Biology of mast cell tryptase an inflammatory mediator. *Febs journal.* 2006; 273:1871–1895.

- Haraway GD. The Extracellular Matrix in Wound Healing. Healthpoint.2010.
- Harold D & Baurmash. Mucoceles and ranulas. J oral maxillofac surg. 2003;61: 369-378.
- Hayashida A, Zerbinatti D, Balducci I et al. Mucus extravasation and retention phenomena: a 24-year study. BMC Oral Health. 2010;10:15.
- Heidinger M, Kolb H, Krell HW et al. Modulation of autocrine TNF- $\alpha$ -stimulated matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) expression by mitógeno-activated protein kinases in THP-1 monocytic cells. Biological Chemistry. 2006;387:69-78.
- Henry CR, Nace M, Helm KF. Collagenous spherulosis in an oral mucous cyst. J Cutan Pathol. 2008;35(4):428-30.
- Hiromatsu Y & Toda S. Mast cell and angiogenesis. Microscopy research and technique. 2003; 60:64–69.
- Hoque MO, Azuma M, Sato M et al. Significant correlation between matrix metalloproteinase activity and tumor necrosis factor- $\alpha$  in salivary extravasation mucoceles. J oral pathol Med. 1998;27:30-33.
- Horie N, Shimoyama T, Ide F et al. Myospherulosis of the lower lip. Int J. Oral Maxillofac. 1993; 22: 234-235.
- Ide F & Kusama K. Myxoglobulosis-like change in a lower lip mucocele. Histopathology. 2002;40(6):575-6.
- Inoue A, Ikeda S, Mizuno Y et al. Superficial Mucoceles of the Soft Palate. Dermatology. 2007; 210:360-362.
- Jani DR, Chawda J, Sundaragiri SK. Mucocele - a study of 36 cases. Indian J Dent Res. 2010;21(3):337-40.

Jeong W-IL et al. Kinetics of MMP-1 and MMP-3 Produced by Mast Cells and Macrophages in Liver Fibrogenesis of Rat. *ANTICANCER RESEARCH* 26: 3517-3526 (2006).

Jin YJ, Park I, Hong IK et al. Fibronectin and vitronectin induce AP-1-mediated matrix metalloproteinase-9 expression through integrin  $\alpha 5\beta 1/\alpha v\beta 3$ -dependent Akt, ERK and JNK signaling pathways in human umbilical vein endothelial cells. *Cellular Signalling*. 2011;23:125–134.

Jinbu Y, Kusama M, Itoh H et al. Mucocele of the glands of Blindin-Nuhn: Clinical and histopathologic analysis of 26 cases. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003; 95:467-470.

Jobim FC. Expressão da MMP-9 e do VEGF no câncer de mama: correlação com outros indicadores de prognóstico. *Rev bras ginecol obstet*. 2008;30(6):287-93.

Joghetaei N, Akhyari P, Rauch BH et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer (cd147) and membrane type 1-matrix metalloproteinase are expressed on tissue macrophages in calcific aortic stenosis and induce transmigration in an artificial valve model. *The journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2010; 142(1):191-8.

Kahari VM & Saarialho KU. Matrix metalloproteinases in skin. *Exp Dermatol*. 1997;6:199–213.

Kaloglu & Onarlioglu B. Extracellular matrix remodelling in rat endometrium during early pregnancy: The role of fibronectin and laminina. *Tissue and Cell*. 2010; 42: 301–306.

Kampf C & Jansson L. Mast cells accumulate in the renal capsule adjacent to transplanted pancreatic islets in rats. *Cell biology international*. 2006; 30:1054-1055.

Kashiwakura J, Yokoi H, Saito H et al. T cell proliferation by direct cross-talk between OX40 ligand on human mast cells and OX40 on human T cells:



comparison of gene expression profiles between human tonsillar and lung-cultured mast cells. *J Immunol.* 2004;173:5247–5257.

