



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

LUCIANO CINCURÁ SILVA SANTOS

**DETECÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CÉLULAS DE
LANGERHANS EM GRANULOMA DENTÁRIO E CISTO
RADICULAR**

Salvador
2005

LUCIANO CINCURÁ SILVA SANTOS

**DETECÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CÉLULAS DE
LANGERHANS EM GRANULOMA DENTÁRIO E CISTO
RADICULAR**

Dissertação apresentada ao programa de Mestrado em
Clínica Odontológica, Faculdade de Odontologia,
Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial
para a obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr Jean Nunes dos Santos

Co-orientador: Prof. Dr Eduardo A. Gonçalves Ramos

Salvador
2005

DEDICATÓRIA

À

Deus que me deu e me dá força e proteção para superar todos os obstáculos da vida. Obrigado senhor por mais uma conquista!

Aos meus pais, **José Cincurá e Maria das Graças** pelo amor, apoio e incentivo dados em todo percurso da minha existência;

À minha avó, **Guiomar** por todo carinho e exemplo de força que muito me inspira;

Ao meu avô, **Zito** (*in memorian*). Sua alegria, bondade e sabedoria serão eternas em minhas lembranças;

Aos meus irmãos, **Gustavo e Carolina** eternos companheiros;

À **Rosana**, amor da minha vida. Sua presença me conforta, sua alegria me motiva e essa conquista também é sua. Obrigado pelo apoio, principalmente naqueles momentos de angústias, obrigado pelo carinho mesmo nos momentos em que ao seu lado não pude estar.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. **Jean Nunes dos Santos** pela orientação exemplar, apoio e confiança que me fizeram crescer como pessoa, professor e cientista. Obrigado pela oportunidade, meus sinceros agradecimentos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Eduardo Ramos**, coordenador do Laboratório de Histopatologia da Fundação Oswaldo Cruz pelo apoio constante no desenvolvimento experimental dessa pesquisa e pela oportunidade de desenvolver um trabalho de qualidade.

Ao Prof. Dr. **André Carlos de Freitas**, pela amizade e pelo meu encaminhamento na Cirurgia e Traumatologia Buco Maxilo Facial.

À Coordenadora da Disciplina de Cirurgia II, Profa **Lúcia Neves** pelo apoio, amizade e carinho a mim prestado durante toda minha graduação e pós-graduação, e pelo meu aprimoramento na Cirurgia Bucal.

À Profa. Dra. **Luciana Pedreira Ramalho**, ex-coordenadora do Mestrado, pelo esforço e empenho na melhoria desse curso de pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Phd **Antônio Luis Barbosa Pinheiro**, pela minha Iniciação Científica na Odontologia.

Aos **professores da FOUFBA** que contribuíram para a minha formação acadêmica.

Ao Curso de Mestrado em Odontologia da FOUFBA e professores pela oportunidade de aprendizagem e crescimento científico.

A todos os profissionais da FIOCRUZ que me ajudaram no desenvolvimento desse trabalho, em especial, **Ana, Rejane e Cristina** pelo carinho e apoio.

Aos meus colegas de Mestrado **Ana, Edmália, Flávia, Max, Márcia, Martinha, Fátima e Rivail** pelo convívio e amizade.

À **Sueli**, secretária do Mestrado, pelo apoio administrativo.

À **CAPES** pela bolsa auxílio, importante incentivo para a manutenção das minhas atividades durante o período do mestrado.

À **FAPESB**, pelo apoio regular concedido a essa pesquisa. Termo de Outorga N°197/04, processo- 1431040047950.

A todos que acreditaram e me apoiaram direta ou indiretamente na realização desta pesquisa.

A todos vocês, meus humildes agradecimentos.

“...Continuamente, nos deparamos com uma série de oportunidades, brilhantemente disfarçadas sob forma de problemas, mas, até que se prove o contrário tudo é possível...”.

AUTOR: DESCONHECIDO

RESUMO

Os Granulomas Dentários e Cistos Radiculares representam lesões periapicais crônicas que, frequentemente, acometem os ossos maxilares. As Células de Langerhans são células dendríticas, responsáveis pela apresentação de antígenos aos Linfócitos T, que desempenham importante função nos tecidos epiteliais, bem como na patogênese das lesões periapicais. O presente estudo analisou a expressão das Células de Langerhans, através da técnica imuno-histoquímica para o marcador CD1a em 18 casos de Granuloma Dentário (GD) e 26 casos de Cisto Radicular (CR). Essas células dendríticas foram observadas em 11,1% dos Granulomas Dentários e em 69,2% dos Cistos Radiculares, mostrando correlação estatisticamente significativa (p -valor=0,000. Teste de Fisher). Nos Cistos Radiculares, as CLs exibiram tanto a forma arredondada quanto a dendrítica, em todas as camadas epiteliais. Já nos Granulomas Dentários, as CLs foram vistas apenas no tecido de granulação com densidade discreta de marcação. Apesar de termos encontrado uma correlação entre densidade de marcação e espessura de epitélio, bem como entre imunomarcação e intensidade inflamatória, não foi observada representatividade estatística entre essas correlações. Dos resultados obtidos conclui-se que as Células de Langerhans parecem influenciar na imunopatogênese das lesões periapicais aqui estudadas, principalmente nos Cistos Radiculares.

Palavras-chave: Lesões periapicais, Células de Langerhans, Imuno-histoquímica.

ABSTRACT

Dental Granuloma and Radicular Cysts represent chronic periapical lesions that frequently affect the jaw bones. The Langerhans Cells are dendritic antigen-presenting cells that initiate primary T-lymphocyte-dependent immune response T. These cells play a important role in normal and pathological epithelial tissues as those seen in periapical chronic lesions. Better to understand the participation of the LC in DG and RC, we examined the density of LCs in 18 DG and 26 RC by immunohistochemical method using marker CD1a. The dendritic cells were more found in RC (69,2%) than in DG (11,1%) showing significant correlation statistically ($P=0,000$). In RC, intraepithelial LCs exhibited round-shaped or dendritic-shaped appearance with variable density reaching all epithelial layers. In DG, LCs were only seen in granulation tissue with discrete or weak density. Statistically, there was not correlation between density of marking and epithelial thickness or density of LCs and inflammatory response. In conclusion, these findings suggest that Langerhans Cells are involved in pathogenesis of periapical lesions.

Key Words: Periapical Lesions, Langerhans Cells, immunohistochemistry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 a 5 – Granuloma Dentário. Fig. 1, moderado infiltrado inflamatório linfo-histiocitário em meio a edema intersticial (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 2, placa de infiltrado linfoplasmocitário (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 3, Corpúsculo de Russel representado por esférulas hialinas (H&E, aproximadamente 400x). Fig. 4, numerosos macrófagos, alguns dos quais xantomatosos (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 5, reação de célula gigante tipo corpo estranho, ao lado de grumos enegrecidos de material de natureza exógena (H&E, aproximadamente 200x).....78.

Fig. 6 – Granuloma Dentário. Célula de Langerhans, presente no tecido de granulação imunomarcada discretamente pelo CD1a, (EnVision, Dako, aproximadamente 400x).....80.

Figuras 7 a 14 – Cisto Radicular. Fig. 7 e 8, revestimento epitelial sob a forma de arcos, muitas vezes interconectantes (H&E, aproximadamente 40x). Fig. 9, revestimento epitelial pavimentoso estratificado exibindo placas de acantose (H&E, aproximadamente 200x). Fig.10, cápsula fibrosa com raras células inflamatórias, revestida por poucas camadas celulares (H&E, aproximadamente 40x). Fig. 11, epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 12, Células cuboidais em camada simples (H&E, aproximadamente 400x). Fig. 13, revestimento epitelial exibindo células mucosas, na camada intermediária (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 14, epitélio pseudo estratificado ciliado com células superficiais metaplásicas (H&E, aproximadamente 200x).....82.

Figuras 15 a 21 – Cisto Radicular. Fig. 15, tecido epitelial pavimentoso estratificado exibindo exocitose leucocitária (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 16, revestimento epitelial exibindo espongirose neutrofílica (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 17, parede de tecido conjuntivo frouxo revestido por epitélio atrófico (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 18, tecido conjuntivo frouxo vascularizado sede de moderado infiltrado inflamatório mononuclear (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 19, remanescentes epiteliais odontogênicos sob a forma de cordões e ninhos (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 20, proliferação epitelial semelhante ao Tumor Odontogênico Escamoso (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 21, Ilhotas epiteliais exibindo focos de mineralização (H&E, aproximadamente 200x).....84.

Figuras 22 a 29 – Cisto Radicular. Fig. 22, revestimento epitelial exibindo também células mucosas e células superficiais metaplásicas (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 23, detalhe da figura anterior (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 24, células mucosas ao lado de células vacuolizadas (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 25, detalhe da figura anterior (H&E, aproximadamente 400x). Fig. 26, tecido epitelial pavimentoso estratificado exibindo corpúsculos hialinos de Rhuston (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 27, detalhe da figura anterior, evidenciando-se estruturas hialinas lamelares (H&E, aproximadamente 400x). Fig. 28, placa de células epiteliais exibindo células em apoptose (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 29, detalhe da figura anterior, mostrando célula de citoplasma amplo, eosinofílico e com núcleo picnótico (H&E, aproximadamente 400x).....86.

Figuras 30 a 35 – Cisto Radicular. Fig. 30, revestimento epitelial exibindo material exógeno junto a focos de mineralização (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 31, detalhe da figura anterior (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 32, fenda de cristais de colesterol adjacente a

focos de mineralização (H&E, aproximadamente 40x). Fig. 33, detalhe da figura anterior, evidenciando-se aglomerado de macrófagos junto a fendas de colesterol e focos de mineralização (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 34, detalhe da figura 32, evidenciando-se reação gigante celular tipo corpo estranho junto a fendas de colesterol (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 35, placa composta por numerosos macrófagos espumosos (H&E, aproximadamente 200x).....88.

Figuras 36 a 41 – Cisto Radicular. Fig. 36, discreta marcação da Célula de Langerhans no tecido de granulação (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 37, discreta marcação da Célula de Langerhans, em formato arredondado em meio a células epiteliais (EnVision, Dako, aproximadamente 400x). Fig. 38, imunomarcção moderada das Células de Langerhans, presentes na camada intermediária com poucos prolongamentos dendríticos (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 39, 40 e 41, imunomarcção intensa das Células de Langerhans, presentes em diferentes camadas epiteliais (EnVision, Dako, aproximadamente 100x).....90.

Figuras 42 a 49 – Cisto Radicular. Fig. 42, Célula de Langerhans na camada superficial do epitélio com formato dendrítico (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 43, Célula de Langerhans na camada intermediária de revestimento epitelial hiperplasiado, em formato dendrítico e arredondado (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 44, Células de Langerhans revestindo o lúmen cístico com forma dendrítica (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 45, detalhe da figura anterior, mostrando forma dendrítica na superfície epitelial metaplásica (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 46, Célula de Langerhans sob forma arredondada na camada suprabasal do epitélio (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 47, detalhe da figura anterior (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 48, forma dendrítica da Célula de Langerhans presente em revestimento epitelial atrófico (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 49, detalhe da figura anterior (EnVision, Dako, aproximadamente 200x).....92.

Figuras 50 a 55 – Cisto Radicular. Fig. 50 e 51, tecido epitelial mostrando célula de Langerhans na camada intermediária com longos prolongamentos citoplasmáticos (EnVision, Dako, aproximadamente 400x). Fig. 52, aspecto dendrítico da Célula de Langerhans na região superficial do epitélio (EnVision, Dako, aproximadamente 400x). Fig. 53, formato arredondado da célula de Langerhans na camada superficial do epitélio (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 54, Célula de Langerhans com formato arredondado presente no tecido de granulação (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 55, cápsula cística mostrando Célula de Langerhans com prolongamento citoplasmáticos curtos (EnVision, Dako, aproximadamente 200x).....94.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, QUADROS E GRÁFICOS

| | |
|---|-----|
| Ilustração 1 - Disposição dos cortes teciduais em associação com anticorpo e controle negativo..... | 58. |
| Quadro 1 – Clone, especificidade, diluição, tratamento de recuperação antigênica e tempo de incubação do anticorpo utilizado..... | 58. |
| Quadro 2 – Escores para a densidade da imunomarcacão..... | 61. |
| Gráfico 1- Frequencia do padrão de distribuição das lesões periapicais por sexo. Salvador-Ba, 2005..... | 75. |
| Gráfico 2 - Frequencia do padrão de distribuição de células CD1a positivas em Cistos Radiculares. Salvador-Ba, 2005..... | 76. |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----|
| Tabela 1 – Distribuição dos valores relativos e absolutos dos achados clínicos das lesões periapicais estudadas. Salvador-Ba, 2005..... | 68. |
| Tabela 2 – Distribuição do sexo por lesão periapical estudada. Salvador-Ba, 2005..... | 68. |
| Tabela 3 – Distribuição dos achados morfológicos por lesão periapical estudada. Salvador-Ba, 2005..... | 69. |
| Tabela 4 – Dados referentes à expressão imuno-histoquímica do CD1a e densidade de marcação no Granuloma Dentário. Salvador-Ba, 2005..... | 70. |
| Tabela 5 - Dados referentes à expressão imuno-histoquímica do CD1a e densidade de marcação no Cisto Radicular. Salvador-Ba, 2005..... | 71. |
| Tabela 6 – Teste de concordância interexaminadores sobre a marcação imuno-histoquímica. Salvador-Ba, 2005..... | 72. |
| Tabela 7 - Teste de concordância interexaminadores sobre a densidade da imunomarcação. Salvador-Ba, 2005..... | 72. |
| Tabela 8 – Distribuição da imunomarcação por espessura de epitélio. Salvador-Ba, 2005..... | 73. |
| Tabela 9 – Distribuição da imunomarcação por infiltrado inflamatório. Salvador-Ba, 2005..... | 73. |
| Tabela 10 – Relação entre os macrófagos espumosos e imunomarcação. Salvador-Ba, 2005..... | 73. |
| Tabela 11 – Distribuição dos macrófagos espumosos por densidade da imunomarcação. Salvador-Ba, 2005..... | 74. |
| Tabela 12 – Distribuição dos macrófagos espumosos por infiltrado inflamatório. Salvador-Ba, 2005..... | 74. |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APC - célula apresentadora de antígeno.

APCD - associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas.

Bax - regulador da apoptose. Ativador.

Bcl-2 - regulador da apoptose. Inibidor.

BMPs - do inglês “Bone Morphogenetic Protein”, traduzido como proteínas morfogenéticas do osso.

Caspase- 3 - enzima responsável pela quebra de proteínas celulares, relacionada à apoptose.

CTGF - fator de crescimento do tecido conjuntivo.

CSF - fator estimulador de colônia.

C5a - peptídeo quimiotático subproduto do sistema complemento.

COX-2 - ciclooxigenase dois.

CD - célula dendrítica.

CD1a, b, c, d, e - família de moléculas de lipídeos ligantes apresentadoras de tamanho pequeno a moderado associado à proteína transmembrana. Onde o CD1a é marcador para Célula de Langerhans.

CD3+ - linfócitos T imuno-histoquimicamente positivos para o cluster de diferenciação três.

CD4+ - linfócitos T imuno-histoquimicamente positivos para o cluster de diferenciação quatro.

CD8+ - linfócitos T imuno-histoquimicamente positivos para o cluster de diferenciação oito.

CD20+ - imuno-histoquimicamente positivo para o cluster de diferenciação vinte. Marcador para linfócitos B.

CD21 - antígeno de superfície, receptor de complemento de linfócito B.

CD23 - anticorpo utilizado para marcação de células dendríticas foliculares.

CD29 - sistema de ancoragem de adesão celular.

CD34 - antígeno de superfície, proteoglicanas de células endoteliais.

CD35 - anticorpo utilizado para marcação de células dendríticas foliculares.

CD54 - molécula de superfície celular, presente nas células apresentadoras de antígeno, responsável pela adesão e ativação de sinais moleculares no receptor de antígeno (TCR) do LT, bem como a co-estimulação de outras células durante a resposta imune. Relacionada à molécula de adesão intercelular um (ICAM-1).

CD57 - antígeno de superfície associado ao linfócito T imuno-histoquimicamente positivos para o cluster de diferenciação três. Expresso em indivíduos saudáveis.

CD68+ - imuno-histoquimicamente positivo para o cluster de diferenciação sessenta e oito. Marcador de macrófagos.

c-erb-2 - proto-oncogene marcador para proliferação celular.

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa.

CLs - Células de Langerhans.

C° - graus Celsius.

CR - Cisto Radicular.

DAB - diaminobenzidina.

DNA - do inglês “desoxyribonucleic acid”, traduzido como ácido desoxirribonucléico.

EGF - do inglês “epidermal growth factor”, traduzido como fator de crescimento epidérmico.

Fator XIIIa - marcador para uma específica subpopulação de células dendríticas, presentes em proximidade com vasos sanguíneos.

Fas - glicoproteína de superfície celular que transmite sinais de apoptose da superfície para o citoplasma celular.

Fas-L - molécula efetora essencial nas reações de apoptose.

FIV - vírus da imunodeficiência felina.

FOUFBA - Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia.

GD- Granuloma Dentário.

GM-CSF - Fator estimulador de colônias para macrófagos granulócitos.

HIV - vírus da imunodeficiência adquirida.

H&E - hematoxilina e eosina.

HLA-DR - molécula de superfície celular, responsável pela apresentação de antígeno.

HPV - do inglês “human papilloma virus”, traduzido como papiloma vírus humano.

IgA - imunoglobulina A.

IgE - imunoglobulina E.

IgG - imunoglobulina G.

ICAM-1 - molécula de adesão intercelular um.

IL-1 - interleucina um.

IL-1 α - interleucina um alfa.

IL-1 β - interleucina um beta.

IL-3 - interleucina três.

IL-6 - interleucina seis.

IL-8 - interleucina oito.

IL-15 - interleucina quinze.

IL-16 - interleucina dezesseis.

IFN α - interferon alfa.

IFN β - interferon beta.

IFN γ - interferon gama.

I-PA-1 - inibidor de plasminogênio um.

IRM - material restaurador intermediário.

J/cm² - Joule por centímetro quadrado.

Ki-67 - refere-se ao antígeno Ki-67 ou anticorpo de mesmo nome.

LTB4 - leucotrieno quarto.

LB - linfócitos B.

LDL - do inglês "low-density lipoprotein", traduzido como lipoproteína de baixa densidade.

LPS - lipopolissacarídeo bacteriano.

LT - linfócitos T.

MCO - Maternidade Climério de Oliveira.

MCP-1 - proteína quimiotática para monócitos.

MHC - complexo principal de histocompatibilidade.

MIP-1b - quimiocina, proteína inflamatória de macrófago.

MMP-1 - metaloproteinase de matriz um.

MMP-8 - metaloproteinase de matriz oito.

MTA - agregado trióxido mineral.

mm - milímetro.

ml - mililitro.

µm - micrômetros.

NK - do inglês "Natural Killer", traduzido como células assassinas naturais.

NO - óxido nítrico.

NOS - óxido nítrico sintase. Uma enzima.

OMS - Organização Mundial de Saúde.

PA-I – inibidora de plasminogênio.

Pas - fatores de plasminogênio.

PBS - do inglês "phosphate-buffered saline", traduzido como solução fosfatada tamponada.

PCR - Reação de Cadeia de Polimerase.

PDGF - fator de crescimento de plaquetas.

PGE2 - prostaglandina E dois.

pH - potencial de hidrogênio.

PMB - polimixina B.

PMNs - polimorfonucleares.

P53 - gene de supressão tumoral, envolvido na apoptose celular.

RANTES - do inglês “regulated and normal T cell expressed and secreted”. Quimiocina de células T que geralmente atraem monócitos, eosinófilos, basófilos e linfócitos.

RNA - do inglês “ribonucleic acid”, traduzido como ácido ribonucléico

RNA_m - ácido ribonucléico mensageiro.

RNA_r - ácido ribonucléico ribossômico.

28S - subunidade maior do ribossomo.

S-100 - proteína ligada ao cálcio, utilizada para imunomarcas melanócitos, células dendríticas, entre outras.

SSCDF - sarcoma de células dendríticas foliculares.

TGF - do inglês “transforming growth factor”, traduzido como fator de crescimento transformante.

TGF α - do inglês “transforming growth factor alfa”, traduzido como fator de crescimento transformante alfa.

TGF β - do inglês “transforming growth factor beta), traduzido como fator de crescimento transformante beta.

Th-1 - subgrupo de Linfócito T auxiliar que sintetiza e secreta as citocinas IL-2 e IFN- γ , mas não produz IL-4 ou IL-5.

Th-2 - subgrupo de Linfócitos T auxiliar que sintetiza IL-4, IL-5 e IL-13, mas não produzem IL-2 e IFN- γ .

TIMP-1 - inibidor da metaloproteinase um.

TNF - fator de necrose tumoral.

TNF α - fator de necrose tumoral alfa.

TOE - Tumor Odontogênico Escamoso.

UFBA - Universidade Federal da Bahia.

UVA - radiação ultravioleta de onda longa.

UVB - radiação ultravioleta de onda curta.

VEGF - fator de crescimento do endotélio vascular.

VEGF-R2 - receptor de membrana responsável pelo aumento da permeabilidade vascular.

40X - aumento microscópio quarenta vezes.

100X - aumento microscópio cem vezes.

200X - aumento microscópio duzentas vezes.

400X - aumento microscópico de quatrocentos vezes.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 20 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 22 |
| 2.1 GRANULOMA DENTÁRIO E CISTO RADICULAR | 22 |
| 2.1.1 Conceito, Classificação, Epidemiologia | 22 |
| 2.1.2 Etiopatogênese | 24 |
| 2.1.3 Aspectos clínicos, Imaginológicos e Histopatológico | 38 |
| 2.1.4 Tratamento | 41 |
| 2.2 CÉLULAS DE LANGERHANS | 41 |
| 2.2.1 Conceito, morfologia e constituição | 41 |
| 2.2.2 Função | 44 |
| 2.2.3 Células de Langerhans e Lesões Periapicais | 46 |
| 2.2.4 Marcador Antigênico | 47 |
| 2.2.5 Relação Imunológica com Diversas Doenças | 49 |
| 3 PROPOSIÇÃO | 55 |
| 3.1 Objetivo geral | 55 |
| 3.2 Objetivos específicos | 55 |
| 4 MATERIAL E MÉTODO | 56 |
| 4.1 Aspectos éticos da pesquisa | 56 |
| 4.2 Delineamento da pesquisa | 56 |
| 4.3 Seleção dos casos | 57 |

| | |
|--------------------------------|-----|
| 4.4 Análise morfológica | 57 |
| 4.5 Técnica imuno-histoquímica | 57 |
| 4.6 Exame imuno-histoquímico | 60 |
| 4.7 Análise estatística | 61 |
| 5 RESULTADOS | 62 |
| 6 DISCUSSÃO | 95 |
| 7 CONCLUSÕES | 116 |
| REFERÊNCIAS | 118 |
| APÊNDICES | 130 |

1 INTRODUÇÃO

As lesões periapicais tipo Granuloma Dentário e Cisto Radicular representam entidades muito comuns na clínica odontológica. Sua etiologia principal é a cárie dentária. As endotoxinas bacterianas, bem como as citocinas originadas do processo imuno-inflamatório parecem ter influência no desenvolvimento de tais lesões.

Após a necrose pulpar, a disseminação e instalação de bactérias no periápice, estimulam e ativam os mecanismos de defesa inata e adquirida, permitindo que eventos vasculares e celulares propiciem o desenvolvimento dos GDs e CRs. A literatura mostra que o Cisto Radicular pode surgir a partir de um Granuloma Dentário preexistente, bem como por indução dos Restos epiteliais de Malassez. Essa formação cística acontece à medida que os elementos epiteliais se proliferam com conseqüente aparecimento de uma cavidade preenchida de material líquido ou semilíquido, eventos estes relacionados aos processos imuno-inflamatórios (MEGHJI, 1996; MÁRTON, KISS, 2000; PIATTELLI et al., 2002; HISATOME et al., 2003).

Além disso, parece que alguns achados morfológicos, presentes nessas lesões, como cristais de colesterol, macrófagos espumosos, material tipo corpo estranho, dentre outros, induzem ou potencializam esse processo inflamatório (SJOGREN et al., 2002; YAMAZAKI et al., 2004).

É nesse contexto de reação imuno-inflamatória desencadeado pela infecção bacteriana, que as células dendríticas surgem como possíveis “carreadoras” da resposta adquirida, contribuindo assim na etiopatogenia das lesões aqui estudadas. As Células de Langerhans, oriundas da medula óssea, são células apresentadoras profissionais de antígenos, responsáveis pela apresentação destes aos linfócitos T, bem como pela produção de citocinas que parecem

influenciar no processo de crescimento destas lesões periapicais através do estímulo à reabsorção óssea e proliferação celular. Essas células estão relacionadas a algumas doenças dermatológicas, oncológicas, virais- HIV, e bucais como a leucoplasia, a gengivite, e mais recentemente, aos cistos odontogênicos (REYNOLDS et al., 1995; GUNHAM et al., 1996; M C CHARTON-BAIN et al., 1999; LOMBARDI et al., 1993; PIATTELLI et al., 2002; LINS et al., 2003; SÉRGUIER et al., 2003).

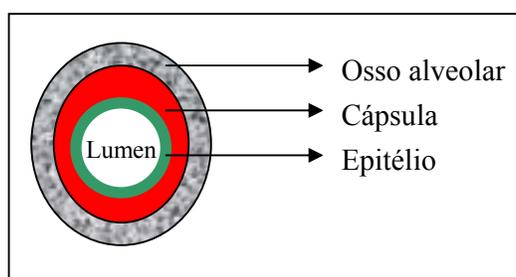
Por isso, o estudo em questão propõe-se a analisar através de técnica imunohistoquímica, a presença das Células de Langerhans em Granulomas Dentários e Cistos Radiculares, tentando relacionar essas células dendríticas com alguns achados histológicos, por vezes, presentes nesses tipos de lesões. Dessa forma, poderemos obter subsídios que contribuam para um melhor entendimento etiopatogênico desses processos periapicais crônicos.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 GRANULOMA DENTÁRIO E CISTO RADICULAR

2.1.1 Conceito, Classificação e Epidemiologia do Cisto Radicular e Granuloma Dentário

O Granuloma Dentário refere-se a uma massa de tecido de granulação associado ao ápice de um dente sem vitalidade pulpar (MELO et al., 2003). Já um Cisto, incluindo o Cisto Radicular, representa uma cavidade patológica, revestida internamente por epitélio, constituído externamente por um tecido fibroso, contendo no seu interior um material fluido ou semi-fluido (NAIR, 1998; NEVILLE et al., 1998; BODNER, 2002; SILVA, BARONI, CABRAL, 2002; HISATOME et al., 2003) (Esquema abaixo). O conteúdo cístico é muito variado incluindo desde cristais de colesterol até drogas antibióticas (YASHIMA, OGURA, ABIKO, 1990; AKIMOTO et al., 1993).



De acordo com a organização Mundial de Saúde – OMS (1992) (ver abaixo), os cistos da região maxilo facial podem ser classificados em odontogênicos e não-odontogênicos. Os odontogênicos podem ser de desenvolvimento ou inflamatórios, sendo o Cisto Radicular classificado como um cisto odontogênico inflamatório.

| |
|-------------------------------------|
| De desenvolvimento |
| Cisto gengival do recém nascido |
| Queratocisto odontogênico |
| Cisto dentífero |
| Cisto de erupção |
| Cisto periodontal lateral |
| Cisto gengival do adulto |
| Cisto glandular |
| Inflamatório |
| <i>Cisto Radicular (periapical)</i> |
| Cisto residual |
| Cisto paradental |

Fonte: OMS (1992) segundo Kramer (1992)

Segundo Meghji (1996) e Taylor et al (2002), os cistos odontogênicos representam uma das principais causas de destruição óssea nos maxilares. Por isso, e pela incidência frequente dessas lesões na clínica diária, e nos ambulatórios de diferentes instituições, muitos autores vêm desenvolvendo pesquisas nessa área.

Souza et al (2003), verificando a prevalência de lesões periapicais, em 1990 amostras biopsiadas, no período de 1991 a 2001, diagnosticadas no laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia de Pernambuco/UPE, constataram a presença do Granuloma Dentário e Cisto Radicular em 78 casos, sendo 33 (42,3%) representado pelo Granuloma Dentário e 45 (57,69%) pelo Cisto Radicular.

Em 26 casos avaliados de lesões císticas na região maxilo-mandibular, oriundos da Clínica de Cirurgia da Escola de Aperfeiçoamento Profissional da APCD (Associação

Paulista de Cirurgiões-dentistas), Manzano et al (2003) constataram que 76,9% das lesões eram Cistos Radiculares, 11,5% Cistos Dentígeros e 3,9% Queratocistos.

Ao analisar 856 casos de cistos odontogênicos, diagnosticados no Serviço Histopatológico da Cidade do México, Taylor et al (2002), identificaram oito das dez variedades de cistos odontogênicos reconhecidos pela Organização Mundial de Saúde, onde os mais frequentes foram o Cisto Radicular (342 casos, 39,9%) e o cisto dentígero (283 casos, 33%).

Em um levantamento epidemiológico realizado por Ndiaye Faty et al (2000) no Serviço de Estomatologia e Cirurgia Buco Maxilo Facial do Hospital Pitié-la Salpêtrière-Paris VI na França, no período de 1987 a 1994, constatou-se que dos 116 casos de cistos do complexo maxilofacial estudados, oitenta e sete (75%) eram Cistos Radiculares.

Em crianças, os dados epidemiológicos variam um pouco e os cistos radiculares são mais raros (DELBEM, 2003). Bodner (2002) ao avaliar 69 pacientes pediátricos portadores de lesões císticas que foram diagnosticadas e devidamente tratadas, observou que 31 casos (45%) correspondiam a cistos dentígeros, 15 casos correspondiam a cistos de erupção (22 %), 12 casos correspondiam a cistos traumáticos (17,3% do total) e apenas nove casos eram Cistos Radiculares (13,3%).

