

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o
texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir de
06/09/2025.



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Evânio Vilela da Silva

**Imunocaracterização de centros germinativos e subgrupos de células
dendríticas na síndrome de Sjögren primária: um estudo comparativo**

Araraquara

2023



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



Evânio Vilela da Silva

Imunocaracterização de centros germinativos e subgrupos de células dendríticas na síndrome de Sjögren primária: um estudo comparativo

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas, na Área de Diagnóstico e Cirurgia

Orientador: Profa. Dra. Andreia Bufalino

Co-orientador: Prof. Jorge Esquiche León

Araraquara

2023

S586i	Silva, Evânio Vilela da Imunocaracterização de centros germinativos e subgrupos de células dendríticas na síndrome de Sjögren primária : um estudo comparativo / Evânio Vilela da Silva. -- Araraquara, 2023 55 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara Orientadora: Andreia Bufalino Coorientador: Jorge Esquiche León 1. Síndrome de Sjögren. 2. Glândulas salivares menores. 3. Centro germinativo. 4. Células dendríticas. 5. Imuno-histoquímica. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Evânio Vilela da Silva

**Imunocaracterização de centros germinativos e subgrupos de células
dendríticas na síndrome de Sjögren primária: um estudo comparativo**

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor em Ciências Odontológicas

Presidente e orientador: Profa. Dra. Andreia Bufalino

2º Examinador: Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato

3º Examinador: Prof. Dra. Morgana Rodrigues Guimarães Stabili

4º Examinador: Prof. Dr. Fernando Chahud

5º Examinador: Prof. Dr. Heitor Albergoni da Silveira

Araraquara, 06 de setembro de 2023.

DADOS CURRICULARES

Evânio Vilela da Silva

NASCIMENTO: 25/11/1994 – Garanhuns – Pernambuco

FILIAÇÃO: Eraldo Vilela da Silva

Cláudia Regina Vilela da Silva

2013 - 2018: Graduação em Odontologia

Universidade Federal de Sergipe - UFS, Aracaju, Sergipe.

2019 - 2021: Mestrado em Ciências Odontológicas – Diagnóstico e Cirurgia

Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo.

2021 - 2023: Especialização em Periodontia

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo.

2021 - 2023: Doutorado em Ciências Odontológicas – Diagnóstico e Cirurgia

Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, São Paulo.

Dedico aos meus pais, **Cláudia** e **Eraldo**, por todo amor, ensinamentos e
abdicações para que eu pudesse viver essa experiência.
E, aos meus irmãos, **Henrique** e **Camilla**, por serem os melhores irmãos da
vida.

Essa conquista é nossa!

AGRADECIMENTOS

Eu sou repleto de gratidão por mais uma etapa que se encerra em minha vida. Foram muitas experiências, desafios e conquistas ao longo desses anos, que me oportunizaram evoluir enquanto ser humano. E, aqui estou para agradecer a Deus e todos àqueles que foram fundamentais para que essa jornada tivesse um sentido.

Gratidão a **Deus**, por me guiar nos caminhos da vida, me permitindo viver e sempre abençoando com muita fé, amor, coragem, sabedoria e esperança; és meu refúgio e fortaleza.

Aos meus pais, **Cláudia e Eraldo**, pela vida e por todo o amor, cuidado, suporte e abdições em prol da minha vida e da vida dos meus irmãos. Essa conquista é para vocês que sempre foram ouvidos para os meus momentos de felicidades e de angústias e ansiedades. Eu amo muito vocês!

Ao meu instrumento de Deus aqui na terra, meu **Henrique!** Meu irmão, és minha maior riqueza, meu riso frouxo, meu grande amor. Tua pureza me encanta e me motiva. À minha irmã, **Camilla**, pelo amor, união e compartilhamento de uma história juntos. Essa conquista é nossa!

À minha avó, **Zulmira**, por todo amor cuidado e preocupação. Aos meus avós **Irene** (in memoriam) e **Antônio**, por todas as orações e ensinamentos que me foram atribuídos. Quantas lembranças boas carrego em meu coração. Aos meus tios e primos que se fizeram presente e especiais nessa jornada.

Aos meus orientadores, professores **Jorge León e Andreia Bufalino** por todos os ensinamentos valiosos, apoio e oportunidades imprescindíveis ao longo desses anos, que foram e são importantes para o meu amadurecimento pessoal e, sobretudo, profissional. Vocês têm minha admiração, grandes professores e pesquisadores!

