

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGIA, SAÚDE COLETIVA E ODONTOLOGIA
LEGAL

RAFAELA CRISTINA JACINTHO

Avaliação da participação dos linfócitos B e plasmócitos na patogênese do Líquen Plano
Oral: correlação clínica, histopatológica e imuno-histoquímica.

Orientador(a): Prof^ª. Dr^ª. Ana Carolina Fragoso Motta

RIBEIRÃO PRETO

2023

RAFAELA CRISTINA JACINTHO

Avaliação da participação dos linfócitos B e plasmócitos na patogênese do Líquen Plano oral: correlação clínica, histopatológica e imuno-histoquímica.

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

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Ana Carolina Fragosso Motta

RIBEIRÃO PRETO

2023

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

RESUMO

O líquen plano oral (LPO) é uma doença inflamatória crônica que acomete a mucosa oral, acometendo frequentemente indivíduos do sexo feminino, especialmente na fase adulta e idosa. Caracteristicamente, a patogênese do LPO envolve principalmente a atuação de subpopulações de células T, incluindo linfócitos auxiliares T CD4 e citotóxicos T CD8, este último envolvido no processo de indução de apoptose de queratinócitos basais, que resulta na deterioração do epitélio oral. Por outro lado, a participação quantitativa e funcional de linfócitos B e plasmócitos no LPO permanece pouco elucidada, sendo um tópico pouco explorado na literatura. Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a expressão de marcadores de linfócitos B e plasmócitos em amostras de LPO, assim como avaliar se existe associação entre o padrão desta expressão com os aspectos clínicos e histopatológicos das lesões. Pacientes com diagnóstico de LPO foram convidados a participar do estudo. Para análise comparativa, foram incluídos também pacientes com lesão liquenoide oral (LLO) e hiperplasia fibrosa (HF). Perfil sociodemográfico dos pacientes, achados clínicos das lesões, achados microscópicos e expressão imuno-histoquímica (IHC) de CD19, CD20 e CD138 nas amostras de mucosa oral foi realizada. A amostra total do estudo consistiu em 189 pacientes, sendo 69 LPO, 76 LLO e 41 HF. Lesões em padrão reticular foram predominantes nos pacientes com LPO (67/71; 95,71%) e LLO (65/77; 84,41%), e o sítio mais acometido foi a mucosa jugal, tanto nos casos de LPO (53/71; 75,71%), quanto LLO (49/77; 63,63%). Nossos resultados exibiram expressão de CD19 em menos da metade dos casos nas amostras de LPO (17/71; 23,94%), LLO (24/77; 31,16%), sendo superior ao observado nas amostras de HF (6/14; 42,86%). Houve expressiva expressão de CD20 nas amostras de LPO (60/71; 84,50%) e LLO (58/77; 75,32%), quando comparado à observada nas amostras de HF (12/41; 29,27%). A expressão de CD138 foi observada em mais da metade dos casos analisados, tanto no LPO (40/71; 56,33%), quanto no LLO (41/77; 53,24%) e em 21,95% das amostras de HF (9/41). Nossos resultados suportam que linfócitos B e plasmócitos podem desempenhar um papel maior na etiopatogênese do LPO e LLO, do que tem sido relatado até o presente momento, porém, é esperado que o número de linfócitos B e plasmócitos seja menor quando comparado aos subconjuntos de linfócitos T.

Palavras-chave: Líquen plano oral. linfócitos T. linfócitos B. plasmócitos. CD19. CD20. CD138. Histopatológico. imuno-histoquímica.