2.1.2 Etiopatogênese

2.1.2.1 Aspectos Gerais

Tratando-se de lesões com caráter inflamatório, as lesões crônicas inflamatórias periapicais ocorrem como resultado de um estímulo antigênico contínuo advindo da infecção dos canais radiculares, na maioria das vezes, pela doença cárie. Com o intuito de combater a

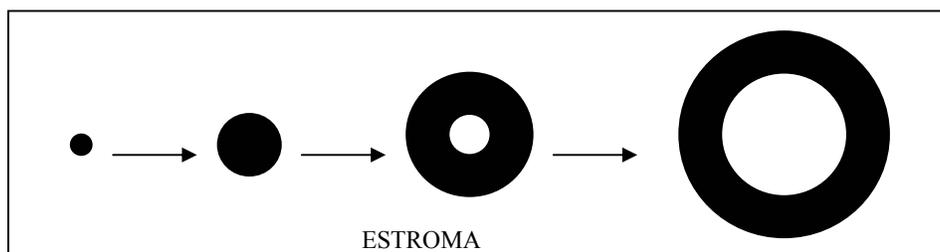
infecção bacteriana, instala-se uma resposta inflamatória e imunológica hospedeiro X antígeno. Para Ruiz et al (2003), quando os mecanismos inespecíficos de defesa do hospedeiro não suprimem essa agressão, estabelece-se um processo inflamatório crônico de caráter específico.

O estímulo crônico de baixa intensidade, desencadeado pelas bactérias e seus produtos, proporcionam ao organismo condições de “controlar” a agressão, e dessa forma a mantém confinada na região periapical. Sendo assim, as lesões periapicais crônicas são representadas basicamente, pelos Granulomas Dentais e Cistos Radiculares (VIER, FIGUEIREDO, 2002).

Os Granulomas Dentários são formados devido à penetração de agentes infecciosos bacterianos e irritantes no periápice dental que proporcionam um aumento do número de fibroblastos, fibrilas colágenas, células endoteliais e capilares, em associação com hiperemia e edema. Por outro lado, durante o período de deposição da dentina radicular, a bainha epitelial de Hertwig, desorganiza-se por apoptose, deixando os restos epiteliais de Malassez, a partir dos quais podem se desenvolver os Cistos Radiculares, pela presença e ação de citocinas inflamatórias que parecem estimular a divisão dessas células epiteliais, bem como a reabsorção do osso adjacente (MEGHJI et al., 1996; KATCHBURIAN, ARANA, 1999; MARTON, KISS, 2000; NICKOLAYCHUK et al., 2002; RUIZ et al., 2003; MELO, 2003).

Autores como Ward et al (2004) tentam explicar a patogênese do Cisto Radicular dividindo-a em duas etapas: formação e crescimento. Na formação cística, a proliferação celular interna do Granuloma Dentário, não recebe, por difusão, os nutrientes advindos do estroma circunjacente, necessários para o metabolismo da lesão. Assim, a falta desses nutrientes resulta em uma degeneração e morte das células centrais do tecido proliferativo com subsequente liquefação, provocando uma cavitação no interior da massa patológica. Já o crescimento resultaria da degradação das células centrais, mostrada no esquema abaixo, com

consequente aumento da pressão osmótica interna em comparação com aquela do estroma circundante. Essa diferença de pressão facilitaria o acúmulo de líquido internamente com o intuito de compensar e balancear a pressão osmótica total. Isso permitiria que a pressão hidrostática interna do cisto aumentasse, com consequente compressão do revestimento interno deste e estímulo à divisão celular.



A presença de fibrina e colesterol sugere que a hemorragia também contribui para o crescimento cístico, já que o acúmulo de moléculas de baixo peso molecular somado a uma inadequada drenagem linfática determina uma pressão osmótica mais elevada em relação ao soro (YASHIMA, OGURA, ABIKO, 1990).

Hoje, sabe-se que a formação e a expansão cística não se deve apenas a essa teoria da pressão osmótica, mas também às propriedades do epitélio cístico, da matriz extracelular e dos componentes bioquímicos das reações imuno-inflamatórias. Como descrito anteriormente, o estroma circundante, na tentativa de barrar o processo de crescimento dessa lesão, reage produzindo fibras colágenas, organizando a cápsula cística. Assim, parte da reabsorção óssea acontece devido à produção de collagenases e prostaglandinas pelos fibroblastos capsulares e pela estimulação osteoclástica associada ao infiltrado celular inflamatório. (NICKOLAYCHUK et al., 2002; PIATTELLI et al., 2004; MEGHJI et al., 1996, WARD et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004).

2.1.2.2 Aspectos Imunológicos

De acordo com Torabinejad e Bakland (1978), a resposta imune é um fenômeno biológico de proteção para um organismo, mediador de injúrias e em várias circunstâncias, um mecanismo de reparo. De acordo com esses autores, um elemento é necessário para a iniciação dessa resposta: um antígeno, que nas infecções periapicais, na maioria das vezes, é de origem bacteriana. Reações imunológicas, em doenças periapicais crônicas possuem tanto um caráter inespecífico quanto específico. O primeiro é caracterizado por alterações vasculares e produção de mediadores químicos inflamatórios, enquanto o segundo pode ser classificado em dois tipos: humoral e celular. A resposta humoral pode ser mediada pelo complexo antígeno/anticorpo ou reações IgE dependentes. Já a resposta celular é mediada principalmente pelos linfócitos T e B (STASHENKO et al., 1998; NEVINS et al., 1985).

Todo processo imunológico, existente nessas lesões periapicais, inicia-se com a agressão tecidual, normalmente, proporcionada pela infecção bacteriana. O predomínio de uma microbiota anaeróbica gram negativa no interior do canal dentário infectado favorece a produção de lipopolissacarídeos e endotoxinas na região periapical. Os lipopolissacarídeos ativam o sistema complemento pela via alternativa produzindo peptídeos quimiotáticos como C5a, estimulando também as células epiteliais e endoteliais do ligamento periodontal a produzirem citocinas, importantes para o desenvolvimento das lesões periapicais crônicas. Do mesmo modo, as endotoxinas bacterianas exercem a sua atividade biológica ao promover a mitose de células epiteliais, bem como o estímulo à produção de citocinas pelo tecido conjuntivo circundante e pelas próprias células inflamatórias (MEGHJI et al., 1996; MÁRTON, KISS, 2000).

O contínuo influxo de bactérias e seus produtos para o periápice induzem a ativação coordenada de mecanismos imuno-inflamatórios. Esse processo de combate ao

microorganismo também favorece o dano tecidual devido à produção de citocinas produzidas por células de defesa como macrófagos, neutrófilos, mastócitos, células apresentadoras de antígeno, linfócitos e mediadores químicos provenientes da defesa primária da inflamação. O entendimento do equilíbrio dinâmico de defesa e destruição deverá ser compreendido para que os sinais clínicos e sintomas das várias lesões periapicais sejam esclarecidos (MÁRTON, KISS, 2000).

A fase inicial da inflamação periapical é caracterizada pela presença de neutrófilos seguida de macrófagos que possuem a função precípua de proteção contra infecção e limpeza. Além disso, eventos bioquímicos controlados por mediadores químicos, liberados basicamente por mastócitos, bem como e a produção de citocinas e fatores de crescimento liberados por macrófagos, linfócitos, neutrófilos e mastócitos constituem o ambiente tecidual em destruição (WALKER et al., 2000; MEGHJI et al., 1996; MÁRTON, KISS, 2000).

Dentre as células representantes da defesa primária, encontram-se os macrófagos. São células de defesa predominantes no Granuloma Dentário, representando 46% das células inflamatórias presentes. Eles possuem atuação tanto na imunidade inespecífica quanto na adquirida. A ativação dessas células em um Granuloma Dentário parece ocorrer por citocinas produzidas por linfócitos T ativados por antígenos, por endotoxinas ou por ambos os processos (METZGER, 2000; PIATTELLI et al., 2002).

Recentes estudos em animais atímicos têm mostrado que os Granulomas Dentários se desenvolvem independentemente de linfócitos T. Essa observação revela a possível relação que os macrófagos ativados possuem na formação de lesões periapicais, possivelmente pela produção de citocinas como IL-1 e TNF α que estimulam a reabsorção óssea, pela produção de metalo-proteases como colagenase e elastase, e de prostaglandinas que também contribuem para a destruição tecidual da região periapical (METZGER, 2000; PIATTELLI et al., 2002).

As células fagocíticas quando ativadas por bactérias ou outros estímulos como C5a, leucotrienos (LTB₄) e citocinas experimentam um aumento no consumo de oxigênio e produzem radicais livres provenientes desse oxigênio consumido (MÁRTON, KISS, 2000). Os radicais livres, além de promoverem a morte bacteriana causam dano ao tecido circunjacente.

Recentemente, Suzuki et al (2002), estudando a expressão de uma enzima citosólica independente do cálcio e isoforme do óxido nítrico (iNOS- óxido nítrico sintase induzível), descobriram imunorreatividade para essa enzima em macrófagos, linfócitos, células endoteliais do tecido de granulação, epitélio de lesões periapicais como cistos radiculares e em pouca quantidade, nos restos epiteliais de Malassez. Esses dados demonstram que radicais livres parecem estar envolvidos em processos inflamatórios e que talvez participem do mecanismo de ativação e proliferação da camada epitelial, favorecendo a progressão de lesões periapicais inflamatórias.

Outros mediadores inflamatórios, tais como histamina, cininas e serotoninas, provocam vasodilatação, a menos que um estímulo autônomo os anule. Como efeito direto desses mediadores pode-se citar a constrição dos músculos lisos dos vasos sanguíneos. Essa constrição possibilita a abertura reversível das junções entre as células endoteliais, permitindo a passagem da solução de plasma e polimorfonucleares através da barreira vascular, causando dor quando da compressão nervosa periapical pelo acúmulo de líquido local, bem como pela produção de citocinas liberadas pelas células em diapedese. Esses mediadores são liberados principalmente durante o período inicial da inflamação através de células como mastócitos e basófilos (JÚNIOR, DANTAS, 1996).

Dentre as células mais envolvidas na produção de mediadores da inflamação estão os mastócitos. De acordo com Baldrich (1994), o mastócito é uma célula grande, mononuclear, que contém receptores de grande afinidade para a imunoglobulina IgE em sua membrana

celular. Possui grânulos grandes, intracitoplasmáticos, constituídos de mediadores pré-formados da inflamação. O envolvimento de células mastocitárias na defesa do hospedeiro como células efetoras da imunidade inata e em resposta a fatores alergogênicos, químicos e biológicos como microorganismos e parasitas vem sendo exaustivamente estudado (RODINI, LARA, 2004).

Existe uma grande relação entre a função da célula mastocitária e a sua interação na resposta imune humoral e celular. Além de influenciar no controle do tônus vascular e da permeabilidade, através da produção de histamina; os mastócitos também têm uma importante atuação no mecanismo imunopatológico de reações de hipersensibilidade tardia, imediata e na patogênese da inflamação crônica, contribuindo para a iniciação e ampliação dos mecanismos de defesa do hospedeiro contra infecções bacterianas (MÁRTON, NEMES, HARMATI, 1990; VILLA et al., 2001; RODINI, LARA, 2004).

A interação LT e mastócitos produz um efeito bidirecional, ou seja, uma regulação mútua e/ou modulação de mecanismos, influenciando processos celulares como crescimento, proliferação, ativação, migração e apresentação de antígeno (ZHAO et al., 2001). Linfócitos T são atraídos por mediadores como B-quimocinas diretamente originados pela degranulação de mastócitos. Rodini e Lara (2004), estudando a presença de mastócitos em Granulomas Dentários e Cistos Radiculares observaram uma relação funcional entre aquelas células e os linfócitos T, onde os mastócitos residiam em proximidade com os LT preferencialmente próximos a vasos sanguíneos.

Na maioria das vezes, a resposta primária, através de fagócitos, componentes do sistema complemento e mediadores químicos é suficiente para a eliminação do antígeno, possibilitando ao organismo condições para um reparo tecidual. Caso contrário, instala-se uma inflamação crônica caracterizada por uma resposta imunológica humoral e celular específicas. Esses aspectos são característicos das lesões periapicais aqui estudadas, onde as

células T predominam (STASHENKO et al., 1998; NEVINS et al., 1985; WALKER et al., 2000; MEGHJI et al., 1996; MÁRTON, KISS, 2000; VIER, FIGUEIREDO, 2002).

Levine et al (2001) analisaram a população de células T presentes no desenvolvimento de lesões periapicais após indução de imunossupressão. Os pesquisadores infectaram oito gatos com o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e mantiveram outros oito livres de infecção, como grupo controle. Através da técnica imuno-histoquímica pôde-se observar um decréscimo significativo da população de células T CD4+ no grupo teste, enquanto a população de células T CD8+ não apresentou diferença estatística entre os dois grupos. A infecção pelo vírus da imunodeficiência felina resultou em um decréscimo da contagem de CD4+ em lesões periapicais do grupo teste, contudo, a inflamação e a progressão da lesão apresentaram-se comparável ao grupo controle.

Philippi et al (2003) estudando a distribuição de linfócitos CD8+ (supressor) e CD20+ (linfócito B) em noventa lesões periapicais inflamatórias constituídas por abscesso crônico, Cisto Radicular abscedado e Cisto Radicular inflamatório através da técnica imuno-histoquímica observaram a presença difusa desses linfócitos nas lesões. Os linfócitos CD8+ e CD20+ estavam presentes nas lesões periapicais independente da existência ou não de proliferação epitelial. Concluíram, assim, que a presença do antígeno bacteriano no sistema de canal radicular e periápice é decisiva no aparecimento das células T.

O CD57 é um antígeno expresso em indivíduos saudáveis associados ao linfócito CD3+ e células Natural Killer. Vários estudos têm demonstrado um efeito imunossupressor quando essa molécula é detectada no tecido estudado. Dessa forma, Moreira et al (2000) compararam a expressão desse antígeno de superfície em Cistos Radiculares com epitélio hiperplásico e atrófico. Através do método da estreptavidina-biotina, os autores utilizaram vinte casos de Cisto Radicular previamente classificados com epitélio atrófico ou hiperplásico. Foi considerado atrófico, aquele epitélio composto de duas a dez camadas de

células com formato plano e cápsula plana. A forma hiperplásica deveria possuir várias camadas celulares e contorno epitelial e capsular ondulado. Os autores acharam uma percentagem significativamente maior do CD57 em cistos radiculares com epitélio atrófico, apesar do infiltrado inflamatório não ser estatisticamente significativo quando correlacionado aos dois tipos de epitélio.

Produzidas por linfócitos T e outros tipos celulares já mencionados, outras moléculas atuam no processo imuno-inflamatório das lesões periapicais em estudo. São substâncias que controlam a migração e proliferação de células em resposta à agressão biológica com o intuito de reparo. São chamadas de citocinas, que consistem de pequenas proteínas ou peptídeos, algumas das quais envolvidas na emissão de sinais entre células da resposta imune. Exercem sua ação de forma parácrina ou autócrina e são classificadas basicamente em interferons, interleucinas e fatores estimuladores de colônias (NAUM, P, 2001).

Os interferons agem limitando a propagação de certas doenças virais, os mais conhecidos são os $IFN\alpha$, $IFN\beta$, até então, não relacionados com o desenvolvimento do Cisto Radicular e Granuloma Dentário; e o $IFN\gamma$, produzido pelos linfócitos T helper, responsável pela ativação de macrófagos e indução da interleucina 1. As interleucinas são classificadas em quinze tipos (IL-1 a IL-15). São produzidas, principalmente pelos linfócitos T e a maioria induz a divisão celular. Já os fatores estimuladores de colônia (CSF) favorecem a diferenciação das células-tronco na medula óssea bem como a divisão extra medular de células (METZGER, 2000; NAUM, 2001; SASAKI et al., 2004).

Sendo assim, algumas citocinas parecem ter influência na formação do Cisto Radicular. Entre elas estão a Interleucina 1 ($IL-1\alpha$ e $IL-1\beta$), a Interleucina 6 (IL-6) e o Fator de Necrose Tumoral (TNF). As primeiras parecem estar relacionadas à proliferação do epitélio cístico e a última parece agir como um regulador autócrino e parácrino da adesão

neutrófilo / endotélio, potencializando a ação citotóxica dos neutrófilos (FIGUEIREDO, SANTOS, ALBUQUERQUE JR, 1999; KUSUMI et al., 2004).

O Fator de Necrose Tumoral (TNF) pode ser classificado em $TNF\alpha$ e $TNF\beta$. Os dois tipos estão relacionados com a capacidade similar referente à inflamação e atividade anti-tumoral. A fonte principal do $TNF\alpha$ são os monócitos e macrófagos e a do $TNF\beta$ são os linfócitos T ativados (GENCO, 1992; NAUM, 2001).

O $TNF\alpha$ parece ser mais potente, entretanto, as funções dessa citocina e do $TNF\beta$ são semelhantes, ativam osteoclastos e conseqüentemente a reabsorção óssea na região periapical. O $TNF\alpha$ possui atividade semelhante a IL-1 e também induz a liberação dessa. Além disso, parece ser um dos principais mediadores da resposta inflamatória, sépsi e choque séptico (MEGHJI et al., 1996).

Hong et al (2004), isolando lipopolissacarídeo de dois patógenos comuns da infecção endodôntica (*Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas endodontalis*) constataram que essa substância parece promover reabsorção óssea em lesões periapicais por estimulação e aumento de mediadores osteolíticos como IL-1 α e TNF- α . Esse mesmo experimento mostrou que quando administrado a Polimixina B (PMB), um inibidor do Lipopolissacarídeo, no tratamento dessas lesões apicais, existiu uma redução da reabsorção óssea e diminuição na produção dessas citocinas, em ratos, de 76-80%, provavelmente pela inibição ou diminuição na produção da IL-1 α e TNF- α .

Ao estudar o Granuloma Dentário humano, Márton et al (2000) demonstraram positividade imuno-histoquímica para a proteína quimiotática de monócitos (MCP)-1 no endotélio de pequenas vênulas e positividade imuno-histoquímica para IL-8, potente agente quimiotático de neutrófilos e eosinófilos, em restos epiteliais de Malassez. Dessa forma, essas substâncias parecem contribuir para o aumento da atividade inflamatória da lesão, bem como ao dano tecidual local.

Além das citocinas, os fatores de crescimento também participam da migração e proliferação celulares. Eles são polipeptídios que atuam em grupos celulares específicos com função de estímulo à proliferação celular, bem como na locomoção, contratilidade, diferenciação e angiogênese celular (ROBINS, COTRAN, 2005). Assim, possuem influência no processo de reparo das lesões periapicais em questão. E, atualmente as mais estudadas são:

Fator de crescimento de plaquetas (PDGF)

São produzidos basicamente pelas plaquetas, ativados pela trombina, células endoteliais e células musculares lisas. Age como agente quimiotático e ativador para monócitos e neutrófilos. Atuam também como importante estimulador da ativação de prostaglandina (PGE₂), contribuindo, assim, para a reabsorção óssea observada no Cisto Radicular (NELL et al., 1989; JÚNIOR, DANTAS, 1996).

Fator transformador de crescimento (TGF)

São classificados em TGF α e TGF β e possuem as plaquetas como fonte principal de produção, sendo que podem ser ativados pelos linfócitos e ainda pelas próprias plaquetas. Agem como agente quimiotático para monócitos, fibroblastos e neutrófilos. O TGF β além de funcionar como agente de crescimento e diferenciação de células imunes e inflamatórias, atua na formação da estrutura óssea. Interfere na fisiopatologia do reparo tecidual favorecendo a expressão do gen de colágeno tipo I, fundamental para a manutenção da integridade tecidual. Já o fator de necrose tumoral (TNF α), na remodelação tecidual, atua de forma inversa ao TGF β , reduzindo a expressão genética do colágeno tipo I (VERRECCHIA, MAUVIEL, 2004; GÁLVEZ-GASTÉLUM, SANDOVAL-RODRÍGUEZ, ARMENDÁRIZ-BORUNDA, 2004).

Em 2004, Piattelli et al, avaliando a possibilidade da influência desse fator de crescimento no desenvolvimento de cistos odontogênicos, efetivaram uma análise imunohistoquímica do TGF β 1 em vasos sanguíneos, fibroblastos e epitélio escamoso estratificado. Eles encontraram uma positividade estatisticamente significante dessa proteína na camada suprabasal e superficial do epitélio, bem como no estroma celular de Queratocistos orto e paraqueratinizados em comparação com os Cistos Radiculares e Dentígeros.

Fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF)

A angiogênese é controlada por fatores de crescimento, principalmente por uma família de proteínas de fator de crescimento do endotélio vascular. O VEGF é um peptídeo com funções angiogênicas, vasoativas e estimulador do aumento da permeabilidade vascular. Esse fator de crescimento atua sobre receptores e parece ser ativado por diferentes e complexos mecanismos. O aumento da permeabilidade deve-se a ação dessa substância em um receptor denominado VEGF-R2 por estímulo da fosfolipase C que resulta na produção de diacilglicerol. O diacilglicerol estimula diretamente o influxo de cálcio, resultando no aumento do cálcio intracelular. Este, por sua vez, estimula a enzima óxido nítrico sintase (NOS) a produzir óxido nítrico (NO), que aumenta a permeabilidade vascular (BATES, HARPER, 2003).

Fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF)

São responsáveis pela regulação e organização do tecido conjuntivo, em especial na angiogênese e cicatrização. O CTGF atua com as proteínas morfogenética do osso (BMPs), e TGF β na divisão, diferenciação e migração de células, bem como na produção da matriz

extracelular e apoptose. Quando associado às proteínas morfogenéticas se constata uma inibição da sinalização desta, o que prejudica a formação óssea. Quando da associação com o TGF β o efeito é de sinergismo. O CTGF parece influenciar no mecanismo de angiogênese e formação do tecido de granulação, especialmente nos estágios iniciais após extração dentária em ratos iniciando, assim, o processo de reparo ósseo (NETO, GOMES, 2002; KANYAMA et al., 2003).

2.1.2.3 Matriz extracelular

Supõe-se que além das células de defesa e mediadores químicos exista uma interação entre constituintes da matriz extracelular e o epitélio cístico, o que torna essa relação importante na patogênese do Cisto Radicular (OLIVEIRA et al., 2002).

Estudando o envolvimento de alguns componentes da matriz extracelular, tenascina e fibronectina, no desenvolvimento de algumas lesões císticas, dentre elas o Cisto Radicular, Oliveira et al (2004) encontraram uma presença intensa de tenascina na interface do epitélio e mesênquima do Cisto Radicular. Associaram esse achado ao infiltrado inflamatório. No entanto, a reatividade para a fibronectina foi detectada melhor em Queratocistos. Os resultados desses autores demonstram que existe uma diferença entre as expressões dessas proteínas extras celulares, entre os Cistos Radiculares, Cistos Dentígeros e Queratocistos. É possível que constituintes diferentes da matriz extra celular, de alguma forma, interfira na patogênese dos cistos odontogênicos estudados, inclusive o CR.

Lin et al (2002) após induzirem uma infecção periapical em ratos, com o objetivo de identificar o RNA mensageiro de metaloproteinase-1 (MMP-1), seu inibidor (TIMP-1), interleucina-6 (IL-6) e ciclooxigenase-2 (COX-2) através da hibridização *in situ*, observaram que inicialmente, nos primeiros cinco dias o RNAm da MMP-1, a IL-6 e o COX-2 apareciam

predominantemente nos macrófagos e que após 15 a 20 dias também se expressavam nos osteoblastos, porém em menor quantidade. Esses resultados mostraram que os macrófagos e osteoblastos estão envolvidos no desenvolvimento de lesões periapicais e que a reabsorção óssea parece ser potencializada pela produção de MMP-1, IL-6 e COX-2. Quando administrado o antiinflamatório meloxicam, inibidor de COX-2, observou-se uma redução da reabsorção óssea de 43% e simultaneamente diminuição do número de células sintetizando a MMP-1, IL-6 e COX-2. Esses resultados elucidam a relação da ciclooxigenase-2 na progressão de lesões periapicais como modulador indireto na produção de MMP-1 e IL-6.

Wahlgren et al (2002) pesquisaram a presença, o nível e a forma molecular da metaloproteinase-8 (MMP-8) na polpa e inflamação periapical, bem como os níveis dessa metaloproteinase no exsudato do canal radicular durante o tratamento endodôntico em humanos. Para a análise dos níveis e forma molecular, os autores utilizaram o ensaio imunofluorescente e o Westernblot, já para a detecção da molécula utilizaram a imunohistoquímica. As amostras de exsudato periapical mostraram diferentes níveis de MMP-8 entre a primeira análise e significativo decréscimo durante o tratamento endodôntico. A imunohistoquímica mostrou presença de MMP-8 em leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e plasmócitos presentes na polpa e em Granulomas Dentários. Esses achados demonstram uma possível relação dessa molécula na patogênese de lesões periapicais participando na degradação da matriz extracelular. Para os autores, a análise do exsudato periapical pode ser utilizada como indicador e agente controlador da atividade inflamatória e do sucesso no tratamento de dentes com lesões periapicais.

A proteólise tissular é importante em muitos processos fisiopatológicos como reações inflamatórias e crescimento neoplásico. Proteases, como a plasmina possuem um papel fundamental nesse processo. A plasmina é formada a partir de uma pró-enzima chamada de plasminogênio que é ativado por fatores de plasminogênio (Pas). A plasmina atua diretamente

sobre componentes do tecido conjuntivo e indiretamente através da ativação de algumas formas de metaloproteinases. O ativador de plasminogênio presente no plasma normal e tecido conjuntivo está inativado devido a uma família inibidora de plasminogênio (PA-I) onde a mais conhecida é a I-PA-1. Sabe-se que essas moléculas estão presentes nos Cistos Radiculares e que o aumento da expressão imuno-histoquímica delas está diretamente ligada à intensidade inflamatória do tecido em questão (TSAI et al., 2004). Além disso, as toxinas endodônticas e citocinas como IL-1 α e TNF- α podem induzir o ativador de plasminogênio tecidual em fibroblastos pulpares, fibroblastos gengivais e células osteoblásticas iniciando a degradação tissular (YANG et al., 2003; UEDA et al., 2001).

2.1.3 Aspectos clínicos, imaginológicos e histopatológicos

Para Melo et al (2003), o Granuloma Dentário acomete mais o sexo feminino com faixa etária dos 20 aos 30 anos de idade. Essa lesão apresenta-se de forma assintomática e com localização preferencial em região anterior de maxila.

Conforme Prado e Salim (2004), os cistos radiculares acometem diferentes faixas etárias, sendo raros na primeira década de vida. Em relação ao sexo, não existe uma predileção expressiva, sendo um pouco mais encontrado no sexo masculino (SOUZA et al., 2003; PRADO, SALIM, 2004).

São normalmente assintomáticos, exceto em casos de agudização. Acometem mais a região anterior de maxila e respondem negativamente, na maioria das vezes, aos testes de vitalidade pulpar (NEVILLE, 1998).

A radiografia convencional periapical é o exame imaginológico mais solicitado, no entanto, já existem relatos na literatura de estudos com ressonância magnética, tomografia computadorizada e ultra-sonografia (COTTI et al., 2003; HISATOMI et al., 2003).

A radiografia periapical de um Cisto Radicular não é diferente da de um Granuloma Dentário, principalmente quando a lesão ainda é incipiente, pequena. Caracterizam-se por uma área radiolúcida, bem delimitada e de forma circular ou oval delimitada na região periapical de uma unidade dentária. Nos Cistos Radiculares, uma linha radiopaca delimita a área radiolúcida, contudo, em cistos infectados e de crescimento rápido essa linha poderá estar ausente (DELBEM et al., 2003; FREITAS, 1998; PHILIPSEN et al., 2002).

De modo geral, histologicamente, Cistos Radiculares e Granulomas Dentários são caracterizados como processo inflamatório crônico onde predominam células mononucleares, principalmente linfócitos, plasmócitos e macrófagos (MARTON, KISS, 2000). Polimorfonucleares, como neutrófilos também podem ser encontrados, assim como mastócitos e eosinófilos (METZGER, 2000; MARTON, KISS, 2000; MELO, 2003; RODINI, LARA, 2004).

O Granuloma Dentário é composto predominantemente por um infiltrado de linfócitos, células plasmocitárias e leucócitos polimorfonucleares, sem ou com remanescente epitelial, associado a uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso (MELO et al., 2003). Para Vier e Figueiredo (2002), nessas lesões, neutrófilos são escassos sem infiltrados concentrados. Em alguns casos podem ser observados os corpúsculos de Russel e coleções de cristais de colesterol com células gigantes multinucleadas associadas à área de extravasamento de hemácias.

Nos cistos radiculares, observa-se um epitélio estratificado escamoso, não queratinizado que pode apresentar exocitose, espongirose e/ou hiperplasia. Possui um lúmen que pode conter debris necróticos e cristais de colesterol, além de possuir uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso denso, vascularizado, permeado por um infiltrado celular inflamatório crônico, onde raramente são encontrados eosinófilos e mastócitos (NEVILLE, 1998). Esses aspectos, o torna indistinguível de outros cistos odontogênicos inflamatórios

(NAIR et al., 1996; VIER, FIGUEIREDO, 2002; COTTI et al., 2003; PHILIPSEN et al., 2004).

O contexto inflamatório do Cisto Radicular é extremamente importante já que a etiopatogenia deste está interligada às células e substâncias como citocinas produzidas por células da inflamação presentes na região periapical. O tecido conjuntivo apresenta-se hiperemiado, às vezes, com abundante número de neutrófilos ao redor de capilares, no interior do epitélio e lúmen (AKHLAGHI, DOUROV, 1995).

A presença de cristais de colesterol tem sido sugerida como fator de interferência na cicatrização periapical, após o tratamento endodôntico convencional. Nair et al (1998) investigaram a interação de cristais de colesterol com a resposta tecidual, ao implantar subcutaneamente, em porcos, compartimentos de teflon com puros cristais de colesterol internamente. Após 2, 4 e 32 semanas esses compartimentos foram recuperados e analisados através de microscopia de luz. Os compartimentos revelaram a presença de delicado tecido conjuntivo que adentrou pelas perfurações presentes nas paredes daqueles. Os cristais estavam densamente cercados por numerosos macrófagos e células gigantes multinucleadas, formando um tecido reacional bem circunscrito. Contudo, essas células não foram capazes de eliminar os cristais de colesterol durante o período de 8 meses de observação. Dessa forma, sabendo que os macrófagos e célula gigantes multinucleadas são as maiores fontes da inflamação periapical e mediadores de reabsorção óssea, os autores sugeriram que o acúmulo de cristais de colesterol pode ser um fator de insucesso após a terapia endodôntica convencional.

2.1.4 Tratamento

O tratamento de um Granuloma Dentário baseia-se apenas na remoção do estímulo inflamatório com o tratamento convencional endodôntico do dente infectado. Já para o Cisto Radicular, além do tratamento endodôntico convencional, alguns autores recomendam a enucleação cirúrgica (NAIR et al., 1996; NAIR, 1998; RUIZ et al., 2003).