Aos meus amigos, em especial **Ana Rivas, Beatriz Zamboni, Camila Barbeiro, Heitor Albergoni, Jessica Katarine, Julia Biliato, Karina Martins, Luiz Henrique Torres, Paula Ragusa, Magdalena Torres, Tulio Ferrisse e Xiomara Beatriz**, que a pós-graduação me presenteou e se fizeram presente de uma forma muito especial, compartilhando alegrias, experimentos, projetos e desafios que essa jornada carrega consigo. A caminhada ficou mais leve com vocês

Aos professores da disciplina de Estomatologia da FOAr/Unesp, **Elaine Sgavioli e Cláudia Navarro**, pelos ensinamentos, oportunidades e convivência.

Aos técnicos do Laboratório de Histopatologia Oral da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP, **Adriana e Kléber**, pela convivência diária e todo o auxílio e suporte durante a realização de pesquisa e de rotina histopatológica.

Aos docentes e servidores administrativos da **Faculdade de Odontologia de Araraquara - Universidade Estadual Paulista**, aqui representados pelo Diretor professor **Edson Alves de Campos**.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**, representado pela coordenadora profa. **Andreia Bufalino**, pela oportunidade de cursar o mestrado e doutorado.

À **Seção Técnica de Pós-graduação (STPG)**, em especial ao **Cristiano Afonso**, por toda eficiência e disposição para sanar quaisquer questões burocráticas pertinentes a pós-graduação.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo**, pela contribuição nessa trajetória.

À **CAPES**: o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

[...]

“A vida é uma corrida
que não se corre sozinho.
E vencer não é chegar,
é aproveitar o caminho
sentindo o cheiro das flores
e aprendendo com as dores
causadas por cada espinho.”

* Bráulio Bessa

Silva EV. Imunocaracterização de centros germinativos e subgrupos de células dendríticas na síndrome de Sjögren primária: um estudo comparativo [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

RESUMO

A síndrome de Sjögren (SS) é uma doença autoimune crônica caracterizada por infiltração linfocitária frequentemente afetando as glândulas salivares e lacrimais, causando sintomas de secura, e muitas vezes acompanhada de produção anormal de autoanticorpos. A análise histopatológica das glândulas salivares menores (GSm) é amplamente utilizada nos critérios de classificação da SS primária (SSp), mostrando aglomerados linfocíticos permeando o parênquima glandular, definido como sialadenite linfocítica focal (SLF), com escore focal (EF) ≥ 1 . Em certas situações, a SLF pode se organizar em centros germinativos (CGs). Curiosamente, a SLF também pode ser observada ao avaliar biópsias intraorais contendo parênquima de GSm de indivíduos assintomáticos (pacientes não-SS não sicca). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar, por imunoistoquímica, os CGs e células dendríticas plasmocitoides (CDp) em biópsias de GSm de pacientes com SSp e pacientes não-SS não-sicca e relatar um caso raro de paciente com SS com extravasamento de muco exibindo reação granulomatosa do tipo corpo estranho (população de macrófagos). Os resultados foram formatados em 3 artigos científicos. No primeiro artigo, focamos na análise comparativa de CGs avaliando SLF em 13 pacientes SSp e 11 pacientes não-SS não-sicca, usando os anticorpos D2-40 e CD57, em correlação com os imunomarcadores Bcl-6 e Ki-67. Os nossos resultados mostram diferenças histomorfológicas (área e diâmetro) e imunofenotípicas (perfil de expressão de D2-40 e CD57) entre os grupos de pacientes, sugerindo interações celulares e/ou moleculares distintas na patogênese de CGs ao avaliar comparativamente a SLF. No segundo artigo, avaliamos o perfil de distribuição de CDp em uma casuística de 50 pacientes SSp e 31 pacientes não-SS não sicca, a partir dos imunomarcadores CD123 e CD303. Como resultado, observamos que as CDp se apresentam com densidade variando de ausente a intensa no grupo SSp e com expressão limitada no grupo não-SS não-sicca ($p < 0,001$ para ambos os marcadores, CD123 e CD303), com distribuição na periferia do SLF e em padrão perivascular. Por fim, relatamos o caso de uma paciente de 63 anos com diagnóstico de SSp apresentando massa nodular na mucosa oral. A análise microscópica revelou SLF e um exuberante infiltrado linfoplasmocitário contendo, na parte central, uma reação de célula gigante do tipo corpo estranho (macrófagos), permeada por numerosos ductos residuais de glândulas salivares, sugerindo uma possível relação com os mecanismos imunes da SS. Concluimos, que os CGs, CDp, bem como populações de macrófagos, apresentam mecanismos celulares importantes na SLF de pacientes com SSp, contribuindo na elucidação da resposta imune e inflamatória dessa doença e de possíveis alvos terapêuticos.

