

**4- Resultados**

Os exames histológicos mostram uma grande variedade de estruturas tecidulares ao nível dos tecidos epitelial e conjuntivo. Neste estudo verificaram-se os seguintes resultados:

Nos indivíduos com prescrição de vitamina C, observam-se múltiplos sinais de diferenciação celular particularmente ao nível do epitélio, com especial ênfase nas células das camadas superficiais (Fig. 3). A partir dos cortes histológicos do epitélio oral, fica evidente que o tecido apresenta um padrão bem organizado de maturação e sucessivas camadas que contêm células de diferenciação crescente (ou seja, estágios progressivos de maturação) (Fig. 1, 13 e 14).

Algumas células apresentam núcleos picnóticos (Fig. 12) e bem delimitados. Na transição entre o epitélio e o conjuntivo observa-se uma camada basal com células cubóides ou colunares, adjacentes à lâmina basal. Acima desta, estão diversas filas de células maiores elípticas ou esféricas. Apresentam uma boa relação núcleo-citoplasmática, contornos irregulares e um estroma adjacente tipicamente irregular (Fig. 4 e 7). Ao corte, observam-se por vezes pequenos ninhos de células de origem mesenquimatosa (Fig. 5, 6, 20, 21). Na camada papilar mais superficial, as fibras de colagénio são delgadas, densamente organizadas e com muitas alças capilares de contornos sinuosos (Fig. 15 e 16). Na zona mais fibrilar, observam-se espaços reticulares frequentemente com a presença de fibras de colagénio organizadas em espessos feixes que tendem a ser paralelos ao plano superficial (Fig. 19 e 22). Por serem longas e de trajecto tortuoso, as fibras de colagénio, apresentam uma morfologia por vezes de tradução difícil nos cortes histológicos. As fibras, tangentes ao corte, aparecem como estruturas alongadas cujas extremidades se perdem entre os outros elementos do tecido. Têm diâmetro variável entre 1 a 20  $\mu\text{m}$  e mostram uma estriação longitudinal típica, regular, deixando perceber a sua constituição de origem fibrilar, particularmente observada na ultraestrutura (Fig. 29). As fibrilas de colagénio apresentam uma estriação transversal típica, sendo facilmente identificadas em microscópio electrónico (Fig. 34 e 35). Cada período da estriação é formado por duas faixas, uma clara e outra escura (Fig. 29 e 35). As faixas escuras fixam maior quantidade de substância contrastante usada na

impregnação para microscopia electrónica, pois possuem maior número de agrupamentos químicos livres do que as faixas claras. Observadas a microscópio óptico, as fibras de colagénio são acidófilas, corando-se de cor rósea pela técnica de hematoxilina - eosina e de verde pela de Masson (Fig. 19).

Na imagem de microscopia electrónica observam-se o aspecto típico de colagénio tipo I, a variedade mais comum (Fig. 35). Verifica-se também a presença de detalhes celulares nos fibroblastos e a presença de alguns vasos sanguíneos. Os fibroblastos activos surgem rapidamente no processo de cicatrização de feridas, como se pode apreciar nas imagens das lâminas histológicas das figuras 31, 32 e 33. Localizam-se em íntima associação com os feixes de colagénio, colocando-se paralelamente ao eixo maior da fibra. Estes fibroblastos são células alongadas, fusiformes com um citoplasma de coloração clara que quando corados com a hematoxilina-eosina, fundem-se facilmente com o colagénio envolvente (Fig. 17). Na maioria dos cortes histológicos, que resultam de biópsias em indivíduos com prescrição de vitamina C, os núcleos foram bem revelados, fortemente corados, granuloso e por vezes com um nucléolo bem definido (Fig. 10). A microscopia electrónica mostra um citoplasma reticulado, aparelho de Golgi proeminente e um retículo endoplasmático rugoso (RER) abundante nos fibroblastos, especialmente quando esta célula está a produzir activamente matriz, como acontece durante o processo de reparação (Fig. 30 e 36).

Em ampliações mais baixas observam-se diferenças de espessura e padrão nas cristas epiteliais, assim como nos processos de maturação. As células superficiais apresentam um elevado nível de diferenciação e por consequência uma elevada relação núcleo-citoplasmática. Os núcleos, são por vezes picnóticos, espiculados e com um grande espaço citoplasmático envolvente (Fig. 6 e 12).

Nestes indivíduos, com aporte suplementar de vitamina C, observa-se um particular enriquecimento do conjuntivo associado a uma elevada diferenciação celular e intersticial, por vezes com uma forte marcação para a alfa-actina (Fig.

11, 16, 23 e 24). Nestes padrões a imunomarcação é abundante, particularmente nos espaços perivascular e intersticial. A marcação positiva acontece ao nível celular e fibrilar, revelando amplamente a riqueza em fibras de tipo actínico, dispersas de forma avulsa ou agrupada. Este padrão, finamente reticulado e polimórfico resulta de uma importante conjugação de natureza fibrilar, particularmente evidente ao nível da submucosa, com destaque para uma marcação específica das fibras de tipo conjuntivo, por vezes amorfas e indiferenciadas (Fig. 9). Ao mesmo tempo observa-se um conjunto de fibras de tipo elástico, que atestam um padrão típico do fenómeno reparativo tecidual e intersticial (Fig. 18).

Algumas das células evidenciam um padrão compatível com a linhagem de tipo miofibroblástico. Esta morfologia é altamente sugestiva da forte componente proliferativa associada ao processo dinâmico de reparação. Observam-se no mesmo campo as estruturas fibrilares recém formadas, de tipo actínico, e celulares de tipo fibroblástico, conferindo uma elevada dinâmica tecidual local (Fig. 23 e 24).

Nos indivíduos em que não foi feita a prescrição de vitamina C, observam-se com menor frequência alterações do padrão histológico típico, particularmente com uma menor relação núcleo-citoplasmática nas células intermédias do epitélio e com uma menor diferenciação celular ao nível das camadas superficiais. Ao nível da submucosa, observam-se células grandes, de contorno por vezes irregular, umas vezes dispersas outras vezes organizadas em ninhos celulares mas de modo geral com uma menor quantidade de substância intercelular particularmente de tipo fibrilar. Notam-se ainda estruturas vasculares de menor dimensão e pouco frequentes (Fig. 1, 2, 8 e 22).

Na ausência de um aporte suplementar de vitamina C, observam-se ainda uma marcação negativa para a maioria das amostras estudadas, relativamente à alfa-actina. A marcação positiva quando observada, apenas se restringe ao espaço perivascular (Fig. 25, 26, 27 e 28).

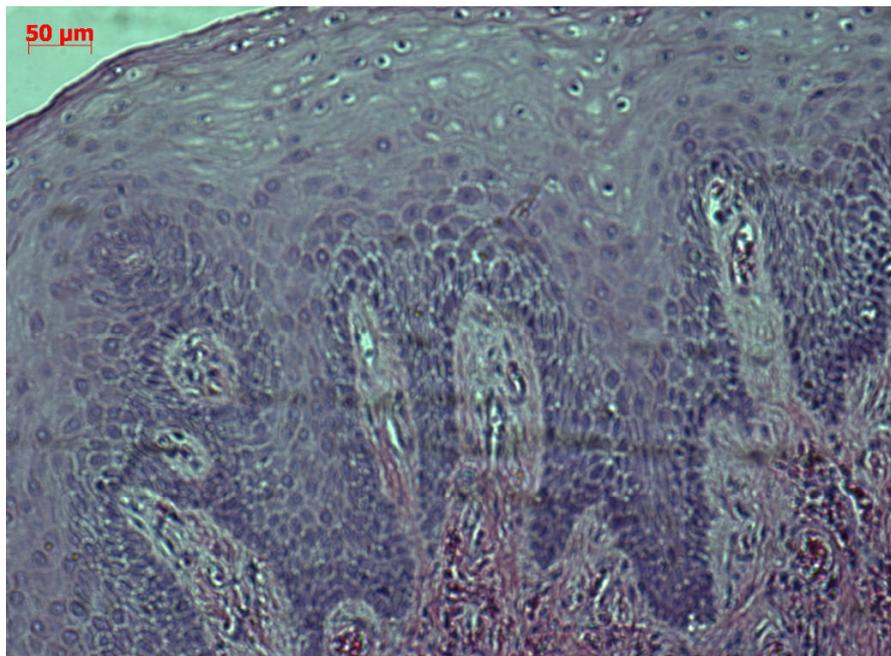


Figura nº 1 – Hematoxilina Eosina. 100x: Papilas conjuntivas de paciente sem prescrição de vitamina C.

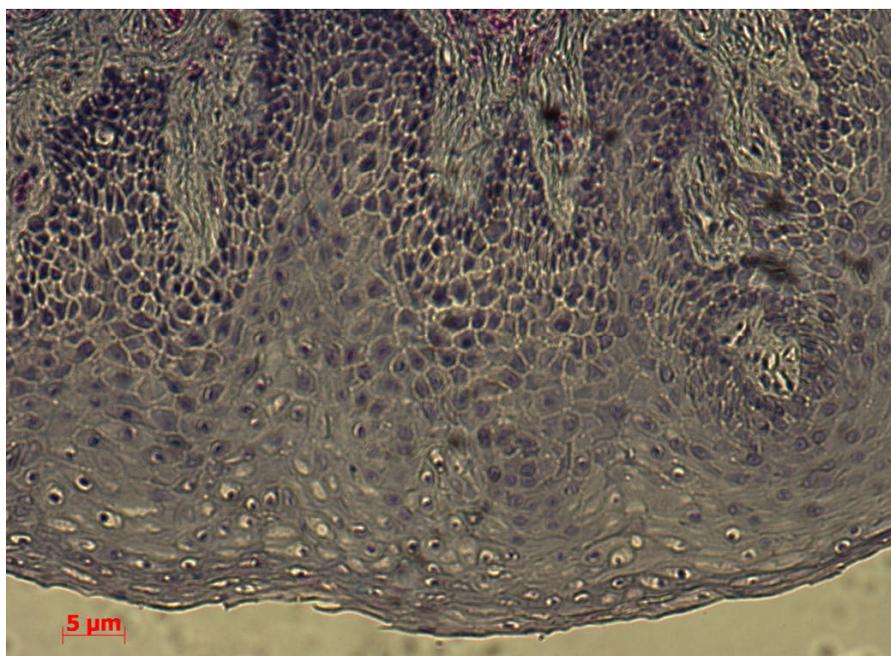


Figura nº 2 – Tricrómio de Masson. 100x: Alterações do epitélio num paciente sem prescrição de vitamina C.

