

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

KAMILA NUNES DA SILVA

**Caracterização imunoistoquímica de plasmósticos IgG e IgG4 na periodontite e peri-
implantite: um estudo comparativo**

ORIENTADOR: PROF. DR. JORGE ESQUICHE LEÓN

RIBEIRÃO PRETO

2024

KAMILA NUNES DA SILVA

Caracterização imunoistoquímica de plasmósticos IgG e IgG4 na periodontite e peri-implantite: um estudo comparativo

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Cirurgiã-Dentista.

ORIENTADOR: PROF. DR. JORGE ESQUICHE LEÓN

RIBEIRÃO PRETO

2023

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

AGRADECIMENTOS

A faculdade pelo conhecimento compartilhado, oportunidades e apoio. Obrigada por ter me desafiado ao longo desses anos, e assim, ter me transformado, não apenas em uma profissional qualificada e completa, mas também em uma pessoa melhor.

Ao corpo docente que me acompanhou ao longo do curso, agradeço pelo conhecimento passado, assim como pelas experiências de vida compartilhada. Obrigada por terem me guiado em minha formação acadêmica e pelo tempo dedicado.

Ao meu orientador, Jorge Esquiche León, pela oportunidade e apoio na elaboração deste trabalho. Assim como agradeço os pós-graduando, Evânio Vilela Silva e Magdalena Raquel Torres Reys, pelo constante apoio e dedicação no desenvolvimento dos projetos aos quais tive a chance de participar.

Aos meus pais, irmão e família pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Obrigada por tornarem possível esta conquista e por sempre incentivarem meus sonhos.

Aos meus amigos da faculdade por todos os momentos vivenciados juntos, que puderam garantir uma jornada acadêmica repleta de memórias inesquecíveis. Obrigada pelo compartilhamento de anotações e discussão pré-provas, que sempre foram essenciais para o meu desempenho.

A minha dupla, Jheisy Gabrielly Rodrigues Spejo, pelo apoio, paciência e companheirismo. Obrigada por estar ao meu lado ao longo desta jornada, tanto nos momentos de alegrias e quanto nos de estresses. Agradeço pela amizade e fico feliz pelo laço que criamos.

Ao meu namorado, Vítor Yoiti Okada, por ter tornado essa jornada mais leve, e por sempre me apoiar e acreditar em mim. Obrigada pela sua ajuda, compreensão, carinho e gentileza em momentos que eu precisava.

RESUMO

SILVA, Kamila nunes. **Caracterização imunoistoquímica de plasmócitos IgG e IgG4 na periodontite e peri-implantite:** um estudo comparativo. 2024. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2024.

A periodontite é uma doença infecto-inflamatória associada à presença de biofilme que afeta os tecidos de suporte dos dentes. A peri-implantite também está relacionada ao acúmulo de biofilme nos tecidos moles e de suporte ao redor dos implantes. Ambas as doenças acarretam em perda de dentes e implantes e afetam diretamente a qualidade de vida dos pacientes. Apesar da presença do biofilme patogênico ser um dos fatores essenciais para o início do desenvolvimento dessas doenças, a resposta imune inflamatória decorrente do acúmulo de placa é o que leva a destruição dos tecidos de suporte, por meio do infiltrado inflamatório presente constituído por diferentes subtipos de células imunes. O sistema imune age por meio da resposta imune inata e adaptativa. Assim, quando a causa persiste e existem outros fatores de risco associados, é necessária à ativação da resposta imune adaptativa. Nesta, os plasmócitos são acionados para auxiliar no combate aos microrganismos. No entanto, pouco é conhecido o papel dos plasmócitos IgG⁺ e IgG4⁺ na patogênese da periodontite e peri-implantite. Assim, no presente estudo foi analisado comparativamente a expressão dos imunomarcadores anti-IgG e anti-IgG4, na periodontite (n=16) e peri-implantite (n=16). Na periodontite, a média de células IgG e IgG4, respectivamente, foi 126,3±81 e 23,6±16, já a média da proporção de células IgG4⁺/IgG⁺ foi 18,7% (variando de 0% a 49%). Na peri-implantite, a média de células IgG e IgG4, respectivamente, foi 118±43 e 16,3±10, já a média da proporção de células IgG4⁺/IgG⁺ foi 13,7% (variando de 0% a 37%). Embora, um significativo maior número de células IgG⁺ do que células IgG4⁺, foi observado em ambos, periodontite e peri-implantite (ambos, p<0,05), a diferença não foi significativa quando comparados os grupos. Assim, nossos resultados mostram pela primeira vez a presença de células IgG4⁺ na periodontite e peri-implantite, comparativamente, e sugerem a participação deste subgrupo de plasmócitos na patogênese de ambas as doenças.

Palavras-chave: periodontite; peri-implantite; plasmócitos; IgG; IgG4; Imunoistoquímica.

ABSTRACT

SILVA, Kamila Nunes. **Immunohistochemical characterization of IgG and IgG4 plasma cells in periodontitis and peri-implantitis: a comparative study.** 2024. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Periodontitis is an infectious-inflammatory disease associated with the presence of biofilm that affects the supporting tissues of the teeth. Peri-implantitis is also related to the accumulation of biofilm in the supporting tissues around implants. Both diseases lead to loss of teeth and implants and directly affect patients' quality of life. Although the presence of pathogenic biofilm is one of the essential factors for the initiation of the development of these diseases, the inflammatory immune response resulting from the accumulation of plaque is what leads to the destruction of supporting tissues, through the inflammatory infiltrate present consisting of different subtypes of immune cells. The immune system acts through the innate and adaptive immune response. However, when the cause persists and there are other associated risk factors, it is necessary to activate the adaptive immune response. In this, plasma cells are activated to help fight microorganisms. However, little is known about the role of IgG⁺ and IgG4⁺ plasma cells in the pathogenesis of periodontitis and peri-implantitis. Therefore, in the present study, the expression of anti-IgG and anti-IgG4 immunomarkers was comparatively analyzed in periodontitis (n=16) and peri-implantitis (n=16). In periodontitis, the average number of IgG and IgG4 cells, respectively, was 126.3±81 and 23.6±16, while the average proportion of IgG4⁺/IgG⁺ cells was 18.7% (ranging from 0% to 49%). In peri-implantitis, the average number of IgG and IgG4 cells, respectively, was 118±43 and 16.3±10, while the average proportion of IgG4⁺/IgG⁺ cells was 13.7% (ranging from 0% to 37%). Although a significantly greater number of IgG⁺ than IgG4⁺ cells was observed in both periodontitis and peri-implantitis (both, p<0.05), the difference was not significant when comparing the groups. Thus, our results show for the first time the presence of IgG4⁺ cells in periodontitis and peri-implantitis, comparatively, and suggest the participation of this subgroup of plasma cells in the pathogenesis of both diseases.

