

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 05/03/2023.



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



Evânio Vilela da Silva

**Frequência de centros germinativos e caracterização de células dendríticas
mieloides e plasmocitoides na síndrome de Sjögren**

Araraquara

2021



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



Evânio Vilela da Silva

**Frequência de centros germinativos e caracterização de células dendríticas
mieloides e plasmocitoides na síndrome de Sjögren**

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

Orientador: Prof. Dr. Jorge Esquiche León

Araraquara
2021

S586f

Silva, Evânio Vilela da

Frequência de centros germinativos e caracterização de células dendríticas mieloides e plasmocitoides na síndrome de Sjögren / Evânio Vilela da Silva. -- Araraquara, 2021
64 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientador: 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

Frequência de centros germinativos e caracterização de células dendríticas mieloides e plasmocitoides na síndrome de Sjögren

Comissão julgadora

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Odontológicas

Presidente e orientador: Prof. Dr. Jorge Esquiche León

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

3º Examinador: Profa. Dra. Ana Terezinha Marques Mesquita

Araraquara, 05 de março de 2021.

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.

Dedico este trabalho ao meu irmão, **Henrique**. Tu és amor, luz, fortaleza e leveza em minha vida. Amo-te!

AGRADECIMENTOS

Aqui estou à agradecer por mais uma conquista em minha vida. Eu paro, penso e reflito todas as batalhas travadas no caminho até chegar aqui, e encho-me de felicidades por inúmeras coisas boas que me foram agraciadas. Para tal, sempre estive cercado da presença divina de Deus e pessoas especiais, as quais foram fundamentais para que a caminhada se tornasse mais leve; e eu jamais poderia deixar de demonstrá-los a minha gratidão.

Agradeço a **Deus**, por tua presença em minha vida, sempre me abençoando com muita fé, coragem e esperança. Por me mostrar os caminhos da vida, permitir sonhar, me levantar nos momentos difíceis e ser meu refúgio e fortaleza. A ti, Senhor, toda minha devoção.

Aos meus pais, **Cláudia** e **Eraldo**, por todo amor, ensinamentos, confiança e abdições para que pudesse me oportunizar crescer. Mãe, tu és meu maior exemplo de mãe, mulher, determinação e coragem. Pai, você é força, persistência e simplicidade. Eu, sou a junção de cada detalhe contido em vocês. Eu amo muito vocês!

Aos meus irmãos, **Camilla** e **Henrique**, pelo amor, união e compartilhamento de uma história juntos. Minha irmã, que alegria eu tenho de te ver feliz buscando seus objetivos; seja muito feliz. Meu irmão, Ah meu irmão! você é a maior riqueza da nossa família, um presente de Deus. Tua pureza me encanta e me motiva. Sempre irei te defender das circunstâncias da vida. Essa conquista é nossa!

Aos meus familiares, avós paternos, **Antônio** e **Irene** (in memoriam), avós maternos **Sebastião** (in memoriam) e **Zulmira**, por todo afeto, carinho, oração e ensinamentos que me foram atribuídos; quantas lembranças boas carrego em meu coração. Aos meus tios, em especial **Edsônia**, **Eliane**, **Everaldo**, **Gorete**, **Ivanilda**, **Marilene**, **Marlene** e **Marinês**, e primos, por participar da minha trajetória sempre me incentivando de alguma forma. Gratidão!

Aos meus professores da graduação na Universidade Federal de Sergipe, em especial a professora **Ignês Aurora**, minha maior inspiração na Odontologia, por todas as oportunidades de aprender e vivenciar a Odontologia, pela amizade e conselhos, sempre me mostrando um mundo de possibilidades; e a professora **Sílvia**

Sousa, sempre prestativa, com ensinamentos valiosos, me apresentando o mundo da histopatologia, até então desconhecido.

Aos meus amigos **Brunelly, Letícia Pacheco, Lucas, Ludmilla, Mellany, Nailson, Norma Jean, Rafaela, Raquel, Rayle, Rayssa, Sthefanne e Yasmin**, que estão sempre se fazendo presentes, enviando boas energias. Vocês são muito importantes! E à minha querida amiga, **Fernanda Felix**, por compartilhar uma amizade nutrida de boas conversas, discussões de casos e vivências da pós-graduação. Obrigado por tanto!

