

**MARIANA LOBO BERGAMINI**

**Análise da concentração de células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos em lesões periapicais crônicas**

São Paulo

2019



**MARIANA LOBO BERGAMINI**

**Análise da concentração de células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos em lesões periapicais crônicas**

**Versão Original**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Patologia Oral e Maxilofacial e Pacientes Especiais

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Braz da Silva

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação  
Serviço de Documentação Odontológica  
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Bergamini, Mariana Lobo.

Análise da concentração de células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos em lesões periapicais crônicas / Mariana Lobo Bergamini; orientador Paulo Henrique Braz da Silva. -- São Paulo, 2019.

68 p. : tab., fig. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas. Área de Concentração: Patologia Oral e Maxilofacial e Pacientes Especiais. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão original

1. Lesões periapicais. 2. Linfócitos T. 3. Células dendríticas. 4. Mastócitos. 5. Imunohistoquímica. I. Silva, Paulo Henrique Braz da. II. Título.

Bergamini ML. Análise da concentração de células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos em lesões periapicais crônicas. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em:    /    /2019

**Banca Examinadora**

Prof(a). Dr(a). \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof(a). Dr(a). \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof(a). Dr(a). \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_



Aos meus pais, Mario e Celi, por confiarem e investirem na minha educação e suportarem minha ausência durante todo esse tempo. Vocês me ensinaram e me ensinam todos os dias a ser uma pessoa íntegra. Vocês são maravilhosos e eu amo vocês. Meu eterno agradecimento!

Ao meu irmão, por todo carinho, amor e companheirismo.

A todos os meus familiares: avós, padrinhos, madrinhas, tios, tias, primos, primas e aos ausentes que sempre torceram por mim e pelo meu sucesso. Muito obrigada!



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por me permitir estar ao lado dos meus familiares e amigos. Aos meus pais, por todo carinho, apoio, doação, amor e dedicação. Mesmo tão distante, vocês estiveram tão presentes e são os maiores responsáveis por essa conquista. Agradeço também ao meu irmão, por ter me apoiado em todas as minhas decisões. E a todos os meus familiares. Sou muito grata por fazer parte dessa grande família.

Um agradecimento especial ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Henrique Braz da Silva, por ter me dado a oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa, que me transmitiu tanto conhecimento e que sempre acreditou em mim. Muito obrigada por tudo!

À minha querida Profa. Dra. Karen Renata Nakamura Hiraki, da Universidade Federal de Uberlândia, que sempre me deu tanto incentivo e me ensinou, acima de tudo, a ética no âmbito acadêmico. Saiba que boa parte dos passos e das conquistas que adquiri até o momento são inspirados na sua vida profissional. Meus agradecimentos nunca serão suficientes!

Agradeço também a todos os professores da Patologia Oral e Maxilofacial e Pacientes especiais da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, vocês foram muito importantes na minha busca pelo conhecimento e me transmitiram muitos ensinamentos. Quero continuar aprendendo com vocês!

À Profa. Dra. Luciana Corrêa por sua disponibilidade e vontade em ajudar. Obrigada por disponibilizar o laboratório para que eu pudesse desenvolver minha dissertação.

À Profa. Dra. Suzana Cantanhede Orsini Machado de Sousa, pelo exemplo de profissionalismo, dedicação e entusiasmo em ensinar.

Ao meu irmão de coração Filipe D'Angelo, por todo amor, carinho e companheirismo. Aos meus grandes amigos Eduardo, Giuliane, Flávia, Bianca e Felipe, vocês são incríveis. Obrigada por tudo!

À minha segunda família em Vinhedo-SP Cressia, Daniel, Rebecca, Samuel e Kátia, vocês me acolheram tão bem! Tenho um carinho gigantesco por vocês!

Às meninas que dividem apartamento comigo, Andrea e Camila, obrigada por me suportarem todos os dias.

À Michelle e Catharina, por terem me ajudado no desenvolvimento do projeto e por estarem presentes nos momentos que mais precisei.

Aos meus amigos da FOUSP Paulo, Wellington, Sofia e Solange. Obrigada pelo convívio, pelo carinho e por compartilhar comigo as angústias dos trabalhos realizados nas disciplinas de pós-graduação.

Ao meu colega de pós-graduação Prof. Me. Dmitry José de Santana Sarmiento pelo auxílio na análise estatística dos dados obtidos no projeto. Muito obrigada!

Gostaria de agradecer também a todos meus colegas da Patologia, pelo convívio diário e ajuda de sempre.

À Joana e Gisela, professoras auxiliares do curso de cirurgia da Fundectó, por todo carinho e compreensão durante a coleta dos dados e pela amizade que construímos.

Aos funcionários e técnicos da Patologia Oral Vinicius, Carlito, Elisa, Adriana e Juvani. Nosso trajeto pela pós-graduação não seria possível sem ajuda e atenção de vocês. Muito obrigada!

Por fim, um agradecimento a agência de fomento CNPq, pelo auxílio financeiro ao projeto e à CAPES pelo custeio de minha bolsa de mestrado.

.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

Arthur Schopenhauer



## RESUMO

Bergamini ML. Análise da concentração de células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos em lesões periapicais crônicas. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2019. Versão Original.

As lesões periapicais crônicas estão entre as mais frequentes do complexo maxilofacial, porém o perfil inflamatório dessas lesões é pouco compreendido, tanto do ponto de vista da caracterização celular como da expressão de citocinas. Cistos e granulomas periapicais compõem dois terços dessas lesões inflamatórias em região de mandíbula, onde são mais frequentes. O presente estudo propôs-se a estudar e avaliar a expressão imuno-histoquímica de CD1a<sup>+</sup> (marcador de células dendríticas imaturas) e de FoxP3<sup>+</sup> (marcador de linfócitos T reguladores) e verificar a presença de mastócitos em granulomas periapicais, cistos radiculares e residuais. Foram selecionados 73 casos, sendo 30 de granulomas periapicais, 29 de cistos radiculares e 14 de cistos residuais, dos arquivos do Serviço de Patologia Cirúrgica Oral e Maxilofacial do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Todos os grupos foram submetidos a análise morfológica, para classificação do infiltrado inflamatório e espessura epitelial, análise imuno-histoquímica, para detecção e contagem de células dendríticas e linfócitos T reguladores e coloração com azul de toluidina para contagem de mastócitos nas lesões periapicais crônicas. A análise morfológica revelou que a presença de infiltrado inflamatório grau I foi mais comum nos cistos periapicais. A gradação II e III foi mais comumente encontrada em cistos radiculares e granulomas periapicais. A avaliação da espessura epitelial mostrou que os epitélios atrófico e hipertrófico se apresentaram majoritariamente em cistos radiculares. Não houve diferenças estatisticamente significantes em relação ao infiltrado inflamatório e espessura epitelial nas lesões periapicais crônicas estudadas ( $p > 0,05$ ). A avaliação da contagem do número de células dendríticas (CD1a<sup>+</sup>) apresentou um valor médio maior em cistos radiculares (8,16 células/0,2mm<sup>2</sup>) ( $p < 0,001$ ) e o número médio de linfócitos T reguladores (FoxP3<sup>+</sup>) também foi maior em cistos radiculares (5,910 células/0,2mm<sup>2</sup>) ( $p < 0,05$ ). Na avaliação do número de mastócitos, os cistos radiculares apresentaram maior número médio dessas células do que as outras lesões periapicais (12,68 células/0,2mm<sup>2</sup>) ( $p < 0,001$ ). A avaliação da correlação entre infiltrado inflamatório e imunomarcção

mostrou que houve diferença estatisticamente significativa na correlação entre infiltrado inflamatório e células CD1a<sup>+</sup> em granulomas periapicais ( $p < 0,001$ ). A medida que a gradação do infiltrado inflamatório aumentou, o número células CD1a<sup>+</sup> diminuiu. E a correlação entre espessura epitelial e imunomarcação das células mostrou que a presença de epitélio hipertrófico em cistos radiculares apresentou maior densidade de células CD1a<sup>+</sup>. Não houve correlação estatisticamente significativa da presença de linfócitos Treg e a gradação do infiltrado inflamatório nem da espessura epitelial. Todos esses resultados foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ). A concentração de células dendríticas imaturas e linfócitos T reguladores desempenham um papel importante no controle do microambiente inflamatório nos granulomas periapicais e cistos radiculares, respectivamente. A presença de mastócitos nos cistos radiculares pode estar associada à progressão, expansão da lesão e reabsorção óssea.

Palavras-chave: Lesões periapicais crônicas, Linfócito T regulador, célula dendrítica, mastócito, imuno-histoquímica.

## ABSTRACT

Bergamini ML. Analysis of Dendritic Cells, T Regulatory Lymphocytes and Mastocytes Concentration in Chronic Apical Periodontitis. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2019. Versão Original.

Chronic apical periodontitis are among the most frequent in the maxillofacial complex, but their inflammatory profile is poorly understood regarding both cell characterisation and cytokine expression. Cysts and periapical granulomas account for two-thirds of these inflammatory lesions in the mandibular region, where they are more frequent. The present study is aimed at investigating and assessing the immunohistochemical expressions of CD1a+ (marker for immature dendritic cells) and FoxP3+ (maker for T regulatory lymphocytes), as well as at verifying the presence of mastocytes in periapical granulomas and radicular and residual cysts. Seventy three cases (30 of periapical granulomas, 29 of radicular cysts and 14 of residual cysts) were selected from the Oral and Maxillofacial Pathology Unit of the Department of Stomatology, School of Dentistry, University of São Paulo. All groups were submitted to morphological analysis for classification of inflammatory infiltrate and epithelial thickness and to immunohistochemical analysis for detection and counting of dendritic cells and T regulatory lymphocytes. Toluidine blue staining was used for counting mastocytes in the chronic periapical lesions. Morphological analysis revealed that grade I inflammatory infiltrate was the most common in periapical cysts. Grading II and III were more frequently found in radicular cysts and granulomas. Evaluation of epithelial thickness showed that atrophic and hypertrophic epithelia are mostly found in radicular cysts. There were no statistically significant differences in the chronic apical periodontitis regarding inflammatory infiltrate and epithelial thickness ( $P > 0.05$ ). The mean numbers of dendritic cells (CD1a+) and T regulatory lymphocytes (FoxP3+) were higher than that of radicular cysts, respectively, 8.16 cells/0.2 mm<sup>2</sup> ( $P < 0.001$ ) and 5.910 cells/0.2 mm<sup>2</sup> ( $P < 0.05$ ). As for the mastocytes, the radicular cysts had a higher mean number than that of other periapical lesions (12.68 cells/0.02 mm<sup>2</sup>) ( $P < 0.001$ ). Assessment of the correlation between inflammatory infiltrate and immunomarkers showed a statistically significant difference regarding CD1a+ cells in periapical granulomas ( $P < 0.001$ ). As the inflammatory infiltrate grading increased, the number of CD1a+ cells decreased. The correlation between epithelial thickness and cell

immunomarkers showed that the presence of hypertrophic epithelium in radicular cysts presented a higher density of CD1a+ cells. There was no statistically significant correlation of the presence of T regulatory lymphocytes with inflammatory infiltrate grading or epithelial thickness. All these results were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The concentration of immature dendritic cells and T regulatory lymphocytes plays an important role in the control of the inflammatory micro-environment in periapical granulomas and radicular cysts, respectively. The presence of mastocytes in radicular cysts may be associated to progression and expansion of the lesion as well as to bone resorption.