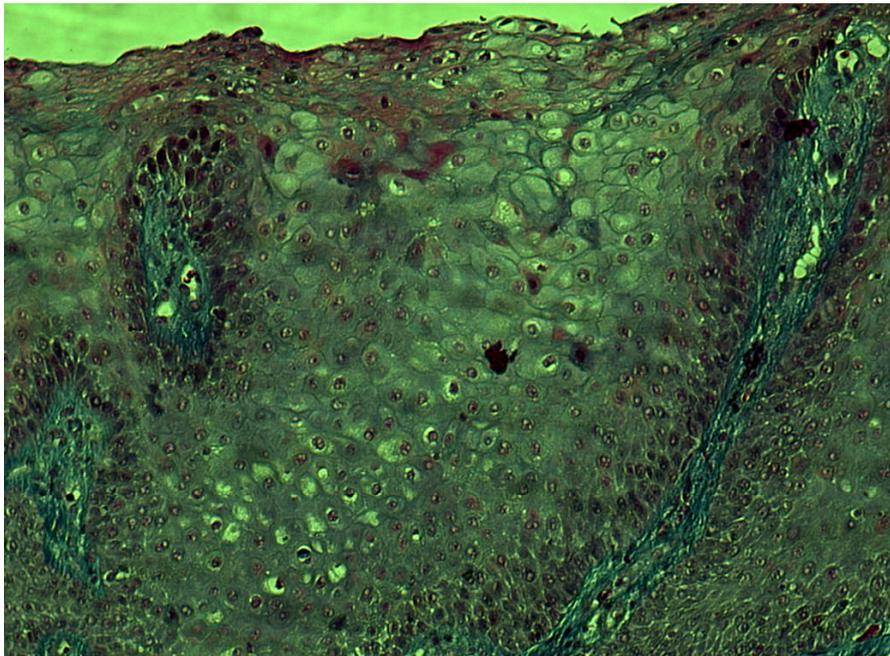


Figura nº 3 – Hematoxilina Eosina. 100x: Células epiteliais bem diferenciadas num paciente com prescrição de vitamina C.

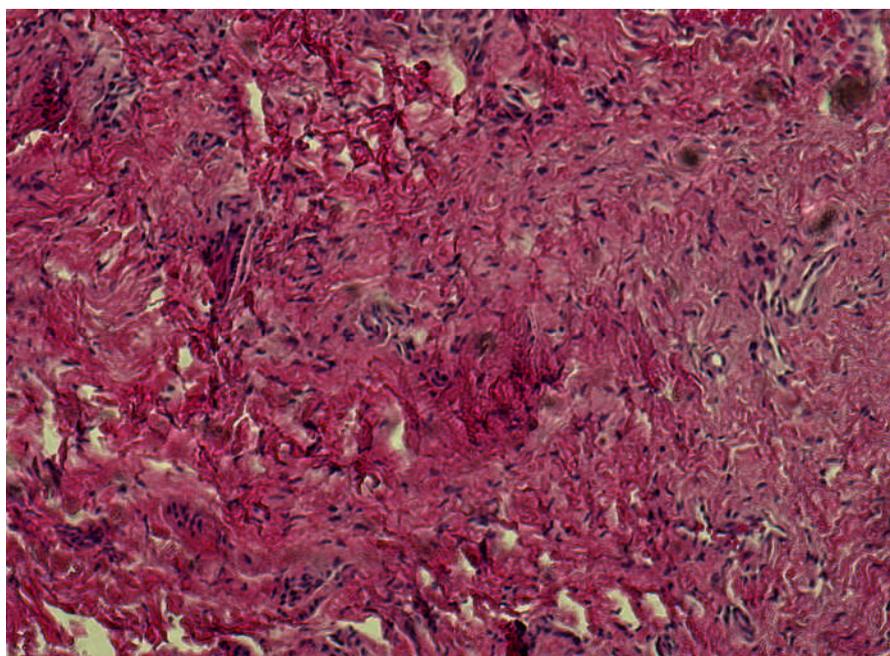


Figura nº 4 – Hematoxilina Eosina. 100x: Histodiferenciação conjuntiva, num paciente com prescrição de vitamina C.

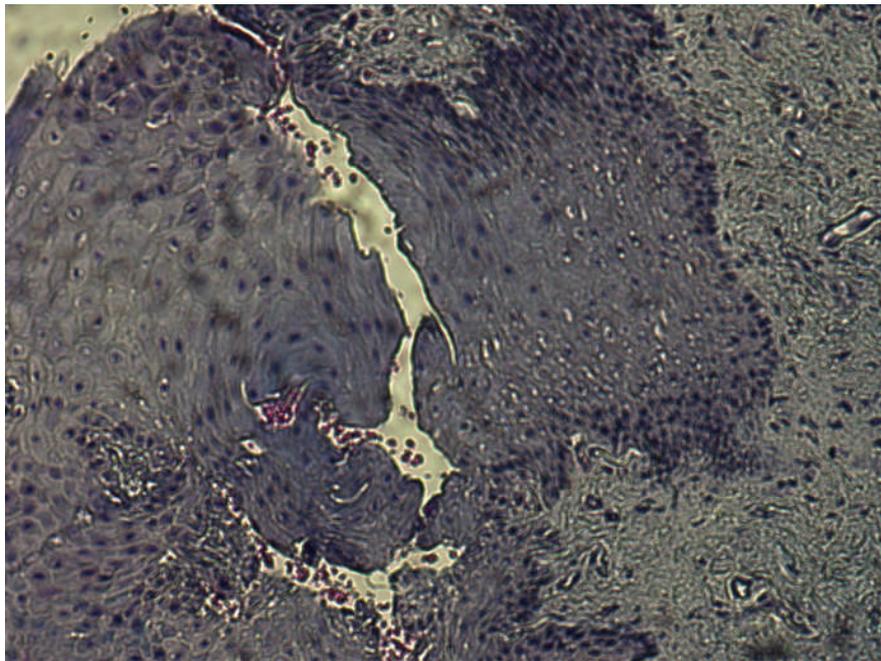


Figura nº 5 – Tricrómio de Masson. 100x: Diferentes camadas do epitélio, num paciente com prescrição de vitamina C.

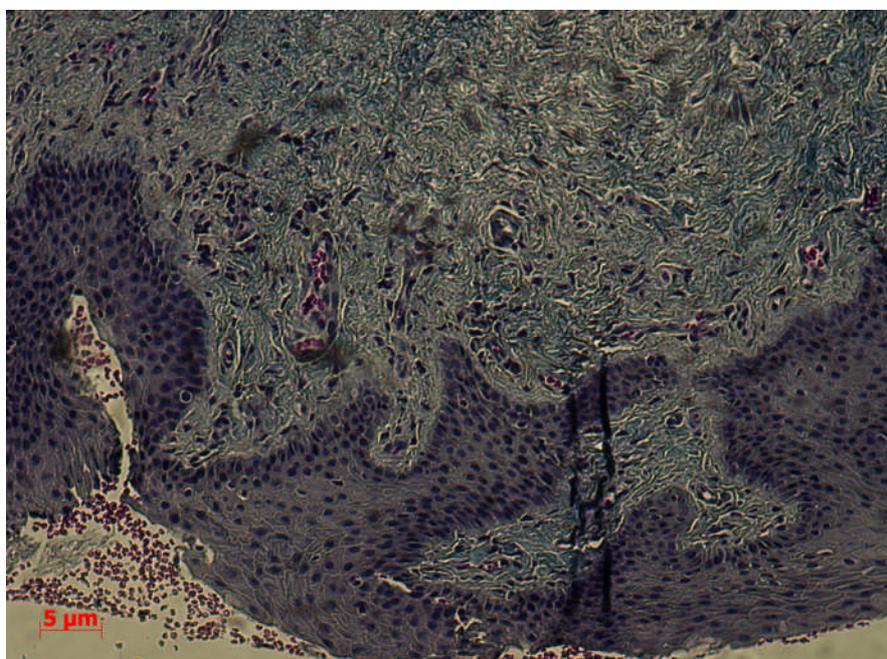


Figura nº 6 – Tricrómio de Masson. 100x: Transição epitélio-conjuntivo, num paciente com prescrição de vitamina C

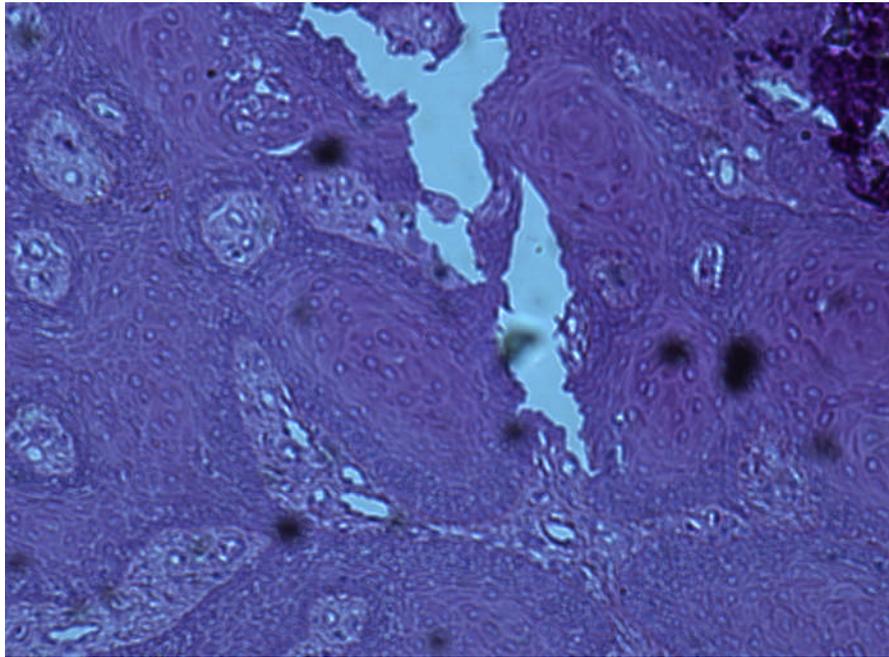


Figura nº 7 - Hematoxilina Eosina. 100x: Invaginações conjuntivas no epitélio, num paciente com prescrição de vitamina C.

