



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**PRISCILA SOUZA CÂMARA**

**ESTUDO DOS MASTÓCITOS ENTRE LESÕES ORAIS DE NATUREZA REATIVA:  
GRANULOMA PIOGÊNICO E HIPERPLASIA FIBROSA INFLAMATÓRIA, NO  
HUMANO**

**NATAL/RN**

**2019**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Sistema de Bibliotecas - SISBI  
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial Prof. Alberto Moreira Campos -  
-Departamento de Odontologia

Câmara, Priscila Souza.

Estudo dos mastócitos entre lesões orais de natureza reativa: granuloma piogênico e hiperplasia fibrosa inflamatória, no humano / Priscila Souza Câmara. - Natal, 2019.

45 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Leão Pereira Pinto.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Odontologia, Natal, 2019.

1. Mastócitos - Trabalho de Conclusão de Curso. 2. Triptase - Trabalho de Conclusão de Curso. 3. Granuloma Piogênico- Trabalho de Conclusão de Curso. 4. Hiperplasia - Trabalho de Conclusão de Curso. 5. Inflamação - Trabalho de Conclusão de Curso. I. Pinto, Leão Pereira. II. Título.

RN/UF/BSO

BLACK D61

PRISCILA SOUZA CÂMARA

ESTUDO DOS MASTÓCITOS ENTRE LESÕES ORAIS DE NATUREZA REATIVA:  
GRANULOMA PIOGÊNICO E HIPERPLASIA FIBROSA INFLAMATÓRIA, NO  
HUMANO

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião-dentista, nesta instituição.

Orientador: Prof. Dr. Leão Pereira Pinto

NATAL/RN

2019

PRISCILA SOUZA CÂMARA

ESTUDO DOS MASTÓCITOS ENTRE LESÕES ORAIS DE NATUREZA REATIVA:  
GRANULOMA PIOGÊNICO E HIPERPLASIA FIBROSA INFLAMATÓRIA, NO  
HUMANO

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Odontologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião-dentista, nesta instituição.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Emérito Dr. Leão Pereira Pinto – Orientador  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

---

Prof. Dr. Pedro Paulo de Andrade Santos  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

---

Prof. Dra. Lélia Batista de Souza  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

## DEDICATÓRIA

O caminho até aqui não foi fácil, mas aprendi que dificuldades preparam pessoas comuns para destinos extraordinários. Não espere atingir suas metas para sentir orgulho de si, comemore e sinta orgulho de cada pequeno passo. Não é fácil manter a direção quando lhe é tirado fisicamente algo tão precioso como uma mãe, muitas coisas não foram aprendidas pelo amor, mas graças a toda dedicação, amor e zelo de mainha e painho em nos apontar a direção estou hoje aqui, recebendo esse título. Minha mãe sonhava em ver seus filhos formados e não posso imaginar tamanha felicidade seria ver os dois hoje cirurgiões-dentistas, sei que sente muito orgulho onde quer que esteja. E meu pai que é um exemplo de homem, coragem, força e perseverança, se fez sempre meu porto seguro quando tudo parecia desmoronar, sempre incentivando e acreditando em mim, e até mesmo lutando por mim quando eu não tenho força para encerrar os entraves da vida. Meu irmão, que se tornou meu melhor amigo/confidente e companheiro de curso, me incentivou quando eu estava com medo, se mostrando sempre pronto para me ajudar no que fosse preciso para eu me tornar uma profissional qualificada e mais confiante. É a vocês, que dedico essa conquista, porque foi o amor de vocês que me manteve nessa batalha. Amo vocês.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, pelas bênçãos diárias, por sempre guiar e iluminar meu caminho para que eu chegasse até aqui com a certeza de dever cumprido, proporcionando-me confiança em seus planos e saber que tudo é no tempo Dele.

Ao meu pai, Roberto, por sempre acreditar no meu potencial, fazer o impossível para me dar uma educação de qualidade e fazer das minhas conquistas as suas, batalhando todos os dias para dar-nos a chance de manter nossos sonhos vivos.

À minha mãe, M<sup>a</sup> Valdete, que nos criou com tanto amor e dedicação, e apesar dos sonhos interrompidos, hoje ainda se faz presente em nossas vidas.

Ao meu irmão, Robertinho, que me apoiou em pequenas palavras e gestos ao longo de todo trajeto, me encorajando a dá sempre o meu melhor no que eu fizesse.

À toda minha família, por sempre estar ao meu lado nos momentos essenciais, sem medir esforços para me ver feliz, pelos pequenos gestos e por todo o cuidado fraternal. Em especial, ao meu tio Gilson de um coração tão nobre e grandioso, que faz questão de nos fazer feliz nas mais improváveis “coisinhas” da vida, ao meu tio/padrinho Ivan por todo apoio na realização desse curso e as minhas primas, Raissa e Jardla, que ocuparam um lugar especial no meu coração no momento em que um vazio grande se instalou, e se tornaram mães/irmãs/amigas.

A todos que estiveram comigo, em especial à Daniela, Rebeca, Miria e Laleska, que sempre me mostraram que eu não estava sozinha e tinha com quem contar, proporcionando dias mais alegres durante esse percurso da graduação; à minha dupla, Lunary, pelo convívio e aprendizado nesses anos de clínica; a Luís que me confiou sua saúde bucal mesmo com medo de dentista, e tantos outros que fizeram parte dessa jornada da graduação, seja me incentivando, torcendo ou caminhando junto.

Ao meu orientador, Prof. Emérito Dr. Leão Pereira Pinto, que sempre me encorajou e me colocou desafios para mostrar-me meu potencial, quando eu mesma desacreditava. É inestimável, o orgulho de ser orientanda de um exemplo de mestre que ama o que faz, saiba que muitos são os que ensinam, mas só os melhores inspiram.

Aos doutorandos, Rodrigo Mafra e Larissa Rolim, e a mestranda Carla Costa, que com toda boa vontade estiveram dispostos a ajudar-me não só no desenvolvimento dessa pesquisa, como do meu próprio conhecimento no mundo da iniciação científica; À Idelzuite, Hevio, Ricardo e Betty, por toda colaboração para a realização dessa pesquisa.

Aos Professores, Dr. Pedro Paulo e Dra. Lélia Batista, por aceitarem o convite para fazer parte da minha banca, pelo tempo dedicado a este momento e pelas contribuições científicas valiosas.

E por fim, agradeço a todos os professores e funcionários do departamento de odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, cada um que teve uma contribuição especial nessa jornada da graduação.

## RESUMO

**Introdução:** As lesões proliferativas não-neoplásicas, como granuloma piogênico (GP) e hiperplasia fibrosa inflamatória (HFI), são decorrentes de processos inflamatórios. Diversas células do sistema imune estão envolvidas na promoção das respostas inflamatórias dessas lesões reativas, dentre elas, destacam-se os mastócitos (MCs), que se apresentam em menor número, quando comparados ao número de linfócitos e neutrófilos. **Objetivo:** Identificar e comparar a presença de MCs em GP e HFI, através da imunexpressão da triptase, assim como, investigar se existe relação entre essas células e a intensidade do infiltrado inflamatório presente nas lesões estudadas. **Material e métodos:** Foram selecionados 30 casos de GP e 30 casos de HFI, todos fixados em formol a 10% e emblocados em parafina. O material foi corado pela técnica de Hematoxilina/Eosina (HE), e também, submetido ao método da imunoperoxidase com a utilização do anticorpo Triptase, clone AA1 (DAKO). As lesões foram analisadas quanto a intensidade do infiltrado inflamatório, sendo classificada em: *leve, moderada e intensa*. E cada caso foi categorizado, de acordo com a presença de mastócitos no tecido conjuntivo, em: *ausente, leve, moderada e intensa*. Para verificar possíveis associações entre as variáveis, foram realizados testes estatísticos de Qui-quadrado de Pearson ( $X^2$ ) e Exato de Fisher. **Resultados:** o GP apresentou maior prevalência de infiltrado inflamatório intenso, quando comparado com HFI. Em ambas as lesões analisadas, houve imunopositividade para triptase, contudo não houve diferença estatística significativa na presença de mastócitos entre GP e HFI. Ao associar a imunexpressão da triptase em mastócitos com a intensidade do infiltrado inflamatório, tanto em HFI quanto em GP evidenciaram ausência de diferenças estatisticamente significativas. **Conclusão:** A intensidade do infiltrado inflamatório tem relação com o tipo de lesão estudada. Contudo, estabelecer uma relação mais fidedigna da presença de mastócitos com o infiltrado inflamatório, nessas entidades, e associação entre a imunexpressão da triptase com o tipo de lesão estudada, é preciso realizar a análise quantitativa dos mastócitos.

Palavras-chaves: Mastócitos. Triptase. Granuloma. Piogênico. Hiperplasia. Fibrosa. Inflamação.



