



Brazilian Journal of OTORHINOLARYNGOLOGY

www.bjorl.org



ARTIGO ORIGINAL

A comparative study of osteopontin and MMP-2 protein expression in peripheral and central giant cell granuloma of the jaw[☆]



Nooshin Mohtasham^a, Nasrollah Saghravanian^a, Bahareh Fatemi^b, Mehdi Vahedi^c,
Monavar Afzal-Aghaee^d e Hamideh Kadeh^{e,*}

^a Oral and Maxillofacial Disease Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, School of Dentistry, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Mashhad, Irã

^b Kerman University of Medical Sciences, School of Dentistry, Department of Endodontics, Kerman, Irã

^c Kerman University of Medical Sciences, School of Dentistry, Department of Periodontology, Kerman, Irã

^d Mashhad University of Medical Sciences, Social Medicine Specialist, Mashhad, Irã

^e Oral and Dental Disease Research Center, Zahedan University of Medical Science, School of Dentistry, Department of Oral & Maxillofacial Pathology, Zahedan, Irã

Recebido em 2 de junho de 2017; aceito em 8 de novembro de 2017

Disponível na Internet em 22 de fevereiro de 2018

KEYWORDS

Osteopontin;
MMP-2;
PGCG;
CGCG;
Immunohistochemistry

Abstract

Introduction: Oral peripheral and central giant cell granulomas are lesions with little-known etiology and pathogenesis.

Objective: The aim of this study was to compare matrix metalloproteinases-2 and osteopontin protein expression in the multinucleated giant cells and mononuclear cells of the peripheral and central giant cell granuloma lesions.

Methods: In this retrospective study, the presence of matrix metalloproteinases-2 and osteopontin in 37 cases of central giant cell granuloma and 37 cases of peripheral giant cell granuloma paraffin blocks were assessed by streptavidin-biotin immunohistochemistry. Independent sample *t*-test, Chi-square, Mann-Whitney tests and Spearman's rank correlation coefficient were used.

Results: The osteopontin was expressed in both multinucleated giant cells and mononuclear cells in all cases of peripheral and central giant cells granulomas. However, the matrix metalloproteinases-2 expression was positive in 86.5% of giant cells and it was positive in all of mononuclear cells in peripheral giant cells granuloma. In central giant cells granulomas, 91.8% of giant cells and all mononuclear cells were positive for matrix metalloproteinases-2 marker. Percentage and Intensity of staining were significantly higher in central than peripheral giant cells lesions, for both markers ($p < 0.05$).

DOI se refere ao artigo: <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2017.11.006>

[☆] Como citar este artigo: Mohtasham N, Saghravanian N, Fatemi B, Vahedi M, Afzal-Aghaee M, Kadeh H. A comparative study of osteopontin and MMP-2 protein expression in peripheral and central giant cell granuloma of the jaw. Braz J Otorhinolaryngol. 2019;85:150–6.

* Autor para correspondência.

E-mail: Kadeh@zaums.ac.ir (H. Kadeh).

A revisão por pares é da responsabilidade da Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial.

Conclusion: This study showed that the expression of osteopontin in giant cells supports the theory of osteoclastic nature of these cells. Also, the presence of osteopontin and matrix metalloproteinases-2 in mononuclear cells may indicate the monocyte-macrophage origin of these cells, as the differentiation of the precursors of the mononuclear stromal monocyte/macrophage to osteoclasts is possibly affected by the expression of osteolytic factors. Also, may be differences in biological behaviors of these lesions are associated with the level of osteopontin and matrix metalloproteinases-2 expression.

© 2017 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

PALAVRAS-CHAVE

Osteopontina;
MMP-2;
PGCG;
GCCG;
Imuno-histoquímica

Estudo comparativo da expressão das proteínas osteopontina e MMP-2 no granuloma central e periférico de células gigantes de mandíbula

Resumo

Introdução: Os granulomas periféricos e centrais de células gigantes são lesões com etiologia e patogênese pouco conhecidas.

Objetivo: Comparar a expressão das proteínas metaloproteínas da matriz-2 e osteopontina nas células gigantes multinucleadas e células mononucleares no granuloma periférico e central de células gigantes.

Método: Neste estudo retrospectivo, a presença de metaloproteínas da matriz-2 e osteopontina em 37 casos de granuloma central de células gigantes e 37 casos de granuloma periférico de células gigantes em blocos de parafina foi avaliada por imuno-histoquímica pela estreptavidina-biotina. Foram usados teste *t* para amostra independente, teste de qui-quadrado, Mann-Whitney e coeficiente de correlação de Spearman.