Ketelhuth DF & Bäck M. The Role of Matrix Metalloproteinases in Atherothrombosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2011; 13:162–169.

Kerkelä E & Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer. *Exp Dermatol.* 2003;12: 109–125.

Kessenbrock k, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell.* 2010; 141: 53-67.

Kopp WK & St-Hilaire H. Mucosal preservation in the treatment of mucocele with CO2 laser. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62(12):1559-61.

Kostoulas G, Lang A, Nagase H et al. Stimulation of angiogenesis through cathepsin B inactivation of the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. *FEBS Lett.* 1999;455:286–90.

Kovanen. Mast cells in atherogenesis: actions and reactions. *Curr Atheroscler Rep.* 2009;11(3):214-9.

Krecicki T, Fraczek M, Jelen M et al. Expression of collagenase-1 (MMP-1), collagenase-3 (MMP-13) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in laryngeal squamous cell carcinomas. *Eur arch otorhinolaryngol.* 2003; 260:494 - 497.

Kumar C, Staton CA, Cross SS et al. Angiogenesis, vascular endothelial growth factor and its receptors in human surgical wounds. *British journal of surgery.* 2009; 96: 1484–149.

Kuroda N. Histopathological and immunohistochemical studies on mucous cysts. 1989;18(3):337-59.

Kyriakides TR, Wulsin D, Skokos EA et al. Mice that lack matrix metalloproteinase-9 display delayed wound healing associated with delayed reepithelization and disordered collagen fibrillogenesis. *Matrix Biol.* 2009;28(2):65-73.

Larsen M, Artym VV, Green JA et al. The matrix reorganized: extracellular matrix remodeling and integrin signaling. *Current opinion in cell biology.* 2006;18:463-471.

Leonardi R & Loreto C. Immunohistochemical localization of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in human carious dentine. *Acta histochemica.* 2010; 112: 298 - 302.

Li TJ, Kitano M, Yoshida A et al. Myxoglobulosis in na extravasation mucocele of the lower lip. *J Oral Pathol Med.* 1997; 26:342-344.

Lima RR. White matter injury and neurodegenerative diseases. *Revista paraense de medicina;* 2006.

Lynch CC & Matrisian LM. Matrix metalloproteinases in tumor-host cell communication. *Differentiation.* 2002;70(9-10):561-73.

Ma C, Tarnuzzer RW, Chegini N. Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases in mesothelial cells and their regulation by transforming growth factor  $\alpha$ . *Wound Rep. Wound Repair Regen.* 1999;7(6):477-85.

McCawley LJ & Matrisian LM. Matrix Metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! *Current Opinion in Cell Biology.* 2001; 3:534-540.

McDonald DM. Angiogenesis and remodeling of airway vasculature in chronic inflammation. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2001; 164:39-45.

Madlener M, Parks WC, Werner S. Matrix metalloproteinases (MMPs) and their physiological inhibitors (TIMPs) are differentially expressed during excisional skin wound repair. *Exp Cell Res*. 1998;242:201–10.

Majno G & Joris I. Wound healing. In: cells, tissues, and disease: principles of general pathology. 2ª edição. Blackwell Science: EUA.2004.

Maltby S, Khazaie K, McNagny KM et al. Mast cell in tumor growth: angiogenesis, tissue remodeling and immune-modulation. *Biochimica and biophysica acta*. 2009;19-26.

Margulis A, Nocka KH, Brennan AM. Metalloproteases, and Serine Proteases Gels: Influence of Cytokines, Matrix Airway Smooth Muscle Cell-Containing Collagen Mast Cell-Dependent Contraction of Human. *J Immunol*. 2009;183:1739-1750.

Marone G, Triggiani M, Genovese A et al. Role of human mast cells and basophils in bronchial asthma. *Adv Immunol*. 2005;88:97–160.

Marshall JS. Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2004;4:787–799.