ABSTRACT

Oral lichen planus (OLP) is a chronic inflammatory disease that affects the oral mucosa, frequently affecting females, especially in adults and the elderly. Characteristically, the pathogenesis of OLP mainly involves the action of subpopulations of T cells, including helper T CD4 and cytotoxic T CD8 lymphocytes, the latter involved in the process of inducing apoptosis of basal keratinocytes, which results in deterioration of the oral epithelium. On the other hand, the quantitative and functional participation of B lymphocytes and plasmocytes in OLP remains poorly elucidated, being a topic little explored in the literature. Therefore, this study aimed to evaluate the expression of B lymphocyte and plasma cell markers in OLP samples, as well as to assess whether there is an association between the pattern of this expression and the clinical and histopathological aspects of the lesions. Patients diagnosed with OLP were invited to participate in the study. For comparative analysis, patients with oral lichenoid lesion (OLL) and fibrous hyperplasia (FH) were also included. Sociodemographic profile of the patients, clinical findings of the lesions, microscopic findings and immunohistochemical (IHC) expression of CD19, CD20 and CD138 in the oral mucosa samples were performed. The total study sample consisted of 189 patients, 69 OLP, 76 OLL and 41 FH. Reticular pattern lesions were predominant in patients with OLP (67/71; 95.71%) and OLL (65/77; 84.41%), and the most affected site was the buccal mucosa, both in cases of OLP (53/71; 75.71%) and OLL (49/77; 63.63%). Our results showed CD19 expression in less than half of the cases in the OLP samples (17/71; 23.94%), LLO (24/77; 31.16%), being higher than that observed in the FH samples (6/ 14; 14.63%). There was expressive expression of CD20 in the OLP (60/71; 84.50%) and OLL (58/77; 75.32%) samples, when compared to that observed in the FH samples (12/41; 29.66%). . CD138 expression was observed in more than half of the analyzed cases, both in the OLP (40/71; 56.33%) and in the OLL (41/77; 53.24) and in 21.95% of the FH samples (9/41). Our results support that B lymphocytes and plasma cells may play a greater role in the etiopathogenesis of OLP and OLL than what has been reported so far, however, it is expected that the number of B lymphocytes and plasma cells is lower when compared to lymphocyte subsets T.

Keywords: Oral lichen planus. T lymphocytes. B. cell lymphocytes. CD19. CD20. CD138. Histopathological. Immunohistochemistry.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	MATERIAIS E MÉTODOS	8
3	RESULTADOS	9
4	DISCUSSÃO	13
5	CONCLUSÃO	14
6	REFERÊNCIAS	14

1 INTRODUÇÃO

O líquen plano oral (LPO) é uma doença crônica inflamatória que acomete a mucosa oral caracterizada pela presença de lesões com diferentes apresentações clínicas, segundo os critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e por van der Meij e van der Waal (1,2), baseado na correlação clinicopatológica, na qual são contempladas lesões com padrão reticular, bilaterais e com certo grau de simetria, bem como a presença de uma zona de infiltrado de linfócitos dispostos em banda na região superior da lâmina própria e degeneração liquefativa na camada basal do epitélio oral. Em geral, 0,1% a 4% da população geral é afetada, e os indivíduos têm idade entre 30 e 70 anos, sendo as mulheres mais comumente acometidas (proporção homem/mulher de 1:2) (3-5). Enquanto a etiologia do LPO é desconhecida, podendo estar relacionada com fatores como estresse, resposta autoimune a antígenos epiteliais, resposta a antígenos externos, infecções virais e associação com doenças sistêmicas (1, 4-6), na lesão liquenóide oral (LLO) seu aparecimento está associado com reações de hipersensibilidade à materiais dentários restauradores (com destaque para o amálgama), uso de medicamentos sistêmicos e doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD, do inglês graft versus host disease) (7). Além disso, casos exibindo características clínicas e/ou histopatológicas de LPO, porém não satisfazem os critérios para o diagnóstico conclusivo de LPO, também são categorizadas como LLO (2).

A literatura suporta que o desenvolvimento das lesões esteja relacionado a desordens no funcionamento de linfócitos T CD8+, os quais são ativados contra autoantígenos (1). Especificamente em relação ao LPO, sabe-se que na mucosa oral, as células de Langerhans (CL) presentes no epitélio e as células dendríticas no tecido conjuntivo são responsáveis por detectarem o estímulo antigênico, induzindo a resposta imune celular aos linfócitos T CD4+ nos linfonodos regionais, e como resultado dessa interação entre células, há a ativação dos linfócitos T CD8+ citotóxicos, com liberação intensa de citocinas tais como interleucina-2 (IL-2), interferon-gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), mantendo a ativação das células T CD8+ (8,9). Esses linfócitos então se deslocam dos linfonodos ao tecido epitelial, e induzem a apoptose aos queratinócitos, levando a destruição da camada basal do epitélio, por mecanismos ainda pouco compreendidos e controversos (6,10).