Ao meu orientador, professor **Jorge León**, por todos os ensinamentos e oportunidades. Sua expertise no diagnóstico clinicopatológico é supreendente; aprendo bastante com você. Grato, mais uma vez, pelas constantes contribuições para o meu amadurecimento pessoal e profissional.

À equipe do Diagnóstico Bucal da FOAr, as professoras, **Andreia Bufalino, Cláudia, Elaine, Luciana e Mirian**, por todas as contribuições na sedimentação do conhecimento científico e humanizado; e os amigos que compõe à equipe, **Audrey, Camila, Maria Leticia e Túlio**, os quais tive e tenho a honra de compartilhar grande alegrias, admiração, ciência e respeito. À vocês, todo sucesso na caminhada.

Aos demais amigos de pós-graduação da FOAr/UNESP, **Analú, Básia, Bianca, Déborah, Eduardo, Lucas Portela e Renato**, pela convivência, compartilhamento de alegrias e perrengues da vida de pós-graduando; muito sucesso para vocês. De forma particular, agradeço à minha amiga, **Jessica Katarine**, por toda amizade, carinho e respeito que foi se consolidando nessa trajetória; te admiro muito, és de uma força gigante, nunca esqueça disso. Grato por tanto! À querida, **Laís Grifoni**, pela amizade construída, receptividade e vivência compartilhada. Te desejo muito sucesso! Ao meu amigo, **Luiz Henrique**, pela amizade, bondade, companheirismo e por compartilhar de tantas boas histórias, desde a aprovação no mestrado até aqui, de uma forma tão leve. Tenho muito respeito e admiração por você.

Na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, onde realizei parte do meu mestrado, tive a surpresa e alegria de contar com mais pessoas, as quais nutro uma relação de harmonia, e que foram fundamentais para chegada até aqui. Em especial, ao meu amigo, **Heitor**, por toda dedicação, companheirismo, conversas, disposição em ajudar e por todos ensinamentos na prática da patologia; muita prosperidade, você

merece. À minha amiga, **Xiomara**, por toda generosidade, determinação e leveza que carrega consigo. Que alegria poder compartilhar essa trajetória contigo. E a minha amiga, **Beatriz**, pelas conversas, alegrias e determinação que tornam os dias mais leves na rotina da pós-graduação. Muito sucesso em sua vida.

Aos docentes e servidores administrativos da **Faculdade de Odontologia de Araraquara - Universidade Estadual Paulista**, aqui representados pelo Diretor Professor **Edson Alves de Campos**. Que orgulho tenho de fazer parte desta instituição.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**, pela oportunidade de cursar o mestrado, aqui representado pela Coordenadora professora **Fernanda Lourenção Brighenti**.

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

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

E, por fim, à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)** pelo apoio na realização deste trabalho - 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. Frequência de centros germinativos e caracterização de células dendríticas mieloides e plasmocitoides na síndrome de Sjögren [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2021.

RESUMO

A síndrome de Sjögren (SS) é uma doença autoimune crônica sistêmica que afeta principalmente as glândulas salivares e lacrimais, ocasionando xerostomia e ceratoconjuntivite *sicca*, respectivamente. A histopatologia de biópsias de glândulas salivares menores (GSm) exibindo sialadenite linfocítica focal (SLF) com um escore focal ≥ 1 , é um critério diagnóstico importante para definir o diagnóstico de SS. Em alguns casos, a SLF mostra a presença de centros germinativos (CGs). Alguns estudos sugerem que CGs na SLF pode ser preditivo para o desenvolvimento de linfoma em pacientes com SS. As células dendríticas (CDs) são eficientes células apresentadoras de antígenos e foram sugeridas agir modulando a ativação de células T e B na SS; no entanto, a sua contribuição precisa ser melhor esclarecida. Este estudo analisou a frequência de CGs e a presença de CDs mieloides e plasmocitoides em biópsias de GSm de pacientes com SS primária (SSp). Cinquenta casos de SSp (grupo SSp) e 31 casos de lesões orais reativas (não SS, não *sicca*, grupo controle) contendo também características típicas de SLF, foram avaliados por análise morfológica e imunoistoquímica (CD10, CD23 e Bcl-6), visando à detecção de CGs. Além desses, para caracterizar a presença de CDs, foram utilizados os seguintes anticorpos CD1a, CD207, CD123 e CD303. A análise morfológica revelou CGs em 20% (10/50) e 19% (6/31) do grupo SSp e controle, respectivamente. O número de focos foram significativamente maiores no grupo SSp do que no grupo controle com FS < 1 . A imunoistoquímica confirmou todos os achados morfológicos (CG mostrando positividade para CD23 e Bcl-6, com expressão variável de CD10) e adicionalmente em 3 e 1 casos do grupo SSp e controle, respectivamente. A análise imunoistoquímica para CDs, no grupo SSp, revelou uma população heterogênea de células de Langerhans (CLs) CD1a+ e CD207+ localizadas preferencialmente em padrão periductal, e de CDs plasmocitoides (CDp) CD123+ e CD303+ distribuídas na periferia dos infiltrados inflamatórios; enquanto que, no grupo controle, essas células foram escassas (CLs, $p < 0,05$). Em conclusão, este trabalho mostra que a SLF também pode ser observada quando examinando lesões orais reativas, as quais apresentaram frequência de CGs semelhante às encontradas em pacientes com SSp. Ainda, a imunoexpressão de marcadores de CDs em pacientes com SSp sugere a participação dessas células na perpetuação do processo imunoinflamatório na SS, contribuindo na elucidação de alvos imunoterapêuticos.