Martins-Filho PR, Santos TS, da Silva HF. A clinicopathologic review of 138 cases of mucoceles in a pediatric population. *Quintessence Int*. 2011;42(8):679-85.

Mendonça & Neto. Aspectos celulares da cicatrização. *An Bras Dermatol*. 2009;84(3):257-62.

Menezes DJB, Carvalho VG, Gromatzky A et al. The Influence of The Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Periodontal and Peri-Implantar Disease. *Odontologia. Clín.-Científ, Recife*. 2009; 8: 99-103.

Mekory YA. The mastocyte: the “other” inflammatory cell in immunopathogenesis. *Allergy clin immunol*. 2004;114:52-57.

Metcalf DD, Baram D, Mekori YA et al. Mast cells. *Physiol. Rev.* 1997; 77(4):1033-79.

Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2004; 36: 1031–1037.

Milne AS, Rakhyoot A, Drudy TA et al. Co-localization of matrix metalloproteinase-1 and mast cell tryptase in the human uterus. *Mol Hum Reprod.* 2001;7(6):559-65.

Mínguez-Martinez, Bonet-Coloma C, Ata-Ali-Mahmud J et al. Clinical Characteristics, Treatment, and Evolution of 89 Mucoceles in Children. *J Oral Maxillofac Surg.* 2010; 68:2468-2471.

Moriye K, Bae E, Honda K, et al. Fibronectin dependent mechanism of collagen fibrillogenesis in adult liver remodeling, gastroenterology. 2011;140(5):1653-63.

Mousser D & Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. [www.nature.com/reviews/immunol](http://www.nature.com/reviews/immunol). 2008; 8:958-967.

Muramatsu M, Katada J, Hattori M et al. Chymase mediates mast cell-induced angiogenesis in hamster sponge granulomas. *Eur J Pharmacol.* 2000;402:181–91.

Murphy G & Gavrilovic J. Proteolysis and cell migration: creating a path? *Curr Opin Cell Biol* 1999;11:614–21.

Murphy G. Fell-Muir Lecture: Metalloproteinases: from demolition squad to master regulators. *Int. J. Exp. Path.* 2010; 91:303-313.

Mustapha IZ & Boucree S. Mucocele of the Upper Lip: Case Report of an Uncommon Presentation and Its Differential Diagnosis. *J Can Dent Assoc.* 2004; 70(5):318-21.

Myllyharju J & Kivirikko KI. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms. *TRENDS in Genetics*. 2004;20: 33-43.

Nabeshima K, Inoue T, Shimao Y et al. Matrix metalloproteinases in tumor invasion: Role for cell migration. *Pathology International*. 2002; 52: 255–264;

Naesse EP, Schreurs O, Helgeland K et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival mast cells in persons with and without human immunodeficiency virus infection. *J Periodontal Res*. 2003; 38: 575-582.

Nagase H & Woessner JF. Matrix Metalloproteinases. *The Journal of Biological Chemistry*. 1999; 31: 21491–21494.

Nakae S, Suto H, Kakurai M et al. Mast cells enhance T cell activation: importance of mast cell-derived TNF. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:6467–6472.

Nakae S, Suto H, Berry GJ et al. Mast cell derived TNF can promote Th17 cell-dependent neutrophil recruitment in ovalbumin-challenged OTII mice. *Blood*. 2006;

Nakae S, Suto H, Iikura M et al. Mast cells enhance T cell activation: importance of mast cell costimulatory molecules and secreted TNF. *J Immunol* 2006;176:2238–2248.

Nam EH, Park SR, Kim PH. TGF- $\beta$ 1 induces mouse dendritic cells to express VEGF and its receptor (flt-1) under hypoxic conditions. *Exp. Mol. Med*. 2010;42:606-613.

Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Patologia Oral e Maxilofacial*. 3ª edição. Elsevier: Rio de Janeiro. 2009.