## ABSTRACT

**Introduction:** Nonneoplastic proliferative lesions, such as pyogenic granuloma (GP) and inflammatory fibrous hyperplasia (HFI), are due to inflammatory processes. Several cells of the immune system are involved in promoting the inflammatory responses of these reactive lesions. Among them, we highlight the mast cells (MCs), which are smaller in number when compared to the number of lymphocytes and neutrophils. **Objective:** To identify and compare the presence of MCs in GP and HFI, through tryptase immunoreexpression, as well as to investigate if there is relationship between these cells and the intensity of the inflammatory infiltrate present in the studied lesions. **Material and methods:** Thirty cases of GP and 30 cases of HFI were selected, all fixed in 10% formaldehyde and embedded in paraffin. The material was stained by the Hematoxylin / Eosin (HE) technique and also submitted to the immunoperoxidase method using the Tryptase antibody, clone AA1 (DAKO). Lesions were analyzed for inflammatory infiltrate intensity, being classified as: mild, moderate and intense. And each case was categorized according to the presence of mast cells in the connective tissue: absent, mild, moderate and intense. To verify possible associations between the variables, Pearson's chi-square ( $X^2$ ) and Fisher's exact tests were performed. **Results:** GP presented a higher prevalence of intense inflammatory infiltrate when compared to HFI. In both lesions analyzed, there was tryptase immunopositivity, but there was no statistically significant difference in the presence of mast cells between GP and HFI. When associating tryptase immunoreexpression in mast cells with the intensity of the inflammatory infiltrate, both in HFI and in GP showed absence of statistically significant differences. **Conclusion:** The intensity of the inflammatory infiltrate is related to the type of lesion studied. However, establishing a more reliable relationship between the presence of mast cells and the inflammatory infiltrate in these entities, and the association between tryptase immunoreexpression and the type of lesion studied, it is necessary to perform a quantitative analysis of the mast cells

**Keywords:** Mast cells. Tryptase. Granuloma. Pyogenic. Hyperplasia. Fibrous. Inflammation.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

**FceRI** – Complexo receptor de imunoglobulina E

**GP** - Granuloma piogênico

**HFI** - Hiperplasia fibrosa inflamatória

**IgE** - Imunoglobulina E

**MCs** - Mastócitos

**TNF- $\alpha$**  - Fator de Necrose Tumoral Alfa

**UFRN** - Universidade Federal do Rio Grande do Norte

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Infiltrado inflamatório intenso em granuloma piogênico (HE, 200x).....	31
Figura 2 -	Infiltrado inflamatório intenso em hiperplasia fibrosa inflamatória (HE, 200x).....	31
Figura 3 -	Presença de mastócitos exibindo imunoreatividade para triptase em granuloma piogênico (200x).....	32
Figura 4 -	Presença de mastócitos exibindo imunoreatividade para triptase em hiperplasia fibrosa inflamatória (200x).....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Distribuição absoluta e relativa dos 30 casos de granuloma piogênico, de acordo com dados clínicos. Natal-RN, 2019.....	26
Tabela 2 -	Intensidade do infiltrado inflamatório nos 30 casos de granuloma piogênico. Natal-RN, 2019.....	26
Tabela 3 -	Distribuição absoluta e relativa dos 30 casos de hiperplasia fibrosa inflamatória, de acordo com dados clínicos. Natal-RN, 2019.....	27
Tabela 4 -	Intensidade do infiltrado inflamatório nos 30 casos de Hiperplasia fibrosa inflamatória. Natal-RN, 2019.....	28
Tabela 5 -	Imunoexpressão da triptase em Granuloma piogênico e Hiperplasia fibrosa inflamatória. Natal-RN, 2019.....	29
Tabela 6 -	Associação entre a intensidade do infiltrado inflamatório e o tipo de lesão. Natal-RN, 2019.....	29
Tabela 7 -	Associação entre a imunoexpressão da triptase em mastócitos e o tipo de lesão. Natal-RN, 2019.....	29
Tabela 8 -	Associação entre a imunoexpressão da triptase em mastócitos e a intensidade do infiltrado inflamatório em granulomas piogênicos. Natal-RN, 2019.....	30
Tabela 9 -	Associação entre a imunoexpressão da triptase em mastócitos e a intensidade do infiltrado inflamatório em hiperplasias fibrosas inflamatórias. Natal-RN, 2019.....	30

## LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Especificidade, clone, fabricante, diluição e tempo de incubação do anticorpo primário .....	25
---------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
<b>2.1 Hiperplasia fibrosa inflamatória</b> .....	15
<b>2.2 Granuloma Piogênico</b> .....	16
<b>2.3 Mastócitos</b> .....	17
3 PROPOSIÇÃO.....	20
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	21
<b>4.1 Considerações éticas</b> .....	21
<b>4.2 Caracterização do estudo</b> .....	21
<b>4.3 População</b> .....	21
<b>4.4 Amostra</b> .....	21
4.4.1 Critérios de inclusão.....	22
4.4.2 Critérios de exclusão.....	22
<b>4.5 Coleta de dados clínicos</b> .....	22
<b>4.6 Estudo morfológico</b> .....	22
4.6.1 Análise do infiltrado inflamatório .....	23
<b>4.7 Estudo imuno-histoquímico</b> .....	23
4.7.1 Método imuno-histoquímico.....	23
4.7.2 Análise do perfil imuno-histoquímico.....	25
4.7.3 Análise estatística.....	25
5 RESULTADOS .....	26
6 DISCUSSÃO.....	33
7 CONCLUSÃO .....	36
REFERÊNCIAS .....	37
APÊNDICE .....	39
ANEXO 40	

## 1 INTRODUÇÃO

A hiperplasia fibrosa inflamatória (HFI) é uma lesão proveniente de uma reação exagerada do tecido conjuntivo fibroso da mucosa oral a traumas crônicos de baixa intensidade. Esta proliferação reacional está, frequentemente, associada ao uso de próteses dentárias mal adaptadas (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; NEVILLE et al, 2016; BARBOSA et al, 2018; DUTRA et al., 2019). É considerada a lesão mais prevalente da mucosa oral (DUTRA et al., 2019) e pode se manifestar em qualquer localização intraoral, ocorrendo, com mais frequência, na região da gengiva/rebordo alveolar (DUTRA et al., 2019). De acordo com a literatura, a HFI acomete, principalmente, pacientes leucodermas do sexo feminino, por volta da sexta década de vida (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; SANTOS et al., 2014; MARINHO, et al., 2016; BARBOSA et al, 2018).

Outra lesão de natureza reacional que ocorre comumente na cavidade oral é o granuloma piogênico (GP). Esta é uma lesão reativa benigna de crescimento vascular exuberante, associada ao trauma, irritação e fatores hormonais. Além disso, péssimas condições de higiene oral podem contribuir para o desenvolvimento desse processo proliferativo não neoplásico (MENDONÇA et al., 2015; PORDEUS, et al., 2016; MARINHO, et al., 2016; CARTI et al., 2017).

Esta entidade acomete, principalmente, indivíduos do sexo feminino, leucodermas, entre a segunda e a quarta décadas de vida. Cerca de 77% dos casos ocorrem na gengiva/rebordo alveolar, sendo a maxila a localização mais prevalente, podendo, acometer os lábios, mucosa jugal e palato (MENDONÇA et al., 2011; COSTA et al., 2012; MENDONÇA et al., 2015; PORDEUS, et al., 2016; MARINHO, et al., 2016).

Diversas células do sistema imune estão envolvidas na promoção das respostas inflamatórias dessas lesões, dentre elas, destacam-se os mastócitos (MCs), embora estejam em menor quantidade em lesões inflamatórias, quando comparadas com o número de linfócitos e neutrófilos (SANTOS et al., 2010). Os MCs são granulócitos do sistema imune, originados a partir de células hematopoiéticas situadas na medula óssea que, ao receberem estímulos, liberam mediadores químicos com potencial de regular a resposta imunológica. Eles circulam na sua forma imatura e só completam sua diferenciação e maturação no tecido de atuação. De acordo com alguns autores, eles estão distribuídos por todos

os órgãos e tecidos vascularizados (KRISHNASWAMY et al., 2001; KALESNIKOFF; GALLI, 2008; SANTOS et al., 2010; WALKER; HATFIELD; BROWN, 2012; CAETANO C.P. et al., 2014; CSABA, G., 2015; KRYSTEL-WHITTEMORE, M., et al., 2015; STEFANOV, et al., 1017).

Os mastócitos apresentam em seu citoplasma uma grande quantidade de grânulos metacromáticos, o que permite que essas células sejam identificadas por meio da coloração pelo Azul de Toluidina. Contudo, alguns estudos têm comprovado que a técnica da imuno-histoquímica é mais específica na identificação de MCs (REDDY et al., 2014; CSABA, 2015; SHOJAEI et al., 2015). Nesse aspecto, destaca-se a utilização de anticorpos para triptase, enzima mais abundante derivada dos grânulos dos MCs, como principal marcador destas células (SANTOS et. al., 2011).

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo identificar e comparar a presença de MCs em HFI e GP, através da imunoexpressão da triptase, assim como, investigar se existe relação entre essas células e a intensidade do infiltrado inflamatório presente nas lesões estudadas.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Hiperplasia fibrosa inflamatória

A hiperplasia fibrosa inflamatória (HFI) é uma lesão proveniente de uma reação exagerada do tecido conjuntivo fibroso da mucosa oral à traumas crônicos de baixa intensidade. Esta proliferação reacional está, frequentemente, associada ao uso de próteses dentárias mal adaptadas. Porém, pode ainda ter como etiologia diastemas, bordos cortantes de dentes, procedimentos iatrogênicos e higiene bucal inadequada (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; NEVILLE et al., 2016; BARBOSA et al., 2018; DUTRA et al., 2019).

Essa lesão, também chamada de epúlide fissurada, possui um crescimento lento, e geralmente, assintomático. Diversos estudos apontam-na como a lesão mais prevalente da mucosa oral, podendo se manifestar em qualquer localização intraoral, ocorrendo, com mais frequência, na região da gengiva/rebordo alveolar (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; MELO et al., 2016; DUTRA et al., 2019).

De acordo com a literatura, a HFI acomete, principalmente, pacientes leucodermas do sexo feminino, por volta da sexta década de vida (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; SANTOS et al., 2014; MARINHO, et al., 2016; BARBOSA et al., 2018). Conjectura-se que, isto se deva ao fato de as mulheres usarem, com mais frequência, as próteses, provavelmente por razões estéticas e/ou funcionais (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; SANTOS et al., 2014; BARBOSA et al., 2018).

Histologicamente, a HFI caracteriza-se por uma abundante proliferação de fibroblastos e intensa deposição de fibras colágenas dispostas em feixes regulares. O epitélio de revestimento da mucosa oral caracteriza-se por epitélio pavimentoso estratificado, ceratinizado ou não. A lesão exhibe, em geral, infiltrado inflamatório, predominantemente, crônico (linfócitos e plasmócitos, além de leucócitos polimorfonucleares que, ocasionalmente, podem estar presentes) e poucos vasos sanguíneos (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; NEVILLE et al., 2016).