Em crianças, o tratamento tende a ser mais conservador, por isso o tratamento de escolha é a marsupialização (TAKIGUCHI et al., 2001; DELBEM et al., 2003; BODNER, 2002). A enucleação ainda é o tratamento mais preconizado para os cistos radiculares, principalmente os de grande proporção, os chamados “verdadeiros” e os cistos agudizados (PETERSON, 2001; PIATELLI et al., 2004; SILVA, BARONI, CABRAL, 2002).

2.2 CÉLULAS DE LANGERHANS

2.2.1 Conceito, morfologia e constituição

As células de Langerhans fazem parte da família das células dendríticas, originadas na medula óssea, sendo denominadas assim por estarem presentes em maior quantidade na epiderme e mucosa. Fazendo parte ainda da família de células dendríticas encontram-se as células interdigitantes e foliculares. Diferentemente das células de Langerhans, as células interdigitantes e foliculares estão presentes, respectivamente, no córtex dos nódulos linfáticos e baço bem como em centros germinativos, tonsilas e também no baço. Fazem parte ainda da família de células dendríticas um grupo de células chamadas “Veiled Cells” encontradas em proximidade com vasos sanguíneos periféricos (WOOD et al., 1985; PINKUS, 1997).

Descoberta em 1868 por um estudante de medicina interessado em anatomia de inervação epitelial, Paul Langerhans, que descreveu pela primeira vez uma população celular com aspectos dendríticos localizada em epitélio escamoso e na camada suprabasal, através da técnica de impregnação por ouro. Por muito tempo, pensava-se que essas células poderiam ser células ectodérmicas, artefatos, melanócitos ou elementos neurais como células de Schwann. Apenas no final do século passado às células de Langerhans foram aceitas como integrantes do sistema de células dendríticas apresentadoras de antígenos (LOMBARDI, HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN, 1993).

Essas células são apresentadoras de antígeno profissionais que se localizam preferencialmente na epiderme e constituem em torno de 3% de todas as células epidérmicas (BABI, 1998). Estão presentes em epitélio estratificado escamoso, onde se encontram largamente distribuídas na camada basal e suprabasal desse epitélio, incluindo tecidos de boca, orofaringe e esôfago (CUTLER, JOTWAN, 2004).

Uma possível explicação para a presença dessas células na epiderme e mucosa é apresentada por Holiková et al (2001) que mostram a importância da primeira linha de defesa contra invasão bacteriana devido a sua especial configuração e maquinaria de captura e apresentação antigênica.

Para alguns autores como Vandenabeele e Wu (1999), Shortman (2000) e Romani (2003) já está estabelecido que a origem das células dendríticas advém da medula óssea, no entanto, pesquisas em ratos e humanos apontam para a possibilidade de subtipos dessas células serem originados de precursores linfóides. Em ratos, as células dendríticas se desenvolvem sobre influência de macrófagos granulócitos (GM)-CSF; em humanos o precursor CD34 que possui potencial para se diferenciar em células dendríticas ou monócito/macrófago, sobre influência do GM-CSF, IL-3 e TNF α potencializam a expressão do CD1a, diferenciando assim em Células de Langerhans. A diferenciação em CD1a para

células de Langerhans parece ser dependente também do fator de crescimento transformante β (TGF β).

O maior argumento a favor da existência de uma linhagem de célula dendrítica proveniente do sistema linfóide provém de estudos em ratos. Tem sido demonstrado em laboratório que precursores jovens de células T, encontrados em timo de ratos adultos possui um potencial para gerar não apenas células T, mas também células B, células natural killer (NK) e surpreendentemente, células dendríticas (VANDENABEELE, WU, 1999).

O impacto das células dendríticas sobre o sistema imune não está limitado apenas à apresentação de antígenos aos linfócitos T. Tem sido relatada sua atuação na promoção da diferenciação de plasmócitos a partir de linfócitos B. Além disso, as células dendríticas funcionam como instrumento direcionador de linfócitos T helper na definição da resposta imune Th1 ou Th2. Essa diferenciação também dependerá das citocinas que essas células apresentadoras estarão expostas quando da ligação com os antígenos ou haptenos e sobre processo de maturação (HOLÍKOVÁ et al., 2001).

As células de Langerhans além de apresentarem aparelho de Golgi desenvolvido, núcleo denteado ou lobulado, ausência de melanossomas, desmossomas e tonofilamentos, possuem como característica patognomônica, os chamados grânulos de Birbeck. Esses grânulos parecem estar relacionados à captura e apresentação de antígenos e são constituídos por estruturas tubulares rígidas, em forma de raquete de tênis, sendo constituída interiormente por um material fracamente eletrodenso (BABI, 1998; RUIZ, 2003; LINS et al., 2003; ROMANI, 2003).

Para Lombardi, Hauser e Jorgensen (1993) existem dois tipos de células de Langerhans, o tipo 1 apresenta muitos prolongamentos dendríticos, com citoplasma eletrolúcido, numerosos grânulos de Birbeck e usualmente são encontrados na camada

suprabasal do epitélio, já o tipo 2 possuem poucos dendritos, um citoplasma mais eletrodenso, poucos grânulos de Birbeck e usualmente localizados na camada basal.

De acordo com Lins et al (2003), a morfologia dessas células dendríticas encontra-se na dependência do seu grau de maturação. A forma madura caracteriza-se por seu aspecto irregular, estrelado e com prolongamentos citoplasmáticos longos e delgados, enquanto a forma imatura apresenta-se mais regular com formato arredondado e com pouca quantidade ou ausência de prolongamentos dendríticos.

As células de Langerhans expressam alguns marcadores de superfícies tais como HLA-DR, um antígeno de apresentação. E expressa também o CD29, que é um sistema de ancoragem de adesão celular bem como ICAM-1 e a proteína S-100. No entanto, essas células expressam altos níveis de marcadores como CD1a, langerina e E-caderina; que não são encontradas em outros tipos de células dendríticas da derme e espaço intersticial de outros órgãos (LOMBARDI, HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN, 1993; WATTS, AMIGORENA, 2000).

2.2.2 Função

Muitas células do sistema imune são conhecidas atualmente, acredita-se que as células de Langerhans tenham sido as últimas a serem descobertas. Essas células servem de “sentinelas” na mucosa, alertando o sistema imune quando da invasão de patógenos. Estão envolvidas em diversas doenças incluindo dermatite atópica, mielomas, linfomas de mucosa gástrica, histiocitose, líquen plano oral, queilite actínica e mais recentemente estudadas em cistos odontogênicos (REYNOLDS et al., 1995; KOBAYASHI et al., 1998; DABADGHO et al., 1998; BABI, 1998; AL-DHAHIR, ALASHARI, FISHER, 1999; SANTOS, 2000; SUZUKI et al., 2001; CUTLER, JOTWAN, 2004; RUIZ, 2004).

As células de Langerhans estão fixas nos tecidos epiteliais, pois interagem com queratinócitos basais e suprabasais através da E-caderina (molécula de adesão celular). Essa molécula é regulada positivamente pela citocina TGF- α (LINS et al., 2003).

As CLs agem como apresentadoras de antígenos (APC - células apresentadoras de antígeno), durante a indução de uma resposta imune. Esse processo de apresentação antigênica pode ser resumido, segundo Babi (1998), Watts e Amigorena (2000) da seguinte forma: a célula apresentadora de antígeno internaliza as partículas a serem apresentadas e as digerem mediante sua maquinaria enzimática que reduzem os antígenos a peptídeos com poucas cadeias de aminoácidos. Esses peptídeos se integram à membrana celular apresentadora de antígeno associando-se ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II.

Essa associação, peptídeo/MHC permitirá ou não o reconhecimento desse peptídeo por parte de receptor de antígeno no linfócito T (LOMBARDI, HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN, 1993). Assim, os linfócitos ativam-se e diferenciam-se produzindo diferentes citocinas que irão coordenar toda resposta imune celular e humoral.

Para Cella et al (1997), são os derivados microbianos e citocinas que permitem uma aceleração do processo que conduz a apresentação de peptídeos associados a MHC de classe II na superfície das células dendríticas. Sendo assim, um acúmulo dessas células de Langerhans, proporcionado por uma resposta imuno-inflamatória periapical, como consequência da infecção bacteriana na polpa dentária, poderá estimular a formação de Granulomas Dentários e Cistos Radiculares com consequente destruição óssea, através da produção de citocinas.

2.2.3 Célula de Langerhans e Lesões Periapicais

A resposta imune imediata ou primária caracteriza-se pela vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e extravasamento de leucócitos que são controlados endogenamente por mediadores químicos da inflamação. Também é sabido que a resposta imune inespecífica inclui a migração e ativação de leucócitos, monócitos e produção de citocinas. A inflamação crônica periapical envolve a resposta antibacteriana mediada por resposta imune específica com linfócitos T, bem como pela a ativação e regulação de citocinas com a produção de Linfócitos Th1 e Th2. É nesse contexto, que as células de Langerhans parecem influenciar na patogênese dos GDs e CRs (STASHENKO et al., 1998; CELLA et al., 1997; LOMBARDI, HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN, 1993; BABI, 1998; HOLÍKOVÁ et al., 2001).

Além disso, alguns mediadores como lipoxinas, leucotrienos e a própria prostaglandina podem influenciar a migração das células dendríticas talvez pelo controle da função de receptores de quimiocinas (STEINMAN, 2003).

Suzuki et al (2001), em uma análise imuno-histoquímica de células de Langerhans em lesões periapicais inflamatórias humanas objetivaram comparar a densidade de marcação do CD1a com o infiltrado de células inflamatórias e a proliferação celular epitelial. Eles encontraram uma significativa correlação entre densidade de célula de Langerhans (CL) e potencial proliferativo do epitélio nas lesões periapicais estudadas, onde as CL se localizavam predominantemente, no componente epitelial quando comparado com as camadas subepiteliais adjacentes.

Também avaliando imuno-histoquimicamente a presença de células CD1a presentes em diferentes tipos de cistos orais (Queratocistos orto e paraqueratinizado, Cisto Radicular e Cisto Dentígero), Piattelli et al (2002) chegaram à conclusão que as células de Langerhans foram encontradas em 80% dos Cistos ortoqueratinizados e 33% em paraqueratinizados.

Foram encontradas em 35% dos Cistos Radiculares e em aproximadamente 20% dos Cistos Dentígeros. Os autores concluíram que a distribuição das Células de Langerhans estava associada com o aumento da diferenciação epitelial, provavelmente, vinculado à maior atividade cística.

Com o objetivo de avaliar qualitativamente a expressão das Células de Langerhans, dos linfócitos B e T, através da detecção imuno-histoquímica, em cistos periapicais de 10 dentes tratados e 10 dentes não tratados, endodônticamente, Ruiz (2003) utilizou o anticorpo anti S-100, para as CLs, o anticorpo anti-CD20, para linfócitos B e o anticorpo anti-CD4, para linfócitos T. A autora encontrou diferenças estatisticamente significativas para as CLs, mas não para os linfócitos B e linfócitos T auxiliares entre os dois grupos estudados, existindo uma diminuição estatisticamente significante das Células de Langerhans naqueles dentes com tratamento endodôntico prévio. Assim, ela concluiu que o tratamento endodôntico atua sobre as reações imunológicas dos cistos periapicais, exercendo efeito diminutivo sobre a população de Células de Langerhans, mas não sobre os linfócitos B e T auxiliares.

2.2.4 Marcador antigênico

Por muitos anos, acreditava-se que os Linfócitos T reconheciam peptídeos antigênicos apenas quando apresentados pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe I ou classe II. Recentemente, está sendo esclarecido o envolvimento de uma variedade de lipídeos e glicolipídeos que também proporcionam uma resposta em células T. Essa forma de defesa imune celular é mediada por uma família de moléculas de lipídeos ligantes e apresentadoras denominadas de CD1. O CD1 representa um pequeno a moderado tamanho de β 2-microglobulina associado à proteína trans-membrana semelhante às moléculas de MHC classe I e Classe II. Esse marcador é encontrado em mamíferos e controla o

desenvolvimento e função de populações de células T que participam na resposta imune inata e adaptativa no reconhecimento de antígenos lipídicos próprios ou estranhos (DUTRONC, PORCELLI, 2002).

Em humanos, existem cinco subclasses de CD1 que são CD1a, CD1b, CD1c, CD1d e CD1e. Baseado em sequências homólogas, sítios de expressão e função, essas subclasses são agrupadas em grupos. O CD1a, CD1b e CD1c fazem parte do grupo 1, o CD1d compreende o grupo 2 e o CD1e que ainda não tem sido exaustivamente estudado, caracteriza o grupo 3. O CD1a é expresso apenas em membrana plasmática de monócitos sanguíneos derivados de células dendríticas e em Células de Langerhans (DUTRONC, PORCELLI, 2002).

Para Pena-Cruz et al (2003) entre as isoformas de CD1, o CD1a é uma molécula predominantemente expressa em células de Langerhans na epiderme, bem como no epitélio de certos tecidos como brônquios, gengiva, conjuntiva, vagina e cérvix. Devido às células de Langerhans serem células apresentadoras de antígeno profissionais que expressam predominantemente moléculas de CD1a, esses autores hipotetizaram que essas células talvez atuem no mecanismo de resposta direta das células T não apenas através de antígenos de superfície peptídicas, mas também através de antígenos de superfície lipídicos, derivados principalmente de micróbios e ceramidas sintetizadas endogenamente.

Recentemente, avaliando a presença das células de Langerhans em tecidos humanos de gengiva, Séguier et al (2003) utilizou um novo marcador para essa célula denominado Langerin (CD207), localizada subcelularmente, nos grânulos de Birbeck. Esse anticorpo monoclonal é uma proteína específica das CLs, cálcio dependente e responsável pela formação dos grânulos de Birbeck. Propondo-se a investigar, *in situ*, a quantidade desse marcador e compará-lo com o CD1a, os autores encontraram um aumento significativo de CD1a ligado às células de Langerhans, quando comparada à molécula Langerin ligado à mesma célula. Os autores interpretaram esses achados hipotetizando que existe uma

heterogeneidade fenotípica de CL na gengiva e que estudos sobre esse assunto são essenciais para um melhor entendimento das células dendríticas.

2.2.5 Relação imunológica com diversas doenças

A infecção do organismo pelo HIV caracteriza-se pela seletiva depleção de Linfócitos T CD4, sugerindo um tropismo específico e efeito citopático desse vírus para com essa sub classe de células T. Em adição aos linfócitos T e monócitos-macrófagos, outras células como as da família dendríticas, células de Langerhans e foliculares, também têm sido relatado na literatura como possíveis alvos de infecção do HIV (CHOU et al., 2000).

Depois de fagocitado, o antígeno é processado e enviado para a periferia celular onde será apresentado para a célula T. As células dendríticas participam do mecanismo de doenças auto-imunes e virais onde a AIDS aparece como uma das mais relevantes (CORONATO et al., 1998; ZAMBRUNO et al., 1995).

Devido à sua localização na epiderme e em todas membranas das mucosas oral, vaginal e epitélio cervical, existe uma forte possibilidade que um antígeno que entre no corpo venha a ter contato com uma Célula de Langerhans (CORONATO et al., 1998; ZAMBRUNO et al., 1995).

Assim, Sporri et al (1994) e Belsito et al (1984) mostraram uma significativa redução do número de CD1a na mucosa oral de pacientes HIV-1 soropositivos em comparação com os soronegativos. Esse achado induziu à suposição de que as frequentes desordens na mucosa oral desses pacientes infectados possam, em parte, estar relacionadas à redução do número e função das Células de Langerhans.

O vírus da AIDS, além de possuir essa capacidade de diminuir o número de Células de Langerhans, possui a capacidade de usar essas células dendríticas para se transportar e se

transferir para as células T ativadas nos linfonodos, o que parece ser indispensável para a compreensão da patogênese dessa infecção viral. (TURVILLE et al., 2002; CHOU et al., 2000).

De acordo com Knight et al (1990) as células dendríticas expostas ao HIV “*in vitro*” ou “*in vivo*” falhavam na apresentação de outros antígenos ou mitógenos na estimulação das células T. Infecção, depleção e disfunção das células dendríticas em pacientes HIV soropositivos existe mesmo em indivíduos assintomáticos e precede o aparecimento dos defeitos nas células T. Dessa forma, os autores especulam que a perda funcional das células apresentadoras de antígenos, células dendríticas, parece ser fundamental na falha de recrutamento e ativação dos Linfócitos T nas respostas imunes.

Hipotetizando que o recrutamento das células de Langerhans na mucosa nasal, durante períodos de polinização, época de maior ocorrência de rinite alérgica, parece facilitar a ativação de células T e produção de citocinas e que através da aplicação tópica de um corticóide a regulação da resposta contribui para o controle dessa inflamação, Till et al (2001) estudaram biópsias nasais de 46 pacientes portadores de rinite alérgica sensíveis ao pólen antes da época de polinização. Uma segunda biópsia foi feita durante a época de pólen, em pacientes que já haviam sido tratados a 6 semanas, antes desse procedimento cirúrgico, com o propionato de fluticasona ou um placebo. Significante aumento na contagem de CD1a para Células de Langerhans foi encontrado na submucosa e epitélio, diferentemente do CD68+ e CD20+ durante o período de polinização. A contagem de CD1a foi menor nos pacientes sob corticoterapia.

Uma das doenças mais relacionada às Células de Langerhans é a Histiocitose. Caracteriza-se por ser uma doença rara que acomete preferencialmente crianças e adultos jovens, onde há proliferação de Células de Langerhans com citoplasma eosinofílico. Lesões crônicas localizadas da Histiocitose de Células de Langerhans acometem pessoas de todas as

idades, frequentemente, aparecendo como granuloma eosinofílico monostótico ou poliestótico envolvendo ocasionalmente os tecidos moles, incluindo aqueles da boca (AL-DHAHIR, ALASHARI, FISHER, 1999; ECKARDT, SCHULTZE, 2003; PRINGLE et al., 1992; MILIÁN et al., 2001; BARTNICK et al., 2002; TAKAHASHI et al., 2003; SIESSEGGER et al., 2002).

Estudos têm demonstrado a participação das células de Langerhans no tecido gengival sadio, bem como em processos inflamatórios gengivais originados da placa bacteriana. Reichhardt et al (1991), estudando a presença de CL na gengiva inflamada através da técnica imuno-histoquímica para proteína S-100, demonstraram um aumento dessas células de acordo com o grau de inflamação. Os autores postularam que os antígenos da placa bacteriana penetram no epitélio, estimulando as CL a captarem esses “agressores”, apresentando-os aos Linfócitos T e ativando a resposta imune mediada por células.

Um estudo imuno-histoquímico usando morfometria por análise de imagem automatizada para determinar achados morfológicos da CL através de CD1a em gengiva saudáveis e inflamadas de acordo com a localização superior do epitélio e membrana basal foi proposto por Sérquier et al (2000). Foram utilizados 11 controles saudáveis, 8 pacientes com gengivite e 12 pacientes com periodontite crônica severa. Os resultados mostraram que na membrana basal de todos os grupos experimentais, o perímetro, e superfície de células de Langerhans marcadas positivamente ao CD1a mostraram-se significativamente diminuídos ($P < 0,005$) quando comparado com aqueles na parte superior do epitélio do mesmo grupo. As células marcadas positivamente ao CD1a mostraram-se significativamente mais arredondadas ($P < 0,005$), quando localizadas perto da membrana basal. No grupo com periodontite, o perímetro, superfície e diâmetro equivalente do CL/CD1a estavam significativamente diminuídos ($P < 0,05$) e o fator forma significativamente aumentado ($P < 0,05$) quando comparado com a região superficial do epitélio do grupo controle. Sugerindo assim, que a

forma irregular, mais dendrítica da célula de Langerhans parece indicar atividade celular de defesa, enquanto a forma mais arredondada e tamanho diminuído indiquem períodos de quiescências celular.

Dereka et al (2004) avaliaram a expressão do Fator XIIIa+ e a proteína S-100 para identificar uma população de células dendríticas e as Células de Langerhans, presentes respectivamente em derme e epitélio gengival, em bolsas periodontais antes e após a terapia não cirúrgica. Foram utilizados três grupos. O primeiro representou o controle, formado por pacientes com bolsas periodontais de 4-5mm e maior ou igual a 6mm sem tratamento periodontal. O segundo grupo constituiu-se de pacientes submetidos à remoção de placa e cálculo, com biópsia realizada um mês após esse tratamento. O terceiro era composto de pacientes submetidos à raspagem e alisamento radicular, também com biópsia programada para um mês após o tratamento, em bolsas periodontais maiores ou iguais a 6mm. O tecido removido para a análise imuno-histoquímica foi o da gengiva palatina. O Fator XIIIa+ mostrou-se reduzido quando comparado ao grupo controle e os grupos submetidos a remoção de placa, cálculo, instruções de higiene oral, alisamento e raspagem radicular, em dentes com bolsas periodontais de 4-5mm de profundidade, mas não naqueles com profundidade maior ou igual a 6mm. Já a proteína S-100 mostrou-se diminuída após tratamento periodontal em bolsas com profundidade de sondagem maior ou igual a 6mm. Esses resultados refletem a tendência na redução dessas sub-populações de células dendríticas após a terapia periodontal não cirúrgica.

Gunhan et al (1996) estudaram o número de CL gengivais em pacientes possuidores de diabetes mellitus tipo I em comparação com indivíduos sem alterações sistêmicas usando métodos imuno-histoquímicos. Foram realizadas 20 biópsias gengivais em pacientes com diabetes e 10 biópsias em pacientes saudáveis, durante extrações de pré-molares com finalidade ortodôntica. Através da utilização do anticorpo CD1a, os autores observaram um aumento na

imunomarcação de tecidos biopsiados de pacientes com diabetes mellitus tipo I. Esse aumento não estava relacionado com o tempo da diabetes, mas mostrou-se proporcional à densidade do infiltrado inflamatório sub epitelial. Esses achados sugerem que as Células de Langerhans estão envolvidas no desenvolvimento da gengivite diabética.

Sabendo-se que os fotopolimerizadores são muito utilizados na clínica odontológica para confecções de restaurações dentárias, Hogarth e Newcomb (1983) estudaram o efeito das radiações ultravioletas de onda longa (UVA) em células de Langerhans de tecidos gengivais. Para isso, os autores utilizaram mucosa alveolar e labial de ratos albinos que foram submetidos a uma simples aplicação de cinco minutos de radiação através de um sistema Elipar e Caulk, aparelhos de lâmpada halógena de tungstênio que produzem uma emissão contínua de comprimento de onda. Foi utilizada uma dose de $20\text{J}/\text{cm}^2$, com um comprimento de onda de 340-390nm. Os autores utilizaram uma técnica de reação enzimática pela ATPase e encontraram consideráveis alterações morfológicas e quantidades reduzidas dessas células nos grupos irradiados. Essas alterações parecem ser reversíveis já que de 12 horas a uma semana essa quantidade celular e forma tenderam a se normalizar.

Alterações em Células de Langerhans também foram identificadas quando da utilização de irradiação ultravioleta de ondas curtas (UVB). Sugihara, Okamoto, Horio (2005) estudaram o efeito da irradiação UVB sobre a interação de células dendríticas/Células de Langerhans com células T através da fascina. Essa irradiação reduziu a capacidade das células dendríticas, derivadas da medula óssea, de se unirem às células T CD4^+ . A polarização da fascina e dos filamentos de actina proporciona o contato entre esses dois tipos celulares. Assim, os autores sugerem que a supressão da fascina pela irradiação UVB desregula a estruturação do citoesqueleto e da apresentação antigênica em CD e CL.

As Células de Langerhans também têm sido estudadas em neoplasias, sendo a presença dessa linhagem celular correlacionada com os melhores prognósticos encontrados (PINTO JR et al., 1994).

Albuquerque Jr et al (2003), analisando imuno-histoquimicamente 32 casos de carcinoma escamocelular de boca correlacionaram a expressão imuno-histoquímica das proteínas c-erb-2, proto-oncogene marcador para proliferação celular e S-100, marcador para Células de Langerhans com a graduação histológica e localização anatômica do tumor. Os autores encontraram uma maior expressão da oncoproteína em tumores localizados na borda lateral de língua e uma relação quantitativa indireta das células de Langerhans com a severidade dos carcinomas.

A presença das células de Langerhans em adenocarcinomas e carcinomas escamocelulares de pulmão foi pesquisada por Miyagi et al (2001) com o intuito de esclarecer as implicações prognósticas em pacientes infectados pelo papilomavírus humano (HPV). As células de Langerhans foram identificadas através da técnica imuno-histoquímica e para os anticorpos S-100 e CD1a, já o papilomavírus foi identificado através da cadeia de reação da polimerase (PCR) e hibridização. A infecção pelo HPV foi identificada em 19,4% dos casos de adenocarcinomas e 49,2% de carcinomas escamocelulares estudados. Em todos casos de infecção pelo papilomavírus um grande número de células de Langerhans foi encontrado, mais de 100 por campo. Diferente dos casos onde não houve infecção pelo HPV, os quais apresentaram poucas CLs, 10 por campo. Os casos de adenocarcinomas e carcinomas escamocelulares infectados pelo HPV tenderam a ter um melhor prognóstico, levando os autores a concluírem que o grande número de CLs presentes em tumores causados pelo HPV contribui para um melhor prognóstico em câncer de pulmão.

3 PROPOSIÇÃO

3.1 Objetivo geral

-Avaliar a presença e distribuição das células de Langerhans em lesões inflamatórias crônicas periapicais humanas tipo Granuloma Dentário e Cisto Radicular, através da técnica imuno-histoquímica, visando obter subsídios para um melhor entendimento da patogênese dessas lesões.

3.2 Objetivos específicos

-Identificar as Células de Langerhans em Granuloma Dentário e Cisto Radicular, por meio de técnica imuno-histoquímica, usando o anticorpo anti-CD1a;

-Graduar a densidade de Células de Langerhans, principalmente no componente epitelial do Cisto Radicular, bem como identificá-las no tecido de granulação e na cápsula fibrosa dos GDs e CRs;

-Comparar semi-quantitativamente e qualitativamente as Células de Langerhans presentes nas lesões crônicas periapicais humanas tipo Granuloma Dentário e Cisto Radicular.

-Descrever morfologicamente os componentes histológicos do Granuloma Dentário e do Cisto Radicular, correlacionando alguns achados como cristais de colesterol, macrófagos espumosos e material exógeno com a imunomarcação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos da pesquisa

Todas as cirurgias dos Granulomas Dentários e Cistos Radiculares realizadas na Faculdade de Odontologia da UFBA foram previamente consentidas pelos pacientes através de um termo de consentimento livre e pré-esclarecido à disciplina de Cirurgia II. Já os casos, emblocados, do SEPAC – Serviço de Pesquisas e Análises Clínicas LTDA, foram cedidos apenas com referências numéricas do bloco, sexo, idade e região acometida, por paciente. Mesmo assim, e sabendo que os blocos de parafina possuíam apenas uma identificação numérica, a identidade, o sigilo e a confidencialidade referentes aos participantes, foram integralmente preservados. O projeto foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Maternidade Climério de Oliveira da Universidade Federal da Bahia - CEP \ MCO \ UFBA, sendo aprovado em Outubro desse ano (Apêndice).

4.2 Delineamento da pesquisa

O presente experimento consistiu de estudo de casos, através de uma análise morfológica em H&E e uma análise imuno-histoquímica semiquantitativa. A pesquisa foi feita através de exames de cortes histológicos em microscópio de luz composta por uma amostra de conveniência.

4.3 Seleção dos casos

No presente trabalho foram estudados 18 casos de Granuloma Dentário e 26 casos de Cisto Radicular, selecionados dos arquivos do Serviço de Anatomia Patológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (FOUFBA) e de um Laboratório Particular de Histopatologia (SEPAC), registrados no período de 2001 a 2005. Todos os casos foram avaliados e selecionados considerando-se os laudos anátomo patológicos, após confirmação histopatológica.

4.4 Análise morfológica

Para essa análise foram realizados cortes de 4µm de espessura do material fixado em formol e embocado em parafina. As lâminas referentes a cada caso e coradas pela hematoxilina e eosina (H&E) foram submetidas a novo exame histológico sob microscopia de luz, onde procurou-se descrever os principais aspectos morfológicos representativos de cada lesão. O infiltrado inflamatório foi classificado em discreto, moderado ou intenso, adaptado de Tsai et al (2004) e a espessura do epitélio (Atrófico [de 2 a 10 camadas de células] ou hiperplásico [$>$ que 10 camadas de células]), de acordo com Moreira et al (2000).

4.5 Técnica imuno-histoquímica

A imunomarcção das células de Langerhans foi realizada através do método Envision, System HRP (mouse antibody), K 4001, 15ml da Dako, utilizando-se um anticorpo monoclonal (NCL-CD1a) cujo clone, marca, diluição, solução recuperadora antigênica e período de incubação estão descritos no quadro 1.

Quadro 1. Clone, especificidade, diluição, tratamento de recuperação antigênica e tempo de incubação do anticorpo primário utilizado.

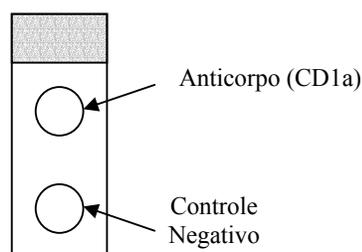
| Clone | Especificidade | Diluição | Tratamento | Incubação |
|-----------------------|----------------|----------|-------------|------------|
| (NCL-CD1a) M-T102* | CD1a | 1:30 | EDTA, pH 8. | 30 minutos |

*NOVOCASTRA LABORATORIES

Para a técnica imuno-histoquímica foram realizados cortes de 3µm de espessura a partir do material embocado em parafina. Os cortes foram, então, estendidos em lâminas de vidro previamente tratadas e preparadas com adesivo à base de Organosilano (3-aminopropyltriethoxi-silano, Sigma A 3648, St Louis, MO, USA), e desparafinados em dois banhos de xilol por dez minutos cada. Em seguida, foram re-hidratados em álcool absoluto duas vezes por cinco minutos cada. E por fim foram lavadas em água destilada.