Resultados: A osteopontina foi expressa em células gigantes multinucleadas e células mononucleares em todos os casos de granuloma periférico de células gigantes e granuloma central de células gigantes. No entanto, a expressão de metaloproteínas da matriz-2 foi positiva em 86,5% de células gigantes e foi positiva em todas as células mononucleares em granuloma periférico de células gigantes. Em granuloma central de células gigantes, 91,8% das células gigantes e todas as células mononucleares foram positivas para o marcador metaloproteínas da matriz-2. A porcentagem e intensidade de coloração em granuloma central de células gigantes foram significativamente maiores do que em granuloma periférico de células gigantes para ambos os marcadores ($p < 0,05$).

Conclusão: Este estudo mostrou que a expressão de osteopontina em células gigantes apoia a teoria da natureza osteoclástica dessas células. Além disso, a presença de osteopontina e metaloproteínas da matriz-2 em células mononucleares pode indicar a origem dos monócitos-macrófagos dessas células, uma vez que a diferenciação dos precursores do monócito/macrófago estromal mononuclear em osteoclastos é possivelmente afetada pela expressão de fatores osteolíticos. Além disso, as diferenças nos comportamentos biológicos dessas lesões estão associadas ao nível de expressão de osteopontina e metaloproteínas da matriz-2.

© 2017 Associação Brasileira de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Introdução

O granuloma periférico de células gigantes (GPCG) é uma lesão relativamente comum, observada como uma massa nodular vermelha ou roxa na gengiva ou no rebordo alveolar edêntulo.¹⁻³ Essa lesão é originária do ligamento periodontal e tem crescimento lento.⁴⁻⁶ O GPCG pode ocorrer em qualquer idade, especialmente nas sexta e quinta décadas de vida, com baixa tendência no sexo feminino.¹

O granuloma central de células gigantes (GCCG) é menos comum do que o GPCG e ocorre centralmente no osso

do mandíbula.⁷ Radiograficamente, essa lesão é observada como radiolusência unilocular ou multilocular com limites nítidos.^{1,7} Ela tem características clínicas diferentes e pode ser uma lesão assintomática de crescimento lento ou uma lesão dolorosa com crescimento rápido e alta recorrência.^{8,9}

Tanto o GPCG quanto o GCCG apresentam características histopatológicas semelhantes e são caracterizados pela presença de células gigantes multinucleadas (CGMs) com um fundo de células mesenquimais mononucleares. No entanto, apesar dessas semelhanças, as duas lesões são diferentes em termos de comportamento biológico.⁷⁻¹⁰ O GCCG é

uma lesão mais agressiva, com tendência ao crescimento rápido, alta recorrência, reabsorção radicular e perfuração óssea; enquanto o GPCG é uma lesão com baixa recorrência e, em alguns casos, pode causar reabsorção da superfície óssea.^{7,9} Apesar dos vários estudos a esse respeito, a razão para diferentes comportamentos clínicos dessas lesões é desconhecida.¹

Por outro lado, embora as células gigantes multinucleares sejam a característica dessas lesões, a histogênese das células gigantes ainda não foi especificada.^{5,7,11} Alguns pesquisadores acreditam que as células gigantes apresentem características imuno-histoquímicas de osteoclastos,^{5,7} enquanto outros sugeriram a origem de células fagocíticas e endoteliais para essas células.^{8,12} Também existem indicações de que as células estromais mononucleares desempenham um papel importante na evolução das células gigantes.^{13,14}

A osteopontina é uma proteína não colagenosa e uma sialoproteína altamente fosforilada com alta capacidade para se ligar ao cálcio e é produzida pela diferenciação de osteoblastos e osteoclastos, osteócitos e osteoclastos diferenciados.¹⁵ A osteopontina desempenha um papel importante na remodelação óssea fisiológica, especialmente na reabsorção óssea através da modulação.¹⁶ Ela também pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento de inflamação crônica, formação de granulomas, migração de histiócitos e fagocitose.¹⁷ As metaloproteinases da matriz (MMP) constituem uma família de endopeptidases dependentes de zinco que são capazes de degradar a matriz orgânica em PH fisiológico. Estudos anteriores sugeriram que as MMP estão envolvidas no processo de reabsorção óssea e a MMP2 e a MMP9 (gelatinases A e B) podem ser produzidas por osteoblastos ou osteoclastos.¹⁸ Foi relatado que a MMP-9 desempenha um papel importante nos processos de angiogênese, reabsorção óssea e regulação da proteólise da matriz óssea não mineralizada.¹⁹