**Key-words:** Chronic apical periodontitis; Regulatory T lymphocyte; Dendritic cells; Mastocyte; Immunohistochemistry.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 2.3 - Diferenciação de linfócito T naíve em células Treg ou Th17, mediado por TGF-  $\beta$  e IL-6 ou IL-23 ..... 31
- Figura 5.2 - Fotomicrografias coradas em H&E. Em A – cisto radicular grau I hipertrófico, B- cisto radicular grau III atrófico, C- granuloma grau III, D – cisto residual atrófico grau II (A – ampliação de 25X; B,C e D – ampliação 100X)..... 46
- Figura 5.3 - Imunomarcção positiva das células CD1a+ (setas pretas) cisto radicular (A) e cisto residual (B) (Ampliação 400X) ..... 48
- Figura 5.4 - Imunomarcção positiva para células FoxP3+ (setas verdes) em cisto radicular (A) e granuloma periapical (B) (Ampliação 400X) ..... 49
- Figura 5.5 - Coloração com Azul de toluidina para células mastocitárias (círculos vermelhos) em cisto radicular (A) (Ampliação 100X), cisto residual (B) e granuloma periapical (C e D) (Ampliação 400X) ..... 50



## LISTA DE TABELAS

- Tabela 5.1 - Distribuição de sexo, cor de pele, diagnóstico clínico e sintomatologia no cisto radicular, granuloma periapical e cisto residual ..... 44
- Tabela 5.2- Tempo de evolução e tamanho da lesão em cisto radicular, granuloma periapical e cisto residual e comparação de médias entre os grupos de cada lesão..... 45
- Tabela 5.3- Distribuição das lesões periapicais: relação de cisto radicular, granuloma periapical e cisto residual com infiltrado inflamatório e espessura epitelial ..... 46
- Tabela 5.4- Imunoexpressão de CD1a, FoxP3 e mastócitos em cisto radicular, granuloma periapical e cisto residual e comparação de médias entre os grupos de cada lesão ..... 47
- Tabela 5.5- Correlação entre infiltrado inflamatório e imunomarcção para células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos nas lesões periapicais crônicas analisadas..... 51
- Tabela 5.6- Correlação entre espessura epitelial e imunomarcção para células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos nos cistos residuais e radiculares..... 51



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C	Cisto radicular
CAAs	Células apresentadoras de antígenos
CLs	Células de Langerhans
GP	Granuloma periapical
CR	Cisto residual
Foxp3	Forkhead box P3
IFN- $\gamma$	Interferon-gama
IL	Interleucina
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
MIP-1 $\alpha$	Proteína inflamatória de macrófagos-1 alfa
MIP-1 $\beta$	Proteína inflamatória de macrófagos-1 Beta
NK	Células natural killer
OPG	Osteoprotegerina
RANK	Receptor activator of nuclear factor $\kappa$ B
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
TGF- $\beta$	Fator de crescimento transformante beta
Th	Linfócito T helper
Th17	Linfócito T auxiliar tipo 17
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
Treg	Linfócito T regulador



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	25
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	27
2.1	MASTÓCITOS.....	27
2.2	CÉLULAS DENDRÍTICAS.....	28
2.3	LINFÓCITO T REGULADOR .....	30
2.4	OUTROS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS .....	32
<b>3</b>	<b>PROPOSIÇÃO</b> .....	35
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	37
4.1	SELEÇÃO DA AMOSTRA.....	37
4.2	ANÁLISE MORFOLÓGICA .....	37
4.3	COLORAÇÃO COM AZUL DE TOLUIDINA .....	38
4.4	REAÇÕES IMUNO-HISTOQUÍMICAS .....	39
4.5	AVALIAÇÃO DA IMUNOMARCAÇÃO E DA COLORAÇÃO COM AZUL DE TOLUIDINA .....	40
4.6	ANÁLISES DOS RESULTADOS.....	40
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	43
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	43
5.2	AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA .....	45
5.3	AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DO NÚMERO DE CÉLULAS CD1a <sup>+</sup> , FoxP3 <sup>+</sup> E MASTÓCITOS .....	47
5.4	AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE INFILTRADO INFLAMATÓRIO E ESPESSURA EPITELIAL E DO NÚMERO DE CÉLULAS CD1a <sup>+</sup> , FoxP3 <sup>+</sup> E MASTÓCITOS NAS LESÕES PERIAPICAIS CRÔNICAS.....	50
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	53
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	57
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	59
	<b>ANEXOS</b> .....	69



## 1 INTRODUÇÃO

O tecido pulpar, constituído de tecido conjuntivo frouxo e responsável pela vitalidade do dente, é protegido do contato com microrganismos, que são potencialmente nocivos para esse tecido. À exposição da polpa dental por fatores como progressão de cárie ou fratura, levando ao contato com agentes microbianos e/ou seus produtos induzirá uma resposta inflamatória, que poderá levar à necrose pulpar. A lesão periapical é uma doença infecciosa prevalente em todo o mundo e caracterizada por destruição dos tecidos mineralizados ao redor do ápice radicular em decorrência da resposta local do hospedeiro frente à infecção bacteriana da polpa dental (1–4).

Cistos e granulomas periapicais correspondem às lesões inflamatórias mais frequentes dos maxilares e dois terços dessas lesões estão localizadas em região de mandíbula, onde são mais frequentes (5–7). Sabe-se que os antígenos microbianos são capazes de estimular respostas imunes específicas e não específicas nos tecidos periapicais (8,9).

A interação entre células, citocinas e outros elementos inflamatórios presentes em lesões periapicais, assim como a função específica de cada um, ainda não está completamente elucidada. Entretanto, sabe-se que o infiltrado inflamatório dessas lesões é essencialmente mononuclear e que, eventualmente, granulomas periapicais compostos por tecido de granulação com células inflamatórias, fibroblastos e uma cápsula fibrosa bem desenvolvida, podem evoluir para cistos radiculares caso os remanescentes epiteliais de Malassez sejam estimulados à proliferação(6,10). O cisto residual é caracterizado pela persistência da lesão após a extração de um dente afetado por um cisto radicular não removido (11).

A formação de lesões periapicais crônicas envolve ativação local da resposta imune do hospedeiro e reabsorção óssea na região periapical. Estudos já demonstraram que na formação dessas lesões há participação de macrófagos, mastócitos, linfócitos T, neutrófilos, células dendríticas, além da expressão de interleucinas (IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-22) interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), fator de crescimento transformante beta (TGF- $\beta$ ), proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1), proteína inflamatória de macrófagos-1beta (MIP-1 $\beta$ ), IP-10, RANTES, FoxP3 (forkhead box

P3), osteopontina e do sistema RANK, RANKL e OPG (5,7,12). O balanço entre os mediadores pró e anti-inflamatórios determinam a estabilidade ou progressão da lesão periapical (3,13,14). Entretanto, o papel de cada célula e citocina ainda necessita ser mais investigados (5,10,12,15).

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

A lesão periapical é essencialmente uma doença inflamatória de etiologia microbiana (16,17). Após a necrose pulpar, a disseminação e instalação de bactérias no periápice estimulam e ativam mecanismos de defesa inatos e adquiridos, com eventos vasculares e celulares levando ao desenvolvimento de granulomas periapicais e cistos radiculares. Como consequência desses processos e da incapacidade dos mecanismos de defesa do hospedeiro para eliminar a infecção, formam-se lesões periapicais crônicas, com o intuito de restringir a invasão microbiana. Apesar de numerosos estudos experimentais e clínicos, ainda não se sabe exatamente qual a associação e função do componente celular, fatores indutores específicos e mediadores de crescimento associados ao desenvolvimento, manutenção e resolução de lesões periapicais (2,9).

A persistência do processo inflamatório está associada à reabsorção óssea, com consequente substituição por tecido de granulação, formando granulomas periapicais (18). O estímulo antigênico contínuo e as respostas inflamatórias e imunes associadas induzem a proliferação de restos epiteliais de Malassez, um evento que pode levar ao desenvolvimento de um cisto radicular.(18,19).

Subpopulações distintas de células inflamatórias foram descritas em lesões periapicais. Dentre elas macrófagos, mastócitos, linfócitos T, neutrófilos e células dendríticas (5,7,12).

Neutrófilos e sua interação com microrganismos são de particular importância na fase aguda, como a primeira linha de defesa e para a progressão da lesão periapical, causando dano tecidual e quimiotaxia (7).

### 2.1 MASTÓCITOS

Mastócitos e macrófagos são relatados como importantes componentes do infiltrado inflamatório em lesões periapicais, e embora não se saiba exatamente como, essas células estão associadas à produção de IL-6 e de outros mediadores inflamatórios. Um estudo da distribuição dessas células em

cistos radiculares mostrou que mastócitos, devido a sua capacidade de degranular e de produzir diversas substâncias pré-formadas (histamina, serotonina, heparina e proteínas) no ambiente extracelular, além de sintetizar novos mediadores vasoativos, como fator ativador de plaquetas, agentes quimiotáticos e várias citocinas pró-inflamatórias, estão diretamente relacionados com eventos inflamatórios, reabsorção óssea e interação com outras células do sistema imune (7,20).

Além disso, a presença de mastócitos triptase-positivos na periferia da cápsula pode sugerir uma participação dessas células na expansão da lesão, conseqüentemente na reabsorção óssea, isso devido a sua capacidade de induzir a expressão de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , MIP-1 $\alpha$  e MCP-1, que irão desencadear um processo inflamatório (10).

Trabalhos compararam a presença de mastócitos em granulomas periapicais e cistos radiculares, confirmando que essas células são encontradas em grande quantidade no último. Além disso, observou-se que os mastócitos são amplamente encontrados em áreas com acentuada exocitose e em regiões subepiteliais, sugerindo que essas células estão associadas à presença de inflamação (20–22). Esses resultados explicariam a tendência de crescimento dos cistos, uma vez que essas células são responsáveis pela liberação de mediadores inflamatórios como TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , MIP-1 $\alpha$  e MCP-1. A degranulação dos mastócitos pode causar alterações inflamatórias e vasculares, contribuindo para o desenvolvimento e expansão dos cistos (20,23,24).

Estudos sugerem que mastócitos ativos parecem estar envolvidos com a indução da migração de células T diretamente pela liberação de exossomos e quimiocinas como linfotactina, IL-16 e MIP-1 $\beta$  (20,25). Além disso, verificou-se que existe uma relação funcional entre mastócitos e linfócitos T, pois mastócitos ativos são encontrados frequentemente em aposição próximos aos linfócitos T em alguns processos inflamatórios, incluindo o granuloma periapical (26,27).

## 2.2 CÉLULAS DENDRÍTICAS

Células dendríticas são apresentadoras profissionais de antígenos e são essenciais no início da resposta imune (28).

As células de Langerhans (CLs), um tipo de célula dendrítica, são células apresentadoras de antígenos profissionais derivadas da medula óssea, responsáveis pela apresentação de antígenos aos linfócitos T e estão presentes no epitélio oral (2,29).

Juntamente com outras células do sistema imune, as CLs desempenham papéis fundamentais em condições normais e patológicas na maioria dos epitélios estratificados pavimentosos, como a epiderme e mucosa oral (11). Estudos demonstraram que as CLs compõem o epitélio de cistos radiculares a partir da utilização de anticorpos anti-S-100 e anti-CD1a. A evidência disponível sugere que as CLs têm um papel importante nas reações imunes mediadas por células, bem como na patogênese das lesões periapicais (30).

Santos et al. (2007) analisaram a presença de CLs em granulomas periapicais e cistos radiculares e observaram que essas células foram detectadas em 69,2% dos cistos radiculares estudados e em 11,1% dos granulomas periapicais, mostrando uma correlação significativa entre a imunomarcagem e o tipo de lesão (2). Outro estudo mostrou que a densidade das CLs foi ligeiramente maior em cistos radiculares quando comparado a granulomas periapicais sem epitélio, enquanto a densidade de células subepiteliais foi maior em granulomas epitelizados ou sem epitélio do que em cistos radiculares (11). Estes achados sugerem que a distribuição e a densidade da CL podem estar associadas ao grau de diferenciação dos componentes epiteliais. Além disso, notou-se também que as CLs eram mais escassas em cistos residuais do que em cistos radiculares. A diminuição da densidade celular marcada pode ser resultado de reparo celular, caracterizado por uma fase quiescente e regressão do crescimento do cisto, após a remoção do agente inflamatório (31).

A relação entre a densidade de CL e a intensidade do infiltrado inflamatório presente nessas lesões também já foi analisada. Observou-se uma maior densidade de CL em lesões com infiltrado inflamatório intenso (50%) e moderado (30%) (11,32,33). No entanto, a análise estatística não revelou uma correlação significativa entre a intensidade inflamatória e a densidade de imunomarcagem (2).

Alguns pesquisadores correlacionaram a espessura epitelial com a intensidade inflamatória das lesões periapicais (11,34). De acordo com esses autores, o estímulo inflamatório fornecido por fatores de crescimento e citocinas desencadeia a proliferação epitelial. Suzuki et al. (2001) observaram uma correlação significativa

entre a densidade de CLs marcadas com CD1a e o potencial proliferativo do epitélio em cistos radiculares, granulomas epitelizados e cistos residuais (11).

As células apresentadoras de antígenos (CAAs) são extremamente importantes na ativação das respostas imunes T helper (Th) para as células reguladoras Th1, Th2, Th17 ou linfócitos T reguladores (Treg). Presume-se que as respostas imunes Th1, mediadas por IFN- $\gamma$ , em conjunto com outras citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  estão envolvidos na progressão de lesões e reabsorção óssea (35). Por outro lado, mecanismos imunossupressores mediados pelo TGF- $\beta$  e pela resposta imune Th2 (IL-4, IL-6, IL-10, IL-13) são responsáveis pelos mecanismos de reparação e pela redução dos processos inflamatórios (36–38).

### 2.3 LINFÓCITO T REGULADOR

Além das CAAs, os dois tipos de respostas efetoras são regulados por duas famílias heterogêneas de células, conhecidas como Treg e Th17 (39).

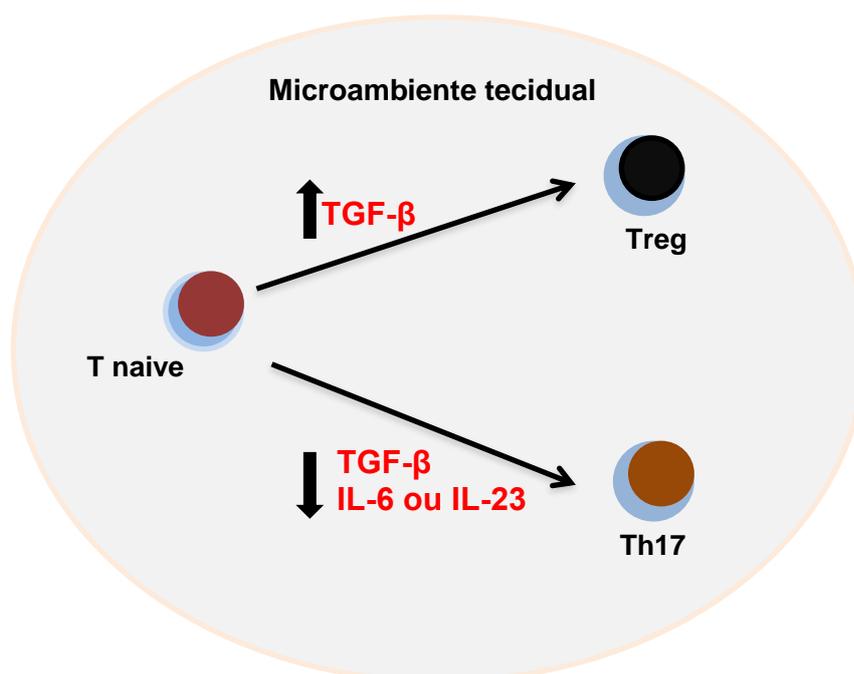
As células Th17 compreendem uma subpopulação de células T CD4<sup>+</sup> que possuem um efeito crítico no desenvolvimento de autoimunidade e exacerbação da inflamação pela produção de IL 17, uma citocina pró-inflamatória que exerce efeitos potentes sobre diferentes tipos de células da imunidade inata e a considera-se como uma conexão molecular entre o sistema imune inato e adquirido (39,40). O fator nuclear FoxP3 é o regulador mestre das células Treg que são responsáveis pela modulação de resposta imune, indução e manutenção da tolerância imunológica, e também, na prevenção de doenças autoimunes (39).