O tratamento mais indicado consiste na remoção cirúrgica da lesão. Dependendo do caso, outras medidas terapêuticas podem ser adotadas, como a microabrasão, o uso do laser de alta potência ou a crioterapia. Porém, a biópsia é importante para confirmar o diagnóstico da HFI, visto que a mesma faz diagnóstico

diferencial com fibrolipoma, neurofibroma, rabdomioma, leiomioma, tumores de glândulas salivares menores e também, granuloma piogênico e fibroma ossificante periférico (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014).

## **2.2 Granuloma Piogênico**

O granuloma piogênico (GP) é uma lesão reativa de crescimento vascular exuberante, associada ao trauma, irritação e fatores hormonais. Além disso, péssimas condições de higiene oral podem contribuir para o desenvolvimento desse processo proliferativo não neoplásico (MENDONÇA et al., 2015; PORDEUS, et al., 2016; MARINHO, et al., 2016; CARTI et al., 2017).

Ocorre, preferencialmente, em indivíduos do sexo feminino, leucodermas, entre a segunda e quarta décadas de vida. Alguns autores apontam que o GP ocorre sob a influência de variações hormonais, sobretudo em pacientes grávidas, recebendo então, a denominação de granuloma gravídico (MENDONÇA et al., 2011; COSTA et al., 2012; MENDONÇA et al., 2015; PORDEUS, et al., 2016; MARINHO, et al., 2016).

Essas lesões vasculares de grande prevalência na cavidade oral ocorrem, em aproximadamente 77% dos casos, em gengiva/mucosa alveolar, sendo a região maxilar a localização mais acometida. Contudo, os lábios, a mucosa jugal e o palato duro também podem ser afetados (MENDONÇA et al., 2011; COSTA et al., 2012; PORDEUS, et al., 2016; MARINHO, et al., 2016).

Histologicamente, configura-se por intensa proliferação de células endoteliais e acentuada angiogênese, com presença de tecido de granulação hiperplásico apresentando infiltrado inflamatório, composto por linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, geralmente nas regiões ulceradas (MARINHO, et al., 2016). Em geral, o epitélio de revestimento é caracterizado por epitélio escamoso estratificado que se mostra delgado e atrófico (MENDONÇA et al., 2011; PORDEUS, et al., 2016).

Por sua vez, clinicamente, faz diagnóstico diferencial com fibroma, fibroma ossificante periférico, lesão periférica de células gigantes, hemangioma, hiperplasia gengival inflamatória, sarcoma de Kaposi, angiossarcoma, linfoma não-Hodgkin e metástases de tumores malignos (MENDONÇA et al., 2011; CARTI et al., 2017).

O tratamento de escolha é a excisão cirúrgica, juntamente com a remoção dos fatores irritativos locais. Sabe-se que, o reconhecimento e a identificação desses

fatores nem sempre é possível, permitindo que a taxa de recorrência da lesão seja relativamente alta (CARTI et al., 2017). Essa recorrência foi descrita por, Marinho (2016) relatando um caso de GP que havia recidivado após diversas excisões cirúrgicas. Porém, quando empregada a combinação de cirurgia e uso seguido de laser, a área tratada manteve-se sem recorrência por mais de 5 anos.

### **2.3 Mastócitos**

Os mastócitos (MCs) são granulócitos do sistema imune, originados a partir de células hematopoiéticas situadas na medula óssea que, ao receberem estímulos, liberam mediadores químicos com potencial de regular a resposta imunológica. É válido esclarecer que, eles circulam na sua forma imatura e só completam sua diferenciação e maturação no tecido de atuação. De acordo com alguns autores, eles estão distribuídos por todos os órgãos e tecidos vascularizados (KRISHNASWAMY et al., 2001; KALESNIKOFF; GALLI, 2008; SANTOS et al., 2010; WALKER; HATFIELD; BROWN, 2012; CAETANO C.P. et al., 2014; CSABA, G., 2015; KRYSTEL-WHITTEMORE, M., et al., 2015; STEFANOV, et al., 2017).

De acordo com o grau de maturidade e pela degranulação, a estrutura do mastócito pode variar. Krishnaswamy et al. (2001) e Arboleda, Franco e Valladares (2018) descreveram a estrutura do MCs humanos como “uma célula grande, de forma redonda a oval, com núcleo pequeno, central, eucromático, e citoplasma, repleto de grânulos”. Analisando-se, ultraestruturalmente por microscopia eletrônica, em sua superfície celular observa-se projeções citoplasmáticas filiformes delgadas ou dobras onduladas. O citoplasma contém filamentos, microtúbulos, retículo endoplasmático rugoso, vesículas de Golgi, ribossomos livres, mitocôndrias, lisossomos e corpos lipídicos.

Além disso, no citoplasma, encontra-se grande quantidade de grânulos cheios de proteases, histamina (envolvida nos processos de reações alérgicas) e heparina (anticoagulante). Tais grânulos existentes se destacam por serem metacromáticos, o que permite que essas células sejam identificadas por meio da coloração do azul de toluidina. Isso se deve à interação de corantes básicos com heparina ácida, descoberta em 1878 nos estudos de Paul Ehrlich. Assim, são facilmente visualizados com marcações básicas dos reagentes, enquanto sua observação nas

colorações com hematoxilina e eosina é trabalhosa (REDDY et al., 2014; CSABA, 2015; ARBOLEDA; FRANCO; VALLADARES, 2018).

Os MCs são divididos em dois tipos, baseados em dados estruturais, bioquímicos e funcionais. Os MCs do tecido conjuntivo e os MCs da mucosa (STEFANOV, et al., 1017). Entretanto, de acordo com Krishnaswamy (2001), os fatores que regulam a diferenciação em um ou outro tipo de mastócito são atualmente desconhecidos. Contudo, os MCs de tecido conjuntivo podem ser mais marcantes na remodelação tecidual e angiogênese, enquanto os MCs da mucosa são essenciais na inflamação, apesar de estarem em menor quantidade em lesões inflamatórias, quando comparados com número de linfócitos e neutrófilos nestas lesões (SANTOS et al., 2010).

Sabe-se que os MCs são imprescindíveis na iniciação e modulação de respostas imunes inatas, comportando-se como sentinelas em locais de contato com o ambiente externo, de forma a responder rapidamente a estímulos nocivos. Assim, sua participação como célula efetora na cascata inflamatória, a encarrega pelo recrutamento de leucócitos, ativação endotelial e vasodilatação (KRISHNASWAMY et al., 2001; KALESNIKOFF; GALLI, 2008).

Essas células também podem atuar otimizando respostas imunes adaptativa, sintetizando diversos mediadores que podem direcionar a função das células T. Logo, os MCs presentes nas reações inflamatórias crônicas, produzem citocinas que influenciam na diferenciação de linfócitos T e nas respostas tipo Th1 e Th2, sendo capazes de modular a proliferação e a síntese de citocinas de células TCD8+. Com isso, a persistência de um estímulo inflamatório inicial pode contribuir para a fibrose ou destruição tecidual (SANTOS et al., 2010).

Portanto, no geral, ao fazerem parte da defesa imunológica do hospedeiro e por estarem numa íntima associação com vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos, colocam-se numa variedade de eventos protetores e patológicos, incluindo a angiogênese, a cicatrização de feridas e a exacerbação da inflamação (WALKER; HATFIELD; BROWN, 2012; SHOAJAEI et al., 2015).

Logo, como defensores de primeira linha frente à infecções e respostas imunológicas agudas, expressam um receptor de elevada afinidade para IgE, o que as envolvem nas reações de hipersensibilidade do tipo imediata (COSTA NETO et al., 2014). Nessas reações, o antígeno ativa duas moléculas de IgE que ocupam o FcεRI, resultando em uma cascata de eventos de sinalização de sequência rápida,

levando à degranulação e à elaboração de mediadores (KRISHNASWAMY et al., 2001).

A partir de métodos imuno-histoquímicos, a triptase foi encontrada nos dois tipos de mastócitos, sendo que os da mucosa contém apenas a triptase, enquanto nos mastócitos do tecido conjuntivo observou-se além da triptase, a quimase (STEFANOV, et al., 1017). A utilização da triptase para a coloração é importante, devido ao seu alto grau de sensibilidade e precisão na identificação dos MCs granulados e degranulados (KOUHSOLTANI et al., 2016).

Vale destacar que, a triptase é utilizada como marcador para avaliar a presença de mastócitos, bem como de exsudato inflamatório, visto que, de acordo com Santos (2011), a presença dela é desconhecida em qualquer outro tipo celular. E a imunocoloração por triptase nos fluidos humanos biológico, é compreendida como um indicador da ativação de mastócitos, já que corresponde a degranulação destas células (COSTA NETO et al., 2014; KOUHSOLTANI et al., 2016). Conseqüentemente, a triptase, a quimase e o TNF- $\alpha$  dos mastócitos podem ser capazes de ativar os fibroblastos, levando à deposição de colágeno e fibrose (KRISHNASWAMY et al., 2001).

### **3 PROPOSIÇÃO**

Este trabalho se propôs a analisar, de forma descritiva e comparativa, a presença de MCs em lesões de natureza reativa (HFI e GP) através da expressão imuno-histoquímica de triptase. Avaliou-se, também, a relação dos MCs com a intensidade do infiltrado inflamatório, objetivando uma melhor compreensão da relação dessas células na resposta inflamatória das lesões estudadas.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Considerações éticas**

O Projeto de pesquisa referente a este estudo foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (CEP/UFRN), e recebeu aprovação para sua execução, conforme parecer nº 3.319.723, datado de 11 de maio de 2019.

### **4.2 Caracterização do estudo**

O presente estudo consiste em uma análise retrospectiva, descritiva e comparativa da expressão imuno-histoquímica da triptase em mastócitos presentes no infiltrado inflamatório da hiperplasia fibrosa inflamatória e do granuloma piogênico.

### **4.3 População**

Nesta pesquisa, a população foi constituída pelos casos de hiperplasias fibrosas inflamatórias e de granulomas piogênicos, diagnosticados e registrados no Serviço de Anatomia Patológica da Disciplina de Patologia Oral do Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN, no período de 2016 a 2018.