Nas lesões de células gigantes, não apenas as células gigantes, mas também as células estromais estão envolvidas na produção de enzimas destruidoras de tecidos, como as MMPs. No entanto, poucos estudos foram feitos sobre o papel das MMPs na patogênese das lesões de células gigantes.^{19,20}

Que seja de nosso conhecimento, ainda não há estudo semelhante sobre a comparação da expressão de MMP-2 e osteopontina nas lesões de granuloma de células gigantes periféricas e centrais de mandíbula. Considerando as semelhanças microscópicas entre GPCG e GCCG e as diferenças em seu comportamento biológico, avaliamos a expressão das proteínas MMP-2 e osteopontina nessas duas lesões através de imuno-histoquímica neste estudo, para possivelmente confirmar o fenótipo osteoclástico das CGMs e a relação dessa divergência imuno-histoquímica com os diferentes comportamentos de GPCG e GCCG.

Método

Neste estudo retrospectivo feito após a aprovação do Comitê de Ética local (910127), 74 casos, que incluíram 37 de GPCG e 37 de GCCG, foram avaliados por imuno-histoquímica para a expressão das proteínas osteopontina e MMP-2.

Foi usado um método padrão de imuno-histoquímica com estreptavidina-biotina. Para a coloração imuno-

-histoquímica, seções de 4 µm foram cortadas de blocos de parafina; as seções foram desparafinadas em xilol e reidratadas com etanol graduado. O tecido foi incubado em 30% de peróxido de hidrogênio-metanol durante 30 minutos para bloquear a atividade da peroxidase endógena e as lâminas foram lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS). Para a recuperação do antígeno, as lâminas foram imersas em solução de citrato e foram submetidas à ação de micro-ondas durante 15 min. Então, as seções foram incubadas com bloqueio proteico para eliminar a coloração do fundo. Em seguida, as lâminas foram incubadas com anticorpos primários de MMP-2 (Código: NCL-MMP2-507, Clone: 17B11, Novocastra, Inglaterra, Diluição 1:50) e osteopontina (Código: NCL-O-PONTIN, Clone: OP3N, Novocastra, Inglaterra, Diluição 1:80) de acordo com as instruções do fabricante. As seções foram lavadas três vezes com PBS a temperatura ambiente. Os complexos imunes foram tratados com anticorpo secundário e detectados pela estreptavidina peroxidase (sistema de detecção de polímero Novolink: código RE7230-K). A imunorreatividade foi visualizada com diaminobenzidina e foi corada com hematoxilina de Mayer e após a secagem as seções foram montadas. Seções de colite ulcerativa e vesícula biliar foram usadas como controle positivo para MMP-2 e osteopontina, respectivamente, e como controle negativo o anticorpo primário foi omitido.

Para avaliação da MMP-2 e positividade à osteopontina, o número de células positivas foi contado em cinco campos microscópicos em *hot spot* (as áreas mais habitadas por células) com uma ampliação de 100 x com microscópio ótico (Leica Galen III, EUA). A porcentagem de coloração celular foi avaliada de acordo com outros estudos:^{21,22} negativo (sem coloração), 0-5% de células coradas (-), 5%-25% de células coradas (+), 25%-50% de células coradas (++), 50%-75% de células coradas (+++), 75%-100% de células coradas (++++). A intensidade da coloração foi avaliada como: negativa (sem coloração), leve (coloração marrom-claro das células), grave (coloração castanho-escuro das células) e moderada (entre coloração leve e grave das células).

Análise estatística

A análise de dados foi feita com o programa SPSS versão 21 (SPSS Inc., Chicago, IL) e com o teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a distribuição normal de dados quantitativos, teste *t* para amostras independentes para comparar variáveis quantitativas com distribuição normal (idade entre o grupo GPCG e o grupo GCCG), teste qui-quadrado para variáveis qualitativas (sexo entre o grupo GPCG e grupo GCCG) e teste de Mann-Whitney para outras variáveis qualitativas (porcentagem de coloração celular e intensidade de coloração em GPCG e GCCG). O valor de *p* < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Neste estudo, 37 casos de GPCG e 37 de GCCG foram examinados. Os dados demográficos dos pacientes são apresentados separadamente na [tabela 1](#). A média da idade dos casos de GPCG foi de 35,08 ± 20,63, e no grupo GCCG foi de 26,9 ± 15,14, mas essa diferença não foi estatisticamente

Tabela 1 Resumo dos dados demográficos dos portadores de GPCG e GCCG

Lesões	Idade			Sexo		
	Média ± DP	Variação	p-valor	Masculino	Feminino	p-valor
GPCG	35,08 ± 20,63	10-71	0,06	15 (40)	22 (60)	0,47
GCCG	26,9 ± 15,14	6-76		13 (38,24)	21 (61,76)	

GCCG, Granuloma central de células gigantes; GPCG, Granuloma periférico de células gigantes.

