

Juliana Santos de Jesus Azevedo



Influência do infiltrado inflamatório  
subepitelial nas características do tecido  
epitelial das lesões de líquen plano oral:  
estudo morfológico

Salvador  
2023



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS INTERATIVOS  
DE ÓRGÃOS E SISTEMAS**

**JULIANA SANTOS DE JESUS AZEVEDO**

**INFLUÊNCIA DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBEPITELIAL  
NAS CARACTERÍSTICAS DO TECIDO EPITELIAL DAS LESÕES DE  
LÍQUEN PLANO ORAL: ESTUDO MORFOLÓGICO**

Salvador  
2023

**JULIANA SANTOS DE JESUS AZEVEDO**

**INFLUÊNCIA DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBEPITELIAL  
NAS CARACTERÍSTICAS DO TECIDO EPITELIAL DAS LESÕES DE  
LÍQUEN PLANO ORAL: ESTUDO MORFOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Gabriela Botelho Martins

Salvador  
2023

Ficha catalográfica: Keite Birne de Lira CRB-5/1953

Azevedo, Juliana Santos de Jesus

Influência do infiltrado inflamatório subepitelial nas características do tecido epitelial das lesões de líquen plano oral: estudo morfológico. / [Manuscrito]. Juliana Santos de Jesus Azevedo. Salvador, 2023. 80f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Botelho Martins.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2023.

1. Líquen plano bucal. 2. Achados morfológicos e microscópicos. 3. Epitélio. 4. Tecido Conjuntivo. I. Martins, Gabriela Botelho. II. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciência da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. III. Título

CDD – 617.63 21. ed.

# FOLHA DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
Instituto de Ciências da Saúde



PROFESSOS INTERATIVOS  
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS



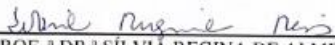
TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO

JULIANA SANTOS DE JESUS AZEVEDO

INFLUÊNCIA DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO SUBEPITELIAL NAS  
CARACTERÍSTICAS DO TECIDO EPITELIAL DAS LESÕES DE LÍQUEN PLANO  
ORAL: ESTUDO MORFOLÓGICO

Salvador, Bahia, 20 de dezembro de 2023

COMISSÃO EXAMINADORA:

  
\_\_\_\_\_  
PROF.ª DR.ª SILVIA REGINA DE ALMEIDA REIS (EXAMINADORA EXTERNA)

  
\_\_\_\_\_  
PROF.ª DR.ª GABRIELA BOTEELHO MARTINS (EXAMINADORA INTERNA)

  
\_\_\_\_\_  
PROF.ª DR.ª ALENA RIBEIRO PEIXOTO MEDRADO (EXAMINADORA INTERNA)

Av. Reitor Miguel Calmon, s/n, Vale do Canela – Salvador/BA – CEP 40.110-100

Tel.: (71) 3283-8959 – E-mail: [ppgorgsistem@ufba.br](mailto:ppgorgsistem@ufba.br)

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos.” (*Eleanor Roosevelt*)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço:

a Deus, por me guiar, proteger e me permitir realizar tantos sonhos.

Aos meus pais, Nilza e James, por serem a minha fonte inesgotável de apoio e amor, por sempre acreditarem em mim, me dando forças e motivação para trilhar os meus caminhos, por todos os sacrifícios que fizeram para me proporcionar educação e tantas oportunidades, e por terem abraçado esse sonho comigo. Pais, vocês são a certeza de que eu nunca estarei só.

Ao meu irmão, James Júnior, por ser meu companheiro de vida e parte de mim.

A meus familiares e amigos, que sempre estiveram disponíveis para me ajudar e acolher, e por todas as palavras de carinho e motivação. Ter vocês na minha vida é um grande presente.

Agradeço grandemente a Juliana Borges e Júlia Néri, que ainda na graduação me incentivaram e despertaram em mim o desejo de trilhar esse caminho. Agradeço a vocês por terem acreditado em mim lá no começo, por terem me ensinado tanto e por terem me fornecido todas as ferramentas necessárias para que eu conseguisse ingressar no mestrado. Vocês sempre serão minhas referências.

As amigas que ganhei nesse mestrado, Jaiza Kênsuly, Swane Moura e Natália Nunes, por terem compartilhado comigo os desafios dessa jornada árdua. Foram dois anos dividindo as angústias da pós-graduação, mas sempre contando com o suporte uma da outra.

A Ana Carla Barletta, uma grande parceira que ganhei durante esse processo e que foi meu braço direito nessa pesquisa. Sou muito grata pelas pessoas maravilhosas que cruzaram os meus caminhos nesse período e sem dúvidas você foi uma dessas.

Ao “*Team Gabi*”, por todos os nossos encontros científicos tão enriquecedores, que contribuíram grandemente para minha formação acadêmica. Aprendi muito com todos vocês.

A minha querida orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Gabriela Botelho Martins, por ter aceitado seguir comigo nessa jornada tão desafiadora e por ter sido tão presente, dedicada e paciente. Agradeço por todos os ensinamentos, conselhos e orientações. Sou extremamente grata por tudo que aprendi com a senhora e por ter se doado tanto para que essa pesquisa fosse realizada. Tenho muito orgulho da orientadora maravilhosa e competente que eu tive durante esses dois

anos!

Ao Laboratório de Bioquímica Oral do ICS da UFBA, por me fornecer a estrutura necessária para que essa pesquisa fosse possível. Em especial, a bibliotecária Keite Lira e Prof<sup>a</sup> Elisângela Campos, que me acolheram tão bem. Todas as nossas conversas e todos os ensinamentos fizeram muita diferença na minha vida acadêmica e profissional. Muito grata pela nossa troca.

Ao programa de pós graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas (PpgPios) e todos os professores e funcionários, que proporcionaram um ambiente de muito aprendizado. Minha sincera gratidão, em especial, a Carlos, Célia, Tarcísio e Alyson por serem sempre muito solícitos.

Ao Laboratório de Patologia Bucal da UEFS e ao Laboratório de Patologia Oral do Curso de Odontologia da EBMSP, que gentilmente forneceram os corte histológicos para que essa pesquisa fosse possível. Em especial as Prof<sup>a</sup>. Valéria Freitas e Prof<sup>a</sup>. Michele Falcão, por serem tão atenciosas e pela disponibilidade em nos ajudar sempre que nós precisávamos.

A CAPES, órgão financiador desse trabalho, que possibilitou a realização da minha pesquisa e de tantas outras. Muito obrigada!

Aos membros da banca examinadora, por dedicarem seu tempo para analisar e avaliar este trabalho, fornecendo sugestões valiosas para a sua melhoria.

A todos, que direta ou indiretamente fizeram parte dessa etapa tão importante na minha vida!



Azevedo JSdeJ. Influência do infiltrado inflamatório subepitelial nas características do tecido epitelial das lesões de líquen plano oral: estudo morfológico [dissertação]. Salvador: Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia; 2023. 80f.

## RESUMO

**Introdução:** O líquen plano oral (LPO) é uma doença inflamatória crônica, considerada uma desordem oral potencialmente maligna, cujos mecanismos imunológicos estão associados a seu desenvolvimento. Acredita-se que a patogênese do LPO esteja relacionada a um intenso infiltrado inflamatório subepitelial, que desempenha um papel importante na lesão sofrida pelo tecido epitelial. A inflamação crônica tem sido ainda fortemente associada à malignização dessa condição. **Objetivo:** Verificar a associação entre a severidade do infiltrado inflamatório e as características epiteliais observadas nas lesões de LPO. **Materiais e métodos:** Trata-se de um estudo transversal retrospectivo, cuja amostra contemplou um total de 41 secções histológicas de LPO coradas com Hematoxilina-Eosina, pertencentes aos Laboratórios de Patologia Oral de duas instituições de ensino superior da Bahia. Análises histológicas foram realizadas com o auxílio de um microscópio óptico de luz, em objetivas de 10x e 40x. Os aspectos morfológicos avaliados foram: presença e contagem dos corpos de Civatte, exocitose linfocítica, degeneração da camada basal e grau de inflamação do tecido. **Resultados:** Na amostra estudada, houve prevalência de grau severo de inflamação do tecido (85,4%). As prevalências de exocitose, degeneração da camada basal e de corpos de Civatte foram de 72,5%, 82,9% e 76,3%, respectivamente. Não houve associação significativa entre o grau de inflamação do tecido e a presença de exocitose, a degeneração da camada basal e os corpos de Civatte ( $p>0,05$ ). Não se observou diferença significativa na quantidade de corpos de Civatte entre os diferentes graus de inflamação ( $p>0,05$ ), e não houve associação significativa entre a presença de exocitose e a presença de degeneração da camada basal e de corpos de Civatte ( $p>0,05$ ). A quantidade de corpos de Civatte não diferiu significativamente entre as amostras com ausência ou presença de exocitose ( $p>0,05$ ). **Conclusão:** Neste estudo, não foram encontradas associações significativas entre a severidade do infiltrado inflamatório subepitelial e as características analisadas no tecido epitelial dos casos de LPO.

**Palavras-chave:** Líquen plano bucal. Achados morfológicos e microscópicos. Epitélio. Tecido conjuntivo. Inflamação.

Azevedo JSdeJ. Influence of the subepithelial inflammatory infiltrate on the epithelial tissue characteristics of oral lichen planus lesions: morphological study [dissertation]. Salvador: Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia; 2023. 80 f.

## ABSTRACT

**Introduction:** Oral lichen planus (OLP) is a chronic inflammatory disease, considered a potentially malignant oral disorder, which immunological mechanisms are associated with its development. It is believed that the pathogenesis of OLP is related to an intense subepithelial inflammatory infiltrate, that plays an important role in the damage suffered by the epithelial tissue. Chronic inflammation has also been strongly associated with the malignancy of this condition. **Objective:** To verify the association between the severity of the inflammatory infiltrate and epithelial characteristics observed in OLP lesions. **Materials and methods:** This is a retrospective cross-sectional study, with a sample comprising a total of 41 histological sections of OLP stained with Hematoxylin-Eosin, belonging to the Oral Pathology Laboratories of two higher education institutions in Bahia. Histological analyzes were performed using a light optical microscope with 10x and 40x objectives. The morphological aspects evaluated were: the presence and count of Civatte bodies, lymphocytic exocytosis, degeneration of the basal layer and the degree of tissue inflammation. **Results:** In the studied sample, there was a prevalence of severe tissue inflammation (85.4%). The prevalence of exocytosis, degeneration of the basal layer and civatte bodies were 72.5%, 82.9% and 76.3%, respectively. There was no significant association between the degree of tissue inflammation and the presence of exocytosis, degeneration of the basal layer and Civatte bodies ( $p>0.05$ ). It wasn't observed a significant difference in the amount of Civatte bodies between the different degrees of concentration ( $p>0.05$ ) and there was no significant association between the presence of exocytosis and the presence of degeneration of the basal layer and Civatte bodies ( $p>0.05$ ). The number of Civatte bodies did not differ significantly between samples with absence or presence of exocytosis ( $p>0.05$ ). **Conclusion:** In this study, no significant associations were found between the severity of the subepithelial inflammatory infiltrate and the characteristics confirmed in the epithelial tissue of OLP cases.

**Keywords:** Lichen Planus, Oral. Morphological and Microscopic Findings. Epithelium. Connective Tissue. Inflammation.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Fotomicrografias de lesões de LPO (HE). Imagens A, C e E capturadas na objetiva de 10x, demonstrando presença de epitélio ceratinizado (c), infiltrado inflamatório intenso com aspecto em banda (imagens A e E, asterisco preto), cristas epiteliais evidentes (ponta de seta preta) e áreas de degeneração da camada basal (em C e E, seta preta). Imagens B, D, e F capturadas na objetiva de 40x, demonstrando infiltrado inflamatório (asterisco vermelho), degeneração da camada basal (seta vermelha) e exocitose linfocítica (ponta de seta azul). 23
- Figura 2** Fotomicrografia de lesão de LPO, identificando um corpo de Civatte na camada basal do epitélio pavimentoso estratificado (seta). Observa-se presença de infiltrado inflamatório subepitelial, predominantemente composto por células do tipo linfócitos (HE, 400x). 29
- Figura 3** Fotomicrografias representativas das características morfológicas avaliadas nas lesões de LPO, onde se observa o revestimento epitelial do tipo estratificado pavimentoso queratinizado, com exuberante infiltrado inflamatório subepitelial predominantemente linfocitário com aspecto difuso em A e aspecto em banda em B e C (HE, 100x). 43

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Frequência (n) e percentual (%) das características clínicas dos indivíduos com LPO atendidos no Centro de Referência de Lesões Buciais da UEFS e na EBMSP, no período de 2005 a 2019.	41
<b>Tabela 2</b>	Frequência (n) e percentual (%) das variáveis morfológicas analisadas nas amostras de LPO (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).	42
<b>Tabela 3</b>	Resultados das análises de associação das variáveis morfológicas com o grau de inflamação do tecido (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).	43
<b>Tabela 4</b>	Resultados da análise da quantidade de corpos de Civatte em função do grau de inflamação (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).	44
<b>Tabela 5</b>	Resultados das análises de associação com a presença de exocitose linfocítica (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).	44
<b>Tabela 6</b>	Resultados da análise da quantidade de corpos de Civatte em função da presença de exocitose (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).	45

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPOM	Academia Americana de Patologia Oral e Maxilofacial
AIFs	Fatores indutores de apoptose (do inglês, <i>Apoptosis Inducing Factors</i> )
APCs	Células apresentadoras de antígenos (do inglês, <i>Antigen Presenting Cells</i> )
CC	Quimiocinas CC
CCL5	Ligante 5 de quimiocina CC
CCR5	Receptor de quimiocinas CC tipo 5
CD95L	Ligante do fator relacionado a apoptose – Fas
CD95	Fator relacionado a apoptose - Fas
CD8+	Grupamento de diferenciação 8 (do inglês, <i>Cluster of differentiation 8</i> ), refere-se a linfócitos T citotóxicos
CD4+	Grupamento de diferenciação 4 (do inglês, <i>Cluster of differentiation 4</i> ), refere-se a linfócitos T auxiliares ou linfócitos T helper
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DISC	Complexo de sinalização indutor de morte ( <i>Death-Inducing Signaling Complex</i> )
DNA	Ácido desoxirribonucleico ( <i>Deoxyribonucleic acid</i> )
DOPM	Desordem oral potencialmente maligna
EBMSP	Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública
<i>et al.</i>	<i>et alii</i> (que traduzido significa e colaboradores)
ELAM-1	Moléculas de adesão dos leucócitos endoteliais (do inglês, <i>Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule-1</i> )
FADD	Proteína de domínio de morte associada ao Fas (do inglês, <i>FAS-Associated Death Domain Protein</i> )
FasL	Ligante Fas (do inglês, <i>Factor Related Apoptosis Ligand</i> )
FasR	Receptor Fas (do inglês, <i>Factor Related Apoptosis Receptor</i> )
HE	Hematoxilina-eosina
IA	Índice apoptótico
IC	Imunidade celular
ICAM	Molécula intercelular de adesão (do inglês, <i>intercellular cell adhesion molecule</i> )

ICS	Instituto de Ciências da Saúde
IFN-g	Interferon gama (do inglês, <i>gamma interferon</i> )
IH	Imunidade humoral
IL	Interleucina
IL-1	Interleucina 1
IL-1 $\alpha$	Interleucina 1 alfa
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
LFA-1	Antígeno 1 associado à função linfocitária (do inglês, <i>Lymphocyte Function-associated Antigen 1</i> )
LPO	Líquen plano oral
MEC	Matriz extracelular
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade (do inglês, <i>Major Histocompatibility Complex</i> )
MMPs	Metaloproteinasas da Matriz (do inglês, <i>Matrix Metalloproteinase</i> )
MMP-9	Metaloproteinasas da Matriz-9 (do inglês, <i>Matrix Metalloproteinase-9</i> )
OMS	Organização Mundial da Saúde
SMACs	Segundo ativador de caspases derivado da mitocôndria (do inglês, <i>Second Mitochondria-derived Activator of Caspases</i> )
TAMs	Macrófagos associados a tumores (do inglês, <i>Tumor-associated Macrophages</i> )
Th1	Linfócitos T helper 1
Th2	Linfócitos T helper 2
Th9	Linfócitos T helper 9
Th17	Linfócitos T helper 17
Th22	Linfócitos T helper 22
Tfh	Linfócitos T helper foliculares
TNF	Fator de necrose tumoral (do inglês, <i>Tumor Necrosis Factor</i> )
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa (do inglês, <i>Tumor Necrosis Factor alpha</i> )
TNF- $\alpha$ -R	Receptor do fator de necrose tumoral alfa (do inglês, <i>Tumor</i>

	<i>Necrosis Factor alpha receptor</i> )
TNFR-1	Receptor do fator de necrose tumoral alfa-1 (do inglês, <i>Tumor Necrosis Factor alpha receptor-1</i> )
TNFR-2	Receptor do fator de necrose tumoral alfa-2 (do inglês, <i>Tumor Necrosis Factor alpha receptor-2</i> )
TRADD	Domínio de morte associado ao receptor de TNF (do inglês, <i>TNF-Receptor Associated Death Domain</i> )
TUNEL	"nicks" por dUTP e deoxinucleotidil terminal transferase (do inglês, <i>Terminal deoxinucleotidil transferase Uracil Nick End Labeling</i> )
UEFS	Universidade Estadual de Feira de Santana
UFBA	Universidade Federal da Bahia
VCAM	Moléculas de adesão vascular (do inglês, <i>Vascular Cell Adhesion Factor</i> )
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular (do inglês, <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> )
VLA-4	Antígeno de ativação tardia-4 (do inglês, <i>Very Late Activation Antigen-4</i> )

## LISTA DE SÍMBOLOS

>	Representa maior que
<	Representa menor que
=	Representa sinal de igualdade
P	Representa o valor de $p$ , que define como a probabilidade de se observar um valor da estatística de teste maior ou igual ao valor observado sob a hipótese nula
%	Representa percentual
N	Representa frequência ou número amostral de uma população



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	18
1.1	JUSTIFICATIVA	19
1.2	OBJETIVOS	21
<b>1.2.1</b>	<b>Objetivo geral</b>	21
<b>1.2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b>	21
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	22
2.1	ASPECTOS GERAIS DO LÍQUEN PLANO ORAL	22
2.2	IMUNOPATOGENESE DO LPO	24
2.3	PADRÃO INFLAMATÓRIO E O TIPO CLÍNICO DO LPO	26
2.4	APOPTOSE	27
2.5	APOPTOSE DOS QUERATINÓCITOS NO LPO	29
2.6	APOPTOSE DAS CÉLULAS INFLAMATÓRIAS NO LPO	31
2.7	PAPEL DA INFLAMAÇÃO CRÔNICA NA TRANSFORMAÇÃO MALIGNA DO LPO	32
2.8	TRATAMENTO DO LPO BASEADO NA REGRESSÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO	37
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	38
3.1	ANÁLISES MORFOLÓGICAS	39
3.2	ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	41
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	46
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	55
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	56
	<b>APÊNDICE</b>	66
	<b>APÊNDICE A</b> – Ficha aplicada para coleta de dados morfológicos	67
	<b>ANEXOS</b>	68
	<b>ANEXO A</b> – Parecer do CEP – ICS/UFBA	69
	<b>ANEXO B</b> - Parecer do CEP – ICS/UFBA: Emenda	73
	<b>ANEXO C</b> – Carta de Anuência do Laboratório de Anatomia	78

Patológica da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP).

**ANEXO D**- Carta de Anuência do Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). 79

**ANEXO E** - Carta de Anuência do Laboratório de Bioquímica Oral do Instituto de Ciência da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA). 80

## 1 INTRODUÇÃO

O líquen plano oral (LPO) é uma doença inflamatória crônica da mucosa oral, que, quando sintomática, pode acarretar significativa morbidade. Geralmente, as lesões são classificadas em seis tipos clínicos: reticular, em placa e papular, que correspondem ao grupo das lesões brancas; e atrófica, bolhosa e erosiva, que constituem as lesões vermelhas. As formas reticular e erosiva são as mais comuns<sup>1</sup>. A etiologia do LPO ainda é desconhecida, embora se acredite que ela seja mediada pelos linfócitos T<sup>2</sup>.