Nico MMS, Park JH, Lourenço SV. Mucocele in Pediatric Patients: Analysis of 36 Children. *Pediatric Dermatology*. 2008; 25:308-311.

Nwomeh BC, Liang HX, Cohen IK, Yager DR. MMP-8 is the predominant collagenase in healing wounds and nonhealing ulcers. *J Surg Res* 1999;81:189–95.

Nonaka CFW, Maia AP, Nascimento GJ et al. Immunoexpression of vascular endothelial growth factor in periapical granulomas, radicular cysts, and residual radicular cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008;106:896-902.

Ntomouchtsis A, Karakinaris G, Poulolopoulos A. Benign lip lesions. A 10-year retrospective study. *Oral Maxillofac Surg*. 2010;14(2):115-8.

Oliveira DT, Consolaro A, Freitas FJ. Histopathological Spectrum of 112 cases of Mucocele. *Barz Dente J*. 1993; 4(1): 29-36.

Ohta N, Fukase S, Suzuki Y et al. Treatment of salivary mucocele of the lower lip by OK-432. *Auris Nasus Larynx*. 2011;38(2):240-3.

Paternostro C, David E, Novo E et al. Hypoxia, angiogenesis and liver fibrogenesis in the progression of chronic liver diseases. *World J Gastroenterol*. 2010;16 (3): 281-288.

Parks WC. Matrix metalloproteinases in repair. *Wound Rep Regen*. 1999;7:423–32.

Pesce C, Clapasson A, Valente S et al. Tissue repair and remodelling in extravasation mucocele. *Histopathology*. 2003;42:510-517.

Prussin C & Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Aller Clin Immunol*. 2003;111:486–494.

Raitz R. Extracellular matrix role on the wound healing of oral lesions. *Rev Inst Ciênc Saúde*. 2008; 26(3):351-6.

Rao K & Brown MA. Multifaceted immune cells with diverse roles in health and disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008; 1143:83-104.

Ravi D, Ramadas K, Mathew BS. Angiogenesis during tumor progression in the oral cavity is related to reduced apoptosis and high tumor cell proliferation. *Oral Oncol.* 1998;34(6):543-8.

Ribatti D, Vacca A, Nico B et al. Bone marrow angiogenesis and mast cell density increase simultaneously with progression of human multiple myeloma. *Br J Cancer.* 1999;79: 451–455.

Ribatti D & Crivellato E. Mast cells, angiogenesis, and tumour growth. *Biochimica et biophysica acta.* 2012; Jan;1822(1):2-8.

Ribeiro R.I.M. Expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in basal cell carcinoma. *J Bras Patol Med Lab.* 2008;44:115-121.

Rifkin DB. Latent transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) binding proteins: orchestrators of TGF- $\beta$  availability. *J Biol Chem.* 2005; 280:7409-12.

Robbins S, Kumar V, Abbas. *Patologia - Bases Patológicas das Doenças.* 8<sup>o</sup> Edição. Elsevier: Rio de Janeiro. 2010.

Rodero MP & Khosrotehrani K. Skin wound healing modulation by macrophages. *Int j clin exp pathol.* 2010; 3(7):643-653.

Rodríguez D, Morrison CJ, Overall CM et al. Matrix metalloproteinases: what do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. *Biochimica et biophysica acta.* 2010;1803, 39–54.

Ross JA & Auger MJ. The biology of macrophage. In: Burke B, Lewis CE, editors. *The macrophage.* UK: Oxford University Press. 2002.

Saarialho-Kere UK. Patterns of matrix metalloproteinase and TIMP expression in chronic ulcers. *Arch Dermatol Res.* 1998;290[Suppl]:S47

Saito S, Trovato MJ, You R. Role of matrix metalloproteinases 1, 2, and 9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in chronic venous insufficiency. *J Vasc Surg.* 2001;34(5):930-8.

Salamonsen L. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in endometrial remodeling and menstruation. *Reprod Med* 1996;53:185–203.