Keywords: periodontitis; peri-implantitis; plasma cells; IgG; IgG4; Immunohistochemistry.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	13
3. METODOLOGIA	13
3.1 Seleção de amostra	13
3.2 Análise histopatológica	13
3.3 Estágio morfológico e classificação	13
3.4 Análise imunoistoquímica	13
3.5 Análise estatística	14
4. RESULTADOS	14
4.1 Peri-Implantite	14
4.2 Periodontite	14
4.3 Achados imunoistoquímicos na periodontite e peri-implantite	15
5. DISCUSSÃO	17
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
REFERÊNCIAS	20

1. INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença multifatorial crônica associada à presença de biofilme e caracterizada por inflamação gengival dos tecidos de suporte dos dentes. Quando não tratada, a periodontite pode levar à perda progressiva do osso alveolar e, conseqüentemente, dos dentes. Logo, é uma doença caracterizada por danos irreversíveis aos tecidos de suporte, sendo eles o osso alveolar, ligamento periodontal e cemento (Liu et al., 2019). O osso alveolar envolve os dentes e se liga a eles por meio de fibras do ligamento periodontal, as quais saem do cemento e se inserem a ele de maneira perpendicular, por toda a superfície do dente. Quando o tecido está inflamado, essas fibras perdem a capacidade de inserção no cemento, resultando na formação da bolsa periodontal e levando posteriormente a perda de inserção (Bosshardt, 2018).

Semelhantemente, a peri-implantite é definida como uma alteração patológica no osso de suporte ao redor de um implante ósseo-integrado, levando a presença de inflamação nos tecidos e conseqüente perda óssea (Roccuzzo et al., 2018, Schawarz et al., 2018). No caso dos implantes, não há a presença do cemento e ligamento periodontal e conseqüentemente, não há inserção. Assim, as fibras correm em paralelo com o material, sendo que o osso é o responsável pela osseointegração do implante com o osso. Ou seja, a inserção do implante advém do osso, porém ela é menor quando comparada a do cemento (Corrêa et al., 2019). O epitélio juncional gengival, formado durante a cicatrização e em continuidade ao epitélio já existente, é outra estrutura responsável pela inserção do implante, pois garante uma fixação epitelial com uma vedação firme contra a superfície do dente, o que é fundamental para a manutenção da osseointegração, já que uma das suas funções é a defesa contra microrganismos (Ivanovski, et al., 2017). Uma vez que a doença peri-implantar se instala, a possibilidade de perda óssea é maior no implante do que quando comparado ao dente. Sendo assim, lesões ao redor de implantes são duas vezes maiores, exibem um perfil destrutivo inflamatório maior e, provavelmente, uma progressão mais rápida (Corrêa et al., 2019, Kalsi et al., 2021). Isso ocorre devido à complexidade do design do implante ou por conta de um erro clínico decorrente da colocação do implante, ambos os problemas resultam em um acúmulo maior de biofilme na região, pois se trata de uma área de difícil acesso para realizar uma adequada higienização (Ivanovski, et al., 2017). Além disso, a presença de níveis elevados de biomarcadores específicos na peri-implantite podem ser responsáveis por essa resposta mais exacerbada (Kalsi et al., 2021).

A doença periodontal possui uma alta taxa de ocorrência no mundo, sendo uma das principais causas de perda dentária, o que consequentemente, interfere na mastigação, estética e qualidade de vida do indivíduo. Um levantamento epidemiológico estimou que mais de 50% de todos os adultos do mundo são afetados por doenças periodontais, o que a torna uma das doenças mais prevalentes (Liu et al., 2019). Os implantes dentários são a opção de tratamento mais popular para a perda dentária por múltiplas causas, incluindo a periodontite, com a finalidade de melhorar a função, a estética e a qualidade de vida do paciente (Komatsu et al., 2020). Apesar das altas taxas de sucessos desses implantes, eles também estão sujeitos a falhas. Estas, têm como uma das principais causas a peri-implantite, a qual possui semelhanças e diferenças não muito bem elucidadas com a periodontite. Uma relação já comprovada entre as duas doenças é a de que a periodontite influencia na taxa de sucesso dos implantes, sendo considerada um fator de risco para o desenvolvimento da peri implantite, já que pacientes com histórico de periodontite têm um maior risco de desenvolver a doença, assim como de agravá-la gerando uma maior perda óssea (Sung et al., 2018, Ravidá et al., 2021).

A patogênese da doença periodontal e da peri-implantite abrange interações complexas entre a resposta imune do hospedeiro com bactérias específicas presentes no biofilme e na bolsa periodontal, assim como outros fatores de risco, como por exemplo, genética, idade, entre outros (Liu et al., 2019). Esses fatores de risco intrínsecos e extrínsecos alteram as características de resposta do indivíduo, aumentando ou diminuindo a prevalência de uma subclasse, frente à presença de um determinado patógeno (Ebersole et al., 2021). Os principais patógenos periodontais específicos responsáveis pelo desenvolvimento da periodontite são as bactérias, como *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) e *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*). O acúmulo dessas bactérias patogênicas em placa subgingival ativa uma resposta imuno-inflamatória com o objetivo de equilibrar novamente a comunidade biótica da boca, ativando vias específicas de imunidade do hospedeiro, que promovem uma resposta inflamatória geral e levam à perda de inserção (Manresa, et al., 2018).

Portanto, o acúmulo do biofilme na periodontite e peri-implantite leva a um desequilíbrio microbiano, que por sua vez acarreta em uma resposta imune do hospedeiro. A primeira barreira que é recrutada ao local da lesão é a resposta inata por meio dos neutrófilos, os quais atuam protegendo o organismo como células de defesa inespecíficas (Bunte et al., 2019; Ivanovski, et al., 2017). Essas células são atraídas por meio de citocinas produzidas por

células residentes do tecido, incluindo as células epiteliais, fibroblastos gengivais, osteoblastos e células dendríticas. Essas ativações celulares produzem células que destroem alguns microrganismos. Entretanto, se a presença de biofilme persistir, o processo inflamatório se mantém e irá favorecer os efeitos negativos da ativação da resposta imune. Assim, com a permanência dos patógenos periodontais associados a outros fatores de risco, em algum momento será desencadeada uma segunda defesa para combater o agente agressor, pois a resposta inespecífica não será mais suficiente. Desse modo, a resposta adaptativa é ativada (Benedetto et al., 2013).