Os fatores envolvidos no surgimento do LPO têm sido arduamente investigados no intuito de elucidar sua patogênese e de estabelecer protocolos terapêuticos menos empíricos. Atualmente, o tratamento do LPO é apenas sintomático e carece de uma conduta satisfatória e definitiva<sup>3</sup>, sendo os corticosteroides os fármacos de primeira escolha<sup>4</sup>.

O diagnóstico de LPO é obtido por meio da avaliação clínica da lesão, associada aos achados histopatológicos<sup>5</sup>. Quanto às características clínicas, elas irão variar de acordo com o tipo de LPO. As lesões podem ser bilaterais, múltiplas ou únicas, mais ou menos simétricas, e são caracterizadas pela presença das estrias brancas na superfície da mucosa oral<sup>6</sup>, denominadas de Estrias de Wickham, com o surgimento de áreas ulceradas com pseudomembranas, pápulas ou eritema<sup>7</sup>.

Por sua vez, os critérios para o diagnóstico histopatológico do LPO incluem a presença de um intenso infiltrado inflamatório linfocitário subepitelial, disposto em banda e com degeneração hidrópica da camada basal<sup>6</sup>. Eisenberg<sup>8</sup> (2000) destacou ainda outros aspectos histológicos, como a possível existência de uma camada de hiperqueratose, seja orto ou paraceratose, cristas epiteliais em dentes de serra e a presença de corpos de Civatte. A ausência de displasia epitelial e a presença de exocitose linfocítica também foram consideradas como elementos para o diagnóstico da doença<sup>5,9</sup>.

Lopéz-Jornet, Camacho-Alonso, Molina-Miñano<sup>10</sup> (2009) afirmaram que o diagnóstico histopatológico do LPO requer muita atenção. van der Meij, van der Waals<sup>9</sup> (2003), ao investigarem a correlação entre a avaliação clínica e histopatológica do LPO realizadas por profissionais distintos, relataram que, em 42% dos casos em que todos os clínicos concordaram sobre o diagnóstico clínico do LPO, não existiu consenso em relação ao diagnóstico histopatológico, e que, em 50% dos casos em que todos os patologistas

concordaram sobre o diagnóstico histopatológico, não houve consenso sobre o diagnóstico clínico. Esses dados apontaram a existência de uma frágil correlação clínico-histopatológica no diagnóstico de tais lesões. No entanto, o consenso sobre o diagnóstico do LPO é de extrema importância, visto que essa enfermidade é considerada uma desordem oral potencialmente maligna (DOPM). Em um estudo recente, conduzido por Tsushima et al.<sup>11</sup>(2021), em uma universidade japonesa, o LPO apresentou uma taxa de malignização de 0,7%, e o desenvolvimento do carcinoma oral ocorreu principalmente no subtipo clínico vermelho.

A ausência de parâmetros amplamente aceitos para a identificação do LPO torna o diagnóstico dessa doença bastante desafiador<sup>12</sup>. A primeira caracterização clínica e histopatológica para o LPO foi instituída em 1978 pela Organização Mundial da Saúde<sup>13</sup>. Em 2003, van der Meij, van der Waal<sup>9</sup> (2003), ao notarem grande variabilidade inter e intraobservador na avaliação do LPO, propuseram modificações nos critérios da OMS. Posteriormente, em 2016, a Academia Americana de Patologia Oral e Maxilofacial (AAPOM)<sup>5</sup> apresentou critérios mais rigorosos, que incluíam a consideração e a correlação de parâmetros clínicos e histopatológicos para o diagnóstico do LPO. É importante notar que, embora esses parâmetros para o diagnóstico do LPO não sejam uniformes e muitos critérios tenham sido sugeridos, todos eles descrevem a presença do infiltrado inflamatório linfocitário subepitelial como um aspecto importante da doença<sup>5,9,13</sup>.

A inflamação crônica presente no LPO tem sido fortemente associada aos danos epiteliais observados nas lesões, uma vez que as células epiteliais basais parecem ser alvos dos linfócitos T citotóxicos que, ao degradarem a membrana basal, penetram no epitélio e induzem a apoptose dos queratinócitos<sup>14</sup>. Evidências têm apontado ainda que o rico infiltrado de células inflamatórias e citocinas proporciona um microambiente adequado para o desenvolvimento e a progressão tumoral, sendo um potencial indutor da malignização do LPO<sup>15-18</sup>.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

A patogênese do LPO tem sido relacionada ao intenso infiltrado inflamatório subepitelial de linfócitos T. Ao se acumularem na lâmina própria subjacente ao epitélio, essas células liberam citocinas responsáveis pelo recrutamento e retenção dos linfócitos, que

desencadeiam lesões significativas no tecido epitelial<sup>2,19</sup>.

Os mecanismos envolvidos na relação entre o infiltrado inflamatório subepitelial e a destruição da camada basal ainda não estão totalmente definidos, embora se acredite que exista uma correlação direta desses fatores nas lesões de LPO<sup>19</sup>. Com a progressão da doença, a exocitose linfocítica pode ser observada e linfócitos intraepiteliais são frequentemente encontrados ao redor das células apoptóticas ou corpos de Civatte, sugerindo uma possível associação entre esses dois eventos<sup>2</sup>.

Diversos estudos têm informado sobre o risco de desenvolvimento de câncer oral em pacientes diagnosticados com LPO<sup>11,20-24</sup>. Quanto a esse potencial de transformação maligna, Otero-Rey et al.<sup>16</sup> (2014) sugeriram a relação da inflamação crônica presente na lesão como fator associado à malignização. Acredita-se que mediadores inflamatórios como citocinas e quimiocinas, liberados pelas células T, podem induzir o aparecimento de mutações nas células epiteliais<sup>25</sup>. Com base nessas informações, sugere-se que o infiltrado inflamatório, além de desempenhar um papel importante na lesão sofrida pelo epitélio, esteja intimamente relacionado à malignização do LPO.

Dessa forma, considerando o potencial de malignização da doença e sabendo que vários aspectos ainda não estão totalmente elucidados, principalmente no que se refere ao papel do infiltrado inflamatório para o seu surgimento, comportamento clínico, progressão e transformação maligna, justifica-se a realização desta pesquisa, na tentativa de estabelecer uma eventual correlação entre o infiltrado inflamatório presente nas lesões de LPO e as características encontradas no tecido epitelial.

## 1.2 OBJETIVO

### 1.2.1 Objetivo geral

Verificar a associação entre a severidade do infiltrado inflamatório e as características epiteliais nas lesões de LPO analisadas.

### 1.2.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar a amostra estudada através das variáveis sexo, idade, localização anatômica e subtipo clínico do LPO.
2. Avaliar a presença das variáveis morfológicas degeneração da camada basal, exocitose linfocítica e corpos de Civatte nas lesões de LPO.
3. Avaliar o grau de inflamação do tecido nas lesões de LPO.
4. Associar ao grau de inflamação com as variáveis degeneração da camada basal, exocitose linfocítica e corpos de Civatte nas lesões de LPO.
5. Associar a exocitose linfocítica com a degeneração da camada basal e corpos de Civatte nas lesões de LPO.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Nesta seção da dissertação, são apresentados aspectos importantes sobre a patogênese do LPO, juntamente com a análise do impacto do infiltrado inflamatório nas características epiteliais e no comportamento da lesão. Essas informações são oriundas de pesquisas minuciosas na literatura pertinente e constituem um capítulo de livro que será publicado pelo Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas (no prelo).

### 2.1 ASPECTOS GERAIS DO LÍQUEN PLANO ORAL

O LPO é uma doença inflamatória crônica imunomediada, que se apresenta por meio de lesões reticulares bilaterais e simétricas, com ou sem áreas atróficas ou erosivas<sup>9</sup>, marcadas por períodos de exacerbação e remissão<sup>26</sup>. Uma revisão sistemática realizada no ano de 2021 revelou uma prevalência global de LPO de 1,01%, que tende a aumentar expressivamente a partir dos 40 anos<sup>27</sup> e, embora possa afetar ambos os sexos, essa enfermidade exibe uma predileção pelo sexo feminino<sup>28</sup>.

Clinicamente, o LPO pode se manifestar sob diferentes formas, sendo o padrão reticular e o erosivo os mais frequentes. Geralmente, a mucosa jugal é a região de maior acometimento, porém língua, gengiva, lábio e palato também podem ser afetados<sup>29</sup>.

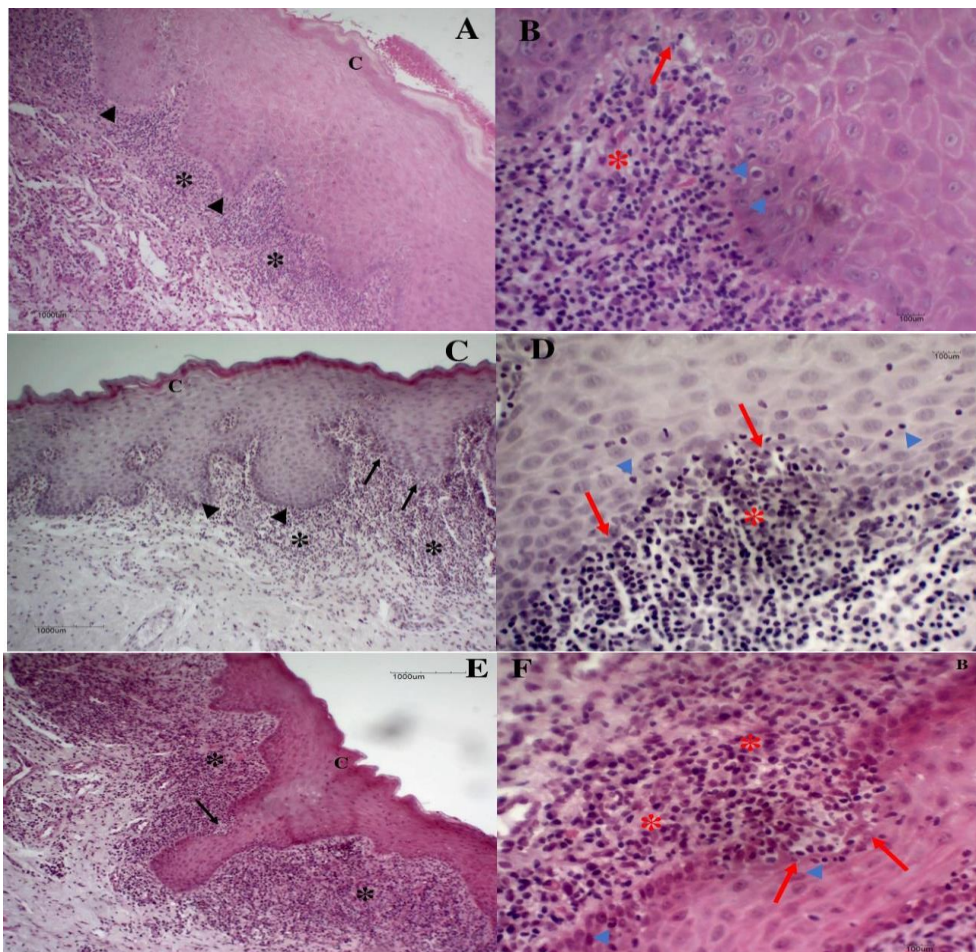
Devido à sua semelhança clínica com outras condições que afetam a cavidade oral<sup>6,30</sup>, o diagnóstico do LPO precisa ser feito através da associação de sua apresentação clínica com os achados histopatológicos<sup>5</sup>, os quais se caracterizam por presença de um denso infiltrado linfocitário subepitelial em banda, degeneração hidrópica dos queratinócitos basais e rompimento da membrana basal (Figura 1)<sup>31</sup>. A ausência de displasia epitelial e a presença de exocitose linfocítica também foram consideradas como aspectos para o diagnóstico da doença, a depender do critério utilizado<sup>5,9</sup>. Embora os parâmetros diagnósticos para o LPO não sejam uniformes e diversos critérios tenham sido propostos, todos eles apontam como obrigatória a presença do infiltrado inflamatório linfocitário na superfície da lâmina própria, ressaltando-se o caráter inflamatório da doença<sup>5,9,13</sup>.

No que se refere ao potencial de transformação maligna do LPO, ele ainda é

controverso, e uma grande heterogeneidade na taxa de malignização é observada nos estudos que avaliam essa condição, variado de 0<sup>32</sup> a 5.8%<sup>21</sup>. No entanto, a OMS o categoriza como uma DOPM<sup>30</sup>. A ausência de consenso sobre o tema tem sido associada à escassez de conhecimento a respeito de sua patogênese e à falta de parâmetros diagnósticos amplamente aceitos<sup>12,33</sup>.

A patogênese do LPO ainda não foi completamente compreendida, mas se sugere que mecanismos antígeno-específicos, induzidos pelas células T, são os responsáveis pelo estado inflamatório do LPO. Acredita-se que as células T citotóxicas, após ativadas, induzem a apoptose dos queratinócitos epiteliais, conferindo os aspectos clínicos e histopatológicos da doença. Assim, a produção alterada de citocinas e a morte das células epiteliais parecem ser os dois eventos-chave no desenvolvimento da doença<sup>2</sup>.

**Figura 1** – Fotomicrografias de lesões de LPO (HE). Imagens A, C e E capturadas na objetiva de 10x, demonstrando presença de epitélio ceratinizado (c), infiltrado inflamatório intenso com aspecto em banda (imagens A e E, asterisco preto), cristas epiteliais evidentes (ponta de seta preta) e áreas de degeneração da camada basal (em C e E, seta preta). Imagens B, D, e F capturadas na objetiva de 40x, demonstrando infiltrado inflamatório (asterisco vermelho), degeneração da camada basal (seta vermelha) e excitose linfocítica (ponta de seta azul).



Fonte: acervo da autora (Laboratório de Bioquímica Oral, UFBA, 2023).



## 2.2 IMUNOPATOGÊNESE DO LPO

Embora controvérsias sobre a patogênese do LPO ainda sejam observadas, como foi mencionado, evidências sugerem estar ela relacionada com uma desregulação da resposta imune<sup>34,35</sup>. A imunidade mediada por células parece ser desencadeada por fatores endógenos ou exógenos, resultando na ativação de linfócitos T CD4+ e T CD8+ e na produção de citocinas, o que leva à apoptose dos queratinócitos<sup>36</sup>.

A doença se inicia com a expressão de antígeno pelos queratinócitos basais e o reconhecimento deles pelas células apresentadoras de antígenos (APCs)<sup>37</sup>. Posteriormente, as APCs ativadas e carregadas com antígenos sofrem maturação e apresentam esse antígeno às células T nos linfonodos regionais. Algumas APCs maduras continuam na lâmina própria da mucosa e produzem interleucina (IL)-12, IL-18 e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )<sup>38</sup>. Os linfócitos T CD8+ migram para o epitélio, onde encontram o antígeno e são ativados, associando-se ao complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I nos queratinócitos, ou através da ativação pelos linfócitos T CD4+, promovendo a apoptose desses queratinócitos<sup>2,37</sup>. Células T CD8+ ativadas podem ainda liberar quimiocinas, que atraem mais linfócitos e outras células imunes para a lesão<sup>34</sup>.

A natureza dos antígenos ainda é desconhecida, embora possam ser um autopeptídeo, dando ao LPO o caráter autoimune. Acredita-se ainda que a expressão deles possa ser induzida por diversos agentes, como medicamentos, trauma mecânico, infecção bacteriana ou viral, ou até fatores desconhecidos<sup>2</sup>. A literatura ainda menciona alergias alimentares, estresse, diabetes e hipertensão como possíveis fatores associados ao aparecimento da doença, embora, nesses casos, ainda não se conheça o verdadeiro mecanismo fisiopatológico<sup>34,39</sup>.

Os possíveis mecanismos usados pelos linfócitos T CD8+ para desencadear a morte dos queratinócitos incluem: a secreção de TNF- $\alpha$  pelos linfócitos T, que se liga ao TNF $\alpha$ -R (receptor) na superfície dos queratinócitos; e a ligação do CD95L (ligante do fator relacionado a apoptose – Fas) ao CD95 (Fas) na superfície dos queratinócitos. Ainda pode ocorrer a secreção de granzima B pelos linfócitos, que entra nos queratinócitos via perforinas e promove a formação de poros na membrana. Independentemente do mecanismo, todos eles ativam a cascata da caspase, que garante a morte dos queratinócitos<sup>37</sup>.

Apesar de grande parte dos linfócitos intraepiteliais no LPO serem células T CD8+

citotóxicas, na lâmina própria, essa população é predominantemente constituída de células T CD4+ auxiliares. Nesse sentido, um evento precoce, no desenvolvimento da lesão epitelial no LPO, pode estar relacionado à apresentação do antígeno via MHC de classe II às células T CD4+ auxiliares. Tanto células de Langerhans quanto os queratinócitos podem apresentar o antígeno para células T CD4+ auxiliares via MHC classe II. Posteriormente, as células T CD8+ citotóxicas podem ser ativadas pela combinação de antígeno associado ao MHC classe I em queratinócitos basais e pela expressão de receptores para as citocinas IL-2 e IFN-g (perfil Th1) produzidas pelas células T CD4+. A apresentação do antígeno MHC classe II, por si só, pode resultar na diferenciação de células T CD4+ no perfil Th1. No entanto, na ausência do antígeno MHC classe I apresentado às células CD8+, a IL-2 e o IFN-g secretados pelas células do perfil Th1 não teriam capacidade citotóxica. Portanto, a secreção de citocinas do perfil Th1 pelas células T CD4+ pode ser regulada por células T CD8+ estimuladas por antígeno, indicando um *cross-talk* entre células T CD8+ e CD4+ no LPO<sup>2</sup>.

O desequilíbrio entre os perfis Th1 e Th2 parece ter influência significativa na determinação das citocinas que participam da imunopatologia do LPO. Outros perfis Th parecem também estar envolvidos na fisiopatologia da doença, a exemplo dos subconjuntos Th Th17, Th22, Th9 e Tfh. Todos esses subconjuntos Th e suas citocinas específicas podem estar relacionados com a determinação da natureza, extensão e duração das respostas imunes no desenvolvimento do LPO<sup>40</sup>.

A regulação positiva de moléculas de adesão dos leucócitos endoteliais (ELAM-1), das moléculas de adesão intercelular (ICAM) e de moléculas de adesão vascular (VCAM), em especial pelas células endoteliais, parece desempenhar um papel importante na patogênese do LPO, uma vez que se observou expressão de receptores L-selectina, LFA-1 e VLA-4 pela maioria das células no infiltrado inflamatório do LPO. Esses achados sugerem que as moléculas de adesão podem ser responsáveis pelo recrutamento dos leucócitos e pela perpetuação da doença<sup>41</sup>.

As alterações na região da membrana basal são comuns no LPO<sup>2</sup>. Foi constatado que os queratinócitos são capazes de sintetizar os principais componentes da membrana basal, garantindo a manutenção de sua integridade<sup>42</sup>. Nesse sentido, é possível presumir que, ao sofrerem apoptose, os queratinócitos perdem tal função e, por consequência, a membrana basal pode se romper<sup>2</sup>. Um estudo em glândula mamária de camundongos sugeriu ainda que a membrana basal envia sinais de sobrevivência para células epiteliais<sup>43</sup>. Assim, Sugerman et al.<sup>2</sup> (2002), ao descreverem a patogênese do LPO, sugeriram que ambos os mecanismos

podem estar envolvidos no desenvolvimento da doença, pois a ruptura da membrana basal leva à apoptose dos queratinócitos, e os queratinócitos apoptóticos são incapazes de reparar a membrana basal degenerada.

Metaloproteinases da matriz (MMPs) são consideradas como responsáveis pela degradação da membrana basal. A MMP-9, uma gelatinase, pode degenerar a membrana basal epitelial em lesões de LPO, ao clivar o colágeno tipo IV, facilitando a passagem de células T CD8+ específicas do antígeno para o epitélio, resultando no incremento da apoptose dos queratinócitos<sup>2</sup>.