Tabela 2 Imunorreatividade da MMP-2 em GPCG e GCCG

	GPCG		GCCG	
	CGM n (%)	CM n (%)	CGM n (%)	CM n (%)
Negativa	5 (13,5)	0	3 (8,1)	0
+	22 (59,5)	9 (24,3)	7 (18,9)	6 (16,2)
++	8 (21,6)	22 (59,5)	14 (37,8)	13 (35,6)
+++	1 (2,7)	5 (13,5)	12 (32,4)	17 (45,9)
++++	1 (2,7)	1 (2,7)	1 (2,7)	1 (2,7)
p-valor	0,000		0,16	

CGM, célula gigante multinucleada; CM, célula mononuclear; GCCG, granuloma central de células gigantes; GPCG, granuloma periférico de células gigantes.

significante ($p = 0,06$; teste t para amostras independentes). Além disso, cerca de 60% dos casos nos grupos GPCG e GCCG ocorreram em mulheres, mas a diferença entre os dois grupos não foi estatisticamente significativa ($p = 0,47$; teste de qui-quadrado).

Uma alta porcentagem de células gigantes e células mononucleares em ambas as lesões foram positivas para MMP-2 (tabela 2) (fig. 1A). A coloração para MMP-2 não foi significativamente diferente entre as células mononucleares e gigantes em GCCG ($p = 0,16$), mas a coloração para MMP-2 foi significativamente diferente entre as células mononucleares e gigantes no grupo GPCG ($p < 0,000$).

De acordo com o teste de Mann-Whitney, a mediana da coloração para MMP-2 na célula gigante foi estatisticamente significativa entre as duas lesões ($p < 0,000$). Essa diferença também foi estatisticamente significativa em células mononucleares entre GCCG e GPCG ($p = 0,015$).

Todas as células gigantes e mononucleares foram positivas para osteopontina em GPCG e GCCG (tabela 3) (fig. 1B-D). A porcentagem de coloração celular para osteopontina foi maior em células gigantes do que nas células mononucleares em ambas as lesões, mas essa diferença não foi estatisticamente diferente entre os grupos (GPCG - $p = 0,56$; GCCG - $p = 0,18$).

De acordo com o teste de Mann-Whitney, a mediana da coloração de osteopontina em células gigantes foi estatisticamente diferente entre as duas lesões ($p < 0,000$). Também em células mononucleares a diferença foi estatisticamente diferente entre GPCG e GCCG ($p < 0,000$).

A tabela 4 mostra a intensidade de coloração de células gigantes e células mononucleares para osteopontina nas lesões. De acordo com essa tabela, a diferença de intensidade de coloração da osteopontina entre as células gigantes mononucleares e multinucleares em GCCG ($p = 0,65$) e entre

as células mononucleares e células gigantes no GPCG ($p = 0,82$) não foi estatisticamente significativa.

Entretanto, de acordo com o teste de Mann-Whitney, a mediana da intensidade de coloração da osteopontina nas células gigantes entre as duas lesões foi estatisticamente significativa ($p = 0,003$); além disso, a diferença foi estatisticamente significativa nas células mononucleares entre as duas lesões ($p = 0,035$).

A tabela 5 mostra a intensidade de coloração de células gigantes e células mononucleares para MMP-2 nas lesões. A intensidade de coloração para MMP-2 entre células gigantes multinucleares e mononucleares em GCCG ($p = 0,39$) e entre células gigantes multinucleares e mononucleares em GPCG ($p = 0,34$) não foi significativa.

A mediana da intensidade de coloração para MMP-2 em células gigantes multinucleares não foi estatisticamente significativa entre as duas lesões ($p = 0,14$). Mas a diferença não foi estatisticamente significativa nas células mononucleares entre as duas lesões ($p = 0,05$; teste de Mann-Whitney).

Também o coeficiente de correlação de postos de Spearman mostrou uma correlação significativa entre osteopontina e MMP-2 em GPCG ($p = 0,004$, $r = 0,332$) e GCCG ($p = 0,019$, $r = 0,273$).