Interessantemente, a participação quantitativa e funcional de linfócitos B na patogênese do LPO permanece pouco elucidada, sendo um tópico pouco explorado na literatura. Um dos principais marcadores de superfície dos linfócitos B é a molécula CD20, que corresponde a uma fosfoproteína glicosilada, localizada e expressa na membrana plasmática de linfócitos B (11). Embora sua função não esteja clara, sabe-se que esta proteína

desempenha um papel na regulação da diferenciação e crescimento de linfócitos B, no qual o CD20 controla o ciclo celular do estado de repouso G0 para o estado G1, como também, o ciclo celular da fase S à mitose (12-14). Segundo Deans e colaboradores (2003), a proteína CD20 age como um canal de cálcio, no qual pode facilitar a entrada de cálcio Ca^{2+} extracelular, todavia o tipo de canal e as condições nas quais levam à sua ativação não foram elucidadas (15).

Segundo, Li X, et al, o desenvolvimento e a função dos linfócitos B é regulado por sinais transmitidos pelo receptor BCR e moléculas reguladoras na membrana plasmática, incluindo CD21, CD22, CD72, CD32b e CD19. Especificamente, o CD19, o qual corresponde a uma proteína transmembrana tipo I, que atua na regulação positiva para a sinalização de linfócitos B, mobilização de cálcio, melhora da ativação da MAP quinase, dentre outras funções. (35). O CD19 é restrito à linhagem de linfócitos B e células dendríticas foliculares, células das quais funcionam como apresentadoras de antígenos (16,17).

Resultados preliminares de um estudo transversal publicado recentemente por nosso grupo de pesquisa indicam que a frequência e quantidade de células CD20 no infiltrado subepitelial são semelhantes no LPO e LLO, sendo mais numerosos em casos com infiltrado linfocítico de distribuição difusa (18). Estes resultados sugerem que os linfócitos B, apesar de menos frequente quando comparados às subpopulações de linfócitos T, podem ter um papel significativo na patogênese do LPO/LLO, além do que se acredita atualmente (15,18). A participação deste tipo celular no LPO/LLO pode ser explicada pela presença de citocinas encontradas no microambiente inflamatório destas lesões, incluindo interleucina (IL)-2, IL-4, IL-6, IL-10 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que possuem funções biológicas associadas com a diferenciação, ativação e proliferação de linfócitos B (19).

Ressalta-se que a diferenciação terminal de linfócitos B deriva na formação de plasmócitos, células com baixa capacidade proliferativa e com atuação chave na imunidade humoral (20). Esta diferenciação é regulada fortemente pela ação de citocinas e afinidade entre receptores de linfócitos B (BCR) e antígeno (21). Sabe-se que estas células são capazes de sintetizar e secretar proteínas, bem como produzir anticorpos (22). Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que a função dos plasmócitos não se resume à produção e secreção de anticorpos, exclusivamente, uma vez que estas células podem estar envolvidas no processo de secreção de citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias (22-24). Dentre os componentes estruturais do plasmócitos, destaca-se o CD138 (Syndecan-1), um proteoglicano de sulfato de heparano transmembrana expresso na superfície de plasmócitos maduros, que atua na adesão entre células e na adesão célula-matriz extracelular. Em investigações imuno-

histoquímicas, o anticorpo para CD138 tem sido amplamente utilizado para detecção plasmocitária em condições de normalidade e patológicas (25-28). Assim como no contexto dos linfócitos B, pouco é conhecido sobre a presença de plasmócitos no LPO/LLO, justificado pelo pressuposto de serem achados mínimos nestas lesões (12,18). Em uma publicação recente, Mahdavi e colaboradores (2020) observaram que aproximadamente 60% dos casos de LPO apresentava imunopositividade para CD138, com, entretanto, padrão de marcação discreta (menos de 5% do infiltrado subepitelial) (29). Curiosamente, não foi encontrado, até o momento, nenhum estudo utilizando metodologia confiável para o reconhecimento e quantificação de plasmócitos no LLO.