Palavras chave: Síndrome de Sjogren. Glândulas salivares menores. Centro germinativo. Células dendríticas. Imuno-histoquímica.

Silva EV. Frequency of germinal centers and characterization of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in Sjögren's syndrome [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2021.

ABSTRACT

Sjögren's syndrome (SS) is a chronic autoimmune disease that mainly affects the salivary and lacrimal glands, causing xerostomia and ceratoconjunctivitis sicca, respectively. Histopathology of minor salivary glands (mGSs) biopsies showing the presence of focal lymphocytic sialadenitis (FLS) with focal score ≥ 1 is an important diagnostic criterion to define SS. In some cases, the FLS shows the presence of germinal centers (GCs). Some studies suggest that GCs in FLS may be predictive for lymphoma development in SS patients. Dendritic cells (DCs) are efficient antigen presenting cells and have been suggested to act by modulating the activation of T- and B-cells in SS, however, their contribution needs to be further clarified. This study analyzed the frequency of GC and the presence of myeloid and plasmacytoid DCs in mGSs biopsies of patients with primary SS (pSS). Fifty cases of primary SS (pSS group) and 31 cases of oral reactive lesions (non-SS non-sicca, control group) containing also typical FLS features, were assessed by morphological and immunohistochemical (CD10, CD23 and Bcl-6) analysis, aiming at the detection of GCs. In addition to these, to characterize the presence of DCs, the following antibodies CD1a, CD207, CD123 and CD303 were used. The morphological analysis revealed GCs in 20% (10/50) and 19% (6/31) of the pSS and control group, respectively. The FS and number of foci were significantly higher in pSS than control group with FS < 1. Immunohistochemistry confirmed all morphological findings (GCs showing CD23 and Bcl-6 positivity, with variable CD10 expression) and additionally in 3 and 1 cases of the pSS and control group, respectively. Moreover, another 6 and 2 cases of the pSS and control group with FS ≥ 1 , respectively, showed positivity only for CD23. Immunohistochemical analysis for DCs, in the pSS group, revealed a heterogeneous population of CD1a+ and CD207+ Langerhans cells, preferably located in a periductal pattern, and of CD123+ and CD303+ plasmacytoid DCs (pDCs) distributed on the periphery of inflammatory infiltrates; whereas, in the control group, these cells are scarce (LCs, $p < 0,05$). In conclusion, this study demonstrated that FLS can also be observed when assessing of reactive oral lesions, which showed similar frequency of GCs with those found in SSp patients. In addition, the immunoexpression of DCs in pSS patients suggest the participation of these cells in the perpetuation of the inflammatory process in pSS, contributing to the elucidation of immunotherapeutic targets.

Keywords: Sjogren's syndrome. Salivary Glands, minor. Germinal center. Dendritic cells. Immunohistochemistry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Síndrome de Sjögren	12
1.2 Centros Germinativos	13
1.3 Células Dendríticas (CDs)	14
1.3.1 Células dendríticas mieloides (CDmi)	15
1.3.2 Células dendríticas plasmocitoides (CDp)	16
2 PROPOSIÇÃO	18
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
3 PUBLICAÇÕES	19
3.1 Publicação 1	19
3.2 Publicação 2	43
4 CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56
ANEXO A	61

1 INTRODUÇÃO

1.1 Síndrome de Sjögren

A síndrome de Sjögren (SS) é uma doença autoimune crônica sistêmica que afeta principalmente as glândulas salivares e lacrimais, ocasionando disfunção glandular, incluindo ceratoconjuntivite *sicca*, hipossalivação e sintomas de secura oral e ocular¹. Estima-se que a prevalência na população em geral varia entre 0,5% a 3%, com incidência de 4 casos por 100.000 indivíduos. Além disso, a proporção de acometimento mulher/homem relatada é de 9:1, sendo predominantemente observada em adultos de meia-idade^{2,3}.