Discussão

Os granulomas de células gigantes periféricas e centrais incluem lesões não neoplásicas com etiologia e patogênese pouco conhecidas. Vários estudos histológicos, imuno-histoquímicos, enzimáticos e ultraestruturais foram conduzidos para determinar o papel e a origem das células gigantes nessas lesões, mas a sua natureza ainda é desconhecida.⁷ Assim, decidimos comparar as duas proteínas envolvidas na reabsorção do tecido ósseo e conjuntivo (osteopontina e MMP-2) em células gigantes e células mononucleares dessas lesões. Neste estudo, todas as células gigantes e células mononucleares de GCCG e GPCG foram positivas para osteopontina. Também para a MMP-2, a maioria das células multinucleadas gigantes e células mononucleares em ambas as lesões foi positiva para esse marcador e isso foi significativamente maior em GCCG em comparação com GPCG em ambas as células multinucleares e mononucleares.

Em 2011, Matos et al.¹⁹ examinaram a expressão de MMP-9 em granuloma central e periférico de células gigantes em mandíbula. Os resultados revelaram maior expressão de MMP-9 no GCCG e sugeriram que a MMP-9 possa desempenhar um papel importante no processo de osteoclastogênese das lesões de GCCG. Além disso, no presente estudo, dada a maior presença de MMP-2 em lesões de GCCG, esse

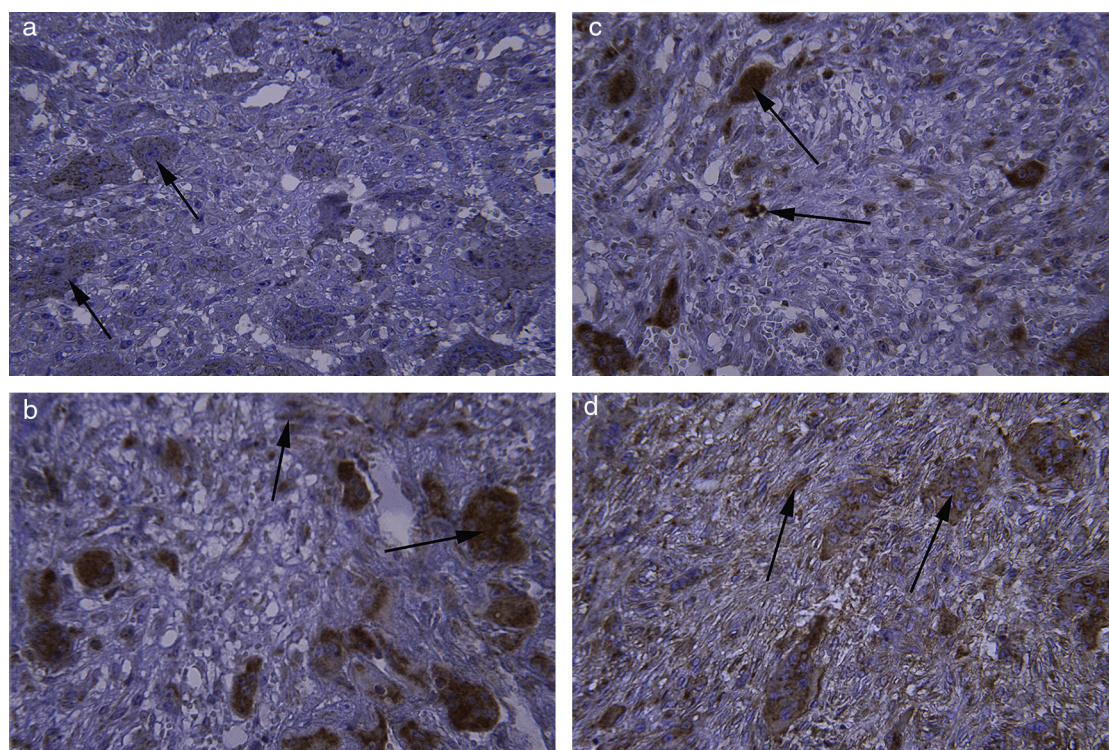


Figura 1 Coloração imuno-histoquímica de (a) MMP-2 em células gigantes de GCCG com coloração de intensidade leve ($\times 400$). (b,c) Osteopontina em células gigantes e células mononucleares de GPCG com intensidade de coloração grave ($\times 400$). (d) Osteopontina em células gigantes e células mononucleares de GPCG com coloração de intensidade moderada ($\times 400$).

Tabela 3 Imunorreatividade da osteopontina em lesões de GPCG e GCCG

	GPCG		GCCG	
	CGM n (%)	CM n (%)	CGM n (%)	CM n (%)
Negativa	0	0	0	0
+	5 (13,5)	5 (13,5)	0	1 (2,7)
++	12 (32,4)	16 (43,2)	1 (2,7)	5 (13,5)
+++	11 (29,7)	8 (21,6)	13 (35,1)	12 (32,4)
++++	9 (24,3)	8 (21,6)	23 (62,2)	19 (51,4)
p-valor	0,56		0,18	

CGM, célula gigante multinucleada; CM, célula mononuclear; GCCG, Granuloma central de células gigantes; GPCG, Granuloma periférico de células gigantes.