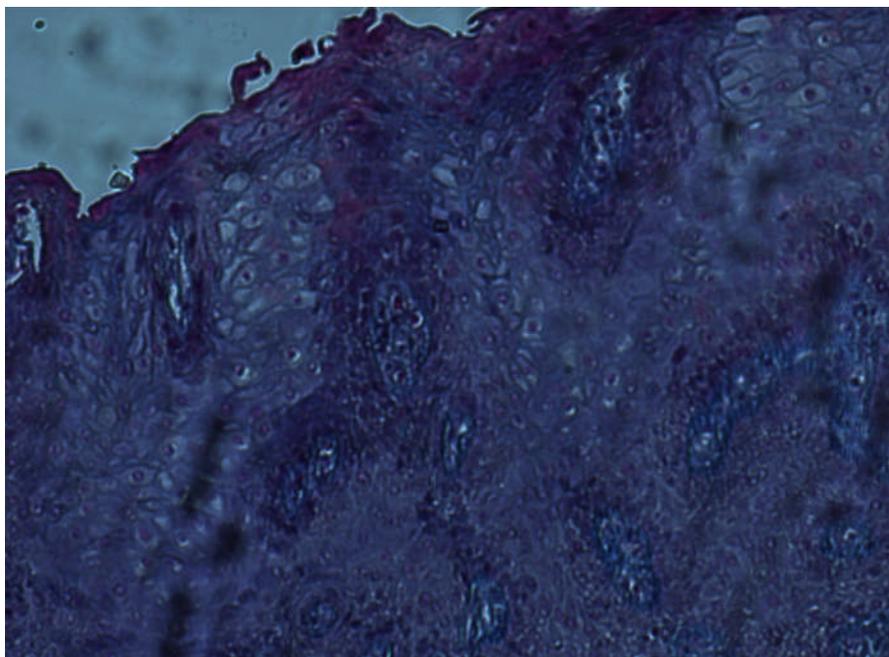


Figura nº 8 – Tricrómio de Masson. 100x: Aspectos da transição celular num paciente sem prescrição de vitamina C.

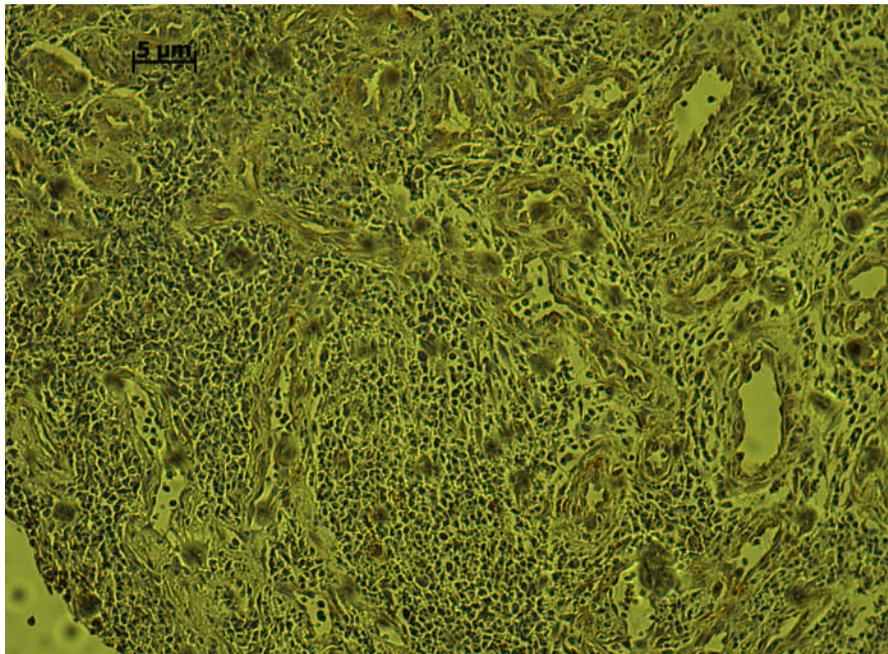


Figura nº 9 – Vimentina. 100x: Aspectos de imunomarcção das fibras do tecido conjuntivo.

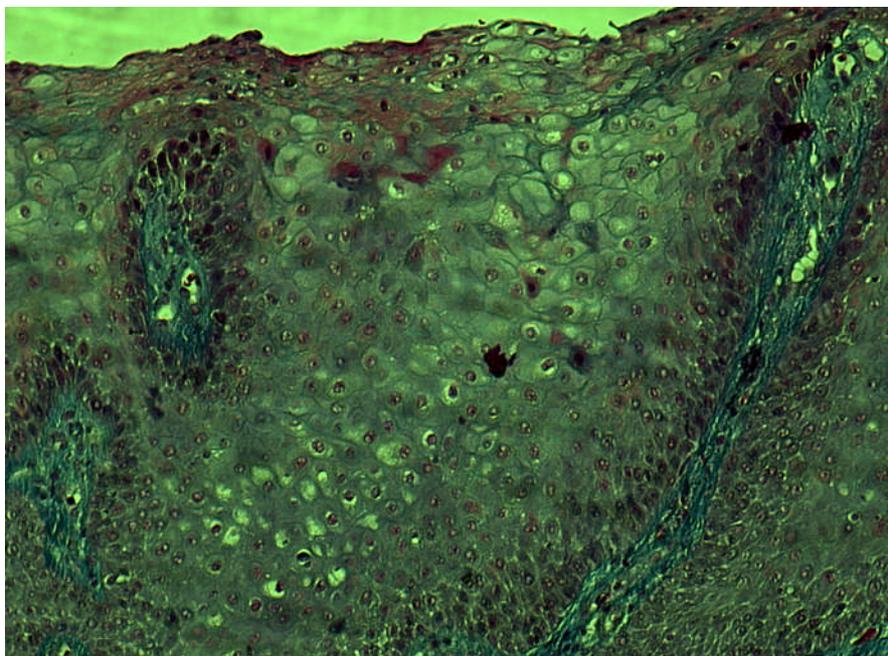


Figura nº 10 – Tricrómio de Masson. 100x: Diferenciação celular num paciente com prescrição de vitamina C.

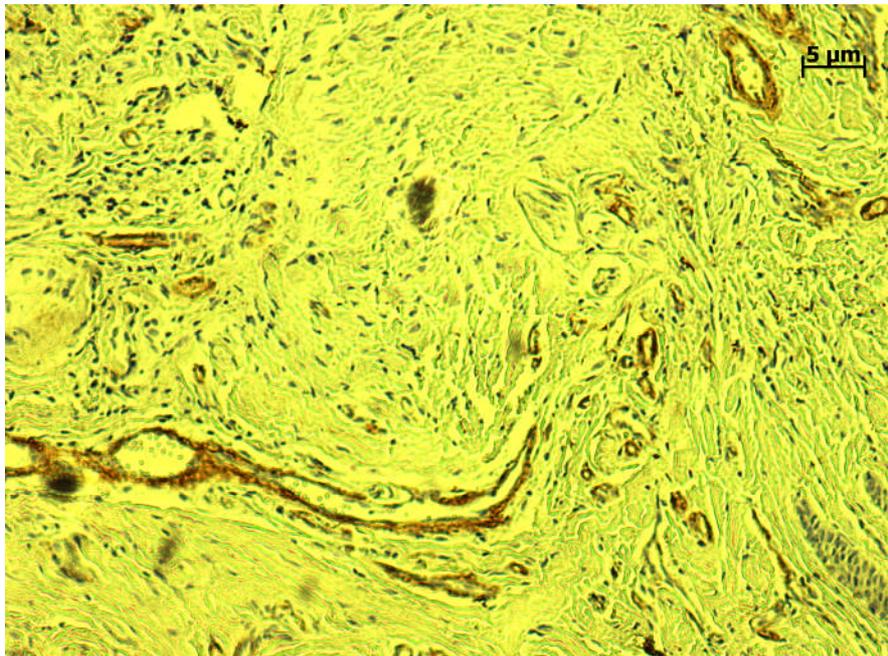


Figura nº 11 – Alfa-actina. 100x: Forte marcação perivascular e moderadamente intersticial num paciente com prescrição de vitamina C