A doença é classificada em SS primária (SSp) e secundária (SSs); a SSp ocorre de forma isolada e a SSs se manifesta em associação com outras doenças autoimunes do tecido conjuntivo, como a artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico e esclerose sistêmica^{3,4}. Manifestações extraglandulares, como mialgia, artralgia e fadiga não são achados incomuns (cerca de 5% a 10% dos pacientes com SSp), doenças cardiovasculares, insuficiência renal, doença pulmonar intersticial, e distúrbios imunológicos, como hipergamaglobulinemia, fator reumatoide, hipocomplementemia, crioglobulinemia e autoanticorpos direcionados às partículas da ribonucleoproteína SSA/Ro e SSB/La, são frequentemente detectados⁵. Além dessas manifestações, estudos mostram que pacientes com SS apresenta uma maior predisposição a desenvolver linfomas não-Hodgkin de células B, especificamente o linfoma de tecido linfoide associado à mucosa (MALT), quando comparado à população em geral^{2,6,7}.

Reconhece-se que a etiopatogênese da SS ainda não está esclarecida; no entanto, a associação entre predisposição genética, modificações epigenéticas, fatores ambientais e hormonais têm sido fortemente associados à resposta imune contra autoantígenos visualizada nessa síndrome^{8,9}. A ativação imune contra as partículas de ribonucleoproteína SSA/Ro e SSB/La 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 B¹⁰. Além disso, as infecções virais, especialmente pelo vírus Esptein-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^{8,9}.

O diagnóstico da SS pode ser feito por meio de testes de secura ocular, sialometria, ultrassonografia, cintilografia, biópsia de glândulas salivares menores (GSm) e detecção de autoanticorpos antirribonucleoproteína SSA/Ro e SSB/La no plasma sanguíneo¹⁰. Histologicamente, as biópsias de GSm de pacientes com SS exibem aglomerados linfocitários (focos) permeando o parênquima glandular, definido como sialadenite linfocítica focal (SLF). O escore focal (EF) define o número de focos, cada um deles contendo 50 ou mais linfócitos, em uma área glandular de 4mm²¹¹. Notavelmente, GSm mostrando SLF com EF ≥ 1 , é um critério diagnóstico importante para definir a SS^{12,13}. Em certas situações, o infiltrado linfocitário que constitui os focos pode apresentar centros germinativos, com alguns estudos indicando valor prognóstico para este achado, com tendência para desenvolver linfoma tipo MALT¹⁴.

1.2 Centros Germinativos

Os centros germinativos (CGs) são microambientes especializados dentro dos tecidos linfoides, onde as células B sofrem extensa proliferação, hipermutação somática e seleção de afinidade de antígeno. Estes CGs podem ser visualizados ao avaliar biópsias de GSm em pacientes com SS^{5-7,15-19}. Apesar da importância da organização do infiltrado linfocitário em CGs nesses pacientes ainda não está completamente esclarecida, com alguns estudos favorecendo^{7,14-16,20} ou não²¹⁻²³ o desenvolvimento de linfoma, suscita-se que eles reorganizem a arquitetura dos infiltrados inflamatórios, facilitem a comunicação entre os linfócitos e podem desta maneira estar relacionado ao desenvolvimento de linfoma¹⁴.

Digno de nota, a relação entre a presença desses CGs e o risco acentuado de desenvolvimento de linfoma foi demonstrado em uma série de estudos^{7,14-16,20}. Em um desses, foi observado que 4% (7/175) de uma coorte de SSp desenvolveu linfoma em um período de 10,6 anos, quando os casos foram comparativamente analisados a partir do status CG-positivo e CG-negativo no momento do diagnóstico, as porcentagens de desenvolvimento de linfoma foram de 14% e 0,8% respectivamente⁷. Acredita-se que tal associação seja resultado de uma estimulação crônica de células B em CGs presentes nesses pacientes¹⁴. No entanto, outros estudos indicam que GCs não são preditivos para o desenvolvimento de linfoma em pacientes com SS²¹⁻²³.