O mecanismo de ação das células Treg não está totalmente elucidado, mas sugere-se que a ação de Treg envolva a supressão direta da ativação de linfócitos T e B e células natural killer (NK) através de mecanismos celulares mediados por moléculas de superfície, como o antígeno 4 associado a linfócitos T citotóxicos (CTLA-4), ou síntese de citocinas imunossupressoras, como IL-10 e TGF- $\beta$  (36,37,41–44).

Os linfócitos T naives se diferenciam em linhagens Th17 ou Treg influenciados pelo nível de expressão de diversas citocinas, em especial, TGF- $\beta$ . Altos níveis de TGF- $\beta$  estimulam a diferenciação de células Treg, enquanto baixos níveis de TGF- $\beta$ ,

IL-6 ou IL-23 no microambiente tecidual estimulam o desenvolvimento de células Th17 (6,45,46).

Figura 2.3 – Diferenciação de linfócito T naive em células Treg ou Th17, mediado por TGF- $\beta$  e IL-6 ou IL-23. Fonte: A autora



Peixoto et al. (2012), compararam o número de células FoxP3<sup>+</sup> entre granulomas periapicais e cistos radiculares (n=60) e notaram a presença de células FoxP3<sup>+</sup> na maioria dos espécimes de granulomas periapicais (93,3%) e cistos radiculares (93,3%) analisados (44). De acordo com Salomon et al. 2000, o desenvolvimento de células Treg depende de uma combinação de fortes sinais antigênicos e uma co-estimulação máxima (47). Essa condição é facilmente encontrada nas lesões periapicais, pois há uma vigorosa estimulação por antígenos microbianos nos canais radiculares, fato que explica a presença de células FoxP3<sup>+</sup> nessas lesões (9,19,48).

O mesmo estudo analisou a relação entre a intensidade do infiltrado inflamatório e o número de células FoxP3<sup>+</sup> em cistos radiculares e observaram que não houve diferença estatisticamente significativa. Além disso, não foi encontrada

correlação significativa entre o número de células FoxP3<sup>+</sup> e a intensidade do infiltrado inflamatório. Tem sido sugerido que quanto maior a intensidade do infiltrado inflamatório, maior a estimulação antigênica e conseqüente dano tecidual. No entanto, a vigilância imunológica por células Treg não parece ser mais eficaz em cistos radiculares com infiltrados inflamatórios intensos (44).

## 2.4 OUTROS MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

Trabalhos demonstraram que as citocinas pró-inflamatórias, especialmente a IL-1, são mediadores de reabsorção óssea importantes (49,50). Por sua vez, a IL-1 é potencialmente regulada por uma rede de outras citocinas, principalmente o TNF- $\alpha$ , e pode estimular sua própria síntese em um circuito de feedback positivo (8,51). O TNF- $\alpha$ , em conjunto com a IL-1, atuam na imunidade inata. As células Th1 regulam a IL-1 e outras citocinas pró-inflamatórias, enquanto os inibidores da IL-1 estão relacionados ao subconjunto Th2 (8).

A expressão de IL-1 é induzida pela exposição de células hospedeiras a lipopolissacarídeos (LPS) e outros componentes da parede celular bacteriana (8,49,52,53). A IL-1 atua sobre as células endoteliais induzindo a expressão de moléculas de superfície que medeiam a adesão leucocitária. Os macrófagos são sua principal fonte, mas neutrófilos e células endoteliais também estão envolvidos na sua síntese. Há duas formas de IL-1: alfa ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ). A maior parte da IL-1 encontrada na circulação humana é IL-1 $\beta$  (54).

A IL-6 é produzida por diversas células, mas macrófagos são a sua principal fonte em cistos periapicais. É uma citocina importante na remodelação óssea e na ativação e diferenciação de células do sistema imune e de osteoclastos. A sua depleção, no entanto, poderia favorecer a destruição óssea periapical, resultado de uma intensificação do processo inflamatório, além de causar falha no recrutamento de células do sistema imune para o foco infeccioso e na diferenciação de macrófagos, afetando a defesa do organismo contra infecções (7,12).

Em um estudo realizado com camundongos selvagens e knockout (IL6<sup>-/-</sup>) observou-se que camundongos IL6<sup>-/-</sup> apresentaram aumento significativo da reabsorção óssea após a infecção pulpar induzida por bactérias anaeróbicas, em

comparação com controles do tipo selvagem. Esses resultados sugerem que uma deficiência de IL-6 endógena resulta em uma resposta inflamatória exagerada à infecção por bactérias anaeróbicas, levando a aumentos na expressão de citocinas e na destruição óssea. O aumento da reabsorção óssea em camundongos IL6<sup>-/-</sup> foi correlacionado com o aumento do número de osteoclastos, aumento da expressão das citocinas ósseas reabsortivas (IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) em lesões periapicais e diminuição da expressão da citocina anti-inflamatória IL-10 (55).

A análise do número de macrófagos na parede cística e dos níveis de TNF- $\alpha$  mostrou um aumento de ambos em cistos com paredes mais espessas. Esses achados foram então correlacionados, uma vez que foi observada a variação da espessura da cápsula cística de acordo com a quantidade de macrófagos, e além disso, sabe-se que essas células são a principal fonte de TNF- $\alpha$ . Além de correlacionar a expressão de TNF- $\alpha$  com a quantidade de macrófagos em paredes císticas, também foi estabelecida uma relação entre a quantidade de macrófagos em tecidos adjacentes ao cisto e a igualmente elevada expressão de TNF- $\alpha$ , indicando uma relação entre a produção dessa citocina e a vascularização tecidual em cistos, relacionando-a a angiogênese e à inflamação (56).

O TNF- $\alpha$ , também secretado por macrófagos e outras células (monócitos e células NK), é considerado o principal mediador da resposta inflamatória aguda induzida por bactérias Gram-negativas e outros microrganismos. O estímulo mais importante para ativar a produção de TNF- $\alpha$  pelos macrófagos é o lipopolissacarídeo embora as células T ativadas, NK e mastócitos também possam secretar essa citocina (5,37,56).

O perfil inflamatório das lesões periapicais e o complexo processo de reabsorção óssea envolvem a participação de células inflamatórias, da expressão de citocinas, quimiocinas, além dos mediadores RANKL e OPG (5,7,12) e outros fatores relacionados com o metabolismo ósseo, como por exemplo, TNF- $\alpha$  e fator estimulador de colônia de macrófago (57). Entretanto, pouco se sabe sobre o papel de cada célula, citocina, quimiocina e outras moléculas no desenvolvimento e manutenção de processos inflamatórios crônicos, como o perfil desses mediadores estão correlacionados com a composição do infiltrado inflamatório e a apresentação clínica dessas lesões. A melhor compreensão dos fenômenos inflamatórios das lesões

periapicais poderá levar ao desenvolvimento de estratégias mais adequadas de diagnóstico e tratamento (6).

### **3 PROPOSIÇÃO**

Analisar a expressão imuno-histoquímica de CD1a<sup>+</sup> (marcador de células dendríticas imaturas) e FoxP3<sup>+</sup> (marcador de linfócitos Treg) e verificar a presença de mastócitos em granulomas periapicais, cistos radiculares e residuais.

Avaliar o número de células FoxP3<sup>+</sup>, CD1a<sup>+</sup> e mastócitos nos granulomas periapicais, cistos radiculares e cistos residuais e correlacionar este número com a intensidade do infiltrado inflamatório presente nessas lesões e com a espessura epitelial de cistos radiculares e residuais.



## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana da Faculdade de Odontologia de São Paulo, Universidade de São Paulo, sob protocolo nº 2.135.164 (Anexo A).

### 4.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Amostras de biópsia de pacientes foram selecionadas dos arquivos do Serviço de Patologia Cirúrgica Oral e Maxilofacial do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Um total de 73 casos, sendo 30 de granulomas periapicais (GR), 29 de cistos radiculares (C) e 14 de cistos residuais (CR) foram incluídos neste estudo. Os C geralmente mostraram cavidades bem definidas revestidas por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado de espessura variável, que por vezes mostrou-se hiperplásico com cápsulas exibindo um infiltrado inflamatório moderado a intenso de células predominantemente mononucleares. GR comumente exibiam fragmento de tecido conjuntivo denso e infiltrado de células inflamatórias predominantemente mononucleares, sem evidência de revestimento epitelial. As amostras foram selecionadas com base no exame microscópico das lâminas coradas com hematoxilina e eosina. Foram priorizados os casos mais recentes e as lesões mais representativas em relação à integridade e arranjo tecidual.

### 4.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA

Para análise morfológica, o material fixado em formalina e embebido em parafina foi cortado em secções de 5 µm de espessura. As lâminas de cada caso coradas por hematoxilina/eosina foram submetidas a novo exame histológico por microscopia de luz para descrever os principais aspectos morfológicos representativos de cada lesão.

O infiltrado inflamatório foi classificado em discreto, moderado ou intenso de acordo com o método adaptado de Tsai et al. 2004 (58). Resumidamente, cada espécime foi graduado em uma ampliação de 200x como: grau I, células inflamatórias em menos de um terço; grau II, células inflamatórias entre um terço e dois terços; e grau III, células inflamatórias presentes em mais de dois terços. A análise partia da porção interna do espécime e avançava mais profundamente no tecido conjuntivo.

A espessura epitelial dos C e CR foi definida como atrófica (2 a 10 camadas de células e limite epitelial/capsular plano) ou hiperplásica (> 10 camadas de células e limite epitelial/capsular ondulante, frequentemente dispostos em arcos proliferativos) considerando todo revestimento do cisto (34).

#### 4.3 COLORAÇÃO COM AZUL DE TOLUIDINA

Secções de 3 µm de espessura foram cortados e colocados em lâminas de vidro. As lâminas permaneceram na estufa a 60°C por 15 minutos. Os cortes foram desparafinizados com Xilol, em dois banhos de 10 minutos e hidratados em graus decrescentes de álcool etílico (100, 90, 80, 70 e 50%) por 3 min por concentração, seguido de lavagem em água corrente por 5 min e em água destilada por 5 min.

As secções foram cobertas com solução de azul de toluidina a 1% (Dinâmica, São Paulo, Brasil), durante 20 s e, posteriormente, lavadas em água corrente até remover o excesso. Posteriormente os cortes foram desidratados em concentrações crescentes de álcool etílico (50, 70, 80, 90 e 100%) e diafinizadas em Xilol. As lâminas foram montadas no aparelho Tissue-Tek® SCA (Sakura, Japão) e analisadas em microscópio de luz (Axio Scope®, Carl Zeiss, Alemanha).

#### 4.4 REAÇÕES IMUNO-HISTOQUÍMICAS

Secções de 3 µm de espessura foram obtidas de blocos de tecido, coletadas em lâminas de vidro silanizadas (26mmX75mm) e processadas da maneira padrão para imuno-histoquímica usando o método enzimático da estraptavidina-biotina e os cortes submetidos aos anticorpos anti-CD1a (Flex Monoclonal Mouse Anti-Human, clone 010, ready-to-use [Link], DAKO Corporation, Carpinteria, USA) e anti-FoxP3 (Clone 236/E7, Abcam).

Para dar início à reação os cortes foram desparafinizados em xilol, primeiro banho em estufa à 60°C durante 30 min e o segundo banho em temperatura ambiente por 15min. Em seguida os cortes foram hidratados em álcool etílico, em cadeia decrescente, a partir de três passagens em álcool absoluto, seguido por etanol a 95% e 85% (3 minutos cada banho). Na sequência, as lâminas foram colocadas em solução de Hidróxido de amônio a 10% em solução alcoólica (etanol 95%) durante 5 minutos para remoção do pigmento formólico. Ao final dessa etapa, seguiu-se com lavagem em água corrente durante 10 min, em água destilada por 2 minutos e as lâminas receberam tratamento para recuperação antigênica e exposição dos epítomos.

Para ambos anticorpos, o tratamento foi feito pela imersão em banho aquecido a 95°C durante 30 min em uma solução de EDTA, sendo que para o anticorpo Foxp3 o pH foi ajustado para 8,0 e para o anticorpo CD1a o pH foi ajustado para 9,0. Após a recuperação antigênica os cortes foram lavados em água corrente durante 10 min e em água destilada por 2 minutos.