Considerando nossos resultados preliminares acerca da presença de linfócitos B no LPO e LLO e a necessidade de maior compreensão da relação entre linfócitos B, plasmócitos e o envolvimento na patogênese destas lesões, o presente estudo tem por objetivo ampliar as análises do estudo prévio, determinando a frequência de linfócitos B e plasmócitos em espécimes de LPO e LLO, por meio de estudo imuno-histoquímico, correlacionando essa frequência com os parâmetros clínicos e histopatológicos das lesões.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de um estudo observacional do tipo transversal, com 3 grupos de estudo. A amostra consistiu de casos com diagnóstico de LPO, LLO e HF, este último foi incluído como controle negativo da análise imuno-histoquímica (IHC). Parte destas amostras correspondeu a pacientes incluídos em nosso estudo preliminar (16). Em relação aos parâmetros clínicos, foram investigadas informações relativas à idade, sexo, raça, forma clínica e localização. Esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (CAAE: 33703114.8.0000.5419) e todos os pacientes forneceram consentimento por escrito.

Dentre os aspectos morfológicos, foi avaliada a presença das seguintes alterações: hiperqueratose, acantose, atrofia, exocitose de linfócitos, presença de degeneração liquefativa da camada basal, espongirose, queratinócitos necróticos (corpos de Civatte) e o padrão do infiltrado inflamatório linfocitário subepitelial, o qual foi determinado por meio de uma escala modificada de Montague e colaboradores (2017) (30) (ver descrição detalhada na tabela 2).

A análise imunofenotípica das amostras de LPO, LLO e HF foi realizada por meio de teste IHC, e os anticorpos CD19 (EP169; BioSB, Santa Barbara, Califórnia, EUA) e CD20 (L26; Dako, Carpinteria, Califórnia, EUA) foram usados como marcadores de linfócitos B. O anticorpo CD138 (B-A38; BioSB, Santa Barbara, Califórnia, EUA) foi usado como marcador

de plasmócitos. A presença de linfócitos CD19+ e CD20+, plasmócitos CD138+ (padrão de coloração de membrana), foi determinada por meio do uso do H-DAB Image J Software (National Institutes of Health, Maryland). A quantificação do número de linfócitos B e plasmócitos foi relatada como área percentual (porcentagem do total de pixels) dos seus respectivos anticorpos corados, conforme relatado por Andrade et al (31).

3. RESULTADOS

Nossa amostra total de estudo constituiu de 189 pacientes, sendo 69 casos de LPO, 76 casos de LLO e 41 casos de (HF). Há uma diferença no número de amostras em relação a análise clínica comparada a histopatológica e imuno-histoquímica, dado que alguns pacientes de LPO e LLO, possuíam mais de um sítio de biópsia realizada, logo, o número de amostras é maior nesses últimos parâmetros em razão de haver duas amostras para um mesmo paciente. Observou-se que 95,71% (67/70) dos pacientes com LPO apresentavam lesões reticulares bilaterais e 48,85% (30/70) apresentavam lesões eritematosas/atróficas. A mucosa jugal foi o sítio mais acometido 75,71% (53/70). Em relação aos pacientes com LLO, mais da metade dos pacientes apresentavam lesões reticulares bilaterais 84,41% (65/77), tendo a mucosa jugal como local mais acometido 63,63% (49/77), seguido da língua 45,45% (35/77) e gengiva 29,87% (23/77). Todos os pacientes com HF apresentaram lesões nodulares assintomáticas. O local mais acometido foi a mucosa jugal 36,58% (15/41), seguido do vestíbulo 17,07% (7/41). Semelhantemente aos pacientes com LPO e LLO, a maioria dos pacientes com HF 65,85% (27/41) era do sexo feminino, com idade mediana na quinta década de vida (Tabela 1).