Somado a esse achado, a presença de CGs também se correlacionou com um maior escore focal (EF), redução da produção de saliva, níveis mais elevados de fator reumatoide e anticorpos anti-SSA e anti-SSB^{1,14,17,19,24-26}. Ainda, os níveis de quimiocinas, mediadores pró-inflamatórios capazes de atrair células linfoides e mieloides, encontram-se aumentadas em pacientes com SS apresentando SLF com presença de CGs¹⁴.

Estudos anteriores, através da coloração com hematoxilina e eosina (H&E) e alguns deles também por imunoistoquímica (IQ), revelaram que os CGs podem ser detectados em aproximadamente 25% das biópsias de GSm de pacientes com SSp^{7,14,19}, variando de 16,5% a 59%^{15,27}. Além disso, outros estudos também avaliaram a presença de CGs em biópsias da glândula parótida^{16,28-30}. Destes, enquanto alguns apresentaram resultados semelhantes com GSm^{28,30}, outros mostraram uma alta proporção (76% e 100%) de CGs nas glândulas parótidas do que GSm em pacientes com SSp^{16,29}.

A análise de CGs, por IQ, foi determinada em alguns estudos levando em consideração a rede de células dendríticas foliculares (CDF), através da imunopexpressão de CD21^{5,16,27,31}, CD23 e CD35^{1,24,32}. Outros, utilizaram o anticorpo Bcl-6, um fator de transcrição altamente expresso em células B dentro de CGs^{21,30}, bem como o uso de CD3/CD20^{16,33}, para melhor caracterização das populações de células B e T. Todavia, falta consenso nos critérios utilizados para identificação dos CGs, através da técnica de IQ³⁰, com alguns estudos indicando que focos isolados de CDF, sem a expressão de Bcl-6, não pode caracterizar estritamente um CG²¹.

Como o papel dos CGs na SSp ainda não está totalmente esclarecido em relação ao seu impacto prognóstico¹⁷, estudos relacionados à caracterização morfológica, identificação de marcadores, bem como elucidação das vias imunológicas e imunopatológicas, são necessários para um melhor entendimento da presença destas estruturas na patogênese da SSp¹⁴.

1.3 Células Dendríticas (CDs)

As CDs são derivadas de células-tronco hematopoiéticas na medula óssea, integrantes do sistema de imunidade inata e eficientes células apresentadoras de antígenos (APCs). As CDs 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 periférica. As CDs, quando sofrem processo de diferenciação são divididas em células dendríticas mieloides (CDmi) e plasmocitoides (CDp)^{34,35}. Recentemente, as CDs foram sugeridas como candidatas à células mestras na ativação de células T e B na SS, no entanto, sua contribuição tem sido subavaliada³⁶.

1.3.1 Células dendríticas mieloides (CDmi)

As CDmi, ou clássicas, são células altamente especializadas encontradas em tecidos linfoides e, também, não linfoides. Essa células, em seu estado imaturo, capturam antígenos e migram através do sistema linfático para a zona de células T de órgãos linfoides secundários, onde ativam células T auxiliares / citotóxicas *naïve* e uma resposta imune adaptativa é iniciada³⁶. Dependendo da forma como interagem, diferentes padrões de resposta são definidos, podendo variar desde a tolerância até a eliminação do antígeno ou o estabelecimento de estados imunopatológicos³⁷. Quando presentes na pele e nas mucosas, as CDmi são conhecidas como células de Langerhans (CL) e células dendríticas submucosas (CDsub)³⁸. As CL tem localização preferencial no epitélio, já as CDsub tem localização preferencial no tecido conjuntivo adjacente.

As CL apresentam um papel indispensável na imunovigilância, principalmente nas zonas de barreira de entrada de patógenos, tais como a pele, mucosas e tecido periodontal³⁹. São caracterizadas pela expressão de S100, CD1a, CD45, moléculas do complexo principal de histocompatibilidade de classe II (MHC-II), E-caderina e a lectina do tipo C Langerin (CD207)³⁶. Estudos mostraram que há um envolvimento das CL na indução da SS; bem como sua correlação com a intensidade e perpetuação do processo inflamatório⁴⁰. Essas CDs foram observadas principalmente nas áreas periacinares e periductais próximas aos grandes infiltrados de linfócitos CD4^{+33,40,41}, e apresentavam expressão imunofenotípica para CD1a⁴⁰⁻⁴³, antígeno leucocitário anti-humano (HLA-DR+)⁴¹ e S100+³³.