Palavras-chave: Síndrome de Sjögren. Glândulas salivares menores. Centro germinativo. Células dendríticas. Imuno-Histoquímica.

Silva EV. Immunocharacterization of germinal centers and dendritic cell subsets in primary Sjögren's syndrome: a comparative study [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2023.

ABSTRACT

Sjögren's syndrome (SS) is a chronic autoimmune disease characterized by lymphocytic infiltration often affecting the salivary and lacrimal glands, causing sicca symptoms, and often accompanied by abnormal production of autoantibodies. Histopathological analysis of the minor salivary glands (mSG) is widely used in the classification criteria of primary SS (pSS), showing lymphocytic clusters permeating the glandular parenchyma, defined as focal lymphocytic sialadenitis (FLS) with a focal score (EF) ≥ 1 . In certain situations, the SLF can organize into germinal centers (GCs). Interestingly, FLS can also be seen when evaluating intraoral biopsies containing mSG parenchyma from asymptomatic individuals (non-SS non-sicca patients). The aim of this study was to evaluate, by immunohistochemistry, GCs and plasmacytoid dendritic cells (pDCs) in mSG biopsies from patients with SS and non-SS non-sicca patients and to report a rare case of a patient with SS with mucus extravasation exhibiting foreign body-type granulomatous reaction (macrophage population). The results were formatted in 3 scientific papers. In the first, we focused on the comparative analysis of GCs evaluating SLF in 13 pSS patients and 11 non-SS non-sicca patients, using antibodies D2-40 and CD57, in correlation with immunomarkers Bcl-6 and Ki-67. Our results show histomorphological (area and diameter) and immunophenotypic (D2-40 and CD57 expression profile) differences between patient groups, suggesting distinct cellular and/or molecular interactions in the pathogenesis of GCs when comparatively evaluating FLS. In the second, we evaluated the pDCs distribution profile in a series of 50 pSS patients and 31 non-SS non-sicca patients, based on the immunomarkers CD123 and CD303. As a result, we observed that pDCs presented density ranging from absent to intense in the pSS group and with limited expression in the non-SS non-sicca group ($p < 0.001$ for both markers, CD123 and CD303), with distribution in the periphery of the FLS and perivascular pattern. Finally, we report the case of a 63-year-old female patient diagnosed with pSS presenting with a nodular mass in the oral mucosa. Microscopic analysis revealed focal lymphocytic sialadenitis and an exuberant lymphoplasmacytic infiltrate containing, in the central part, a foreign body-type giant cell reaction, permeated by numerous residual ducts of salivary glands, suggesting a possible relationship with the immune mechanisms of SS. We conclude that GCs, CDp, as well as populations of macrophages, present important cellular mechanisms in the SLF of patients with pSS, contributing to the elucidation of the immune and inflammatory response of this disease and possible therapeutic targets.

Keywords: Sjögren's syndrome. Salivary glands, minor. Germinal center. Dendritic cells. Immunohistochemistry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Centros germinativos	13
1.2 Células dendríticas plasmocitoides	15
1.3 Macrófagos	16
2 OBJETIVO	18
2.1 Objetivos específicos.....	18
3 PUBLICAÇÕES	19
3.1 Publicação 1	19
3.2 Publicação 2	28
3.3 Publicação 3	37
4 CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO A	53

1 INTRODUÇÃO

A síndrome de Sjögren (SS) é uma doença autoimune crônica caracterizada por infiltração linfocitária frequentemente afetando as glândulas salivares e lacrimais, causando sintomas *sicca*. Relevantemente, 5-10% dos pacientes com SS podem apresentar manifestações extraglandulares, como mialgia, artralgia e fadiga. Além disso, distúrbios imunológicos, como hipergamaglobulinemia, fator reumatoide, hipocomplementemia, crioglobulinemia, manifestações cardiovasculares, como o fenômeno de Raynaud, e autoanticorpos direcionados contra os autoantígenos SSA/Ro e SSB/La são frequentemente detectados¹. Ainda, apresentam uma maior predisposição a desenvolver linfomas não-Hodgkin de células B, especificamente o linfoma de tecido linfoide associado à mucosa (MALT), com risco de 15 a 20 vezes maior entre pacientes com SS quando comparado à população em geral^{2,3}.

A SS ocorre em uma forma primária (SSp) não associada a outras doenças e uma forma secundária (SSs) que complica ou se sobrepõe a outras condições reumáticas, mais comumente artrite reumatóide (AR), lúpus eritematoso sistêmico (LES) e esclerose sistêmica⁴. A prevalência da SS na população geral varia de 0,5 a 3%, com incidência de 4 casos por 100.000 por ano, e uma proporção de acometimento mulher/homem relatada de 9:1, sendo predominantemente observada em adultos de meia-idade, com pico de incidência por volta dos 50 anos de idade².