Tabela 4 Intensidade da coloração da osteopontina em lesões de GPCG e GCCG

OPN	GPCG		GCCG	
	CGM n (%)	CM n (%)	CGM n (%)	CM n (%)
Negativa	0	0	0	0
Leve	5 (13,5)	4 (10,8)	1 (2,7)	3 (8,1)
Moderada	25 (67,6)	26 (70,3)	18 (48,6)	17 (45,9)
Grave	7 (18,9)	7 (18,9)	18 (48,6)	17 (45,9)
p-valor	0,82		0,65	

CGM, célula gigante multinucleada; CM, célula mononuclear; GCCG, Granuloma central de células gigantes; GPCG, Granuloma periférico de células gigantes.

marcador pode estar envolvido no processo de osteoclastogênese de lesões GCCG.

Em 2010, Tobon et al.²⁰ examinaram a relação entre a expressão de MMP-9 e MMP-1 com o comportamento clínico de lesões de células gigantes em formas invasivas e não invasivas. Os resultados mostraram que ambas as proteases estão significativamente aumentadas em lesões invasivas, o que está em conformidade com nosso estudo em termos das diferenças relativas ao comportamento biológico das lesões de granulomas periféricos de células gigantes e centrais, pois a MMP-2 foi maior nas lesões invasivas em nosso estudo.

Em um estudo feito em 2010 por Friedrich et al.,²³ os fatores que indicavam a diferenciação e atividade de osteoclastos, como MMP-9, foram avaliados com a técnica

Tabela 5 Intensidade da coloração de MMP-2 em lesões de GPCG e GCCG

MMP-2	GPCG		GCCG	
	CGM n (%)	CM n (%)	CGM n (%)	CM n (%)
Negativa	3 (8,1)	0	3 (8,1)	0
Leve	23 (62,2)	24 (64,9)	11 (29,7)	12 (32,4)
Moderada	11 (29,7)	13 (35,1)	23 (62,2)	24 (64,9)
Grave	0	0	0	1 (2,7)
p-valor	0,93		0,39	

CGM, célula gigante multinucleada; CM, célula mononuclear; GCCG, Granuloma central de células gigantes; GPCG, Granuloma periférico de células gigantes.

microarranjo. Esses fatores foram encontrados em todas as lesões estudadas, inclusive lesões de células gigantes da mandíbula, bainhas do tendão e glândulas salivares. Os resultados deste estudo mostraram que os ingredientes celulares para todas as lesões são independentes da localização e as lesões de células gigantes em todos os locais incluem proteases osteolíticas similares e expressam citocinas metabólicas que afetam o metabolismo ósseo. Apesar das diferenças de método, a expressão de MMP-9 como fator osteolítico em lesões de células gigantes da mandíbula é consistente com nosso estudo.

No estudo de Liu et al.,²⁴ para avaliar as características da célula gigante osteoclástica em lesões de células gigantes da mandíbula, estudos imuno-histoquímicos (IHQ) mostraram que células gigantes e várias células mononucleares nessas lesões eram amplamente positivas para MMP-9. Além disso, em seu estudo, CGMs em lesões de células gigantes da mandíbula apresentaram características osteoclásticas. Adicionalmente, em nosso estudo, a expressão de MMP-2 em células gigantes multinucleadas pode indicar o papel de células gigantes em atividades osteolíticas e proteolíticas nessas lesões.

Em um estudo feito por Carlson et al.,¹⁷ 22 casos de lesões granulomatosas foram examinadas em relação aos níveis de expressão da osteopontina e os resultados mostraram uma superexpressão de mRNA de osteopontina em células gigantes multinucleares. Em nosso estudo, a porcentagem de coloração da osteopontina em células gigantes multinucleadas foi maior em comparação com células mononucleares em granulomas periféricos e centrais de células gigantes, mas a diferença não foi significativamente diferente. A diferença de resultados pode ser devida às diferentes técnicas desses dois estudos.

Em 2011, Torabinia et al.⁷ relataram a expressão de TRAP (indicaram a atividade osteoclástica das células) em células gigantes multinucleadas e várias células mononucleares em granulomas centrais e periféricos de células gigantes e sugeriram que células gigantes possam representar um fenótipo osteoclástico em GPCG e GCCG. Além disso, um grupo de células mononucleares estromais que apresentaram esse marcador poderia ser considerado como progenitor de células gigantes. Em nosso estudo, a osteopontina, que é um marcador osteoclástico, mostrou maior expressão em células multinucleares do que em células mononucleares.