O exame histopatológico das amostras revelou degeneração liquefativa da camada de células basais e um infiltrado linfocítico em forma de banda no tecido conjuntivo subepitelial de todas as amostras de LPO e em 80,51% (62/77) das amostras de LLO (Figura 1). Hiperqueratose foi observada em 80,28% (57/70) das amostras de LPO e 84,41% das amostras de LLO (65/77), corpos apoptóticos foram encontrados em 42,25% (30/71) das amostras de LPO e 39 (50,64%) de LLO. Acantose correspondeu a 80,28% (57/71) das amostras de LPO e 84,41% (65/77) de LLO; a exocitose estava presente em 84,50% (60/71) das amostras de LPO e 84,41% (65/77) dos casos de LLO. Os padrões inflamatórios liquenóides difusos foram os mais frequentemente observados nas amostras de LPO 80,28% (54/71) e LLO 57,14% (44/77). Foi observado o padrão minimamente inflamado em quatro casos de LPO (5,63%) e em cinco (6,49%) casos de LLO (o padrão de inflamação é descrito em detalhes na tabela 2). Quanto aos espécimes de HF, todos foram caracterizados por epitélio escamoso estratificado com áreas hiperplásicas ou atróficas e tecido conjuntivo

fibroso denso com leve infiltrado inflamatório crônico focal, conforme relatado previamente. (18). Não foi observada inflamação aguda ou crônica significativa ou exocitose linfocítica em amostras de HF (Figura 1).

Tabela 1. Distribuição dos casos de acordo com o diagnóstico de Líquen Plano Oral (LPO), Lesão Liquenóide Oral (LLO) e Hiperplasia Fibrosa (HF) e de acordo com sexo, sítio, tipo da lesão e cor.

Características		Total	LPO	LLO	HF
		(n = 186)	N = 69 pacientes N = 70 amostras	N = 76 pacientes N = 77 amostras	N = 41
Sexo ¹	Feminino	130 (69,89%)	47 (68,11%)	56 (77,68%)	27 (65,85%)
	Masculino	56 (30,10%)	22 (31,88%)	20 (26,31%)	14 (34,14%)
Cor ¹	Branca	143 (76,88%)	60 (86,95%)	53 (69,73%)	30 (73,17%)
	Preta	30 (16,12%)	5 (7,24%)	17 (22,36%)	8 (19,51%)
	Parda	11 (5,91%)	4 (5,79%)	4 (6,57%)	3 (7,31%)
	Amarela	2 (1,07%)	1 (1,44%)	1 (1,31%)	0
Tipo da lesão	Reticular e/ou Placa	132 (70,96%)	67 (95,71%)	65 (84,41%)	-
	Atrófico/Eritematoso	62 (33,33%)	30 (48,85%)	31 (40,25%)	-
	Erosiva e/ou Ulcerativa	17 (9,13 %)	10 (14,28%)	7 (9,09%)	-
	Nodular	-	-	-	41 (100%)
Sítio	Mucosa Jugal	117 (62,90%)	53 (75,71%)	49 (63,63%)	15 (36,58%)
	Gengiva	48 (25,80%)	23 (32,85%)	23 (29,87%)	2 (4,87%)
	Lábio	19 (10,21%)	5 (7,14%)	8 (10,38%)	6 (14,63%)
	Língua	61 (32,79%)	20 (28,57%)	35 (45,45%)	6 (14,63%)
	Palato	8 (4,30%)	2 (2,85%)	3 (3,89%)	3 (7,31%)
	Rebordo alveolar	10 (5,37%)	2 (2,85%)	4 (5,19%)	4 (9,75%)
	Vestíbulo	30 (16,12%)	10 (14,28%)	13 (16,88%)	7 (17,07%)
	Envolvimento Múltiplo	48 (25,80%)	28 (40%)	20 (25,97%)	0

¹O número de amostras é menor entre o sexo e cor em relação às características clínicas avaliadas: tipo de lesão e sítio, dado que há pacientes com mais de uma biópsia nos casos de LPO/LLO.