Quanto à imunidade humoral, mediada pelos linfócitos B, acredita-se que ela também possa participar da patogênese do LPO. No entanto, observa-se que esse processo não parece ser o mesmo nas formas clínicas erosiva e reticular. Lukač et al.<sup>44</sup> (2006) buscaram identificar a presença de autoanticorpos circulantes contra desmogleína 1 e 3 em pacientes com LPO. Embora tenham observado diferenças significativas nas concentrações séricas das proteínas estudadas nos indivíduos diagnosticados com a forma erosiva, em comparação com aqueles portadores da forma reticular, não conseguiram explicar se tais diferenças indicam mecanismos imunopatogênicos distintos ou se refletem uma patofisiologia diferenciada para as duas formas de apresentação clínica. Nesse contexto, mais estudos que investiguem o papel da imunidade humoral no LPO precisam ser desenvolvidos.

### 2.3 PADRÃO INFLAMATÓRIO E O TIPO CLÍNICO DO LPO

Em razão da diferença no comportamento biológico das apresentações clínicas de LPO, em que as lesões vermelhas tendem a se apresentar de maneira mais agressiva que as lesões brancas, e sabendo da importância do infiltrado inflamatório no desenvolvimento da doença, estudos que avaliam o padrão inflamatório dessas lesões podem ser encontrados na literatura, no intuito de identificar alterações que justifiquem as diferenças observadas nos tipos clínicos do LPO<sup>10,14,39,45</sup>. A literatura tem apontado que, independentemente da apresentação clínica, o padrão inflamatório do tipo banda é o mais frequente nas lesões de LPO<sup>29,46</sup>.

No que se refere à severidade do infiltrado inflamatório presente nas lesões de LPO, ela parece ser independente do tipo clínico avaliado<sup>39</sup>. Sanches et al.<sup>45</sup> (2022), em estudo transversal retrospectivo, com 48 secções histológicas obtidas a partir de biópsias incisionais

de LPO, no intuito de verificar associação entre os grupos de lesões brancas e vermelhas e características morfológicas e morfométricas, não observaram associação significativa entre o tipo clínico da lesão e o grau do infiltrado inflamatório ( $p > 0,05$ ). Os autores também não verificaram diferenças significativas entre a espessura da faixa do infiltrado inflamatório subepitelial em função do tipo clínico da lesão ( $p > 0,05$ ). No entanto, eles apontaram que o estudo teve como limitação o tamanho da amostra analisada bem como a ausência de homogeneidade no quantitativo de lesões brancas e vermelhas.

Em um estudo anterior, conduzido por Lopéz-Jornet, Camacho-Alonso, Molina-Miñano<sup>10</sup> (2009), com 100 casos de LPO, incluindo lesões reticulares e atróficas ou erosivas, os autores observaram que o infiltrado inflamatório presente foi classificado como leve em 28 casos, moderado em 33 e grave em 39 casos, não sendo registradas diferenças estatisticamente significativas em relação à forma clínica de apresentação ( $p = 0,669$ ). Quanto à profundidade do infiltrado inflamatório, Seoane et al.<sup>39</sup> (2004), por sua vez, não observaram diferenças significativas entre as lesões brancas e vermelhas, sugerindo que a atrofia epitelial e a presença de ulcerações são decorrentes de aspectos qualitativos do infiltrado inflamatório, relacionados a sua composição.

Brant et al.<sup>14</sup> (2012), ao quantificarem linfócitos em lesões de LPO, observaram maior quantidade dessas células nos infiltrados inflamatórios das lesões do tipo erosivo do que no tipo reticular e a ocorrência de uma menor frequência de apoptose desses linfócitos nas lesões erosivas, com maior persistência de tais células na região, levando a uma agressão contínua ao tecido epitelial. Além disso, células plasmocitárias foram encontradas com maior frequência em pacientes com LPO atrófico ou erosivo, e sua presença foi associada à erosão-ulceração epitelial<sup>29</sup>.

## 2.4 APOPTOSE

A apoptose é amplamente descrita como morte celular programada, e não resulta em uma resposta inflamatória tecidual<sup>47</sup>. De modo geral, esse fenômeno ocorre através da ação de proteases conhecidas como caspases. As caspases envolvidas na apoptose são consideradas como ativadoras ou iniciadoras (caspases 8, 9 e 10) e efetoras ou executoras (caspases 3, 6 e 7)<sup>48</sup>.

Classicamente, a apoptose se desenvolve por meio de duas vias: extrínseca e intrínseca. Na via extrínseca, a morte da célula ocorre por meio de receptores ancorados na membrana celular, que interagem com ligantes extracelulares e transmitem sinais de destruição para o interior da célula<sup>47,48</sup>. Os receptores de membrana fazem parte da família de receptores do TNF, cuja ativação vai depender de dois ligantes: TNF e ligante Fas. O ligante TNF e seus receptores (TNFR-1 e TNFR-2) dão origem à via de apoptose conhecida como via do TNF. Essa interação entre ligante e receptor retransmite o sinal de morte celular, recrutando duas proteínas adaptadoras – o domínio de morte associado ao receptor de TNF (TRADD) e a proteína de domínio de morte associada ao Fas (FADD) –, e promove a morte da célula por meio da ação das caspases. Na via mediada pelo Fas, o ligante Fas (FasL) se liga aos receptores Fas (CD95). O FADD associa-se aos receptores Fas e recruta a caspase-8. Os receptores Fas, juntamente com FADD e procaspase-8, formam o complexo de sinalização indutor de morte (DISC)<sup>47</sup>.

A via intrínseca ou via mitocondrial é regulada por sinais intracelulares, em que ocorre a alteração da permeabilidade da membrana mitocondrial, que resulta na liberação de citocromo c para o citosol, o que leva à formação de apoptossomas e ativação da caspase-3. O apoptossoma ativa a procaspase-9 para formar a caspase-9, que ativa a caspase-3 e a caspase-7, que são efetoras. Essas, por sua vez, clivam várias outras procaspases, amplificando a apoptose<sup>48</sup>. Proteínas conhecidas como SMACs (segundo ativador de caspases derivado da mitocôndria) ligam-se a proteínas inibidoras de apoptose após sua liberação no citosol, desativando-as e permitindo que a apoptose prossiga<sup>49</sup>. Proteínas conhecidas como fatores indutores de apoptose (AIFs) são ancoradas à membrana interna da mitocôndria. Ao serem clivadas pela calpaína, que é uma protease dependente de cálcio, as AIFs podem penetrar o núcleo e induzir a fragmentação do DNA e a condensação da cromatina<sup>50</sup>.

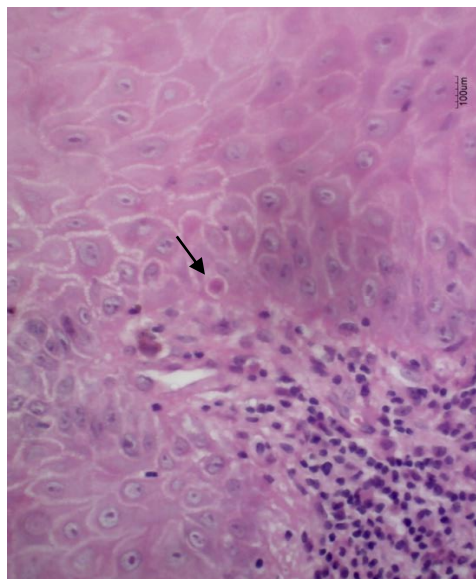
Embora distintas, as duas vias resultam na formação de corpos apoptóticos que, posteriormente, são fagocitados, finalizando a apoptose<sup>47</sup>. Morfologicamente, através da microscopia de luz, as células em apoptose se apresentam retraídas, circundadas por um halo claro e com citoplasma acidófilo. Por meio da microscopia eletrônica de transmissão, é possível verificar núcleos marginalizados e condensados, com fragmentação da cromatina, seguida de fragmentação total da célula em corpos apoptóticos<sup>51</sup>.

## 2.5 APOPTOSE DOS QUERATINÓCITOS NO LPO

Apesar de a patogênese do LPO ser incerta, sugere-se que, nessa enfermidade, os queratinócitos basais do epitélio são os principais alvos dos linfócitos T citotóxicos (T CD8+). Com a degradação da membrana basal, os linfócitos penetram o epitélio e entram em contato direto com as células epiteliais, induzindo sua apoptose, com consequente destruição epitelial<sup>2</sup>. A literatura traz um estudo que demonstrou correlação positiva entre a quantidade de linfócitos nos infiltrados inflamatórios e o aumento do índice apoptótico do epitélio, o que sugere uma clara relação de causa e efeito, em que os linfócitos nos infiltrados seriam os responsáveis pelas lesões epiteliais no LPO<sup>14</sup>. Os queratinócitos apoptóticos são universalmente conhecidos como corpos de Civatte (Figura 2)<sup>13</sup>.

Em 1978, a OMS descreveu os corpos de Civatte como uma característica histopatológica das lesões de LPO<sup>13</sup>. No entanto, van der Meij, van der Waal<sup>9</sup> (2003), ao proporem uma modificação na classificação da OMS, apontaram a presença dos corpos de Civatte como inespecífica para essas lesões, uma vez que tais estruturas podem ser encontradas em outras dermatoses, a exemplo de lúpus eritematoso, dermatomiosite, doença do enxerto *versus* hospedeiro, eritema multiforme, líquen estriado e pitiríase liquenoide<sup>52</sup>. De forma similar, ao estabelecerem critérios mais uniformes para tornar os pacientes com LPO uma população mais homogênea, a AAPOM<sup>5</sup> (2016) também não mencionou a presença dos corpos de Civatte como um achado histopatológico para o diagnóstico do LPO.

**Figura 2** – Fotomicrografia de lesão de LPO, identificando um corpo de Civatte na camada basal do epitélio pavimentoso estratificado (seta). Observa-se presença de infiltrado inflamatório subepitelial, predominantemente composto por células do tipo linfócitos (HE, 400x).



Fonte: acervo da autora (Laboratório de Bioquímica Oral, UFBA, 2023).

Embora os critérios diagnósticos mais recentes não tenham incluído a presença desses corpos apoptóticos como característica da doença<sup>5,9</sup>, muitos estudos verificaram um número considerável dessas estruturas nas amostras teciduais de LPO. Neppelberg, Johannessen, Jonsson<sup>53</sup> (2001), por exemplo, ao quantificarem a taxa de apoptose no epitélio e no infiltrado subepitelial, e avaliarem a expressão de moléculas reguladoras da apoptose (FasR e FasL) nessas lesões, em comparação com a mucosa normal, descreveram a presença de células apoptóticas em todas as 18 amostras de LPO, sendo a expressão de FasR e FasL mais abundante na camada basal. E ainda, a apoptose epitelial foi significativamente aumentada no LPO ( $p=0,034$ ), quando comparada com a mucosa normal.

López-Jornet, Camacho-Alonso, Molina-Miñano<sup>10</sup> (2009), ao analisarem características histológicas e morfométricas em material obtido a partir de 100 biópsias da mucosa jugal de pacientes com LPO, identificaram corpos de Civatte em 35 deles. De maneira semelhante, Brant *et al.* (2012)<sup>14</sup>, ao avaliarem 15 casos de LPOs reticular e erosivo, verificaram a presença de células apoptóticas nas camadas basal e parabasal do epitélio em todas as seções de LPO. Nesse estudo, os autores identificaram essas células utilizando critérios morfológicos, como a presença de corpos hialinos eosinofílicos esféricos, condensação nuclear, às vezes circundados por um halo claro. Sanches *et al.*<sup>54</sup> (2022), com o objetivo de determinar a presença dos corpos de Civatte em uma amostra de 34 biópsias incisoriais, obtidas de pacientes com o diagnóstico de LPO, verificaram que os corpos de Civatte estavam presentes em 73,5% dos casos, independentemente de se tratar de lesões vermelhas ou brancas.

No que se refere ao índice apoptótico (IA) nas variantes clínicas do LPO, Santoro *et al.*<sup>55</sup> (2004) observaram maior IA no LPO erosivo, que clinicamente tem tendência a ser mais agressivo. De modo semelhante, Brant *et al.* (2012)<sup>14</sup>, ao compararem lesões reticulares e erosivas, descreveram que o IA do epitélio, no grupo erosivo ( $57,27 \pm 0,92$ ), foi maior que no grupo reticular ( $26,85 \pm 0,72$ ).

Embora esses estudos descrevam a apoptose dos queratinócitos como um evento relevante no LPO, em resposta à ação citotóxica dos linfócitos T, se esse fosse o principal acontecimento celular, todas as lesões não tratadas deveriam evoluir clinicamente com erosões extensas<sup>56</sup>. Contudo, esse fenômeno não é notado, sendo a forma reticular a mais observada com preservação do epitélio<sup>35</sup>. Nesse sentido, as evidências apontaram um aumento da taxa de renovação celular no epitélio como uma forma de manter sua integridade, de modo a compensar a apoptose dos queratinócitos<sup>56</sup>. Foi demonstrada ainda a presença de apoptose e

aumento da proliferação celular ocorrendo simultaneamente, preservando-se, assim, a integridade epitelial<sup>57</sup>.

## 2.6 APOPTOSE DAS CÉLULAS INFLAMATÓRIAS NO LPO

A apoptose também apresenta outras funções importantes, a exemplo da regulação da resposta imune. A apoptose de células T e B ocorre no intuito de limitar uma resposta intensa e prolongada<sup>47,58</sup>, sendo esse um evento necessário para que haja a resolução de processos inflamatórios<sup>58</sup>. Além disso, as células imunológicas que têm afinidade pelos autoantígenos também devem ser eliminadas por apoptose, para que não destruam células próprias<sup>47</sup>.

Como foi visto anteriormente, o papel da apoptose nas células epiteliais no LPO tem sido estudado, embora esse mecanismo, nas células inflamatórias subepiteliais, ainda tenha sido pouco investigado<sup>14,53,59</sup>. Assim, as causas que levam à persistência de um infiltrado inflamatório intenso, nas lesões de LPO, ainda são desconhecidas<sup>14,59</sup>. Enquanto alguns estudos especulam a existência de mecanismos que permitem a evasão dessas células do processo de apoptose<sup>14,53</sup>, outros propõem o recrutamento permanente de linfócitos T para o foco da lesão<sup>2,14</sup>.

Bascones-Ilundain et al.<sup>59</sup> (2006), com o objetivo de avaliar a importância quantitativa da apoptose no infiltrado inflamatório do LPO e sua influência na persistência desse infiltrado, utilizando amostras de biópsia de 32 pacientes com a doença, notaram que, em 34,5% dos casos, não foram encontrados sinais de apoptose no infiltrado e que, em 42,9% dos casos, a expressão de caspase-3 foi negativa, indicando que a apoptose seria um acontecimento de baixa relevância no infiltrado das lesões de LPO. De maneira semelhante, Neppelberg, Johannessen, Jonsson<sup>53</sup> (2001), em um estudo com biópsias de 18 pacientes com diagnóstico histológico confirmado de LPO, e com o objetivo de investigar a taxa de apoptose nessas lesões e a expressão das proteínas FasR/FasL, encontraram uma baixa taxa de apoptose no infiltrado subepitelial. Apesar de os autores terem descrito uma alta expressão de FasR/FasL, a taxa de apoptose no infiltrado de células subepiteliais foi baixa. Como explicação para esse fato, os autores propuseram que, apesar da ativação desse importante regulador apoptótico, o sinal para a morte celular pode não ser transmitido para o interior da célula, e que a “fuga da apoptose” pode ser uma parte da explicação para a formação e a manutenção desse infiltrado inflamatório no LPO.



Em um estudo comparativo dos IA no LPO reticular e erosivo, observou-se que a apoptose foi mais intensa no epitélio do que no infiltrado inflamatório. Já na variante reticular, a apoptose no infiltrado foi maior do que na forma erosiva, o que explicaria as diferenças nas apresentações clínicas, já que a maior frequência de apoptose nessa região significa maior eliminação de células inflamatórias, diminuindo a intensidade da reação e dos sintomas. Já o menor IA no LPO erosivo irá contribuir para a persistência de linfócitos, com agressão persistente ao epitélio<sup>14</sup>.

## 2.7 PAPEL DA INFLAMAÇÃO CRÔNICA NA TRANSFORMAÇÃO MALIGNA DO LPO

O potencial de transformação maligna do LPO tem sido motivo de muitas investigações. Trabalhos recentes apontaram que a transformação para um carcinoma escamoso oral a partir de uma lesão de LPO pode variar de 1,14% a 2,38%<sup>33,60,61</sup>. Apesar da falta de consenso sobre o assunto, a OMS considera essa condição como uma DOPM e recomenda o acompanhamento e o monitoramento dos indivíduos acometidos pela doença<sup>30</sup>.

Acredita-se que a presença do infiltrado inflamatório crônico seja o principal estimulador para a malignização das lesões de LPO<sup>15-18,59</sup>. A relação causal entre doenças inflamatórias crônicas e o desenvolvimento do câncer tem sido fortemente demonstrada na literatura<sup>62-65</sup>. Sugere-se que aproximadamente 25% das neoplasias malignas epiteliais apresentam relação direta com a inflamação crônica<sup>66</sup>. As primeiras investigações sobre o assunto foram conduzidas pelo patologista alemão Rudolf Carl Virchow que, em 1863, ao observar leucócitos nos tecidos neoplásicos, sugeriu que os tumores malignos poderiam surgir em regiões de inflamação crônica pela indução da proliferação celular<sup>16,62,63</sup>.

Embora já se saiba que apenas a proliferação celular não causa um câncer, esse risco é potencializado quando essa proliferação está associada a um ambiente com muitas células inflamatórias, fatores de crescimento, estroma ativo e agentes geradores de danos ao DNA<sup>63</sup>. Nesse sentido, o potencial mutagênico da inflamação crônica tem sido relacionado com a alta produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio pelas células inflamatórias, o que, em um cenário de dano tecidual contínuo e de proliferação celular, pode produzir agentes mutagênicos que interajam com o DNA e causem mutações celulares<sup>64</sup>.

Diversos estudos foram realizados propondo que o microambiente inflamatório crônico

das lesões de LPO poderia estar associado com a transformação maligna dessa doença<sup>15-18,25</sup>. Essa teoria é sustentada por trabalhos anteriores, segundo os quais as células inflamatórias estão ativamente envolvidas no desenvolvimento de lesões malignas<sup>53,63</sup>. Segundo Coussens, Werb<sup>63</sup> (2002), tais células proporcionam um ambiente adequado para o crescimento tumoral, sendo as principais atividades pró-tumorais: a liberação de fatores de crescimento e sobrevivência, a promoção da angiogênese e linfangiogênese, a estimulação do dano ao DNA, a remodelação da matriz extracelular para facilitar a invasão, o revestimento de células tumorais para disponibilizar receptores e para a disseminação de células via vasos linfáticos e capilares, bem como a evasão dos mecanismos de defesa do hospedeiro.

A seguir, apresenta-se uma descrição resumida das evidências encontradas na literatura sobre a participação dos elementos inflamatórios na malignização das lesões de LPO. A forma de apresentação do texto foi adaptada de Mignogna et al.<sup>15</sup> (2004) e Otero-Rey et al.<sup>16</sup> (2014).

### **Células inflamatórias**

*Macrófagos* – Os “macrófagos associados a tumores” (TAMs) constituem um dos componentes mais importantes presentes no microambiente tumoral<sup>67</sup>. Podem servir de suporte tumoral, promovendo sobrevivência, proliferação e invasão das células cancerígenas, bem como remodelação da matriz, angiogênese e inibição de respostas antitumorais<sup>68</sup>. Os macrófagos são ainda um dos principais produtores do TNF<sup>15</sup>, que tem papel importante na carcinogênese<sup>69</sup>.

No LPO, os macrófagos podem ser encontrados no infiltrado inflamatório<sup>70</sup>. Regezi et al.<sup>70</sup> (1985), buscando aprofundar o conhecimento sobre a patogênese do LPO, verificaram, através da imuno-histoquímica, em 20 casos de LPO diagnosticados de forma clínica e microscópica, grande quantidade de macrófagos em todos os espécimes de biópsia, indicando que essas células desempenham um papel significativo no desenvolvimento da doença. De maneira semelhante, Hirota, Osaki, Tatemoto<sup>71</sup> (1990) identificaram essas células nas amostras de LPO estudadas e destacaram que elas atuam de forma relevante na apresentação de antígenos. Mais recentemente, Ferrisse et al.<sup>72</sup> (2021) também investigaram o papel dos macrófagos na imunopatogênese do LPO e observaram alta expressão dessas células nessas lesões, indicando que elas podem estar envolvidas na imunopatogênese da doença, com atividade pró-inflamatória e papel regulador no tipo de resposta das células T. Sendo assim, é possível pressupor que os produtos dos macrófagos associados ao LPO podem levar a

alterações tanto no estroma subepitelial quanto nas células epiteliais, participando na transformação maligna da doença<sup>15</sup>.