Em um estudo de Rabinovich et al.,²⁵ a expressão de MMP2, MMP9 em células estromais de tumor de células gigantes ósseas indica o papel dessas células na degradação da gelatina estromal e na invasão óssea. Da mesma forma, em nosso estudo, células estromais e células gigantes no granuloma central de células gigantes expressaram MMP-2, o que indica o papel das células mononucleares e células gigantes na destruição da matriz óssea.

Além disso, em um estudo sobre a análise dos marcadores osteoclásticos de RANKL e Osteoprotegerina em GPCG, Fanourakis et al.⁶ indicaram a natureza osteoclástica das células gigantes, mas a possível natureza osteoclástica dos monócitos estromais foi relatada de maneira ambígua. Esse estudo é semelhante ao presente estudo em relação à indicação da natureza osteoclástica das células gigantes.

Contrário ao estudo atual, que indica que os marcadores de osteopontina e MMP-2 poderiam explicar os diferentes comportamentos clínicos de GCCG e GPCG, em um

estudo de Souza et al.,²⁶ a expressão de P53, MDM-2, PCNA, Ki-67 em GCCG e GPCG não foi significativamente diferente e não explicou seu comportamento diverso. Também, em um estudo de Moradzadeh et al.⁵ feito em 2013 para avaliar a expressão da proteína Src no granuloma de célula gigante central e periférica concluiu-se que as CGMs mostraram semelhanças com osteoclastos nessas lesões e que esse marcador pode ser usado como um novo alvo terapêutico para inibir a atividade de osteoclastos nessas regiões. Esse estudo foi semelhante ao nosso em termos de presença de uma natureza osteoclástica em células gigantes nas lesões mencionadas. Mas eles sugerem que o marcador Src não explica o comportamento biológico diferente de GPCG e GCCG. Em nosso estudo, os marcadores de osteopontina e MMP-2 em GCCG foram mais elevados do que em GPCG e isso pode ser indicativo do fato de que as diferenças nos comportamentos biológicos dessas lesões estão associadas à expressão de marcadores osteolíticos e proteolíticos.

Conclusão

De acordo com os resultados do presente estudo, a expressão de osteopontina em células gigantes apoia a teoria da natureza osteoclástica dessas células. Além disso, a presença desse marcador e MMP-2 em células mononucleares pode indicar a origem dos monócitos-macrófagos dessas células, uma vez que a diferenciação dos precursores do monócito/macrófago estromal mononuclear em osteoclastos é possivelmente afetada pela expressão de fatores osteolíticos. Além disso, devido à diferença significativa entre a expressão do marcador de osteopontina e MMP-2 em GPCG e GCCG, pode-se dizer que as diferenças nos comportamentos biológicos dessas lesões estão associadas ao nível de expressão de marcadores osteolíticos e proteolíticos.

Financiamento

Este estudo recebeu apoio financeiro do Conselho de Pesquisa da Mashhad University of Medical Sciences (número do subsídio: 910127).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Zargar M, Moghimbeigi A, Afsharmoghdam N, Isfahani MN, Hashemi A. A comparative study of cathepsin D expression in peripheral and central giant cell granuloma of the jaws by immunohistochemistry technique. *J Dent (Shiraz)*. 2016;17:98–104.
2. Tandon PN, Gupta S, Gupta DS, Jurel SK, Saraswat A. Peripheral giant cell granuloma. *Contemp Clin Dent*. 2012;3:S118–21.
3. Syrio NF, Faria DR, Gomez RS, Gollob KJ, Dutra WO, Souza PE. IL-10 and IL-10 receptor overexpression in oral giant cell lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16:e488–92.
4. Kader O, Bashar H, Abdullah B, Edward M. Histopathological and immunohistochemical study of giant cell granuloma of the jaw and giant cell tumor of long bones (comparative study). *Iraqi Postgrad Med J*. 2011;10:33–9.