Curiosamente, ao avaliar a presença dessas CL em biópsias de GSM e no sangue periférico de pacientes com SSp, notou-se que elas se encontravam em número aumentado nas GSM e reduzidas no sangue periférico circulante, sugerindo, assim, um papel importante na resposta imune inflamatória local⁴¹.

As CDsub, também chamadas de CDs dérmicas, é um subtipo distinto de CDmi que, além de ativar células T específicas do antígeno, apresenta capacidade de estimular diretamente as células B *naïves* a se diferenciarem em plasmócitos *in vitro*⁴⁴. Estas, podem ser avaliadas a partir da expressão fenotípica dos marcadores CD209 (DC-SIGN⁺), um receptor de membrana tipo II, que apresenta um domínio de reconhecimento de carboidrato C-terminal, presente na superfície de macrófagos e CDs, o qual medeia interações intracelulares, reconhecimento e captura de patógenos⁴⁵; e o fator XIIIa (FXIIIa), uma transglutaminase dependente de Ca²⁺, gerada na cascata de coagulação sanguínea, que é expressado positivamente nas CDsub^{44,45}. Um estudo ao avaliar a presença de CDsub DC-SIGN⁺ em tecido periodontal, verificou que estas eram similares às DC-SIGN⁺ encontradas na pele, contudo, o papel delas na gengiva humana ainda não eram bem definidos⁴⁵.

No contexto da SSp, o trabalho de Wildenberg et al.⁴⁶ avaliou as CDs por meio da expressão de CD208 (DC-LAMP) e CD209 (DC-SIGN) em biópsias de glândulas salivares labiais e parótidas em quatro pacientes com SSp; os autores encontraram que a expressão de CD209 foi identificada em todos os pacientes, na SLF e no parênquima glandular, enquanto o CD208⁺ foi expresso apenas na SLF⁴⁶. Em outro estudo, ao avaliar a expressão de IL-7R α em GSm na SSp e correlacionar com a inflamação glandular, foi possível identificar a associação entre o aumento dos níveis de IL-7R α e número de CDmi que expressavam CD209 e CD208, sugerindo que estas células apresentavam um papel importante na intensificação e/ou ativação das células T e B *naïves* na inflamação glandular⁴³. Porém, o mecanismo imunopatológico das CDsub na SSp ainda precisa ser melhor esclarecido.

1.3.2 Células dendríticas plasmocitoides (CDp)

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 endógenos^{47,48}. Entre os receptores endossômicos, o TLR7 e TLR9 constituem vias cruciais pelas quais as CDp são ativadas em doenças autoimunes sistêmicas⁴⁸.

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 produzir altos níveis de fator de ativação de células B (BAFF), um mediador da ativação de células B e da produção de autoanticorpos na SSp. Sugere-se, dessa forma, que as CDp podem estar relacionadas com aumento de atividade dessa doença^{47,49}.

Nesse contexto ao avaliar a presença das CDp em GSm de pacientes com SSp, através da expressão fenotípica dos anticorpos CD123⁴⁸, e CD303^{35,48,50-53}, 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 grupo 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 periférico; sugerindo o envolvimento dessas na resposta autoimune inflamatória^{35,46}.

4 CONCLUSÃO

A SLF também pode ser observada quando avaliando lesões orais reativas, as quais apresentaram uma frequência de CGs semelhante às encontradas em biópsias de GSM de pacientes com SSp.

Nossos resultados, também, sugerem protocolos padronizados para análise morfológica e imunoistoquímica ao avaliar CGs em biópsias de GSM de pacientes SSp.

Devido à frequência semelhante de CGs em lesões orais reativas e SSp, estudos adicionais, incluindo análise funcional de populações linfocíticas e CGs em SLF, são encorajados.

A expressão de imunomarcadores de células dendríticas mieloides e plasmocitoides em biópsias de pacientes com SSp, pode sugerir a participação dessas células na patogênese dos eventos imunoinflamatórios na SS. Estudos futuros analisando funcionalmente subconjuntos de CDs são essenciais para melhor compreensão da patogênese da SS, visando alvos imunoterapêuticos.