A patogênese da SS ainda não está esclarecida; no entanto, acredita-se que a SS se desenvolva quando indivíduos com traços de suscetibilidade genética são expostos a fatores de riscos desencadeadores da doença, incluindo fatores ambientais e hormonais e modificações epigenéticas, levando à ativação da imunidade inata e adaptativa⁵⁻⁷. A ativação imune contra as partículas de ribonucleoproteína Ro/SSA e La/SSB expressas pelo epitélio das glândulas exócrinas pode ser desencadeada por células dendríticas (CDs) presentes também nesse epitélio, que conduzem o acúmulo e a ativação das células do sistema imune, em especial das células T e B⁸. Além disso, as infecções virais, especialmente pelo vírus Epstein-Barr (VEB) e citomegalovírus (CMV), visualizadas em pacientes com SS montam uma assinatura de interferon tipo I (IFN-I) e estimulam as CDs, ativando o sistema de resposta imune inata e contribuindo para a cronicidade do processo autoimune^{5,6}.

Para um diagnóstico de SSp, os atuais critérios da os critérios do Colégio Americano de Reumatologia (ACR) e da Liga Européia Contra o Reumatismo (EULAR) requerem medidas objetivas de diminuição da produção de lágrimas ou saliva, bem como aberrações imunológicas verificadas por meio da detecção de autoanticorpos anti-SSA/Ro ou por achados histológicos de sialadenite linfocítica focal (SLF) em biópsias de glândulas salivares menores (GSm)⁹. Outros exames, como cintilografia, ultrassonografia, sorologia para autoanticorpos anti-La/SSB e fator reumatoide (FR) podem auxiliar no diagnóstico⁸.

Como comentado acima, as biópsias de GSm de pacientes com SS exibem aglomerados linfocitários (focos) permeando o parênquima glandular, definido como SLF. O escore focal (EF) define o número de focos, cada um deles contendo 50 ou mais linfócitos, em uma área glandular de 4mm²¹⁰. Notavelmente, para preencher o critério diagnóstico para SS, a SLF deve apresentar um EF ≥ 1 ^{9,10}. Pela imunistoquímica, a SLF apresenta células TCD4+ e, em quantidades menores, células TCD8+, células B e plasmócitos; e em etapas finais há presença de fibrose, o que contribui com a disfunção do órgão^{8,10}. Em certas situações, a SLF pode se organizar em centros germinativos (CGs)¹¹.

O início dos sintomas relatados pelo paciente muitas vezes precede o diagnóstico em muitos anos, o que pode estar relacionado a um início insidioso da SSp e ao fato de que os sintomas de *sicca* são comuns na população em geral⁷.

As recomendações atuais de tratamento para SSp concentram-se no manejo dos sintomas *sicca* e na estimulação da função glandular residual com agonistas muscarínicos, mas também sugerem o uso de vários DMARDs (drogas modificadoras da doença) sintéticos convencionais, como a hidroxicloroquina, e biológicos, como o rituximabe, para o tratamento de órgãos específicos manifestações¹².

1.1 Centros germinativos

Os CGs que são microambientes especializados dentro de tecidos linfóides, onde as células B sofrem extensa proliferação, hipermutação somática e seleção de afinidade de antígeno, podem ser visualizados ao avaliar biópsias GSm de pacientes com SS^{1,12}. Adicionalmente, também pode ser observado ao avaliar biópsias intraorais contendo parênquima de GSm de indivíduos saudáveis assintomáticos¹.

CGs apresentam compartimentalização de células T e células B, presença de redes de células dendríticas foliculares CD21⁺ (CDFs) e vênulas endoteliais altas^{13, 14}. Essas estruturas organizadas em infiltrados linfóides de GSm é clinicamente relevante, uma vez que a sua presença parece estar associada a doença mais grave, incluindo maior escore focal, redução da produção de saliva e níveis mais elevados de fator reumatoide, anti-SSA/ Ro, anti-SSB/La e mediadores pró-inflamatórios^{11,15}. Também foi sugerido como preditor para o desenvolvimento de linfoma^{16, 17}, embora outros estudos indiquem que os CGs não são preditivos para o desenvolvimento de linfoma em pacientes com SS^{18,19}.