Salo T, Makela M, Kylmaniemi M et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 during early human wound healing. *Lab Invest* 1994;70:176–82

Sampaio CPP . Alterações inflamatórias provocadas pelo metronidazol em feridas: estudo experimental em ratos. *J Vasc Bras.* 2009;8: 232-237.

Sang QX. Complex role of matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Cell Res.* 1998; 8:171–7.

Santo PPA, Aquino ARL, Barreto AO et al. Immunohistochemical expression of nuclear factor kB, matrix metalloproteinase 9, and endoglin (CD105) in odontogenic keratocysts, dentigerous cysts, and radicular cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112:476-483.

Savage FJ, Lacombe DL, Boulos PB et al. Role of matrix metalloproteinases in healing of colonic anastomosis. *Dis Colon Rectum.* 1997;40:962–70.

Schin SJ, Lee JI, Baek SH et al. Tissue Levels of Matrix Metalloproteinases in Pulp and Periapical Lesions. *Journal of Endodontics.* 2002; 28: 313–315.

Seifert G, Donath K, Gumberz VC. Mucoceles of the minor salivary glands. Extravasation mucoceles (mucus granulomas) and retention mucoceles (mucus retention cysts). *HNO.* 1981;29(6):179-91.

Shah KA. Myxoglobulosis in oral extravasation mucocele: an entity? *Histopathology.* 2003; 43:291-296.



Shaker SA, Ayuob NN, Hajrah NH. Cell talk: a phenomenon observed in the keloid scar by immunohistochemical study. *Appl immunohistochem mol morphol*. 2011; 19(2):153-9.

Shapiro SD, Kobayashi DK, Welgus HG. Identification of TIMP-2 in human alveolar macrophages: regulation of biosynthesis is opposite to that of metalloproteinases and TIMP-1. *J Biol Chem*. 1992;267: 13890-13894.

Sharma B, Sriram G, Saraswathi TR et al. Immunohistochemical evaluation of mast cells and angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *Indian j dent res*. 2010; 21:260-5.

Shi L, Ramsay S, Ermis R et al. In vitro and in vivo studies on matrix metalloproteinases interacting with small intestine submucosa wound matrix. *nt Wound J*. 2012;9(1):44-53.

Shworak NW. Angiogenic modulators in valve development and disease: does valvular disease recapitulate developmental signaling pathways. *Curr Opin Cardiol*. 2004; 19:140–146.

Sindrilaru A, Peters T, Wieschalka S et al. An unrestrained proinflammatory M1 macrophage population induced by iron impairs wound healing in humans and mice. *The Journal of Clinical Investigation*. 2011;121(3):985- 997.

Sirimarco MT, Zucoloto S, Aprille F et al. Estudo comparativo dos efeitos de dois corticosteróides sintéticos, Deflazacort e Prednisona, na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos. *Rev bras Coloproct*. 2001; 21: 167-195.

Smith JW, Gamelli RL, Jones SB et al. R. Immunologic responses to critical injury and sepsis. *J intensive care med*. 2006; 21: 160.

Sommerhoff CP. Mast cell tryptases and airway remodeling. *Am J Respir Crit Care Me*. 2001;164:52–58.

Sörbo J, Jakobsson A, Norrby K. Mast cell histamine is angiogenic through receptors for histamine 1 and histamine 2, *int. J. Exp. Pathol.* 1994;75:43–50.

Souza IR, Fonseca-Silva T, Santos CC et al. Association of mast cell, eosinophil leucocyte and microvessel densities in actinic cheilitis and lip squamous cell carcinoma, *histopathology.* 2010;57: 796–805.

Speidl WS, Kastl SP, Hutter R et al. The complement component C5a is present in human coronary lesions in vivo and induces the expression of MMP-1 and MMP-9 in human macrophages in vitro. *FASEB J.* 2020; 201125(1):35-44.

Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. “Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds”. *The american journal of surgery.* 1998; 176:265-385.