A recuperação antigênica, para o anticorpo CD1a, foi feita com uma solução de EDTA pH 8. Após lavagem em água destilada, etapa final da desparafinização, as lâminas foram acondicionadas em cubas de vidro preenchidas com EDTA, após o aquecimento dessa solução em banho maria até uma temperatura constante de 97°C. Cada lâmina possuía dois cortes de tecido, os cortes superiores foram destinados à aplicação dos anticorpos e os cortes inferiores destinaram-se a utilização do controle negativo dos anticorpos, Mouse Negative Control V1617 da Dako (Ilustração 1). As lâminas ficaram nas soluções recuperadoras antigênicas por trinta minutos a 97°C.

Ilustração 1. Disposição dos cortes teciduais em associação com anticorpo e controle negativo.



Após o tratamento de recuperação antigênica, os cortes foram resfriados à temperatura ambiente por vinte minutos, lavados duas vezes em água destilada, secos com papel absorvente e demarcados com DAKO-pen. As lâminas foram dispostas em suporte e o bloqueio da peroxidase endógena tecidual foi realizado com o reagente Peroxidase Blocking Reagent Ready-to-use, S2001 da DAKO em temperatura ambiente, por dez minutos.

Após essa etapa foi realizada nova lavagem, rinsagem com água destilada com o auxílio de uma almotolia, depois lavagem com PBS (Apêndice), duas vezes por cinco minutos cada, sempre fora do *spot*. Em seguida as lâminas foram secas com papel absorvente.

O anticorpo CD1a foi preparado na diluição preconizada através de um diluente com agente redutor de background da DAKO (Antibody Diluente With Background Reducing Components). Os anticorpos e os controles negativos foram aplicados com auxílio de pipetas de precisão em cada corte com um volume de 150µl e incubados a temperatura ambiente por trinta minutos. As etapas seguintes foram de lavagem com PBS, duas vezes por cinco minutos cada e de secagem, com papel absorvente.

Em seguida foi aplicado o polímero com HRP do KIT Envision da DAKO, sobre os *spots* por trinta minutos. Após esse período as lâminas foram novamente lavadas com água destilada, e secas com papel absorvente.

A revelação da reação foi feita com diaminobenzidina (DAB do Kit Envision da DAKO), com auxílio de uma pipeta Pasteur e incubados por 5 minutos. Posteriormente, as lâminas foram lavadas com água destilada com o intuito de parar a reação. As lâminas foram contra-coradas com hematoxilina de Meyer por quinze segundos, lavadas com água corrente, e depois com água destilada. Por fim, os cortes foram desidratados duas vezes em soluções de álcool absoluto, diafanizados em dois banhos de xilol e montados em Permount (Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ/USA).

Para o controle positivo foi utilizado um tecido amigdaliano humano com conhecida positividade para CD1a (Langerhans) em todas as reações imuno-histoquímicas realizadas.

4.6 Exame imuno-histoquímico

Foram considerados positivos aqueles casos onde as Células de Langerhans exibiram imunomarcção para o marcador CD1a. A análise dessas células marcadas positivamente foi realizada por dois observadores experientes através de microscopia de luz com aumento de 400x em campos mais representativos de cada espécime, sob um foco fixo com clareza de campo, e classificada quanto a sua densidade (quantidade) e localização.

Depois da análise individual de cada examinador, as divergências de opiniões foram discutidas em conjunto. Chegando-se a um senso comum, os achados da imuno-histoquímica foram encaminhados para testes estatísticos de concordância.

Após a marcação imuno-histoquímica foi realizada uma análise qualitativa e semiquantitativa das células imuno reativas ao anticorpo empregado. Para o estudo em questão, levou-se em consideração os seguintes parâmetros: positividade da marcação (positiva, negativa), localização e densidade da marcação (Epitélio [camada basal, intermediária, superficial], cápsula e tecido de granulação).

A densidade de imunomarcção foi estabelecida através da verificação do número de células positivas para o anticorpo anti-CD1a, em campos representativos de todos os espécimes. Em seguida foram estabelecidos como referência os espécimes com maior e menor quantidade de célula positiva para o CD1a, os quais foram classificados com imunomarcção intensa e discreta respectivamente. Os demais espécimes foram classificados como imunomarcção moderada. Adaptado de Albuquerque Jr (2003) (Quadro 2).

Quadro 2. Escores para a densidade da imunomarcção.

| | |
|----------------------|-----|
| AUSÊNCIA DE MARCAÇÃO | - |
| MARCAÇÃO DISCRETA | + |
| MARCAÇÃO MODERADA | ++ |
| MARCAÇÃO INTENSA | +++ |

4.7 Análise estatística

Utilizou-se como programa estatístico o SPSS 11.0.1. O nível de significância adotado foi de 5%. Para verificar se existia concordância entre os diagnósticos dos examinadores, referentes a imunomarcção e densidade da marcação, foram utilizados os teste estatístico Kappa, com as seguintes hipóteses:

- H_0 : Não há concordância entre as avaliações dos examinadores.
- H_1 : Há concordância entre as avaliações dos examinadores.

Para verificar a existência de correlação entre algumas variáveis, foi utilizado o teste Qui-quadrado e/ou teste de Fisher, quando inválidos utilizamos a razão de verossimilhança (Likelihood Ratio). Esses testes foram aplicados com as seguintes hipóteses:

- H_0 : Não há correlação linear entre as variáveis.
- H_1 : Há correlação linear entre as variáveis.

5 RESULTADOS

5.1 Aspectos clínicos do Granuloma Dentário e Cisto Radicular

Das 44 lesões periapicais estudadas no período de 2001 a 2005, 26 (59,1%) eram Cistos Radiculares e 18 (40,9%) eram Granulomas Dentários. Quanto ao sexo, 24 (55,8%) representavam pacientes do sexo masculino e 19 (44,2%) o sexo feminino. Em apenas 1 (2,3%) caso de Granuloma Dentário não foi identificada informação sobre o sexo (Tabela 1).

Ao analisar esses aspectos, considerando o Granuloma Dentário isoladamente, encontramos uma maior prevalência do sexo feminino (52,9%), já o Cisto Radicular prevaleceu no sexo masculino (61,5%) (Gráfico 1). No entanto, não encontramos associação estatisticamente significativa entre o tipo de lesão e o sexo (p -valor=0,350. Teste Qui-quadrado) (Tabela 2).

Com relação à idade dos pacientes existiu uma variação entre 04 a 69 anos, tendo como média 36 anos de idade. Entre os pacientes que apresentaram diagnóstico histopatológico de Granuloma Dentário, a média de idade identificada foi de 40,4 anos, para os diagnosticados como Cisto Radicular a média encontrada foi de 33,1 anos de idade. Em 02 casos, um de Granuloma Dentário e um de Cisto Radicular não foi identificada informação sobre a idade.

Dentre as regiões acometidas pelas lesões periapicais estudadas, a mais atingida foi a região superior anterior (50%) seguida da região posterior inferior direita (23,8%). A região posterior inferior esquerda e a região posterior superior direita tiveram prevalências iguais (9,5%). E a região menos acometida foi a anterior inferior com 2,4%. Para 02 casos não existiu referência alguma sobre o dado em questão nas fichas clínicas analisadas (Tabela 1).

5.2 Aspectos morfológicos do Granuloma Dentário e Cisto Radicular

De modo geral, os Granulomas Dentários estavam representados por tecido conjuntivo muitas vezes fibroso, vascularizado e com um infiltrado inflamatório difuso e intenso, composto predominantemente por Linfócitos, Plasmócitos e Macrófagos, e em alguns casos Neutrófilos e Mastócitos (Fig. 1 e 2). Em 5,6% das lesões periapicais estudadas pode-se observar a presença de edema intersticial e os focos hemorrágicos em 22,2% (Fig. 1). Outros achados como macrófagos espumosos, corpúsculos de Russel e células gigantes multinucleadas inespecíficas foram observados em 22,2%, 27,8% e 11,1%, respectivamente (Fig. 3, 4 e 5). Lesões abscedadas faziam-se também presentes.

Já os Cistos Radiculares caracterizavam-se por formações císticas com paredes muitas vezes fibrosas, revestidas por epitélio pavimentoso estratificado, dispostos por vezes em arcos, muitos dos quais interconectantes exibindo espongiose, exocitose, placas locais de acantose e em 38,5% dos casos corpos apoptóticos (Fig. 7, 8, 9, 10, 15, 16, 18, 28 e 29). Na cápsula, visualizou-se placas com discreto a intenso infiltrado inflamatório linfoplasmocitário com neutrófilos eventualmente. Em alguns casos identificamos os corpúsculos de Rhuston, cristais de colesterol, reação de células Gigantes tipo corpo estranho, corpúsculo de Russel, Macrófagos Espumosos e metaplasia escamosa com uma prevalência de 11,5%, 15,4%, 15,4%, 15,4%, 19,2% e 38,5%, respectivamente (Fig. 26, 27, 32, 33, 34, 35 e 22). Localizamos ainda restos epiteliais odontogênicos em 23% dos espécimes (Fig. 19).

Todos os casos de Cisto Radicular encontravam-se revestidos por epitélio pavimentoso estratificado, no entanto, identificamos o epitélio pseudo-estratificado ciliado em dois casos, o epitélio pseudo-estratificado cilindro ciliado e o epitélio simples cuboidal em um caso (Fig. 13-14, 11 e 12). No epitélio dessas lesões periapicais estudadas foram identificadas células mucosas e células vacuolizadas em uma proporção de 15,4% e 19,2% respectivamente (Fig.

22 a 25). Em dois casos de Cisto Radicular (7,7%) foi observada a presença de proliferações epiteliais semelhantes ao Tumor Odontogênico Escamoso (Fig. 20).

Em 22,2% dos casos de Granuloma Dentário e 30,8% de Cistos Radiculares foi encontrado um material exógeno compatível com material obturador endodôntico, por vezes, ao lado de focos de mineralização (Fig. 5, 30 e 31).

Com o intuito de esclarecer possíveis influências desse achados na patologia das lesões periapicais aqui pesquisadas, realizamos algumas correlações entre aspectos morfológicos.

Considerando que 12 (27,3%) das lesões periapicais estudadas apresentavam material mineralizado, encontramos 66,7% dessas, relacionadas com um infiltrado inflamatório intenso. Comparando a presença desse material mineralizado e espessura de epitélio, constatamos que 5 (62,5%) das lesões císticas, possuidoras do material mineralizado, apresentaram epitélio atrófico e 3 (37,5%) dos cistos que possuíam material mineralizado tinham epitélio hiperplásico. Relação essa não significativa estatisticamente (p -valor=0,683. Teste Fisher).

Em relação aos cristais de colesterol e macrófagos espumosos, das 44 lesões estudadas, 32 não apresentaram nenhuma das duas estruturas. Sendo que de 9 (4,7%) lesões positivas para os macrófagos espumosos, apenas uma apresentou cristais de colesterol também. Não encontramos relação estatística entre esses dois aspectos morfológicos (p -valor=0,614. Teste de Fisher).

Comparando as células vacuolizadas com células mucosas, encontramos as células mucosas, em todas as lesões, com presença de células vacuolizadas. E em apenas 2,5% dos espécimes que não apresentaram células vacuolizadas apresentaram células mucosas. Encontramos uma associação forte entre esses dois tipos celulares, segundo o teste estatístico de Fisher (p -valor=0,000).

Analisando uma possível relação entre os corpúsculos de Rhuston e corpo apoptótico não observamos uma correlação forte (Fisher – p -valor=0,125), no entanto, em 66,7% das lesões com presença de corpúsculo de Rhuston identificamos células em apoptose.

A distribuição dos achados morfológicos, por lesão, pode ser visualizado na tabela 3.

5.3 Aspectos imuno-histoquímicos do Granuloma Dentário e Cisto Radicular

Todos os controles em tecido amigdaliano foram positivos para o anticorpo CD1a, fato esse que revela a eficácia do anticorpo testado.

A expressão imuno-histoquímica do CD1a foi considerada positiva quando as células exibiam imunomarcção, identificadas por coloração acastanhada independente da intensidade da coloração. As tabelas 4 e 5 mostram os resultados referentes a expressão imuno-histoquímica do CD1a, por lesão e densidade.

Nesta pesquisa, 20 (45,5%) das lesões estudadas tiveram imunomarcção positiva. Entre as lesões com diagnóstico de Granuloma Dentário, 11,1% tiveram marcação para o CD1a, já entre as lesões tipo Cisto Radicular este percentual foi de 69,2%. Estatisticamente encontramos significância entre a marcação e o tipo de lesão (p -valor=0,000. Teste de Fisher).

Dos 11,1% casos de Granuloma Dentário positivos ao CD1a, todos exibiram densidade discreta de imunomarcção. Já para o Cisto Radicular, existiram densidades variáveis de imunomarcção (Fig. 6 e 36 a 41) (Tabela 4 e 5).

Tanto para a imunomarcção, positiva ou negativa, quanto para a densidade dessa imunomarcção foi utilizado um teste de concordância interexaminadores, teste Kappa. Existiu uma alta concordância entre os examinadores em relação a imunomarcção (Kappa=0,954 – p -valor=0,000), e uma boa concordância quando avaliado a densidade da imunomarcção (Kappa=0,394 – p -valor=0,006) (Tabela 6 e 7).

Sabendo-se que 18 das lesões císticas tiveram marcação positiva para o CD1a, metade das lesões possuía epitélio atrófico e a outra metade, epitélio hiperplásico. No entanto, não encontramos correlação estatisticamente significativa entre densidade da imunomarcação e espessura de epitélio (Likelihood Ratio - p-valor=0,513) (Tabela 8).

A frequência do padrão de distribuição da imunomarcação nos Cistos Radiculares pode ser visualizada no gráfico 2. A Célula de Langerhans foi encontrada em todas as camadas epiteliais, porém, predominou na camada intermediária (29,6%), seguido da camada basal (25,9%). No tecido de granulação e cápsula, estas células também foram detectadas (Fig. 50 a 55).

A forma dendrítica das Células de Langerhans foi mais identificada na superfície e região intermediária do epitélio, já a forma arredondada, foi mais encontrada na região basal. No entanto, identificamos formas dendríticas em zona suprabasal e aspecto arredondado na área intermediária (Fig. 42 a 49).

Entre as 20 lesões periapicais estudadas, positivas ao CD1a, 50% apresentaram um infiltrado inflamatório crônico intenso. Entretanto, estatisticamente, não existiu correlação entre esse infiltrado inflamatório e a densidade da imunomarcação (Likelihood Ratio - p-valor=0,473) (Tabela 9).

5.4 Relação entre alguns achados morfológicos e achados imuno-histoquímicos

Das nove lesões onde foram identificados os macrófagos espumosos, quatro daquelas tiveram marcação positiva para o CD1a. Dessas marcações positivas, 50% tinham densidade de imunomarcação discreta e 50% intensa. Quando verificado a intensidade da inflamação, 88,8% das lesões positivas para os macrófagos espumosos tiveram graduação de moderada a intensa (Tabela 10, 11 e 12).

Das 9,1% lesões císticas em que foram encontrados os cristais de colesterol, 50% apresentaram imunomarcção positiva para o CD1a, com densidade de marcação intensa. Entre os GDs e CRs, 24 (54,5%) apresentaram um infiltrado inflamatório intenso e 13 (29,6%) um infiltrado inflamatório moderado. Dos quatro Cistos Radiculares positivos para os cristais de colesterol, 50% possuía um infiltrado inflamatório moderado e 50% um infiltrado inflamatório intenso.

O material exógeno compatível com material obturador endodôntico foi identificado em 12 (27,3%) das lesões estudadas, 7 (58,3%) dessas lesões foram positivas para o CD1a e cinco casos (41,7%) negativos. Dos casos positivos para o CD1a, 42,8% exibiram discreta marcação para tal anticorpo.

Tabela 1 – Distribuição dos valores relativos e absolutos dos achados clínicos das lesões periapicais estudadas. Salvador-Ba, 2005

| Variável | Descrição | Frequência (%) |
|-----------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Lesão | Cisto Radicular | 26 (59,1) |
| | Granuloma Dentário | 18 (40,9) |
| Sexo | Masculino | 24 (55,8) |
| | Feminino | 19 (44,2) |
| Região | Posterior Superior Direita (PSD) | 4 (9,5) |
| | Posterior Superior Esquerda (PSE) | 2 (4,8) |
| | Anterior Superior (AS) | 21 (50,0) |
| | Posterior Inferior Direita (PID) | 10 (23,8) |
| | Posterior Inferior Esquerda (PIE) | 4 (9,5) |
| | Anterior Inferior | 1 (2,4) |

Tabela 2 – Distribuição do sexo por lesão periapical estudada. Salvador-Ba, 2005

| Sexo | Lesão | | |
|------------------|--------------------|------------------------|--------------------|
| | Cisto (%) | Granuloma (%) | Total (%) |
| Masculino | 16 (61,5) | 8 (47,1) | 24 (55,8) |
| Feminino | 10 (38,5) | 9 (52,9) | 19 (44,2) |
| Total | 26 (60,5) | 17 (39,5) | 43 (100,0) |

p-valor = 0,350 (> 0,05 – Qui-quadrado)

p-valor = 0,267 (> 0,05 – Fisher)

Tabela 3 – Distribuição dos achados morfológicos por lesão periapical estudada. Salvador-Ba, 2005

| Achados morfológicos | Lesão | | |
|---|------------|-----------|-------------|
| | C (%) | G (%) | Total (%) |
| Epitélio Estratificado Pavimentoso | 25 (100,0) | - | 25 (100,0) |
| Epitélio Pseudoestratificado Cilindro Ciliado | 1 (100,0) | - | 1 (100,0) |
| Epitélio Pseudo-estratificado Ciliado | 2 (100,0) | - | 2 (100,0) |
| Exocitose | 16 (100,0) | - | 16 (100,0) |
| Espongiose | 8 (100,0) | - | 8 (100,0) |
| Acantose | 8 (100,0) | - | 8 (100,0) |
| Macrófagos Espumosos | 5 (55,6) | 4 (44,4) | 9 (100,0) |
| Cristais de Colesterol | 4 (100,0) | - | 4 (100,0) |
| Corpúsculo de Rhuston | 3 (100,0) | - | 3 (100,0) |
| Corpúsculo de Russel | 4 (80,0) | 1 (20,0) | 5 (100,0) |
| Infiltrado Inflamatório Crônico | 26 (59,1) | 18 (40,9) | 44 (100,0) |
| Células Gigantes Multinucleadas | 4 (66,7) | 2 (33,3) | 6 (100,0) |
| Restos Epiteliais Odontogênicos | 6 (100,0) | - | 6 (100,0) |
| Mastócitos | - | 2 (100,0) | 2 (100,0) |
| Neutrófilo | 6 (66,7) | 3 (33,3) | 9 (100,0) |
| Abscesso | 3 (37,5) | 5 (62,5) | 8 (100,0) |
| Corpo Apoptótico | 10 (100,0) | - | 10 (100,0) |
| Placas epiteliais semelh.a tumor odontog.escamoso | 2 (100,0) | - | 2 (100,0) |
| Células Mucosas | 5 (100,0) | - | 5 (100,0) |
| Metaplasia Escamosa | 10 (100,0) | - | 10 (100,0) |
| Células Vacuolizadas | 4 (100,0) | - | 4 (100,0) |

Nota: - (estrutura não encontrada); G: Granuloma Dentário, C: Cisto Radicular

Tabela 4. Dados referentes à expressão imuno-histoquímica do CD1a e densidade de marcação no Granuloma Dentário. Salvador-Ba, 2005

| Caso | Biópsia | Densidade |
|-------------|----------------|------------------|
| 1 | 1896-01 | + |
| 2 | 0064-02 | - |
| 3 | 0160-02 | - |
| 4 | 0086-03 | - |
| 5 | 0668-03 | - |
| 6 | 1435-03 | - |
| 7 | 1466-03 | + |
| 8 | 1475-03 | - |
| 9 | 1694-03 | - |
| 10 | 2401-03 | - |
| 11 | 0003-04 | - |
| 12 | 0033-04 | - |
| 13 | 0307-04 | - |
| 14 | 1003-04 | - |
| 15 | 1815-04 | - |
| 16 | 2377-04 | - |
| 17 | 2748-04 | - |
| 18 | 2837-04 | - |

Nota: - (0%de células positivas); + (Densidade discreta);
 ++ (Densidade moderada); +++ (Densidade intensa)

Tabela 5. Dados referentes à expressão imuno-histoquímica do CD1a e densidade de marcação no Cisto Radicular. Salvador-Ba, 2005

| Caso | Biópsia | Densidade |
|-------------|----------------|------------------|
| 1 | 1751-01 | - |
| 2 | 1758-01 | + |
| 3 | 1860-01 | + |
| 4 | 1895-01 | +++ |
| 5 | 0031-02 | ++ |
| 6 | 0082-02 | +++ |
| 7 | 0107-02 | - |
| 8 | 0131-02 | - |
| 9 | 0147-02 | - |
| 10 | 0031-03 | - |
| 11 | 0034-03 | ++ |
| 12 | 0058-03 | - |
| 13 | 0150-03 | + |
| 14 | 0359-03 | - |
| 15 | 1802-03 | + |
| 16 | 2595-03 | +++ |
| 17 | 0375-04 | +++ |
| 18 | 0455-04 | ++ |
| 19 | 0786-04 | ++ |
| 20 | 1442-04 | + |
| 21 | 2318-04 | + |
| 22 | 2725-04 | + |
| 23 | 2756-04 | +++ |
| 24 | 2831-04 | +++ |
| 25 | 2913-04 | - |
| 26 | 0060-05 | +++ |

Nota: - (0%de células positivas); + (Densidade discreta);
 ++ (Densidade moderada); +++ (Densidade intensa)

Tabela 6 – Teste de concordância interexaminadores sobre a marcação imuno-histoquímica.

Salvador-Ba, 2005

| Marcação 1 | Marcação 2 | | |
|-------------------|-------------------|-----------------|--------------------|
| | Positiva | Negativa | Total (%) |
| Positiva | 20 (95,2) | - | 20 (45,5) |
| Negativa | 1 (4,8) | 23 (100,0) | 24 (54,5) |
| Total | 21 (47,7) | 23 (52,3) | 44 (100,0) |

Kappa = 0,954 – p-valor = 0,000

Tabela 7 – Teste de concordância interexaminadores sobre a densidade da imunomarcação.

Salvador-Ba, 2005

| Densidade 1 | Densidade 2 | | | |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|--------------------|
| | Discreto (%) | Moderado (%) | Intenso (%) | Total (%) |
| Discreto | 8 (80,0) | 1 (12,5) | - | 9 (45,0) |
| Moderado | 2 (20,0) | 2 (25,0) | - | 4 (20,0) |
| Intenso | - | 5 (62,5) | 2 (100,0) | 7 (35,0) |
| Total | 10 (50,0) | 8 (40,0) | 2 (10,0) | 20 (100,0) |

Kappa = 0,394 – p-valor = 0,006

Tabela 8 – Distribuição da imunomarcção por espessura de epitélio. Salvador-Ba, 2005

| Espessura | Densidade | | | |
|---------------------|----------------|----------------|---------------|-------------|
| | Discreto (%) | Moderado (%) | Intenso (%) | Total (%) |
| Atrófico | 4 (57,1) | 1 (25,0) | 4 (57,1) | 9 (50,0) |
| Hiperplásico | 3 (42,9) | 3 (75,0) | 3 (42,9) | 9 (50,0) |
| Total | 7 (38,9) | 4 (22,2) | 7 (38,9) | 18 (100,0) |

p-valor = 0,513 (> 0,05 – Likelihood Ratio)

Tabela 9 – Distribuição da imunomarcção por infiltrado inflamatório. Salvador-Ba, 2005

| Infiltrado | Densidade | | | |
|-----------------|----------------|----------------|---------------|-------------|
| | Discreto (%) | Moderado (%) | Intenso (%) | Total (%) |
| Discreto | 3 (33,3) | - | 1 (14,3) | 4 (20,0) |
| Moderado | 2 (22,2) | 1 (25,0) | 3 (42,9) | 6 (30,0) |
| Intenso | 4 (44,4) | 3 (75,0) | 3 (42,9) | 10 (50,0) |
| Total | 9 (45,0) | 4 (20,0) | 7 (35,0) | 20 (100,0) |

p-valor = 0,473 (> 0,05 – Likelihood Ratio)

Tabela 10 – Relação entre os macrófagos espumosos e imunomarcção. Salvador-Ba, 2005

| Marcação 1 | Macrófagos espumosos | | |
|-----------------|----------------------|-----------|-------------|
| | Não (%) | Sim (%) | Total (%) |
| Positiva | 16 (45,7) | 4 (44,4) | 20 (45,5) |
| Negativa | 19 (54,3) | 5 (55,6) | 24 (54,5) |
| Total | 35 (79,5) | 9 (20,5) | 44 (100,0) |

p-valor = 0,999 (> 0,05 – Fisher)

Tabela 11 – Distribuição dos macrófagos espumosos por densidade da imunomarcção.

Salvador-Ba, 2005

| Densidade 1 | Macrófagos espumosos | | |
|--------------------|-----------------------------|------------------|--------------------|
| | Não (%) | Sim (%) | Total (%) |
| Discreto | 7 (43,8) | 2 (50,0) | 9 (45,0) |
| Moderado | 4 (25,0) | - | 4 (20,0) |
| Intenso | 5 (31,2) | 2 (50,0) | 7 (35,0) |
| Total | 16 (80,0) | 4 (20,0) | 20 (100,0) |

p-valor = 0,349 (> 0,05 – Likelihood Ratio)

Tabela 12 – Distribuição dos macrófagos espumosos por infiltrado inflamatório. Salvador-Ba,

2005

| Infiltrado 1 | Macrófagos espumosos | | |
|---------------------|-----------------------------|------------------|--------------------|
| | Não (%) | Sim (%) | Total (%) |
| Discreto | 6 (17,1) | 1 (11,2) | 7 (15,9) |
| Moderado | 9 (25,7) | 4 (44,4) | 13 (29,6) |
| Intenso | 20 (57,1) | 4 (44,4) | 24 (54,5) |
| Total | 35 (79,5) | 9 (20,5) | 44 (100,0) |

p-valor = 0,558 (> 0,05 – Likelihood Ratio)

Gráfico 1 – Frequência do padrão de distribuição das lesões periapicais por sexo. Salvador-Ba, 2005

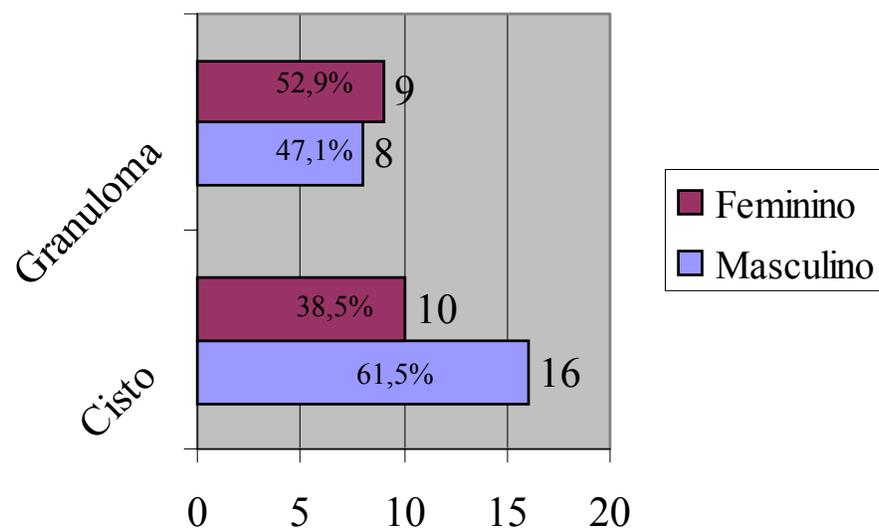
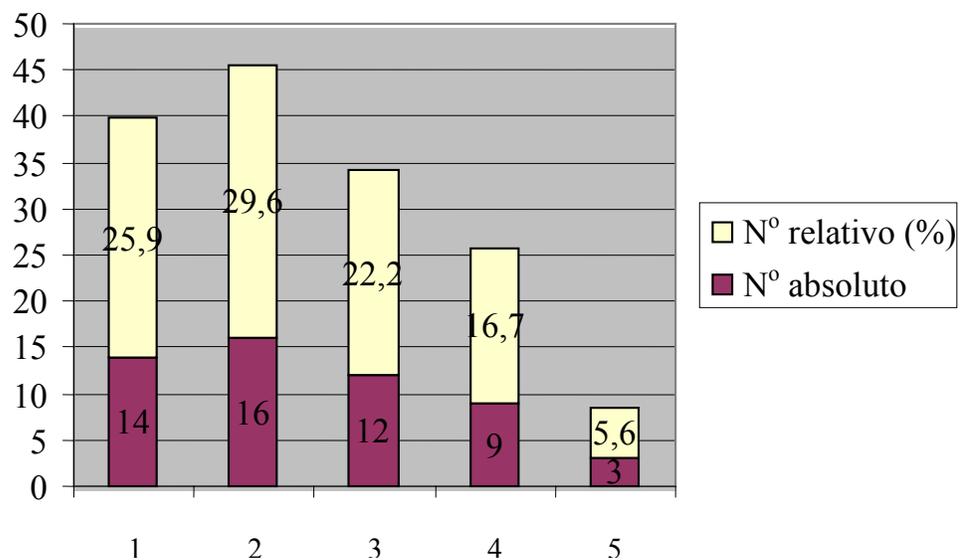


Gráfico 2- Frequência do padrão de distribuição de células CD1a positivas em Cistos Radiculares. Salvador-Ba, 2005



- 1-Camada basal do epitélio
- 2-Camada intermediária do epitélio
- 3-Camada superficial do epitélio
- 4-Tecido de granulação
- 5-Cápsula cística

Figura 1 a 5 – Granuloma Dentário. Fig. 1, moderado infiltrado inflamatório linfo-histiocitário em meio a edema intersticial (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 2, placa de infiltrado linfoplasmocitário (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 3, Corpúsculo de Russel representado por esférulas hialinas (Setas) (H&E, aproximadamente 400x). Fig. 4, numerosos macrófagos, alguns dos quais xantomatosos (Seta) (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 5, reação de células gigantes tipo corpo estranho, ao lado de grumos enegrecidos de material de natureza exógena (H&E, aproximadamente 200x).