REFERÊNCIAS*

1. Jonsson MV, Szodoray P, Jellestad S, Jonsson R, Skarstein K. Association between circulating levels of the novel TNF family members APRIL and BAFF and lymphoid organization in primary Sjögren's syndrome. *J Clin Immunol.* 2005;25(3):189-201.
2. Mariette X, Criswell LA. Primary Sjögren's syndrome. *N Engl J Med.* 2018;378(10):931-9.
3. Pinheiro JB, Tirapelli C, da Silva CHL, Komesu MC, Petean FC, Louzada Junior P, et al. Oral nodular lesions in patients with sjögren's syndrome: Unusual oral implications of a systemic disorder. *Braz Dent J.* 2017;28(3):405-12.
4. Stefanski AL, Tomiak C, Pleyer U, Dietrich T, Burmester GR, Dörner T. The diagnosis and treatment of Sjögren's syndrome. *Dtsch Arztebl Int.* 2017;114(20):354-61.
5. Johnsen SJ, Berget E, Jonsson MV, Helgeland L, Omdal R, Jonsson R. Evaluation of germinal center-like structures and B cell clonality in patients with primary sjögren syndrome with and without Lymphoma. *J Rheumatol.* 2014;41(11):2214-22.
6. Jonsson R, Nginamau E, Szyszko E, Brokstad KA. Role of B cells in Sjögren's syndrome- from benign lymphoproliferation to overt malignancy. *Front Biosci.* 2007;12(6):2159-70.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. Brito-Zerón P, Baldini C, Bootsma H, Bowman SJ, Jonsson R, Mariette X, et al. Sjögren syndrome. *Nat Rev Dis Prim.* 2016;2(July):1-20.
11. Carubbi F, Alunno A, Gerli R, Giacomelli R. Histopathology of salivary glands. *Reumatismo.* 2018;70(3):146-54.
12. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis.* 2002;61(6):554-8.
13. Shiboski CH, Shiboski SC, Seror R, Criswell LA, Labetoulle M, Lietman TM, et al. 2016

* 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>

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.

14. Risselada AP, Looije MF, Kruize AA, Bijlsma JWJ, Van Roon JAG. 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.
15. 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.
16. 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.
17. Lee KE, Kang JH, Yim YR, Kim JE, Lee JW, Wen L, et al. The significance of ectopic germinal centers in the minor salivary gland of patients with Sjögren's syndrome. *J Korean Med Sci.* 2016;31(2):190-5.
18. Szodoray P, Alex P, Jonsson MV, Knowlton N, Dozmorov I, Nakken B, et al. Distinct profiles of Sjögren's syndrome patients with ectopic salivary gland germinal centers revealed by serum cytokines and BAFF. *Clin Immunol.* 2005;117(2):168-76.
19. He J, Jin Y, Zhang X, Zhou Y, Li R, Dai Y, et al. Characteristics of germinal center-like structures in patients with Sjögren's syndrome. *Int J Rheum Dis.* 2017;20(2):245-51.
20. Voulgarelis M, Dafni UG, Isenberg DA, Moutsopoulos HM. Malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome: a multicenter, retrospective, clinical study by the European concerted action on Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 1999;42(8):1765-72.
21. 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):1783-6.
22. 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.
23. Fox RI. The importance of minor salivary gland biopsy in prediction of lymphoma in Sjögren's syndrome: should we be obtaining more information about prognosis from minor salivary gland samples? *Ann Rheum Dis.* 2011;70(8):1351-3.
24. Jonsson MV, Skarstein K. Follicular dendritic cells confirm lymphoid organization in the minor salivary glands of primary Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med.*

2008;37(9):515-21.