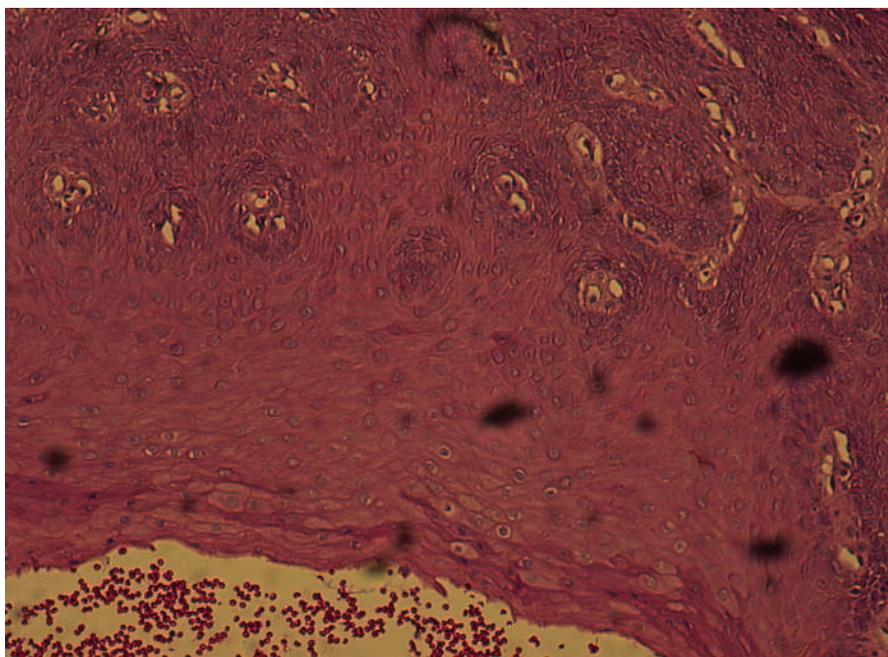


Figura nº 12 – Hematoxilina Eosina. 100x: Células superficiais picnóticas, num paciente com prescrição de vitamina C

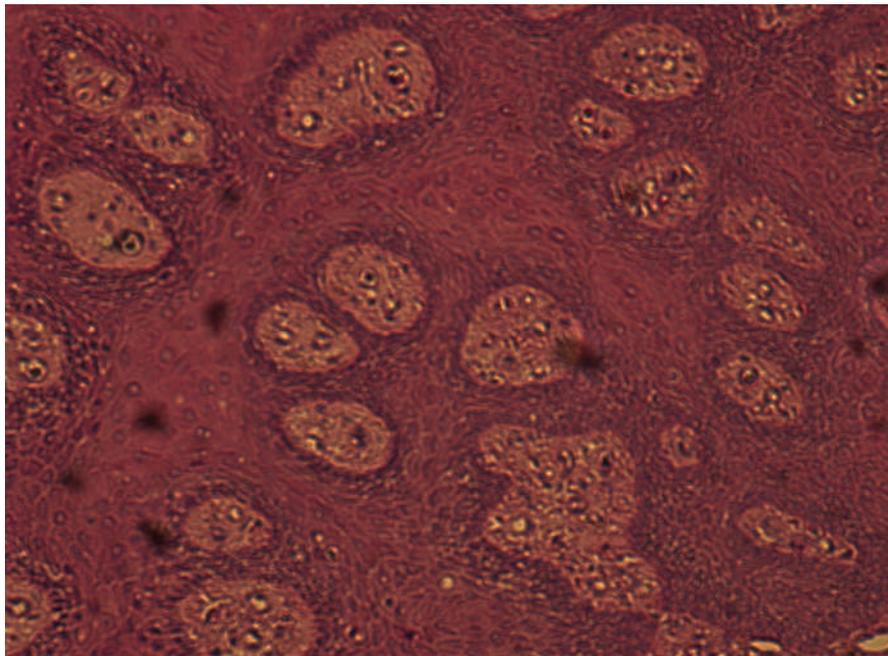


Figura nº 13 – Hematoxilina Eosina. 100x: Ninhos de células conjuntivas num paciente com prescrição de vitamina C.

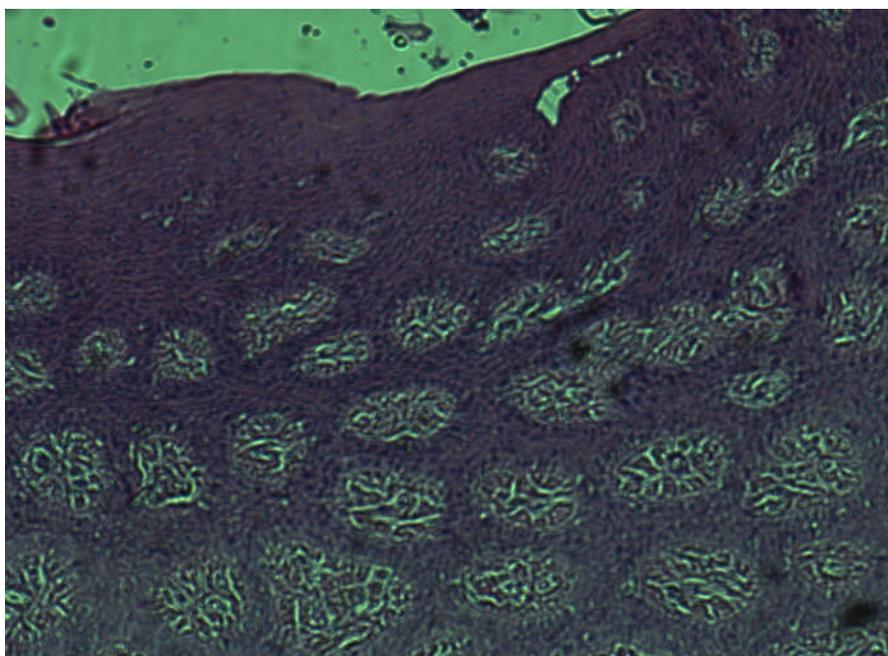


Figura nº 14 – Hematoxilina Eosina. 100x: Ninhos de células conjuntivas num paciente com prescrição de vitamina C.

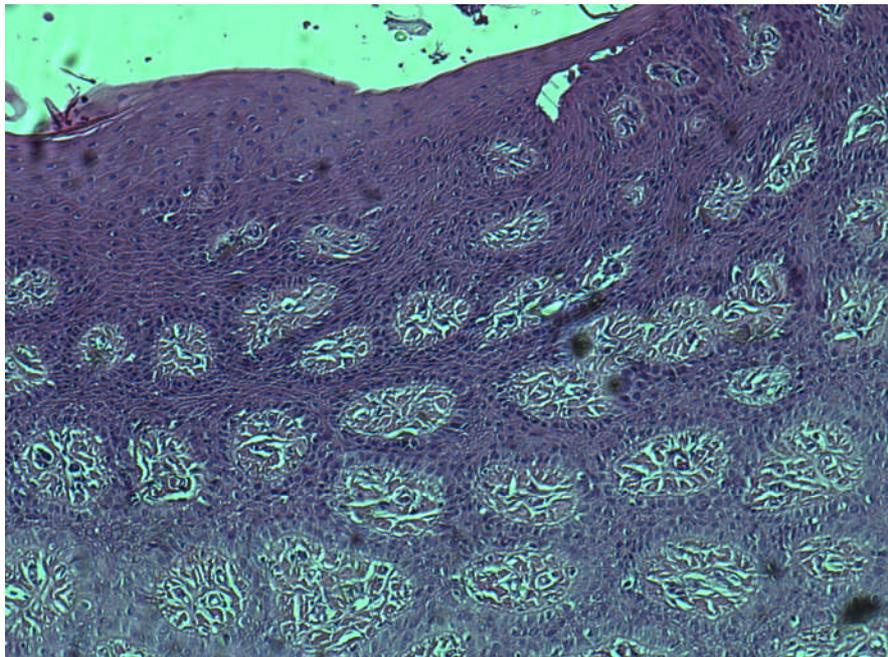


Figura nº 15 – Hematoxilina Eosina. 100x: Ninhos de células conjuntivas maduras num paciente com prescrição de vitamina C.

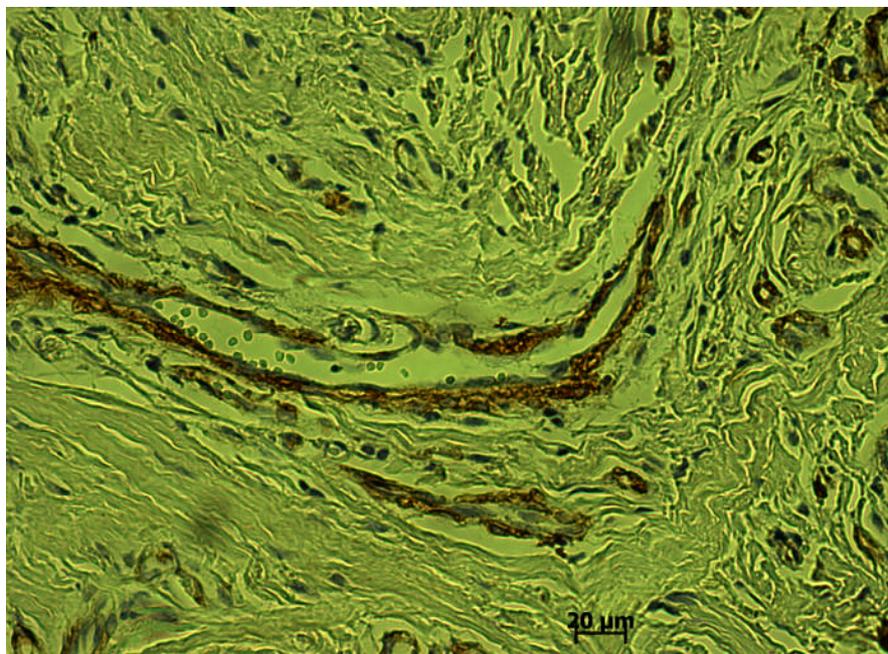


Figura nº 16 – Alfa-actina. 200x: Pormenor da marcação perivascular num paciente com prescrição de vitamina C