A resposta imune adaptativa é dividida em celular e humoral, sendo que os linfócitos T são responsáveis pela resposta mediada por células e os anticorpos (imunoglobulinas) são responsáveis pela resposta humoral. Essa resposta recruta células de reconhecimento de antígeno para a região, produzindo anticorpos que ficam dispersos no tecido conjuntivo. Assim, o processo que estava em equilíbrio, com a complexidade do biofilme, torna-se uma resposta mediada por células e anticorpos (Cekici et al., 2015). A imunidade celular realiza a apresentação de antígenos com a ativação de linfócitos T CD4 +, enquanto a imunidade humoral ativa as imunoglobulinas, como as da classe IgG e seus subtipos, como o IgG4 + (Cekici et al., 2015). Em um estudo realizado com pacientes que apresentavam periodontite agressiva e crônica com a presença de bactérias *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans* foi detectado um nível significativamente elevado de anticorpos IgG no soro dos pacientes quando comparado a um paciente saudável (Isola et al., 2020). Em outro estudo na presença da bactéria *P. gingivalis* também foi observado um aumento considerável da classe de IgG1, IgG2 e IgG4, o que mostra que dentro da grande gama de subclasses de IgG ocorre uma diferença de prevalência nos casos de periodontite em decorrência da variedade de microrganismos patogênicos existentes (Ebersole et al., 2021).

A resposta das células T frente à presença de patógenos periodontais é considerado um papel chave na regulação da patogênese periodontal. Os linfócitos T são divididos de acordo com a sua função, formando as células T auxiliares (Th), que regulam as atividades de defesa do hospedeiro por meio da liberação de citocinas, por exemplo, contra um processo inflamatório. Elas por sua vez se diferenciam quando ocorre a apresentação do antígeno, dividindo-se em Th1, Th2, Th9, Th17, Th22, Th e T folicular células auxiliares (Tfh), assim como em células reguladoras (Treg) (Giro et al., 2020, Bunte et al., 2019). Todos os tipos são ativados para desempenhar determinadas funções, no caso da doença periodontal o Th17 é o grupo de linfócitos de maior interesse, já que são responsáveis por ativar principalmente

neutrófilos para o combate de infecções bacterianas e fúngicas. Células como Th1 e Th17 são responsáveis pela ativação de citocinas e interleucinas, como 17A (IL-17A), 17F (IL-17F) e a 22 (IL 22), que estão relacionadas com a inflamação neutrofílica e monocítica, ou seja, estão presentes principalmente em casos onde há um grande recrutamento de neutrófilos para o combate de bactérias extracelulares. Porém, assim como em outros padrões de resposta imune do T Helper a ativação inadequada das células Th17 está relacionada a doenças inflamatórias, crônicas e autoimunes, como por exemplo, recentemente foi descrito que as células Th17 estão envolvidas na patogênese das doenças periodontais da classe IgG (Giro et al., 2020). Portanto, o equilíbrio entre os fatores inflamatórios e regulatórios é de extrema importância para a prevenção da destruição tecidual, já que enquanto as células Th17 promovem inflamação, as células Treg controlam a inflamação, protegendo os tecidos contra a progressão da periodontite, utilizando outros mecanismos como a produção da citocina IL-10 e o fator de crescimento transformados (TGF- β). Assim, deve-se existir um equilíbrio entre as duas respostas, pois a grande produção de citocinas pode gerar uma resposta inflamatória exacerbada (Mahanonda et al., 2016).

No caso da resposta humoral os mecanismos envolvidos na origem das células e suas subclasses, durante um processo inflamatório em casos de periodontite e peri-implantite, não é totalmente compreendido. Sabe-se que as células B migram entre as vias sanguíneas e linfáticas para participar da resposta imune (Kulkarni et al., 2014) e que as subclasses existentes derivadas do IgG são: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Alguns estudos apontam que as subclasses de IgG1 e IgG2 são as principais células encontradas quando comparadas com o total de células plasmáticas, sendo seguida de IgG3 e Ig4, que se apresentam em uma proporção menor. A natureza da infecção e os antígenos presentes no tecido são o que determina a distribuição de subclasses do anticorpo IgG, sendo que aquelas originadas a partir de antígenos de carboidratos, incluindo lipopolissacarídeos (LPS), induzem principalmente a produção de anticorpos IgG2, já aquelas oriundas de antígenos proteicos induzem predominantemente IgG1, e pequenas proporções de IgG3 e IgG4. Portanto, a distribuição de subclasses de IgG podem dar indícios sobre os mecanismos patogênicos. (Takahashi et al., 1997).

Estudos já realizados comprovam a chegada desse grande número de células inflamatórias na bolsa periodontal, no qual predominasse a chegada de linfócitos. Outros estudos mostraram que a quantidade de linfócitos B aumenta durante a periodontite, assim como a quantidade de plasmócitos (Ouyang et al., 2020). Assim essas células e anticorpos

originadas pelo sistema imune adaptativo e que têm como função principal proteger o hospedeiro, ao mesmo tempo, acabam destruindo o periodonto de sustentação, o que evolui para os sinais clínicos da doença, como a perda do osso alveolar. Por meio de estudos realizados ao longo dos anos, confirmou-se que o responsável por estimular a destruição do tecido periodontal são as respostas inflamatórias e imunológicas exacerbadas (Dyke, 2018; Benedetto et al., 2013). Assim, mesmo que o biofilme patogênico seja responsável por desencadear os estágios primários da periodontite, a resposta imune do hospedeiro é que podem estar ligados significativamente com a progressão da doença e os seus próximos estágios, por meio do infiltrado inflamatório presente marcado por diferentes subtipos de células imunes (Li et al., 2020; Cekici et al., 2015).