Para o bloqueio da peroxidase endógena as lâminas foram imersas em solução 1:1 de peróxido de hidrogênio a 6% e metanol em dois banhos de 15 minutos. Repetida a lavagem em água corrente durante 5 minutos e dois banhos em água destilada de 2 minutos cada, os cortes foram imersos em solução TRIS (50mM, NaCL 150Mm) pH 7,6 - solução tampão da reação - realizando-se dois banhos de 3 minutos cada.

Em seguida, as secções de tecidos foram então expostas ao anticorpo anti-CD1a (Flex Monoclonal Mouse Anti-Human, clone 010, ready-to-use [Link], DAKO Corporation, Carpinteria, USA) à diluição 1:50 durante 60 min em câmara úmida e temperatura ambiente e ao anticorpo anti-foxP3 (Clone 236/E7, Abcam) na

concentração de 1:200 diluído em BSA (albumina bovina e azida sódica) durante 18 horas a 4°C.

Após aplicação do anticorpo primário, as lâminas foram lavadas em tampão Tris e incubadas em anticorpo secundário utilizando o polímero universal EnVision® + Dual Link System-HRP (Dako North America, Carpinteria, Califórnia) durante 30 minutos. Após lavagem, a reação foi revelada com DAB (DAKO Liquid DAB+, K3468) em exposição de 10 minutos e, após lavagem com TRIS e água destilada, os cortes foram contracolorados com Hematoxilina de Mayer (1 minuto), desidratados, diafanizados e montados em Permount no aparelho Tissue-Tek® SCA (Sakura, Japão) para microscopia.

#### 4.5 AVALIAÇÃO DA IMUNOMARCAÇÃO E DA COLORAÇÃO COM AZUL DE TOLUIDINA

As lâminas foram observadas em microscópio de luz (Axio Scope®, Carl Zeiss, Alemanha) por um observador calibrado e as células positivas para os anticorpos CD1a e Foxp3 e para coloração com azul de toluidina foram contadas pela técnica conhecida como *Hot Spot* (59). Essa técnica consiste na escolha de 3 campos mais significativos de todo o corte e na contagem de células, no aumento de 400X, destes 3 campos. O valor final se dá pela média dessas 3 contagens e é expresso em número de células / 0,2mm<sup>2</sup>.

#### 4.6 ANÁLISES DOS RESULTADOS

Os resultados foram analisados no software SPSS versão 17.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA). As variáveis quantitativas deste estudo não mostraram uma distribuição normal, portanto o teste Kruskal-Wallis foi admitido para comparar os valores da contagem de células marcadas por CD1a, FoxP3 e mastócitos, tempo de evolução e tamanho entre as lesões. Utilizou-se ainda o Qui-quadrado de Pearson para análise das variáveis qualitativas (sexo, sintomatologia, infiltrado inflamatório e

espessura do epitélio) das lesões. Um nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes.



## 5 RESULTADOS

Um total de 73 lesões foram estudadas, sendo 30 granulomas periapicais (GP), 29 cistos radiculares (C) e 14 cistos residuais (CR).

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

As informações clínicas dos pacientes foram obtidas a partir das fichas de solicitação de exames anatomopatológicos. Os cistos radiculares e residuais apresentaram um maior número de casos do sexo masculino, e o granuloma periapical do sexo feminino, não se observou diferença estatística entre o tipo de lesão e o sexo do paciente ( $p=0,717$ ). A média de idade dos pacientes para cada lesão foi de 46.64 ( $\pm 14,161$ ) (min:25;max:74) em C, 53.36 ( $\pm 8,663$ ) (min:40;max:69) em CR e 47.32 ( $\pm 20,712$ ) (min:10;max:90) em GP. Em relação a cor de pele, indivíduos leucodermas foram mais prevalentes em C e GP, enquanto que em CR, indivíduos melanodermas foram mais comuns (Tabela 5.1).

Analisando a hipótese diagnóstica realizada pelo clínico foi possível observar que a maioria dos cirurgiões dentistas souberam diagnosticar corretamente 78,6% dos C e 66,7% dos CR. Por outro lado, apenas 30,8% dos GP foram diagnosticados acertadamente (Tabela 5.1).

Houve dados não informados na ficha de solicitação do exame anatomopatológico (\*).

De acordo com a sintomatologia relatada pelos pacientes, 73,1% dos casos assintomáticos eram de C, 77,3% eram de GP e 50,0% foram diagnosticados como CR. Nos casos sintomáticos, 26,9% foram diagnosticados como C e 50,0% como CR. No entanto não foram observadas diferenças estatisticamente significantes em relação a sintomatologia da lesão ( $p=0,273$ ) (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Distribuição de sexo, cor de pele, diagnóstico clínico e sintomatologia no cisto radicular, granuloma periapical e cisto residual

<b>Variáveis</b>	<b>Cisto radicular n(%)</b>	<b>Granuloma periapical n(%)</b>	<b>Cisto Residual n(%)</b>
<b>Sexo</b>			
Masculino	16(55.2)	12(46.2)	7(58.3)
Feminino	13(44.8)	14(53.8)	5(41.7)
Total	29(100.0)	26(100.0)*	12(100.0)*
<b>Cor de pele</b>			
Leucoderma	22(81.5)	20(76.9)	4(44.4)
Melanoderma	4(14.8)	3(11.5)	5(55.6)
Feoderma	1(3.7)	3(11.5)	-
Total	27*(100.0)	26*(100.0)	9*(100.0)
<b>Diagnóstico clínico</b>			
Cisto radicular	22(78.6)	17(65.4)	3(25.0)
Granuloma periapical	6(21.4)	8(30.8)	-
Cisto periodontal lateral	-	1(3.8)	1(8.3)
Cisto residual	-	-	8(66.7)
Total	28(100.0)	26(100.0)	12(100.0)
<b>Sintomatologia</b>			
Assintomático	19(73.1)	17(77.3)	5(50.0)
Sintomático	7(26.9)	5(22.7)	5(50.0)
Total	26(100.0)*	22(100.0)*	10(100.0)*
<b>TOTAL</b>	<b>29(100.0)</b>	<b>30(100.0)</b>	<b>14(100.0)</b>

(\*) Dados perdidos

Em relação ao tempo de evolução (meses) das lesões periapicais crônicas, GR apresentaram maior média ( $38.31 \pm 40,180$ ) quando comparados aos C ( $15.0 \pm 7,746$ ) e CR ( $16.88 \pm 19,657$ ). Entretanto, não se observou diferença estatisticamente significativa ( $p=0,186$ ) (Tabela 5.2). A análise do tamanho da lesão (mm) revelou que CR apresentaram média superior ( $28.10 \pm 19,802$ ) em relação à C ( $16.45 \pm 11,879$ ) e GP ( $11.7 \pm 16,636$ ). Notou-se diferença estatisticamente significativa em relação ao tamanho da lesão ( $p=0,023$ ) (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Tempo de evolução e tamanho da lesão em cisto radicular, granuloma periapical e cisto residual e comparação de médias entre os grupos de cada lesão

Variáveis	N	Mean Rank	P
<b>Tempo de evolução (meses)</b>			
C	13	15,88	0,186
GP	13	21,31	
CR	8	13,94	
TOTAL	34*		
<b>Tamanho da lesão (mm)</b>			
C	22	28,89	0,023*
GP	24	23,35	
CR	10	40,0	
TOTAL	56*		

Legenda: C – cisto radicular; GP – granuloma periapical, CR – cisto residual

(1) Kruskal-Wallis

(2) (\*) Dados perdidos

## 5.2 AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA

A análise morfológica revelou que a presença de infiltrado inflamatório grau I foi mais comum em C e CR. Em C e GP o infiltrado inflamatório grau III foi mais frequente enquanto que em CR foi o infiltrado grau II. Não houve diferenças estatisticamente significantes em relação ao infiltrado inflamatório nas lesões periapicais crônicas analisadas ( $p=0,104$ ) (Tabela 5.3).

A análise morfológica da espessura epitelial revelou que cistos radiculares apresentaram em sua maioria epitélio hipertrófico, enquanto cistos residuais possuíam um maior percentual de epitélio atrófico. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na análise morfológica da espessura epitelial nos cistos radiculares e residuais ( $p=0,065$ ) (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 – Distribuição das lesões periapicais: relação de cisto radicular, granuloma periapical e cisto residual com infiltrado inflamatório e espessura epitelial

Variáveis		<b>Cisto radicular</b> n(%)	<b>Granuloma periapical</b> n(%)	<b>Cisto residual</b> n(%)	$p^{(1)}$
<b>Infiltrado inflamatório</b>	Grau I	4(44.4)	1(11.1)	4(44.4)	0,104
	Grau II	8(36.4)	8(36.4)	6(27.3)	
	Grau III	17(43.6)	18(46.2)	4(10.3)	
	TOTAL	29(41.4)	27(38.6)*	14(20.0)	
<b>Espessura epitelial</b>	Atrófico	10(52.6)	-	9(47.4)	0,065
	Hipertrófico	19(79.2)	-	5(20.8)	
	TOTAL	29(67.4)	-	14(32.6)	

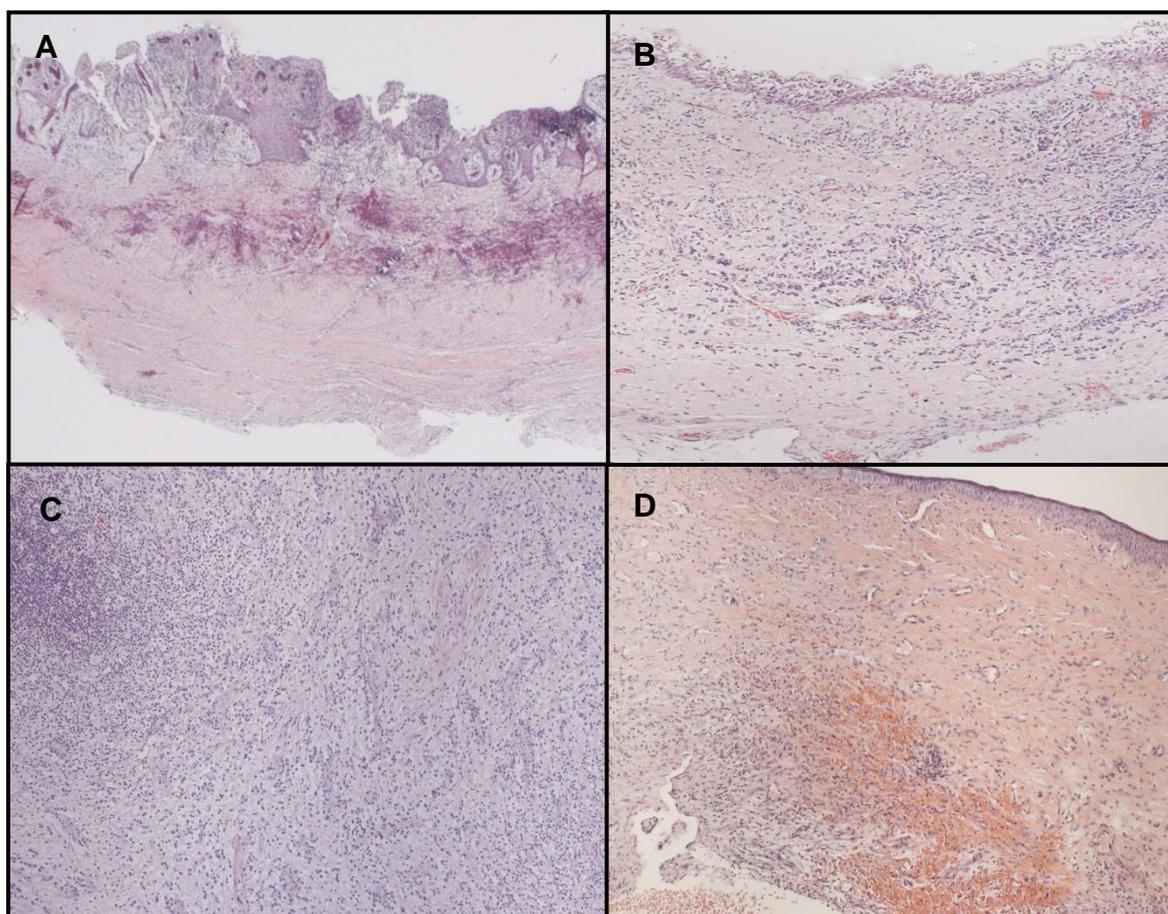
**Legendas:** C – cisto radicular; GP – granuloma periapical; CR – cisto residual.

(1) Kruskal-Wallis

(2)  $p$  = significância estatística

(\*) Dados perdidos

Figura 5.2 – Fotomicrografias coradas em H&E. Em A – cisto radicular grau I hipertrófico, B – cisto radicular grau III atrófico, C – granuloma periapical grau III, D – cisto residual atrófico grau II (A – ampliação de 25x; B, C e D – ampliação de 100x)



### 5.3 AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DO NÚMERO DE CÉLULAS CD1a<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup> E MASTÓCITOS

A análise da expressão imuno-histoquímica do anticorpo anti-CD1a mostrou que o número médio de células CD1a<sup>+</sup> em C foi de 8,16 células/0,2mm<sup>2</sup> (n=29), em GP foi de 0,853 (n=30) e 6,471 (n=14) em CR. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis revelou que granulomas periapicais possuíam valores menores que os cistos (residual e radicular). Este resultado apresentou significância estatística ( $p < 0,001$ ) (Tabela 5.4).