25. Reksten TR, Jonsson MV, Szyszko EA, Brun JG, Jonsson R, Brokstad KA. Cytokine and autoantibody profiling related to histopathological features in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology*. 2009;48(9):1102-6.
26. Szyszko EA, Brokstad KA, Øijordsbakken G, Jonsson MV, Jonsson R, Skarstein K. Salivary glands of primary Sjögren's syndrome patients express factors vital for plasma cell survival. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(1):1-18.
27. Gatumu MK, Jonsson M V., Øijordsbakken G, Skarstein K. Nuclear BCL10 in primary Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med*. 2009;38(6):501-7.
28. Pijpe J, Kalk WWI, van der Wal JE, Vissink A, Kluin PM, Roodenburg JL, et al. Parotid gland biopsy compared with labial biopsy in the diagnosis of patients with primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology*. 2007;46(2):335-41.
29. Delli K, Haacke EA, Kroese FGM, Pollard RP, Ihrler S, van der Vegt B, et al. Towards personalised treatment in primary Sjögren's syndrome: Baseline parotid histopathology predicts responsiveness to rituximab treatment. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(11):1933-8.
30. 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.
31. Fei Y, Zhang W, Lin D, Wu C, Li M, Zhao Y, et al. Clinical parameter and Th17 related to lymphocytes infiltrating degree of labial salivary gland in primary Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol*. 2014;33(4):523-9.
32. Le Pottier L, Devauchelle V, Fautrel A, Daridon C, Saraux A, Youinou P, et al. ectopic germinal centers are rare in Sjögren's syndrome salivary glands and do not exclude autoreactive B cells. *J Immunol*. 2009;182(6):3540-7.
33. Manoussakis MN, Boiu S, Korkolopoulou P, Kapsogeorgou EK, Kavantzias N, Ziakas P, et al. Rates of infiltration by macrophages and dendritic cells and expression of interleukin-18 and interleukin-12 in the chronic inflammatory lesions of Sjögren's syndrome: correlation with certain features of immune hyperactivity and factors associated with h. *Arthritis Rheum*. 2007;56(12):3977-88.
34. 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.
35. Vogelsang P, Brun JG, Øijordsbakken 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 Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(6):1235-8.
36. 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.

37. Ochoa MT, Loncaric A, Krutzik SR, Becker TC, Modlin RL. "Dermal dendritic cells" comprise two distinct populations: CD1+ dendritic cells and CD209+ macrophages. *J Invest Dermatol.* 2008;128(9):2225-31.
38. da Motta RJG, Tirapelli C, Juns da Silva R, Villafuerte KR, Almeida LY, Ribeiro-Silva A, et al. Immature, but not mature, dendritic cells are more often present in aggressive periodontitis than chronic periodontitis: an immunohistochemical study. *J Periodontol.* 2016;87(12):1499-507.
39. Steinman RM, Idoyaga J. Features of the dendritic cell lineage. *Immunol Rev.* 2010;234(1):5-17.
40. Xanthou G, Tapinos NI, Polihronis M, Nezis IP, Margaritis LH, Moutsopoulos HM. CD4 cytotoxic and dendritic cells in the immunopathologic lesion of Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 1999;118(1):154-63.
41. Ozaki Y, Amakawa R, Ito T, Iwai H, Tajima K, Uehira K, et al. Alteration of peripheral blood dendritic cells in patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 2001;44(2):419-31.
42. Van Blokland SCA, Wierenga-Wolf AF, Van Helden-Meeuwsen CG, Drexhage HA, Hooijkaas H, van de Merwe JP et al. Professional antigen presenting cells in minor salivary glands in Sjögren's syndrome: potential contribution to the histopathological diagnosis? *Lab Investig.* 2000;80(12):1935-41.
43. Bikker A, Kruize AA, Wenting M, Versnel MA, Bijlsma JW, Lafeber FP, et al. Increased interleukin (IL)-7R α expression in salivary glands of patients with primary Sjögren's syndrome is restricted to T cells and correlates with IL-7 expression, lymphocyte numbers and activity. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(6):1027-33.
44. Cury PR, Furuse C, Rodrigues AEA, Barbuto JA, de Araújo VC, de Araújo NS. Interstitial and Langerhans' dendritic cells in chronic periodontitis and gingivitis. *Braz Oral Res.* 2008;22(3):258-63.
45. Jotwani R, Cutler CW. Multiple dendritic cell (DC) subpopulations in human gingiva and association of mature DCs with CD4+ T-cells in situ. *J Dent Res.* 2003;82(9):736-41.
46. Wildenberg ME, Welzen-Coppens JMC, 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's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2009;68(3):420-6.
47. 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
48. 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.

49. 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.
50. 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.
51. Zhao J, Kubo S, Nakayamada S, Shimajiri S, Zhang X, Yamaoka K, et al. Association of plasmacytoid dendritic cells with B cell infiltration in minor salivary glands in patients with Sjögren’s syndrome. *Mod Rheumatol*. 2016;26(5):716-24.
52. 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.
53. Zheng L, Zhang Z, Yu C, Tu L, Zhong L, Yang C. Association between IFN- α and primary Sjögren’s syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;107(1):e12-e18.