### **4.4 Amostra**

A amostra foi constituída por 30 casos de hiperplasias fibrosas inflamatórias e 30 casos de granulomas piogênicos, todos fixados em formol a 10% e emblocados em parafina, arquivados no Serviço de Anatomia Patológica da Disciplina de Patologia Oral do Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte/UFRN. Os casos foram selecionados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão descritos a seguir:

#### 4.4.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos casos de hiperplasias fibrosas inflamatórias e de granulomas piogênicos com material biológico suficiente para a análise morfológica e imunohistoquímica. Foram selecionados apenas casos que apresentaram fichas de biópsias adequadamente preenchidas, contendo os dados clínicos de idade, sexo, cor de pele e localização anatômica da lesão.

#### 4.4.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo todos os casos que não adequaram aos critérios de inclusão, previamente descritos.

### 4.5 Coleta de dados clínicos

As informações clínicas de interesse para o estudo (idade, sexo, cor de pele e localização da lesão) foram obtidos por meio de consultas às fichas de biópsias dos pacientes com hiperplasias fibrosas inflamatórias e granulomas piogênicos, e registradas em fichas apropriadas para esta finalidade (APÊNDICE).

### 4.6 Estudo morfológico

Para este estudo morfológico foram utilizadas lâminas obtidas a partir de peças fixadas em formol a 10%, incluídas em parafina, com cortes histológicos de 5 µm de espessura. Estes cortes foram estendidos em lâminas de vidro para microscopia de luz, coradas pela técnica de Hematoxilina/Eosina (HE), seguindo o protocolo de rotina do laboratório de Patologia Oral do Departamento de Odontologia da UFRN, conforme consta a seguir:

- Xilol I (15 minutos);
- Xilol II (15 minutos);
- Álcool etílico absoluto I (3 minutos);
- Álcool etílico absoluto II (3 minutos);
- Álcool etílico absoluto III (3 minutos);
- Água corrente (3 minutos);



- Hematoxilina de Harris (2 a 5 minutos);
- Água corrente (3 minutos);
- Eosina de Lison (1 a 2 minutos);
- Álcool etílico absoluto I (2 passagens);
- Álcool etílico absoluto II (2 minutos);
- Álcool etílico absoluto III (2 minutos);
- Xilol I (3 minutos);
- Xilol II (3 minutos);
- Xilol III (3 minutos);
- Montagem em Resina *Permount®* (Fischer Scientific, Fair Lawn, NJ, USA)

#### 4.6.1 Análise do infiltrado inflamatório

Após o processamento dos cortes histológicos, as lâminas foram analisadas por meio de microscopia de luz (Olympus CX31, Tokyo, Japan) nos aumentos de 40x e 100x, por um único examinador, previamente treinado. E assim, a intensidade do infiltrado inflamatório avaliada em toda lesão, foi classificada em: *leve, moderada e intensa*.

### 4.7 Estudo imuno-histoquímico

#### 4.7.1 Método imuno-histoquímico

Todos os espécimes teciduais selecionados, fixados em formol a 10% e incluídos em parafina, foram submetidos a cortes histológicos de 3 µm de espessura e estendidos em lâminas de vidro, previamente limpas e preparadas com adesivo à base de organossilano (3- aminopropyltriethoxisilano, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). Em seguida, o material foi submetido ao método da imunoperoxidase com a utilização do anticorpo Triptase, clone AA1 (Quadro 1).

A técnica utilizada seguiu o protocolo utilizado pelo laboratório de imuno-histoquímica de Patologia Oral do Departamento de Odontologia da UFRN, conforme descrita a seguir:

- Em um recipiente, todas as amostras serão imersas em solução preparada contendo *Trilogy* (Cell Marques, CA, USA), seguindo, então, as amostras

teciduais para panela pascal para desparafinização, reidratação e recuperação dos sítios antigênicos;

- Lavagem do material em água corrente por 3 minutos e duas passagens por água destilada (1 minuto cada);
- Incubações dos cortes, pelo período de 15 minutos cada, em solução de peróxido de hidrogênio 10 volumes (3%) para bloqueio da peroxidase endógena tecidual;
- Lavagem em água destilada;
- Imersão em solução de *Tween* 20 a 1% em TRIS-HCl pH 7,4 durante 5 minutos cada;
- Incubação com a proteína Background Block (Cell Marque, Rocklin, Califórnia, EUA) por 10 minutos;
- Lavagem em solução de *Tween* 20 a 1% em TRIS-HCl pH 7,4 por 5 minutos cada;
- Incubação dos cortes com anticorpo primário (quadro 1).
- Imersão em solução de *Tween* 20 a 1% em TRIS-HCl pH 7,4 durante 5 minutos cada;
- Incubação com o anticorpo secundário com Sistema HiDefDetection (Cell Marque, Rocklin, Califórnia, EUA) com aplicação de solução amplificadora por 20 minutos;
- Imersão em solução de *Tween* 20 a 1% em TRIS-HCl pH 7,4 durante 5 minutos;
- Aplicação de polímero HRP do Sistema HiDefDetection por 20 minutos;
- Duas passagens em solução de *Tween* 20 a 1% em TRIS-HCl pH 7,4 por 5 minutos cada;
- Aplicação de agente cromógeno (Diaminobenzidina; Scytek Laboratories; Logan, Utah, USA) durante 5 minutos à temperatura ambiente;
- Duas incubações em TRIS-HCl por 5 minutos cada;
- Imersão em solução de *Tween* 20 a 1% em TRIS-HCl pH 7,4 durante 5 minutos;
- Contracoloração com hematoxilina de Mayer, à temperatura ambiente, durante 5 minutos;
- Passagens rápidas em água destilada (3 trocas);
- Desidratação em cadeira ascendente de etanóis;

- Álcool 80° GL (3 minutos)
- Álcool 95° GL (3 minutos)
- Álcool etílico absoluto I (5 minutos);
- Álcool etílico absoluto II (5 minutos);
- Álcool etílico absoluto III (5 minutos);
- Imersão em xilol I (5 minutos);
- Imersão em xilol II (5 minutos);
- Montagem em lamínula contra a lâmina em Resina *Permout®* (Fischer Scientific, Fair Lawn, NJ, USA) para observação em microscopia de luz;

Quadro 01 – Especificidade, clone, fabricante, diluição e tempo de incubação do anticorpo primário.

<b>Especificidade</b>	<b>Clone</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Diluição</b>	<b>Tempo de incubação</b>
Triptase	AA1	Dako	1:2500	30 mint

#### 4.7.2 Análise do perfil imuno-histoquímico

Após o processamento dos cortes histológicos, foram selecionados 3 campos representativos de cada caso, por meio de microscopia de luz (Olympus CX31, Tokyo, Japan), com aumento de 100x, para serem examinados por um único examinador, previamente treinado. E assim, cada caso foi classificado, de acordo com a presença de mastócitos no tecido conjuntivo, nas categorias: *ausente*, *leve*, *moderada* e *intensa*.

#### 4.7.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram registrados em planilhas eletrônicas Excel (*Microsoft Office 2016®*) e exportados para o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (versão 22.0, SPSS Inc., EUA), no qual foi realizada a análise estatística. Os testes Qui-quadrado de Pearson ( $X^2$ ) e Exato de Fisher foram aplicados com o intuito de investigar possíveis associações entre as variáveis estudadas. Foi adotado nível de significância de 5%, sendo considerados significativos os valores de  $p \leq 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

A amostra dos casos de granuloma piogênico foi composta por 30 casos, sendo a faixa etária mais acometida entre 30 e 39 anos. Foi observada uma leve predileção pelo sexo feminino (57,7%) e pelos indivíduos feodermas (63,3%). A localização predominante desta lesão reativa foi a gengiva/mucosa alveolar (66,7%) (Tabela 1).

Quanto à análise histopatológica, no geral os fragmentos dessa lesão apresentaram-se revestidos por epitélio pavimentoso estratificado paraceratinizado, exibindo áreas de atrofia, acantose, degeneração hidrópica, espongirose, exocitose e ulceração. No tecido conjuntivo fibroso, além de proliferação de células endoteliais, vasos sanguíneos de diversos calibres, com presença de infiltrado inflamatório composto, principalmente, por linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, e regiões ulceradas. O infiltrado inflamatório intenso prevaleceu em 80% dos casos de GP (Tabela 2).

Tabela 1-Distribuição absoluta e relativa dos 30 casos de granuloma piogênico, de acordo com dados clínicos. Natal-RN, 2019.

<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>		
Masculino	13	43,3
Feminino	17	57,7
<b>Idade</b>		
< 20 anos	6	20
20 -29 anos	4	13,3
30 - 39 anos	8	26,7
40 - 49 anos	3	10
50 - 59 anos	6	20
60 - 69 anos	3	10
<b>Cor de pele</b>		
Leucoderma	8	26,7
Feoderma	19	63,3
Melanoderma	3	10
<b>Localização anatômica</b>		
Mucosa jugal	1	3,3
Gengiva/Mucosa Alveolar	20	66,7
Palato	1	3,3
Lábio	6	20
Língua	2	6,7

Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

Tabela 2 - Intensidade do infiltrado inflamatório nos 30 casos de granuloma piogênico. Natal-RN, 2019.

Tipo de lesão	Infiltrado inflamatório		
	Leve <i>n</i> (%)	Moderado <i>n</i> (%)	Intenso <i>n</i> (%)
Granuloma piogênico	1 (3,3)	5 (16,7)	24 (80,0)

Fonte: Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

Com relação aos casos de hiperplasia fibrosa inflamatória, a amostra foi composta por 30 casos, cuja faixa etária mais acometida foi entre 50 e 69 anos. Também, foi observada uma leve predileção pelo sexo feminino (60%), porém pelos indivíduos leucodermas (56,7%). A localização predominante dessa lesão foi também a gengiva/rebordo alveolar (33,3%) (Tabela 3).