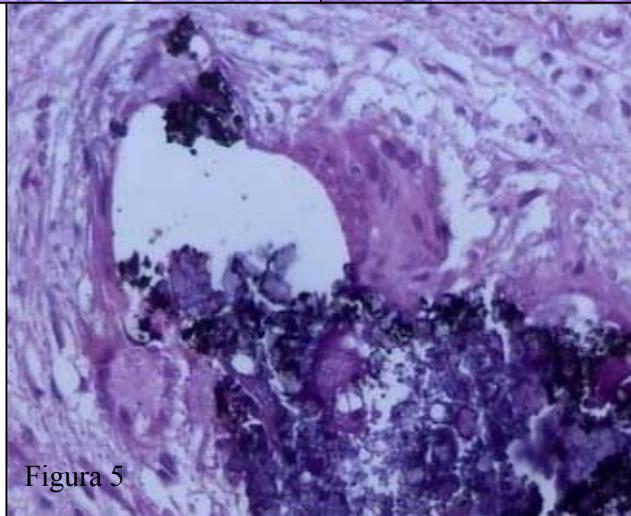
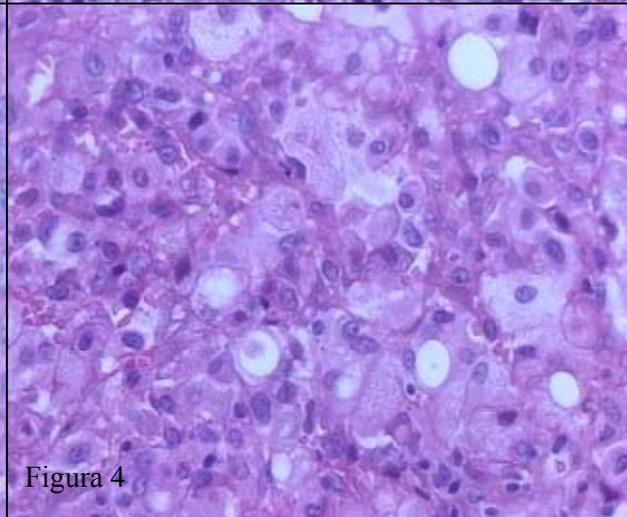
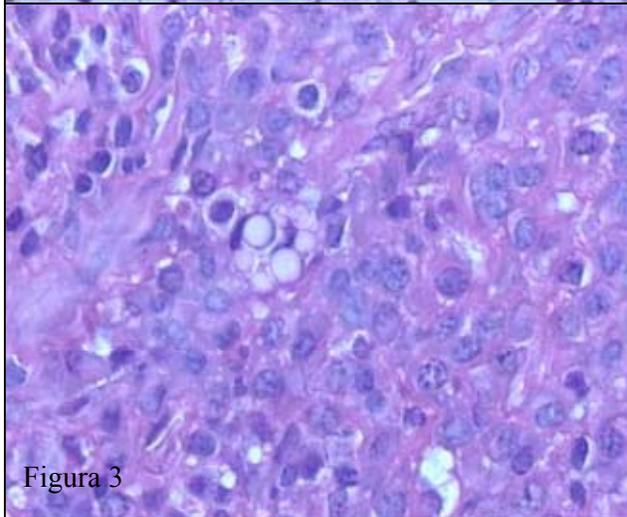
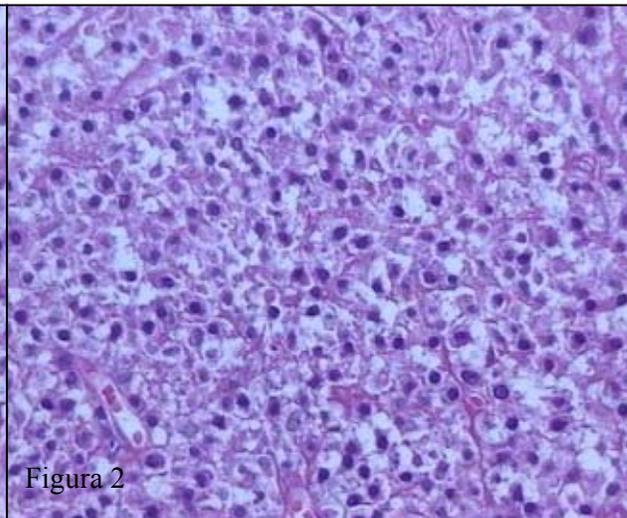
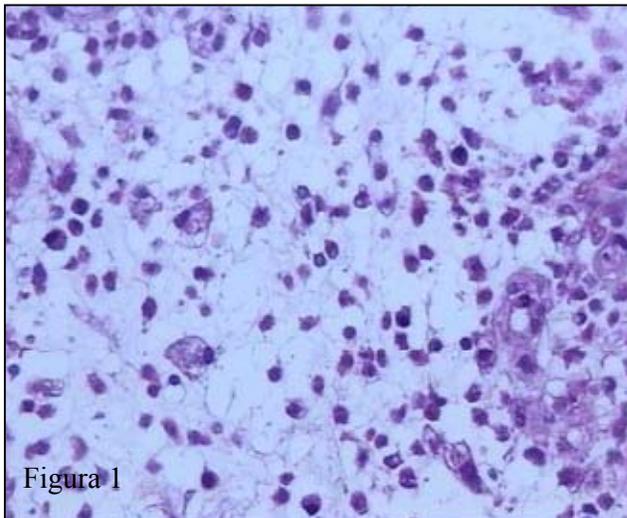


Fig. 6 – Granuloma Dentário. Célula de Langerhans, presente em meio aos plasmócitos, imunomarcada discretamente pelo CD1a, (EnVision, Dako, aproximadamente 400x).

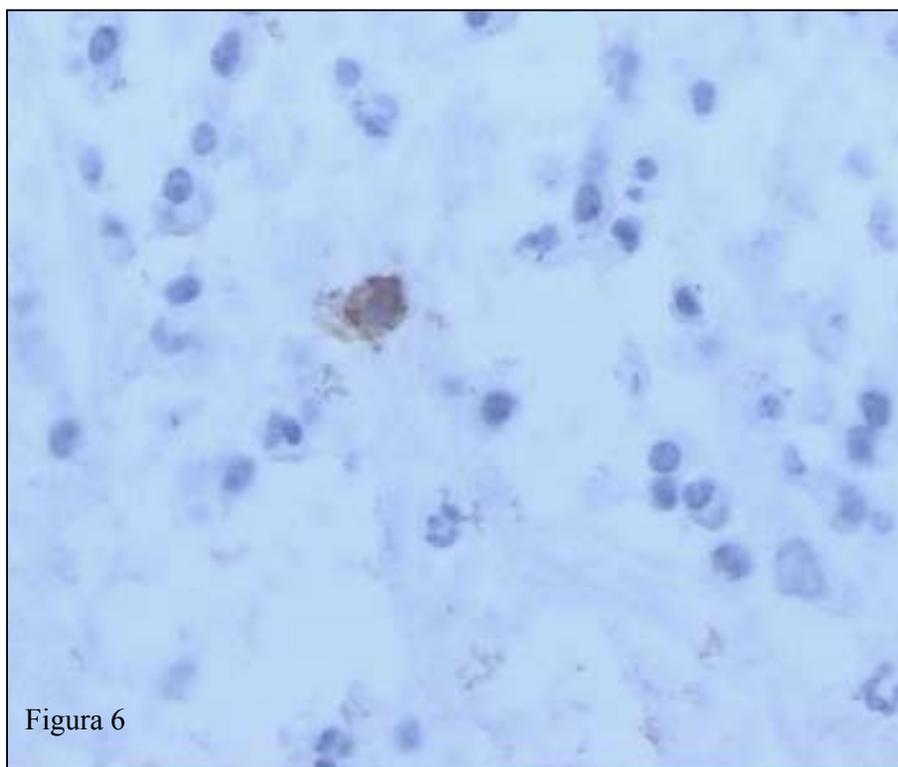


Figura 6

Figuras 7 a 14 – Cisto Radicular. Fig. 7 e 8, revestimento epitelial sob a forma de arcos, muitas vezes interconectantes (H&E, aproximadamente 40x). Fig. 9, revestimento epitelial pavimentoso estratificado exibindo placas de acantose (Seta) (H&E, aproximadamente 200x). Fig.10, cápsula fibrosa com raras células inflamatórias, revestida por poucas camadas celulares (H&E, aproximadamente 40x). Fig. 11, epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 12, Células cuboidais em camada simples (H&E, aproximadamente 400x). Fig. 13, revestimento epitelial exibindo células mucosas, na camada intermediária (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 14, epitélio pseudo estratificado ciliado com células superficiais metaplásicas (H&E, aproximadamente 200x)



Figura 7

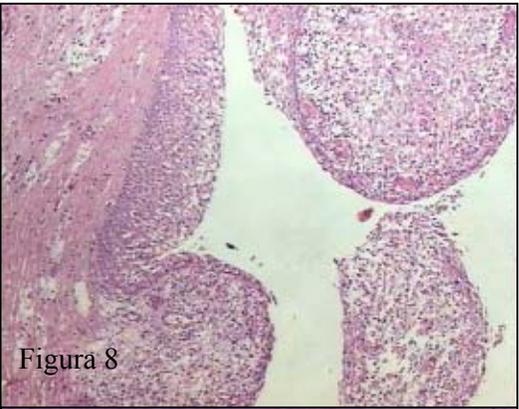


Figura 8

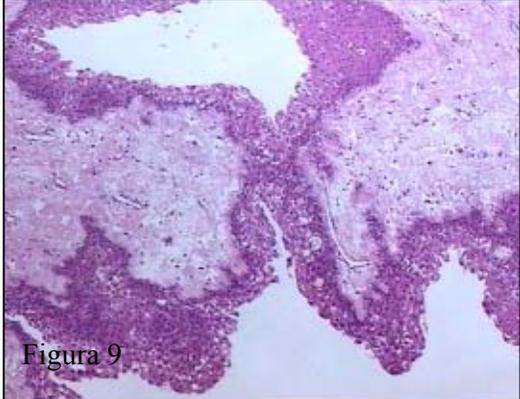


Figura 9

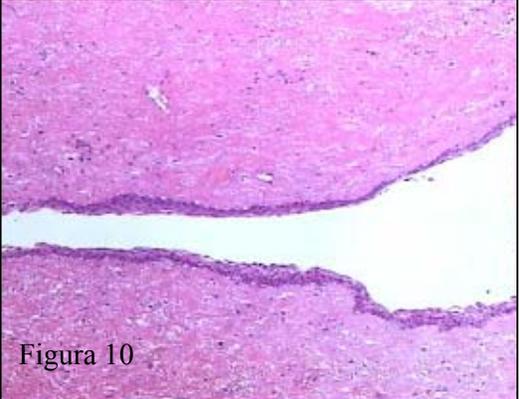


Figura 10

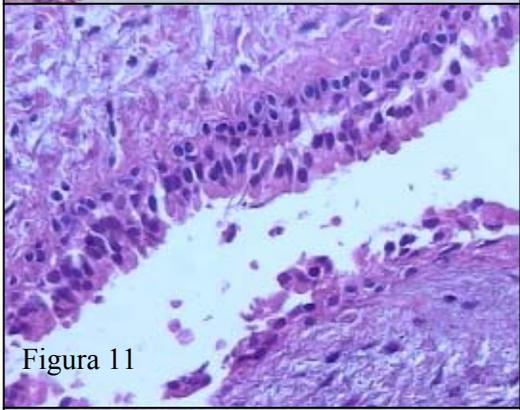


Figura 11

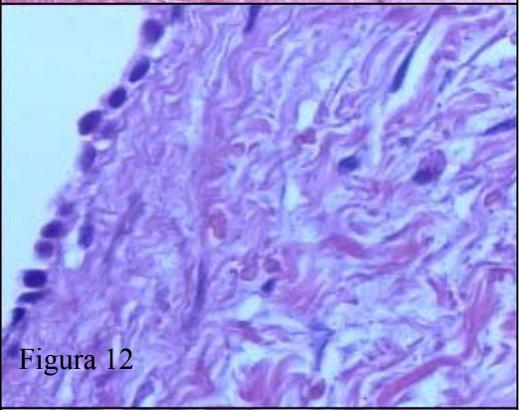


Figura 12

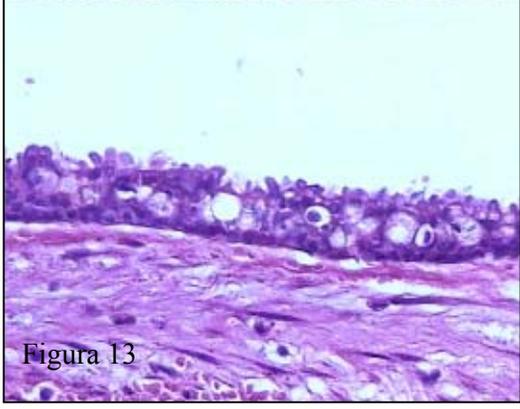


Figura 13

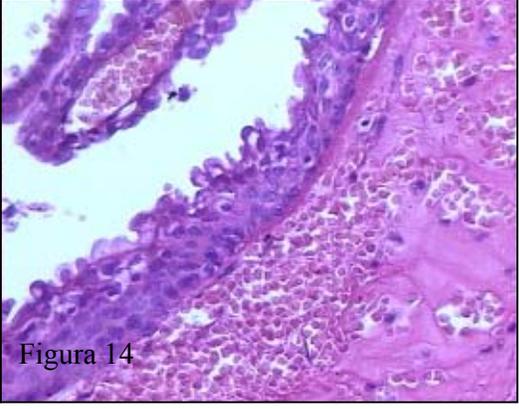
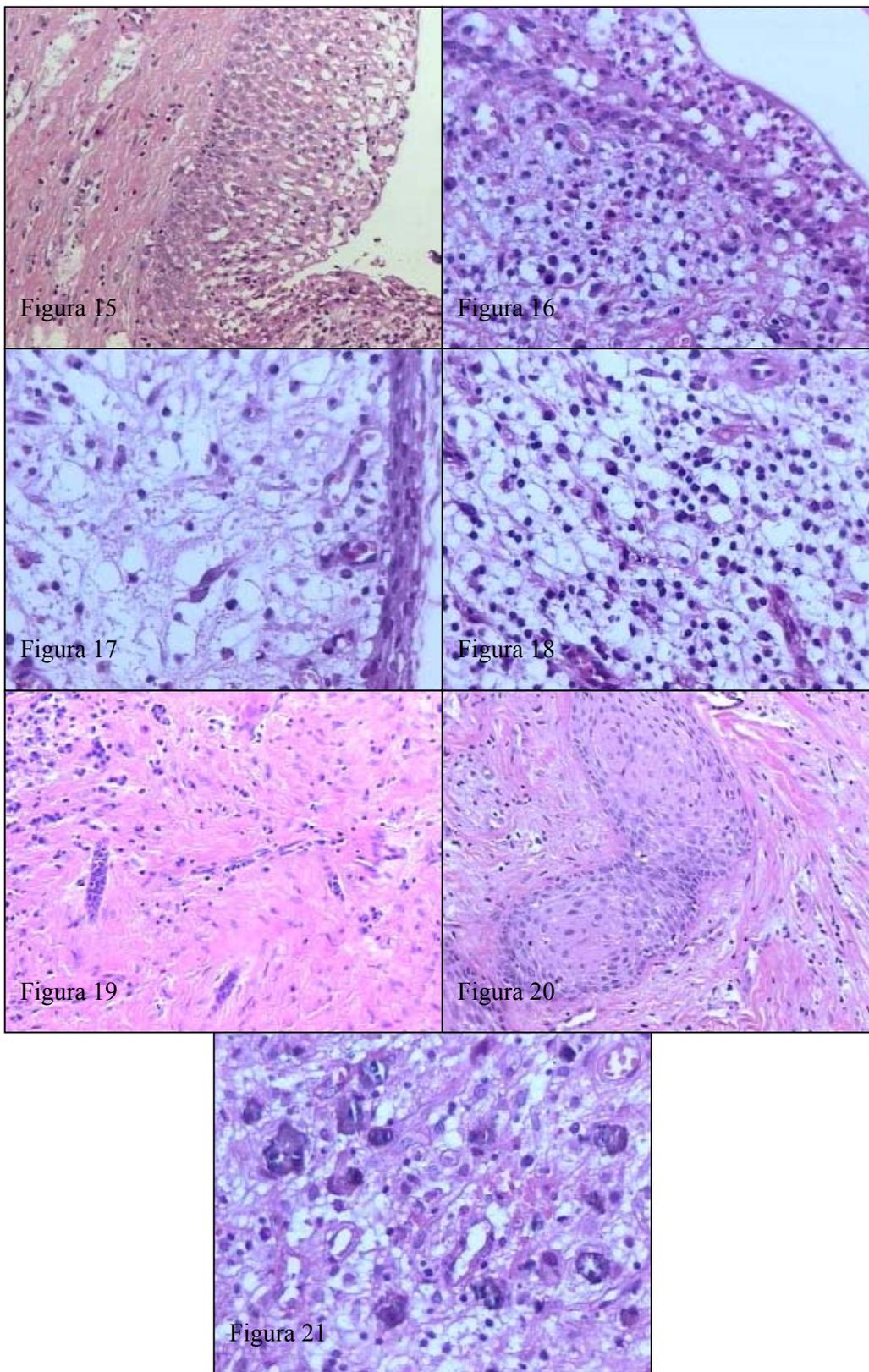


Figura 14

Figuras 15 a 21 – Cisto Radicular. Fig. 15, tecido epitelial pavimentoso estratificado exibindo exocitose leucocitária (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 16, revestimento epitelial exibindo espongiose neutrofilica (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 17, parede de tecido conjuntivo frouxo revestido por epitélio atrófico (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 18, tecido conjuntivo frouxo vascularizado sede de moderado infiltrado inflamatório mononuclear (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 19, remanescentes epiteliais odontogênicos sob a forma de cordões (Setas largas) e ninhos (Setas estreitas) (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 20, proliferação epitelial semelhante ao tumor Odontogênico Escamoso (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 21, Ilhotas epiteliais exibindo focos de mineralização (H&E, aproximadamente 200x).



Figuras 22 a 29 – Cisto Radicular. Fig. 22, revestimento epitelial exibindo também células mucosas e células superficiais metaplásicas (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 23, detalhe da figura anterior (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 24, células mucosas ao lado de células vacuolizadas (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 25, detalhe da figura anterior (H&E, aproximadamente 400x). Fig. 26, tecido epitelial pavimentoso estratificado exibindo corpúsculos hialinos de Rhuston (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 27, detalhe da figura anterior, evidenciando-se estruturas hialinas lamelares (H&E, aproximadamente 400x). Fig. 28, placa de células epiteliais exibindo células em apoptose (Setas) (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 29, detalhe da figura anterior, mostrando célula de citoplasma amplo, eosinofílico e com núcleo picnótico (H&E, aproximadamente 400x).

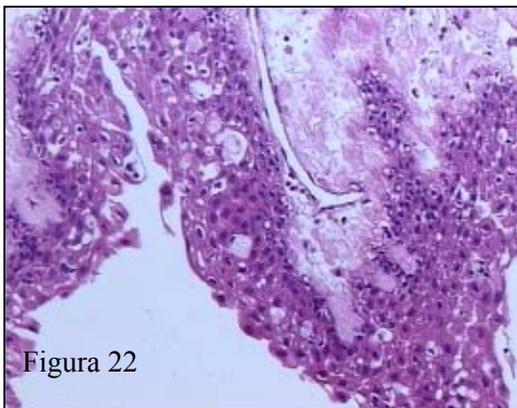


Figura 22

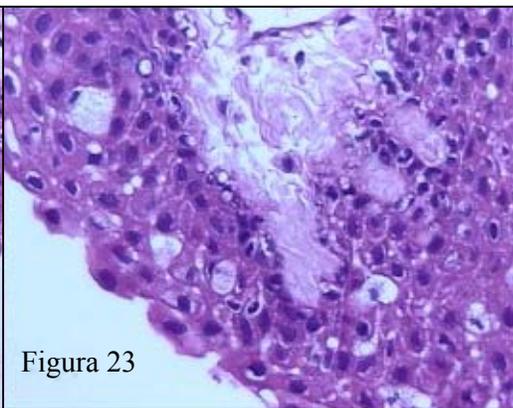


Figura 23

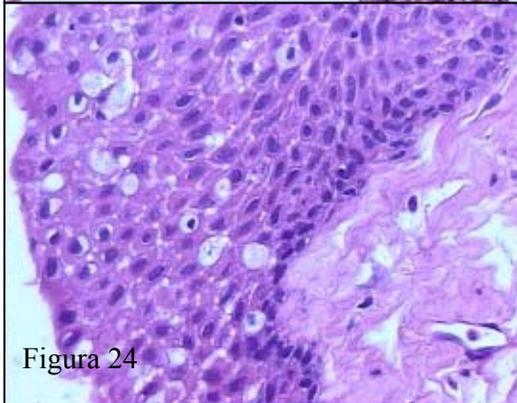


Figura 24

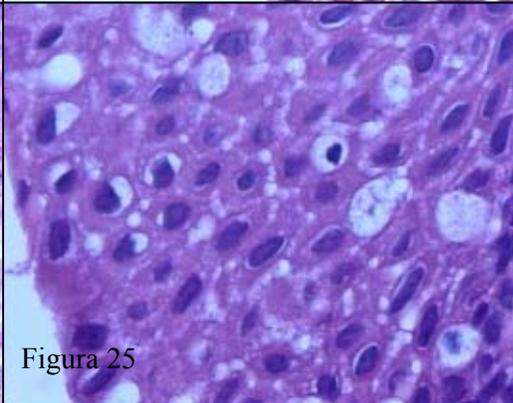


Figura 25

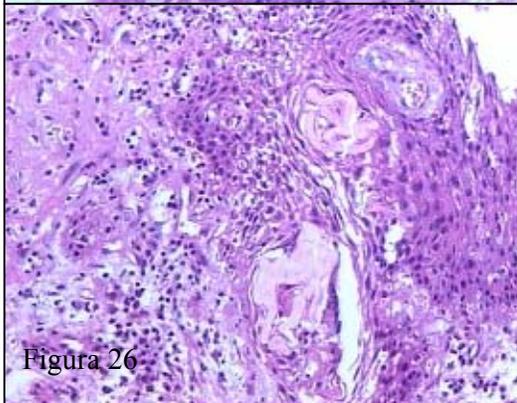


Figura 26

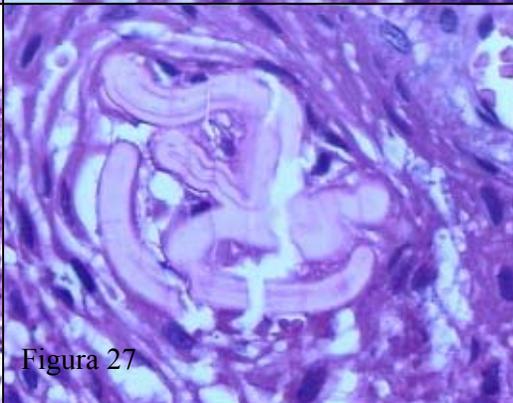


Figura 27

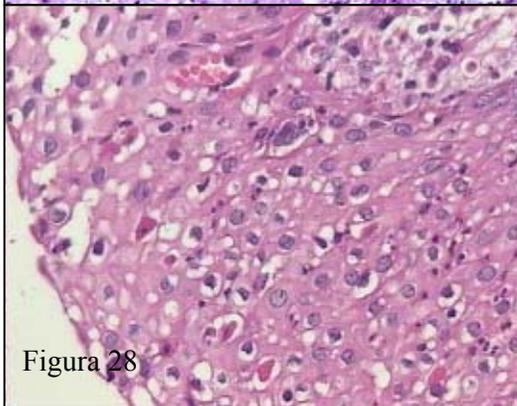


Figura 28

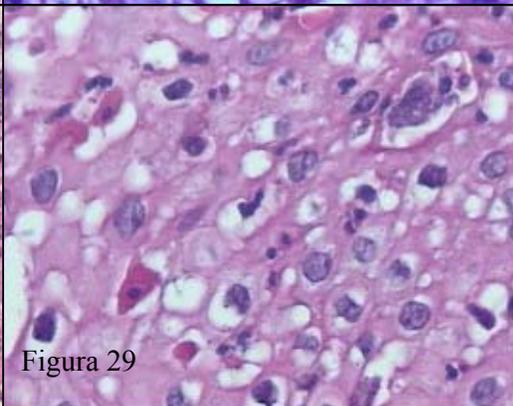


Figura 29

Figuras 30 a 35 – Cisto Radicular. Fig. 30, revestimento epitelial exibindo material exógeno junto à focos de mineralização (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 31, detalhe da figura anterior (H&E, aproximadamente 100x). Fig. 32, fenda de cristais de colesterol adjacente à focos de mineralização (H&E, aproximadamente 40x). Fig. 33, detalhe da figura anterior, evidenciando-se aglomerado de macrófagos junto à fendas de colesterol e focos de mineralização (Setas) (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 34, detalhe da figura 32, evidenciando-se reação gigante celular tipo corpo estranho junto à fendas de colesterol (H&E, aproximadamente 200x). Fig. 35, placa composta por numerosos macrófagos espumosos (H&E, aproximadamente 200x).

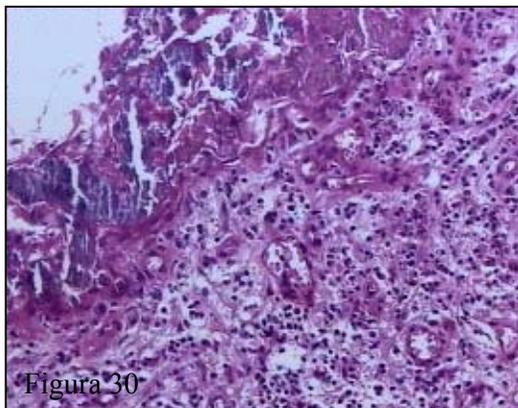


Figura 30

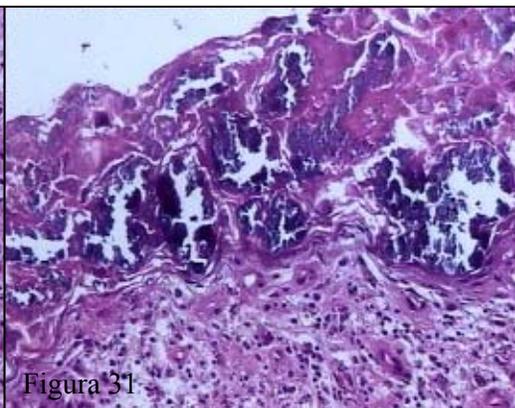


Figura 31

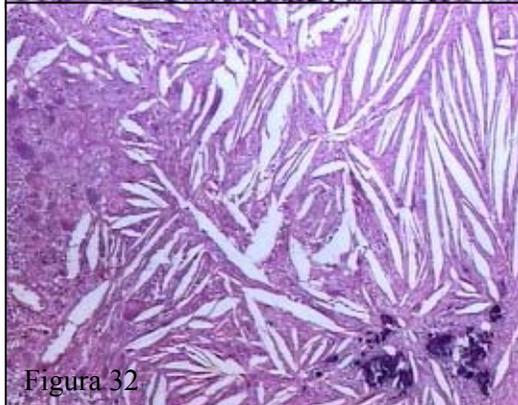


Figura 32

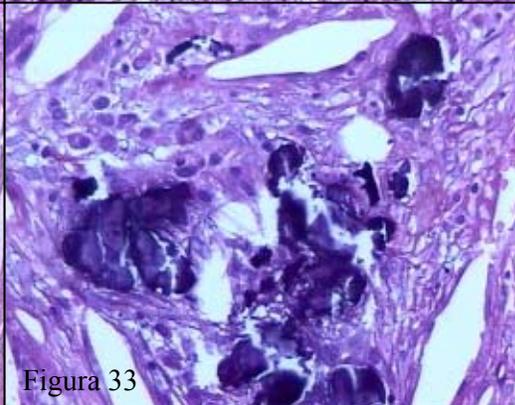


Figura 33

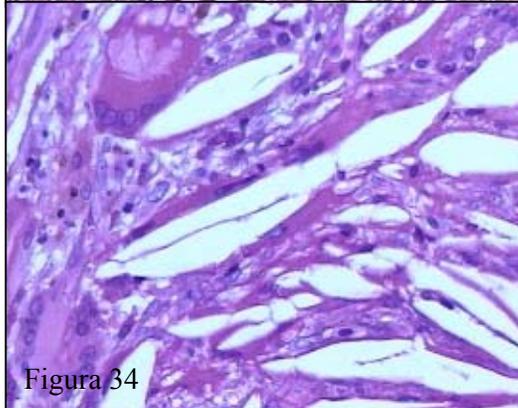


Figura 34

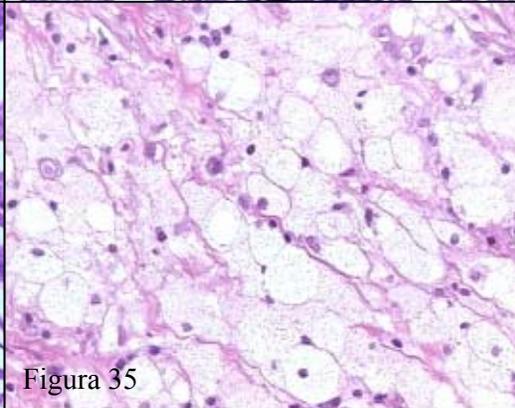


Figura 35

Figuras 36 a 41 – Cisto Radicular. Fig. 36, discreta marcação da Célula de Langerhans no tecido de granulação (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 37, discreta marcação da Célula de Langerhans, em formato arredondado em meio a células epiteliais (EnVision, Dako, aproximadamente 400x). Fig. 38, imunomarcação moderada das Células de Langerhans, presentes na camada intermediária com poucos prolongamentos dendríticos (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 39, 40 e 41, imunomarcação intensa das Células de Langerhans, presentes em diferentes camadas epiteliais (EnVision, Dako, aproximadamente 100x).