Ademais, estudos apontam que a presença de um aumento na densidade de plasmócitos IgG4, com proporção de células IgG4+/IgG+ >40%, associado a um infiltrado linfoplasmocitário denso, caracterizam histologicamente uma condição fibroinflamatória denominada de doença relacionada à IgG4 (IgG4-RD). A doença pode afetar múltiplos tecidos e/ou órgãos, é mais comum em indivíduos do sexo masculino, sendo sua prevalência e incidência pouco bem definidas (Polanco et al., 2020; Zhang et al., 2021; Orozco-Gálvez et al., 2023). Apesar de apresentar uma etiologia desconhecida, tem uma fisiopatologia parcialmente conhecida que é baseada na interação entre os linfócitos B e T; além disso, pode mimetizar outras doenças de caráter infeccioso e inflamatórias, tendo como principal sinal o aumento de volume de órgãos e hiperplasia tissular, assim é importante que o diagnóstico seja baseado nas características clínicas, sorológicas e histológicas. Apesar de a principal manifestação bucal e maxilofacial ser o aumento das glândulas salivares, um aumento anormal de outra região bucal, como a gengiva, deve ser devidamente investigada, já que há o relato de um caso na literatura de periodontite associada à IgG4-RD (Zhang et al., 2021; Orozco-Gálvez et al., 2023).

Sendo assim, um melhor conhecimento sobre os níveis de anticorpos na periodontite e peri-implantite pode levar a uma melhor compreensão da progressão das mesmas. O sistema imune abrange uma grande diversidade de classes e subclasses de imunoglobulinas que exercem diferentes funções e que são de grande importância para o entendimento do surgimento e da progressão da periodontite e da peri-implantite. Como a maioria dos estudos existentes focam apenas em alguns tipos celulares e os associam a alguns microrganismos específicos da periodontite, como *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans*, o presente estudo busca avaliar a resposta imune humoral através da identificação de dois

imunomarcadores específicos, o IgG e o IgG4, em indivíduos com periodontite e peri-implantite, comparando-as com indivíduos saudáveis.

2. OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo analisar comparativamente, por meio de análise imunoistoquímica, a presença de marcadores de plasmócitos IgG e IgG4, em casos de periodontite e peri-implantite. Logo, com os resultados deste trabalho, visamos compreender as diferenças na infiltração desses imunomarcadores nas lesões de periodontite e peri-implantite, o que pode explicar o comportamento biológico de progressão de ambas as lesões e relacioná-lo com aspectos terapêuticos, tendo impacto clínico e prognóstico.

3. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado nos Laboratórios de Microscopia e Histopatologia do Departamento de Estomatologia, Saúde Coletiva e Odontologia Legal da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (DESCOL, FORP-USP). O estudo foi aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE 52160021.0.0000.5416).

3.1 Seleção da amostra: Foi realizado um estudo retrospectivo, cujos dados clínicos foram obtidos dos formulários clínicos de encaminhamento das biópsias. Para o estudo, foram selecionados 16 casos de periodontite e 16 casos de peri-implantite.

3.2 Análise histopatológica: A partir do material existente nos blocos de parafina, foram realizados dois novos cortes com 5 µm de espessura, os quais foram corados com hematoxilina-eosina (H&E), e posteriormente analisados para descrição morfológica dos cortes convencionais e confirmação do diagnóstico.

3.3 Estágio morfológico e classificação: Os cortes de H&E foram analisados e descritos detalhadamente para caracterizar os seus componentes microscópicos e classificá-los como periodontite (incluindo estágio e grau) (da Motta et al., 2020), bem como peri-implantite, através de estrita correlação clinicopatológica (Berglundh et al., 2018).

3.4 Análise imunoistoquímica: Os cortes obtidos sobre lâminas revestidas com organossilano (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) foram submetidos à técnica imunoistoquímica pelo método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Universal LSABTM+ Kit/HRP, Rb/Mo/Goat, K0690, Dako) para avaliar os anticorpos individuais IgG e IgG4. Áreas com

maior densidade de imunomarcacão foram selecionadas e a densidade e percentual de células positivas foram registradas em x400 (0,25mm²) (células positivas/mm²). Contagens independentes de 10 campos separados para cada marcador e para cada caso foi feito, sendo a média e desvio padrão destes valores registrados.

3.5 Análise estatística: Os dados foram analisados com o Prism versão 6.0 (Graphpad, San Diego, CA, EUA). A distribuição normal foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilks. Em amostras com distribuição normal, foram aplicados o teste t de Student e a correlação de Pearson. Nas amostras que apresentaram distribuição não normal, foi aplicado o teste U de Mann-Whitney e a correlação de Spearman. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4. RESULTADOS

4.1 Peri-implantite

Dentre os 16 casos selecionados de peri-implantite, 10 casos pertenceram ao sexo feminino e 6 casos ao sexo masculino. A média de idade foi de 56 anos, variando entre 44 e 69 anos. Dos hábitos de tabagismo, 4 casos são tabagistas e os demais casos relataram não ser tabagistas (n=12). Em relação à instalação do implante, o tempo médio foi 15 meses, variando entre 3 meses e 3 anos. A partir desse material disponibilizado, 16 casos de peri-implantite foram submetidos à técnica imunoistoquímica, o qual depois utilizando um microscópio foram fotografados para documentação e posterior análise de contagem de células. As fotos foram feitas em 10 áreas para cada caso, com cada área coincidindo nas mesmas regiões tissulares para IgG e IgG4, para adequada comparação do infiltrado plasmocitário.

4.2 Periodontite

Dentre os 16 casos selecionados de periodontite (todos, estágio III, grau B), 11 casos pertenceram ao sexo feminino e 5 casos ao sexo masculino. A média de idade foi de 59 anos, variando entre 33 e 78 anos. A partir desse material disponibilizado, os 16 casos de periodontite foram submetidos aos mesmos passos que os de peri-implantite, passando pela técnica imunoistoquímica e registro de 10 áreas semelhantes para os marcadores IgG e IgG4.

4.3 Achados imunoistoquímicos na periodontite e peri-implantite

Para o marcador anti-IgG, os casos de periodontite apresentaram uma média de células IgG⁺ de 126,3±81. Para o marcador anti-IgG4, 14 casos de periodontite exibiram células IgG4⁺ no infiltrado inflamatório, apresentando uma média de 23,6±16. A média da proporção de células IgG4⁺/IgG⁺ foi 18,7% (variando de 0% a 49%) (**Figuras 1 e 2**). Somente 2 casos de periodontite apresentaram uma proporção de células IgG4⁺/IgG⁺ >40%.

Na peri-implantite, para o marcador anti-IgG, todos os casos exibiram células IgG⁺ no componente inflamatório, apresentando uma média de 118±43. Para o marcador anti-IgG4, 15 casos exibiram células IgG4⁺ no infiltrado inflamatório, apresentando uma média de 16,3±10. A média da proporção de células IgG4⁺/IgG⁺ foi 13,7% (variando de 0% a 37%) (**Figuras 3 e 4**).