Estudos anteriores em SSp, por coloração de hematoxilina e eosina (H&E) e alguns deles também por imunoistoquímica, mostraram que CGs podem ser detectados em aproximadamente 25% das biópsias de mSG, variando de 16,5 a 54,5%^{1,11}. Por imunoistoquímica, os GCs foram avaliados usando marcadores para superfície de linfócitos (CD3/CD20), redes de CDFs (CD21, CD23, CD35) e o anticorpo Bcl-6^{1,14,15,18,20}, com estudos recentes indicando Bcl-6 como um marcador sensível e específico para identificação inequívoca de CGs em biópsias de GSm obtidas de pacientes com SSp^{1,14}.

Além disso, as CDFs participam da reação do centro germinativo, impedindo a apoptose das células B do centro germinativo e estimulando as interações celulares e a proliferação. A podoplanina, uma glicoproteína transmembranar do tipo mucina, é expressa na rede de CDFs do centro germinativo e em uma variedade de tipos de células humanas, incluindo endotélio linfático, mesotélio e células alveolares tipo I, e pode ser identificada por D2-40. Estudos revelam que este é um marcador sensível para a rede CDFs, que é superior ou igual ao CD21 na avaliação de CDFs reativas e neoplásicas^{21,22}. Notavelmente, a subpopulação de células T CD4⁺ CD57⁺, células T-folicular helper (Tfh), são células críticas para a maturação das células B e estão normalmente presentes nos centros germinativos da amígdala e formam cerca de 5 a 8% de todas as células. Essas células Tfh coexpressam o fator de transcrição Bcl-6, podendo assim ser diferenciadas de outras subpopulações de células T auxiliares²³.

1.2 Células dendríticas plasmocitoides

As células dendríticas (CDs) são derivadas de células-tronco hematopoiéticas na medula óssea, integrantes do sistema de imunidade inata e consideradas como eficientes células apresentadoras de antígenos (APCs). Estas são capazes de estimular uma resposta imunitária celular contra células tumorais, desempenhar um papel importante na ativação e função de linfócitos T e, ainda, auxiliar a manutenção da tolerância periférica²⁴. As CDs, quando sofrem processo de diferenciação são divididas em células dendríticas mieloides (CDmi) e plasmocitoides (CDp)²⁴. Estas, foram sugeridas como candidatas a células mestras na ativação de células T e B na SS, no entanto, sua contribuição tem sido subavaliada²⁵.

As CDp são células derivadas de progenitores linfoides e altamente especializadas na produção e secreção de altos níveis de interferon tipo I (IFN-I), especialmente após ativação por agentes virais (resposta antiviral). Elas expressam constitutivamente receptores semelhantes a endossômicos *toll-like* (TLR), os quais atuam no reconhecimento de RNA e DNA virais e podem se ligar aos ácidos nucleicos endógenos²⁶. Entre os receptores endossômicos, o TLR7 e TLR9 constituem vias cruciais pelas quais as CDp são ativadas em doenças autoimunes sistêmicas²⁷.

Um conjunto de evidências supõe que a secreção de IFN-I pelas CDp desempenha um papel importante na perpetuação do processo inflamatório na SSp, uma vez que estimulam os monócitos a produzirem altos níveis de fator de ativação de células B (BAFF), um mediador da ativação de células B e da produção de autoanticorpos na SSp^{26,28}. Ainda, a ativação das vias secretoras de IFN-I correlacionou-se com o aumento da gravidade da inflamação da glândula salivar e disfunção secretora em pacientes com SS^{27, 29-31}.

Além da produção robusta de IFN tipo I, as CDp também podem secretar várias outras citocinas inflamatórias, como TNF α e IL-6, produzir quimiocinas e expressar moléculas coestimuladoras em suas superfícies, para influenciar as respostas imunes inatas e adaptativas³¹. Em estudo de transcriptoma, demonstrou-se que CDp de pacientes com SS têm um perfil de transcrição mais ativado e preparadas para produzir altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, logo, esses achados suportam fortemente um papel patogênico potencial das CDp na doença SS²⁶.

Recentemente, um estudo foi realizado para elucidar o papel das CDp no desenvolvimento da SS usando um modelo animal (camundongos NOD) desta doença, e os resultados mostraram que as CDp contribuem criticamente para o início e desenvolvimento do distúrbio da glândula salivar semelhante à SS, incluindo sialadenite e hipossalivação, nestes ratos. Os resultados também forneceram vários mecanismos celulares e moleculares potenciais subjacentes ao efeito promotor de SS das CDs, que incluem a produção de IFN-1 como as principais fontes celulares e a regulação positiva de vários fatores pró-inflamatórios e quimioatraentes nos tecidos GSM alvo³². Ainda, neste estudo, mostrou-se que a depleção de CDp e a ablação de anti-IFNAR1 causam uma regulação negativa da expressão de IL-7 e BAFF em GSM, dois fatores patogênicos críticos na SS, aumentando as respostas das células T e B, respectivamente³².