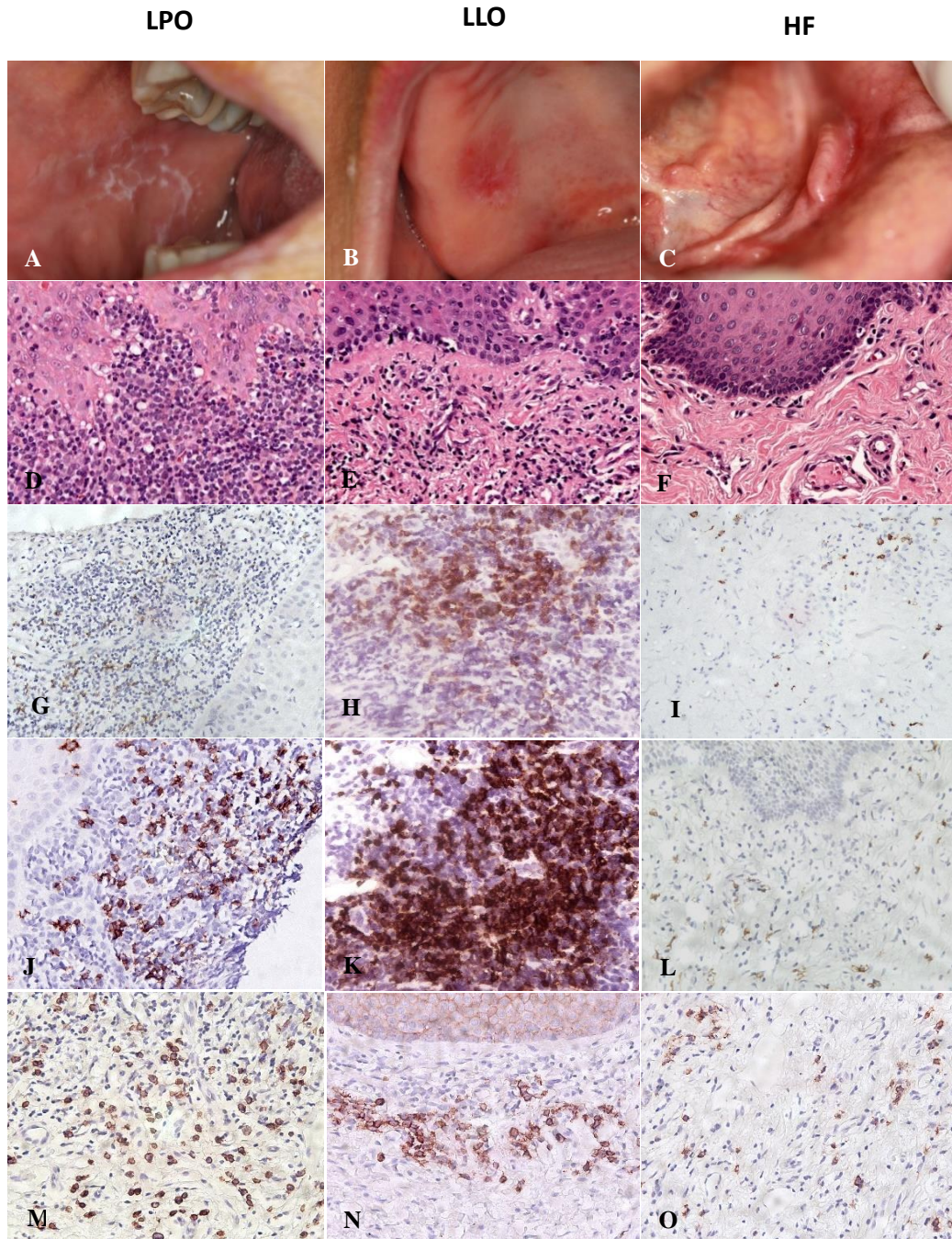


Figura 1. Imagens ilustrativas das características clínicas, histopatológicas e imuno-histoquímicas (IHC) de pacientes com líquen plano oral (OLP), lesões liquenóides orais (LLO) e hiperplasia fibrosa (HF). Presença de lesões brancas tipo rendado com padrão reticular na mucosa bucal de paciente com LPO (A), lesões eritematosas/erosivas na gengiva de paciente com LLO (B) e lesões nodulares na mucosa alveolar de paciente com HF (C; seta). Observe o infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear em espécimes de LPO e LLO (D e E), e tecido conjuntivo denso com células inflamatórias escassas no espécime de HF (F) (hematoxilina-eosina—H&E; ampliação original em 400 \times). Expressão IHC de CD19 em amostras de LPO (G), LLO (H) e HF (I); expressão IHC de CD20 em amostras de LPO (J), LLO (K), e HF (L); expressão IHC de CD138 em amostras de LPO (M), LLO (N) e HF (O) (IHC: ampliação original \times 400).