Para ambos, periodontite e peri-implantite, a frequência de células IgG⁺ foi significativamente maior ($p < 0,01$) do que células IgG4⁺. Não houve associação significativa entre a presença dessas células com outras variáveis clinicopatológicas.

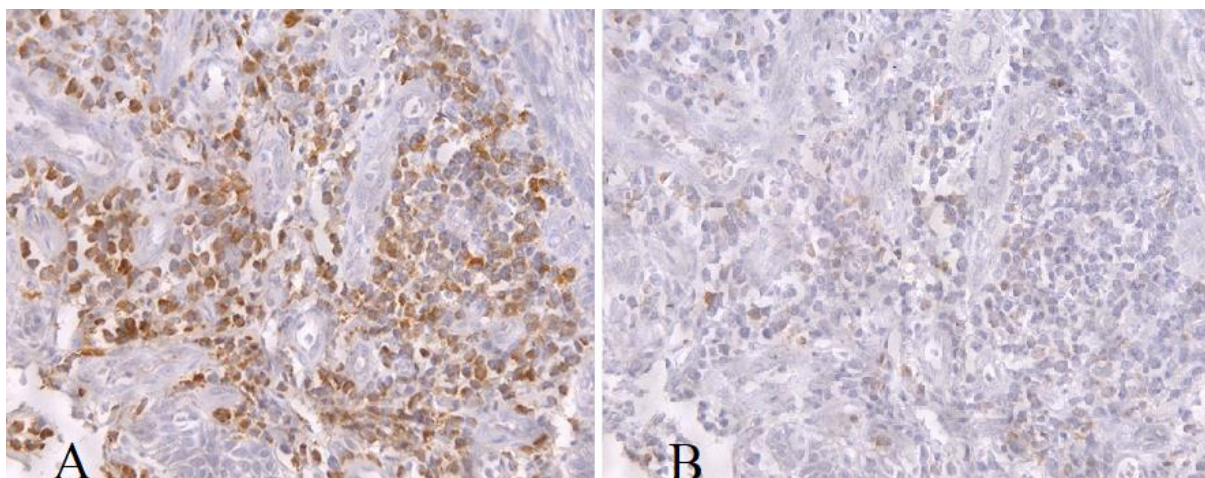


Figura 1. Análise imunoistoquímica da periodontite. **A.** Imunomarcção positiva para o marcador anti-IgG no infiltrado inflamatório. **B.** Imunomarcção positiva para anti-IgG4 na mesma área tecidual (A e B, 40x).

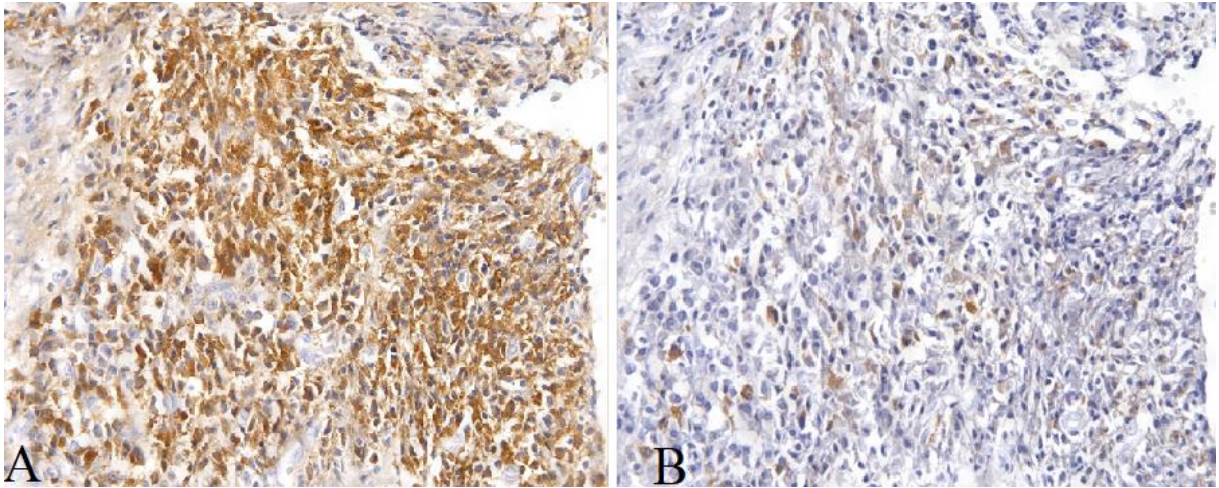


Figura 2. Análise imunoistoquímica da periodontite. **A.** Imunomarcção positiva para o marcador anti-IgG no infiltrado inflamatório. **B.** Imunomarcção positiva para anti-IgG4 na mesma área tecidual (A e B, 40x).

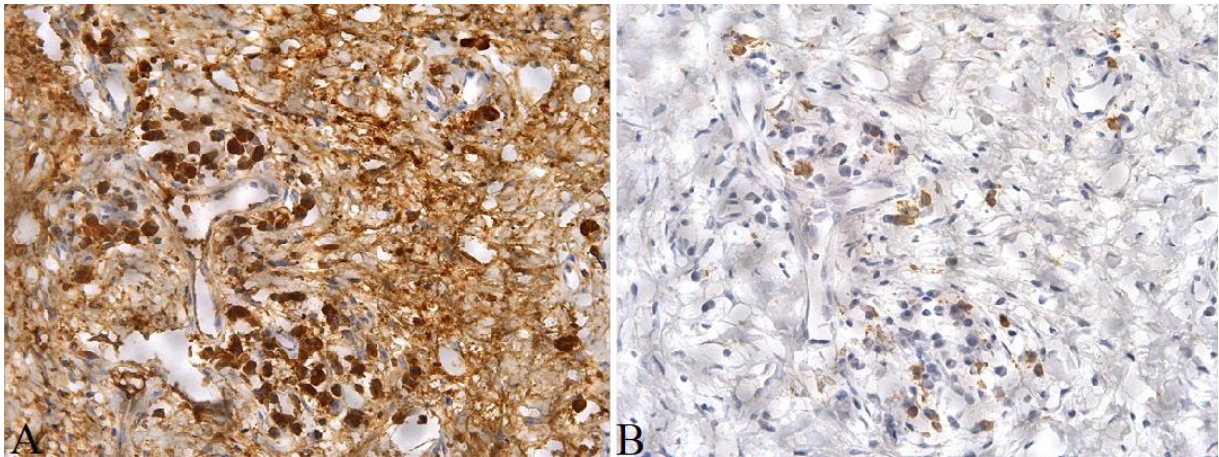


Figura 3. Análise imunoistoquímica da peri-implantite. **A.** Imunomarcção positiva para o marcador anti-IgG no infiltrado inflamatório. **B.** Imunomarcção positiva para anti-IgG4+ na mesma área tecidual (A e B, 40x).