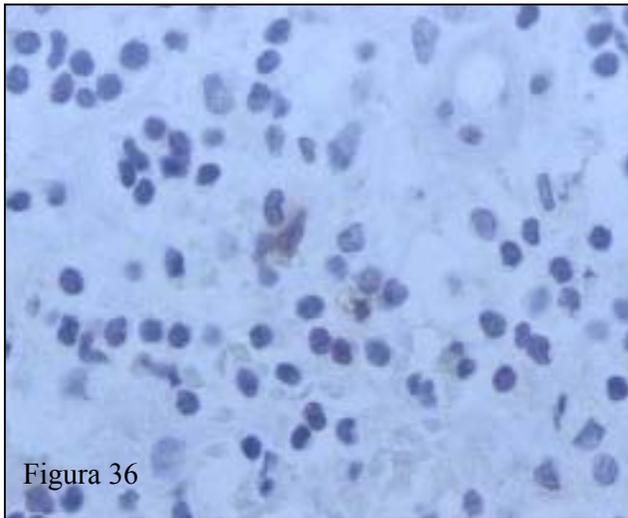


Figura 36

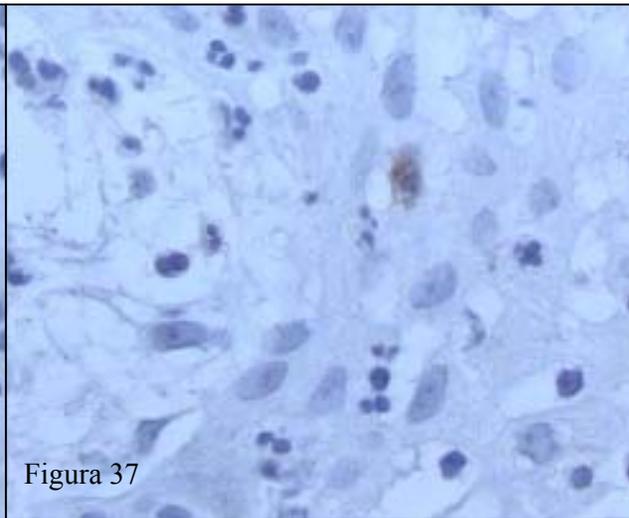


Figura 37

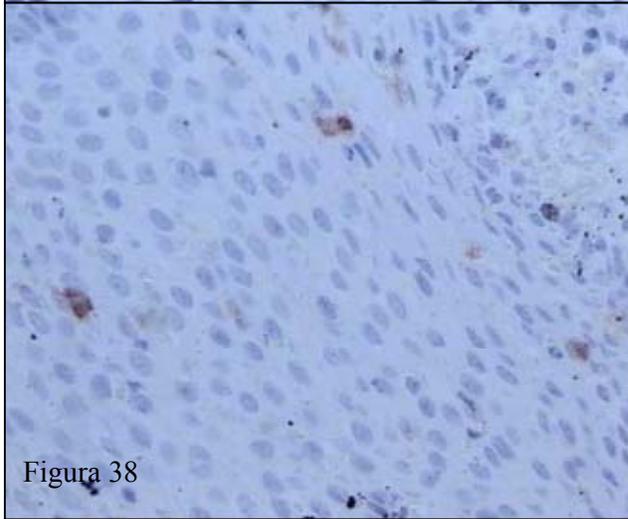


Figura 38



Figura 39

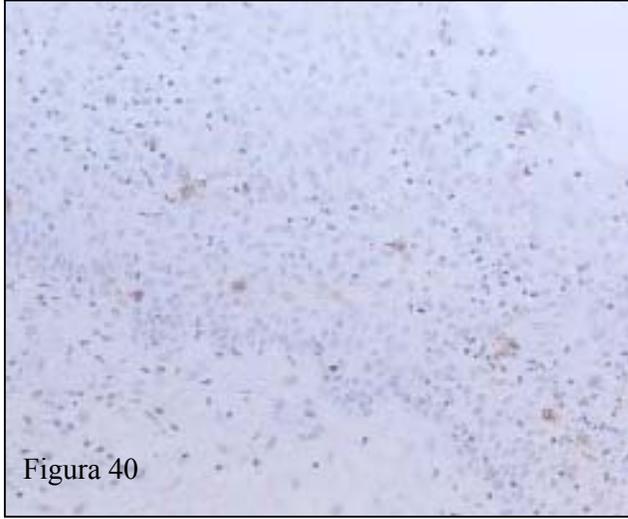


Figura 40

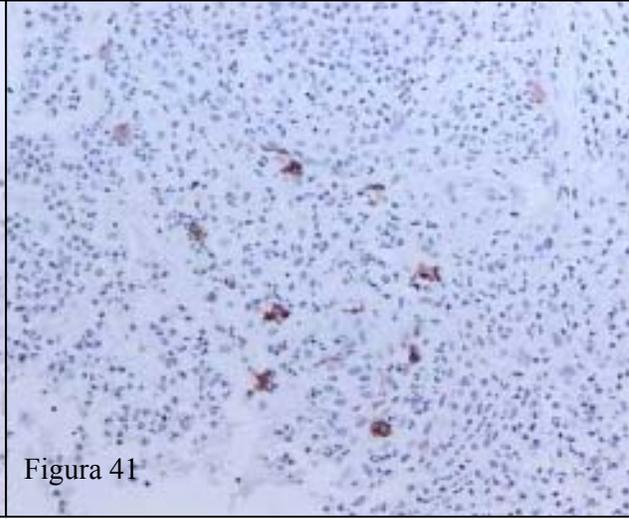
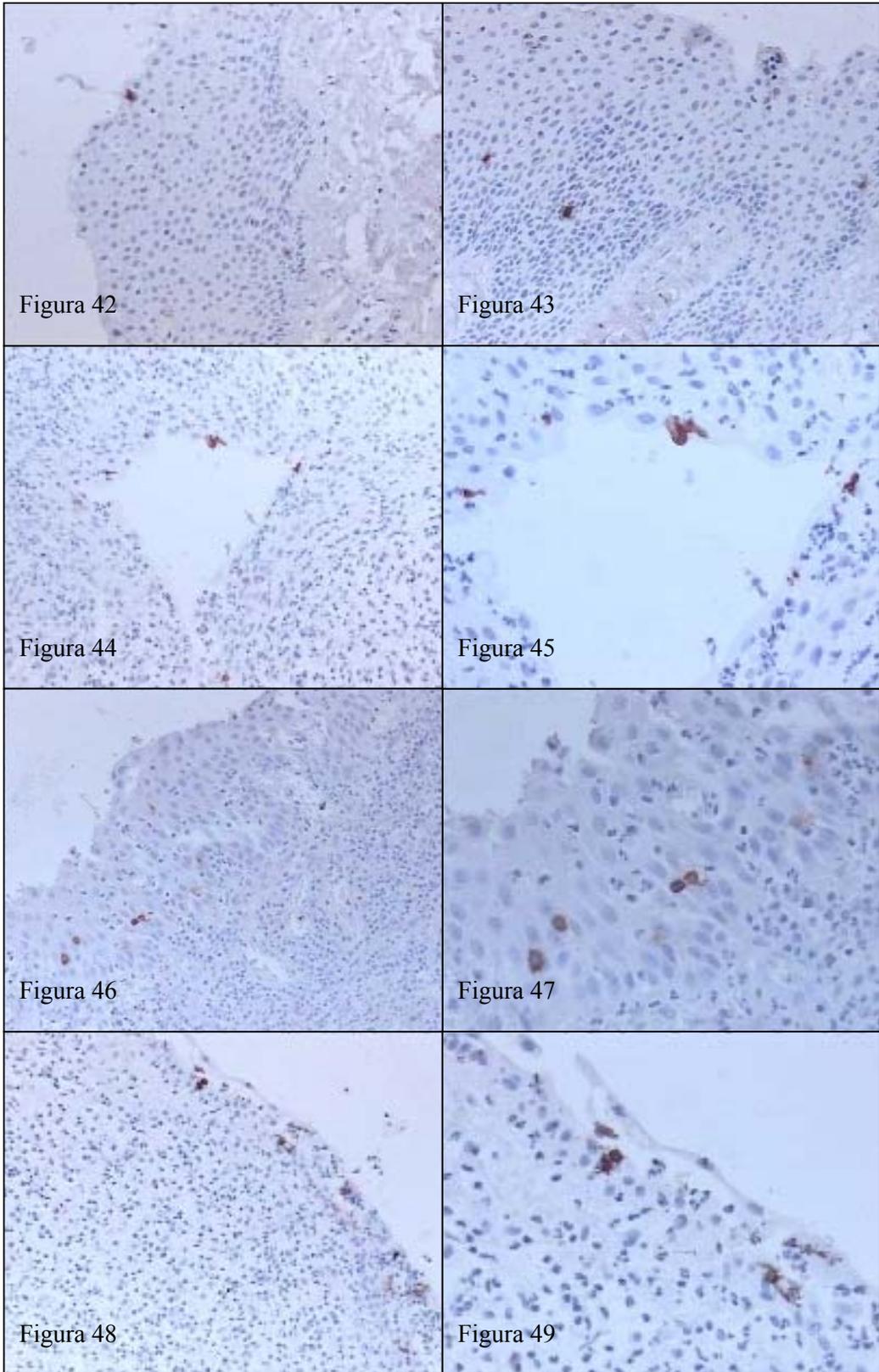


Figura 41

Figuras 42 a 49 – Cisto Radicular. Fig. 42, Célula de Langerhans na camada superficial do epitélio com formato dendrítico (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 43, Célula de Langerhans na camada intermediária de revestimento epitelial hiperplasiado, em formato dendrítico e arredondado (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 44, Células de Langerhans revestindo o lúmen cístico com forma dendrítica (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 45, detalhe da figura anterior, mostrando célula dendrítica em superfície epitelial metaplásica (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 46, Célula de Langerhans sob forma arredondada na camada suprabasal do epitélio (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 47, detalhe da figura anterior (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 48, forma dendrítica da Célula de Langerhans presente em revestimento epitelial atrófico (EnVision, Dako, aproximadamente 100x). Fig. 49, detalhe da figura anterior (EnVision, Dako, aproximadamente 200x).



Figuras 50 a 55 – Cisto Radicular. Fig. 50 e 51, tecido epitelial mostrando célula de Langerhans na camada intermediária com longos prolongamentos citoplasmáticos (EnVision, Dako, aproximadamente 400x). Fig. 52, aspecto dendrítico da Célula de Langerhans na região superficial do epitélio (EnVision, Dako, aproximadamente 400x). Fig. 53, formato arredondado da célula de Langerhans na camada superficial do epitélio (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 54, Célula de Langerhans com formato arredondado presente no tecido de granulação (EnVision, Dako, aproximadamente 200x). Fig. 55, cápsula cística mostrando Célula de Langerhans com prolongamento citoplasmáticos curtos (EnVision, Dako, aproximadamente 200x).

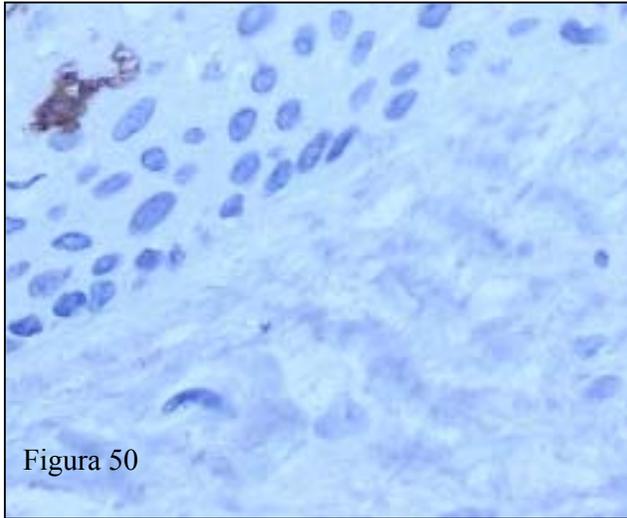


Figura 50

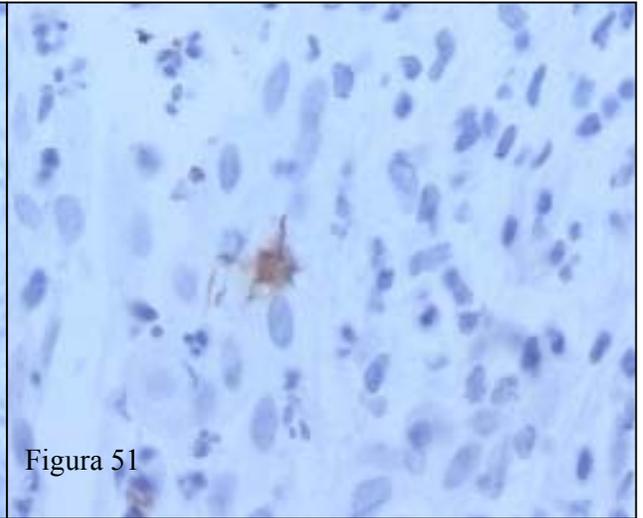


Figura 51

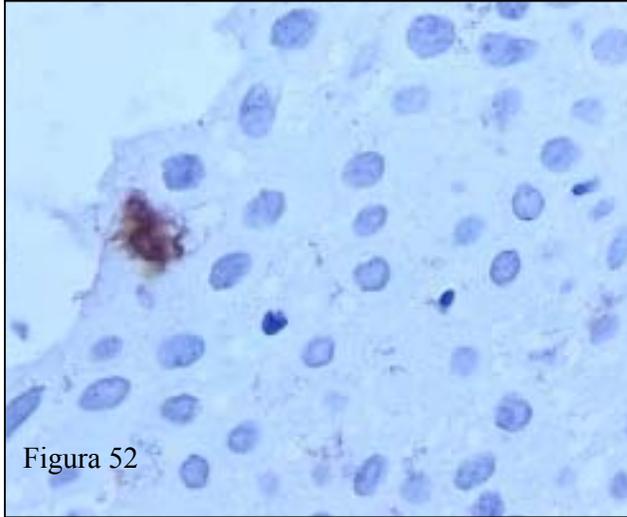


Figura 52

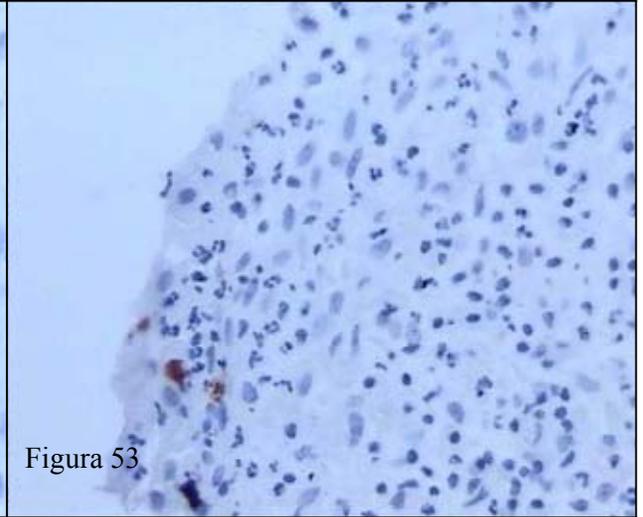


Figura 53

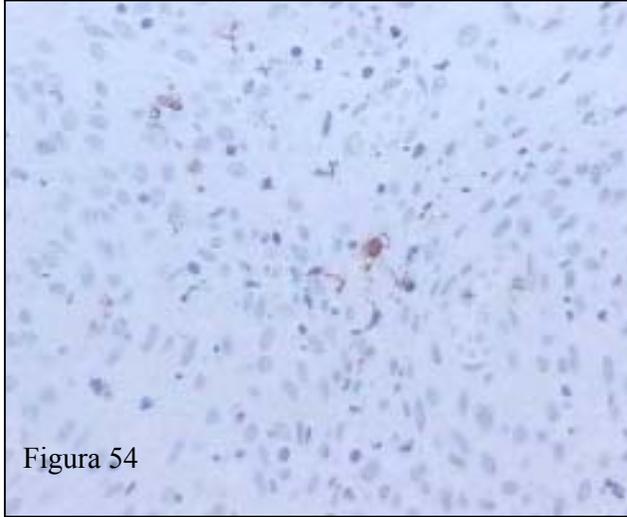


Figura 54

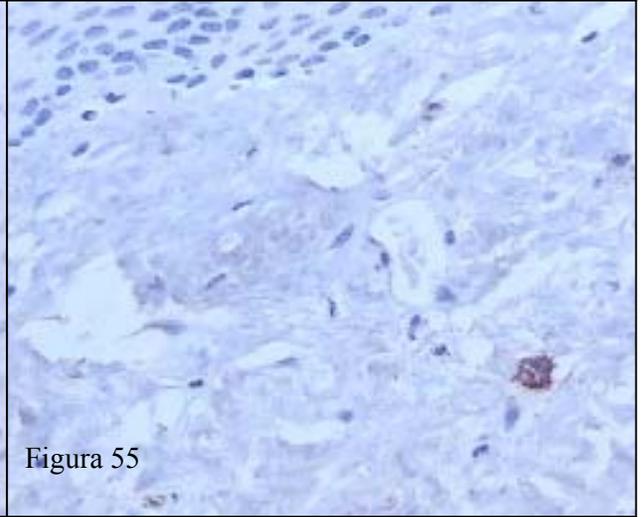


Figura 55

6 DISCUSSÃO

O desenvolvimento do Granuloma Dentário e do Cisto Radicular inicia-se após a mortificação da polpa dentária devido a estímulos físicos, químicos e/ou bacterianos de baixa intensidade, representado pelos traumas, substâncias restauradoras e cárie respectivamente, sendo que as bactérias e seus produtos são relatados na literatura como os principais agentes etiológicos de tais lesões. Essa agressão biológica induz uma reação imuno-inflamatória confinada, requisito fundamental para o desenvolvimento das lesões crônicas periapicais (MEGHJI, 1996; METZGER et al., 2000; TAYLOR et al., 2002; VIER, FIGUEIREDO, 2002; RUIZ et al., 2003; MELO et al., 2003; CUTLER, JOTWANI, 2004; HONG et al., 2004; PIATELLI et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; MOLLER et al., 2004).

Em nosso estudo, constatamos que os Cistos Radiculares corresponderam a 59,1% dos casos, enquanto os Granulomas Dentários corresponderam a 40,9%. Esses dados são semelhantes aos encontrados por Vier e Figueiredo (2002) e Souza et al (2003), mas diferem daqueles relatados por Nair et al (1996), o que poderia ser atribuído a diferentes interpretações microscópicas.

Os cistos predominantes em crianças são os de desenvolvimento. Essa prevalência é atribuída ao fato de que durante o período pediátrico os ossos gnáticos estão em acelerado crescimento, o que aumenta a possibilidade de alterações no desenvolvimento das estruturas dentárias (BORDNER, 2002). Em adição, a não observância de radioluscências periapicais em dentição primária, parece contribuir com essa afirmativa, já que muitas vezes, de forma negligente, as unidades decíduas são extraídas sem radiografias prévias. A ausência de análise histopatológica posterior à exodontia é outra possível causa relatada por Delbem (2003). Mesmo assim, no presente estudo, detectamos um caso de Cisto Radicular em uma criança de quatro anos de idade.

Em nossa pesquisa, 55,8% das lesões periapicais estudadas pertenciam ao sexo masculino e 44,2% ao sexo feminino, apesar de não termos encontrado uma associação estatisticamente significativa entre lesão periapical e sexo. Esses achados corroboram com os estudos de Souza et al (2003), Melo et al (2003), Prado e Salim (2004). Vale ressaltar que apesar de termos em nossa amostra um maior número de casos de Cisto Radicular, estes se mostraram mais prevalentes no sexo masculino (61,5%) conforme também evidenciaram Souza et al (2003), Prado e Salim (2004). Ao contrário, no Granuloma Dentário o sexo feminino foi mais prevalente (52,9%), semelhante aos achados de Melo et al (2003), que mostraram uma prevalência de 55,33% para este sexo.

Os Granulomas Dentários são predominantemente encontrados entre 20 a 30 anos de idade. Já o Cisto Radicular, a faixa etária abrange desde a terceira, quarta até a quinta década de vida (MELO et al., 2003; PRADO, SALIM, 2004). No entanto, Souza et al (2003) encontraram a presença de GDs e CRs em pacientes com idades variando dos 21 aos 40 anos. Nossos achados mostraram uma variação de idade para essas lesões de 04 a 69 anos, diferentemente dos estudos de Melo et al (2003), Souza et al (2003), Prado e Salim (2004). Todavia, a idade média identificada foi de 36 anos de idade, tal média apresenta-se em concordância com essas pesquisas referenciadas acima.

Os GDs e CRs tendem a acometer mais a região anterior de maxila (MELO et al., 2003; SOUZA et al., 2003). Resultados semelhantes foram encontrados por nós, onde a região mais envolvida foi a anterior superior (50%), seguida da posterior inferior direita (23,8%). Esses achados podem ser explicados devido a maior quantidade de osso esponjoso presente na região anterior de maxila, o que facilita a disseminação de infecções, bem como pela maior exposição direta a traumas físicos. Em relação aos dentes posteriores inferiores, podemos associar esses achados à maior dificuldade de higienização e a anatomia dentária constituída

por sulcos e fissuras, que facilitam o maior acúmulo de placa bacteriana, conseqüentemente, um maior desenvolvimento da cárie.

Sobre o tratamento dessas lesões periapicais, não existe um consenso na literatura. Para alguns, o tratamento endodôntico convencional é suficiente, para outros a cirurgia é uma possibilidade real (NAIR et al., 1996; NAIR, 1998; SIQUEIRA JR, 2001; HUUMONEN, ORSTAVIK, 2002; COTTI et al., 2003; HISATOMI et al., 2003; MELO et al., 2003; RUIZ et al., 2003; ÇALISKAN, 2004; ÇALISKAN, TURKEY, 2005).

A maior causa de falha do tratamento endodôntico convencional pauta-se em causas microbianas como a persistência da infecção periapical, por falha no preparo químico-mecânico, e/ou presença de deltas apicais e canais laterais, bem como pela sobre-obturaçãõ. No entanto, fatores não microbianos como a presença de cristais de colesterol e reações tipo corpo estranho, quando da presença de pedaços de gutaperchas, cones de papel, algodão e alimentos na região periapical, parecem interferir no reparo desse tecido (SIQUEIRA JR, 2001). Do mesmo modo, a persistência da lesão periapical, além de estar relacionada com a presença dos cristais de colesterol, hipótese discutida adiante, também pode estar envolvida com a predominância de um subtipo de Linfócito T sobre o outro (NAIR et al., 1998; SIQUEIRA JR, 2001).

Para Walker et al (2000), a resposta celular Th-1 é particularmente efetiva na ação microbicida pela produção de IFN- α , em contraste com as duas mais importantes citocinas (IL-4 e IL-10) produzidas pela resposta Th-2 que inibe tal destruição microbiana. Esses autores, comparando Cistos Radiculares e Granulomas Dentários, acharam menor número de células Th-1 nos Cistos. McCutcheon et al (2004), levantam a hipótese que a não regressão da lesão periapical, após tratamento endodôntico convencional, advém do fato de existir a presença dos subtipos de Linfócitos $\gamma\delta$, já que 36 das 37 (97%) lesões periapicais por eles estudadas, obtidas por apicectomia, continham esses tipos celulares.

Conforme relatado por Siqueira Jr (2001), a presença de materiais obturadores quando somada à persistência de infecção parece contribuir para o aumento dos índices de recidiva, ou ausência de cura das lesões periapicais crônicas. Afirmativa essa comprovada por Haglund et al (2003) que investigando o efeito de quatro materiais utilizados em retro-obturação (Agregado Tri oxido Mineral [MTA], material restaurador intermediário [IRM], amálgama e um compósito de resina [Retroplast]) na produ o das citocinas IL-1 β e IL-6 por fibroblastos e macrófagos de ratos, não observaram produ o de citocinas entre os grupos estudados. Contudo, essas mesmas citocinas foram detectadas nos controles positivos, quando da associa o desses materiais com lipopolissacarídeos.

Neste estudo, observamos a presença do material exógeno compatível com material obturador endodôntico muitas vezes junto   focos de mineraliza o em 12 (27,3%) das lesões periapicais estudadas, sendo que no Granuloma Dentário e no Cisto Radicular foram encontradas em 22,2% e 30,8% dos casos, respectivamente. Identificamos também, em 66,7% das lesões contendo esse material exógeno, um infiltrado inflamatório intenso, possivelmente proveniente de uma rea o inflamatória inicial pelo contato de uma substância com pH muitas vezes alcalino em um tecido sensível. E ao comparar a presença do material exógeno e a espessura do ep t lio, constatamos que entre 8 (30,8%) das lesões císticas, possuidoras do material mineralizado, 5 (62,5%) caracterizavam-se pela presença de um ep t lio atrófico, enquanto as outras 3 (37,5%) apresentavam um ep t lio hiperplásico. Possivelmente, o tratamento endodôntico convencional, proporcionou uma diminui o das rea es imuno-inflamatórias nesses cistos, e conseqentemente diminuiu o poder das citocinas e outras prováveis substâncias envolvidas na prolifera o epitelial.

A resposta imuno-inflamatória   agressão bacteriana propicia a forma o de um tecido confinado na região de ápice dentário através do aumento do número de fibroblastos, fibrilas colágenas, células endoteliais e vasos, em associa o com um infiltrado inflamatório crônico,

caracterizando assim o Granuloma Dentário. Esse infiltrado inflamatório crônico é constituído histologicamente por Linfócitos, Plasmócitos e Leucócitos polimorfonucleares associados a uma cápsula de tecido conjuntivo fibroso (MELO et al., 2003), características essas também encontradas em nosso estudo. Além desses autores, outros como Susuki et al (2001) relataram a possibilidade da existência de remanescentes epiteliais no interior dessa lesão, fato não encontrado em nossa amostra.

Os fatores que determinam como a transformação cística ocorre em vários Granulomas Dentários e os mecanismos envolvidos nessa formação ainda são controversos. O avanço nos conhecimentos atuais e descobertas de novos mediadores na interação entre diferentes populações celulares está ajudando a compreender fenômenos como reparação, inflamação e metabolismo ósseo. Esses mecanismos biológicos parecem estar relacionados a eventos imunológicos, como aqueles envolvendo as lesões periapicais crônicas (RUIZ, 2003; WALKER et al., 2000).

Os Cistos Radiculares são formados nos periápices de dentes com mortificação pulpar, a partir da proliferação dos restos epiteliais de Malassez em resposta ao processo de defesa contra um antígeno bacteriano e/ou seus produtos provenientes da infecção dos canais radiculares (MEGHJI et al., 1996; NAIR, 1998).

O papel dos restos epiteliais de Malassez em um ligamento periodontal normal não está claro. No entanto, supõe-se que estes estejam associados à remodelação tecidual e funções reparativas incluindo manutenção do espaço periodontal, prevenção da anquilose, produção de fatores de reabsorção óssea bem como a cementogênese durante a terapia ortodôntica. É a partir desses restos epiteliais que se inicia o desenvolvimento cístico (NICKOLAYCHUK et al., 2002; TEN CATE AR, 1972; GOTZ, 2003). Identificamos em 23,1% dos Cistos Radiculares a presença de restos epiteliais odontogênicos.

A patogênese do GD e do CR ocorre de forma progressiva e é dependente dos diferentes tipos de células inflamatórias. Estas células desempenham papéis específicos importantes durante o desenvolvimento das lesões. Em seus diversos estágios de evolução, GD e CR podem sofrer agudização, em geral associada a reinfecção da lesão. Nessas ocasiões, apresentam características de processo inflamatório agudo, com abundante presença de polimorfonucleares neutrófilos e macrófagos (TAKAHASHI et al., 1999; METZGER, 2000; PULHEZ, 2004). Em 20,4% dos casos aqui estudados, identificamos também a presença de neutrófilos.

Os neutrófilos e macrófagos são importantes na defesa primária do processo inflamatório, pois bloqueiam a disseminação da lesão no periápice e participam do recrutamento e maturação de osteoclastos, assim como na formação de tecido de granulação (MARTON, KISS, 2000; METZGER, 2000; PULHEZ, 2004).

Parece que bactérias específicas induzem a produção de citocinas específicas pelos macrófagos, hipótese essa comprovada por Yoshioka, Grenier e Meyrand (2005). Estes autores demonstraram que o *Peptostreptococcus micros*, bactéria gram-positiva associada a dentes com canais infectados, é capaz de se ligar a lipopolisacarídeos produzidos pelo *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, bactéria gram-negativa relacionada com severas formas de periodontite. Essa ligação confere ao *P. micros* a capacidade de induzir e estimular o TNF- α pelos macrófagos. Dessa forma, lesões tipo endo-perio parecem potencializar o desenvolvimento das lesões periapicais.

Assim, o macrófago está envolvido com a resposta inata da lesão periapical, fagocitando bactérias e evitando disseminação da infecção, bem como na resposta adquirida, apresentando antígenos a linfócitos via MHC II, sintetizando citocinas como IL-1 α , IL-1 β e TNF α , e produzindo metaloproteinases que degradarão a matriz extra celular. Além disso, essa célula de defesa parece estar envolvida com os cristais de colesterol, estruturas estas

referenciadas por alguns autores como possíveis fatores de persistência das lesões periapicais crônicas (YASHIMA, OGURA, ABIKO, 1990; NAIR, SJOGREN, SUNDQVIST, 1998; METZGER, 2000; SJOGREN et al., 2002; YAMAZAKI et al., 2004; MIDWOOD et al., 2004; GÁLVEZ-GASTÉLUM, SANDOVAL-RODRÍGUEZ, ARMENDÁRIZ-BORUNDA, 2004). Os cristais de colesterol foram encontrados em 15,3% dos Cistos Radiculares estudados por nós, em alguns casos, associados com células gigantes multinucleadas.

Esses cristais de colesterol podem advir do próprio sistema vascular pela ingestão de lipídeos como podem ser provenientes da produção de metabólitos locais do tecido de granulação da parede do Cisto Radicular e pela fagocitose das membranas celulares de células mortas. A incidência de cristais de colesterol em lesões periapicais varia de 18 a 44%. Macrófagos podem fagocitar esses cristais de colesterol sendo então chamados de macrófagos espumosos, essas células também foram encontradas em alguns Cistos Radiculares e Granulomas Dentários da nossa pesquisa (YASHIMA, OGURA, ABIKO, 1990; NAIR, SJOGREN, SUNDQVIST, 1998; METZGER, 2000; SJOGREN et al., 2002; YAMAZAKI et al., 2004).

Yamazaki et al (2004) encontraram um acúmulo de membrana basal tipo proteoglicano heparan sulfato na parede de Cistos Radiculares com tecido de granulação imaturo. Esse proteoglicano possui cinco domínios em sua configuração sendo o segundo formado por repetidas lipoproteínas de baixa densidade (LDL). A forma oxidada desse LDL foi encontrada em quantidade em macrófagos, sendo cristalizada após a ruptura celular desses, induzindo a formação de uma reação de corpo estranho na parede do cisto. Reação esta também encontrada nos casos por nós estudados.