Tabela 2. Resultados das análises morfológicas em amostras de líquen plano oral (LPO), lesões liquenóides orais (LLO) e hiperplasia fibrosa (HF), respectivamente.

	LPO N=71	LLO N= 77	HF N=41
Epitélio			
Hiperqueratose	57	65	00
Acantose	57	65	38
Atrofia	9	5	5
Exocitose de linfócitos	60	65	20
Espongiose	57	61	-
Corpos apoptóticos	30	39	-
Degeneração vacuolar	100	62	-
Padrão do Infiltrado			
inflamatóriolinfocítico subepitelial²			
Grau 0	4	8	0
Grau 1	12	20	11
Grau 2	54	44	2

²Escala modificada de Montague e colaboradores (2017): Grau 0: minimamente inflamado (infiltrado inflamatório linfocítico em menos de 15% do tecido avaliado); Grau 1: padrão liquenóide localizado (infiltrado inflamatório linfocítico tipo banda presente em 15% a 50% do tecido avaliado); Grau 2: padrão liquenóide difuso (infiltrado inflamatório linfocítico tipo banda em mais de 50% dos tecidos avaliado).

Em nossa análise, células CD19+ foram encontradas em 23,94% dos espécimes (17/71) de LPO e LLO 31,16% (24/77), em comparação a 14,63% casos de HF (6/41). Células CD20+ foram detectadas nas amostras de LPO 84,50% (60/71) e 75,32% (58/77) nas amostras de LLO, enquanto nas amostras de HF, as células positivas correspondiam a 29,66% (12/41). Em relação às células CD138+, foram detectadas em 56,33% (40/71) das amostras de LPO e 53,24% (41/77) das amostras de LLO; nos espécimes de HF, a quantidade de células positivas correspondeu a 21,95% (9/41). A distribuição da média percentual (área total de pixels), médias e desvio padrão das contagens independentes de campos das amostras de LPO, LLO e HF estão demonstrados na tabela 3.

Tabela 3. Resultados da média percentual (porcentagem do total de pixels), médias \pm desvio padrão das áreas coradas de campos imuno-histoquímicos, de acordo com o diagnóstico de Líquen Plano Oral (LPO), Lesão Liquenoide Oral (LLO) e Hiperplasia Fibrosa (HF)³.

	LPO			LLO			HF		
	CD19 (n=71)	CD20 (n=71)	CD138 (n=71)	CD19 (n=77)	CD20 (n=77)	CD138 (n=77)	CD19 (n=41)	CD20+ (n=41)	CD138+ (n=41)
Média	460,98	24266,45	5118,89	5667,98	27763,19	12230,20	449,89	6914,82	6956,39
Desvio Padrão	647,81	32872,85	5407,84	9682,49	44426,28	20950,46	2119,57	11936,03	8664,85

³A divergência do N para cada marcador justifica-se pois para alguns casos a análise imuno-histoquímica não foi realizada, por problemas técnicos.

4. DISCUSSÃO

É notório que os linfócitos B possuem funções importantes na imunidade humoral, tais células apresentadoras de antígeno, e quando estão ligados ao antígeno, são ativadas, resultando em sua proliferação e diferenciação em plasmócitos. Contudo, ainda não há na literatura, estudos suficientes que abordem detalhadamente a participação quantitativa e funcional dos linfócitos B nas doenças autoimunes mucocutâneas crônicas (1). Em nosso estudo preliminar, detectamos linfócitos B CD20+ em 89,6% dos casos de LPO e 82,1% dos casos de LLO (16). Até a redação deste trabalho, cinco estudos avaliando linfócitos B em LPO/LLO por meio da técnica de IHQ foram publicados na literatura de língua inglesa (32-36). Esses estudos usaram CD19, CD20, CD27, CD38 e CD79a como marcadores de linfócitos B e relataram a presença de linfócitos B no infiltrado inflamatório subepitelial do LPO; no entanto, apenas dois mostraram uma análise detalhada da presença de linfócitos B no infiltrado mononuclear subepitelial, semelhante aos nossos achados (33,36). Nagao et al, (36) no contexto da infecção pelo vírus da hepatite C (HCV), encontraram linfócitos B CD20+ em todas as amostras de LPO sem associação com infecção por HCV. Esses achados também foram semelhantes aos nossos resultados, uma vez que detectamos linfócitos B CD20 + em 84,50% dos casos de LPO e 75,32% dos casos de LLO.