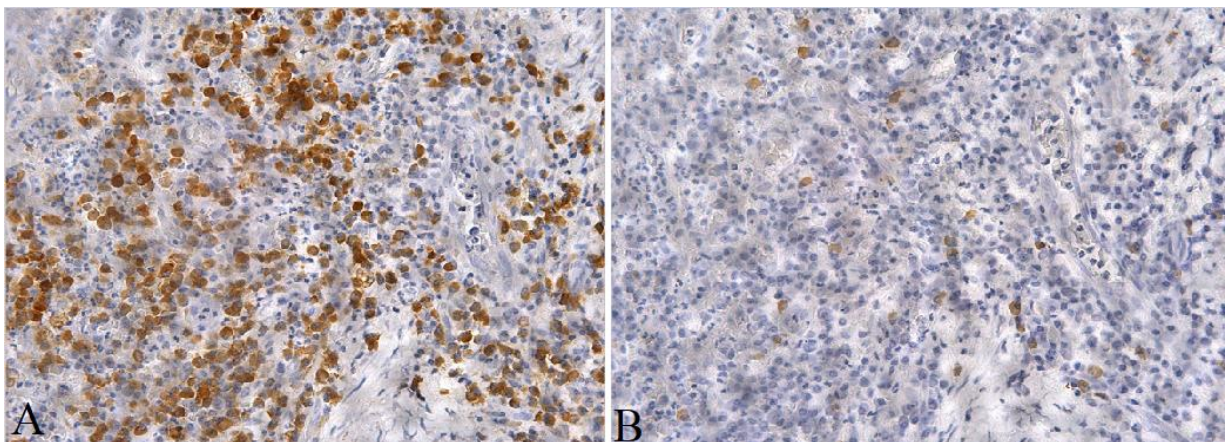


Figura 4. Análise imunoistoquímica da peri-implantite. **A.** Imunomarcção positiva para o marcador anti-IgG no infiltrado inflamatório. **B.** Imunomarcção positiva para anti-IgG4 na mesa área tecidual (A e B, 40x).

Comparando a análise imunoistoquímica entre periodontite e peri-implantite, houve um predomínio de células IgG+ sobre células IgG4+ na periodontite e peri implantite (ambos, $p < 0,05$). No entanto, quando a frequência das células IgG+ e IgG4+ foi comparada, houve similaridade nos grupos de periodontite e peri-implantite (**Figura 5**).

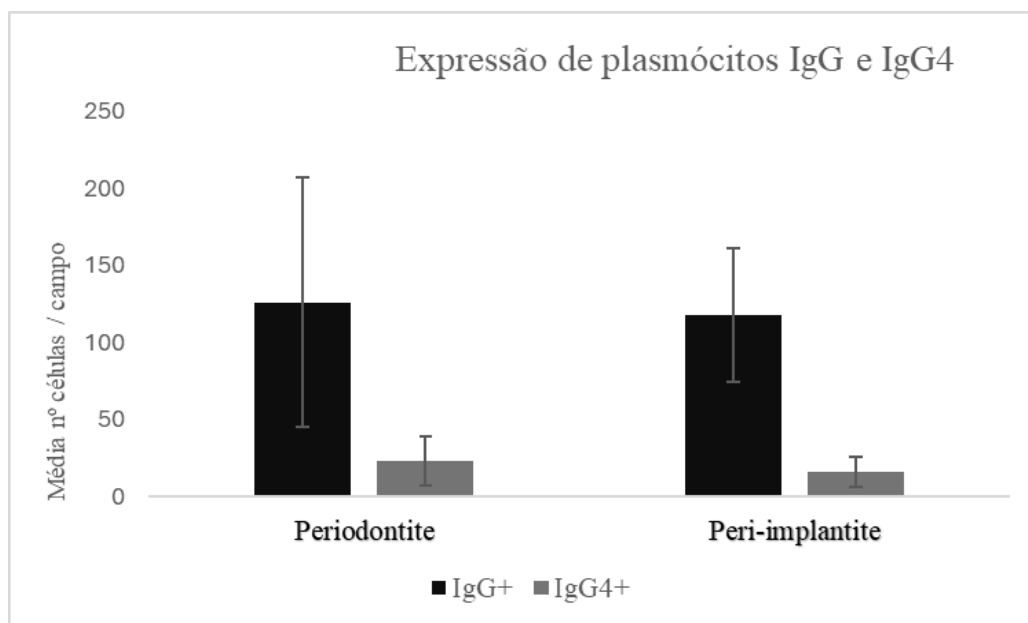


Figura 5. Gráfico mostrando a frequência da expressão de células IgG+ e IgG4+ na periodontite e peri-implantite. Observe que ambos, periodontite e peri-implantite, apresentam um maior número de células IgG+ do que células IgG4+ ($p < 0,05$), porém, quando comparado ambos os grupos, a diferença não foi estatisticamente significativa.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou, por imunoistoquímica, a expressão de plasmócitos IgG+ e IgG4+ na resposta imune na periodontite e na peri-implantite. Os resultados mostraram um predomínio de plasmócitos IgG+, seguido por plasmócitos IgG4, em ambos, periodontite e peri-implantite, sugerindo participação destas células nos seus mecanismos patogênicos.

Ao longo dos anos, foi cada vez mais consolidada a ideia de que as células imunes atuam na patogênese das duas doenças, tanto como ativadores quanto como inibidores da inflamação dos tecidos (Li et al., 2020). Ou seja, o desequilíbrio entre a resposta imune do hospedeiro e a invasão microbiana resulta em uma futura perda óssea, sendo que as células B, responsáveis pela imunidade humoral, são uma das principais células imunes que participam desse processo (Liu et al., 2022). No entanto, este é o primeiro estudo, até onde sabemos, que

avalia a presença de subtipos dos plasmócitos IgG+ e IgG4+, comparando a periodontite com a peri-implantite.