Já para o anticorpo anti-FoxP3, a análise da imunomarcção revelou que o número médio de células FoxP3<sup>+</sup> em C foi de 5,910 células/0,2mm<sup>2</sup> (n=29), em GP 4,117 (n=29) e 5,307 em CR (n=14). O número médio de células FoxP3<sup>+</sup> em C foi maior quando comparado com GP e CR. Essa diferença entre as lesões foi considerada estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 – Imunoexpressão de CD1a, FoxP3 e mastócitos em cisto radicular, granuloma periapical e cisto residual e comparação de médias entre os grupos de cada lesão

Variáveis	N	Mean Rank	P
<b>CD1a<sup>+</sup></b>			
C	29	53.71	<0,001*
GP	30	17.0	
CR	14	45.25	
TOTAL	73		
<b>FoxP3<sup>+</sup></b>			
C	29	42.81	0,044*
GP	29	29.33	
CR	14	38.39	
TOTAL	72		
<b>Mastócito</b>			
C	29	49.07	<0,001*
GP	29	31.09	
CR	14	21.68	
TOTAL	72		

**Legendas:** C – cisto radicular; GP – granuloma periapical; CR – cisto residual.

(1) Kruskal-Wallis

(2)  $p$  = significância estatística

A análise da coloração por azul de toluidina revelou que o número médio de mastócitos corados foi de 12.68 células/0,2mm<sup>2</sup> (n=29) nos C, 7.310 (n=29) nos GP e de 5.421 (n=14) nos CR. Observou-se significância estatística ( $p < 0,001$ ) para este

parâmetro, sendo que os C apresentaram maior número médio de mastócitos (Tabela 5.4).

Figura 5.3 – Imunomarcção positiva para células CD1a<sup>+</sup> (setas pretas) em cisto radicular (A) e cisto residual (B) (Ampliação de 400x)

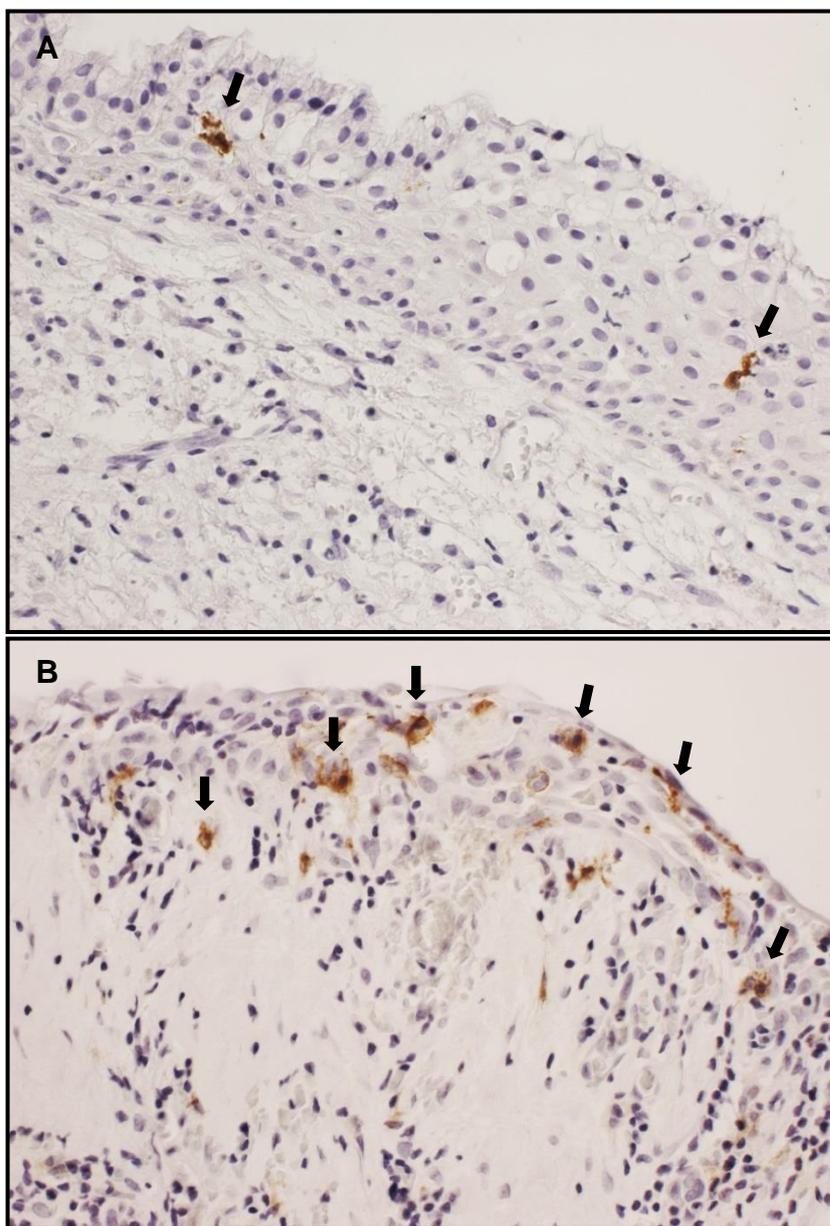


Figura 5.4 – Imunomarcção positiva para células FoxP3<sup>+</sup> (setas verdes) em cisto radicular (A) e granuloma periapical (B) (Ampliação de 400x)

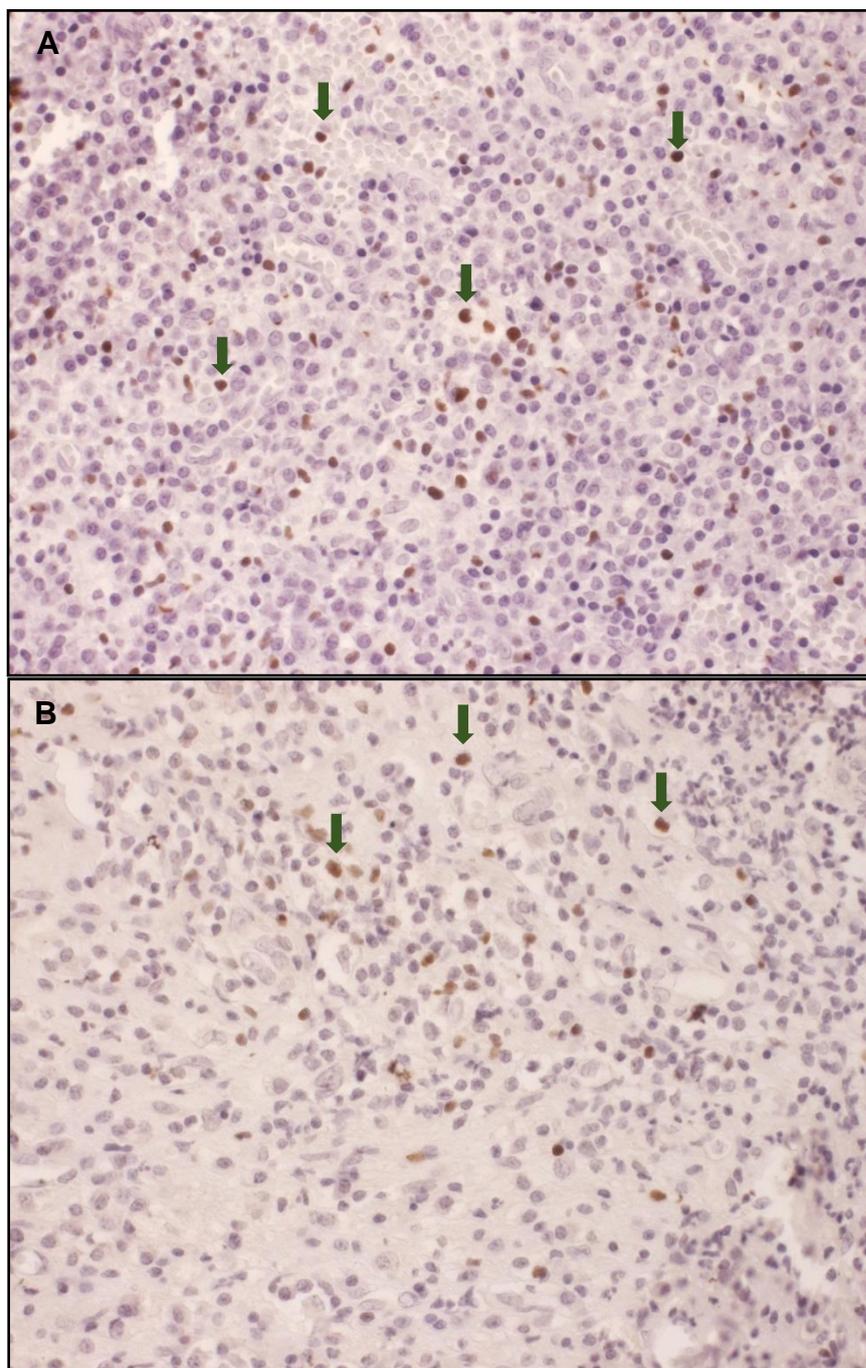
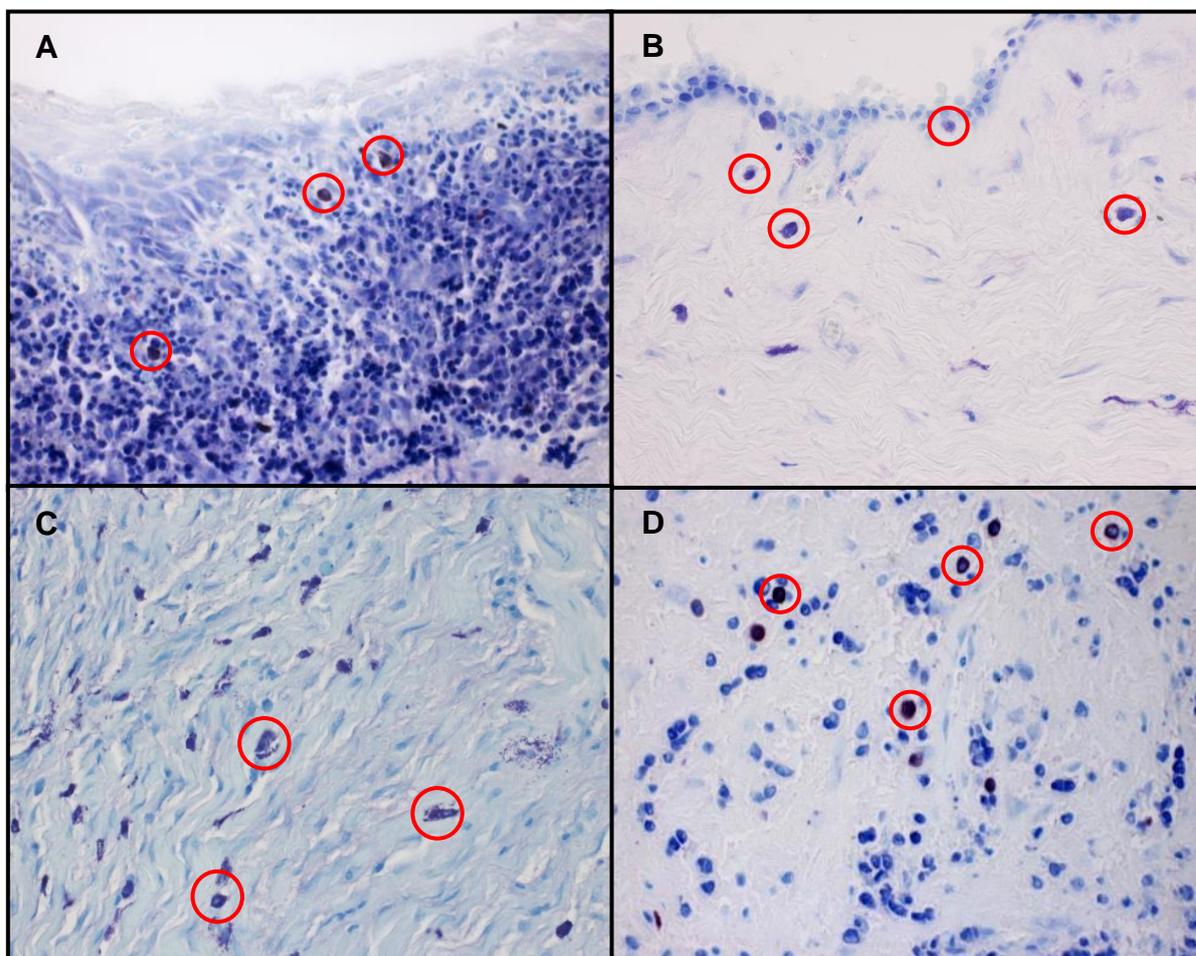


Figura 5.5 – Coloração com Azul de Toluidina para mastócitos (círculos vermelhos) em cisto radicular (A) (Ampliação de 100x), cisto residual (B) e granuloma periapical (C e D) (Ampliação de 400x)



#### 5.4 AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE INFILTRADO INFLAMATÓRIO E ESPESSURA EPITELIAL E DO NÚMERO DE CÉLULAS CD1a<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup> E MASTÓCITOS NAS LESÕES PERIAPICAIS CRÔNICAS

A avaliação da correlação entre infiltrado inflamatório e imunomarcagem revelou que houve diferença estatisticamente significativa na correlação entre infiltrado inflamatório e células CD1a<sup>+</sup> em GP ( $p < 0,001$ ). De forma que a medida que a gradação do infiltrado inflamatório aumentou, o número células CD1a<sup>+</sup> diminuiu. Para células FoxP3<sup>+</sup> e mastócitos não foram observadas diferenças estatisticamente significativas quando correlacionadas com a intensidade do infiltrado inflamatório presente (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 – Correlação entre infiltrado inflamatório e imunomarcção para células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos nas lesões periapicais crônicas analisadas

Inflamação	<i>Cisto residual</i>			<i>Cisto radicular</i>			<i>Granuloma periapical</i>		
	N	Mean Rank	$p^{(1)}$	N	Mean Rank	$p^{(1)}$	N	Mean Rank	$p^{(1)}$
<b>CD1a</b>									
I	4	7.25	0.506	4	13.25	0.845	1	26.0	<0.001*
II	6	8.83		8	16.19		8	19.25	
III	4	5.75		17	14.85		18	11.00	
<b>FoxP3</b>									
I	4	6.25	0.718	4	8.38	0.079	1	26.0	0.257
II	6	7.58		8	19.75		8	12.31	
III	4	8.63		17	14.32		18	14.08	
<b>Mastócito</b>									
I	4	7.13	0.963	4	9.63	0.243	1	22.0	0.311
II	6	7.83		8	13.44		8	11.06	
III	4	7.38		17	17.0		18	14.86	

(1): Teste de Kruskal Wallis.