Quanto a análise histopatológica, no geral, os fragmentos dessa lesão reacional apresentaram-se revestidos por epitélio pavimentoso estratificado paraceratinizado, exibindo áreas de atrofia, acantose, degeneração hidrópica, espongirose, exocitose e hiperplasia. Na lâmina própria subjacente observou-se tecido conjuntivo fibroso denso, com fibras colágenas dispostas aleatoriamente, entremeadas por numerosos fibroblastos, vasos sanguíneos de diferentes calibres, alguns dos quais congestos. Todos os casos apresentaram infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, sendo que este infiltrado variou consideravelmente, apresentando-se intenso em 46,7% dos casos de HFI (Tabela 4).

Tabela 3 - Distribuição absoluta e relativa dos 30 casos de hiperplasia fibrosa inflamatória, de acordo com dados clínicos. Natal-RN, 2019.

<b>Variáveis</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Sexo</b>		
Masculino	12	40
Feminino	18	60
<b>Idade</b>		
< 20 anos	2	6,7
20 -29 anos	3	10
30 - 39 anos	3	10
40 - 49 anos	4	13,3
50 - 59 anos	7	23,3
60 - 69 anos	8	26,7
>70 anos	3	10
<b>Cor de pele</b>		
Leucoderma	17	56,7
Feoderma	10	33,3
Melanoderma	3	10
<b>Localização anatômica</b>		
Mucosa jugal	3	10
Gengiva/Mucosa Alveolar	10	33,3
Palato	4	13,3
Lábio	3	10
Língua	1	3,3
Assoalho bucal	2	6,7
Fundo de saco vestibular	7	23,4

Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

Tabela 4 - Intensidade do infiltrado inflamatório nos 30 casos de Hiperplasia fibrosa inflamatória. Natal-RN, 2019.

<b>Tipo de lesão</b>	<b>Infiltrado inflamatório</b>		
	<b>Leve n (%)</b>	<b>Moderado n (%)</b>	<b>Intenso n (%)</b>
Hiperplasia fibrosa inflamatória	7 (23,3)	9 (30)	14 (46,7)

Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

No que se refere à presença de mastócitos, em todos os 30 casos de ambas as lesões analisadas, havia imunopositividade para triptase, na qual prevaleceu, tanto em HFI como em GP, uma intensa presença dessas células (Tabela 5). Morfologicamente, essas células se apresentaram predominantemente na forma arredondada e oval.

Tabela 5 - Imunoexpressão da triptase em Granuloma piogênico e Hiperplasia fibrosa inflamatória. Natal-RN, 2019.

Tipo de lesão	Imunoexpressão da triptase		
	Leve <i>n</i> (%)	Moderado <i>n</i> (%)	Intensa <i>n</i> (%)
Granuloma piogênico	5 (16,7)	7 (23,3)	18 (60)
Hiperplasia fibrosa inflamatória	2 (6,6)	5 (16,7)	23 (76,7)

Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

Os resultados obtidos com a realização do teste estatístico de Qui-quadrado de Pearson ( $\chi^2$ ) mostraram que a intensidade do infiltrado inflamatório tem relação com o tipo de lesão estudada. Os GPs demonstraram maior prevalência do infiltrado inflamatório intenso, quando comparados com as HFIs (Tabela 6), enquanto que, na associação entre a imunoexpressão da triptase com o tipo de lesão estudada  $p$  foi maior que 0,05 ( $p > 0,05$ ), ou seja, não houve diferença significativa da intensidade da presença de mastócitos entre GP e HFI (Tabela 7).

Considerando a linha de estudo utilizada nessa investigação e seus resultados, foi possível evidenciar que, a HFI apresentou uma menor prevalência do infiltrado inflamatório intenso e uma maior prevalência da presença dos mastócitos marcados pela triptase, quando comparado estes resultados com os obtidos no GP, conforme evidenciados nas tabelas 2, 4 e 5.

Tabela 6 - Associação entre a intensidade do infiltrado inflamatório e o tipo de lesão. Natal-RN, 2019.

Tipo de lesão	Infiltrado inflamatório		$p^*$
	Leve a moderado <i>n</i> (%)	Intenso <i>n</i> (%)	
Granuloma piogênico	6 (27,3)	24 (63,2)	0,007
Hiperplasia fibrosa inflamatória	16 (72,7)	14 (36,8)	

Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

Legenda: \* Teste Qui-quadrado de Pearson ( $\chi^2$ ).

Tabela 7 - Associação entre a imunoexpressão da triptase em mastócitos e o tipo de lesão. Natal-RN, 2019.

Tipo de lesão	Imunoexpressão da triptase		$p^*$
	Leve a moderada <i>n</i> (%)	Intensa <i>n</i> (%)	
Granuloma piogênico	12 (63,2)	18 (43,9)	0,267
Hiperplasia fibrosa inflamatória	7 (36,8)	23 (56,1)	

Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

Legenda: \* Teste Qui-quadrado de Pearson ( $\chi^2$ ).

No que concerne à associação da imunoexpressão da triptase em mastócitos e a intensidade do infiltrado inflamatório, tanto HFI quanto GP evidenciou ausência de diferenças estatisticamente significativas, com  $p$  respectivamente, menor que 0,05 e igual a 1 (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8 - Associação entre a imunoexpressão da triptase em mastócitos e a intensidade do infiltrado inflamatório em granulomas piogênicos. Natal-RN, 2019.

Infiltrado inflamatório	Imunoexpressão da triptase		$p^*$
	Leve a moderada <i>n</i> (%)	Intensa <i>n</i> (%)	
Leve a moderado	2 (16,7)	4 (22,2)	1,000
Intenso	10 (83,3)	14 (77,8)	

Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

Legenda: \* Teste Exato de Fisher.

Tabela 9 - Associação entre a imunoexpressão da triptase em mastócitos e a intensidade do infiltrado inflamatório em hiperplasias fibrosas inflamatórias. Natal-RN, 2019.

Infiltrado inflamatório	Imunoexpressão da triptase		$p^*$
	Leve a moderada <i>n</i> (%)	Intensa <i>n</i> (%)	
Leve a moderado	3 (42,9)	13 (56,5)	0,675
Intenso	4 (57,1)	10 (43,5)	

Fonte: Arquivos do Laboratório de Anatomia Patológica e Citopatologia do Departamento de Odontologia da UFRN.

Legenda: \* Teste Exato de Fisher.



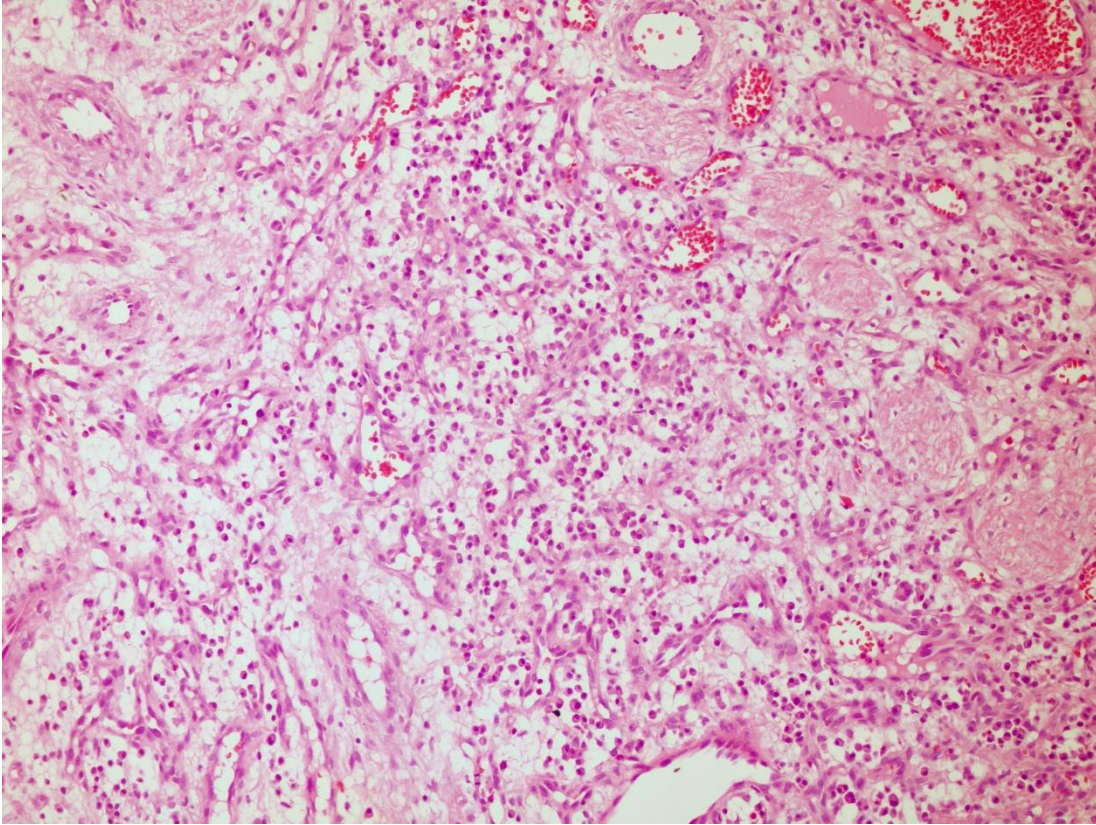


Figura 1 - Infiltrado inflamatório intenso em granuloma piogênico (HE, 200x).