Os macrófagos são categorizados em dois subtipos distintos: macrófagos com atividade pró-inflamatória (M1) e anti-inflamatória (M2). O fenótipo dos MATs varia com o desenvolvimento da doença, onde os M1 podem colaborar no início da formação da lesão, enquanto os M2 podem contribuir para a progressão da doença em estágios mais avançados. Os macrófagos M1 têm sido relacionados com a capacidade de agravarem doenças inflamatórias, a exemplo do LPO, e por produzirem espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que, devido a suas citocidades, têm potencial mutagênico, aumentando a propensão à transformação maligna das células epiteliais<sup>16</sup>.

*Mastócitos* – A presença de mastócitos degranulados tem sido descrita nas lesões de LPO<sup>73</sup>. A degranulação dessas células permite a liberação de citocinas e quimiocinas, que potencializam a cronicidade da doença. A atividade dos mastócitos tem sido também associada ao crescimento tumoral. Coussens et al.<sup>74</sup> (1999), em um estudo com modelo animal, verificaram que os mastócitos inflamatórios liberam proteases que regulam a angiogênese no carcinoma epitelial. Portanto, foi proposto que os mastócitos, em sinergia com os macrófagos, contribuem para a malignização do LPO<sup>15</sup>.

*Linfócitos* – Como foi mencionado anteriormente, embora a maioria dos linfócitos intraepiteliais das lesões de LPO sejam os T CD8+, observa-se, na lâmina própria, a predominância de T CD4+<sup>75</sup>.

A resposta imunológica é classificada em imunidade celular (IC) e imunidade humoral (IH), e depende do perfil de citocinas produzidas pelos linfócitos T CD4+. Na IC, há produção de IL-2, TNF- $\alpha$  e IFN-g (Interferon-gama) pelos linfócitos T CD4+ (perfil de citocinas Th1). Na IH, geralmente ocorre a produção de IL-4, IL-6 e IL-10 pelos linfócitos T CD4+ (perfil de citocinas Th2)<sup>76</sup>. Tem sido apontado que, nas neoplasias malignas relacionadas à inflamação crônica, a IC é suprimida, com a predominância da IH, sugerindo que o microambiente favorável para o início e o desenvolvimento do tumor é aquele em que a IC é suprimida e a IH é majoritariamente expressa<sup>77</sup>. No LPO, observou-se uma mistura de expressão de citocinas, havendo tanto o perfil Th1 quanto o perfil Th2<sup>15,16</sup>.

## Citocinas

As citocinas são proteínas solúveis secretadas pelo sistema imunológico, que atuam como mediadores inflamatórios<sup>16,65</sup>. Através delas, a inflamação crônica fornece um microambiente ideal para sobrevivência, crescimento, proliferação e diferenciação celular, favorecendo a carcinogênese, bem como a progressão, a invasão e a metástase do tumor<sup>15,16</sup>. Muitos estudos demonstraram que a elevação de alguns tipos de citocinas está associada à indução e à progressão do câncer<sup>64,78</sup>. Na patogênese do LPO, tem sido constatada a participação de diversas citocinas<sup>18,79</sup>, sendo que concentrações sorológicas<sup>79,80</sup>, salivares<sup>80,81</sup> e celulares<sup>82</sup> foram mais significativas em indivíduos com a doença do que nos indivíduos saudáveis.

*Interleucinas IL-1 e IL-6* – A IL-1 constitui uma citocina importante do processo inflamatório<sup>66</sup>, que tem sido implicada na carcinogênese induzida pela inflamação<sup>83</sup>. O papel da IL-1 no microambiente tumoral tem sido investigado e se acredita que ela é capaz de sustentar a produção de espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico, além de ativar sinais anti-apoptóticos e contribuir para angiogênese através da produção do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF)<sup>66</sup>. De modo semelhante, a IL-6, citocina inflamatória secretada por macrófagos, fibroblastos, linfócitos T e outras células<sup>84</sup>, teve seus efeitos pró-oncogênese observados em vários tipos de neoplasias malignas<sup>85,86</sup>. Essa citocina também tem sido associada à inibição da apoptose, à liberação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio<sup>65</sup> e apresenta propriedades pró-angiogênicas, induzindo a vascularização do tumor através do VEGF<sup>84</sup>.

*TNF* – O TNF é um mediador inflamatório que participa da regulação de uma variedade de processos de sinalização. A produção crônica dessa citocina pode levar ao desenvolvimento do tumor, aumentando a taxa de proliferação celular, acelerando a angiogênese e remodelando o estroma peritumoral<sup>15,65</sup>. Estudos demonstraram que a concentração sérica de TNF é aumentada em diferentes pacientes com câncer, e níveis mais elevados também são observados em tecidos pré-neoplásicos<sup>87,88</sup>.

No que se refere ao LPO, em um estudo transversal com 25 indivíduos com a doença, 25 pacientes com câncer de boca e 25 indivíduos saudáveis, os autores notaram que, em comparação com o grupo de controle (saudáveis), os grupos de LPO e carcinoma oral apresentaram níveis séricos mais elevados de IL-1 $\alpha$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ , sugerindo que a maior quantidade dessas citocinas pode estar ligada ao desenvolvimento do líquen e à carcinogênese

oral<sup>79</sup>. De maneira semelhante, outro estudo conduzido por Zhu et al.<sup>81</sup> (2022), em uma coorte com 60 pacientes com LPO, sendo 30 com lesões reticulares, 30 com erosivas e 30 pacientes saudáveis como grupo de controle, buscou avaliar o perfil de citocinas salivares em pacientes com LPO, observando-se que os níveis de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e outras citocinas foram estatisticamente maiores nos pacientes com a doença.

Gu et al.<sup>82</sup> (2004) descreveram que os níveis de IL-6 oral foram maiores no grupo LPO ulcerado do que nos grupos LPO reticular e de controle. Zhang et al.<sup>80</sup> (2008) observaram que, em três casos de LPO erosivo, com eritema generalizado grave e lesões ulcerativas ou erosivas, foram verificados níveis bastante elevados de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-8, sugerindo que o tamanho e a gravidade da lesão do LPO tem relação com a quantidade de citocinas. Igualmente, Zhu et al.<sup>81</sup> (2022) relataram que a concentração de IL-6 foi significativamente maior no grupo de LPO erosivo do que no grupo de LPO reticular, o que poderia estar intimamente associado com a maior gravidade da lesão. A literatura aponta que as lesões atróficas-erosivas do LPO apresentam maior risco de transformação maligna<sup>12</sup>.

## Quimiocinas

As quimiocinas são citocinas que regulam a migração de leucócitos para a área da inflamação<sup>18</sup>. A CCL5 faz parte da família das quimiocinas CC e tem como função o recrutamento de linfócitos, mastócitos, monócitos e células *natural killer*<sup>15,18</sup>. Shan et al.<sup>89</sup> (2019) observaram elevada expressão do eixo CCL5-CCR5 no sangue periférico e no tecido oral de pacientes com LPO, a qual estimulou a proliferação e migração de células T para a área de lesão e inibiu a apoptose de células T. A alta expressão de CCL5 e CCR5 foi observada em neoplasias hematológicas e em diversos tumores sólidos<sup>90</sup>. Apesar de a sinalização de quimiocinas estimular o recrutamento de células imunes antitumorais, a expressão alterada no microambiente do tumor pode levar ao recrutamento de células pró-oncogênicas, induzindo, assim, proliferação, angiogênese, invasão e metástase do câncer<sup>91</sup>. Kim et al.<sup>92</sup> (2014), em modelo *in vitro* com cultura de células, evidenciaram a associação entre a liberação de CCL5 e a invasão de células de carcinoma oral escamoso, quando estimulada pela proteína óssea morfogenética-2.

## **Outros componentes da matriz extracelular (MEC)**

Não somente as células inflamatórias e as citocinas como também outros elementos presentes na MEC podem influenciar na transformação maligna das células epiteliais. Interações entre a MEC e as células neoplásicas são necessárias para o desenvolvimento do tumor. A remodelação do microambiente tumoral é necessária para sobrevivência, proliferação e migração celular, e requer a degradação de proteínas da MEC<sup>93</sup>. As MMPs são enzimas proteolíticas expressas por células epiteliais malignas e por células estromais, como fibroblastos, células endoteliais, macrófagos e mastócitos, que digerem os componentes da matriz, possibilitando a invasão de células malignas. Foi evidenciado que os fibroblastos são uma fonte de MMP peritumoral, contribuindo na modificação da MEC como a sua proteólise, além do crescimento e da invasão do câncer<sup>94</sup>. No LPO, os fibroblastos, bem como seus produtos, são regulados positivamente sob a membrana basal das lesões e participam ativamente da patogênese da doença<sup>15</sup>.

Observa-se ainda a grande expressão de MMPs que induzem a degradação da membrana basal e a apoptose das células epiteliais no LPO. A presença de MMP-9 foi observada no infiltrado inflamatório dessas lesões, e seus níveis elevados estão supostamente associados à destruição tecidual<sup>2,26</sup>.

## **2.8 TRATAMENTO DO LPO BASEADO NA REGRESSÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO**

O tratamento das lesões de LPO, especialmente das lesões atróficas-erosivas, consiste, principalmente, na imunossupressão por meio da administração de corticosteroides tópicos ou sistêmicos<sup>4,95</sup>. Essa classe de fármacos apresenta propriedades anti-inflamatórias, inibindo ou reduzindo expressivamente a ativação de células dendríticas e linfócitos T e os níveis de citocinas<sup>4</sup>. Rhodus et al.<sup>96</sup> (2006) evidenciaram que, após o tratamento do LPO erosivo com bochechos de dexametasona, houve redução significativa de TNF- $\alpha$ , IL-1-a, IL-6 e IL-8 nas amostras salivares coletadas. Nesse sentido, sabendo-se que o microambiente inflamatório do LPO, rico em citocinas, pode promover a progressão para o câncer de boca, pressupõe-se que, ao suprimir a resposta inflamatória com o tratamento medicamentoso, é possível restaurar a resposta imunológica normal e reduzir a possibilidade de desenvolvimento do tumor<sup>97</sup>.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa, atendendo à Resolução 466/12 do CNS (Conselho Nacional de Saúde), foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS/UFBA) com pareceres CAAE 2.659.387 e 5.213.550 (Anexos A e B).

Tratou-se de um estudo transversal, retrospectivo, cuja amostra contemplou um total de 41 lâminas, entre as 48 lâminas de LPO de arquivo, que continham secções histológicas previamente coradas com Hematoxilina-Eosina (HE) entre os anos 2005 e 2019. As lâminas são pertencentes ao Laboratório de Anatomia Patológica da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) e ao Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), que já se encontravam arquivadas no Laboratório de Bioquímica Oral do ICS/UFBA (Anexos C, D e E).

Foram incluídos, na amostra, os dados clínico-patológicos dos pacientes que constavam nos laudos histopatológicos e as secções histológicas que tiveram o diagnóstico de LPO confirmado através do exame anatomopatológico desses pacientes. A princípio, foi realizada a análise dos dados contidos nos laudos histopatológicos, em que as variáveis sexo, idade, forma clínica do LPO e localização da lesão foram avaliadas e, em seguida, após revisão completa das secções histológicas para verificação de adequação, foram feitas as análises morfológicas dos cortes histológicos resultantes do material biopsiado desses mesmos indivíduos.

Não foram incluídas amostras de pacientes que tiveram diagnóstico histopatológico de reações liquenoides, com diagnóstico final descritivo e (ou) sugestivo de displasia epitelial, câncer ou outras lesões que fazem diagnóstico diferencial com o LPO e, por fim, aqueles casos cujas lâminas não apresentaram capacidade de avaliação, como, por exemplo, devido à presença de fungos ou à perda de fixação da coloração pelo tempo de arquivo.

### 3.1 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

As análises morfológicas foram realizadas com o auxílio de um microscópio de luz Motic BA410, em objetivas de 10x e 40x, no Laboratório de Bioquímica Oral do ICS, UFBA. Apenas as áreas cujas seções incluíam epitélio e tecido conjuntivo subjacente foram consideradas para análise. Todas as análises morfológicas foram realizadas nos próprios cortes histológicos em triplicata, com intervalos de uma semana entre elas e com cegamento da identificação das lâminas histológicas. Uma ficha foi elaborada pelos pesquisadores do estudo, na qual foram realizadas as anotações referentes aos critérios morfológicos encontrados (Apêndice A), a saber: corpos de Civatte, exocitose linfocítica, degeneração da camada basal e grau de inflamação do tecido.

Os corpos de Civatte foram identificados usando-se o critério morfológico proposto por Brant et al.<sup>14</sup> (2012): presença de corpos esféricos hialinos eosinofílicos, com condensação nuclear, por vezes cercados por um halo claro. Após serem identificados na objetiva de 10x, estabelecendo-se como critério a presença (P) ou ausência (A), eles também foram quantificados. A avaliação e a quantificação dos corpos de Civatte foi realizada por um único examinador previamente calibrado, que, ao identificar a estrutura, realizou fotomicrografias com a objetiva de 40x para confirmação.

A integridade da camada basal das lesões de LPO foi avaliada através da análise dos aspectos morfológicos presentes na degeneração liquefativa da camada epitelial basal, definidos por Bascones-Ilundain et al.<sup>98</sup> (2007): microvesiculações, microspangiose, corpo colóide e áreas de picnose nuclear, estabelecendo-se como critério a presença (P) ou ausência (A). A exocitose linfocítica foi analisada também com a definição de critério de presença (P) ou ausência (A).

Por fim, o grau de inflamação no tecido foi aferido através de um estudo semiquantitativo dos cortes histológicos e adotando-se os critérios de discreto (+), moderado (++) e intenso (+++). A fim de definir tais graus histológicos, foram estabelecidos os seguintes parâmetros: quando a alteração se fizer presente em percentual maior que 50%, na secção analisada, o grau será considerado intenso; para maior que 25 e até igual a 50% do tecido, grau moderado; e menor ou igual a 25%, discreto. Por se tratar de lesões com presença obrigatória do infiltrado inflamatório para confirmação diagnóstica, o grau zero (0), ausente, não foi considerado.



A avaliação da presença da exocitose linfocítica, da degeneração da camada basal e do grau de inflamação do tecido foi realizada por dois examinadores previamente calibrados. Nos casos em que não houve consenso sobre a análise, foi considerada a avaliação de um terceiro pesquisador. Devido ao fato de essas análises terem sido realizadas em triplicata e por dois avaliadores, foi estabelecida a moda dos resultados obtidos.

### 3.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Primeiramente, foram realizadas as análises para avaliar a reprodutibilidade entre os avaliadores. Para isso, foram utilizadas frequências absolutas, relativas, porcentagens de concordância e a estatística *Kappa*, calculada com os intervalos de confiança (IC95%). O *Kappa* foi interpretado de acordo com a classificação proposta por Landis, Koch<sup>99</sup> (1977). A seguir, foram conduzidas análises descritivas e exploratórias de todos os dados. As variáveis categóricas foram apresentadas com frequências absolutas e relativas, enquanto a quantidade de corpos de Civatte foi resumida por média, desvio padrão, mediana e quartis. Nas análises de associação, foi utilizado o teste Exato de Fisher, e, nas comparações quanto à quantidade de corpos de Civatte, foi empregado o teste de Mann Whitney. Também foram calculados os tamanhos dos efeitos nas análises de associação ( $w$ ) e de comparações ( $f$ ), segundo Cohen<sup>100</sup> (1988), que classifica o tamanho de efeito de associação ( $w$ ) em: pequeno ( $w=0,10$ ), médio ( $w=0,25$ ) e grande ( $w=0,50$ ), e o tamanho de efeito de comparação ( $f$ ) em pequeno ( $f=0,10$ ), médio ( $f=0,25$ ) e grande ( $f=0,40$ ). Todas as análises foram realizadas no programa R, com nível de significância de 5%.

## 4 RESULTADOS

Dos 41 casos incluídos na amostra, observou-se que 32 eram pessoas do sexo feminino, com maior frequência na faixa etária acima de 51 anos (46,3%). Quanto ao tipo clínico, notou-se que as lesões reticulares foram predominantes (78%), sendo a mucosa jugal o sítio da cavidade oral predominante (56%) (Tabela 1).

**Tabela 1** – Frequência (n) e percentual (%) das características clínicas dos indivíduos com LPO atendidos no Centro de Referência de Lesões Bucais da UEFS e na EBMSp, no período de 2005 a 2019.

Variável	n = 41	%
<b>Idade</b>		
20 a 30 anos	4	9,8%
31 a 40 anos	7	17,1%
41 a 50 anos	11	26,8%
Acima de 51 anos	19	46,3%
<b>Sexo</b>		
Masculino	9	22%
Feminino	32	78%
<b>Subtipo clínico</b>		
Reticular	32	78%
Erosivo	6	14,5%
Placa	3	7,5%
<b>Localização</b>		
Mucosa jugal	23	56%
Língua	11	27%
Mucosa jugal e língua associadas	1	2,5%
Outros	6	14,5%

Fonte: autoria própria (2023).

Para verificar a concordância entre os avaliadores em relação à análise das variáveis morfológicas grau de inflamação, exocitose linfocítica e degeneração da camada basal, foi

realizado o teste *Kappa*, e se observou que, com relação ao grau de inflamação, ela foi de 95,1%, com *Kappa* ponderado de 0,84 (IC95%: 0,61-1,00), considerada como uma concordância quase perfeita<sup>99</sup>.

A concordância, em relação à presença de exocitose linfocítica, foi de 97,5%, com *Kappa* de 0,94 (IC95%: 0,82-1,00), considerada também uma concordância quase perfeita. Verificou-se ainda que a concordância entre os avaliadores com relação à presença de degeneração da camada basal foi de 92,7%, *Kappa* de 0,73 (IC95%: 0,43-1,00), considerada substancial<sup>99</sup>.

Na Tabela 2, encontra-se a análise morfológica descritiva da amostra estudada. Embora a amostra tenha contemplado um total de 41 casos, a exocitose linfocítica e os corpos de Civatte foram avaliados em 40 e 38 casos, respectivamente, devido à ausência de contraste adequado da coloração, impossibilitando uma avaliação precisa das células.

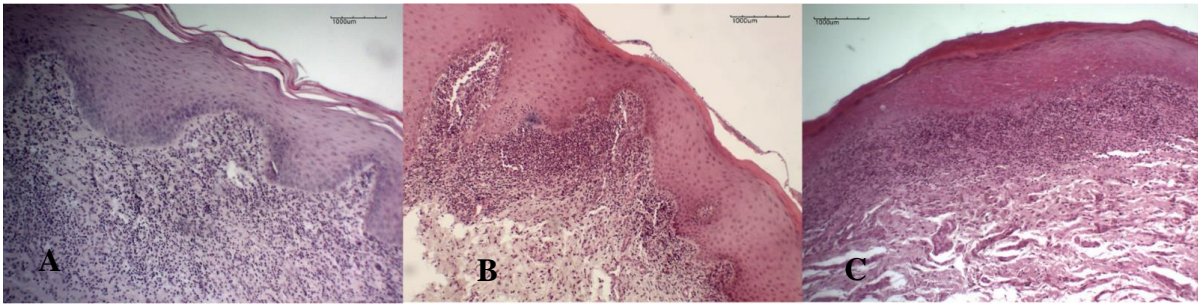
**Tabela 2** – Frequência (n) e percentual (%) das variáveis morfológicas analisadas nas amostras de LPO (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).

<b>Variável</b>	<b>Categoria</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Grau de inflamação (n= 41)	Discreto	1	2,4%
	Moderado	5	12,2%
	Intenso	35	85,4%
Exocitose linfocítica (n=40)	Ausente	11	27,5%
	Presente	29	72,5%
Degeneração da camada basal (n=41)	Ausente	7	17,1%
	Presente	34	82,9%
Corpos de Civatte (n=38)	Ausente	9	23,7%
	Presente	29	76,3%

Fonte: autoria própria (2023).

Na Figura 3, podem-se observar fotomicrografias representativas dos aspectos morfológicos avaliados na amostra estudada, com apresentação do epitélio e do tecido conjuntivo.