A presença de células IgG+ em ambas as doenças foi predominante, o que coincide com estudos prévios, os quais já relatavam que o principal isotipo presente da imunoglobulina era o IgG, sendo o IgG4 o subtipo de menor proporção (Jing et al., 2019). Uma possível explicação por esse padrão seriam as diferentes formas de antígenos bacterianos presentes na patogênese das doenças (Ogawa et al., 1989). Dos nossos resultados, podemos inferir que no caso da periodontite e peri-implantite, esses mecanismos poderiam ser semelhantes.

Ademais, não foi observada nenhum caso associado com a IgG4-RD, já que a média de proporção de células IgG4+/IgG+ foi 13,7% nos casos de peri-implantite e de 18,7% nos casos de periodontite. Dois casos de periodontite apresentaram uma proporção de células IgG4/IgG+>40%, no entanto, apenas esse aumento não é evidência suficiente para o diagnóstico da IgG4-RD, devendo-se também levar em consideração características clínicas, sorológicas e radiológicas, assim como outras características histológicas como presença de um infiltrado inflamatório denso, padrão estoriforme e flebite obliterativa (Polanco et al., 2020; Pereira et al., 2022). Portanto, não houve associação significativa entre a presença dessas células com outras variáveis clinicopatológicas que poderiam indicar a relação com a IgG4-RD.

Apesar da periodontite e peri-implantite apresentarem algumas semelhanças, uma das diferenças que se destacam, de acordo com a literatura, é a presença de um infiltrado inflamatório mais pronunciado e intenso nos casos de peri-implantite, principalmente constituído por plasmócitos, acompanhadas de um persistente acúmulo de biofilme (Heitz-Mayfield et al., 2010). Contudo, a partir dos nossos resultados analisados foi notado, mesmo que pequena, que a presença de células IgG+ e IgG4+ foi ligeiramente maior em casos de periodontite, o que pode sugerir que outros fatores, como por exemplo, a presença de partículas dos materiais do implante, tipo do implante, bem como alterações morfológicas e/ou funcionais após sua instalação, estejam influenciando nossos resultados. Relevantemente, ainda não se sabe se há relação entre o tipo do material do implante e os mecanismos de reabsorção óssea (Fretwurst et al., 2021).

Em nosso estudo, comprovamos a presença de plasmócitos subtipos IgG e IgG4 no infiltrado inflamatório da periodontite e peri-implantite, mas acreditamos que o perfil da resposta imune presente em ambas as doenças é complexo, e outros tipos imunes celulares devem ainda ser avaliados comparativamente, seguindo o modelo proposto neste estudo.

Assim, diante dos diversos estudos, pensamos que a patogênese pode ser específica para cada paciente, devendo ser levado em consideração os microrganismos presentes no biofilme, as diferenças anatômicas do ambiente, a qualidade dos tecidos e, no caso dos implantes, o tipo de material utilizado (Fretwurst et al., 2021). Diante do exposto, acreditamos que nosso estudo contribui com o melhor entendimento dos mecanismos imunes envolvidos na patogênese da periodontite e peri-implantite, fornecendo dados para uma melhor compreensão da resposta imune adaptativa, envolvendo os plasmócitos IgG⁺ e IgG4⁺.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

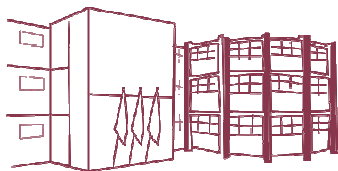
Conclui-se que foi observado em ambos, periodontite e peri-implantite, um significativo maior número de células IgG⁺ do que células IgG4⁺. Quando comparados ambos os grupos, pode-se notar uma frequência similar de células IgG⁺ e IgG4⁺. Nossos resultados mostram, portanto, pela primeira vez, a presença de células IgG4⁺ na periodontite e peri-implantite, em estudo comparativo, sugerindo a participação deste subgrupo de plasmócitos na patogênese de ambas as doenças.

REFERÊNCIAS

1. Berglundh T, Armitage G, Araujo MG, et al. Peri-implant diseases and conditions: Consensus report of workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S313-S318.
2. Bosshardt DD. The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences. *Periodontol 2000*. 2018 Feb;76(1):43-50. doi: 10.1111/prd.12153. Epub 2017 Nov 30.
3. Bunte K, Beikler T. Th17 Cells and the IL-23/IL-17 Axis in the Pathogenesis of Periodontitis and Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Int J Mol Sci*. 2019 Jul 10;20(14):3394.
4. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014 Feb;64(1):57-80.
5. Corrêa MG, Pimentel SP, Ribeiro FV, Cirano FR, Casati MZ. Host response and peri-implantitis. *Braz Oral Res*. 2019 Sep 30;33(suppl 1):e066.
6. Ebersole JL, Hamzeh R, Nguyen L, Al-Sabbagh M, Dawson D 3rd. Variations in IgG antibody subclass responses to oral bacteria: Effects of periodontal disease and modifying factors. *J Periodontal Res*. 2021 Oct;56(5):863-876. Epub 2021 Apr 7.
7. da Motta RJG, Almeida LY, Villafuerte KRV, Ribeiro-Silva A, León JE, Tirapelli C. FOXP3+ and CD25+ cells are reduced in patients with stage IV, grade C periodontitis: A comparative clinical study. *J Periodontal Res*. 2020 Jun;55(3):374-380.
8. Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M. Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss. *Clin Dev Immunol*. Epub 2013 May 23.
9. Fretwurst T, Müller J, Larsson L, Bronsert P, Hazard D, Castilho RM, Kohal R, Nelson K, Iglhaut G. Immunohistological composition of peri-implantitis affected tissue around ceramic implants-A pilot study. *J Periodontol*. 2021 Apr;92(4):571-579. Epub 2020 Sep 17.
10. Giro G, Tebar A, Franco L, Racy D, Bastos MF, Shibli JA. Treg and TH17 link to immune response in individuals with peri-implantitis: a preliminary report. *Clin Oral Investig*. 2021 Mar;25(3):1291-1297. Epub 2020 Jun 27.
11. Heitz-Mayfield LJ, Lang NP. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis vs. peri-implantitis. *Periodontol 2000*. 2010 Jun;53:167-81.
12. Isola G, Polizzi A, Patini R, Ferlito S, Alibrandi A, Palazzo G. Association among serum and salivary *A. actinomycetemcomitans* specific immunoglobulin antibodies and periodontitis. *BMC Oral Health*. 2020 Oct 15;20(1):283.
13. Ivanovski S, Lee R. Comparison of peri-implant and periodontal marginal soft tissues in health and disease. *Periodontol 2000*. 2018 Feb;76(1):116-130. Epub 2017 Nov 30.
14. Jing L, Kim S, Sun L, Wang L, Mildner E, Divaris K, Jiao Y, Offenbacher S. IL-37- and IL-35/IL-37-Producing Plasma Cells in Chronic Periodontitis. *J Dent Res*. 2019 Jul;98(7):813-821.
15. Kalsi AS, Moreno F, Petridis H. Biomarkers associated with periodontitis and peri-implantitis: a systematic review. *J Periodontal Implant Sci*. 2021 Feb;51(1):3-17.
16. Komatsu K, Shiba T, Takeuchi Y, Watanabe T, Koyanagi T, Nemoto T, Shimogishi M, Shibasaki M, Katagiri S, Kasugai S, Iwata T. Discriminating Microbial Community Structure Between Peri-Implantitis and Periodontitis With Integrated Metagenomic, Metatranscriptomic, and Network Analysis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Dec 11;10:596490.
17. Kulkarni C, Kinane DF. Host response in aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2014 Jun;65(1):79-91.