Ao avaliar a presença das CDp em GSM de pacientes com SSp, através da expressão fenotípica dos anticorpos CD123²⁷ e CD303^{33, 34}, os autores notaram que as CDp eram expressas em número aumentado nas GSM de pacientes com SSp, com distribuição nos focos linfocíticos e áreas ductais, quando comparado ao controle (GSM saudáveis). Adicionalmente, ao correlacionar a presença dessas células na inflamação glandular e no sangue periférico da SSp, notou-se que, apesar de não haver uma correlação estatística, as CDp estavam aumentadas nas GSM e reduzidas no sangue periférico³⁵.

1.3 Macrófagos

Os macrófagos exibem morfologia diversificada e um expressivo conjunto de funções, estando presente em todos os órgãos e tecido conjuntivo. Dentre as funções naturais dos macrófagos evidencia-se: apresentação de antígenos, fagocitose de restos celulares e recrutamento de outras células imunes como reforço no combate aos corpos estranhos e células neoplásicas³⁶. Os macrófagos M1, são caracterizados por um fenótipo pró-inflamatório, promoção de T helper 1 (Th1) resposta imune, sendo ativados classicamente e com enorme capacidade de fagocitose; já os macrófagos M2 exibem funções regulatórias em reparação tecidual, remodelação e promoção de resposta imune em Th2 onde são aqueles ativados alternativamente, estando

envolvidos na desativação do sistema imune com a produção de citocinas anti-inflamatórias³⁷.

Estudos que avaliam a natureza e expressão dos macrófagos na SLF em biópsias de glândulas salivares labiais na SSp, onde os macrófagos CD68+ apresentaram-se com distribuição abundante na SLF quando comparada aos grupos controle, analisando assim que dentro dos infiltrados inflamatórios focais expressavam COX-1 e IL-18^{38, 39}. Entretanto, no estudo de Yarom e colaboradores⁴⁰, os macrófagos CD68+ estavam presentes isoladamente na SLF, compreendendo apenas 0,04% das células infiltrantes.

Curiosamente, um estudo realizado por de Wilde e colaboradores descreve a presença de células gigantes multinucleadas em estreita associação com ductos das glândulas salivares avaliando GSM de pacientes com SS, e que provavelmente representa uma reação de células gigantes do tipo corpo estranho, sendo observada em 4 de 55 (7%) pacientes com SS⁴¹.

Contudo, a população macrofágica é dinâmica, devido participar da inflamação e na resolução desse processo, contudo, pouco é compreendido sobre o papel dessas células inflamatórias na imunopatogênese da SS.

4 CONCLUSÃO

Nossos resultados mostram diferenças histomorfológicas (área e diâmetro) e imunofenotípicas (perfil de expressão de D2-40 e CD57), sugerindo interações celulares e/ou moleculares distintas na patogênese de centros germinativos ao avaliar comparativamente SLF em pacientes com SSp e pacientes não-SS não-sicca.

A expressão de células dendríticas plasmocitoides CD123+ e CD303+ na SLF de pacientes com SSp, com diferenças significativas, ao comparar com pacientes não-SS não-sicca, sugere implicações diagnósticas e imunomodulatórias dessas células na SSp.

A população macrofágica pode contribuir na elucidação da resposta imune e inflamatória da SS e de possíveis alvos terapêuticos.