**Figura 3** – Fotomicrografias representativas das características morfológicas avaliadas nas lesões de LPO, onde se observa o revestimento epitelial do tipo estratificado pavimentoso queratinizado, com exuberante infiltrado inflamatório subepitelial predominantemente linfocitário com aspecto difuso em A e aspecto em banda em B e C (HE, 100x).



Fonte: acervo da autora (Laboratório de Bioquímica Oral, UFBA, 2023).

No que se refere à associação entre o grau de inflamação com a presença de exocitose linfocítica, degeneração da camada basal e corpos de Civatte, não foi encontrada associação significativa ( $p > 0,05$ ) (Tabela 3). Apesar de não serem estatisticamente significativos, foram observados efeitos de tamanho médio para exocitose linfocítica e degeneração da camada basal ( $w = 0,29$  e  $w = 0,43$ , respectivamente)<sup>100</sup>.

**Tabela 3** – Resultados das análises de associação das variáveis morfológicas com o grau de inflamação do tecido (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).

Variável	Categoria	Global	Grau de inflamação			p-valor	<sup>3</sup> Tamanho do efeito ( $w$ )
			Discreto	Moderado	Severo		
		Frequência (%) <sup>1</sup>	Frequência (%) <sup>2</sup>				
Global	-	41 (100,0%)	1 (2,4%)	5 (12,2%)	35 (85,4%)	-	-
Exocitose linfocítica (n=40)	Ausente	11 (27,5%)	0 (0,0%)	3 (27,3%)	8 (72,7%)	0,2523	0,2871
	Presente	29 (72,5%)	1 (3,4%)	2 (6,9%)	26 (89,7%)		
Degeneração da camada basal (n=41)	Ausente	7 (17,1%)	1 (14,3%)	2 (28,6%)	4 (57,1%)	0,0511	0,4277
	Presente	34 (82,9%)	0 (0,0%)	3 (8,8%)	31 (91,2%)		
Corpos de Civatte (n=38)	Ausente	9 (23,7%)	0 (0,0%)	1 (11,1%)	8 (88,9%)	1,000	0,0917
	Presente	29 (76,3%)	1 (3,4%)	3 (10,3%)	25 (86,2%)		

<sup>1</sup>Porcentagens nas colunas; <sup>2</sup>porcentagens nas linhas; <sup>3</sup>classificação de Cohen (1988)<sup>100</sup> para tamanho de efeito  $w$ : efeito pequeno=0,10; efeito médio=0,25 e efeito grande=0,50.

Fonte: autoria própria (2023).

Não houve diferença significativa entre as amostras que apresentaram grau severo de inflamação do tecido e as demais amostras, com relação à quantidade de corpos de Civatte ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4). Em média, as amostras tiveram 2,75 corpos de Civatte, variando de zero a 12,33. Devido à presença de apenas um caso classificado como infiltrado inflamatório discreto, essa categoria foi agrupada com a categoria dos casos classificados como

moderados, já que, para essa análise, não é possível considerar um grupo com  $n=1$ .

**Tabela 4** – Resultados da análise da quantidade de corpos de Civatte em função do grau de inflamação (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).

Estatística	Grau de inflamação		
	Global n=38	Discreto ou moderado (n=5)	Severo (n=33)
Média	2,75	1,13	3,00
Desvio padrão	3,39	1,46	3,55
Valor mínimo	0,00	0,00	0,00
Primeiro quartil	0,33	0,33	0,33
Mediana	1,00	0,66	1,66
Terceiro quartil	4,00	1,00	4,00
Valor máximo	12,33	3,66	12,33

p-valor=0,3312; tamanho do efeito  $f=0,19$ . Classificação de Cohen (1988)<sup>100</sup> para o tamanho de efeito  $f$ : efeito pequeno=0,10; efeito médio=0,25 e efeito grande=0,40.

Fonte: autoria própria (2023).

Também não houve associação significativa entre a presença de exocitose linfocítica e a presença de degeneração da camada basal e de corpos de Civatte ( $p>0,05$ ) (Tabela 5). Contudo, o tamanho do efeito da associação com a degeneração da camada basal foi médio<sup>100</sup>.

**Tabela 5**– Resultados das análises de associação com a presença de exocitose linfocítica (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).

Variável	Categoria	Exocitose linfocítica			p-valor	<sup>3</sup> Tamanho do efeito ( $w$ )	
		Global	Ausente				Presente
		Frequência (%) <sup>1</sup>	Frequência (%) <sup>2</sup>				
Degeneração da camada basal (n=40)	Ausente	7 (17,5%)	4 (57,1%)	3 (42,9%)	0,0755	0,3058	
	Presente	33 (82,5%)	7 (21,2%)	26 (78,8%)			
Corpos de Civatte (n=38)	Ausente	9 (23,7%)	3 (33,3%)	6 (66,7%)	0,6731	0,0888	
	Presente	29 (76,3%)	7 (24,1%)	22 (75,9%)			

<sup>1</sup>Porcentagens nas colunas; <sup>2</sup>porcentagens nas linhas; <sup>3</sup>classificação de Cohen (1988)<sup>100</sup> para o tamanho do efeito  $w$ : efeito pequeno=0,10; efeito médio=0,25 e efeito grande=0,50.

Fonte: autoria própria (2023).

Por fim, a quantidade de corpos de Civatte não diferiu significativamente entre as amostras com exocitose linfocítica ausente ou presente ( $p>0,05$ ) (Tabela 6).

**Tabela 6** – Resultados da análise da quantidade de corpos de Civatte em função da presença de exocitose (UEFS/EBMSP; 2005 a 2019).

Estatística	Global	Exocitose	
	n=38	Ausente (n=10)	Presente (n=28)
Média	2,75	2,56	2,82
Desvio padrão	3,39	3,70	3,35
Valor mínimo	0,00	0,00	0,00
Primeiro quartil	0,33	0,00	0,33
Mediana	1,00	0,66	1,83
Terceiro quartil	4,00	5,33	4,00
Valor máximo	12,33	10,00	12,33

p-valor=0,4863; tamanho do efeito  $f=0,03$ . Classificação de Cohen (1988)<sup>100</sup> para tamanho de efeito  $f$ : efeito pequeno=0,10; efeito médio=0,25 e efeito grande=0,40.

Fonte: autoria própria (2023).

## 5 DISCUSSÃO

Com base na amostra e na metodologia utilizadas neste estudo, não foi possível verificar associação significativa entre a severidade do infiltrado inflamatório, bem como a presença de exocitose, com as características do tecido epitelial estudadas – a saber, degeneração da camada basal e corpos de Civatte –, embora tenham sido observados efeitos de tamanho médio para algumas das variáveis estudadas. Essas informações podem sugerir que, apesar de não ter sido estabelecida uma relação direta entre as variáveis mencionadas, o estudo ainda encontrou impacto moderado no efeito de associação do grau de inflamação com a exocitose e com a degeneração da camada basal, o que indica uma possível associação, embora sem significância estatística.

No presente estudo, as características clínicas da amostra corroboram com as apresentadas na literatura. Observou-se que a predileção pelo sexo feminino foi reportada em diversos estudos anteriormente publicados<sup>3,29,45,101,102</sup>. Acredita-se que a elevada prevalência do LPO em mulheres é justificada por uma maior susceptibilidade delas ao estresse emocional<sup>3</sup>, fator que tem sido fortemente considerado como predisponente para o surgimento da doença<sup>103</sup>. De forma semelhante, a maior frequência de indivíduos acima de 51 anos acometidos pela condição está inserida no período de vida citado por grande parte dos autores como o pico de incidência do LPO<sup>20,29,104,105</sup>.

Os resultados, tanto para a localização das lesões quanto para a apresentação clínica, confirmam achados anteriormente apresentados na literatura<sup>3,27,45,101</sup>, nos quais a mucosa jugal é descrita como o sítio da cavidade oral com maior índice de acometimento, sendo predominante o subtipo reticular. Para Sousa, Rosa<sup>3</sup> (2005), a predileção do LPO pela mucosa jugal está intimamente relacionada à espessura epitelial e a sua ausência de queratinização, fatores que possibilitam que as alterações histopatológicas da doença sejam expressas mais facilmente do que em outros sítios da mucosa oral. Todos esses achados observados permitem caracterizar a amostra aqui estudada com um padrão clínico típico das lesões de LPO descritas na literatura vigente, o que foi importante para que as análises histopatológicas, objetivo primário deste trabalho, fossem realizadas em lesões consideradas clássicas.

Histopatologicamente, as lesões de LPO são caracterizadas pelo acúmulo de linfócitos T na lâmina própria, agressão à membrana basal, migração intraepitelial de células T e apoptose de queratinócitos<sup>2,34</sup>. O denso infiltrado inflamatório e a degeneração da camada basal

representam as características histopatológicas mais típicas da doença. Os corpos de Civatte e a exocitose linfocítica também foram descritos como aspectos histológicos importantes para o diagnóstico da doença<sup>5,13</sup>. No presente estudo, houve uma predominância de casos com grau de inflamação severa, com presença de degeneração da camada basal, de exocitose linfocítica e de corpos de Civatte, confirmando, assim, que, além das características clínicas, a amostra estudada também exibiu um padrão histológico clássico do LPO.

A presença do infiltrado inflamatório subepitelial, com predominância de linfócitos, comprova a origem inflamatória do LPO<sup>2</sup>. No presente estudo, toda a amostra apresentou inflamação tecidual, com prevalência expressiva do grau severo (85,4%), seguido do grau moderado (12,2%). Achados semelhantes foram observados por Lopéz-Jornet, Camacho-Alonso, Molina-Miñano<sup>10</sup> (2009), que, ao avaliarem 100 casos de LPO, incluindo lesões reticulares e atróficas ou erosivas, observaram prevalência de um infiltrado inflamatório grave (n=39) e moderado (n=33). Navas-Alfaro et al.<sup>106</sup> (2003), analisando os aspectos histopatológicos do LPO, verificaram que o infiltrado inflamatório foi intenso em 65% das lesões biopsiadas. Esses resultados indicam a predominância de inflamações mais severas e moderadas nas lesões de LPO e reforçam a importância do infiltrado inflamatório na imunopatogenia da doença. Essa característica da amostra, relacionada ao grau de inflamação, embora esperada, tornou-a homogênea quanto a esse aspecto. O ideal seria a possibilidade de heterogeneidade, com os diferentes graus melhores representados, para favorecer análises posteriores de associação.

Embora o grau da inflamação tenha sido avaliado nas lesões de LPO, não foi possível a comparação entre os tipos clínicos distintos, ou seja, lesões brancas e vermelhas, devido ao desequilíbrio dos subtipos clínicos da amostra aqui estudada. No entanto, independentemente do subtipo clínico, estudos discutem o quanto o infiltrado inflamatório pode interferir nas características do tecido epitelial<sup>2,15,16,18,34,59</sup>, o que justifica a realização do estudo sem a subdivisão da amostra de acordo com o padrão clínico. Lopéz-Jornet, Camacho-Alonso, Molina-Miñano (2009)<sup>10</sup> não registraram diferenças estatisticamente significativas em relação à forma clínica de apresentação do LPO e o grau de inflamação, sugerindo que sua severidade independe da apresentação clínica. Sanches et al.<sup>45</sup> (2022), em estudo transversal retrospectivo, também não observaram associação significativa entre o tipo clínico da lesão e o grau do infiltrado inflamatório, embora tenham relatado, como limitação do estudo, o tamanho da amostra e a ausência de equilíbrio no quantitativo de lesões brancas e vermelhas. Assim, outros estudos considerando as diferentes formas clínicas da manifestação da doença



precisam ser conduzidos para melhor compreensão das diferenças no comportamento biológico observadas entre elas.

Como já foi visto anteriormente, a presença de um persistente infiltrado inflamatório no LPO é indiscutível na caracterização da doença e justifica a análise do grau de inflamação nas lesões estudadas. Contudo, os motivos que levam à manutenção desse infiltrado no foco da lesão ainda não foram totalmente compreendidos<sup>14</sup>. Pesquisas anteriores evidenciaram baixo índice apoptótico nas células inflamatórias do LPO<sup>14,59</sup>. Nesse sentido, é possível que, durante a inflamação ativa, ocorra recrutamento mais intenso de novas células do que a eliminação das células antigas por meio da apoptose, o que prolonga a sobrevivência das células do infiltrado inflamatório. Essa persistência da inflamação subepitelial potencializa o aparecimento de distúrbios moleculares nas células epiteliais e favorece até mesmo o desenvolvimento do câncer. Além disso, a taxa de apoptose das células inflamatórias, nas lesões reticulares, parece ser superior em comparação com as formas erosivas<sup>14</sup>. Portanto, é crucial a realização de mais estudos que investiguem a apoptose das células inflamatórias nos diferentes subtipos clínicos, uma vez que isso pode ajudar a explicar as diferenças nas manifestações clínicas da doença.

A degeneração dos queratinócitos da camada basal e os corpos de Civatte são alterações microscópicas do tecido epitelial, as quais são frequentemente observadas nas lesões de LPO. A exocitose linfocítica, apesar de também ser um evento observado no epitélio, não representa uma alteração das células que compõem esse tecido, mas sim a migração de células do tipo linfócitos T do tecido conjuntivo para o interior do epitélio<sup>2</sup>.

A degeneração hidrópica da camada basal é caracterizada como um processo de lesão celular resultante de uma resposta inflamatória intensa, em que as células, particularmente os queratinócitos na camada basal do epitélio, apresentam vacuolização. Essa mudança frequentemente se manifesta como uma aparente fragmentação da membrana basal, o que leva a pequenas falhas microscópicas entre o epitélio e o tecido conjuntivo subjacente<sup>106</sup>. No LPO, a destruição da camada basal parece ser resultante do efeito citotóxico dos linfócitos T CD8+ no infiltrado inflamatório subepitelial<sup>2,98</sup>. Bascones-Ilundain et al.<sup>98</sup> (2007) notaram uma expressão significativamente maior de marcadores de apoptose na camada de células basais, em comparação com outras camadas epiteliais em casos de LPO. Os autores observaram degeneração por liquefação em todas as amostras de LPO, sendo que, em 27,5% dos casos, ela foi moderada ou intensa. Navas-Alfaro et al.<sup>106</sup> (2003) verificaram a vacuolização do limite epitélio-conjuntivo subepitelial em 93% dos casos de LPO estudados por eles. De

maneira semelhante, no presente estudo, a degeneração da camada basal também foi prevalente (82,9%). Portanto, de acordo com esse resultado e os encontrados na literatura, a presença constante da degeneração da camada basal favorece a hipótese de que os queratinócitos basais parecem ser os principais alvos do ataque de linfócitos no LPO.

Como já foi mencionado anteriormente, os corpos de Civatte são estruturas coloides ou hialinas, resultantes da apoptose sofrida pelos queratinócitos basais e parabasais, induzida pelas células inflamatórias<sup>14,19</sup>. Em 1978, a OMS apresentou essas estruturas microscópicas como um critério para o diagnóstico do LPO<sup>13</sup>. Entretanto, van der Meij, van der Waal<sup>9</sup> (2003) apontaram a presença dos corpos de Civatte como inespecífica para essas lesões, uma vez que podem ser encontradas em outras doenças mucocutâneas. Ainda nesse sentido, Bascones et al.<sup>107</sup> (2005) relataram a pequena importância quantitativa da apoptose em células epiteliais do LPO e propuseram que, devido ao intenso ataque de linfócitos T, essas células podem desenvolver mecanismos para evitar a apoptose e aumentar sua taxa de proliferação para preservar a estrutura do epitélio, o que pode favorecer o surgimento do câncer.

López-Jornet, Camacho-Alonso, Molina-Miñano<sup>10</sup> (2009), em 100 casos de LPO, identificaram a presença dessas estruturas em 35% da amostra, o que pode ser considerado um valor relativamente baixo. Bascones-Ilundain et al.<sup>59</sup> (2006) concluíram ser a quantidade de células epiteliais que sofreram apoptose relativamente pequena nessas lesões, embora tenham descrito a presença dessas células em 93,7% dos casos estudados. Brant et al.<sup>14</sup> (2012) verificaram ainda a presença de células apoptóticas nas camadas basal e parabasal do epitélio em todos os casos de LPO de sua amostra, sendo o índice apoptótico no epitélio significativamente maior nos grupos com LPO do que no grupo de controle com mucosa normal. De forma semelhante, Sanches et al.<sup>54</sup> (2022), ao avaliarem 34 casos de LPO, verificaram a presença de corpos de Civatte em 73,5% da amostra. Diante desses achados e no intuito de evidenciar a agressão epitelial sofrida nas lesões de LPO, foi feita a avaliação qualitativa e quantitativa dessas estruturas neste estudo, em que as amostras apresentaram, em média, 2,75 corpos de Civatte por caso analisado, variando de zero a 12,33, com a prevalência de 76,3% da amostra. Esses resultados, bem como os acima apresentados na literatura, apontam que, embora a quantidade de corpos de Civatte seja relativamente baixa em cada fragmento histológico e/ou caso de LPO, seu achado tem sido constante no total da amostra, o que sugere a importância de considerá-los no momento do diagnóstico da doença. Ressalta-se que foram avaliados 38 casos em relação a amostra total de LPO (n=41), em virtude de existirem secções histológicas com baixo contraste de coloração, impossibilitando a análise

dessas estruturas.

É importante ressaltar que, no presente estudo, a avaliação dos corpos de Civatte foi feita em cortes corados com HE. Embora essa seja a principal técnica de coloração de tecidos em histologia e a mais empregada para o diagnóstico do LPO<sup>108</sup>, não parece ser a mais sensível para a identificação dessas estruturas, e outras técnicas têm sido preconizadas. Brant et al.<sup>14</sup> (2012), por exemplo, em seu estudo, utilizaram a coloração de Shorr para identificar e quantificar os corpos apoptóticos, os quais foram ainda confirmados através da marcação pela reação de Tunel (*Terminal deoxynucleotidil transferase Uracil Nick End Labeling*). A utilização da coloração Shorr para a identificação da apoptose também já foi mencionada por outros estudos<sup>109-111</sup>. Santos et al.<sup>109</sup> (2001), com o objetivo de caracterizar morfológicamente e evidenciar bioquimicamente a apoptose no tumor venéreo transmissível canino, apontaram que a coloração de Shorr facilita a identificação morfológica da apoptose, permitindo a visualização da retração celular, da condensação da cromatina e da fragmentação nuclear. Mostrou-se ainda mais eficiente na distinção de células apoptóticas do que a coloração por HE. Quanto à reação Tunel, ela é utilizada para a detecção de fragmentação *in situ* do genoma e, assim, permite a confirmação da apoptose. O emprego dessa técnica foi demonstrado em diversos trabalhos que buscaram avaliar a apoptose em diferentes condições<sup>14,111-113</sup>.

A exocitose linfocítica é um fenômeno frequentemente reconhecido nas lesões de LPO. Embora tenha sido incluída como um critério histológico para o diagnóstico do LPO em 2016, pela AAPOM<sup>5</sup>, estudos anteriores já haviam identificado sua relevância na patogênese da doença<sup>2,37</sup>. Nesse contexto, a prevalência da exocitose linfocítica foi avaliada neste estudo e se observou um elevado percentual dessa característica na amostra estudada, à exceção de um caso, onde não foi possível avaliar esse aspecto, devido a ausência de qualidade na coloração da secção histológicas. Resultados semelhantes foram relatados em estudos de Bascones-Ilundain et al.<sup>98</sup> (2007), nos quais a presença de exocitose linfocítica foi identificada em 93,4% da amostra (28 casos). A presença de exocitose tem sido associada à resposta inflamatória e à destruição das células-alvo, que são os queratinócitos basais, contribuindo, assim, para a formação de lesões características de LPO<sup>2</sup>. Nesse sentido, sua alta prevalência parece sugerir que esse evento pode ser um indicador importante para o diagnóstico e para a compreensão da doença. Cabe ressaltar que o desenvolvimento de métodos mais objetivos, que consigam quantificar essa exocitose linfocítica, e a realização de pesquisas que comparem esse evento entre as lesões brancas e vermelhas parecem ser direções promissoras para

pesquisas futuras, visto que podem fornecer informações valiosas sobre a gravidade e a variabilidade da doença e suas manifestações clínicas.