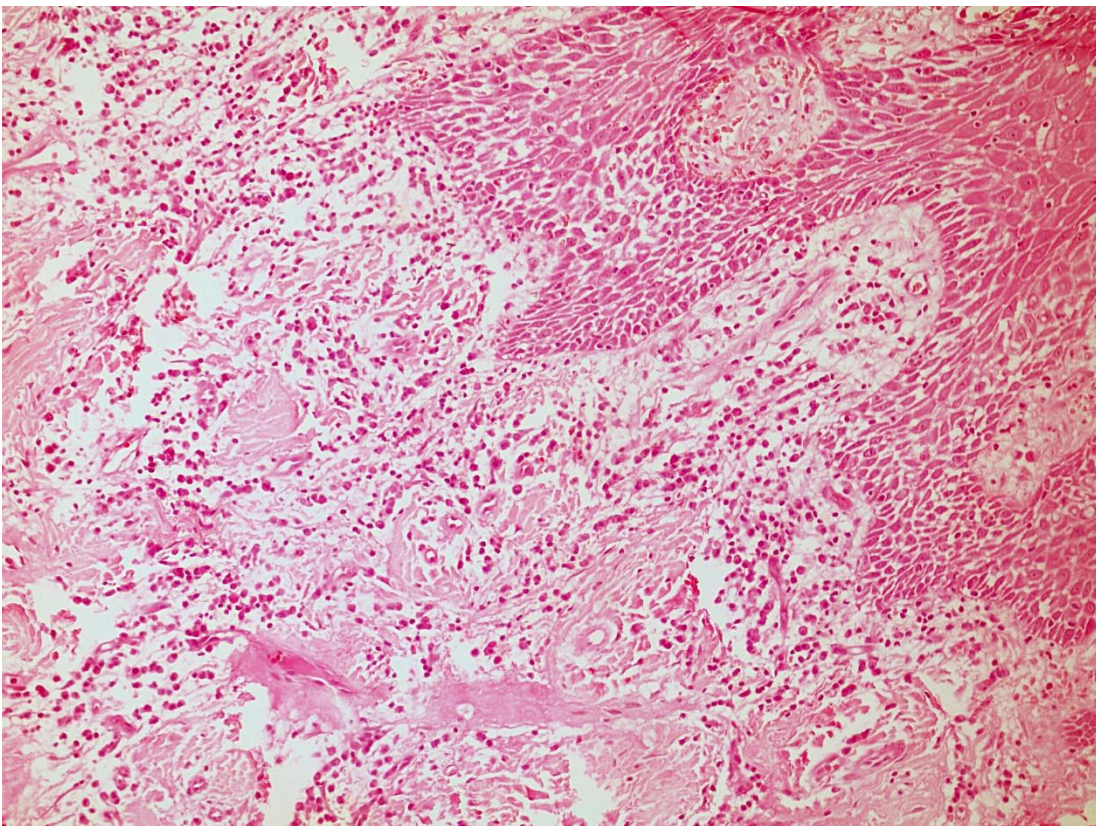


Figura 2 - Infiltrado inflamatório intenso em hiperplasia fibrosa inflamatória (HE, 200x).

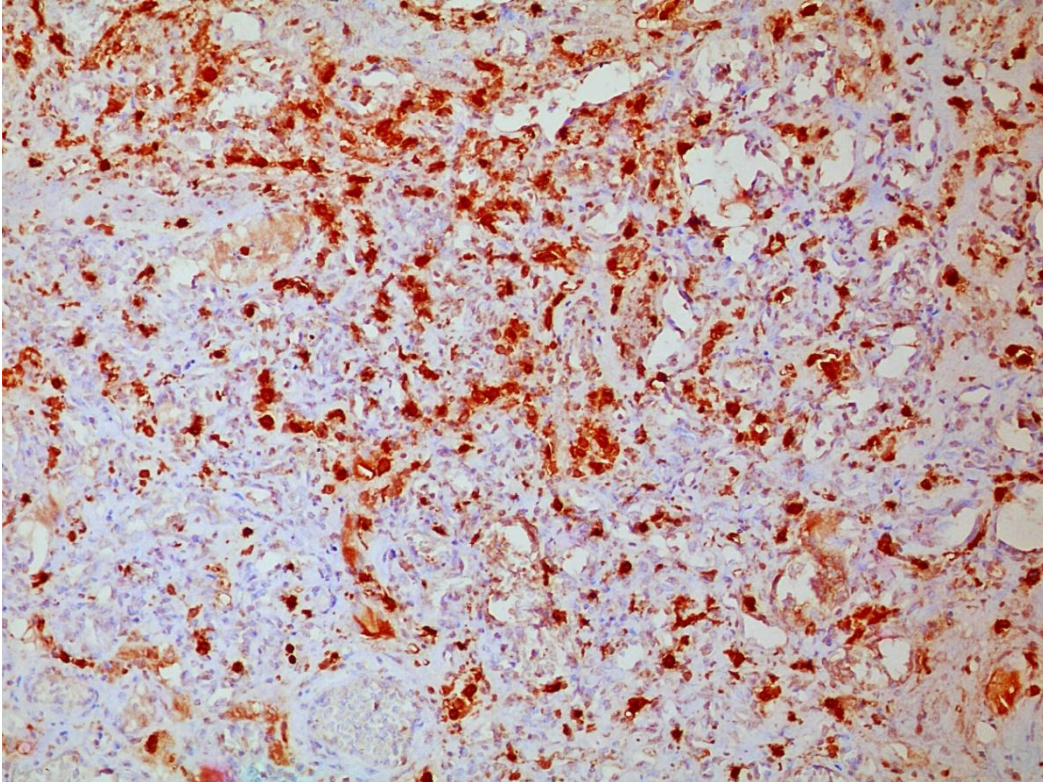


Figura 3 – Presença de mastócitos exibindo imunoreatividade para triptase em granuloma piogênico (200x).

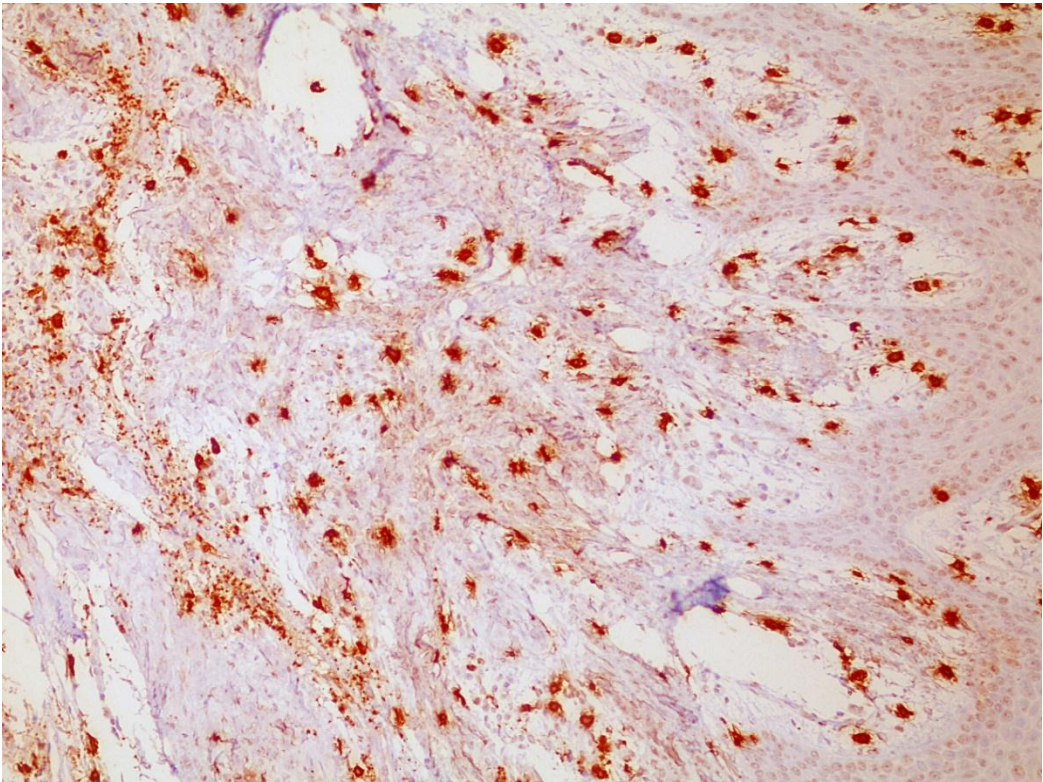


Figura 4 – Presença de mastócitos exibindo imunoreatividade para triptase em hiperplasia fibrosa inflamatória (200x).

## 6 DISCUSSÃO

O desenvolvimento dessas lesões proliferativas não neoplásicas, ocorrem comumente na mucosa oral, em decorrência da reação exacerbada dos tecidos a fatores reativos de baixa intensidade; na HFI ocorre uma reação exagerada do tecido conjuntivo fibroso associado ao infiltrado inflamatório, e no GP, há um crescimento vascular exuberante. Apesar de ambas puderem se manifestar em qualquer localização intraoral, estas ocorrem prevalentemente na região gengival/rebordo alveolar, possuem uma predileção por mulheres leucodermas, por volta da sexta década de vida, no caso da HFI e, entre a segunda e a quarta décadas de vida, no caso do GP (MENDONÇA et al., 2011; COSTA et al., 2012; BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; SANTOS et al, 2014; MENDONÇA et al., 2015; MARINHO, et al., 2016; NEVILLE et al, 2016; PORDEUS, et al., 2016; BARBOSA et al, 2018; DUTRA et al., 2019).

No presente trabalho, constatou-se que a HFI apresentou uma leve predileção por mulheres, leucodermas e indivíduos na sexta década de vida, como já previsto pela literatura, que pressupõe que essa prevalência no sexo feminino ocorra devido ao fato das mulheres, terem maior preocupação com a saúde, e usarem, com mais frequência, as próteses, não só por razões funcionais, como também estéticas (BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; SANTOS et al, 2014; BARBOSA et al, 2018). Assim como também já descrito na literatura, o GP ocorreu prevalentemente, em indivíduos do sexo feminino, o que pode ser explicado pelo fato dos fatores irritativos locais crônicos, de baixa intensidade, ou trauma, exercerem interferência de fatores hormonais; da segunda à quarta década de vida e seu maior acometimento foi na região da gengiva (MENDONÇA et al., 2011; MENDONÇA et al., 2015; COSTA et al., 2012; MARINHO, et al., 2016). Contudo, prevaleceu em indivíduos feodermas.