Staples KJ, Sotoodehnejadnematalahi F, Pearson H et al. Monocyte-derived macrophages matured under prolonged hypoxia transcriptionally upregulate hif-1 $\alpha$  mrna. 2011; 216(7):832-9.

Stevenson WGS. Matrix metalloproteinases in angiogenesis:a moving target for therapeutic intervention. *The Journal of Clinical Investigation.* 1999; 103(9)1237-1241.

Sugerman PB, Savage NW, Young WG. Mucocele of the anterior lingual salivary glands (glands of Blandin and Nuhn): report of 5 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000; 90(4):478-82.

Suto H, Nakae S, Kakurai M et al. Mast cell-associated TNF promotes dendritic cell migration. *J immunol.* 2006; 176:4102–4112.

Swelam W, Yonemochi HI, Saku T. Angiogenesis in mucous retention cyst? A human in vivo-like model of endothelial cell differentiation in mucous substrate. *J oral pathol med.* 2005; 34:30-38.

Sybele K & Bütow KW. Oral mucoceles and ranulas may be part of initial manifestations of HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2010;26(10):1075-8.

Tao X, Huang Y, Li R et al. Assessment of local angiogenesis and vascular endothelial growth factor in the patients with atrophic-erosive and reticular oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;103:661-9.

Tarlton JF, Vickery CJ, Leaper DJ et al. Postsurgical wound progression monitored by temporal changes in the expression of matrix metalloproteinase-9. *Br J Dermatol* 1997;137:506–16.

Tchougounova E, Lundequist A, Fajardo I. A Key Role for Mast Cell Chymase in the Activation of Pro-matrix Metalloprotease-9 and Pro-matrix metalloprotease-2. *The journal of biological chemistry*. 2005; 280(10) 9291–9296.

Tefferi A. Pathogenesis of myelofibrosis with myeloid metaplasia *J. Clin. Oncol*. 2005; 23:8520–8530;

Theoharides TC & Conti P. Mast cells: the JEKYLL and HYDE of tumor growth. *Trends Immunol*. 2004;25:235–241.

Tonnesen MG, Feng X, Clark RA et al. Angiogenesis in wound healing. *Jid symposium proceedings*. 2000; 5: 40-46.

Ullrich JE. The de-adhesive activity of matricellular proteins: is intermediate cell adhesion an adaptive state?. *The journal of clinical investigation*. 2001;107:785-790.

Vaalamo M, Leivo T, Saarialho-Kere U. Differential expression of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1, -2, -3, and -4) in normal and aberrant wound healing. *Hum Pathol*. 1999; 30:795–802.

Vasconcelos MG, Alves PM, Vasconcelos RG et al. Expression of cd34 and cd105 as markers for angiogenesis in oral vascular malformations and pyogenic granulomas. *Eur arch otorhinolaryngol*. 2011; 268(8):1213-7

Veikkola T & Alitalo KU. VEGFs, receptors and angiogenesis. *Seminars in cancer biology*. 1999; 9: 211-220.

Visse R & Nagase H. Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases: Structure, Function, and Biochemistry. *Circulation Research*. 2003;2: 827-838.

Walgenbach KJ, Gorospe JR, Gratas C et al. A potential role for mast cells in the release of bFGF from normal myocytes during angiogenesis in vivo. *J Invest Surg*. 2002;15:153–62.

Wu CW, Kao YH, Chen CM. Mucoceles of the oral cavity in pediatric patients. *Kaohsiung J Med Sci*. 2011;27(7):276-9.

Xu GZ, Yang C, Yu CQ. Multiple superficial mucoceles on lower lip, soft palate, retromolar region, and floor of mouth. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010; 68(10):2601-3.

Zyada MM. Expression of matrix metalloproteinase-9 and significance of a macrophage assay in eosinophilic granuloma, *annals of diagnostic pathology*. 2009;13: 367–372.