A compreensão dos processos envolvidos na patogênese do LPO está em constante evolução, uma vez que eles ainda não foram totalmente elucidados. Assim, estudar a associação dos parâmetros histopatológicos presentes no LPO parece ajudar na obtenção de mais informações sobre os mecanismos imunopatogênicos da doença e foi a proposta original deste estudo.

Pressupõe-se que as lesões de LPO são caracterizadas por alterações nas características teciduais da mucosa oral. Acredita-se que as alterações epiteliais são provocadas pela inflamação subjacente, presente no tecido conjuntivo, e que resulta em modificações na arquitetura do epitélio ao provocar a destruição da camada basal, resultando na interrupção da adesão entre o epitélio e a lâmina própria subjacente e facilitando a infiltração de linfócitos (exocitose). Em relação ao grau de inflamação no LPO, ele parece estar associado com a extensão dos danos no epitélio oral e com o consequente aumento de linfócitos no interior desse tecido. Assim, é esperado que quanto mais severa a inflamação, maior seja a agressão.

No entanto, como já foi ressaltado, o presente estudo não verificou associação significativa entre o grau de inflamação do tecido com a presença de degeneração da camada basal, de corpos de Civatte e de exocitose linfocítica. Apesar de não serem estatisticamente significativos, para exocitose e degeneração da camada basal, observaram-se efeitos de tamanho médio de associação. Talvez novos estudos com amostras mais heterogêneas precisem ser feitos, uma vez que a presente amostra se revelou homogênea em relação ao grau de inflamação, com a maior parte dos casos apresentando inflamação severa. O estudo também não identificou diferença significativa entre os variados graus de inflamação com relação à quantidade de corpos de Civatte observados.

A associação da degeneração da camada basal com o grau de inflamação também foi verificada em um estudo retrospectivo conduzido por Hedberg et al.<sup>114</sup> (1986), que tiveram como objetivo descrever mais precisamente os parâmetros que são úteis no diagnóstico histopatológico do LPO, utilizando 112 espécimes teciduais obtidos de biópsia de pacientes com a doença. Os resultados apontaram uma relação positiva entre esses dois parâmetros, mostrando uma correlação significativa e positiva entre a gravidade da degeneração basal e a densidade da infiltração mononuclear. Em contrapartida, Navas-Alfaro et al.<sup>106</sup> (2003) não verificaram correlação entre grau de inflamação e tipo de alteração da camada basal, o que corrobora os resultados deste estudo.

Quanto à associação dos corpos de Civatte com a inflamação tecidual, de forma semelhante ao presente estudo, Hedberg et al.<sup>114</sup> (1986) também não identificaram relação entre o número de corpos de Civatte e a densidade do infiltrado inflamatório. No entanto, Brant et al.<sup>14</sup> (2012) verificaram uma correlação positiva entre o índice apoptótico do epitélio e o número total de linfócitos nos infiltrados inflamatórios, mostrando uma clara relação de causa e efeito, o que parece confirmar que os linfócitos nos infiltrados seriam responsáveis pelas lesões epiteliais. Ainda, Doddawad (2014)<sup>115</sup>, ao avaliar 40 casos de LPO, com o objetivo de identificar e quantificar o número de células apoptóticas presentes nas lesões e correlacionar com os outros parâmetros histológicos, observou que o número dessas células foi mais elevado com o aumento da espessura da infiltração linfocítica.

A ausência de associação entre a exocitose linfocítica e o grau de inflamação do tecido, conforme foi observado neste estudo, não pôde ser comparada com a literatura, uma vez que não foram identificados estudos que descrevessem resultados semelhantes ou correlatos. Entretanto, a ocorrência de linfócitos intraepiteliais nas lesões de LPO é frequentemente relatada. Um estudo conduzido por Zhou et al.<sup>116</sup> (2001) demonstrou que as células T presentes nas lesões de LPO produzem MMPs, em especial a MMP-9, capaz de degradar proteínas da membrana basal, facilitando a migração intraepitelial de linfócitos. Zhou et al.<sup>117</sup> (2002), ao avaliarem a hipótese de que há migração seletiva de células T CD8+ da lâmina própria para o epitélio, através de quebras da membrana basal nas lesões do LPO, verificaram que, nas regiões de continuidade da membrana basal, as células CD8+ estavam concentradas na lâmina própria com apenas células CD8+ intraepiteliais ocasionais. Em contraste, aglomerados de células CD8+ foram observados na camada epitelial basal em regiões de ruptura da membrana basal. O número de células T CD8+ no epitélio das lesões de LPO, nas regiões de rompimento da membrana basal, foi significativamente maior do que nas regiões de continuidade da membrana, sugerindo que as células T CD8+ podem migrar através das regiões descontínuas da membrana basal para entrar no epitélio do LPO.

Os linfócitos infiltrados no epitélio das lesões de LPO podem desencadear danos às células epiteliais. No líquen plano cutâneo, um infiltrado dérmico de linfócitos T precedeu o dano epitelial histológico. Em lesões em estágios mais desenvolvidos, foi possível identificar linfócitos na camada inferior da epiderme. Nesse estágio, sinais de dano epitelial foram evidenciados, como alterações vacuolares dos queratinócitos basais e ligeira espongiose na região espinhosa<sup>118</sup>. Em lesões de LPO, células T CD8+ compartilhando o mesmo espaço com queratinócitos apoptóticos foram observadas<sup>2</sup>. Esses dados sustentam a teoria de que as

células T CD8+ intraepiteliais desencadeiam a apoptose dos queratinócitos no contexto do LPO.

De forma alternativa, é possível que as células T CD8+ penetrem o epitélio do LPO, mesmo na ausência de danos à membrana basal, e induzam a apoptose dos queratinócitos. Já foi demonstrado que esses queratinócitos desempenham um papel na manutenção da estrutura da membrana basal epitelial ao secretarem colágeno IV e laminina V na região da membrana basal. Assim, ao sofrerem apoptose, não são capazes de manter a integridade da membrana basal epitelial, o que leva a sua ruptura. Portanto, nesse contexto, a ruptura da membrana basal pode ser uma consequência da migração intraepitelial das células T CD8+ no LPO, em vez de ser um fator que promove essa migração<sup>117</sup>.

Com base na amostra avaliada neste estudo, não foram identificados resultados significativos em nenhuma das análises realizadas. É importante ressaltar que a amostra apresentou homogeneidade no que diz respeito ao grau de inflamação, com a maioria dos casos apresentando inflamação severa, o que pode ter afetado os resultados das análises de associação. A restrição no tamanho da amostra também representou uma limitação deste trabalho, uma vez que impossibilitou subdividir os casos em lesões brancas e vermelhas, impedindo, assim, a realização de um estudo comparativo entre esses dois tipos clínicos, o que seria justificado pela diferença de comportamento biológico nos pacientes acometidos. Portanto, com a finalidade de obter resultados mais robustos e consistentes, é essencial que futuras pesquisas sejam conduzidas com amostras maiores e mais heterogêneas em função dos graus de inflamação, e que considerem as diferentes formas clínicas para um melhor entendimento da patogênese dessa doença.

A caracterização morfológica da amostra e a análise de associação entre os principais elementos histológicos presentes no LPO, bem como a avaliação da influência do infiltrado inflamatório nas características do epitélio, nessa condição, são fundamentais para melhor compreender os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da doença. Com base na literatura consultada, este estudo parece ser o pioneiro ao investigar a relação direta entre o grau de inflamação do tecido com a presença de exocitose linfocítica, bem como a presença e a quantidade de corpos de Civatte com a exocitose linfocítica. É importante enfatizar que a pesquisa científica contínua sobre o papel da inflamação crônica nas lesões de LPO é necessária a fim de se compreender de que forma ela atua no desenvolvimento, no comportamento clínico, na progressão e transformação maligna da doença, o que, consequentemente, contribuirá para avanços significativos no diagnóstico e nas abordagens

terapêuticas.

## 6 CONCLUSÃO

Neste estudo, foi possível concluir que, na amostra estudada, houve prevalência de grau severo de inflamação do tecido e altas prevalências de exocitose, de degeneração da camada basal e de corpos de Civatte. No entanto, não foram encontradas associações significativas entre a severidade do infiltrado inflamatório subepitelial e as características analisadas no tecido epitelial dos casos de LPO estudados.



## REFERÊNCIAS

1. Durigon M, Trentin MS, Silva SO, De Carli JP, Neves M. Líquen plano oral: reconhecendo a doença e suas características básicas. *SalusVita*. 2015;34(1):87-97.
2. Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Zhao ZZ, Zhou XJ, Khan A, et al. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2002;13(4):350-65. doi: 10.1177/154411130201300405
3. Sousa FACG, Rosa LEB. Perfil epidemiológico dos casos de líquen plano oral pertencentes aos arquivos da disciplina de patologia bucal da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos- UNESP. *Cienc Odontol Bras*. 2005;8(4):96-100. doi: <https://doi.org/10.14295/bds.2005.v8i4.404>.
4. Mutafchieva MZ, Draganova-Filipova MN, Zagorchev PI, Tomov GT. Oral Lichen Planus - Known and Unknown: a Review. *Folia Med (Plovdiv)*. 2018;60(4):528-535. doi: 10.2478/folmed-2018-0017
5. Cheng YSL, Gould A, Kurago Z, Fantasia J, Muller S. Diagnosis of oral lichen planus: a position paper of the American Academy of Oral and Maxillofacial Pathology. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2016;122(3):332-54. doi: 10.1016/j.oooo.2016.05.004
6. Warnakulasuriya S, Kujan O, Aguirre-Urizar JM, Bagan JV, González-Moles MA, Kerr AR et al. Oral potentially malignant disorders: a consensus report from an international seminar on nomenclature and classification, convened by the WHO Collaborating Centre for Oral Cancer. *Oral Dis*. 2021;27(8):1862-80. doi: 10.1111/odi.13704
7. Canto AM, Müller H, Freitas RR, Santos PSS. Líquen plano oral (LPO): diagnóstico clínico e complementar. *An Bras Dermatol*. 2010;85(5):669-75. doi: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962010000500010>
8. Eisenberg E. Oral lichen planus: a benign lesion. *J Oral Maxillofac Surg*. 2000;58(11):1278-85. doi: 10.1053/joms.2000.16629
9. van der Meij EH, van der Waal I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. *J Oral Pathol Med*. 2003;32:507-12. doi: 10.1034/j.1600-0714.2003.00125.x
10. López-Jornet P, Camacho-Alonso F, Molina-Miñano F. Quantitative analysis of epithelial papillae in patients with oral lichen planus. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23(6):692-6. doi: 10.1111/j.1468-3083.2009.03160.x
11. Tsushima F, Sakurai J, Uesugi A, Oikawa Y, Ohsako T, Mochizuki Y, et al. Malignant transformation of oral lichen planus: a retrospective study of 565 Japanese patients. *BMC Oral Health*. 2021;21(1):298. doi: 10.1186/s12903-021-01652-7
12. Idrees M, Kujan O, Shearston K, Farah CS. Oral lichen planus has a very low malignant transformation rate: A systematic review and meta-analysis using strict diagnostic and inclusion criteria. 2021;50(3):287-98. doi: 10.1111/jop.12996

13. WHO Collaborating Centre For Precancerous Lesions. Definition of leukoplasia and related lesions: an aid to studies on oral precancer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1978; 46:518-39. doi: [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(78\)90383-3](https://doi.org/10.1016/0030-4220(78)90383-3)
14. Brant JMC, Aguiar MCF, Grandinetti HAM, Rodrigues LV, Vasconcelos AC. A Comparative Study of Apoptosis in Reticular and Erosive Oral Lichen Planus. *Braz Dent J.* 2012;23(5):564-9. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-64402012000500016>
15. Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, Lo Muzio L, Bucci E. Immune activation and chronic inflammation as the cause of malignancy in oral lichen planus: is there any evidence?. *Oral Oncology.* 2004;40(2):120-30. doi: 10.1016/j.oraloncology.2003.08.001
16. Otero-rey EM, Suarez-Alen F, Peñamaria-Mallon M, Lopez-Lopez J, Blanco-Carrion A. Malignant transformation of oral lichen planus by a chronic inflammatory process. Use of topical corticosteroids to prevent this progression?. *Acta Odontol Scand.* 2014;72(8):570-7. doi: 10.3109/00016357.2014.914570
17. Peng Q, Zhang J, Ye X, Zhou G. Tumor-like microenvironment in oral lichen planus: evidence of malignant transformation?. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017;13(6):635-43. doi: 10.1080/1744666X.2017.1295852
18. Deng X, Wang Y, Jiang L, Li J, Chen Q. Updates on immunological mechanistic insights and targeting of the oral lichen planus microenvironment. *Front Immunol.* 2023;13:1023213. doi: 10.3389/fimmu.2022.1023213
19. Brant JM, Vasconcelos AC, Rodrigues LV. Role of apoptosis in erosive and reticular oral lichen planus exhibiting variable epithelial thickness. *Braz Dent J.* 2008;19(3):179-85. doi: 10.1590/s0103-64402008000300001
20. Bermejo-Fenoll A, Sánchez-Siles M, López-Jornet P, Camacho-Alonso F, Salazar-Sánchez N. A retrospective clinicopathological study of 550 patients with oral lichen planus in south-eastern Spain. *J Oral Pathol Med.* 2010;39(6):491-6. doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00894.x
21. Kaplan I, Ventura-Sharabi Y, Gal G, Calderon S, Anavi Y. The dynamics of oral lichen planus: a retrospective clinicopathological study. *Head and Neck Pathol.* 2012;6(2):178-83. doi: 10.1007/s12105-011-0318-3
22. Bardellini E, Amadori F, Flocchini P, Bonadeo S, Majorana A. Clinicopathological features and malignant transformation of oral lichen planus: a 12-years retrospective study. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(3-4):834-40. doi: 10.3109/00016357.2012.734407
23. Wang YY, Tail YH, Wang WC, Chen CY, Kao YH, Chen YK, et al. Malignant transformation in 5071 southern Taiwanese patients with potentially malignant oral mucosal disorders. *BMC Oral Health.* 2014;14:99. doi: 10.1186/1472-6831-14-99
24. Radochová V, Koberová Ivančaková R, Heneberk O, Slezák R. The Characteristics of Patients with Oral Lichen Planus and Malignant Transformation-A Retrospective Study of 271 Patients. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(12):6525. doi: 10.3390/ijerph18126525

25. Liu Y, Messadi DV, Wu H, Hu S. Oral lichen planus is a unique disease model for studying chronic inflammation and oral cancer. *Med Hypotheses*. 2010;75(6):492-4. doi: 10.1016/j.mehy.2010.07.002.
26. Sood A, Cherian LM, Heera R, Sathyan S, Banerjee M. Association between matrix metalloproteinases-2 and -9 gene polymorphism with basement membrane disruption in oral lichen planus: A case-control pilot study. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2022;12(2): 258-62. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2022.03.007>
27. González-Moles MA, Warnakulasuriya S, González-Ruiz I, González-Ruiz L, Ayén A, Lenouvel D, et al. Worldwide prevalence of oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis. *Oral Dis*. 2021;27(4):813-28. doi: 10.1111/odi.13323
28. Iskander S, Samim F. Patient Characteristics associated with the development of oral lichen planus in two provinces in Canada. *J Can Dent Assoc*. 2022;88(5):1-9.
29. Boñar-Alvarez P, Sayáns MP, Garcia-Garcia A, Chamorro-Petronacci C, Gándara-Vila P, Luces-González R, et al. Correlation between clinical and pathological features of oral lichen planus. *Medicine*. 2019;98(8): e14614. doi: 10.1097/MD.00000000000014614
30. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med*. 2007;(10):575-80. doi: 10.1111/j.1600-0714.2007.00582.x
31. Javvadi LR, Parachuru VPB, Milne TJ, Seymour GJ, Rich AM. Regulatory T-cells and IL17A+ cells infiltrate oral lichen planus lesion. *Pathology*. 2016;48(6):564-73. doi: 10.1016/j.pathol.2016.06.002
32. van der Meij EH, Mast H, van der Waal I. The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a prospective five-year follow-up study of 192 patients. *Onco Oral*. 2007;43(8):742-8. doi: 10.1016/j.oraloncology.2006.09.006
33. González-Moles MA, Ruiz-Ávila I, González-Ruiz L, Ayéne A, Gil-Montoya JA, Ramos-García P. Malignant transformation risk of oral lichen planus: a systematic review and comprehensive meta-analysis. *Onco Oral*. 2019;96:121-30. doi: 10.1016/j.oraloncology.2019.07.012
34. Roopashree MR, Gondhalekar RV, Shashikanth MC, George J, Thippeswamy SH, Shukla A. Pathogenesis of oral lichen planus – a review. *J Oral Pathol Med*. 2010;39(10):729-34. doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00946.x
35. DeAngelis LM, Cirillo N, McCullough MJ. The immunopathogenesis of oral lichen planus-Is there a role for mucosal associated invariant T cells?. *J Oral Pathol Med*. 2019;48(7):552-59. doi: 10.1111/jop.12898
36. Payeras MR, Cherubini K, Figueiredo MA, Salum FG. Oral lichen planus: focus on etiopathogenesis. *Arch Oral Biol*. 2013;58(9):1057-69. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.04.004
37. Ismail S, Kumar S, Zain R. Oral lichen planus and lichenoid reactions: etiopathogenesis,

- diagnosis, management and malignant transformation. *J Oral Science*. 2007;49(2):89-106. doi: 10.2334/josnusd.49.89
38. Kurago ZB. Etiology and pathogenesis of oral lichen planus: an overview. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2016;122(1):72-80. doi: 10.1016/j.oooo.2016.03.011
  39. Seoane J, Romero MA, Varela-Centelles P, Diz-Dios P, Garcia-Pola MJ. Oral lichen planus: a clinical and morphometric study of oral lesions in relation to clinical presentation. *Braz Dent J*. 2004;15(1):9-12. doi: 10.1590/s0103-64402004000100002
  40. Wang H, Zhang D, Han Q, Zhao X, Zeng X, Xu Y, et al. Role of distinct CD4(+) T helper subset in pathogenesis of oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2016;45(6):385-93. doi: 10.1111/jop.12405
  41. Regezi JA, Dekker NP, MacPhail LA, Lozada-Nur F, McCalmont TH. Vascular adhesion molecules in oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996;81(6):682-90. doi: 10.1016/s1079-2104(96)80074-6
  42. Marinkovich MP, Keene DR, Rimberg CS, Burgeson RE. Cellular origin of the dermal-epidermal basement membrane. *Dev Dyn*. 1993;197(4):255-67. doi: 10.1002/aja.1001970404
  43. Pullan S, Wilson J, Metcalfe A, Edwards GM, Goberdhan N, Tilly J, et al. Requirement of basement membrane for the suppression of programmed cell death in mammary epithelium. *J Cell Sci*. 1996;109(3):631-42. doi: 10.1242/jcs.109.3.631
  44. Lukač J, Brozović S, Vučićević-Boras V, Mravak-Stipetić M, Malenica B, Kusić Z. Serum Autoantibodies to Desmogleins 1 and 3 in Patients with Oral Lichen Planus. *Croat Med J*. 2006;47(1):53-8.
  45. Sanches ACB, Pires ALPV, Medrado ARAP, Reis SRA, Freitas VS, Martins GB. Oral Lichen Planus: Associations Between Histomorphometric Characteristics and White and Red Lesions. *Head Neck Pathol* 2022;16(4):969-79. doi: 10.1007/s12105-022-01442-9
  46. Alberdi-Navarro J, Marichalar-Mendia X, Lartitegui-Sebastián M-J, Gainza-Cirauqui M-L, Echebarria-Goikouria M-A, Aguirre-Urizar J-M. Histopathological Characterization of the oral lichenoid disease subtypes and the relation with the clinical data. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017;22(3): e307-e13. doi: 10.4317/medoral.21730
  47. Xu X, Lai Y, Hua ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials. *Biosci Rep*. 2019;39(1):BSR20180992. doi: 10.1042/BSR20180992
  48. Bertheloot D, Latz E, Franklin BS. Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cell Mol Immunol*. 2021;18(5):1106-21. doi: 10.1038/s41423-020-00630-3
  49. Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition. *Cell*. 2000;102(1):33-42. doi: 10.1016/s0092-8674(00)00008-8
  50. Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CY, et al. Essential role of the

- mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*. 2001;410(6828):549-54. doi: 10.1038/35069004
51. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol*. 1980;68:251-306. doi: 10.1016/s0074-7696(08)62312-8
  52. Joshi R. Interface dermatitis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2013;79(3):349-59. doi: 10.4103/0378-6323.110780
  53. Neppelberg E, Johannessen AC, Jonsson R. Apoptosis in oral lichen planus. *Eur J Oral Sci*. 2001;109:361-4. doi: 10.1034/j.1600-0722.2001.00081.x
  54. Sanches ACB, Pires ALPV, Ramos TCF, Frota BA, Della Cella HRS, Oliveira MC, et al. Presence of Civatte Bodies in an oral lichen planus incisional biopsy sample. *Rev Gaúch Odontol*. 2022;70:e20220014. doi: <https://doi.org/10.1590/1981-86372022001420200225>
  55. Santoro A, Majorana A, Bardellini E, Gentili F, Festa S, Sapelli P, et al. Cytotoxic molecule expression and epithelial cell apoptosis in oral and cutaneous lichen planus. *Am J Clin Pathol*. 2004;121(5):758-64. doi: 10.1309/GHY8-AL2D-45P2-R234
  56. Karatsaidis A, Hayashi K, Schreurs O, Helgeland K, Schenck K. Survival signalling in keratinocytes of erythematous oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2007;36(4):215-22. doi: 10.1111/j.1600-0714.2007.00519.x
  57. Mattila R, Alanen K, Syrjanen S. Immunohistochemical study on topoisomerase IIalpha, Ki-67 and cytokeratin-19 in oral lichen planus lesions. *Arch Dermatol Res*. 2007;298(8):381-8. doi: 10.1007/s00403-006-0711-z
  58. Wyllie AH. Apoptosis and the regulation of cell numbers in normal and neoplastic tissues: an overview. *Cancer Metastasis Rev*. 1991;11(2):95-103. doi: 10.1007/BF00048057
  59. Bascones-Ilundain C, González-Moles MA, Esparza-Gómez G, Gil-Montoya JA, Bascones-Martínez A. Importance of apoptotic mechanisms in inflammatory infiltrate of oral lichen planus lesions. *Anticancer Res*. 2006;26(1A):357-62.
  60. Iocca O, Sollecito TP, Alawi F, Weinstein GS, Newman JG, De Virgilio A, et al. Potentially malignant disorders of the oral cavity and oral dysplasia: a systematic review and meta-analysis of malignant transformation rate by subtype. *Head Neck*. 2020;42(3): 539-55. doi: 10.1002/hed.26006
  61. González-Moles MA, Ramos-García P, Warnakulasuriya S. An appraisal of highest quality studies reporting malignant transformation of oral lichen planus based on a systematic review. *Oral Dis*. 2021;27(8):1908-18. doi: 10.1111/odi.13741
  62. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow?. *Lancet*. 2001;357(9255):539-45. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04046-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04046-0)
  63. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917):860-7. doi: 10.1038/nature01322

64. Singh N, Baby D, Rajguru JP, Patil PB, Thakkannavar SS, Pujari VB. Inflammation and cancer. *Ann Afr Med.* 2019;18(3):121-6. doi: 10.4103/aam.aam\_56\_18
65. Lan T, Chen L, Wei X. Inflammatory cytokines in cancer: comprehensive understanding and clinical progress in gene therapy. *Cells.* 2021;10(1):100. doi: 10.3390/cells10010100
66. Gelfo V, Romaniello D, Mazzeschi M, Sgarzi M, Grilli G, Morselli A, et al. Roles of IL-1 in cancer: from tumor progression to resistance to targeted therapies. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6009. doi: 10.3390/ijms21176009
67. Mantovani A, Bottazzi B, Colotta F, Sozzani S, Ruco L. The origin and function of tumor-associated macrophages. *Immunol Today.* 1992;13(7):265-70. doi: 10.1016/0167-5699(92)90008-U
68. Allavena P, Belgiovine C. Tumor-Associated Macrophages. *Encyclopedia of Immunobiology.* 2016;4:493-8. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374279-7.17013-4>
69. Moore RJ, Owens DM, Stamp G, Arnott C, Burke F, East N, et al. Mice deficient in tumor necrosis factor-alpha are resistant to skin carcinogenesis. *Nat Med.* 1999;5(7):828-31. doi: 10.1038/10552
70. Regezi JA, Stewart JC, Lloyd RV, Headington JT. Immunohistochemical staining of Langerhans cells and macrophages in oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985;60(4):396-402. doi: 10.1016/0030-4220(85)90262-2
71. Hirota J, Osaki T, Tatemoto Y. Immunohistochemical staining of infiltrates in oral lichen planus. *Pathol Res Pract.* 1990;186(5):625-32. doi: 10.1016/s0344-0338(11)80226-8
72. Ferrisse TM, de Oliveira AB, Palaçon MP, Silva EV, Massucato EMS, de Almeida LY, et al. The role of CD68+ and CD163+ macrophages in immunopathogenesis of oral lichen planus and oral lichenoid lesions. *Immunobiology.* 2021;226(3):152072. doi: 10.1016/j.imbio.2021.152072
73. Zhao ZZ, Sugerman PB, Zhou XJ, Walsh LJ, Savage NW. Mast cell degranulation and the role of T cell RANTES in oral lichen planus. *Oral Dis.* 2001;7(4):246-51. doi: <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2001.70408.x>
74. Coussens LM, Raymond WW, Bergers G, Laig-Webster M, Behrendtsen O, Werb Z, et al. Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis. *Genes Dev.* 1999;13(11): 1382-97. doi: 10.1101/gad.13.11.1382
75. Lodi G, Scully C, Carrozzo M, Griffiths M, Sugerman PB, Thongprasom K. Current controversies in oral lichen planus: report of an international consensus meeting. Part 1. Viral infections and etiopathogenesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;100(1):40-51. doi: 10.1016/j.tripleo.2004.06.077
76. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 1989;7:145-73. doi: 10.1146/annurev.iy.07.040189.001045

77. O'Byrne KJ, Dalglish AG. Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *Br J Cancer*. 2001;85(4):473-83. doi: 10.1054/bjoc.2001.1943
78. Powell IJ, Chinni SR, Reddy SS, Zaslavsky A, Gavande N. Pro-inflammatory cytokines and chemokines initiate multiple prostate cancer biologic pathways of cellular proliferation, heterogeneity and metastasis in a racially diverse population and underlie the genetic/biologic mechanism of racial disparity: Update. *Urol Oncol*. 2021;39(1):34-40. doi: 10.1016/j.urolonc.2020.08.019
79. Kalbassi S, Radfar L, Azimi M, Shadanpoor S, Ranjbar AG. A Comparison of the Characteristics of Cytokine Storm between Lichen Planus and Oral Squamous Cell Carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2022; 23(11):3843-9. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.11.3843
80. Zhang Y, Lin M, Zhang S, Wang Z, Jiang L, Shen J, et al. NF- $\kappa$ B-dependent cytokines in saliva and serum from patients with oral lichen planus: A study in an ethnic Chinese population. *Cytokine*. 2008;41(2):144-9. doi: 10.1016/j.cyto.2007.11.004
81. Zhu ZD, Ren XM, Zhou MM, Chen QM, Hua H, Li CL. Salivary cytokine profile in patients with oral lichen planus. *J Dent Sci*. 2022;17(1):100-5. doi: 10.1016/j.jds.2021.06.013
82. Gu GM, Martin MD, Darveau RP, Truelove E, Epstein J. Oral and serum IL-6 levels in oral lichen planus patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2004;98(6):673-8. doi: 10.1016/j.tripleo.2004.05.006
83. Briukhovetska D, Dörr J, Endres S, Libby P, Dinarello CA, Kobold S. Interleukins in cancer: from biology to therapy. *Nat Rev Cancer*. 2021;21(8):481-99. doi: 10.1038/s41568-021-00363-z
84. Huynh J, Chand A, Gough D, Ernst M. Therapeutically exploiting STAT3 activity in cancer - using tissue repair as a road map. *Nat Rev Cancer*. 2019;19(2):82-96. doi: 10.1038/s41568-018-0090-8
85. Heichler C, Scheibe K, Schmied A, Geppert CI, Schmid B, Wirtz S, et al. STAT3 activation through IL-6/IL-11 in cancer-associated fibroblasts promotes colorectal tumour development and correlates with poor prognosis. *Gut*. 2020;69(7):1269-82. doi: 10.1136/gutjnl-2019-319200
86. Ke W, Zhang L, Dai Y. The role of IL-6 in immunotherapy of non-small cell lung cancer (NSCLC) with immune-related adverse events (irAEs). *Thorac Cancer*. 2020;11(4):835-9. doi: 10.1111/1759-7714.13341
87. Brailo V, Vucićević-Boras V, Cekić-Arambasin A, Alajbeg IZ, Milenović A, Lukac J. The significance of salivary interleukin 6 and tumor necrosis factor alpha in patients with oral leukoplakia. *Oral Oncol*. 2006;42(4):370-3. doi: 10.1016/j.oraloncology.2005.09.001
88. Wang X, Lin Y. Tumor necrosis factor and cancer, buddies or foes?. *Acta Pharmacol Sin*. 2008; 29(11): 1275-88. doi: 10.1111/j.1745-7254.2008.00889.x
89. Shan J, Li S, Wang C, Liu L, Wang X, Zhu D, et al. Expression and biological functions of the CCL5-CCR5 axis in oral lichen planus. *Exp Dermatol*. 2019;28(7):816-21. doi:

10.1111/exd.13946

90. Aldinucci D, Colombatti A. The Inflammatory Chemokine CCL5 and Cancer Progression. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:292376. doi: 10.1155/2014/292376
91. Bule P, Aguiar SI, Aires-Da-Silva F, Dias JNR. Chemokine-directed tumor microenvironment modulation in cancer immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2021;22(18):9804. doi: 10.3390/ijms22189804
92. Kim M, Kim K, Kim J, Kim K. BMP-2 Promotes Oral Squamous Carcinoma Cell Invasion by Inducing CCL5 Release. *PLoS One.* 2014;9(10):e108170. doi: 10.1371/journal.pone.0108170
93. Pupa SM, Ménard S, Forti S, Tagliabue E. New insights into the role of extracellular matrix during tumor onset and progression. *J Cell Physiol.* 2002 Sep;192(3):259-67. doi: 10.1002/jcp.10142
94. De Clerck YA. Interactions between tumour cells and stromal cells and proteolytic modification of the extracellular matrix by metalloproteinases in cancer. *Eur J Cancer.* 2000;36(10):1258-68. doi: 10.1016/s0959-8049(00)00094-0
95. Kuo R, Lin HP, Sun A, Wang YP. Prompt healing of erosive oral lichen planus lesion after combined corticosteroid treatment with locally injected triamcinolone acetonide plus oral prednisolone. *J Formos Med Assoc.* 2013;112(4):216-20. doi: 10.1016/j.jfma.2012.01.014
96. Rhodus NL, Cheng B, Bowles W, Myers S, Miller L, Ondrey F. Proinflammatory cytokine levels in saliva before and after treatment of (erosive) oral lichen planus with dexamethasone. *Oral Dis.* 2006;12(2):112-6. doi: 10.1111/j.1601-0825.2005.01165.x
97. Eisen D. The clinical features, malignant potential, and systemic associations of oral lichen planus: a study of 723 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2002;46(2):207-14. doi: 10.1067/mjd.2002.120452
98. Bascones-Ilundain C, Gonzalez-Moles MA, Esparza G, Gil-Montoya JA, Bascones-Martinez A. Significance of liquefaction degeneration in oral lichen planus: a study of its relationship with apoptosis and cell cycle arrest markers. *Clin Exp Dermatol.* 2007;32(5):556-63. doi: 10.1111/j.1365-2230.2007.02457.x
99. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159-174
100. Cohen, J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences.* 2<sup>nd</sup> ed. Hillsdale: Lawrence Erlbaum Associates;1988.
101. de Lima SL, de Arruda JA, Abreu LG, Mesquita RA, Ribeiro-Rotta RF, Mendonça EF, Arantes DA, Batista AC. Clinicopathologic data of individuals with oral lichen planus: A Brazilian case series. *J Clin Exp Dent.* 2019 Dec 1;11(12):e1109-e1119. doi: 10.4317/jced.56379
102. Osipoff A, Carpenter MD, Noll JL, Valdez JA, Gormsen M, Brennan MT. Predictors of symptomatic oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.*



- 2020;129(5):468-77. doi: 10.1016/j.oooo.2019.12.019
103. Manolache L, Seceleanu-Petrescu D, Benea V. Lichen planus patients and stressful events. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;22(4):437-41. doi: 10.1111/j.1468-3083.2007.02458.x
104. Irani S, Esfahani AM, Ghorbani A. Dysplastic change rate in cases of oral lichen planus: A retrospective study of 112 cases in an Iranian population. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2016;20(3):395-399. doi: 10.4103/0973-029X.190911
105. Anitua E, Piñas L, Alkhraisat MH. Histopathological features of oral lichen planus and its response to corticosteroid therapy: A retrospective study. *Medicine*. 2019;98(51):e18321. doi: 10.1097/MD.00000000000018321
106. Navas-Alfaro S, Fonseca EC; Guzmán-Silva MA; Rochael MC. Análise histopatológica comparativa entre líquen plano oral e cutâneo / Comparative histopathological analysis between oral and cutaneous lichen planus. *J. bras. patol. med. lab*. 2003;39(4):351-60. doi: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442003000400013>
107. Bascones C, Gonzalez-Moles MA, Esparza G, Bravo M, Acevedo A, Gil-Montoya JA, et al. Apoptosis and cell cycle arrest in oral lichen planus Hypothesis on their possible influence on its malignant transformation. *Arch Oral Biol*. 2005;50(10):873-81. doi: 10.1016/j.archoralbio.2005.02.005
108. Bloor BK, Malik FK, Odell EW, Morgan PR. Quantitative assessment of apoptosis in oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999;88(2):187-95. doi: 10.1016/s1079-2104(99)70116-2
109. Santos FGA, Vasconcelos AC, Moro L, Nunes JES, Paixão TA. Apoptosis in the canine transmissible venereal tumor: morphological features and biochemical evidence. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2001;53(5):557-62. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352001000500008>
110. Moro L, Martins AS, Alves CM, Santos FG, Del Puerto HL, Vasconcelos AC. Apoptosis in the cerebellum of dogs with distemper. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2003;50(5):221-5. doi: 10.1046/j.1439-0450.2003.00657.x
111. Santos FGA, Vasconcelos AC, Nunes JES, Casalli GD, Paixão TA, Martins AS, et al. Apoptosis in the transplanted canine transmissible venereal tumor during growth and regression phases. *Arq Bras Med. Vet. Zootec*. 2008;60(3):07-612. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000300013>
112. He C, Liu G, Zhuang S, Zhang J, Chen Y, Li H, et al. Yu Nu Compound Regulates Autophagy and Apoptosis Through mTOR in vivo and vitro. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020 Jun 18;13:2081-2092. doi: 10.2147/DMSO.S253494
113. Wang X, Mi Y, Xiong X, Bao Z. The Protective Effect of Sulforaphane on ER-induced Apoptosis and Inflammation in Necrotizing Enterocolitis Mice. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2023;26(6):1186-1195. doi: 10.2174/1386207325666220705115007

- 114.Hedberg N, Hunter N. A semi-quantitative assessment of the histopathology of oral lichen planus. *J Oral Pathol* 1986;15(5):268-72. doi: 10.1111/j.1600-0714.1986.tb00621.x
- 115.Doddawad VG. Histopathological analysis of apoptotic cell count and its role in oral lichen planus. *J Oral Pathol*. 2014;15(5):268-72. doi: 10.1111/j.1600-0714.1986.tb00621.x
- 116.Zhou XJ, Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in oral lichen planus. *J Cutan Pathol*. 2001;28(2):72-82. doi: 10.1034/j.1600-0560.2001.280203.x
- 117.Zhou XJ, Sugerman PB, Savage NW, Walsh LJ, Seymour GJ. Intra-epithelial CD8+ T cells and basement membrane disruption in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med*. 2002;31(1):23-7. doi: 10.1046/j.0904-2512.2001.10063.x
- 118.Ragaz A, Ackerman AB. Evolution, maturation, and regression of lesions of lichen planus. New observations and correlations of clinical and histologic findings. *Am J Dermatopathol*. 1981;3(1):5-25. doi: 10.1097/00000372-198100310-00002

# APÊNDICE

APÊNDICE A– Ficha aplicada para coleta de dados morfológicos



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
LABORATÓRIO DE BIOQUÍMICA ORAL

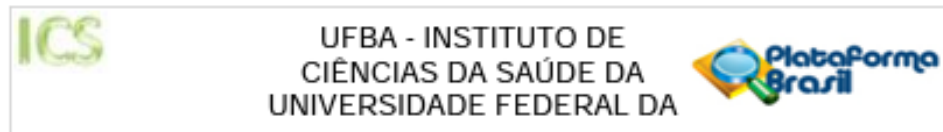


TÍTULO DA PESQUISA: INFLUÊNCIA DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO  
SUBEPITELIAL NAS CARACTERÍSTICAS DO TECIDO EPITELIAL DAS LESÕES  
DE LÍQUEN PLANO ORAL: ESTUDO MORFOLÓGICO

LÂMINAS	CORPOS DE CIVATTE (QUANTIL)	GRAU DE INFLAMAÇÃO (AUSÊNTE (0); DISCRETO (+); MODERADO (++); INTENSO (+++))	EXOCITOSE (A/P)	DEGENE. CAMADA BASAL (A/P)	OBSERVAÇÕES
PS 1					
PS 2					
PS 3					
PS 4					
PS 5					
PS 6					
PS 7					
PS 8					
PS 9					
PS 10					
PS 11					
PS 12					
PS 13					
PS 14					
PS 15					
PS 16					
PS 17					
PS 18					
PS 19					
PS 20					
PS 21					
PS 22					
PS 23					
PS 24					
PS 25					
PS 26					
PS 27					
PS 28					
PS 29					
PS 30					
PS 31					
PS 32					
PS 33					
PS 34					
PS 35					
PS 36					
PS 37					
PS 38					
PS 39					
PS 40					
PS 41					

# **ANEXOS**

## ANEXO A – Parecer do CEP – ICS/UFBA



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** LÍQUEN PLANO ORAL: CORRELAÇÃO ENTRE A SEVERIDADE CLÍNICA E CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS

**Pesquisador:** Gabriela Botelho Martins

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 86584518.2.0000.5662

**Instituição Proponente:** Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.659.387

**Apresentação do Projeto:**

O Líquen Plano Oral (LPO) é uma doença inflamatória crônica que acomete a cavidade oral e as superfícies mucocutâneas, e cujo diagnóstico é clínico-histopatológico. Existem diversas formas de apresentação clínica da doença, entre elas as formas reticular e erosiva, mais conhecidas. A Organização Mundial da Saúde classifica o LPO com uma condição potencialmente maligna, podendo o processo de malignização ocorrer em 1% dos casos. Entre os critérios histológicos estabelecidos para diagnóstico do LPO estão a presença da degeneração da camada basal epitelial e a presença de uma faixa subepitelial de infiltrado inflamatório. Todavia, estes não são suficientes para determinar a severidade da doença e sua evolução clínica. Assim, o objetivo deste estudo será verificar a correlação entre a severidade dos aspectos clínicos e características histomorfológicas nas lesões de LPO. Espera-se com isso contribuir para determinar critérios mais objetivos e que auxiliem no rastreamento de lesões mais agressivas e com maior potencial de malignização.

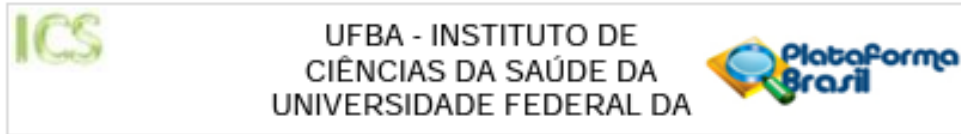
**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Verificar a correlação entre a severidade dos aspectos clínicos e achados histomorfológicos nas lesões de líquen plano oral.