Os aspectos microscópicos condizem com a maioria dos achados bibliográficos. Ambas lesões apresentaram a existência de epitélio pavimentoso estratificado, no caso da HFI bem ceratizado, e exibindo áreas de atrofia, acantose, degeneração hidrópica, espongirose e exocitose. No tecido conjuntivo fibroso da HFI, evidenciou-se uma intensa deposição de fibras colágenas, infiltrado inflamatório, predominantemente, crônico e poucos vasos sanguíneos, enquanto que, no do GP observou-se proliferação de células endoteliais, com presença de tecido de granulação hiperplásico e infiltrado inflamatório mononuclear, vasos sanguíneos de

diversos calibres, alguns dos quais congestos, e áreas ulceradas (MENDONÇA et al., 2011; BARROS; CAMPOS; CABRAL, 2014; PORDEUS, et al., 2016; MARINHO, et al., 2016; NEVILLE et al., 2016).

Testes estatísticos mostraram um nível de significância de 5%, que a intensidade do infiltrado inflamatório guarda relação com o tipo de lesão estudada. Assim, o GP apresentou prevalência da presença do infiltrado inflamatório intenso, quando comparado com infiltrado existente na HFI. Isto pode ser devido a essa lesão possuir, com mais frequência, extensas áreas ulceradas, como apontado pelo estudo de Marinho (2016). Como se sabe, quando ocorre a descontinuidade tecidual, as funções básicas de proteção do tecido epitelial são comprometidas e a susceptibilidade às infecções aumentam, com isto, as células inflamatórias são recrutadas para combater essa porta de entrada de microorganismos.

Em todos os casos, nas lesões analisadas, houve imunopositividade para triptase com intensa presença de mastócitos, tanto em HFI como em GP, pois além dessas células estarem distribuídas por todos os órgãos e tecidos vascularizados, elas têm um papel essencial na regulação da resposta imunológica, pois quando recebem estímulos, liberam mediadores químicos, o que faz destas, uma célula efetora na cascata inflamatória (KRISHNASWAMY et al., 2001; KALESNIKOFF; GALLI, 2008; SANTOS et al., 2010; WALKER; HATFIELD; BROWN, 2012; CAETANO C.P. et al., 2014; CSABA, G., 2015; KRYSTEL-WHITTEMORE, M., et al., 2015; STEFANOV, et al., 2017). Contudo, nesta linha de estudo, ao comparar a HFI com o GP, esta lesão apresentou uma relação inversa, com menor prevalência do infiltrado inflamatório intenso, e uma maior prevalência da presença dos mastócitos marcados pela triptase.

Em concordância com a literatura, foi observado, no estudo morfológico dessa célula, predominância da sua forma redonda e oval (Krishnaswamy et al. 2001; Arboleda, Franco e Valladares, 2018). Em contrapartida, na associação entre a imunexpressão da triptase com o tipo de lesão, estudada não houve diferença significativa da presença de mastócitos entre GP e HFI.

Na tese de Pereira Pinto (1976), foi observada uma relação inversa entre a densidade do exsudato inflamatório e a quantidade de mastócitos nas lesões do estudo (Cistos e granulomas radículo-dentários), contudo ele utilizou como marcador o azul de toluidina que só cora os grânulos metacromáticos dessas células; logo se os mastócitos tiverem degranulados devido sua participação no estágio reparativo

(cicatricial ou inflamatório), os mesmos não serão observados (REDDY et al., 2014; CSABA, G., 2015; ARBOLEDA; FRANCO; VALLADARES, 2018). Com isso, nesse estudo utilizamos a triptase como imunomarcador devido o seu alto grau de sensibilidade e precisão na identificação dos MCs granulados e degranulados (KOUHSOLTANI et al., 2016).

Ao associar imunoexpressão da triptase em mastócitos e a intensidade do infiltrado inflamatório, tanto em HFI quanto em GP, evidenciou-se ausência de diferenças estatisticamente significativas. Portanto, esse resultado pode ser devido a técnica de avaliação dos mastócitos deste trabalho, por se tratar de uma análise qualitativa da variável, enquanto que, estudos anteriores, realizaram análises quantitativas. Isto nos impulsiona a continuar este estudo com uma nova abordagem, isto é, utilizando uma análise quantitativa ou semi-quantitativa.

## 7 CONCLUSÃO

Pela observação direta dos campos microscópicos, utilizando técnica já comentada e subsequente análise de variância, a presença de mastócitos na hiperplasia fibrosa inflamatória e no granuloma piogênico, nos leva as seguintes conclusões:

1. A intensidade do infiltrado inflamatório tem relação com o tipo de lesão estudada, uma vez que, o Granuloma piogênico apresentou prevalência da presença do infiltrado inflamatório intenso, quando comparado com a hiperplasia fibrosa inflamatória.
2. O imunomarcador triptase apresenta uma especificidade na identificação dos Mastócitos, tendo em vista que, esse se expressa tanto na célula granulada como na degranulada.
3. Existe, entre as lesões estudadas, uma relação inversa do infiltrado inflamatório e a presença dos mastócitos marcados pela triptase, uma vez que, a HFI apresentou menor prevalência do infiltrado inflamatório intenso, e uma maior prevalência da presença dos mastócitos marcados pela triptase, quando comparada com o GP.

## REFERÊNCIAS

- ARBOLEDA, C. A.; FRANCO, A. M. H.; VALLADARES, T. L. El papel de los mastócitos em la evaluación de la respuesta inflamatoria posoperatoria, al implantar malas protésicas para la reparación de defectos de la pared abdominal em biomodelos rata Wistar. **Revista Cirurgia**, Chile, v. 70, n. 2, p. 104-111, 2018.
- BARROS, R. M. G.; CAMPOS, K. S. M.; CABRAL, L. M. Relato de caso clínico de hiperplasia fibrosa inflamatoria. **Revista de Odontologia de Araçatuba**, Araçatuba, v. 35, n. 2, p. 15-18, 2014.
- BARBOSA, J. S. *et al.* Eficácia do laser cirúrgico no tratamento de hiperplasia fibrosa decorrente de trauma crônico associado à ausência parcial de dentes. *In*: ONE, G. M. C.; UCHÔA, R. C. (Org.). **Odontologia: os desafios do mundo contemporâneo**. 1. ed. João Pessoa: Instituto Medeiros de Educação Avançada (IMEA), 2018. p. 68-82. v.1.
- COSTA, F. W. G. *et al.* Granuloma piogênico exuberante em sítio extragengival. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, São Paulo, v. 78, n. 4, p. 134, 2012.
- COSTA NETO, H. *et al.* Immunoexpression of tryptase-positive mast cells in periapical granulomas and radicular cysts. **International Endodontic Journal**, Oxford, v. 48, n. 8, p. 729-735, 2014.
- CAETANO C. P. *et al.* Quantification of mast cells in the skin of elderly autopsied. **Journal of the Health Sciences Institute**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 130-133, 2014.
- CSABA, G. Mast cell, the peculiar member of the immune system: a homeostatic aspect. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, Budapest, v. 62, n. 3, p. 207-231, 2015.
- CARTI, O. *et al.* Pyogenic granuloma: a case report. **Cumhuriyet Dental Journal**, Turkey, v. 20, n. 2, p. 77-84, 2017.
- DUTRA, K. L. *et al.* Incidência de lesões hiperplásicas reativas na cavidade bucal: estudo retrospectivo de 10 anos em Santa Catarina, Brasil. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, São Paulo, v. 85, n. 4, p. 399-407, 2019.
- KALESNIKOFF, J.; GALLI, S. J. New developments in mast cell biology. **Nature Immunology**, New York, v. 9, n. 11, p. 1215-1223, 2008.
- KRISHNASWAMY, G. *et al.* The human mast cell: functions in physiology and disease. **Frontiers Bioscience**, United States of American, v. 6, p. 1109-1127, 2001.
- KRYSTEL-WHITTEMORE, M.; DILEEPAN K. N.; WOOD, J. G. Mast cell: uma célula mestre multifuncional. **Frontiers in Immunology**, Switzerland, v. 6, n. 620, 2015.
- KOUHSOLTANI, M. *et al.* Evaluation of mast cell counts and microvessel density in reactive lesions of the oral cavity. **Journal of dental research, dental clinics, dental prospects**, Autumn, v. 10, n. 4, p. 241-246, 2016.

MENDONÇA, J. C. G. *et al.* Large proportion pyogenic granuloma: clinical and surgical case report. **Arch. Health Invest.**, Araçatuba, v. 4, n. 3, p.192-197, 2015.

MENDONÇA, J. C. G. *et al.* Granuloma piogênico: relato de caso clínico-cirúrgico. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 9, n. 29, p. 92-95, 2011.

MELO, M. *et al.* Tratamento de hiperplasia fibrosa inflamatória pelo método de compressão gradual – caso clínico. **Scientific Investigation in Dentistry**, Anápolis, v. 21, n. 1, p. 19-23, 2016.

MARINHO, T. F. C. *et al.* Processos proliferativos não-neoplásicos: uma revisão da literatura. **Revista saúde e ciência online**, Campina Grande, v. 5, n. 2, p. 94-110, 2016.

NEVILLE, B. W. *et al.* **Patologia oral e maxilofacial**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

PORDEUS, S. S. *et al.* Granuloma piogênico atípico de comportamento agressivo: relato de caso. **Revista da ACBO**, Ponta Verde, v. 25, n. 2, p. 219-225, 2016.

PEREIRA-PINTO, L. **Relação entre mastócitos e exsudato inflamatório nos cisto e granulomas radículo-dentários no homem**. 1976. 73 f. Tese (Livre-docência em patologia oral) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 1976.

REDDY, V. *et al.* Contagem de mastócitos em lesões reativas orais: um estudo histoquímico. **Dental Research Journal (Isfahan)**, Isfahan, v. 11, n. 2, p. 187-192, 2014.

SANTOS, P. P. A. *et al.* Immunohistochemical expression of mast cell tryptase in giant cell fibroma and inflammatory fibrous hyperplasia of the oral mucosa. **Archives of Oral Biology**, Oxford, v. 56, p. 231-237, 2011.

SANTOS, P. P. A. *et al.* Relação entre mastócitos e células T na inflamação. **Odontologia Clínico-Científica**, Recife, v.9, n.3, p.215-217, 2010.