Agregados extensivos de Macrófagos espumosos ou células volumosas não são frequentemente encontrados em lesões de origem endodôntica, e quando presentes em quantidade, é sugestivo de um processo proliferativo ou reação óssea localizada. Lesões

periapicais com presença abundante dessas células parecem ser mais agressivas e possuem maior número de recidiva, mesmo depois de corretos tratamentos endodônticos convencionais, sendo muitas vezes tratadas através de cirurgia paraendodôntica (RICHARDSON, MORGAN, 1982). Além disso, o poder de reabsorção óssea das lesões periapicais crônicas, por aumento local dos níveis de IL-1 α , torna-se elevado tendo em vista a largura dos cristais de colesterol, o que impediria a ação fagocitária dos macrófagos, estimulando-os a aumentarem a transcrição desta interleucina (SJOGREN et al., 2002). Para estes autores, o estímulo à produção dessa citocina pelos macrófagos é consequência de uma “frustrada” fagocitose. Os macrófagos espumosos foram encontrados em 22,2% das lesões estudadas e os cristais de colesterol em 9,1%, não sendo identificada correlação estatística entre essas células e os cristais de colesterol. Presumimos que nas lesões onde não foram identificados os cristais de colesterol, os macrófagos espumosos teriam fagocitado previamente, pequenos acúmulos de lipídeos antes da formação de cristais maiores.

Na literatura, verifica-se que 100% dos Cistos Radiculares mostram a presença de um revestimento epitelial estratificado pavimentoso, não queratinizado, apresentando, em sua maioria, características como espongirose, exocitose e acantose, muitas vezes, apresentando-se sob a forma de arcos interconectantes. Em concordância com a literatura estudada (NAIR et al., 1996; NEVILLE, 1998; VIER, FIGUEIREDO, 2002; COTTI et al., 2003; PHILIPSEN et al., 2004), pode-se notar, ainda nos cistos, a presença de uma cápsula cística de tecido conjuntivo fibroso denso, vascularizada, permeada por um infiltrado inflamatório crônico com predominância de linfócitos, plasmócitos, e em alguns casos células gigantes multinucleadas e neutrófilos.

Observamos a presença de um epitélio pseudo-estratificado cilindro ciliado em um caso estudado (3,8%), e a presença de um epitélio cúbico simples também em um caso (3,8%) de Cisto Radicular, ambos localizados na região anterior de maxila. Em dois espécimes

(7,7%), constatamos a presença do epitélio pseudo-estratificado ciliado, com igual localização na região anterior de maxila. Epitélios ciliados são incomuns nesse tipo de cisto, porém Shear e Dent em (1960) mostraram uma prevalência de 9,5% para a forma epitelial pseudo-estratificada ciliada localizada predominantemente na região anterior de maxila. Esse epitélio cilindro ciliado foi relatado por Takeda et al (2005) com uma prevalência de 11,4% e descrito em 3 casos dentre 256 lesões periapicais pesquisadas por Nair et al (2002). Para estes autores, a presença de cílios no tecido epitelial deve-se a uma possível metaplasia do epitélio estratificado pavimentoso, consequência de tecidos respiratórios remanescentes durante a embriogênese dos ossos maxilares ou mais possivelmente pelo estímulo inflamatório sobre o epitélio estratificado escamoso que se diferencia em um epitélio colunar ciliado devido à presença de fluidos no interior da cavidade cística. No entanto, a causa e o significado biológico desse fenômeno ainda permanecem desconhecidos.

As células ciliadas parecem estar sempre acompanhadas de células mucosas (TAKEDA et al., 2005). Fato também observado em nossa pesquisa, já que dos três casos com presença de epitélio ciliado, dois também continham células mucosas. A prevalência de células mucosas e células ciliadas foram maiores na maxila (80% e 100% respectivamente), observação também descrita por aqueles autores. Outro achado morfológico encontrado no epitélio de alguns Cistos Radiculares estudados por nós foram as células vacuolizadas, que parecem ser um estágio da histogênese da metaplasia mucosa nesse tecido (SLABBERT, 1995).

Ao estudar 154 casos de cistos Radiculares e Cistos Residuais, através da técnica histoquímica do ácido periódico de Schiff (PAS), Slabbert et al (1995) encontraram 15 casos de metaplasia mucosa, que foram submetidos à pesquisa de células vacuolizadas. As células mucosas foram encontradas isoladamente ou em grupos em todas as camadas do epitélio estratificado pavimentoso, exceto na camada basal, porém, associadas às células vacuolizadas.

Em concordância com esses autores e Takeda et al (2005), encontramos uma significativa associação estatística entre células vacuolizadas e células mucosas (p-valor=0,000. Teste de Fisher).

Em dois casos de Cistos Radiculares estudados (7,7%) foram encontradas placas de epitélio semelhante a Tumor Odontogênico Escamoso (Fig. 15), aspecto também observado por Oliveira, Costa e Loyola (1995). Parece que o epitélio odontogênico possui um potencial para a proliferação e diferenciação em células escamosas, bem como para a participação na formação das estruturas dentárias. Ainda não se sabe qual evento está envolvido na formação desse tecido epitelial semelhante ao Tumor Odontogênico Escamoso (TOE), entretanto, os sinais e sintomas desse tumor são detectados em períodos avançados da doença. Sendo assim, os autores sugerem que lesões císticas constituídas por epitélio semelhante ao TOE sejam preservadas por um tempo maior. Dessa forma, novas informações poderão ajudar na melhor compreensão sobre a natureza e etiopatogênese desse achado.

Outros aspectos histológicos encontrados nessa pesquisa foram os Corpúsculos de Rushton ou corpúsculos hialinos. São encontrados em cistos odontogênicos, principalmente, Cistos Radiculares, primordialmente no epitélio cístico, podendo ter um formato linear, arredondado, lamelar, amorfo ou de aparência granular. Achados dessas estruturas em exames histopatológicos de rotina dependem do plano de secção do material, possuindo uma incidência variável de 2,6% a 10,3% dos casos estudados (MOLYNEUX, 1957; EL-LABBAN, 1979; COHEN, 1976; PESCE, FERLONI, 2002). Em nosso estudo, os Corpúsculos de Rushton apareceram apenas em Cistos radiculares com uma prevalência de 11,5 % (3 casos) sob a forma de estruturas lamelares, não exibindo calcificação.

A origem desses corpúsculos hialinos ainda não está bem esclarecida. No entanto, algumas teorias, pautadas em estudos histoquímicos são consideradas. Acha-se que o epitélio pode aprisionar vasos que sofreram trombose e essas tromboses originam os corpos hialinos.

Outra idéia é a de que os debris celulares ou cristais de colesterol presentes na lesão estimulem as células epiteliais a secretarem substâncias amorfas que mais tarde sofrerão calcificação e se transformarão em Corpúsculos de Rushton (MOLYNEUX, 1957; COHEN, 1976). Pesce e Ferloni (2002) e Loro, Vintermyr e Johannessen (2005), consideram ainda que exista a possibilidade dessas estruturas serem formadas através de uma apoptose do epitélio, acompanhada por uma calcificação distrófica intracelular.

Em nosso estudo, identificamos células apoptóticas em 38,5% das lesões císticas estudadas, sendo mais comumente encontradas naqueles casos (70%) que exibiam epitélio hiperplásico. Segundo Suzuki et al (2005) a presença de marcadores imuno-histoquímicos como p53, Bax, Caspase-3, Fas e Fas-L mostram que tanto a atividade proliferativa quanto a apoptose são maiores em Cistos Radiculares que exibem epitélio espesso. Loyola et al (2005) também identificaram apoptose celular em Cistos Radiculares, no entanto, em contraste com os nossos dados, a apoptose foi mais prevalente em casos de cistos com epitélio atrófico, imunomarcada com a proteína bcl-2. Em adição, estes autores não observaram corpúsculos hialinos nos exemplares estudados. Dos dez Cistos Radiculares, pesquisados por nós, positivos para células em apoptose, os corpúsculos de Rhuston faziam-se presentes em apenas um caso.

Em 5,6% dos Granulomas Dentários e 15,4% dos Cistos Radiculares dessa pesquisa foram identificadas outras estruturas hialinas chamadas de Corpúsculos de Russel. Para Robins e Cotran (2005), essas estruturas correspondem a um aumento na síntese de proteínas secretoras, que ocorrem em determinados plasmócitos, apresentando-se como inclusões eosinofílicas arredondadas dentro de um retículo endoplasmático distendido.

Como visto, o sistema de canais infectados permite uma sensibilização do hospedeiro, desencadeando no primeiro momento uma resposta inflamatória inespecífica e posteriormente e/ou concomitante uma reação imunológica específica celular e humoral mediada por

linfócitos. É na resposta humoral que os linfócitos B parecem influenciar no processo de defesa contra o desenvolvimento dos Granulomas Dentários e Cistos Radiculares através da produção de imunoglobulinas pelos plasmócitos (ROCHA, ROSA, MITSUMAGA, 1993).

A presença do anticorpo IgG para o *Bacterioides intermedius* e *Bacterioides gingivalis*, bactérias anaeróbias restritas presentes na fase mais adiantada da infecção endodôntica, somada ao fato de que esta imunoglobulina funciona como agente opsonizante para macrófagos, sugerem a ocorrência de uma reação imunológica em nível periapical (ROCHA, ROSA, MITSUMAGA, 1993; METZGER, 2000).

Propondo-se também a verificar a participação da resposta imune humoral na patogênese dos GDs e CRs, Takahashi et al (1997), por hibridização *in situ*, e Márton et al (1990), por imuno-histoquímica, identificaram a presença das imunoglobulinas IgA e IgE, respectivamente, em 87,5% e 66,7% dos espécimes. Dessa maneira, é possível que tanto a imunoglobulina IgA e IgE, quanto, principalmente, a IgG possam ser armazenadas e/ou produzidas nos Corpúsculos de Russel.

O recrutamento dessas imunoglobulinas e de outras células, como consequência do processo inflamatório instalado, potencializa o crescimento do Granuloma Dentário e Cisto Radicular, já que as citocinas, fatores de crescimento e constituintes da matriz extracelular, produzidas por algumas células como macrófagos, células apresentadoras de antígeno, linfócitos, plaquetas dentre outras, induzem a reabsorção óssea e o crescimento celular local (MÁRTON, NEMES, HARMATI, 1990; JÚNIOR, DANTAS, 1996; MÁRTON, KISS, 2000; MÁRTON et al., 2000; LIN et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2002; GOTZ et al., 2003; KANYAMA et al., 2003; HONG et al., 2004; MACCUTCHEON et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; PIATTELLI et al., 2004). É nesse contexto fisiopatológico que as células dendríticas profissionais, assumem maior importância, sendo responsáveis pela captura, processamento e apresentação dos antígenos aos linfócitos, maiores constituintes celulares da

defesa adquirida, característica dessas lesões crônicas (BABI, 1998; CUTLER, JOTWAN, 2004).

É sabido também que outros tipos celulares, como os macrófagos, podem fagocitar antígenos e expressar moléculas de MHC, possibilitando, dessa maneira, o reconhecimento prévio desses “invasores” pelos linfócitos T ativados, no entanto, apenas as células dendríticas possuem o atributo de promover a expansão desses linfócitos (WATTS, AMIGORENA, 2000).

A origem exata de algumas células apresentadoras de antígeno ainda é incerta, embora elas se desenvolvam a partir das células tronco-hematopoiética (LOWELL, 2000). No entanto, as Células de Langerhans são constituintes da família de células dendríticas, apresentadoras de antígeno, originadas na medula óssea e por possíveis precursores linfóides (WOOD et al., 1985; PINKUS, 1997; LOMBARDI, HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN et al., 1993; SHORTMAN, 2000).

As Células de Langerhans possuem como característica patognomônica, os chamados grânulos de Birbeck, esses grânulos, vistos em microscopia eletrônica de varredura, parecem estar relacionados à captura e apresentação de antígenos. Os grânulos de Birbeck são constituídos por estruturas tubulares rígidas, em forma de raquete de tênis, sendo constituída interiormente por um material fracamente eletrodense (BABI, 1998; RUIZ, 2003; LINS et al., 2003; ROMANI, 2003).

A identificação dessa célula, nos tecidos, é apenas possível através de técnicas histoquímicas, imuno-histoquímicas ou por microscopia eletrônica. A proteína S-100, proteína ácida ligada ao cálcio, vem sendo bastante utilizada em estudos imuno-histoquímicos, no entanto, esse marcador não é específico para células de Langerhans, apresentando especificidade para melanócitos, células de Schwan, condrócitos e células mioepiteliais de glândulas salivares e mamárias (AKHLAGHI DOUROV, 1995; SANTOS,

2000; LINS et al., 2003; TAKAHASHI et al., 2003; ALBUQUERQUE JR, 2003). Dessa forma, atualmente, um marcador de escolha para esse tipo celular é a molécula de superfície de glicoproteína CD1a (NOVOCASTRA, 1998; PIATTELLI et al., 2002; PEÑA-CRUZ et al., 2003).

Muitos trabalhos tentam explicar a utilização da proteína S-100 como marcador para as Células de Langerhans, referenciando e correlacionando a localização, bem como a morfologia peculiar dessas células, no tecido epitelial estudado (REICHHARDT et al., 1991; AKHLAGHI, DOUROV, 1995; SANT'ANA FILHO, ROVANI, 2000; ALBUQUERQUE JR, 2003; RUIZ, 2003; DEREKA et al., 2004; FILHO et al., 2004). Porém, no presente estudo, encontramos formas arredondadas das CLs em camadas suprabasais do epitélio cístico, localização não usual dessas células. Essas modificações fenotípicas serão explicadas adiante. É possível que as diferenças entre as imunomarcações encontradas nas Células de Langerhans da nossa pesquisa, e as encontradas na literatura, acima referenciadas, possam estar vinculadas à não especificidade de marcador.

Outros marcadores de superfície podem ser utilizados para detectar as Células de Langerhans, tais como HLA-DR, molécula de apresentação de antígeno, e o CD29, que é um sistema de ancoragem de adesão celular, bem como o CD54 para ICAM-1. No entanto, as Células de Langerhans expressam altos níveis de CD1a, langerina e E-caderina; marcadores específicos para tais células que não são encontradas em outros tipos de células dendríticas (LOMBARDI, HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN, 1993; WATTS, AMIGORENA, 2000; SÉRGUIER et al., 2003).

Estudos como os de Sugihara, Okamoto e Horio (2005) relatam a utilização da Fascina como marcador para Células de Langerhans. Entre os leucócitos, apenas as células dendríticas demonstram expressão da fascina, inclusive na participação do desenvolvimento dos dendritos das CLs, estudos em ratos (PINKUS et al., 1997; ROSS et al., 1998; ROSS et al., 2000;

FILHO et al., 2004). Como esse marcador não é específico para a Célula de Langerhans, mas também é utilizado para células interdigitantes, foliculares e “veiled cells”, é cabível que estudos que utilizem tal substância, com o intuito de revelar CL, possam apresentar um resultado falso positivo. Esta suposição foi levantada por nós, já que em um estudo piloto, realizado previamente ao desenvolvimento desta pesquisa, identificamos uma imunomarcção positiva para a fascina nos 18 casos de Granulomas Dentários e nos 26 casos de Cistos Radiculares, com densidades de marcações diferentes. Resultados diferentes foram encontrados, quando da utilização do anticorpo anti CD1a.

Responsáveis pela captura e apresentação de antígeno aos linfócitos T, as Células de Langerhans, como visto na revisão de literatura, parecem participar da patogênese de algumas doenças como a infecção pelo HIV, rinite alérgica, histiocitose, doenças periodontais, queilite actínica, líquen plano, psoríase e neoplasias (REYNOLDS et al., 1995; GUNHAN et al., 1996; KOBAYASHI et al., 1998; M. C CHARTON-BAIN et al., 1999; CHOU et al., 2000; SANTOS, 2000; TILL et al., 2001; TAKAHASHI et al., 2003; MARTINS et al., 2004; SANTOS et al., 2005; GORDON et al., 2005). Atualmente, pesquisas estão sendo desenvolvidas com o intuito de obter vacinas de células dendríticas, incluindo Células de Langerhans, para combater lesões malignas já instaladas, tipo melanoma e carcinomas de rim (DALL’OGLIO, SROUGI, BARBUTO, 2003; BARBUTO et al., 2004; NEVES et al., 2005).

Ao rever a literatura pertinente, ainda são poucos os estudos sobre Células de Langerhans em lesões periapicais crônicas (PRINGLE et al., 1992; SUZUKI et al., 2001; PIATTELLI et al., 2002; RUIZ, 2003). Dessa forma, foi estabelecida a presente pesquisa.

As Células de Langerhans foram detectadas em 69,2% dos Cistos Radiculares estudados e em 11,1% dos Granulomas Dentários, mostrando uma relação estatisticamente significativa entre imunomarcção e o tipo de lesão estudada (p -valor=0,000. Fisher). A significativa presença das Células de Langerhans nos Cistos Radiculares foi semelhante aos

achados de Akhlaghi e Dourov, (1995), Suzuki et al (2001), Piattelli et al (2002), Ruiz, (2003), e Cutler e Jotwan (2004), no entanto, a imunomarcção não foi significativa quando estudamos os Granulomas Dentários. Esse resultado, difere do observado por Suzuki et al (2001). Todos os casos de Granuloma Dentário exibiram imunomarcção discreta, já os casos de Cistos Radiculares apresentaram densidades variáveis de imunomarcção. Resultado já esperado, pois o Granuloma Dentário não possui um revestimento epitelial como o Cisto Radicular. Uma provável explicação para a imuno-marcção encontrada no Granuloma Dentário pauta-se na possível saída das Células de Langerhans dos vasos linfáticos ou sanguíneos relacionados a trajetos entre epitélio e linfonodos, ou em uma possível origem linfóide das CLs, relacionada aos linfócitos B, células predominantes nos GD, sobre estímulo de citocinas.

De acordo com Piattelli et al (2002) não detectamos a presença dessa célula dendrítica em todos os casos de Cistos Radiculares, diferentemente de Susuki et al (2001) e Ruiz (2003) que encontraram uma imunomarcção para essas células de 100% e 95% respectivamente nesse tipo de lesão. Essa redução na quantidade de células marcadas pelo CD1a pode estar vinculada à presença do reparo celular, caracterizado pela fase de quiescência ou regressão do crescimento cístico, possivelmente proporcionado pelo tratamento endodôntico convencional (SUZUKI et al., 2001; RUIZ, 2003). Também concordamos com tal hipótese, já que dos casos onde foram encontrados o material exógeno, 42,8% das lesões exibiram densidade discreta ao CD1a nos campos representativos estudados.

Outra hipótese, para a redução das Células de Langerhans, em alguns Cistos Radiculares foi proposta por Babi (1998) e Lins et al (2003). Eles acreditam que a redução das CLs aconteça devido a um processo de apoptose celular após a apresentação de antígeno às células T CD4+. Além disso, a própria variação de técnica e métodos, bem como a sensibilidade da imuno-histoquímica pode ser um fator de interferência (LOMBARDI,

HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN, 1993). Séguier et al (2000) sugerem ainda que essa diminuição numérica das Células de Langerhans também possa estar vinculada à migração destas células para os linfonodos regionais após a sua ativação pelo contato com os patógenos externos.

Apesar de encontramos uma possível relação indireta entre substâncias terapêuticas específicas, como materiais obturadores endodônticos, e o decréscimo das Células de Langerhans, relação essa também identificada por Ruiz (2003), ainda não sabemos se fármacos podem interferir nesse decréscimo ou acréscimo de forma direta nas lesões de boca.

Já em lesões de pele, parece que fármacos podem interferir na contagem dessa população celular. O Imiquimod [1-(2-metilpropil)-1H-imidazol[4,5c]quinolina-4-amina] é um modificador da resposta imune, que tem efeitos anti-tumorais e antivirais comprovados em modelos animais, usado como tratamento tópico de feridas genitais e perianais externas. Biologicamente, essa substância parece induzir algumas citocinas como interferon alfa (IFN- α), fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina 1 alfa (IL- α), IL-6 e IL-8. Essa substância, quando utilizada, diminui a densidade de CD1a na pele tratada. Existe um decréscimo das células de Langerhans 48 horas depois do tratamento com imiquimod e uma alteração morfológica nas CL restantes. Estas células aparentam-se mais largas, com mais processos dendríticos que outras não submetidas ao tratamento pela substância em questão, provavelmente para compensar a diminuição numérica dessas células no local de defesa. A diminuição local das Células de Langerhans parece estar relacionada ao poder que o imiquimod tem sobre a migração dessas para os linfonodos regionais (SUSUKI et al., 2000).

As Células de Langerhans encontram-se no epitélio estratificado pavimentoso da epiderme e em mucosas de tecidos como boca, esôfago e orofaringe, existindo assim grande possibilidade de contato com qualquer antígeno que atravesse essas barreiras naturais do

organismo (ZAMBURGO et al., 1995; CORONATO et al., 1998; HOLIKOVÁ et al., 2001; DALE, 2003).

Segundo Cutler e Jotwan (2004), no epitélio estratificado pavimentoso, as CLs encontram-se distribuídas na camada basal e suprabasal podendo concentrar-se em regiões distintas dentro desse epitélio. Encontramos as Células de Langerhans em maior quantidade no revestimento epitelial quando em comparação com as zonas subepiteliais, e semelhantemente aos estudos de Suzuki et al (2001), Piattelli et al (2002) e Ruiz (2003), constatamos uma maior presença dessas CLs na região intermediária e basal do epitélio (Gráfico 2).

Dependendo da sua localização no epitélio, essas células assumem formas predominantes. Assim, as Células de Langerhans podem se apresentar de duas maneiras: uma constituída por muitos prolongamentos dendríticos, com citoplasma eletrolúcido, numerosos grânulos de Birbeck e geralmente encontradas na camada subbasal do epitélio; e outra com poucos dendritos, caracterizada por um citoplasma mais eletro-denso, poucos grânulos de Birbeck e usualmente localizadas na camada basal (LOMBARDI, HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN, 1993).

Essa morfologia das Células de Langerhans, como visto anteriormente, varia de acordo com seu grau de maturação. A forma madura caracteriza-se por possuir um aspecto irregular, estrelado e com prolongamentos citoplasmáticos longos e delgados, encontrados geralmente nas camadas suprabasais do epitélio. Já a forma imatura apresenta-se mais regular com formato arredondado, pouca quantidade ou ausência de prolongamentos dendríticos com localização preferencial na camada basal do epitélio (LOMBARDI, HAUSER, BUDTZ-JORGENSEN, 1993; SÉRGUIER et al., 2000; ROMANI et al., 2003; LINS et al., 2003). Semelhante aos achados de Akhlaghi e Dourov (1995) e de Ruiz (2003), essas células dendríticas não foram localizadas apenas na camada basal, mas espalhadas por todo o epitélio.

Além disso, também observamos a presença de Células de Langerhans com um formato arredondado na camada intermediária e superficial do epitélio. Este achado pode ser explicado por Sérquier et al (2000) que hipotetizaram uma diminuição da expressão de algumas moléculas de superfície, ou seja, uma modificação estrutural dessas células, no momento da apresentação de antígenos aos Linfócitos T, permitindo um menor estímulo imunológico e uma maior especialização na apresentação antigênica.

Apesar de encontrarmos uma maior densidade de Células de Langerhans em lesões com infiltrado inflamatório intenso (50%) e em lesões com infiltrado moderado (30%), conforme os estudos de Pringle et al (1992), Suzuki et al (2001), Albuquerque Jr (2003) e Ruiz (2003), os testes estatísticos não evidenciaram correlação significativa entre esse infiltrado inflamatório e a densidade da imunomarcção. Essa falta de associação estatística também foi encontrada por Piattelli et al (2002).

Albuquerque Jr (2003), justifica a correlação positiva entre quantidade de células de Langerhans e infiltrado inflamatório ao fato de existir uma alta atividade antigênica nos infiltrados inflamatórios intensos, conseqüentemente necessitando de uma maior quantidade de Célula de Langerhans para apresentá-los aos linfócitos. No entanto, acreditamos que a intensidade inflamatória não só está ligada a um aumento da quantidade de antígeno na lesão, mas também a uma resposta exacerbada dos mecanismos de defesa de um indivíduo.

Alguns autores correlacionam a espessura do epitélio com a intensidade inflamatória da lesão (MOREIRA et al., 2000; SUSUKI et al., 2001). Segundo estes autores o estímulo inflamatório proporcionado, principalmente pelos fatores de crescimento e citocinas, estimula a proliferação epitelial. Suzuki et al (2001) encontraram uma correlação direta estatisticamente significativa entre a densidade de marcação para o CD1a e o potencial proliferativo epitelial em Cistos Radiculares, Cistos Residuais e Granuloma epitelizado. Identificamos essa relação entre imunomarcção positiva e epitélio hiperplásico em 50% dos

casos de Cistos Radiculares do nosso estudo, apesar de não ser estatisticamente significante. Tal resultado pode ser explicado pela possível involução das lesões estudadas, caso o tratamento endodôntico convencional tenha sido realizado, corroborando mais uma vez com o estudo de Ruiz (2003).

Como relatado anteriormente, alguns achados morfológicos dos Granulomas Dentários e Cistos Radiculares, como cristais de colesterol e macrófagos espumosos podem influenciar na patogênese de tais lesões, bem como as Células de Langerhans. Por isso, tentamos aventar possíveis relações entre essas células dendríticas e alguns aspectos morfológicos encontrados em colorações rotineiras de H&E.

Sabendo que os macrófagos espumosos foram mais encontrados em lesões com infiltrado inflamatório moderado a intenso, e que existe uma possível relação direta entre Células de Langerhans e inflamação, resolvemos pesquisar a relação dessas células com os macrófagos espumosos. Das nove lesões onde foram identificados os macrófagos espumosos, 4 (44,4%) tiveram marcação positiva para o CD1a, com 50% de densidade discreta de marcação e 50% de densidade intensa. Não encontramos correlação estatística entre essas duas células, no entanto, acreditamos que devido à pequena amostra de casos contendo macrófagos espumosos, outros estudos devem ser desenvolvidos para elucidar tais questionamentos.

Das lesões positivas para os cristais de colesterol, 50% dos casos apresentaram marcação positiva para o CD1a, com densidade intensa de marcação. Dessas lesões, 50% dos casos possuíam um infiltrado inflamatório moderado e os outros 50% um infiltrado inflamatório intenso.

Por fim, mediante os resultados inferidos nesse estudo, acredita-se que as Células de Langerhans tenham influência na patogênese das lesões periapicais estudadas, principalmente nos Cistos Radiculares. Em adição, outros estudos envolvendo novos receptores celulares

como aqueles identificados como *Toll-like*, responsáveis pelo controle e ativação das células dendríticas (BARTON, MEDZHITOV, 2002; KOOP, MEDZHITOV, 2003), possam ser estabelecidos na tentativa de se conhecer o comportamento das lesões periapicais crônicas frente a outros reguladores diretos da resposta imune.

7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- Houve uma associação estatisticamente significativa entre a marcação positiva do CD1a e o tipo de lesão. Esse anticorpo foi detectado em 11,1% dos Granulomas Dentários e em 69,2% dos Cistos Radiculares;
- No Granuloma Dentário, as imunomarcações para o anticorpo CD1a foram encontradas no tecido de granulação;
- No Cisto Radicular, a imunomarcação para o anticorpo CD1a foi detectada em todas as camadas epiteliais, bem como no tecido de granulação e cápsula. No epitélio, predominou nas camadas intermediária (29,6%) e basal (25,9%);
- Todas as imunomarcações no Granuloma Dentário tiveram densidade discreta, diferentemente das imunomarcações dos Cistos Radiculares, onde predominaram as densidades discreta e intensa;
- Não foi encontrada correlação estatística entre densidade de imunomarcação e espessura de epitélio;
- Não foi identificada correlação estatística entre densidade de imunomarcação e intensidade inflamatória;
- Existiu uma associação estatística entre células vacuolizadas e células mucosas;
- Não foi encontrada correlação estatística entre cristais de colesterol e macrófagos espumosos;
- Não foi identificada correlação estatística entre Corpúsculo de Rhuson e células em apoptose;
- Não foi encontrada correlação estatística entre macrófagos espumosos, cristais de colesterol e material exógeno, por vezes mineralizado, para com a imunomarcação do CD1a;

-As Células de Langerhans parecem estar reduzidas em lesões provavelmente tratadas endodonticamente.

REFERÊNCIAS

- AKHLAGHI, N; DOUROV, N. Langerhans cells in odontogenic cysts. A retrospective study based on 142 cases. **International Research Science Stomatology et Odontology**. V. 38, n. 3-4, 1995.
- AKIMOTO, Yoshiaki, et al. Ampicillin concentrations in radicular cysts following a single oral administration of bacampicillin. **Gen. Pharmacology**. V. 24, n. 4, p. 895-898, 1993.
- ALBUQUERQUE JR, et al. Correlation of c-erbB-2 and S-100 expression with the malignancy grading and anatomical site in oral squamous cell carcinoma. **International Journal Experimental Patology**. V. 84, p. 259-265, 2003.
- AL-DHAHIR, W; ALASHARI, M; FISHER, J. Langerhan's cell histiocytosis of lymph nodes epithelioid granulomatous pattern: a teaching case. **Applied immunohistochemistry e Molecular Morphology**. V. 7, n. 3, p. 242-243, 1999.
- BABI, Luis F. S. Las células de Langerhans en la inmunidad cutánea. Con especial referencia a la dermatitis atópica. **Acta Dermatológica**. V. 3, p. 173-181, 1998.
- BALDRICH, E. El mastocito. **Actualidad dermatológica**. V. 22, p. 159-164, 1994.
- BARBUTO, J. A. M et al. Complete response of metastatic renal cancer with dendritic cell vaccine. **International Brazilian Journal Urology**. V. 29, p. 517-519, 2003.
- BARTNICK, A et al. Oral Langerhans cell histiocytosis. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**. V. 30, p. 91-96, 2002.
- BATES, D e HARPER, S. Regulation of vascular permeability by vascular endothelial growth factors. **Vascular Pharmacology**. V. 39, p. 225-237, 2003.
- BARTON, G; MEDZHITOV, R. Control of adaptive immune responses by Toll-like receptors. **Current Opinion in Immunology**. V. 14, p. 380-383, 2002.
- BELSITO, D. V, et al. Reduced Langerhans' cells Ia antigen and ATPase activity in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. **Eng Journal Medicine**. V. 310, n. 20, p. 1279-1282, 1984.
- BODNER, Lipa. Cystic lesions of the jaws in children. **International Journal of pediatric otorhinolaryngology**. V. 62, p. 25-29, 2002.
- ÇALISKAN, M. K. Prognosis of large cyst-like periapical lesions following nonsurgical root canal treatment: a clinical review. **International Endodontic Journal**. V. 37, p. 408-416, 2004.
- ÇALISKAN, M. K; TURKEY, I. Nonsurgical retreatment of teeth with periapical lesions previously managed by either endodontic or surgical intervention. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology endodontics**. V. 100, p. 242-248, 2005.