**Objetivo Secundário:**

<b>Endereço:</b> Miguel Calmon	
<b>Bairro:</b> Vale do Canela	<b>CEP:</b> 40.110-902
<b>UF:</b> BA	<b>Município:</b> SALVADOR
<b>Telefone:</b> (71)3283-8961	<b>E-mail:</b> cep.ics@outlook.com



Continuação do Parecer: 2.659.387

- 1) Descrever os aspectos histológicos do líquen plano oral na amostra estudada
- 2) Descrever os aspectos histomorfométricos do líquen plano oral na amostra estudada; 3) Correlacionar os achados histomorfométricos com os aspectos clínicos do líquen plano oral.
- 4) Verificar se há variações nos aspectos histomorfométricos em um mesmo grupo clínico de lesões de LPO.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os riscos inerentes a esta pesquisa são mínimos se referem à identificação dos indivíduos e vazamento de dados, visto que não serão abordados os pacientes pessoalmente e sim apenas os laudos histopatológicos e lâminas já preparadas e coradas em HE e arquivadas. Para minimizar este risco mínimo, apenas a pesquisadora avaliará os dados e coletará as informações necessárias dos laudos, a partir daí identificando os indivíduos por registro numérico.

**Benefícios:**

O conhecimento de aspectos diferenciados observados através da histomorfometria para cada tipo clínico do LPO, bem como a identificação das lesões por seus aspectos histológicos como sendo mais potencialmente agressiva pode sugerir abordagens diferenciadas nos pacientes, incluindo a realização de procedimentos de biópsias para todas as formas clínicas, o que hoje não é preconizado como primeira opção de análise. Critérios mais objetivos de análise deste material poderão sugerir intervenções precoces e rastreamento de indivíduos com risco de desenvolvimento de câncer de boca

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo que será realizado a partir dos dados obtidos de laudos histológicos e material biopsiado (lâminas histológicas) de pacientes com Líquen Plano Oral (LPO), arquivados no Laboratório de Patologia Oral do Curso da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP). Será utilizada uma amostra não probabilística de conveniência onde serão incluídos todos os casos biopsiados e diagnosticados como LPO nos últimos cinco anos e arquivados no referido laboratório.

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

Todos foram apresentados.

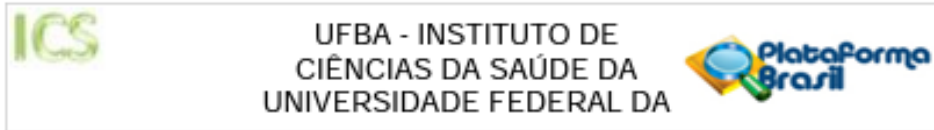
**Recomendações:**

Apresentar Relatórios. Promover a devolutiva dos resultados

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

Os princípios éticos e bioéticos foram contemplados. Opino pela Aprovação.

<b>Endereço:</b> Miguel Calmon	<b>CEP:</b> 40.110-902
<b>Bairro:</b> Vale do Canela	
<b>UF:</b> BA	<b>Município:</b> SALVADOR
<b>Telefone:</b> (71)3283-8951	<b>E-mail:</b> cep.ics@outlook.com



Continuação do Parecer: 2.659.387

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde (CEP ICS), de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº. 466 de 2012 e na Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP ICS de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente em a cada seis meses e ao término do estudo. O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 466/12 em substituição à Res. CNS 196/96 - Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d). O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.3.z), aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa (Item V.3) que requeiram ação imediata. O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária ANVISA junto com seu posicionamento.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1101384.pdf	27/03/2018 15:58:09		Aceito
Outros	Confidencialidade.PDF	27/03/2018 15:57:19	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Outros	FICHADEAVALIACAOPROJETOLPO.pdf	27/03/2018 15:56:04	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Outros	Equipe.pdf	27/03/2018 15:47:06	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Outros	Termodeusodeprontuarios.pdf	27/03/2018 15:45:15	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Outros	Cartaencaminhamento.pdf	27/03/2018 15:43:54	Gabriela Botelho Martins	Aceito

Endereço: Miguel Calmon  
 Bairro: Vale do Canela CEP: 40.110-902  
 UF: BA Município: SALVADOR  
 Telefone: (71)3283-8961 E-mail: cep.ics@outlook.com





UFBA - INSTITUTO DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA



Continuação do Parecer: 2.659.387

Declaração de Instituição e Infraestrutura	Cartaanuencia.pdf	27/03/2018 15:43:31	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termoresponsabilidade.pdf	27/03/2018 15:42:53	Gabriela Botelho Martins	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DispensaTCLE.PDF	27/03/2018 15:41:58	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOLPO.pdf	27/03/2018 15:41:04	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoLPO.PDF	27/03/2018 15:40:25	Gabriela Botelho Martins	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

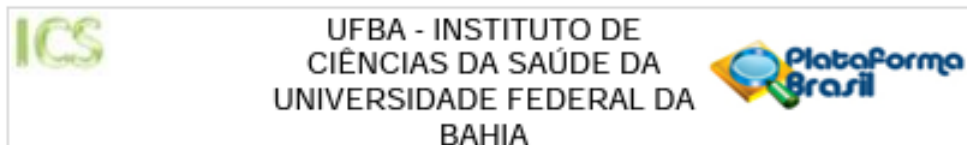
SALVADOR, 17 de Maio de 2018

---

Assinado por:  
**Antônio Fernando Pereira Falcão**  
(Coordenador)

Endereço: Miguel Calmon  
Bairro: Vale do Canela CEP: 40.110-902  
UF: BA Município: SALVADOR  
Telefone: (71)3283-8951 E-mail: cap.ics@outlook.com

## ANEXO B - Parecer do CEP – ICS/UFBA: Emenda



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** LÍQUEN PLANO ORAL: CORRELAÇÃO ENTRE A SEVERIDADE CLÍNICA E CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS

**Pesquisador:** Gabriela Botelho Martins

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 86584518.2.0000.5662

**Instituição Proponente:** Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 5.213.550

**Apresentação do Projeto:**

As informações elencadas nos campos "Apresentação do projeto", "Objetivo da pesquisa", "Avaliação de riscos e benefícios" foram retiradas do arquivo "Informações básicas do projeto (PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1851092\_E2 de 09/12/2021) e da "EMENDA" de 08/12/2021. O estudo que visa verificar a correlação entre a severidade dos aspectos clínicos e características histomorfométricas nas lesões de Líquen Plano Oral, que é uma doença inflamatória crônica que acomete a cavidade oral e as superfícies mucocutâneas, cujo diagnóstico é clínico-histopatológico e que apresenta diversas formas de apresentação clínica. Espera-se com isso contribuir para determinar critérios mais objetivos e que auxiliem no rastreamento de lesões mais agressivas e com maior potencial de malignização. Será realizado a partir dos dados obtidos de laudos histológicos e material biopsiado (lâminas histológicas) de pacientes com Líquen Plano Oral (LPO), arquivados no Laboratório de Patologia Oral do Curso da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) e DO LABORATÓRIO DE PATOLOGIA BUCAL DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA(UEFS). Será utilizada uma amostra não probabilística de conveniência onde serão incluídos todos os casos biopsiados e diagnosticados como LPO nos últimos cinco anos e arquivados nos referidos laboratórios. Serão excluídos os laudos cujos pacientes tiveram diagnóstico histopatológico de reações liquenóides; pacientes sem diagnóstico final e/ou sugestivo de displasia epitelial, câncer ou outras lesões que fazem diagnóstico diferencial com o

**Endereço:** Miguel Calmon

**Bairro:** Vale do Candia

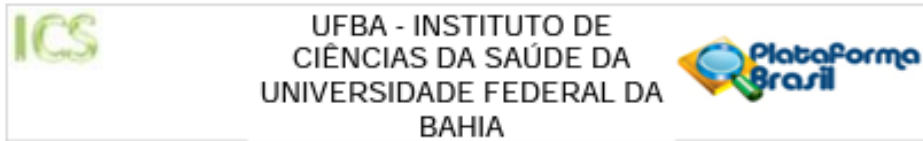
**UF:** BA

**Município:** SALVADOR

**CEP:** 40.110-902

**Telefone:** (71)3283-8961

**E-mail:** copics@ufba.br



Continuação do Parecer: S. 213.550

LPO, bem como aqueles cujas lâminas não tenham condições de serem reavaliadas, por exemplo, pela presença de fungos.

**Objetivo da Pesquisa:**

**Objetivo Primário:**

Verificar a correlação entre a severidade dos aspectos clínicos e achados histomorfométricos nas lesões de líquen plano oral.

**Objetivos Secundários:**

- 1) Descrever os aspectos histológicos do líquen plano oral na amostra estudada 2) Descrever os aspectos histomorfométricos do líquen plano oral na amostra estudada;
- 3) Correlacionar os achados histomorfométricos com os aspectos clínicos do líquen plano oral.
- 4) Verificar se há variações nos aspectos histomorfométricos em um mesmo grupo clínico de lesões de LPO;
- 5) Quantificar a densidade do infiltrado inflamatório subepitelial nas lesões de LPO dos tipos brancas e vermelhas;
- 6) Associar a degeneração da camada basal com a presença dos corpos de Civatte nas lesões de LPO dos tipos brancas e vermelhas;
- 7) ASSOCIAR A ACANTOSE EPITELIAL COM O GRAU DE GRAU DE INFLAMAÇÃO DO TECIDO NAS LESÕES DE LPO DOS TIPOS BRANCAS E VERMELHAS;
- 8) ASSOCIAR O GRAU DE INFLAMAÇÃO DO TECIDO COM A PRESENÇA DOS CORPOS DE CIVATTE NAS LESÕES DE LPO DOS TIPOS BRANCAS E VERMELHAS;
- 9) ASSOCIAR PROFUNDIDADE DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO COM A QUANTIDADE DE CORPOS DE CIVATTE PRESENTES NAS LESÕES DE LPO DOS TIPOS BRANCAS E VERMELHAS.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

**Riscos:**

Os riscos inerentes a esta pesquisa são mínimos se referem à identificação dos indivíduos e vazamento de dados, visto que não serão abordados os pacientes pessoalmente e sim apenas os laudos histopatológicos e lâminas já preparadas e coradas em HE e arquivadas. Para minimizar este risco mínimo, apenas a pesquisadora avaliará os dados e coletará as informações necessárias dos laudos, a partir daí identificando os indivíduos por

**Endereço:** Miguel Calmon  
**Bairro:** Vale do Canela  
**UF:** BA **Município:** SALVADOR **CEP:** 40.110-902  
**Telefone:** (71)3283-8961 **E-mail:** copics@ufba.br



UFBA - INSTITUTO DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
BAHIA



Continuação do Parecer: 5.213.550

registro numérico.

**Benefícios:**

O conhecimento de aspectos diferenciados observados através da histomorfometria para cada tipo clínico do LPO, bem como a identificação das lesões por seus aspectos histológicos como sendo mais potencialmente agressiva pode sugerir abordagens diferenciadas nos pacientes, incluindo a realização de procedimentos de biópsias para todas as formas clínicas, o que hoje não é preconizado como primeira opção de análise. Critérios mais objetivos de análise deste material poderão sugerir intervenções precoces e rastreamento de indivíduos com risco de desenvolvimento de câncer de boca.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Estudo Nacional, unicêntrico. Trata-se de uma pesquisa retrospectivo transversal, tendo como procedimento de coleta de dados uma ficha elaborada pelos pesquisadores especificamente para este estudo. Tem caráter acadêmico, realizado como projeto de pesquisa do Laboratório de Bioquímica oral do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, com financiamento próprio. Será realizado no Brasil, com 50 participantes. Propõe dispensa de TCLE com a seguinte justificativa: Trata-se de pesquisa transversal retrospectiva com uso de lâminas já existentes e já arquivadas no Laboratório de Anatomia Patológica da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública e no Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS). Este material (arquivado) foi obtido por indicação de procedimento cirúrgico dos pacientes no momento do seu atendimento ambulatorial no Curso de Odontologia das referidas instituições. Os procedimentos não foram realizados por solicitação das pesquisadoras e sim por necessidade dos pacientes. Não haverá contato das pesquisadoras com os indivíduos em questão, apenas com laudos histopatológicos e lâminas histopatológicas já existentes nos arquivos. Não haverá retenção de amostras para armazenamento em banco. Tem previsão de término em 2023.

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

Vide campo "Conclusões ou pendências e lista de inadequações".

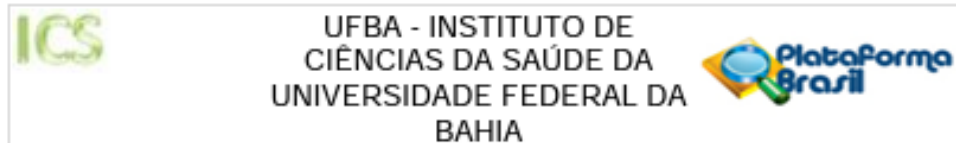
**Recomendações:**

Vide campo "Conclusões ou pendências e lista de inadequações".

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

Parecer favorável à aprovação da emenda.

<b>Endereço:</b> Miguel Calmon	<b>CEP:</b> 40.110-902
<b>Bairro:</b> Vale do Camela	
<b>UF:</b> BA	<b>Município:</b> SALVADOR
<b>Telefone:</b> (71)3283-8951	<b>E-mail:</b> cepsics@ufba.br



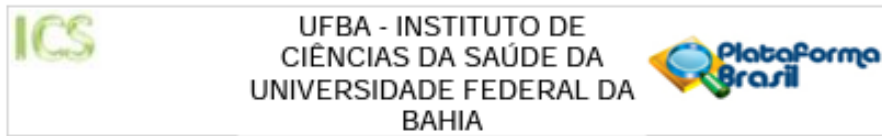
Continuação do Parecer: 5.213.550

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1851092_E2.pdf	09/12/2021 20:52:15		Aceito
Outros	Equipedetalhada2.pdf	08/12/2021 20:16:46	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Outros	EMENDA2LPO.pdf	08/12/2021 20:12:36	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Outros	CARTEEMENDA2.pdf	08/12/2021 20:12:11	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AnuenciadaEBMSP.pdf	29/10/2021 11:26:14	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartaAnuenciadaUEFS.pdf	29/10/2021 11:26:01	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartadeanuenciaLBOICS.pdf	29/10/2021 11:25:37	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	EquipedetalhadapesquisaLPO.pdf	29/10/2021 11:18:20	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	CartadeAnuenciaModificada.pdf	25/02/2019 23:06:38	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	EquipeDetalhadaModificada.pdf	25/02/2019 23:01:10	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Outros	CartadeEncaminhamentodeEmenda.pdf	25/02/2019 22:50:03	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCompletoModificadoLPO.pdf	25/02/2019 22:48:28	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Outros	Cartaemenda completa.pdf	12/01/2019 11:31:39	ANA CARLA BARLETTA SANCHES	Aceito
Outros	Confidencialidade.PDF	27/03/2018 15:57:19	Gabriela Botelho Martins	Aceito

Endereço: Miguel Calmon  
 Bairro: Vale do Canela CEP: 40.110-902  
 UF: BA Município: SALVADOR  
 Telefone: (71)3283-8951 E-mail: cegics@ufba.br



Continuação do Parecer: 5.213.550

Outros	FICHADAVALIACAOPROJETOLPO.pdf	27/03/2018 15:56:04	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Outros	Equipe.pdf	27/03/2018 15:47:06	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Outros	Termodeusodeprontuarios.pdf	27/03/2018 15:45:15	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Outros	Cartaacaminhamento.pdf	27/03/2018 15:43:54	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Cartaanuencia.pdf	27/03/2018 15:43:31	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termoresponsabilidade.pdf	27/03/2018 15:42:53	Gabriela Botelho Martins	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DispensaTCLE.PDF	27/03/2018 15:41:58	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOLPO.pdf	27/03/2018 15:41:04	Gabriela Botelho Martins	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoLPO.PDF	27/03/2018 15:40:25	Gabriela Botelho Martins	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SALVADOR, 27 de Janeiro de 2022

Assinado por:  
**MARCELLE ALVAREZ ROSSI**  
(Coordenador(a))

Endereço: Miguel Calmon  
Bairro: Vale do Canela CEP: 40.110-902  
UF: BA Município: SALVADOR  
Telefone: (71)3283-8951 E-mail: copics@ufba.br

**ANEXO C**– Carta de Anuência do Laboratório de Anatomia Patológica da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP).

ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

**Carta de Anuência**

**DECLARAÇÃO**

Eu "Sílvia Regina de Almeida Reis", na qualidade de responsável pelo(a) "Laboratório de Patologia Oral da Escola Bahiana de Medicina e Saúde pública", autorizo a realização da pesquisa intitulada "Líquen Plano Oral: Correlação entre severidade clínica e características histomorfológicas" a ser conduzida sob a responsabilidade da pesquisadora "Gabriela Botelho Martins"; e DECLARO que esta instituição apresenta infraestrutura necessária à realização da referida pesquisa. Esta declaração é válida apenas no caso de haver parecer favorável do Comitê de Ética do Instituto de Ciências da Saúde para a referida pesquisa.

Salvador, 16 de março de 2018.



Prof. Dra. Sílvia Regina Reis



**ANEXO D-** Carta de Anuência do Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**  
Autorizada pelo Decreto Federal No 77.496 de 27/04/76  
Reconhecida pela Portaria Ministerial No 874/86 de 19/12/86  
DEPARTAMENTO DE SAÚDE  
LABORATÓRIO DE PATOLOGIA BUCAL

**TERMO DE ANUÊNCIA**

Eu, **MÁRCIO CAMPOS OLIVEIRA**, na qualidade de responsável pelo(a) **LABORATÓRIO DE PATOLOGIA BUCAL DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA (UEFS)**, autorizo a realização da pesquisa intitulada **LÍQUEN PLANO ORAL: CORRELAÇÃO ENTRE A SEVERIDADE CLÍNICA E CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS** a ser conduzida sob a responsabilidade da pesquisadora **Prof. Dr<sup>a</sup> GABRIELA BOTELHO MARTINS** e os alunos da pós graduação **ANA CARLA BARLETTA SANCHES** e **JULIANA SANTOS DE JESUS AZEVEDO**, e **DECLARO** que esta instituição apresenta infraestrutura necessária à realização da referida pesquisa. Esta declaração é válida apenas no caso de haver parecer favorável do Comitê de Ética do Instituto de Ciências da Saúde para a referida pesquisa.

Feira de Santana, 27 de Outubro de 2021.

  
Prof. Márcio Campos Oliveira  
Coordenador do Laboratório de Patologia Bucal da UEFS



**ANEXO E - Carta de Anuência do Laboratório de Bioquímica Oral do Instituto de Ciência da Saúde (ICS) da Universidade Federal da Bahia (UFBA).**



Universidade Federal da Bahia  
Instituto de Ciências da Saúde  
Departamento de Bioquímica e Biofísica  
Laboratório de Bioquímica Oral



**TERMO DE ANUÊNCIA**

Declaro para os devidos fins que o Laboratório de Bioquímica Oral está de acordo com a execução do projeto "INFLUÊNCIA DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO NAS CARACTERÍSTICAS DO TECIDO EPITELIAL DAS LESÕES DE LÍQUEN PLANO ORAL: ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO", coordenado pela professora Gabriela Botelho Martins e desenvolvido por **Juliana Santos de Jesus Azevedo** e assume o compromisso de apoiar o desenvolvimento da referida pesquisa nesta Instituição durante a realização da mesma.

Esta instituição está ciente de suas co-responsabilidades como instituição coparticipante do presente projeto de pesquisa, e de seu compromisso dispo de infra-estrutura necessária para a execução do mesmo, cumprindo as Resoluções Éticas, em especial a Resolução 466/2012 do CNS.

Salvador, 22 de outubro de 2021

**Eisângela de Jesus Campos**

Profa. Adjunta de Bioquímica  
Coordenadora do Laboratório de Bioquímica Oral  
Departamento de Bioquímica e Biofísica  
Instituto de Ciências da Saúde  
Universidade Federal da Bahia  
Campus do Canela

Laboratório de Bioquímica Oral/ Sala 400 – Instituto de Ciências da Saúde da UFBA  
Av. Reitor Miguel Calmon, s/n – Vale do Canela, Campus do Canela,  
Tel. (71) 3283-8891 - CEP: 40160-100 – Salvador – Bahia – Brasil



Instituto de Ciências da Saúde  
Programa de Pós Graduação  
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas  
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100  
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsystem.ics.ufba.br>