REFERÊNCIAS*

1. Silva EV, Almeida LY, Bortoletto KC, Quero IB, Jacomini FC, de Andrade BAB et al. Focal lymphocytic sialadenitis and ectopic germinal centers in oral reactive lesions and primary Sjögren's syndrome: a comparative study. *Rheumatol Int.* 2022; 42(8): 1411-21.
2. Mariette X, Criswell LA. Primary Sjögren's Syndrome. *N Engl J Med.* 2018; 378(10): 931-9.
3. Nocturne G, Mariette X. Sjögren Syndrome-associated lymphomas: an update on pathogenesis and management. *Br J Haematol.* 2015; 168(3): 317-27.
4. Narváez J, Sánchez-Fernández SÁ, Seoane-Mato D, Díaz-González F, Bustabad S. Prevalence of Sjögren's syndrome in the general adult population in Spain: estimating the proportion of undiagnosed cases. *Sci Rep.* 2020; 10(1): 10627.
5. Kivity S, Arango MT, Ehrenfeld M, Tehori O, Shoenfeld Y, Anaya JM et al. Infection and autoimmunity in Sjogren's syndrome: a clinical study and comprehensive review. *J Autoimmun.* 2014; 51: 17-22.
6. Tzioufas AG, Kapsogeorgou EK, Moutsopoulos HM. Pathogenesis of Sjögren's syndrome: what we know and what we should learn. *J Autoimmun.* 2012; 39(1-2): 4-8.
7. Thorlacius GE, Björk A, Wahren-Herlenius M. Genetics and epigenetics of primary Sjögren syndrome: implications for future therapies. *Nat Rev Rheumatol.* 2023; 13: 1–19.
8. Brito-Zerón P, Baldini C, Bootsma H, Bowman SJ, Jonsson R, Mariette X, et al. Sjögren syndrome. *Nat Rev Dis Primers.* 2016; 2: 16047.
9. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. International Sjögren's Syndrome Criteria Working Group. 2016 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism Classification Criteria for Primary Sjögren's Syndrome: A Consensus and Data-Driven Methodology Involving Three International Patient Cohorts. *Arthritis Rheumatol.* 2017; 69(1): 35-45.
10. Carubbi F, Alunno A, Gerli R, Giacomelli R. Histopathology of salivary glands. *Reumatismo.* 2018; 70(3): 146-54.
11. Risselada AP, Looije MF, Kruize AA, Bijlsma JW, van Roon JA. The role of ectopic germinal centers in the immunopathology of primary Sjögren's syndrome: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum.* 2013; 42(4): 368-76.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

12. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, Bombardieri S, Bootsma H, De Vita S, Dörner T, et al. EULAR-Sjögren Syndrome Task Force Group. EULAR recommendations for the management of Sjögren's syndrome with topical and systemic therapies. *Ann Rheum Dis.* 2020; 79(1): 3-18.
13. Fisher BA, Jonsson R, Daniels T, Bombardieri M, Brown RM, Morgan P, et al. Standardisation of labial salivary gland histopathology in clinical trials in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2017; 76(7): 1161-8.
14. Nakshbandi U, Haacke EA, Bootsma H, Vissink A, Spijkervet FKL, van der Vegt B et al. Bcl6 for identification of germinal centres in salivary gland biopsies in primary Sjögren's syndrome. *Oral Dis.* 2020; 26(3): 707-10
15. Carubbi F, Alunno A, Cipriani P, Coletti G, Bigerna B, Manetti M, et al. Different operators and histologic techniques in the assessment of germinal center-like structures in primary Sjögren's syndrome minor salivary glands. *PLoS One.* 2019; 14(1): e0211142.
16. Theander E, Vasaitis L, Baecklund E, Nordmark G, Warfvinge G, Liedholm R, et al. Lymphoid organisation in labial salivary gland biopsies is a possible predictor for the development of malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70(8): 1363-8.
17. Sène D, Ismael S, Forien M, Charlotte F, Kaci R, Cacoub P, et al. Ectopic germinal center-like structures in minor salivary gland biopsy tissue predict lymphoma occurrence in patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheumatol.* 2018; 70(9): 1481-8.
18. Haacke EA, van der Vegt B, Vissink A, Spijkervet FKL, Bootsma H, Kroese FGM. Germinal centres in diagnostic labial gland biopsies of patients with primary Sjögren's syndrome are not predictive for parotid MALT lymphoma development. *Ann Rheum Dis.* 2017; 76(10): 1781-4.
19. Haacke EA, van der Vegt B, Vissink A, Spijkervet FKL, Bootsma H, Kroese FGM. Germinal centers in diagnostic biopsies of patients with primary Sjögren's syndrome are not a risk factor for non-hodgkin's lymphoma but a reflection of high disease activity: comment on the article by Sène et al. *Arthritis Rheumatol.* 2019; 71(1): 170-1.
20. Bombardieri M, Barone F, Humby F, Kelly S, McGurk M, Morgan P, et al. Activation-induced cytidine deaminase expression in follicular dendritic cell networks and interfollicular large B cells supports functionality of ectopic lymphoid neogenesis in autoimmune sialoadenitis and MALT lymphoma in Sjögren's syndrome. *J Immunol.* 2007; 179(7): 4929-38.
21. Xie Q, Chen L, Fu K, Harter J, Young KH, Sunkara J, et al. Podoplanin (D2-40): a new immunohistochemical marker for reactive follicular dendritic cells and follicular dendritic cell sarcomas. *Int J Clin Exp Pathol.* 2008; 1(3): 276-84.