CELLA, M, et al. Inflammatory stimuli induce accumulation of MHC class II complexes on dendritic cells. **Nature**. V. 388, p. 782-786, 1997.

CHOU, L. L, et al. Oral mucosal Langerhans cells as target, effector and vector in HIV infection. **Journal Oral Pathology Medicine**. V. 29, p. 394-402, 2000.

COHEN, M. A review of Rushton Hyaline Bodies. **Diastema**. V. 4, n. 4, p. 30-36, 1976.

CORONATO, S et al. Dendritic cells and their role in pathology. **Medicina (B Aires)**. V. 58, n. 2, p. 209-218, 1998.

COTTI, E, et al. Ultrasound real-time imaging in the differential diagnosis of periapical lesions. **International Endodontic Journal**. V. 36, p. 556-563, 2003.

CUTLER, C. W; JOTWANI, R. Antigen-presentation and the role of dendritic cells in periodontitis. **Periodontology**. V. 35, p. 135-157, 2004.

DABADGHAO, S, et al. Anti-idiotypic T-cell activation in multiple myeloma induced by M-component fragments presented by dendritic cells. **British Journal of Haematology**. V. 100, p. 647-654, 1998.

DALE, B. A. Fascination with epithelia: architecture, proteins, and functions. **Journal Dentistry Research**. V. 82, n. 11, p. 866-869, 2003.

DALL'OGGIO, M; SROUGI, M; BARBUTO, J. A. M. Dendritic cell-tumor cell hybrid vaccination for metastatic cancer. **Cancer Immunology Immunother**. V. 53, n. 12, p. 1111-1118, 2004.

DELBEM, A. C. B, et al. Conservative treatment of a radicular cyst in a 5-year-old child: a case report. **International Journal of Paediatric Dentistry**. V. 13, p. 447-450, 2003.

DEREKA, X.E et al. Factor XIIIa+ dendritic cells and S-100 protein+ Langerhans' cells in adult periodontitis. **Journal Periodontology Research**. V. 39, p. 447-452, 2004.

DUTRONC, Y; PORCELLI, S. A. The CD1 family and T cell recognition of lipid antigens. **Tissue Antigens**. V. 60, p. 337-353, 2002.

ECKARDT, A e SCHULTZE, A. Maxillofacial manifestations of Langerhans cell histiocytosis: a clinical and therapeutic analysis of 10 patients. **Oral Oncology**. V. 39, p. 687-694, 2003.

EL-LABBAN, N.G. Electron microscopic investigation of hyaline bodies in odontogenic cysts. **Journal of Oral Pathology**. V. 8, n.2, p. 81-93, 1979.

FIGUEIREDO, C. R. L. V; SANTOS, J. N; ALBUQUERQUE JR, R. L. C. Mecanismos imunopatológicos de formação e expansão do cisto radicular: uma abordagem atual. **RPG Revista Pós Graduação**. V. 6, n. 2, p. 180-187, abr/jun, 1999.

FILHO, J. A. X et al. Células de Langerhans no epitélio da prega vocal humana: estudo imunoistoquímico. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**. V. 70, n. 5, p. 584-588, 2004.

FREITAS, A, et al. **Radiologia odontológica**. Ed. Artes médicas, SP, 1998.
GÁLVEZ-GASTÉLUM; SANDOVAL-RODRÍGUEZ, A. S; ARMENDÁRIZ-BORUNDA.
El factor de crecimiento transformante b como blanco terapéutico. **Salud Pública de México**. V. 46, n. 4, Jul/Ago, 2004.

GENCO, R. J. Host Responses in Periodontal Diseases: Current Concepts. **Journal of Periodontology** on CD-ROM. P. 338-355, 1992.

GORDON, K. B et al. The tumor necrosis factor- α inhibitor adalimumab rapidly reverses the decrease in epidermal Langerhans cell density in psoriatic plaques. **British Journal of Dermatology**. V. 153, p. 945-953, 2005.

GOTZ, W, et al. Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor-II and its binding protein-6 in human epithelial cells of malassez. **European Journal of Oral Sciences**. V. 111, p. 26-33, 2003.

GUNHAN, M et al. Gingival Langerhans' Cells in Type I Diabetes Mellitus. **Journal of Periodontology on CD-ROM**. P. 37-40, 1996.

HAGLUND, R et al. Effects of root-filling materials on fibroblasts and macrophages in vitro. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology endodontics**. V. 95, p. 739-745, 2003.

HISATOMI, M, et al. MR imaging of epithelial cysts of the oral and maxillofacial region. **European Journal of Radiology**. V. 48, p. 178-182, 2003.

HOGARTH, A; NEWCOMB, G. M. The effect of long-wave ultraviolet radiation on gingival Langerhans cells. **Australian Dental Journal**. V. 28, n. 3, 1983.

HONG, C. Y, et al. The role of lipopolysaccharide in infectious bone resorption of periapical lesion. **Journal oral pathology and medicine**. V. 33, p. 162-169, 2004.

HOLÍKOVÁ, Z et al. Dendritic cells in the skin and mucosa: what's new. **Journal European Academy of Dermatology and Venerology**. V. 15, p. 116-120, 2001.

HUUMONEN, S e ORSTAVIK, D. Radiological aspects of apical periodontitis. **Endodontic Topics**. V. 1, p. 3-25, 2002.

JÚNIOR, S e DANTAS, S. **Inflamação: aspectos biodinâmicos das respostas inflamatória e imunológica**. Ed. Pedro primeiro, RJ, 1996.

KANYAMA, M et al. Connective tissue growth factor expressed in rat alveolar bone regeneration sites after tooth extraction. **Archives of Oral Biology**. V. 48, p. 723-730, 2003.

KATCHBURIAN, E; ARANA, V. **Histologia e Embriologia Oral: texto – atlas**. São Paulo: Panamericana, 1999.

- KNIGHT, S. C, et al. HIV infection of dendritic cells. **Rev. Immunology**. V. 6, n. 2-3, p. 163-175, 1990.
- KOBAYASHI, K, et al. Detection of *Helicobacter pylori* associated antigen and heat shock protein 60 on follicular dendritic cells in the germinal centers of low grade B cell lymphoma of gastric mucosa associated lymphoid tissue (MALT). **Journal Clinic Pathology**. V. 51, p. 396-398, 1998.
- KOOP, E; MEDZHITOV, R. Recognition of microbial infection by Toll-like receptors. **Current Opinion in Immunology**. V. 15, p. 396-401, 2003.
- KRAMER, I. The WHO Histological Typing of Odontogenic Tumours. **Cancer**. V. 70, n. 12, Dezembro, 1992.
- KUSUMI, A, et al. High IL-6 synthesis in cultured fibroblasts isolated from radicular cysts. **Archives of Oral Biology**. V. 49, p. 643-652, 2004.
- LEVINE, D. F, et al. The effect of FIV infection on CD4+ and CD8+ counts in periradicular lesions. **International Endodontic Journal**. V. 34, p. 586-593, 2001.
- LIN, et al. Sequential expressions of MMP-1, TIMP-1, IL-6, and COX-2 genes in induced periapical lesions in rats. **European Journal Oral Science**. V. 110, p. 246-253, 2002.
- LINS, Ruthinéia D. A, et al. Células dendríticas: origem, distribuição, morfologia, estrutura, atividade funcional e métodos de identificação- uma revisão. **Revista brasileira de patologia oral**. V. 2, n. 3, p. 29-35, 2003.
- LOMBARDI, T; HAUSER, C; BUDTZ-JORGENSEN, E. Langerhans cells: structure, function and role in oral pathological conditions. **Jornal Oral Pathology Medicine**. V.22, p. 193-202, 1993.
- LORO, L. L; VINTERMYR, O. K; JOHANNSEN, A. C. Apoptosis in normal and diseased oral tissues. **Oral Diseases**. V. 11, p. 274-287, 2005.
- LOWELL, C. Fundamentos de Biologia das Células Sanguíneas. In: STITES, D et al. **Imunologia Médica**. Ed Guanabara Koogan, 9ª edição, RJ, 2000.
- LOYOLA, A. M et al. Apoptosis in epithelial cells of apical radicular cysts. **International Endodontic Journal**. V. 38, p. 465-469, 2005.
- MANZANO, R et al. Cistos odontogênicos: avaliação clínica de 26 casos operados. **Revista Brasileira Cirurgia Periodontia**. V. 3, n. 1, p. 234-237, 2003.
- MCCUTCHEON, J. A, et al. Identification of $\gamma\delta$ T lymphocytes in human periapical lesions. **Oral microbiology and immunology**. V. 19, p. 106-110, 2004.
- MARTINS, M. T, et al. Dendritic cell sarcoma of the oral cavity. **Oral Oncology**. V. 40, p. 341-347, 2004.

MÁRTON, I. J; KISS, C. Protective and destructive immune reactions in apical periodontitis. **Oral microbiology and immunology**. V. 15, p. 139-150, 2000.

MÁRTON, I; NEMES, Z; HARMATI, S. Quantitative significance of IgE- producing plasma cells and tissue distribution of mast cells in apical periodontitis. **Oral Microbiology Immunology**. V. 5, p. 46-48, 1990.

MÁRTON et al. Differential *in situ* distribution of interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and Rantes in human chronic periapical granuloma. **Oral Microbiology Immunology**. V. 15, p. 63-65, 2000.

MEGHJI, S, et al. The role of endotoxin and cytokines in the pathogenesis of odontogenic cysts. **Arquive oral biology**. V.41, n.6, p.523-531, 1996.

MELO, F. C. C et al. Granuloma periapical: análise de 150 casos. **Revista Brasileira de Patologia Oral**. V. 2, n. 2, p. 2-7, Jul/Set, 2003.

METZGER, Z. Macrophages in periapical lesions. **Dental Traumatology**. V. 16, p. 1-8, 2000.

M C CHARTON-BAIN et al. Reduced number of Langerhans cells in oesophageal mucosa from AIDS patients. **Histopathology**. V. 34, p. 399-404, 1999.

MIDWOOD, K et al. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. V. 36, p. 1031-1037, 2004.

MILIÁN M. A et al. Langerhans cell histiocytosis restricted to the oral mucosa. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**. V. 91, n. 1, p. 76-79, 2001.

MIYAGI, J et al. Extremely high Langerhans cell infiltration contributes to the favourable prognosis of HPV- infected squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung. **Histopathology**. V. 38, p. 355-367, 2001.

MOLLER, et al. Apical periodontitis development and bacterial response to endodontic treatment. Experimental root canal infections in monkeys with selected bacterial strains. **European Journal Oral Science**. V. 112, p. 207-215, 2004.

MOLYNEUX, G. Hyaline bodies in the wall of dental cysts. **Australian Dental Journal**. V. 2, p. 155-157, 1957.

MOREIRA, P. R et al. CD57+ cells in radicular cyst. **International Endodontic Journal**. V. 33, p. 99-102, 2000.

NOVOCASTRA. Immunohistochemistry, virology/microbiology, *in situ* hybridization, flow cytometry. Product catalogue, 1998.

NAIR, P. N. R. New perspectives on radicular cysts: do they heal?. **International Endodontic Journal**. V. 31, p. 155-160, 1998.

NAIR, P. N. R, et al. Types and incidence of human periapical lesions obtained with extracted teeth. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, endodontics**. V. 81, n. 1, p. 93-102, 1996.

NAIR, P. N. R; SJOGREN, U; SUNDQVIST, G. Cholesterol crystals as an etiological factor in non resolving chronic inflammation: an experimental study in guinea pigs. **European Journal Oral Science**. V. 106, p. 644-650, 1998.

NAIR, P. N. R et al. Ciliated epithelium-lined radicular cysts. **Oral Surgery, oral medicine, oral pathology, Oral Radiology Endodontic**. V. 94, n. 4, p. 485-493, 2002.

NAUM, P. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. v. 23, n. 2, p. 15-23, 2001.

NELL, A et al. Enhancement of human dental cyst PGI₂ formation by platelet derived growth factor and its role in cyst growth and bone resorption. **Archives of Oral Biology**. V. 34, n. 3, p. 187-190, 1989.

NETO, V. M; GOMES, F. C. A. Fator de crescimento do tecido conjuntivo. **Ciência Hoje**. V. 32, n. 187, Out, 2002.

NEVES, A. R, et al. Dendritic cells derived from metastatic câncer patients vaccinated with allogeneic dendritic cell-autologous tumor cell hybrids Express more CD68 and induce higher levels of interferon-gamma in mixed lymphocyte reactions. **Cancer Immunology Immunother**. V. 54, n. 1, p. 61-66, 2005.

NEVILLE, B. W, et al. **Patologia Oral e Maxilofacial**. Ed. Guanabara Koogan, RJ, 1998.

NEVINS, A. J, et al. Sensitization via IgE-mediated mechanism in patients with chronic periapical lesions. **Journal of endodontics**. V. 11, n. 5, May, 1985.

NDIAYE FATY, et al. Diagnostic et traitement des kystes epitheliaux non odontogenes. **Odonto-Stomatologie Tropicale**. N. 91, p. 27-30, 2000.

NICKOLAYCHUK, B, et al. Evidence for a role of mitogen-activated protein kinases in proliferating and differentiating odontogenic epithelia of inflammatory and developmental cysts. **Oral Surgery, oral medicine, oral pathology**. V. 93, n. 6, p. 720-728, 2002.

OLIVEIRA, J. A; COSTA, I. M; LOYOLA, A. M. Squamous odontogenic tumor-like proliferation in residual cyst: case report. **Brazilian Dental Journal**. V. 6, n. 1, p. 59-64, 1995.

OLIVEIRA, M. D. C, et al. Immunohistochemical study of components of the basement membrane in odontogenic cysts. **Pesquisa odontológica brasileira**. V. 16, n. 2, p. 157-162, 2002.

OLIVEIRA, M. D. C, et al. Tenascin and Fibronectin expression in odontogenic cysts. **Journal Oral Pathology and Medicine**. V. 33, p. 354-359, 2004.

PEÑA-CRUZ et al. Epidermal Langerhans Cells Efficiently Mediate CD1a-Dependent Presentation of Microbial Lipid Antigens to T Cells. **The Journal of Investigative Dermatology**. V. 121, n. 3, p. 517-521, 2003.

PESCE, C e FERLONI, M. Apoptosis and Rushton body formation. **Histopatologia**. V. 40, n. 1, p. 109-111, 2002.

PETERSON. L, et al. **Cirurgia oral e maxilofacial contemporânea**. 3ed Guanabara Koogan, RJ, 2001.

PHILIPPI, C. K et al. Distribution of CD8 and CD20 Lymphocytes in Chronic Periapical Inflammatory Lesions. **Brazilian Dental Journal**. V. 14, n. 3, p. 182-186, 2003.

PHILIPSEN, H. P, et al. The inflammatory paradental cyst: a critical review of 342 cases from a literature survey, including 17 new cases from the autor's files. **Journal oral pathology Medicine**. V. 33, p. 147-155, 2004.

PHILIPSEN, Hans P, et al. Adenomatoid odontogenic tumor mimicking a periapical (radicular) cyst: a case report. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology**. V. 94, n. 2, p. 246-248, 2002.

PIATTELLI, A, et al. Expression of transforming growth factor-beta 1 (TGF-b1) in odontogenic cysts. **International Endodontic Journal**. V. 37, p. 7-11, 2004.

PIATTELLI, A, et al. CD1a-positive cells in odontogenic cysts. **Journal Endodontic**. V. 28, n. 4, p. 267-268, 2002.

PINKUS, G. S et al. Fascin, a sensitive new marker for Reed-Stemberg Cells of Hodgkin's Disease. **American Journal of Pathology**. V. 150, n. 2, p. 543-562, 1997.

PINTO JR, D.S et al. A célula de Langerhans e o prognóstico dos carcinomas epidermóides bucais. **RPG**. V. 1, n. 2, p. 10-13, 1994.

PRADO; SALIM. **Cirurgia Buco Maxilofacial. Diagnóstico e tratamento**. Ed. Medsi, Rj, 2004.

PRINGLE et al. Langerhan's cell histiocytosis in association with periapical granulomas and cyst. **Oral surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**. V. 74, n.2, p. 186-192, 1992.

PULHEZ, Dawton. A. **Análise Imunohistoquímica de Granulomas Periapicais, Cistos Radiculares e Cistos Residuais**. 2004. 63f. Dissertação (Mestrado em Estomatologia). Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

REICHHARDT, M et al. Células de Langerhans na Gengiva Inflamada. Identificação por meio da proteína S-100 das células de Langerhans na gengiva inflamada. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**. V. 45, n. 2, p. 425-428, 1991.

REYNOLDS, N. J, et al. Down-regulation of Langerhans cell protein kinase C- β isoenzyme expression in inflammatory and hyperplastic dermatoses. **British Journal of Dermatology**. V. 133, p. 157-167, 1995.

RICHARDSON, J e MORGAN, P. Foam cell transformation in periapical lesions of endodontic origin. **Journal of endodontics**. V. 8, n. 12, December, 1982.

ROBINS e COTRAN. Tecido de renovação e reparação: regeneração, cicatrização e fibrose. In: **Bases patológicas das doenças**. Rio de Janeiro, ed: Elsevier, 2005.

ROCHA, R; ROSA, O. P. S; MITSUMAGA, M. A. Detecção de anticorpos IgG para *Porphyromonas gingivalis* (*Bacterioides gingivalis*) e *Prevotella intermedia* (*Bacterioides intermedius*) em lesões periapicais crônicas pela técnica de imunofluorescência indireta. **Revista da Faculdade de Odontologia de Bauru**. V. 1, n.1, 1993.

RODINI, C. O; LARA, U. S. 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 medicine, oral pathology**. v. 97, n. 1, Jan, 2004.

ROMANI, N et al. Langerhans cells- dendritic cells of the epidermis. **APMIS**. V. 111, p. 725-740, 2003.

ROSS, R et al. Expresión of the Actin-Bundling protein fascin in cultured human dendritic cells correlatos with dendritic morphology and cell differentiation. **The Journal of investigative dermatology**. V. 115, p. 658-663, 2000.

ROSS, R et al. The Actin-Bundling Protein Fascin Is Involved in the Formation of Dendritic Processes in Maturing Epidermal Langerhans Cells. **The journal of immunology**. V. 160, p. 3776-3782, 1998.

RUIZ, P. A, et al. Fatores relacionados à regressão não-cirúrgica dos cistos radiculares. **Revista brasileira de patologia oral**. V. 2, n. 1, p. 39-46, Jan/Mar, 2003.

RUIZ, Patrícia Alvarez. **Expressão imuno-histoquímica das células de Langerhans e linfócitos em cistos periapicais de dentes tratados ou não endodonticamente**. 2003. 118f. Dissertação (Mestrado em Clínicas Odontológicas) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

SANT'ANA FILHO, M; ROVANI, G. Avaliação quantitativa das Células de Langerhans no Carcinoma Verrucoso e no epitélio normal adjacente. **RPG – Revista de Pós Graduação**. V. 7, n. 3, p. 225-229, 2000.

SANTOS, J. N. **Expressão imuno-histoquímica de citoqueratinas, CD1a, S-100, p53, p21, PCNA e Ki-67 em queilite actínica**. 2000. 105f. Tese (Doutorado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SANTOS, L. G; BORGES, J. A. L; RIBEIRO, T. B. Sarcoma de células dendríticas foliculares extranodal. **Brasilian Patology Medicine Lab**. V. 41, n. 2, p. 125-129, Abril, 2005.

- SASAKI, H et al. Gamma Interferon (IFN- γ) and IFN- γ inducing cytokines interleukin-12 (IL-12) and IL-18 do not ament infection-stimulated bone resorption in vivo. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**. V. 11, n. 1, p. 106-110, 2004.
- SÉRGUIER, S et al. Langerin+ versus CD1a+ Langerhans cells in human gingival tissue: a comparative and quantitative immunohistochemical study. **Archives of Oral Biology**. V. 48, p. 255-262, 2003.
- SÉRGUIER, S et al. Quantitative morphological análisis of Langerhans cells in health and diseased human gingiva. **Archives of Oral Biology**. V. 45, p. 1073-1081, 2000.
- SHEAR, M; DENT. Secretory epithelium in the lining of dental cysts. **The Journal of the Dentistry Association South Africa**. V. 15, p. 117-122, 1960.
- SHORTMAN, K. Dendritic cells: Multiple subtypes, multiple origins, multiple functions. **Immunology and Cell Biology**. V. 78, p. 161-165, 2000.
- SIESSEGGER, M et al. Monolocular Langerhans cell histiocytosis of the mandibular condyle. A case report. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. V. 40, p. 516-518, 2002.
- SILVA, F. M; BARONI, E. J; CABRAL, R. J. B. Abordagem do tratamento de lesões císticas. **Revista odontológica de Araçatuba**. V. 23, n. 1, p. 33-37, 2002.
- SIQUEIRA JR, J. F. Aetiology of root canal treatment failure: why well-treated teeth can fail. **International Endodontic Journal**. V. 34, p. 1-10, 2001.
- SJOGREN, U, et al. Bone-resorbing activity from cholesterol-exposed macrophages due to enhanced expression of interleukin-1 α . **Journal Dentistry Research**. V. 11, n. 1, p. 11-16, 2002.
- SLABBERT, H et al. Vacuolated cells and mucous metaplasia in the epithelial linings of radicular and residual cysts. **Journal Oral Pathology Medicine**. V. 24, n. 7, p. 309-312, 1995.
- SOUZA, M. E, et al. Lesões periapicais: estudo epidemiológico. **Revista brasileira de patologia oral**. V. 2, n. 1, p. 30-34, Jan/Mar, 2003.
- SPORRI, B et al. Reduced number of Langerhans cells in oral mucosal washings from HIV-1 seropositives. **Journal Oral Pathology Medicine**. V. 23, n. 9, p. 399-402, 1994.
- STEINMAN, R. M. Some interfaces of dendritic cell biology. **APMIS**. V. 111, p. 675-697, 2003.
- STITES, D et al. **Imunologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.
- STASHENKO, P; TELES, R; D'SOUZA, R. Periapical inflammatory Responses and their modulation. **Crit Reviews in Oral Biology Medicine**. V. 9, n. 4, p. 498-521, 1998.

SUGIHARA, A; OKAMOTO, H; HORIO, T. Effects of UVB on fascin expression in dendritic cells and Langerhans cells. **Journal of Dermatological Science [on line]**. P. 1-9, 2005.

SUZUKI, H et al. Imiquimod, a topical immune response modifier, induces migration of Langerhans Cells. **The Journal of Investigative Dermatology**. V. 114, n. 1, p. 135-141, 2000.

SUZUKI, T et al. Immunohistochemical análisis of CD1a-labeled Langerhans cells in human dental periapical inflammatory lesions – correlation with inflammatory cells and epithelial cells. **Oral Diseases**. V. 7, p. 336-343, 2001.

SUZUKI, T et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and heat shock proteins in periapical inflammatory lesions. **Journal Oral Pathology Medicine**. V. 31, p. 488-493, 2002.

SUZUKI, T et al. Immunohistochemical analysis of apoptosis-related factors in lining epithelium of radicular cysts. **Journal Oral Pathology**. V. 34, p. 46-52, 2005.

TAKAHASHI, K et al. Detection of IgA subclasses and J Chain mRNA Bearing Plasma Cells in Human Dental Periapical Lesions by In Situ Hybridization. **Journal Endodontic**. V. 23, n. 8, August, 1997.

TAKAHASHI, K et al. Cell synthesis, proliferation and apoptosis in human dental periapical lesions analysed by *in situ* hybridization and immunohistochemistry. **Oral Diseases**. V. 5, p. 313-320, 1999.

TAKAHASHI, K et al. Diagnostic confirmation of Langerhans Cell Histiocytosis of the jaws with CD1a Immunostaining: A Case Report. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**. V. 61, p. 118-122, 2003.

TAKEDA, Y et al. Mucous and ciliated cell metaplasia in epithelial linings of odontogenic inflammatory and developmental cysts. **Journal Oral Science**. V. 47, n. 2, p. 77-81, 2005.

TAKIGUCHI, M, et al. Radicular cyst associated with a primary molar following pulp therapy: a case report. **International Journal of Paediatric Dentistry**. V. 11, p. 452-455, 2001.

TAYLOR, A. M, et al. Quistes odontogénicos. Análisis de 856 casos. **Medicina oral**. V. 7, p. 89-96, 2002.

TEN CATE AR. The epithelial cell rests of Malassez and the genesis of the dental cyst. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**. V. 34, p. 956-964, 1972.

TILL et al. Recruitment of CD1a+ Langerhans cells to the nasal mucosa in seasonal allergic rhinitis and effects of topical corticosteroid therapy. **Allergy**. V. 56, p. 126-131, 2001.

TORABINEJAD. M; BAKLAND, L. K. Immunopathogenesis of chronic periapical lesions. **Oral Surgery**. V. 46, n. 5, p. 685-699, 1978.

TURVILLE, S. G, et al. Diversity of receptors binding HIV on dendritic cell subsets. **Nat Immunology**. V. 3, n. 10, p. 975-983, 2002.

TSAI, C et al. Immunohistochemical localization of tissue-type plasminogen activator and type I plasminogen activator inhibitor in radicular cysts. **Journal Oral Pathology Medicine**. V. 33, p. 156-161, 2004.

UEDA, I ; MATSUSHIMA, K. Stimulate of plasminogen activation activity and matrix metalloproteinases of human dental pulp derived cells by tumor necrosis factor- α . **Journal Endodontics**. V. 27, p. 175-179, 2001.

VANDENABEELE, S; WU, L. Dendritic cell origins: Puzzles and paradoxes. **Immunology and Cell Biology**. V. 77, p. 411-419, 1999.

VERRECCHIA, F; MAUVIEL, A. TGF- β and TNF- α : antagonistic cytokines controlling type I collagen gene expression. **Cellular Signalling**. V. 16, p. 873-880, 2004.

VIER, F. V; FIGUEIREDO, J. A. P. Prevalence of different periapical lesions associated with human teeth and their correlation with the presence and extension of apical external root resorption. **International Endodontic Journal**. V. 35, p. 710-719, 2002.

VILLA, I et al. Capacity of mouse mast cells to prime T cells and to induce specific antibody responses in vivo. **Immunology**. V. 102, p. 165-172, 2001.

WAHLGREN, et al. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root-canal exudates. **International Endodontic Journal**. V. 35, p. 897-904, 2002.

WARD, et al. A mathematical model of the dynamics of odontogenic cyst growth. **Anal Quant Cytol Histol**. V. 26, n. 1, p. 39-46, 2004.

WALKER, K. F, et al. Cytokine expression in periapical granulation tissue as assessed by immunohistochemistry. **European Journal of Oral Sciences**. V. 108, p. 195-201, 2000.

WATTS, C; AMIGORENA, S. Antigen Traffic Pathways in Dendritic Cells. **Traffic**. V. 1, p. 312-317, 2000.

WOOD, G, et al. Human dendritic cells and macrophages in situ immunophenotypic definition of subsets that exhibit specific morphologic and microenvironmental characteristics. **AJP**. V. 119, n. 1, p. 73-82, 1985.

YAMAZAKI, M et al. Basement membrane-type hapan sulfate proteoglycan (perlecan) and low-density lipoprotein (LDL) are co-localized in granulation tissues: a possible pathogenesis of cholesterol granulomas in jaw cysts. **Journal Oral Pathology Medicine**. V. 33, p. 177-184, 2004.

YANG S. F, et al. Effect of black-pigmented bacteria on the plasminogen/plasmin system in human pulp and osteoblastic cells. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**. V. 95, p. 621-625, 2003.

YASHIMA, M; OGURA, N; ABIKO, Y. Studies on cholesterol accumulation in radicular cyst fluid-origin of heat-stable cholesterol-binding protein. **International Journal Biochemistry**. V. 22, n. 2, p. 165-169, 1990.

YOSHIOKA, M; GRENIER, D; MAYRAND, D. Bind of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharides to *Peptostreptococcus micros* stimulates tumor necrosis factor α production by macrophage-like cells. **Oral Microbiology Immunology**. V. 20, p. 118-121, 2005.

ZAMBRUNO, G, et al. Langerhans cells and HIV infection. **Immunology Today**. V. 16, n. 11, p. 520-524, 1995.

ZHAO, Z. Z, et al. Mast cell degranulation and the role of T cell RANTES in oral lichen planus. **Oral diseases**. V. 7, p. 246-251, 2001.

APÊNDICE A – Formula da solução de PBS

PBS

- Cloreto de Sódio (NaCl) - 8g;
- Fosfato de Sódio Bibárico ($\text{Na}_2 \text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) - 2,17g;
- Fosfato de Potássio ($\text{KH}_2 \text{PO}_4$) – 0,2g;
- Cloreto de Potássio (KCl) – 0,2g;
- H_2O destilada Becker 1000ml.

*Todas as substâncias dissolvidas em água destilada. pH ajustado em 7,4. Acondicionar a 4°C.

APÊNDICE B – Questionário utilizado para a aquisição dos dados da pesquisa

Nº _____

Lesão:

Cisto Radicular ()

Granuloma Dentário ()

1- Dados Clínicos**-Idade:****-Sexo.**

M ()

F ()

-Região.

Posterior superior direita (PSD)

Posterior superior esquerda (PSE)

Anterior superior (AS)

Posterior inferior direita (PID)

Posterior inferior esquerda (PIE)

Anterior inferior (AI)

2- Achados morfológicos H/E**-Descrição dos achados**

-Material mineralizado inespecífico compatível com tratamento endodôntico.

Sim ()

Não ()

3- Achados da imuno-histoquímica**CD1a****- Marcação**

Positiva ()

Negativa ()

- Densidade

Discreto ()

Moderado ()

Intenso ()

Não se aplica ()

- Padrão de distribuição da marcação

Epitélio ()

Camada basal ()

Camada intermediária ()

Camada superficial ()

Tecido de granulação ()

Cápsula ()

Não se aplica ()

- Espessura do epitélio

Atrofico ()

Hiperplásico ()

Não se aplica ()

- Infiltrado inflamatório

Discreto ()

Moderado ()

Intenso ()

APÊNDICE C - Figuras referentes ao anticorpo CD1a, forno utilizado para a recuperação antigênica, e acondicionamento do anticorpo



APÊNDICE D – Aprovação do Comitê de Ética