5. Khiavi MM, Aghbali AA, Halimi M, Kouhsoltani M, Hamishehkar H. Immunohistochemical expression of Src protein in peripheral and central giant cell granulomas of the jaws. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2013;17:358–62.
6. Fanourakis G, Lazaris AC, Krithinakis S, Tosios KI, Sklavounou A, Tseleni Balafouta S. Expression of receptor activator of NF κ B ligand and osteoprotegerin in peripheral giant cell granulomas of the jaws. *J Oral Pathol Med.* 2010;39:687–9.
7. Torabinia N, Razavi S, Shokrolahi Z. A comparative immunohistochemical evaluation of CD68 and TRAP protein expression in central and peripheral giant cell granulomas of the jaws. *J Oral Pathol Med.* 2011;40:334–7.
8. Vt V, Hallikeri K, Girish H, Murgod S. Expression of CD34 and CD68 in peripheral giant cell granuloma and central giant cell granuloma: an immunohistochemical analysis. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2013;18:341–8.
9. Vasconcelos RG, Vasconcelos MG, Queiroz LMG. Peripheral and central giant cell lesions: etiology, origin of giant cells, diagnosis and treatment. *J Bras Patol Med Lab.* 2013;49:446–52.
10. Kujan O, Al-Shawaf A, Azzeghaiby S, AlManadille A, Aziz K, Raheel S. Immunohistochemical comparison of p53, Ki-67, CD68, vimentin, α -smooth muscle actin and alpha-1-antichymotrypsin in oral peripheral and central giant cell granuloma. *J Contem Dent Pract.* 2015;16:20–4.
11. Patil KP, Kalele KP, Kanakdande VD. Peripheral giant cell granuloma: a comprehensive review of an ambiguous lesion. *J Int Clin Dent Res Organ.* 2014;6:118–25.
12. Tiffée JC, Aufdemorte TB. Markers for macrophage and osteoclast lineages in giant cell lesions of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997;55:1108–12.
13. Flanagan AM, Tinkler S, Horton M, Williams D, Chambers T. The multinucleate cells in giant cell granulomas of the jaw are osteoclasts. *Cancer.* 1988;62:1139–45.
14. Bonetti F, Pelosi G, Martignoni G, Mombello A, Zamboni G, Pea M, et al. Peripheral giant cell granuloma: evidence for osteoclastic differentiation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1990;70:471–5.
15. Elanagai R, Veeravarmal V, Nirmal RM. Osteopontin expression in reactive lesions of gingiva. *J Appl Oral Sci.* 2015;23:26–32.
16. Oh Y, Oh I, Morimoto J, Uede T, Morimoto A. Osteopontin has a crucial role in osteoclast like multinucleated giant cell formation. *J Cell Biochem.* 2014;115:585–95.
17. Carlson I, Tognazzi K, Manseau EJ, Dvorak HF, Brown LF. Osteopontin is strongly expressed by histiocytes in granulomas of diverse etiology. *Lab Invest.* 1997;77:103–8.
18. Kusano K, Miyaura C, Inada M, Tamura T, Ito A, Nagase H, et al. Regulation of matrix metalloproteinases (MMP-2, -3, -9, and -13) by interleukin-1 and interleukin-6 in mouse calvaria: association of MMP induction with bone resorption. *Endocrinology.* 1998;139:1338–45.
19. Matos FR, Nonaka CF, Miguel MC, Galvão HC, Souza LB, Freitas RdA. Immunoeexpression of MMP 9, VEGF, and vWF in central and peripheral giant cell lesions of the jaws. *J Oral Pathol Med.* 2011;40:338–44.
20. Tobón-Arroyave SI, Mideros-Simarra SM, Castaño-Ramírez LM, Flórez-Moreno GA, Isaza-Guzmán DM. Overexpression of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and -9 in central giant cell lesions of the jaws: implications for clinical behavior. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110:755–63.
21. Mohtasham N, Anvari K, Memar B, Saghravani N, Ghazi N, Bagherpour A, et al. Expression of E-cadherin and matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma and histologically negative surgical margins and association with clinicopathological parameters. *Rom J Morphol Embryol.* 2014;55:117–21.
22. Wang Y-P, Liu B-Y. High expression of osteopontin and CD44v6 in odontogenic keratocysts. *J Formos Med Assoc.* 2009;108:286–92.
23. Friedrich RE, Eisenmann J, Roeser K, Scheuer HA, Loening T. Expression of proteases in giant cell lesions of the jaws, tendon sheath and salivary glands. *Anticancer Res.* 2010;30:1645–52.
24. Liu B, Yu SF, Li TJ. Multinucleated giant cells in various forms of giant cell containing lesions of the jaws express features of osteoclasts. *J Oral Pathol Med.* 2003;32:367–75.
25. Rabinovich A, Mak IW, Cowan RW, Turcotte RE, Colterjohn N, Singh G, et al. Matrix metalloproteinase activity in the stromal cell of giant cell tumor of bone. *Open Bone J.* 2009;1:46–52.
26. Souza P, Mesquita R, Gomez R. Evaluation of p53, PCNA, Ki 67 MDM2 and AgNOR in oral peripheral and central giant cell lesions. *Oral Dis.* 2000;6:35–9.