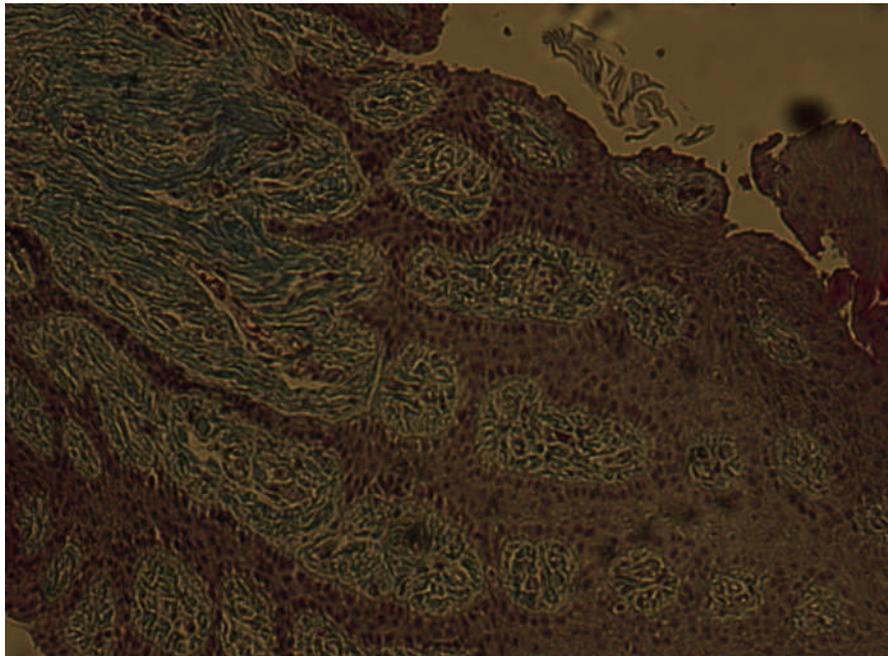


Figura nº 17 – Tricrómio de Masson. 100x: Ninhos de células conjuntivas maduras num paciente com prescrição de vitamina C.

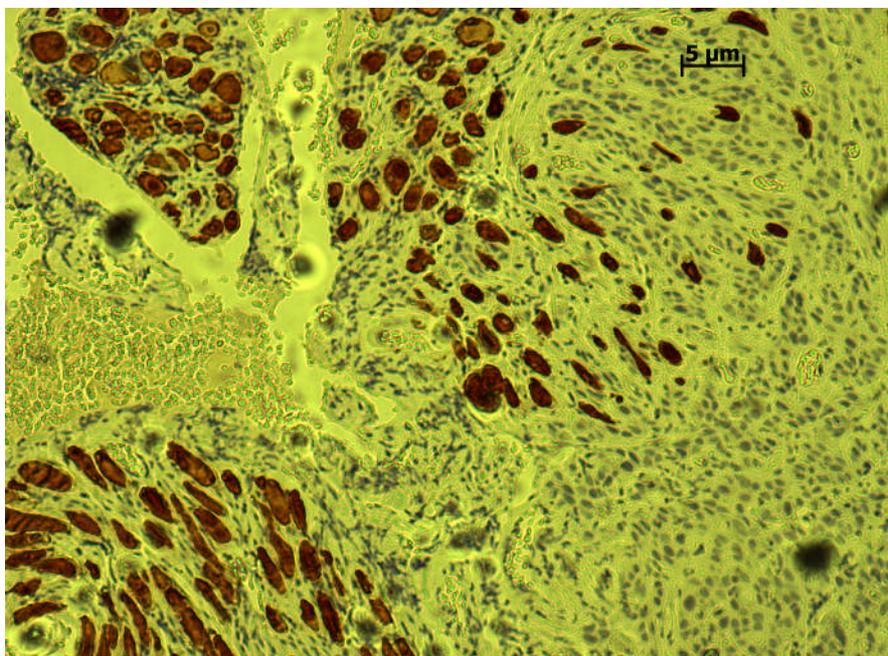


Figura nº 18 – Desmina. 200x: Imunomarcagem das fibras tipo elástico ao nível do tecido conjuntivo da submucosa.

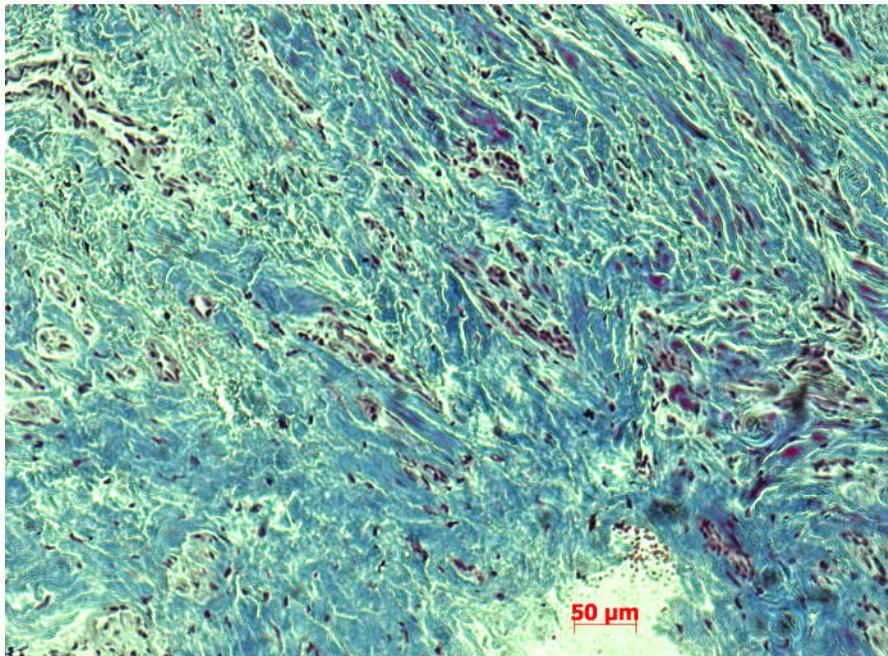


Figura nº 19 – Hematoxilina Eosina. 100x: Boa diferenciação celular, com inúmeros fibroblastos, num paciente com prescrição de vitamina C.

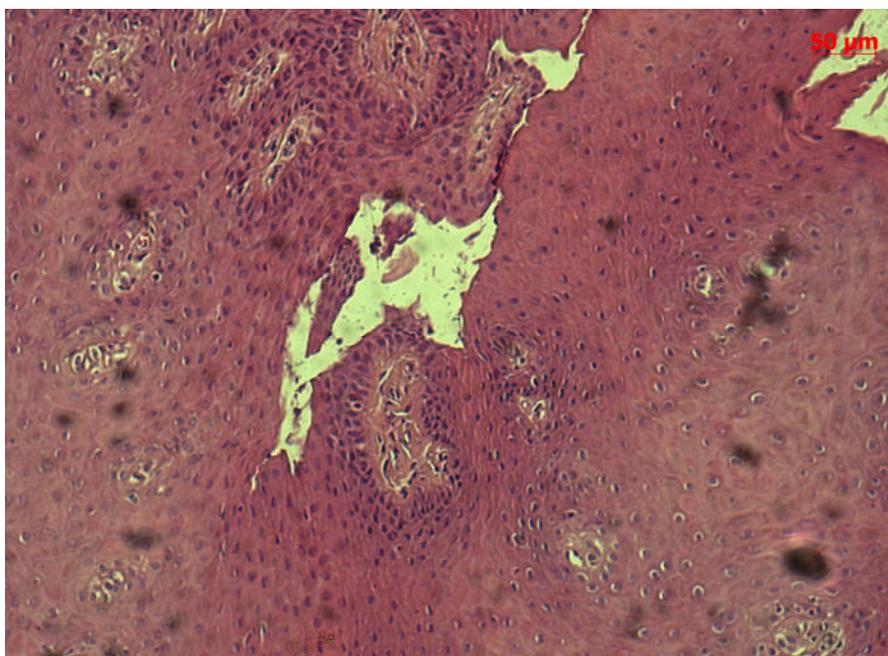


Figura nº 20 – Hematoxilina Eosina. 100x: Ninhos de células conjuntivas, muitas delas indiferenciadas, num paciente com prescrição de vitamina C.

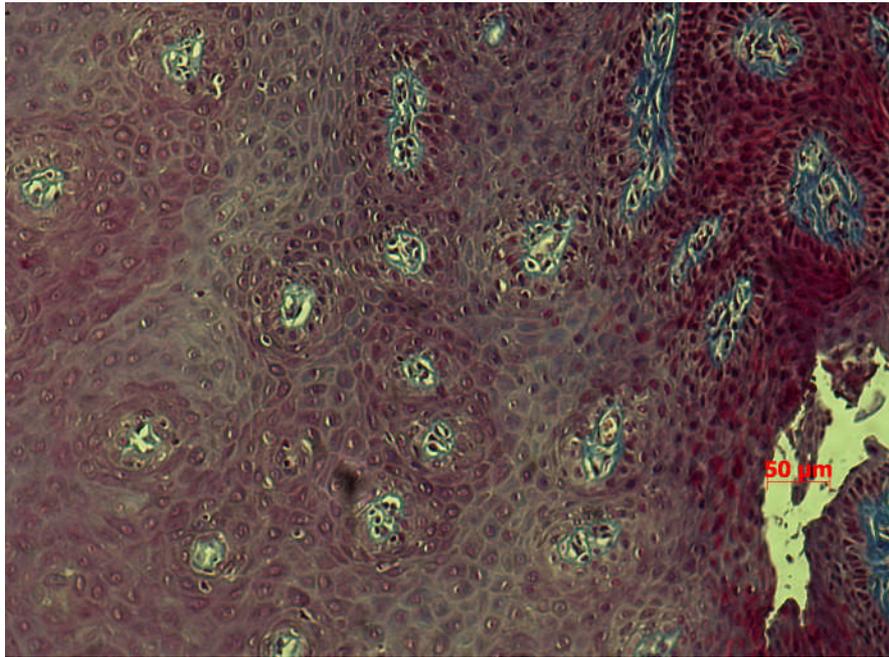


Figura nº 21 – Hematoxilina Eosina. 100x: Ninhos de células conjuntivas, num paciente com prescrição de vitamina C.