22. Yu H, Gibson JA, Pinkus GS, Hornick JL. Podoplanin (D2-40) is a novel marker for follicular dendritic cell tumors. *Am J Clin Pathol.* 2007; 128(5): 776-82.
23. Sattarzadeh A, Diepstra A, Rutgers B, van den Berg A, Visser L. CD57+ T-cells are a subpopulation of T-follicular helper cells in nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma. *Exp Hematol Oncol.* 2015; 4: 27.
24. Chalermarp N, Azuma M. Identification of three distinct subsets of migrating dendritic cells from oral mucosa within the regional lymph nodes. *Immunology.* 2009; 127(4): 558-66.
25. Hillen MR, Ververs FA, Kruize AA, Van Roon JA. Dendritic cells, T-cells and epithelial cells: a crucial interplay in immunopathology of primary Sjögren's syndrome. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014; 10(4): 521-31.
26. Hillen MR, Pandit A, Blokland SLM, Hartgring SAY, Bekker CPJ, van der Heijden EHM, et al. Plasmacytoid DCs from patients with Sjögren's syndrome are transcriptionally primed for enhanced pro-inflammatory cytokine production. *Front Immunol.* 2019; 10: 2096.
27. Gottenberg JE, Cagnard N, Lucchesi C, Letourneur F, Mistou S, Lazure T, et al. Activation of IFN pathways and plasmacytoid dendritic cell recruitment in target organs of primary Sjögren's syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103(8): 2770-5.
28. Ainola M, Porola P, Takakubo Y, Przybyla B, Kouri VP, Tolvanen TA, et al. Activation of plasmacytoid dendritic cells by apoptotic particles - mechanism for the loss of immunological tolerance in Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2018; 191(3): 301-10.
29. Båve U, Nordmark G, Lövgren T, Rönnelid J, Cajander S, Eloranta ML, et al. Activation of the type I interferon system in primary Sjögren's syndrome: a possible etiopathogenic mechanism. *Arthritis Rheum.* 2005; 52(4): 1185-95.
30. Yao Y, Liu Z, Jallal B, Shen N, Rönnblom L. Type I interferons in Sjögren's syndrome. *Autoimmun Rev.* 2013; 12(5): 558-66.
31. Cao W. Pivotal Functions of Plasmacytoid Dendritic Cells in Systemic Autoimmune Pathogenesis. *J Clin Cell Immunol.* 2014; 5(2): 212.
32. Zhou J, Zhang X, Yu Q. Plasmacytoid dendritic cells promote the pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2022; 1868(2): 166302.
33. Shimizu T, Nakamura H, Takatani A, Umeda M, Horai Y, Kurushima S, et al. Activation of Toll-like receptor 7 signaling in labial salivary glands of primary Sjögren's syndrome patients. *Clin Exp Immunol.* 2019; 196(1): 39-51.

34. Vogelsang P, Brun JG, Oijordsbakken G, Skarstein K, Jonsson R, Appel S. Levels of plasmacytoid dendritic cells and type-2 myeloid dendritic cells are reduced in peripheral blood of patients with primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69(6): 1235-8.
35. Wildenberg ME, Welzen-Coppens JM, van Helden-Meeuwsen CG, Bootsma H, Vissink A, van Rooijen N, et al. Increased frequency of CD16+ monocytes and the presence of activated dendritic cells in salivary glands in primary Sjögren syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2009; 68(3): 420-6.
36. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest.* 2012; 122(3): 787-95.
37. Mamilos A, Winter L, Schmitt VH, Barsch F, Grevenstein D, Wagner W, et al. Macrophages: from simple phagocyte to an integrative regulatory cell for inflammation and tissue regeneration-a review of the literature. *Cells.* 2023; 12(2): 276.
38. Cuida M, Brun JG, Johannessen AC, Jonsson R. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltrates in Sjögren's syndrome, rheumatoid arthritis and osteoarthritis with special reference to calprotectin-producing cells. *APMIS.* 1996; 104(12): 881-90.
39. Tominaga M, Migita K, Sano H, Fukui W, Kohno M, Tsubouchi Y, et al. Expression of cyclooxygenase-1 (COX-1) in labial salivary glands of Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2000; 122(3): 459-63.
40. Yarom N, Dayan D, Buchner A, Vered M. Immunoprofile of focal lymphocytic infiltration in minor salivary glands of healthy individuals. *Oral Dis.* 2007; 13(3): 274-8.
41. de Wilde PC, Slootweg PJ, Hené RJ, Baak JP, Kater L. Multinucleate giant cells in sublabial salivary gland tissue in Sjögren's syndrome. a diagnostic pitfall. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1984; 403(3): 247-56.