18. Li W, Zhang Z, Wang ZM. Differential immune cell infiltrations between healthy periodontal and chronic periodontitis tissues. *BMC Oral Health*. 2020 Oct 27;20(1):293.
19. Liu J, Ruan J, Weir MD, Ren K, Schneider A, Wang P, Oates TW, Chang X, Xu HHK. Periodontal Bone-Ligament-Cementum Regeneration via Scaffolds and Stem Cells. *Cells*. 2019 Jun 4;8(6):537.
20. Liu L, Chen Y, Wang L, Yang F, Li X, Luo S, Yang L, Wang T, Song D, Huang D. Dissecting B/Plasma Cells in Periodontitis at Single-Cell/Bulk Resolution. *J Dent Res*. 2022 May 26.
21. Mahanonda R, Champaiboon C, Subbalekha K, Sa-Ard-Iam N, Rattanathammatada W, Thawanaphong S, Rerkyen P, Yoshimura F, Nagano K, Lang NP, Pichyangkul S. Human Memory B Cells in Healthy Gingiva, Gingivitis, and Periodontitis. *J Immunol*. 2016 Aug 1;197(3):715-25. Epub 2016 Jun 22.
22. Manresa C, Sanz-Miralles EC, Twigg J, Bravo M. Supportive periodontal therapy (SPT) for maintaining the dentition in adults treated for periodontitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Jan 1;1(1):CD009376.
23. Ogawa T, McGhee ML, Moldoveanu Z, Hamada S, Mestecky J, McGhee JR, Kiyono H. Bacteroides-specific IgG and IgA subclass antibody-secreting cells isolated from chronically inflamed gingival tissues. *Clin Exp Immunol*. 1989 Apr;76(1):103-10.
24. Orozco-Gálvez O, Fernández-Codina A, Lanzillotta M, Ebbo M, Schleinitz N, Culver EL, Rebours V, D'Cruz DP, Della-Torre E, Martínez-Valle F. Development of an algorithm for IgG4-related disease management. *Autoimmun Rev*. 2023 Mar;22(3):103273. doi: 10.1016/j.autrev.2023.103273. Epub 2023 Jan 20.
25. Ouyang YL, Chen S, Chen B. [Differences of B cells, plasma cells, and related cytokines expression in gingival tissues between periodontitis and periodontal healthy subjects]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2020 Jun 1;38(3):250-255. Chinese.
26. Pereira GG, Pontes FSC, Soares CD, de Carvalho MGF, da Silva TA, Calderaro DC, Ferreira GA, Tanure LA, de Souza LL, Rodrigues-Fernandes CI, de Almeida OP, Fonseca FP, Pontes HAR. Oral and maxillofacial manifestations of IgG4-related disease: A clinicopathological study. *J Oral Pathol Med*. 2022 May;51(5):493-500. doi: 10.1111/jop.13296. Epub 2022 Apr 11.
27. Polanco XBJ, Bertasso AS, Silveira HA, Yamamoto de Almeida L, Almeida LKY, da Silva RAB, da Silva LAB, de Rossi A, Nelson-Filho P, León JE. IgG4-positive plasma cells are more often detected in chronic periapical lesions arising from permanent rather than primary teeth. *Int Endod J*. 2021 May;54(5):682-692.
28. Ravidà A, Rodriguez MV, Saleh MHA, Galli M, Qazi M, Troiano G, Wang HL, Moreno PG. The correlation between history of periodontitis according to staging and grading and the prevalence/severity of peri-implantitis in patients enrolled in maintenance therapy. *J Periodontol*. 2021 Nov;92(11):1522-1535.
29. Rocuzzo M, Layton DM, Rocuzzo A, Heitz-Mayfield LJ. Clinical outcomes of peri-implantitis treatment and supportive care: A systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2018 Oct;29 Suppl 16:331-350.
Sung CE, Chiang CY, Chiu HC, Shieh YS, Lin FG, Fu E. Periodontal status of tooth adjacent to implant with peri-implantitis. *J Dent*. 2018 Mar;70:104-109. Epub 2018 Jan 8.
30. Schwarz F, Derks J, Monje A, Wang HL. Peri-implantitis. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S267-S290. doi: 10.1002/JPER.16-0350. PMID: 29926957.

- 31.** Takahashi K, Mooney J, Frandsen EV, Kinane DF. IgG and IgA subclass mRNA-bearing plasma cells in periodontitis gingival tissue and immunoglobulin levels in the gingival crevicular fluid. *Clin Exp Immunol.* 1997 Jan;107(1):158-65.
- 32.** Van Dyke TE. Pro-resolving mediators in the regulation of periodontal disease. *Mol Aspects Med.* 2017 Dec;58:21-36. Epub 2017 May 18.
- 33.** Zhang J, Zhao L, Zhou J, Dong W, Wu Y. Immunoglobulin G4-related periodontitis: case report and review of the literature. *BMC Oral Health.* 2021 May 28;21(1):279. doi: 10.1186/s12903-021-01592-2. PMID: 34049546; PMCID: PMC8161922.



Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEx-CoG nº 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 536ª Reunião Ordinária, realizada em 04 de outubro de 2024, **aprovou**, fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

Cumpre-nos destacar que a disponibilização deste trabalho na BDTA foi autorizada pelos autores (estudante e docente orientador), conforme menção constante no trabalho e documentação existente no Serviço de Graduação da FORP.

Ribeirão Preto, 04 de novembro de 2024.

Prof. Dr. Michel Reis Messoria
Presidente da Comissão de Graduação
FORP/USP