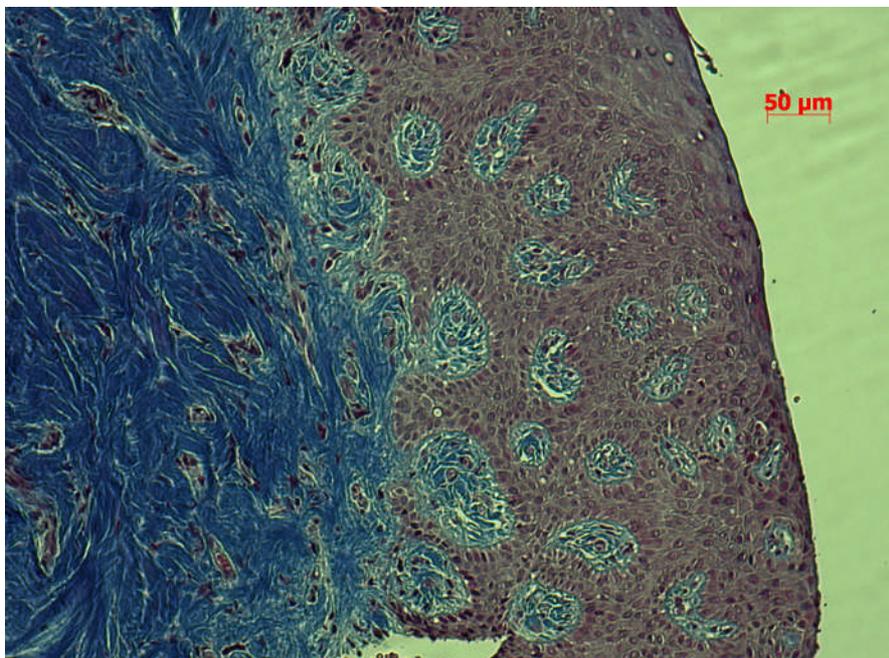


Figura nº 22 – Tricrómio de Masson. 100x: Ninhos de células conjuntivas, num paciente sem prescrição de vitamina C.

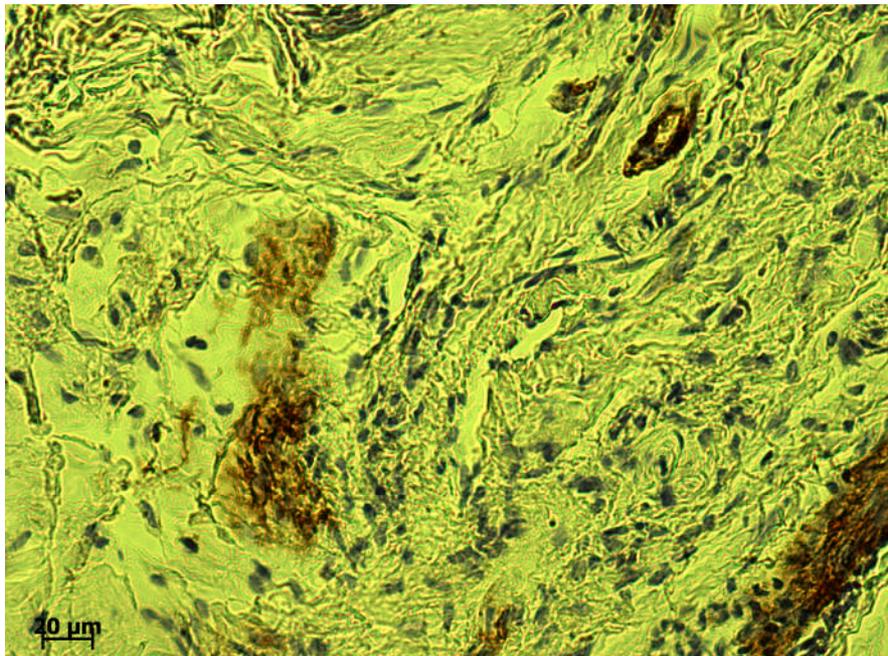


Figura nº 23 – Alfa-actina. 200x: Forte marcação em células de tipo mioepitelial, num paciente com prescrição de vitamina C.

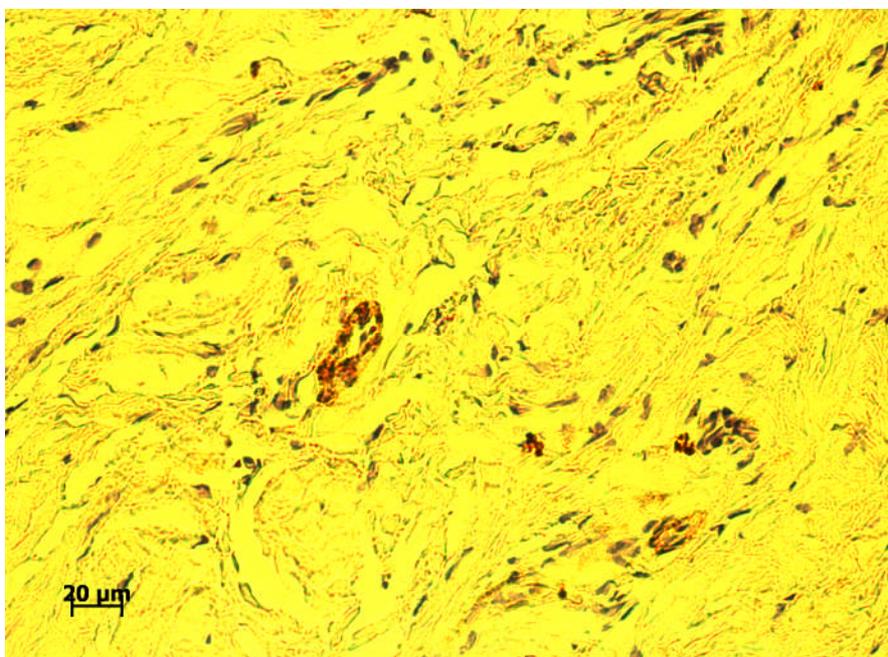


Figura nº 24 – Alfa-actina. 200x: Marcação extensa em células do tecido conjuntivo, num paciente com prescrição de vitamina C.

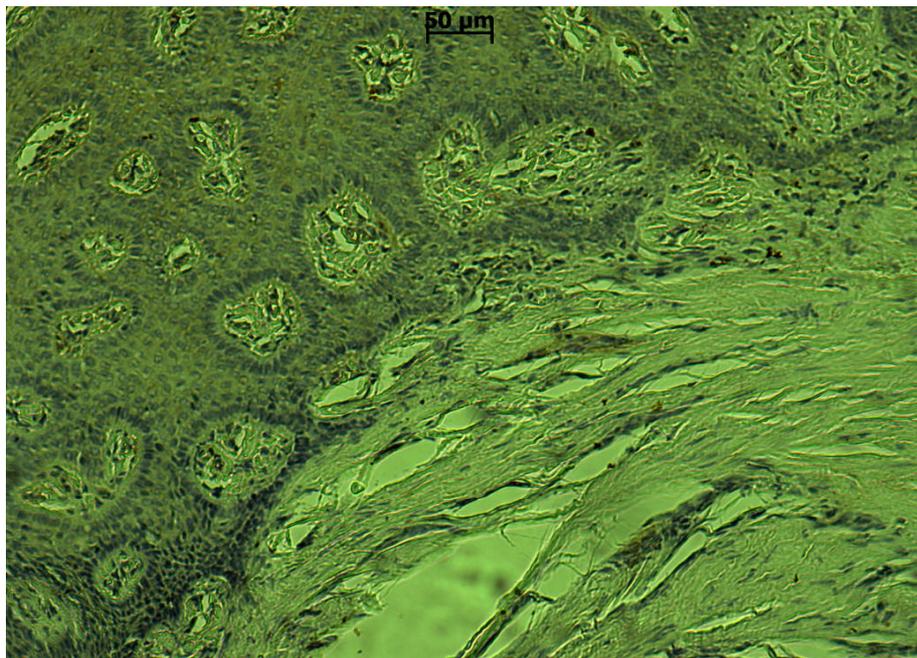


Fig. 25 – Alfa-actina. 100x: Discreta marcação do conjuntivo, num paciente sem prescrição de vitamina C.

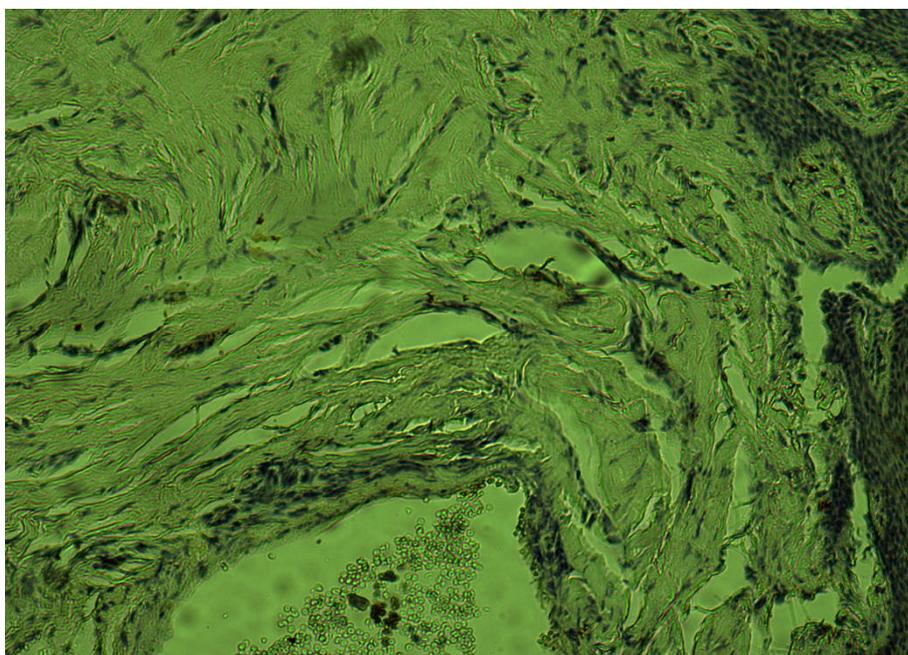


Fig. 26 – Alfa-actina. 100x: Discreta marcação do conjuntivo, num paciente sem prescrição de vitamina C.