SANTOS, T. S. *et al.* Focal fibrous hyperplasia: a review of 193 cases. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, Chennai, v. 18, p. S86-89, 2014. Suppl. 1.

SHOJAEI S. *et al.* Immunohistochemical Expression of Mast Cell in Oral Reactive Lesions. **Journal of Dentistry (Shiraz)**, Iran, v. 16, n. 1, p. 10-14, 2015.

STEFANOV, I. S. *et al.* Distribution of ghrelin-positive mast cells in rat stomach. **Journal Biotechnology & Biotechnological Equipment**, London, v. 31, n. 4, p. 774-781, 2017.

WALKER, M. E.; HATFIELD, J. K.; BROWN, M. A. New Insights into the Role of Mast Cells in Autoimmunity: Evidence for a Common Mechanism of Action? **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1822, n. 1, p. 57-65, 2012.





## ANEXO

UFRN - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO GRANDE DO  
NORTE - LAGOA NOVA



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** ESTUDO DOS MASTÓCITOS ENTRE LESÕES ORAIS DE NATUREZA REATIVA: GRANULOMA PIOGÊNICO E HIPERPLASIA FIBROSA INFLAMATÓRIA, NO

**Pesquisador:** Leão Pereira Pinto

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 12101719.0.0000.5537

**Instituição Proponente:** Departamento de Odontologia

**Patrocinador Principal:** Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.319.723

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um trabalho de conclusão de curso de Odontologia. O objeto de estudo é a presença de mastócitos em lesões inflamatórias (hiperplasia fibrosa inflamatória e granulomas piogênicos). Será feita uma análise da relação entre a presença de triptase, como marcador de macrófagos e relacionar sua presença com o exudato inflamatório. Para isso serão obtidas 50 amostras parafinadas de arquivo de hiperplasias fibrosas inflamatórias e granulomas piogênicos.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Análise descritiva e comparativa da expressão imuno-histoquímica de mastócitos pela triptase, entre lesões de natureza reativa, considerando a intensidade do exudato inflamatório nelas existentes.

**Objetivos Secundários:**

- Observar a densidade, distribuição e a localização dos mastócitos em hiperplasia fibrosa inflamatória, a partir do seu marcador (triptase).

**Endereço:** Av. Senador Salgado Filho, 3000

**Bairro:** Lagoa Nova

**CEP:** 59.079-970

**UF:** RN

**Município:** NATAL

**Telefone:** (84)3215-3135

**E-mail:** cepufm@reitoria.ufrn.br

Continuação do Parecer: 3.319.723

- Observar a densidade, distribuição e a localização dos mastócitos em granuloma piogênico, a partir do seu marcador (triptase).
- Compreender e relacionar os mastócitos com o processo inflamatório.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os riscos são muito pequenos já que se trata de pesquisa com material de arquivo. Os riscos são associados à confidencialidade dos dados e serão minimizados pelo acesso restrito às fichas clínicas arquivadas.

Não há benefícios para os participantes.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de uma pesquisa retrospectiva analítica em que será analisada a expressão imuno-histoquímica da triptase em mastócitos presentes na hiperplasia fibrosa inflamatória e no granuloma piogênico.

Serão incluídos casos de hiperplasias fibrosas inflamatórias e de granulomas piogênicos que contenham:

- Material biológico suficiente para a análise morfológica e imuno-histoquímica.
- Prontuários com informações clínicas de idade, sexo e cor de pele.

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

Foram apresentados os seguintes documentos:

- a- Folha de rosto corretamente preenchida em 14 de março de 2019;
- b- Carta de apresentação da pesquisa ao CEP;
- c- Declaração de não-início assinada em 07 de março de 2019;

Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000	CEP: 59.078-970
Bairro: Lagoa Nova	Município: NATAL
UF: RN	E-mail: cepufm@reitoria.ufrn.br
Telefone: (84)3215-3135	

Continuação do Parecer: 3.319.723

- d- Termo de confidencialidade assinado pelo pesquisador e colaboradores (orientandos);
- e- Formulário CEP corretamente preenchido;
- f- Formulário da Plataforma Brasil;
- g- TCLE contendo todos os elementos preconizados pela resolução 466/12 do CNS e em linguagem adequada;
- h- TCLE para o biorrepositório;
- I- Termo de concessão assinado pela responsável pelo Laboratório de Anatomia Patológica da UFRN;
- J- Termo de constituição do biorrepositório;
- k- Termo de guarda de material biológico;
- l- Declaração de Infraestrutura do biorrepositório;
- m- Projeto completo;
- n- Cronograma;
- o- Instrumento de pesquisa (questionário clínico).

**Recomendações:**

Conforme procedimentos definidos na Resolução CNS 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) do Ministério da Saúde (MS), cabe ao pesquisador elaborar e apresentar os relatórios parciais, final ou de suspensão para avaliação do CEP.

Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000	CEP: 59.078-970
Bairro: Lagoa Nova	
UF: RN Município: NATAL	
Telefone: (84)3215-3135	E-mail: cepufn@reitoria.ufrn.br

Continuação do Parecer: 3.319.723

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

Após a análise das pendências anteriores, o pesquisador respondeu a contento e de forma satisfatória a todas elas. Deste modo, o protocolo de pesquisa está aprovado.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em conformidade com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde - CNS e Manual Operacional para Comitês de Ética - CONEP é da responsabilidade do pesquisador responsável:

1. elaborar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela (s) pessoa (s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinatura estar na mesma folha (Res. 466/12 - CNS, item IV.5d);
2. desenvolver o projeto conforme o delineado (Res. 466/12 - CNS, item XI.2c);
3. apresentar ao CEP eventuais emendas ou extensões com justificativa (Manual Operacional para Comitês de Ética - CONEP, Brasília - 2007, p. 41);
4. descontinuar o estudo somente após análise e manifestação, por parte do Sistema CEP/CONEP/CNS/MS que o aprovou, das razões dessa descontinuidade, a não ser em casos de justificada urgência em benefício de seus participantes (Res. 446/12 - CNS, item III.2u) ;
5. elaborar e apresentar os relatórios parciais e finais (Res. 446/12 - CNS, item XI.2d);
6. manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa (Res. 446/12 - CNS, item XI.2f);
7. encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto (Res. 446/12 - CNS, item XI.2g) e,
8. justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou não publicação dos resultados (Res. 446/12 - CNS, item XI.2h).

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1314742.pdf	07/05/2019 13:43:14		Acelto
Outros	Carta_Resposta_Pendencias.docx	07/05/2019 13:22:45	Leão Pereira Pinto	Acelto

Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000  
 Bairro: Lagoa Nova CEP: 59.078-970  
 UF: RN Município: NATAL  
 Telefone: (84)3215-3135 E-mail: cepufn@reitoria.ufrn.br

UFRN - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO GRANDE DO  
NORTE - LAGOA NOVA



Continuação do Parecer: 3.319.723

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	07/05/2019 13:19:37	Leão Pereira Pinto	Acelto
Cronograma	Cronograma_modificado.docx	07/05/2019 13:18:56	Leão Pereira Pinto	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Biorrepositorio.doc	08/04/2019 21:26:34	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	Carta_de_anuencia.docx	08/04/2019 21:26:03	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	Fomulario_comTCLE.docx	08/04/2019 21:25:34	Leão Pereira Pinto	Acelto
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositorio / Biobanco	Termo_de_guarda_de_material_biologico.doc	08/04/2019 21:25:16	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	Termo_Confidencialidade.docx	08/04/2019 21:24:59	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	Termo_Concessao.docx	08/04/2019 21:24:32	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	Declaracao_de_nao_inicio.docx	08/04/2019 21:24:00	Leão Pereira Pinto	Acelto
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositorio / Biobanco	Termo_Constituicao_Biorrepositorio.doc	08/04/2019 21:23:32	Leão Pereira Pinto	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_infraestrutura_biorrepositorio.doc	08/04/2019 21:23:01	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	Carta_Apresentacao.docx	08/04/2019 21:22:08	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	Instrumento_da_pesquisa_dados_clinicos.docx	02/04/2019 22:16:24	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	formulario_CEP_UFRN.pdf	02/04/2019 22:15:25	Leão Pereira Pinto	Acelto
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorrepositorio / Biobanco	termo_de_constituicao_de_biorrepositorio.pdf	02/04/2019 22:12:00	Leão Pereira Pinto	Acelto
Declaração de Manuseio Material Biológico /	termo_de_guarda_de_material_biologico.pdf	02/04/2019 22:11:35	Leão Pereira Pinto	Acelto

Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000

Bairro: Lagoa Nova

CEP: 59.078-970

UF: RN

Município: NATAL

Telefone: (84)3215-3135

E-mail: ceputm@reitoria.ufrn.br

UFRN - UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO GRANDE DO  
NORTE - LAGOA NOVA



Continuação do Parecer: 3.319.723

Biorepositório / Biolanco	termo_de_guarda_de_material_biologico.pdf	02/04/2019 22:11:35	Leão Pereira Pinto	Acelto
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_infraestrutura_biorrepositorio.pdf	02/04/2019 22:11:06	Leão Pereira Pinto	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_DE_PESQUISA.docx	02/04/2019 22:05:49	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	termo_de_confidencialidade.pdf	14/03/2019 16:35:22	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	termo_de_concessao.pdf	14/03/2019 16:34:56	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	declaracao_nao_inicio.pdf	14/03/2019 16:33:08	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	carta_de_apresentacao.pdf	14/03/2019 16:32:30	Leão Pereira Pinto	Acelto
Outros	carta_de_anuencia.pdf	14/03/2019 16:31:53	Leão Pereira Pinto	Acelto
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	14/03/2019 16:26:52	Leão Pereira Pinto	Acelto

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

NATAL, 11 de Maio de 2019

Assinado por:  
**LÉLIA MARIA GUEDES QUEIROZ**  
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Senador Salgado Filho, 3000  
Bairro: Lagoa Nova CEP: 59.079-970  
UF: RN Município: NATAL  
Telefone: (84)3215-3135 E-mail: cepufm@reitoria.ufrn.br