\* Significância estatística

Já a avaliação da correlação entre espessura epitelial e imunomarcção das células mostrou que a presença de epitélio hipertrófico em C apresentou maior densidade de células CD1a<sup>+</sup>. A diferença foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, para as células FoxP3<sup>+</sup> e mastócitos não houve diferenças estatisticamente significantes nos CR e C estudados (Tabela 5.6).

Tabela 5.6 – Correlação entre espessura epitelial e imunomarcção para células dendríticas, linfócitos T reguladores e mastócitos nos cistos residuais e radiculares

Inflamação	<i>Cisto residual</i>			<i>Cisto radicular</i>		
	N	Mean Rank	$p^{(1)}$	n	Mean Rank	$p^{(1)}$
<b>CD1a</b>						
Atrófico	9	8.06	0.499	10	9.9	<b>0.018*</b>
Hipertrófico	5	6.50		19	17.68	
<b>FoxP3</b>						
Atrófico	9	8.72	0.138	10	13.35	0.446
Hipertrófico	5	5.30		19	15.87	
<b>Mastócito</b>						
Atrófico	9	6.94	0.502	10	12.35	0.222
Hipertrófico	5	8.50		19	16.39	

(1): Teste de Mann-Whitney. \* Significância estatística



## 6 DISCUSSÃO

As lesões periapicais se desenvolvem a partir de uma infecção crônica proveniente da polpa dentária (60). Essas lesões são caracterizadas histologicamente por um tecido conjuntivo denso e de granulação infiltrado por diferentes células inflamatórias (61). Entre elas, células apresentadoras de antígenos (CLs), como as células dendríticas, mastócitos e linfócitos T reguladores que desempenham papéis fundamentais no desenvolvimento e resolução dessas lesões (9).

A participação de mastócitos na patogênese das lesões periapicais não está totalmente esclarecida e tem sido frequentemente relacionada a reações alérgicas de hipersensibilidade (21). A membrana dessas células contém anticorpos IgE e o citoplasma apresenta grânulos metacromáticos contendo histamina, serotonina, heparina e proteases (62). Esses mediadores liberados após a degranulação de mastócitos desempenham um papel importante na inflamação e reações alérgicas (6, 27).

Evidências indicam que as CLs apresentam importante função nas reações imunes mediadas por células, assim como na patogênese de lesões periapicais (2,63). Essas células são responsáveis por apresentar antígenos aos linfócitos T e são extremamente importantes na ativação das respostas imunes T helper (Th) para as células reguladoras Th1, Th2, Th17 ou Tregs (11,36,38,64).

Estudos investigando a presença e função dos linfócitos T reguladores em lesões periapicais crônicas são escassos na literatura. Os linfócitos T reguladores são linfócitos T especializados no controle da resposta imunológica, atuando no mecanismo de imunotolerância inibindo a proliferação e atividade de linfócitos T auxiliares e citotóxicos (65,66).

Dentro deste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a expressão imuno-histoquímica e o número de células FoxP3<sup>+</sup>, CD1a<sup>+</sup> e mastócitos nos granulomas periapicais, cistos radiculares e cistos residuais e correlacionar este número com a intensidade do infiltrado nestas lesões e com a espessura epitelial de cistos radiculares e residuais. Um total de 73 lesões foram estudadas, sendo 30 granulomas periapicais, 29 cistos radiculares e 14 cistos residuais.

Os resultados mostraram algumas peculiaridades. De acordo com os dados coletados dos prontuários dos pacientes, houve diferenças estatisticamente

significantes em relação ao tamanho da lesão. Cistos residuais apresentaram-se maiores quando comparados a cistos radiculares e granulomas periapicais ( $p < 0,05$ ). Isso se deve a um viés de informação, pois os dados repassados pelo clínico podem não ser verídicos. Além disso, muitos prontuários apresentaram ausência de informações ou podem ter sido preenchidos de forma incorreta.

Muitos estudos utilizam o S-100 como marcador de células de Langerhans, mas outros marcadores de superfície também podem ser usados. As CLs expressam altos níveis de langerina, E-caderina e CD1a, marcadores específicos para essas células que não são encontrados em outros tipos de células dendríticas (2,30,67,68).

No presente estudo, o número médio de células CD1a<sup>+</sup> em C foi de 8,16, em GP foi de 0,853 e 6,471 em CR mostrando correlação significativa entre imunomarcção e o tipo da lesão ( $p < 0,001$ ). Santos et al. (2007) encontraram resultados semelhantes relatando que 69.2% dos cistos radiculares analisados apresentaram células CD1a<sup>+</sup>. Em contrapartida, apenas 11.1% dos granulomas periapicais apresentaram imunomarcção positiva para CD1a. (2). No entanto, a imunomarcção não foi significativa nos casos de granulomas periapicais, o que contrasta com os resultados reportados por Suzuki et al. (2001) (11). Esses resultados podem ser explicados devido à ausência de granulomas epiteliados no nosso estudo.

Foram encontradas células de Langerhans em todos os casos de cistos radiculares, assim como no estudo de Suzuki et al. (2001) e Carrillo et al. (2010) (11,29). Em contrapartida, Piattelli et al. (2002) e Santos et al. (2007) não detectaram essas células em todos os casos de C (2,69). Este menor número de células CD1a<sup>+</sup> pode estar relacionada à migração dessas células para linfonodos regionais após sua ativação pelo contato com antígenos (70) ou ainda por um processo de apoptose celular após a apresentação do antígeno às células T CD4<sup>+</sup> (2).

A correlação entre infiltrado inflamatório e imunomarcção para CD1a mostrou que em granulomas periapicais a medida em que a gradação do infiltrado inflamatório aumentava, o número células CD1a<sup>+</sup> diminuía ( $p < 0,001$ ). Esse resultado sugere que células dendríticas imaturas desempenham um papel importante no controle do processo inflamatório nos granulomas periapicais, já que as mesmas estão diretamente relacionadas ao processo de tolerância imunológica (28,71). Para Santos et al. (2007), a intensidade do infiltrado inflamatório não está relacionado apenas ao aumento da quantidade de antígeno na lesão, mas também a uma resposta exacerbada dos mecanismos de defesa do indivíduo (2).

Suzuki et al. (2001) observaram uma correlação significativa entre a densidade de células CD1a<sup>+</sup> e o potencial proliferativo do epitélio em cistos radiculares, residuais e granulomas epitelizados. Essas células foram detectadas nos componentes epiteliais e nas camadas subepiteliais do epitélio de revestimento; a maioria das células estava localizada em porções intraepiteliais das lesões. Esses resultados sugerem que as CLs podem residir nos componentes epiteliais como linha frontal contra antígenos do canal radicular (11,30). No presente estudo, a correlação entre espessura epitelial e a marcação imuno-histoquímica para CD1a<sup>+</sup> revelou que cistos radiculares com epitélio hipertrófico apresentaram maior densidade celular. O potencial proliferativo do epitélio nos CR foi muito menor do que o dos C, portanto, sugere-se que seja devido a cronicidade da lesão e conseqüentemente a alterações inflamatórias mais leves ( $p < 0,05$ ). Segundo alguns autores, o estímulo inflamatório provocado por fatores de crescimento e citocinas desencadeia a proliferação epitelial (2,11,34).

A análise do número de linfócitos Treg (FoxP3<sup>+</sup>) mostrou um número significativamente maior dessas células em C em comparação com GP e CR ( $p < 0,05$ ). Marçal et al. (2010) avaliaram o número de células FoxP3<sup>+</sup> em C e GP e não encontraram diferenças significativas entre essas lesões (10). Por outro lado, Peixoto et al. (2012) e Fukada et al. (2009) encontraram número maior de células FoxP3<sup>+</sup> em GP em comparação com cistos radiculares. Os autores sugerem que as células Treg desempenham uma função importante na modulação do microambiente inflamatório nas lesões periapicais (36,44). Essas células atuam como células efetoras da doença após receberem informações das CLs estimuladas (11,72).

Os resultados deste trabalho evidenciam a relevância das células T reg como um fator importante no controle do microambiente inflamatório nos cistos radiculares. Ao contrário de outras doenças, nas lesões periapicais há uma fonte antigênica polimicrobiana contínua do canal radicular no ambiente periapical que pode alterar a resposta (36). Sugere-se então que o epitélio exerça um papel fundamental na tolerância imunológica nos cistos radiculares já que o mesmo parece expressar algumas citocinas e, além disso, apresentam, distribuídos em suas camadas, células dendríticas responsáveis pelo controle do processo inflamatório (11)

A expressão de mástocitos foi avaliada utilizando a coloração com azul de toluidina. Essa técnica mostrou ser bastante confiável para identificar grânulos de mastócitos em lesões periapicais (10,73,74). Uma limitação da coloração dos

mastócitos com azul de toluidina é a baixa sensibilidade dessa técnica em detectar células parcialmente degranuladas (21,74). Desse modo, o número de mástocitos pode ter sido subestimado no presente estudo.

A análise microscópica do número de mastócitos revelou que essas células estavam presentes em maior densidade nos C do que em GP e CR ( $p < 0,001$ ). Esse achado é consistente com aqueles relatados anteriormente, com a detecção baseada em células positivas para triptase e coloração com azul de toluidina (20,21,74). Essas observações sugerem que os mastócitos podem desempenhar um papel fundamental na patogênese das lesões periapicais crônicas, mais notavelmente nos cistos. A presença de mastócitos nos cistos radiculares pode estar associada à progressão da lesão na produção de proteoglicanos, resposta angiogênica, vasodilatação, síntese de colágeno, reabsorção óssea, regulação da inflamação e aumento do líquido cístico (20,73,74).

Trabalhos indicam que a secreção de histamina por mastócitos pode contribuir para a expansão dos cistos periapicais, já que as propriedades vasoativas da histamina resultariam na liberação de proteínas plasmáticas (20,75). Sob condições de falta de drenagem linfática, as proteínas plasmáticas liberadas tenderiam a se difundir no líquido luminal dos cistos periapicais, aumentando a pressão osmótica e gerando a expansão do cisto. A ativação ou supressão da resposta imune também pode ocorrer. O recrutamento de mastócitos e consequentemente liberação de prostaglandinas durante a degranulação pode ter um papel na reabsorção óssea, promovendo assim o crescimento do cisto (20,76).

Além disso, mastócitos em lesões inflamatórias periapicais crônicas podem atuar como células apresentadoras de antígenos para os linfócitos T. A ativação de células T levaria à estimulação de mastócitos, com consequente degranulação e liberação de citocinas, como o TNF- $\alpha$ , com efeitos pró-inflamatórios e pro-secretórios sobre essas células e outros tipos de celulares (20).

## 7 CONCLUSÕES

1. Granulomas periapicais com infiltrado inflamatório discreto a moderado apresentam maior número médio de células CD1a<sup>+</sup>. Esse resultado sugere que células dendríticas imaturas desempenham um papel importante no controle do processo inflamatório nos granulomas periapicais, já que as mesmas estão diretamente relacionadas ao processo de tolerância imunológica;
2. Cistos radiculares apresentam maior número médio de linfócitos Treg (FoxP3<sup>+</sup>). Esses resultados evidenciam a relevância dessas células como um fator importante no controle do microambiente inflamatório nos cistos radiculares;
3. Mastócitos foram mais comumente encontrados em cistos radiculares, indicando que essas células desempenham um papel fundamental em sua patogênese. A maior presença de mastócitos nos cistos radiculares pode estar associada à progressão da lesão.



## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

1. Nair PNR. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med* [Internet]. 2004 Nov;15(6):348–81. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/154411130401500604>
2. Santos LC, Ramos EAG, Gurgel CAS, de Santana EJB, dos Santos JN. Immunohistochemical detection of Langerhans cells in dental granulomas and radicular cysts. *J Mol Histol* [Internet]. 2007 Jun 11;38(3):201–5. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10735-007-9088-3>
3. Araujo-Pires AC, Francisconi CF, Biguetti CC, Cavalla F, Aranha AMF, Letra A, et al. Simultaneous analysis of T helper subsets (Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Tfh, Tr1 and Tregs) markers expression in periapical lesions reveals multiple cytokine clusters accountable for lesions activity and inactivity status. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2014 Jul;22(4):336–46. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4126831&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
4. Trombone APF, Cavalla F, Silveira EMV, Andreo CB, Francisconi CF, Fonseca AC, et al. MMP1-1607 polymorphism increases the risk for periapical lesion development through the upregulation MMP-1 expression in association with pro-inflammatory milieu elements. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2016 Aug;24(4):366–75. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84983341500&partnerID=40&md5=25a948ebf182c9223c240b3a93d405cc>
5. Silva TA, Garlet GP, Lara VS, Martins W, Silva JS, Cunha FQ. Differential expression of chemokines and chemokine receptors in inflammatory periapical diseases. *Oral Microbiol Immunol* [Internet]. 2005 Oct;20(5):310–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-302X.2005.00232.x>
6. Andrade ALDL de, Nonaka CFW, Gordón-Núñez MA, Freitas R de A, Galvão HC. Immunoexpression of Interleukin 17, Transforming Growth Factor  $\beta$ 1, and Forkhead Box P3 in Periapical Granulomas, Radicular Cysts, and Residual Radicular Cysts. *J Endod* [Internet]. 2013 Aug;39(8):990–4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239913003403>

---

<sup>1</sup> De acordo com Estilo Vancouver

7. Bracks IV, Armada L, Gonçalves LS, Pires FR. Distribution of Mast Cells and Macrophages and Expression of Interleukin-6 in Periapical Cysts. *J Endod* [Internet]. 2014 Jan;40(1):63–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239913008637>
8. Kawashima N, Stashenko P. Expression of bone-resorptive and regulatory cytokines in murine periapical inflammation. *Arch Oral Biol* [Internet]. 1999 Jan;44(1):55–66. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996998000946>
9. Čolić M, Gazivoda D, Vučević D, Vasilijić S, Rudolf R, Lukić A. Proinflammatory and immunoregulatory mechanisms in periapical lesions. *Mol Immunol* [Internet]. 2009 Nov;47(1):101–13. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161589009000340>
10. Marçal JRB, Samuel RO, Fernandes D, de Araujo MS, Napimoga MH, Pereira SAL, et al. T-Helper Cell Type 17/Regulatory T-Cell Immunoregulatory Balance in Human Radicular Cysts and Periapical Granulomas. *J Endod* [Internet]. 2010 Jun;36(6):995–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239910002529>
11. Suzuki T, Kumamoto H, Ooya K, Motegi K. Immunohistochemical analysis of CD1a-labeled Langerhans cells in human dental periapical inflammatory lesions - correlation with inflammatory cells and epithelial cells. *Oral Dis* [Internet]. 2001 Nov;7(6):336–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11834096>
12. Huang GTJ, Do M, Wingard M, Park JS, Chugal N. Effect of interleukin-6 deficiency on the formation of periapical lesions after pulp exposure in mice. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2001 Jul;92(1):83–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1079210401960949>
13. Menezes R, Garlet TP, Letra A, Bramante CM, Campanelli AP, Figueira R de C, et al. Differential Patterns of Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand/Osteoprotegerin Expression in Human Periapical Granulomas: Possible Association with Progressive or Stable Nature of the Lesions. *J Endod* [Internet]. 2008 Aug;34(8):932–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.05.002>

14. Garlet GP. Destructive and Protective Roles of Cytokines in Periodontitis: A Re-appraisal from Host Defense and Tissue Destruction Viewpoints. *J Dent Res* [Internet]. 2010 Dec 25;89(12):1349–63. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034510376402>
15. Braz-Silva PH, Bergamini ML, Mardegan AP, De Rosa CS, Hasseus B, Jonasson P. Inflammatory profile of chronic apical periodontitis: a literature review. *Acta Odontol Scand* [Internet]. 2018 Dec 26;26(0):1–8. Available from: <http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iode20>
16. Sunde PT, Tronstad L, Eribe ER, Lind PO, Olsen I. Assessment of periradicular microbiota by DNA-DNA hybridization. *Dent Traumatol* [Internet]. 2000 Oct;16(5):191–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1600-9657.2000.016005191.x>
17. Nair PNR. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *Int Endod J* [Internet]. 2006 Apr;39(4):249–81. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2591.2006.01099.x>
18. Costa Neto H, de Andrade ALDL, Gordón-Núñez MA, Freitas R de A, Galvão HC. Immunoexpression of tryptase-positive mast cells in periapical granulomas and radicular cysts. *Int Endod J* [Internet]. 2015 Aug;48(8):729–35. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/iej.12366>
19. Muglali M, Komerik N, Bulut E, Yarim GF, Celebi N, Sumer M. Cytokine and chemokine levels in radicular and residual cyst fluids. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 2007 Jul 23;37(3):185–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0714.2007.00595.x>
20. Rodini CDO, Batista AC, Lara VS. Comparative immunohistochemical study of the presence of mast cells in apical granulomas and periapical cysts: possible role of mast cells in the course of human periapical lesions. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2004 Jan;97(1):59–63. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1079210403003780>
21. Dražić R, Sopta J, Minić AJ. Mast cells in periapical lesions: potential role in their pathogenesis. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 2010 Mar;39(3):257–62. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0714.2009.00870.x>

22. de Noronha Santos Netto J, Pires FR, da Fonseca EC, Silva LE, de Queiroz Chaves Lourenço S. Evaluation of mast cells in periapical cysts, dentigerous cysts, and keratocystic odontogenic tumors. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 2012 Sep;41(8):630–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0714.2012.01126.x>
23. Patidar K, Parwani R, Wanjari S, Patidar A. Mast cells in human odontogenic cysts. *Biotech Histochem* [Internet]. 2012 Aug 10;87(6):397–402. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10520295.2012.674556>
24. NOGUEIRA EF de C, FARIAS EGF, SILVA LB, SANTOS NETO AP dos, ANDRADE ES de S, SAMPAIO GC. Analysis of the presence and location of mast cells in periapical cysts and periapical granulomas. *RGO - Rev Gaúcha Odontol* [Internet]. 2016 Dec;64(4):376–81. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1981-86372016000400376&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-86372016000400376&lng=en&tlng=en)
25. Tedla N, Wang H, McNeil P, Di Girolamo N, Hampartzoumian T, Wakefield D, et al. Regulation of T Lymphocyte Trafficking into Lymph Nodes During an Immune Response by the Chemokines Macrophage Inflammatory Protein (MIP)-1alpha and MIP-1beta. *J Immunol Ref J Immunol* [Internet]. 1998;161:5663–72. Available from: <http://www.jimmunol.org/content/161/10/5663%5Cnhttp://www.jimmunol.org/content/161/10/5663>
26. Bhattacharyya SP, Drucker L, Reshef T, Kirshenbaum AS, Metcalfe DD, Mekori YA. Activated T lymphocytes induce degranulation and cytokine production by human mast cells following cell-to-cell contact. *J Leukoc Biol* [Internet]. 1998 Mar;63(3):337–41. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jlb.63.3.337>
27. Mekori YA, Metcalfe DD. Mast cell–T cell interactions. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 1999 Sep;104(3):517–23. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0091674999703167>
28. Gabrilovich D. Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic-cell defects. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2004 Dec;4(12):941–52. Available from: <http://www.nature.com/articles/nri1498>

29. Carrillo C, Penarrocha M, Penarrocha M, Vera-Sempere F, Penarrocha-Oltra D. Immunohistochemical study of Langerhans cells in periapical lesions: correlation with inflammatory cell infiltration and epithelial cell proliferation. *Med Oral Patol Oral y Cir Bucal* [Internet]. 2010;15(2):e335–9. Available from: <http://www.medicinaoral.com/medoralfree01/v15i2/medoralv15i2p335.pdf>
30. Lombardi T, Hauser C, Budtz-Jorgensen E. Langerhans cells: structure, function and role in oral pathological conditions. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 1993 May;22(5):193–202. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0714.1993.tb01056.x>
31. Molyneux GS. Observations on the structure and growth of periodontal and residual cysts. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol* [Internet]. 1964 Jul;18(1):80–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0030422064902622>
32. Albuquerque Júnior RLC, Miguel MCC, Costa ALL, Souza LB. Correlation of c-erbB-2 and S-100 expression with the malignancy grading and anatomical site in oral squamous cell carcinoma. *Int J Exp Pathol* [Internet]. 2004 Jan 27;84(6):259–65. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.0959-9673.2004.00361.x>
33. Pringle GA, Daley TD, Veinot LA, Wysocki GP. Langerhans' cell histiocytosis in association with periapical granulomas and cysts. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol* [Internet]. 1992 Aug;74(2):186–92. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/003042209290381Y>
34. Moreira PR, Santos DFM, Martins RD, Gomez RS. CD57+ cells in radicular cyst. *Int Endod J* [Internet]. 2000 Mar;33(2):99–102. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2591.2000.00276.x>
35. de Carvalho Fraga CA, Alves LR, de Sousa AA, de Jesus SF, Vilela DN, Pereira CS, et al. Th1 and Th2-like Protein Balance in Human Inflammatory Radicular Cysts and Periapical Granulomas. *J Endod* [Internet]. 2013 Apr;39(4):453–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239912011314>
36. Fukada SY, Silva TA, Garlet GP, Rosa AL, da Silva JS, Cunha FQ. Factors involved in the T helper type 1 and type 2 cell commitment and osteoclast regulation in inflammatory apical diseases. *Oral Microbiol Immunol* [Internet]. 2009 Feb;24(1):25–31. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-302X.2008.00469.x>

37. Colić M, Gazivoda D, Vucević D, Majstorović I, Vasilijić S, Rudolf R, et al. Regulatory T-cells in Periapical Lesions. *J Dent Res* [Internet]. 2009 Nov 14;88(11):997–1002. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034509347090>
38. Ihan Hren N, Ihan A. T lymphocyte activation and cytokine expression in periapical granulomas and radicular cysts. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2009 Feb;54(2):156–61. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996908002550>
39. Yang S, Zhu L, Xiao L, Shen Y, Wang L, Peng B, et al. Imbalance of Interleukin-17+ T-cell and Foxp3+ Regulatory T-cell Dynamics in Rat Periapical Lesions. *J Endod* [Internet]. 2014 Jan;40(1):56–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.09.033>
40. Yu JJ GS. Department of Microbiology and Immunology, University at Buffalo School of Medicine and Biomedical Sciences, Buffalo, NY, Department of Oral Biology, University at Buffalo School of Dental Medicine, Buffalo, NY. *Front Biosci*. 2008;1(13):170–7.
41. Mittrücker H-W, Kaufmann SHE. Mini-review: Regulatory T cells and infection: suppression revisited. *Eur J Immunol* [Internet]. 2004 Feb;34(2):306–12. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/eji.200324578>
42. Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, Boyd K, Wang Y, Vignali KM, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature* [Internet]. 2007 Nov 22;450(7169):566–9. Available from: <http://www.nature.com/articles/nature06306>
43. Shevach EM, Tran DQ, Davidson TS, Andersson J. The critical contribution of TGF- $\beta$  to the induction of Foxp3 expression and regulatory T cell function. *Eur J Immunol* [Internet]. 2008 Apr;38(4):915–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/eji.200738111>
44. Peixoto RF, Pereira JDS, Nonaka CFW, da Silveira ÉJD, Miguel MCDC. Immunohistochemical analysis of FoxP3+ cells in periapical granulomas and radicular cysts. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2012 Sep;57(9):1159–64. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996912000386>

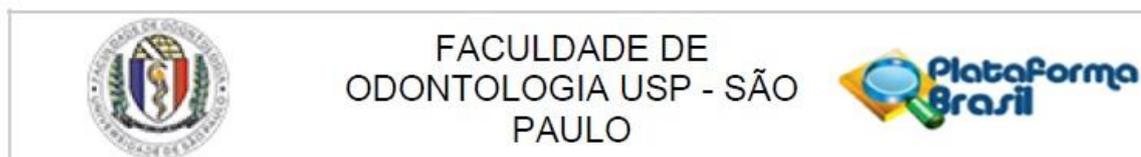
45. Zhou L, Lopes JE, Chong MMW, Ivanov II, Min R, Victora GD, et al. TGF- $\beta$ -induced Foxp3 inhibits TH17 cell differentiation by antagonizing ROR $\gamma$ t function. *Nature* [Internet]. 2008 May 8;453(7192):236–40. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature06878>
46. Zhou L, Chong MMW, Littman DR. Plasticity of CD4+ T Cell Lineage Differentiation. *Immunity* [Internet]. 2009 May;30(5):646–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2009.05.001>
47. Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, Ashourian N, Singh B, Sharpe A, et al. B7/CD28 Costimulation Is Essential for the Homeostasis of the CD4+CD25+ Immunoregulatory T Cells that Control Autoimmune Diabetes. *Immunity* [Internet]. 2000 Apr;12(4):431–40. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1074761300801958>
48. García CC, Sempere FV, Diago MP BE. The post-endodontic periapical lesion : Histologic and etiopathogenic aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2007;12(8):585–90.
49. Stashenko P, Teles R, D'Souza R. Periapical Inflammatory Responses and Their Modulation. *Crit Rev Oral Biol Med* [Internet]. 1998 Oct;9(4):498–521. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/10454411980090040701>
50. Fujisaki K, Tanabe N, Suzuki N, Kawato T, Takeichi O, Tsuzukibashi O, et al. Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand induces the expression of carbonic anhydrase II, cathepsin K, and matrix metalloproteinase-9 in osteoclast precursor RAW264.7 cells. *Life Sci* [Internet]. 2007 Mar;80(14):1311–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024320507000318>
51. Dinarello CA, Ikejima T, Warner SJ, Orencole SF, Lonnemann G, Cannon JG, et al. Interleukin 1 induces interleukin 1. I. Induction of circulating interleukin 1 in rabbits in vivo and in human mononuclear cells in vitro. *J Immunol* [Internet]. 1987;139(6):1902–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3497982>
52. Stashenko P, Wang C-Y, Tani-Ishii N, Yu SM. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol* [Internet]. 1994 Oct;78(4):494–502. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0030422094900442>