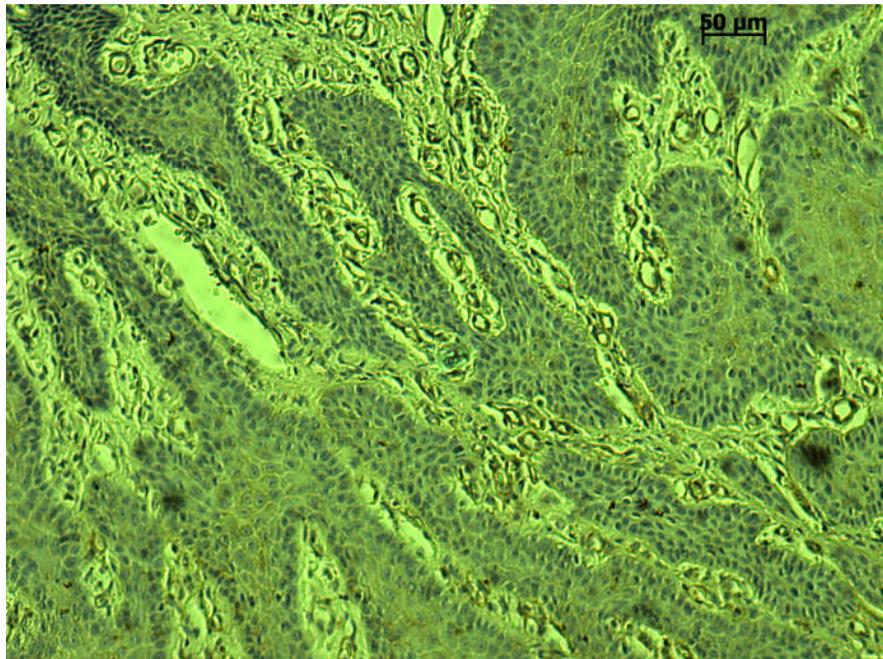


Fig. 27 – Alfa-actina. 100x: Discreta marcação do conjuntivo, num paciente sem prescrição de vitamina C.

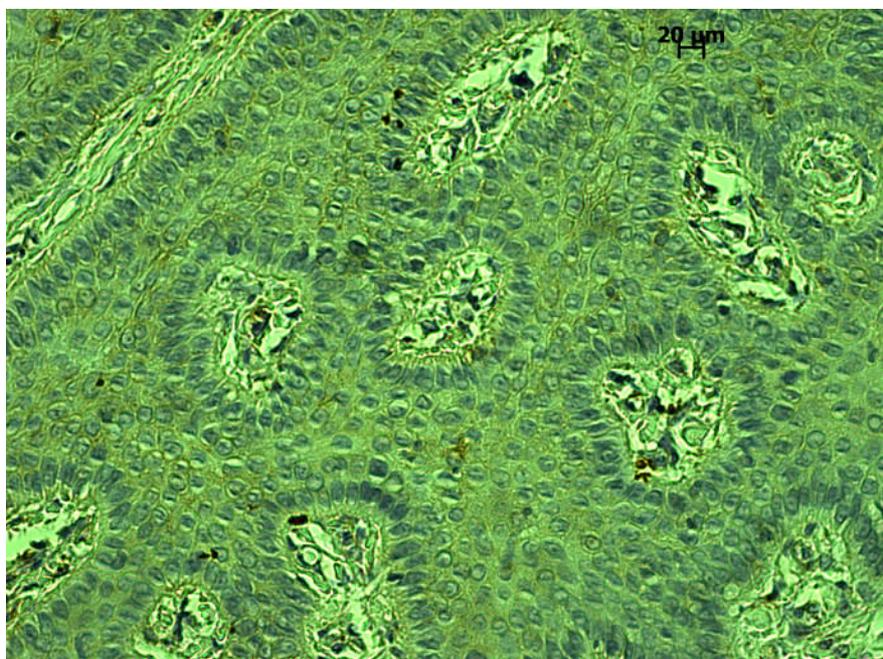


Fig. 28 – Alfa-actina. 200x: Discreta marcação do conjuntivo, num paciente sem prescrição de vitamina C

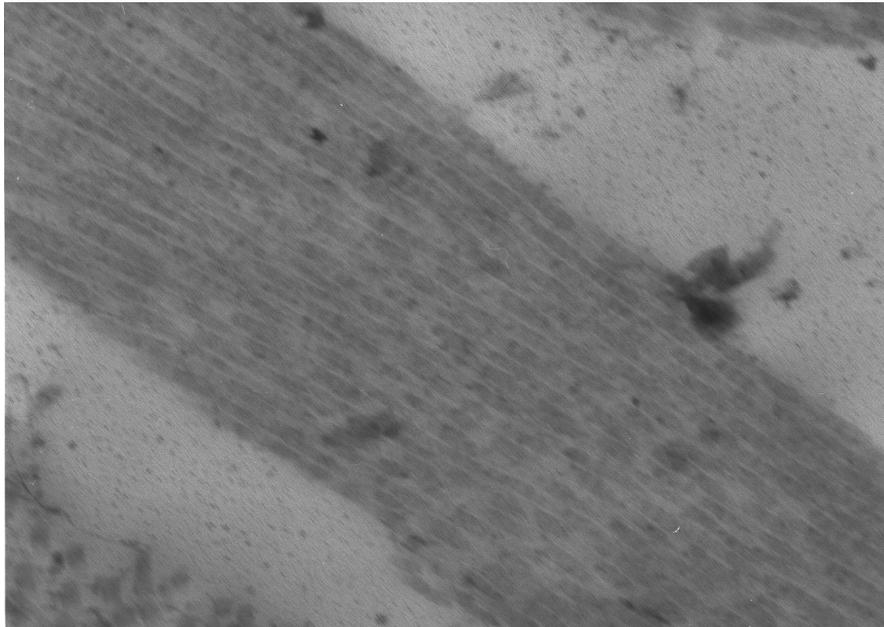


Fig. 29 – Microscopia Electrónica. 14 000x: Colagénio em feixes. Cortes transversal e longitudinal.

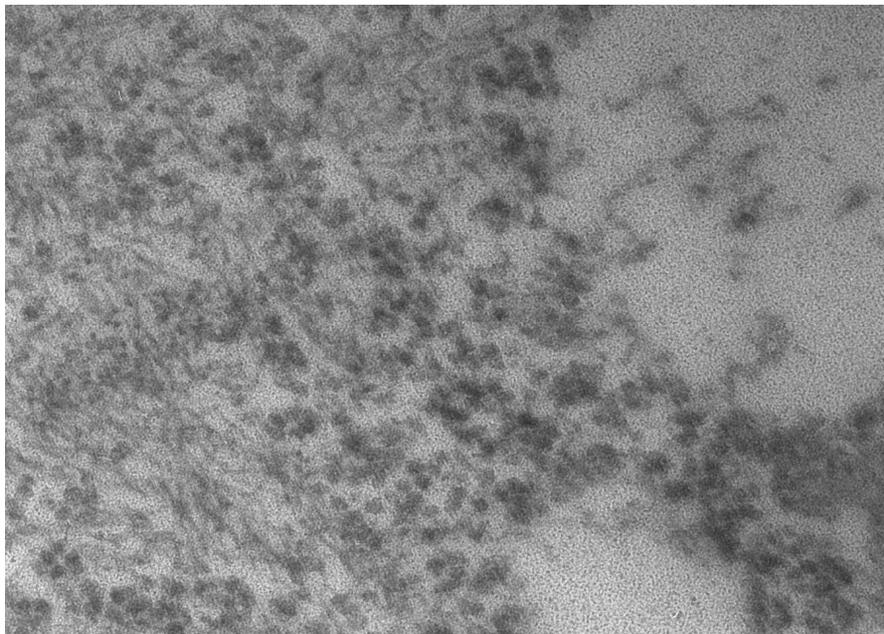


Fig. 30 – Microscopia Electrónica. 80 000x: Granulado citoplasmático.

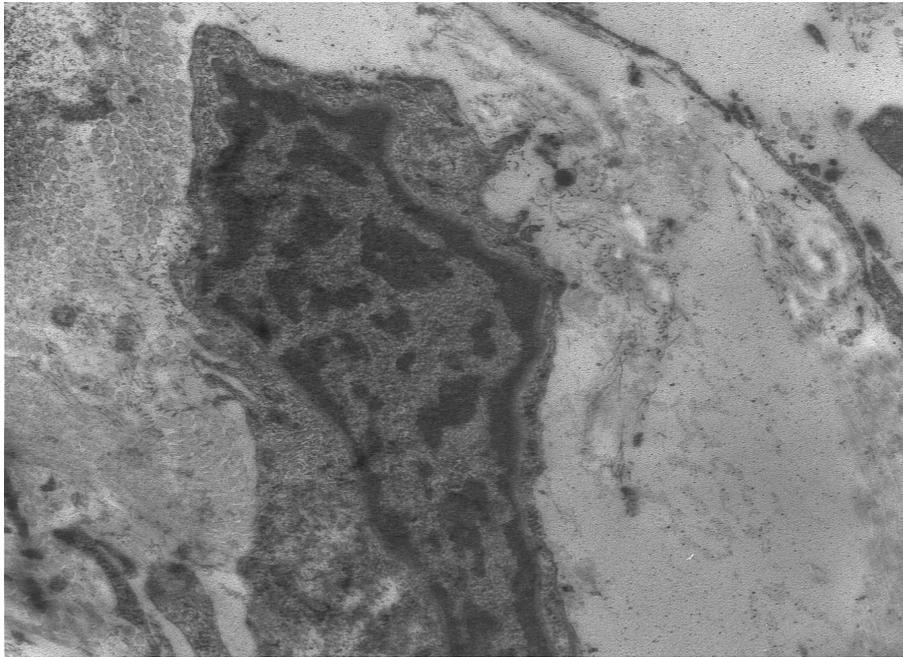


Fig. 31 – Microscopia Electrónica. 10 000x: Fibroblasto.

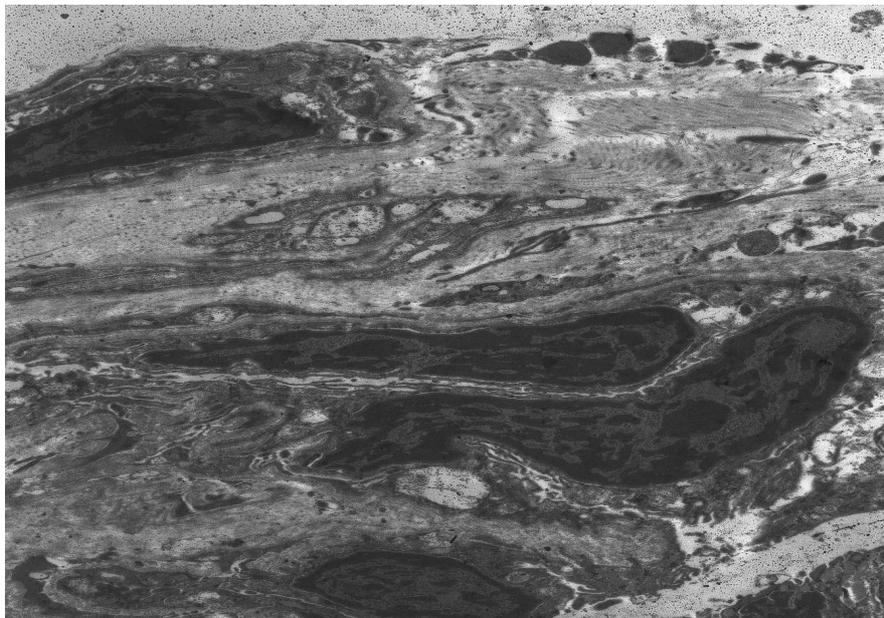


Fig. 32 – Microscopia Electrónica 3 000x: Fibroblastos.

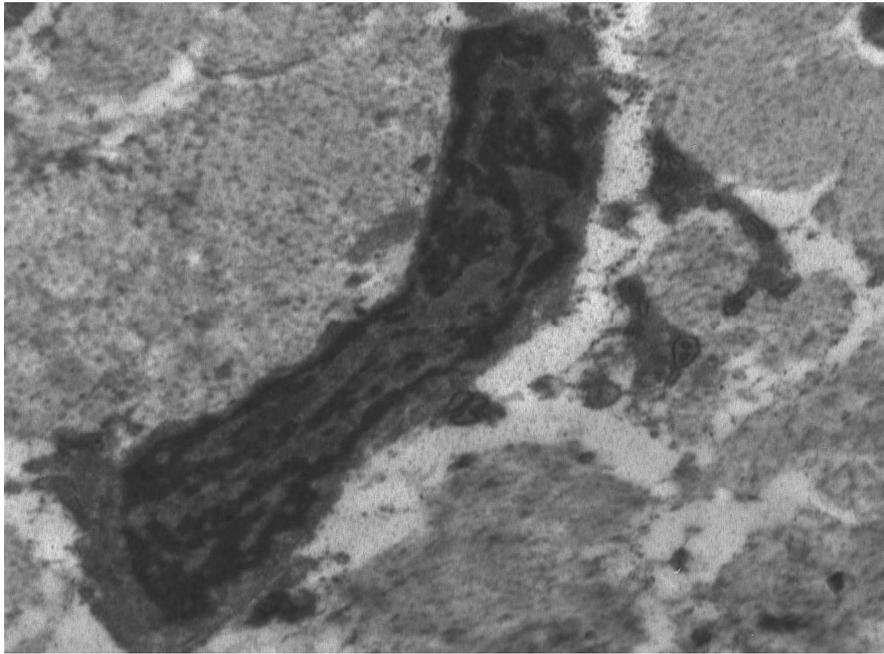


Fig. 33 – Microscopia Electrónica. 7 200x: Fibroblasto.

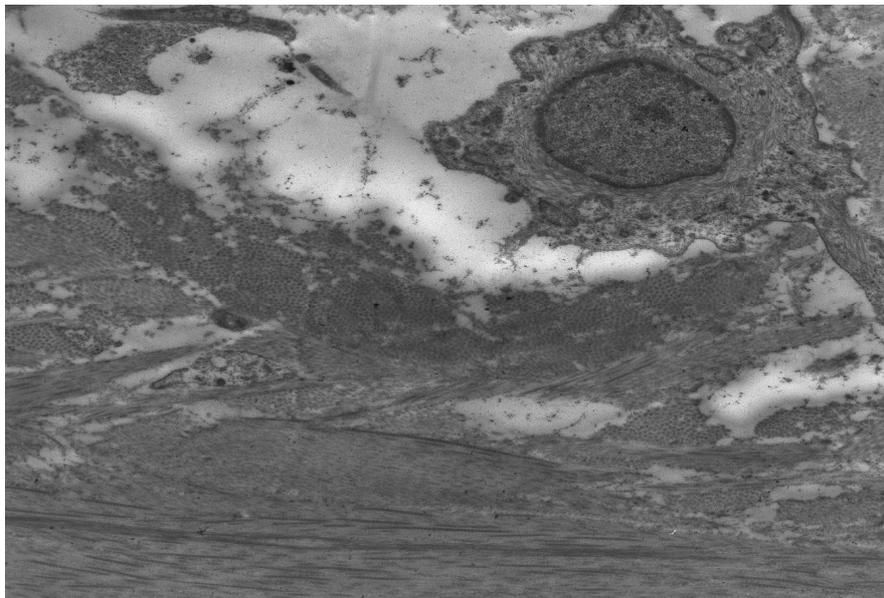


Fig. 34 – Microscopia Electrónica. 2 700x: Colagénio em estreita relação com as células adjacentes.

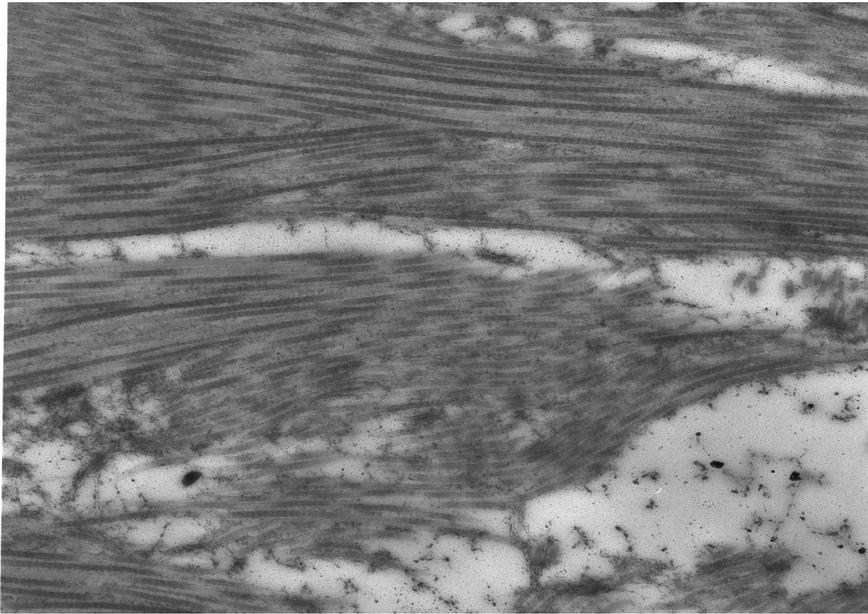


Fig. 35 - Microscopia Electrónica. 5 000x: Colagénio em feixes. Cortes transversal e longitudinal.

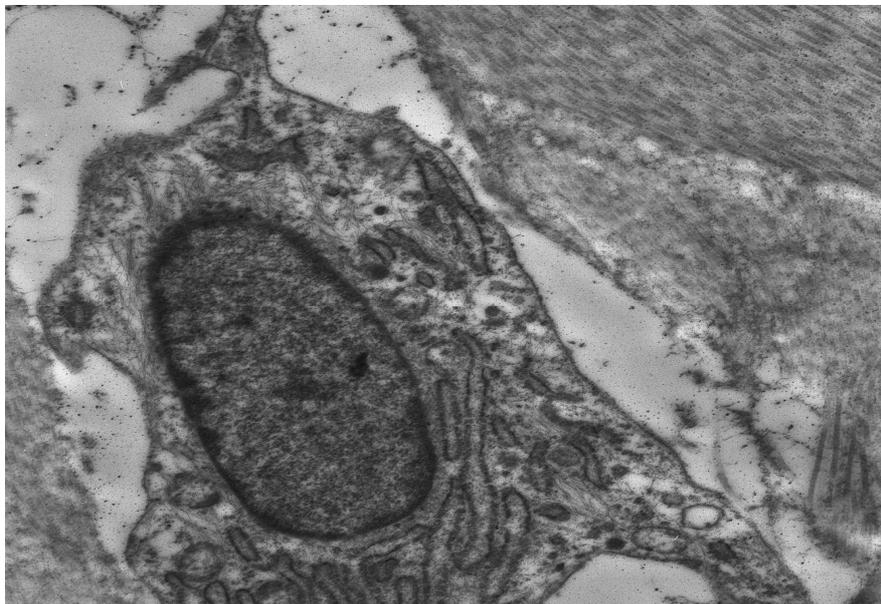


Fig. 36 - Microscopia Electrónica. 4 000x: Riqueza em Retículo Endoplasmático Rugoso.