53. Tani-Ishii N, Wang C-Y, Stashenko P. Immunolocalization of bone-resorptive cytokines in rat pulp and periapical lesions following surgical pulp exposure. *Oral Microbiol Immunol* [Internet]. 1995 Aug;10(4):213–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-302X.1995.tb00145.x>
54. Ataoglu T, Ungor M, Serpek B, Haliloglu S, Ataoglu H, Ari H. Interleukin-1beta and tumour necrosis factor-alpha levels in periapical exudates. *Int Endod J* [Internet]. 2002 Feb;35(2):181–5. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2591.2002.00467.x>
55. Balto K, Sasaki H, Stashenko P. Interleukin-6 Deficiency Increases Inflammatory Bone Destruction. *Infect Immun* [Internet]. 2001 Feb 1;69(2):744–50. Available from: <http://iai.asm.org/cgi/doi/10.1128/IAI.69.2.744-750.2001>
56. Jurisic V, Terzic T, Colic S, Jurisic M. The concentration of TNF- $\alpha$  correlate with number of inflammatory cells and degree of vascularization in radicular cysts. *Oral Dis* [Internet]. 2008 Sep 30;14(7):600–5. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1601-0825.2007.01426.x>
57. de Matos FR, de Moraes M, das Neves Silva EB, Galvão HC, de Almeida Freitas R. Immunohistochemical Detection of Receptor Activator Nuclear  $\kappa$ B Ligand and Osteoprotegerin in Odontogenic Cysts and Tumors. *J Oral Maxillofac Surg* [Internet]. 2013 Nov;71(11):1886–92. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278239113005296>
58. Tsai C-H, Weng S-F, Yang L-C, Huang F-M, Chen Y-J, Chang Y-C. Immunohistochemical localization of tissue-type plasminogen activator and type I plasminogen activator inhibitor in radicular cysts. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 2004 Mar;33(3):156–61. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.0904-2512.2004.00133.x>
59. Bell D, Chomarat P, Broyles D, Netto G, Harb GM, Lebecque S, Valladeau J, Davoust J, Palucka KA BJ. In breast carcinoma tissue, immature dendritic cells reside within the tumor, whereas mature dendritic cells are located in peritumoral areas. *J Exp Med* [Internet]. 1999 Nov 15;190(10):1417–26. Available from: <http://jem.rupress.org/content/190/10/1417.long>
60. Colic M, Gazivoda D, Vasilijic S, Vucevic D, Lukic A. Production of IL-10 and IL-12 by antigen-presenting cells in periapical lesions. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 2010 Aug 31;39(9):690–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0714.2010.00925.x>

61. Lukic A, Danilovic V, Petrovic R. Comparative immunohistochemical and quantitative analysis of inflammatory cells in symptomatic and asymptomatic chronic periapical lesions. *Vojnosanit Pregl* [Internet]. 2008;65(6):435–40. Available from: <http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0042-84500806435L>
62. Torabinejad M, Kettering JD, Bakland LK. Localization of IgE immunoglobulin in human dental periapical lesions by the peroxidase-antiperoxidase method. *Arch Oral Biol* [Internet]. 1981;26(8):677–81. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003996981901655>
63. Romagnoli P. Dendritic cells in the skin and mucosa: what's new. *J Eur Acad Dermatology Venereol* [Internet]. 2001 Mar;15(2):110–1. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1468-3083.2001.00224.x>
64. Colić M, Gazivoda D, Vucević D, Majstorović I, Vasilijić S, Rudolf R, et al. Regulatory T-cells in Periapical Lesions. *J Dent Res* [Internet]. 2009 Nov 14;88(11):997–1002. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0022034509347090>
65. Beyer M, Schultze J. Regulatory T Cells: Major Players in the Tumor Microenvironment. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2009 Jun 1;15(16):1879–92. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1381-6128&volume=15&issue=16&spage=1879>
66. Vignali DAA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2008 Jul 1;8(7):523–32. Available from: <http://www.nature.com/articles/nri2343>
67. Séguier S, Bodineau A, Godeau G, Pellat B, Brousse N. Langerin+ versus CD1a+ Langerhans cells in human gingival tissue: a comparative and quantitative immunohistochemical study. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2003 Apr;48(4):255–62. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996902001735>
68. Peña-Cruz V, Ito S, Dascher CC, Brenner MB, Sugita M. Epidermal Langerhans Cells Efficiently Mediate CD1a-Dependent Presentation of Microbial Lipid Antigens to T Cells. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2003 Sep;121(3):517–21. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15303948>

69. Piattelli A, Rubini C, Iezzi G, Fioroni M. CD1a-Positive Cells in Odontogenic Cysts. *J Endod* [Internet]. 2002 Apr;28(4):267–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239905606206>
70. Séguier S, Godeau G, Leborgne M, Pivert G, Brousse N. Quantitative morphological analysis of Langerhans cells in healthy and diseased human gingiva. *Arch Oral Biol* [Internet]. 2000 Dec;45(12):1073–81. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996900000698>
71. Mutyambizi K, Berger CL, Edelson RL. The balance between immunity and tolerance: The role of Langerhans cells. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2009 Mar 11;66(5):831–40. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00018-008-8470-y>
72. Contos JG, Corcoran JF, LaTurno SAL, Chiego DJ, Regezi JA. Langerhans cells in apical periodontal cysts: An immunohistochemical study. *J Endod* [Internet]. 1987 Feb;13(2):52–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239987801541>
73. Ledesmamontes C, Garcesortiz M, Rosalesgarcia G, HernandezGuerrero J. Importance of Mast Cells in Human Periapical Inflammatory Lesions. *J Endod* [Internet]. 2004 Dec;30(12):855–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239905600611%5Cnpapers3://publication/doi/10.1097/01.DON.0000134207.67360.FC>
74. Fonseca-Silva T, Santos CCO, Alves LR, Dias LC, Brito-Júnior M, De Paula AMB, et al. Detection and quantification of mast cell, vascular endothelial growth factor, and microvessel density in human inflammatory periapical cysts and granulomas. *Int Endod J* [Internet]. 2012 Sep;45(9):859–64. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2591.2012.02043.x>
75. Smith G, Smith AJ, Basu MK. Mast cells in human odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med* [Internet]. 1989 May;18(5):274–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0714.1989.tb00396.x>
76. Teronen O, Hietanen J, Lindqvist C, Salo T, Sorsa T, Eklund KK, et al. Mast cell-derived tryptase in odontogenic cysts. 1996 Aug;(5). Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0714.1996.tb00282.x>

## ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Análise do perfil inflamatório de lesões periapicais e suas correlações com o diagnóstico por imagem e histopatológico

**Pesquisador:** Paulo Henrique Braz da Silva

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 68731017.0.0000.0075

**Instituição Proponente:** Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.135.164

**Apresentação do Projeto:**

As lesões periapicais inflamatórias estão entre as mais frequentes do complexo maxilofacial, porém o perfil inflamatório dessas lesões é pouco compreendido, tanto do ponto de vista da caracterização celular como da expressão de citocinas e quimiocinas. Cistos e granulomas periapicais compõem dois terços dessas lesões inflamatórias em região de mandíbula, onde são mais frequentes. O objetivo do trabalho é estabelecer o perfil inflamatório de cistos radiculares, granulomas dentários e cistos residuais, comparando-os com o diagnóstico clínico, imaginológico e histopatológico das lesões, por meio das técnicas de imunohistoquímica e multiplex Luminex®. O estudo prospectivo será realizado com a triagem de pacientes atendidos na Clínica de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial da Fundação Faculdade de Odontologia – FFO-FUNDECTO. Cem pacientes com diagnóstico de lesão periapical (clínico e imaginológico) e com indicação cirúrgica de tratamento (exodontia) serão incluídos no estudo. Esses pacientes serão encaminhados para o Centro de Pesquisas Clínicas – CEPEC da FOU SP onde realizarão uma tomografia computadorizada de feixe cônico – TCFC através do tomógrafo Planmeca Pro Max 3D Max (Planmeca Oy, Helsinque, Finlândia). As lesões removidas serão encaminhadas para o Serviço de Patologia Cirúrgica da Disciplina de Patologia Oral e Maxilofacial, Departamento de Estomatologia, Faculdade de

**Endereço:** Av Prof Lineu Prestes 2227

**Bairro:** Cidade Universitária

**CEP:** 05.508-900

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)3091-7960

**Fax:** (11)3091-7814

**E-mail:** cepfo@usp.br



FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA USP - SÃO  
PAULO



Continuação do Parecer: 2.135.164

Odontologia da Universidade de São Paulo. Parte do material será coletado e processado para realização da técnica de Luminex®. As amostras de material parafinado serão submetidas à técnica de imunohistoquímica para a caracterização celular (linfócitos TCD4, TCD8, Treg, linfócitos B, plasmócitos, macrófagos, mastócitos e células dendríticas), expressão de citocinas e quimiocinas (IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-8, IFN , TNF-, TGF-, MCP-1, MIP-1, MIP3, IP-10, RANTES) e do sistema RANK, RANKL, OPG. As diferenças nas concentrações dos marcadores e as quantidades celulares nos cistos radiculares, granulomas e cistos residuais serão avaliadas utilizando o teste de Mann-Whitney ou t de student. As capacidades diagnósticas de cada um dos marcadores serão investigadas pela análise da curva ROC (receiver operator characteristics). Os dados serão analisados utilizando Statistica e Graphpad Prism versão 5. Por último as imagens tomográficas serão analisadas através dos softwares livres ITK-SNAP 3.4.0 (<http://www.itksnap.org/>) e Seg3D 2.3.2 (<http://www.sci.utah.edu/cibc-software/seg3d.html>), e os diagnósticos imaginológicos das lesões (TCFC e radiografias convencionais) serão comparados com o diagnostico histopatológico.

**Objetivo da Pesquisa:**

As lesões periapicais inflamatórias são as mais frequentes do complexo maxilofacial, porém o perfil inflamatório dessas lesões é pouco compreendido, tanto do ponto de vista da caracterização celular como da expressão de citocinas e quimiocinas. O objetivo deste trabalho, por meio das técnicas de imunohistoquímica e multiplex Luminex®, é estabelecer o perfil inflamatório de cistos radiculares, granulomas dentários e cistos residuais, comparando-os com o diagnóstico clínico, imaginológico e histopatológico das lesões. A melhor compreensão dos fenômenos inflamatórios das lesões periapicais poderá levar ao desenvolvimento de melhores estratégias de diagnóstico e tratamento dessas condições. O trabalho busca o estabelecimento de uma possível "assinatura imunológica" que diferencie as lesões periapicais, e suas possíveis correlações com características imaginológicas de TCFC, permitindo assim a escolha de potenciais biomarcadores (moleculares e imaginológicos) que possam orientar o diagnostico, manejo e prognostico dessas lesões.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos:

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227  
Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900  
UF: SP Município: SAO PAULO  
Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br



FACULDADE DE  
ODONTOLOGIA USP - SÃO  
PAULO



Continuação do Parecer: 2.135.164

O risco da pesquisa é baixo, considerando-se a exposição do paciente aos raios X para realização da tomografia computadorizada de feixe cônico odontológica.

**Benefícios:**

A realização da tomografia computadorizada de feixe cônico odontológica auxiliará o planejamento cirúrgico do paciente. Não haverá nenhum custo para o paciente a realização de tal exame.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Bem delineada e com cuidado dos aspectos éticos.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Entregues e corrigidos: TCLE, Autorização uso tomógrafo e FFO; Projetos Plataforma e original; Folha de rosto.

**Recomendações:**

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final, utilizando-se da opção "Enviar Notificação" (descrita no Manual "Submeter Notificação", disponível na Central de Suporte - canto superior direito do site [www.saude.gov.br/plataformabrasil](http://www.saude.gov.br/plataformabrasil)).

Qualquer alteração no projeto original deve ser apresentada "emenda" a este CEP, de forma objetiva e com justificativas para nova apreciação.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não foram observados óbices éticos.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_895822.pdf	07/06/2017 16:52:19		Aceito
Outros	autorizacao_tomografo.pdf	07/06/2017 16:47:06	Paulo Henrique Braz da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_periapicais_corrigido.docx	07/06/2017 16:36:27	Paulo Henrique Braz da Silva	Aceito

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 05.508-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3091-7960

Fax: (11)3091-7814

E-mail: [cepfo@usp.br](mailto:cepfo@usp.br)