A expressão de CD19+ em amostra de mucosa oral de LPO tem sido pouco abordada pelo método de IHC na literatura, o que limita a discussão dos nossos resultados. Dos cinco estudos avaliados, apenas um avaliou o CD19 como marcador de linfócitos B, com resultados positivos de CD19 em amostras de LLO, e não LPO (32). Laine J et al. (32) avaliaram células inflamatórias em LLO associadas ao amálgama e observaram com maior frequência linfócitos B CD19+ no grupo de pacientes positivos para reações alérgicas a diversos compostos de

mercúrio. Nossos resultados revelaram baixa expressividade de CD19 nas amostras de LPO, LLO e HF, certamente maiores pesquisas são necessárias para investigar o papel do CD19 na etiopatogênese de LPO/LLO e validar nossos resultados.

No que concerne a imunoexpressão de CD138+, também há poucos estudos na literatura que abordem o papel deste marcador na etiopatogênese do LPO e LLO. Até a redação deste trabalho, encontramos apenas um estudo avaliando a presença de linfócitos B e plasmócitos em amostras de LPO (29). Este estudo verificou que linfócitos B CD20+ foram detectadas em todas as amostras avaliadas, enquanto plasmócitos CD138+ correspondiam a 62,3%. Esses achados também foram semelhantes aos nossos resultados, uma vez que detectamos linfócitos B CD20+ e plasmócitos CD138+, respectivamente, em 84,50% e 56,33% das amostras de LPO avaliadas.

5. CONCLUSÃO

Nossos dados sugerem que os linfócitos B e plasmócitos podem desempenhar um papel maior na patogênese do LPO e LLO do que o esperado, e que mecanismos de autoimunidade estão envolvidos, pelo menos em parte, no desenvolvimento destas lesões. É esperado que o número de linfócitos e plasmócitos, respectivamente, sejam menores quando comparados com os diferentes subconjuntos de células T, conforme o estudo de Kurago (2016), que descreveu níveis significativamente mais elevados de células T CD3+ (pan), CD4+ (auxiliar) e CD8+ (citotóxicas) em comparação com linfócitos B CD20+ (1).

6. REFERÊNCIAS

1. Kurago ZB. Etiology and pathogenesis of oral lichen planus: an overview. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016; 122(1):72-80.
2. 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(9):507-512.
3. 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): 207-214.
4. Au J, Patel D, Campbell JH. Oral lichen planus. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2013 Feb;25(1):93-100, vii.
5. Artico G, Freitas RS, Santos Filho AM, Benard G, Romiti R, Migliari DA. Prevalence of *Candida* spp., xerostomia, and hyposalivation in oral lichen planus--a controlled study. *Oral Dis.* 2014;20(3): e36-41.

6. Payeras MR, Cherubini K, Figueiredo MA, Salum FG. Oral lichen planus: focus on etiopathogenesis. *Arch Oral Biol.* 2013; 58(9): 1057-69.
7. Khudhur AS, Di Zenzo G, Carrozzo M. Oral lichenoid tissue reactions: diagnosis and classification. *Expert Rev Mol Diagn.* 2014; 14(2):169-84.
8. Scully C, Beyli M, Ferreiro MC, Ficarra G, Gill Y, Griffiths M et al. Update on oral lichen planus: etiopathogenesis and management. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1998; 9(1): 86-122.
9. Walsh LJ, Savage NW, Ishii T, Seymour GJ. Immunopathogenesis of oral lichen planus. *J Oral Pathol Med.* 1990 Oct; 19(9): 389-396.
10. De Panfilis G, Manara GC, Ferrari C, Torresani C. Adhesion molecules on the plasma membrane of epidermal cells. II. The intercellular adhesion molecule-1 is constitutively present on the cell surface of human resting Langerhans cells. *The Journal of investigative dermatology* 1990; 94(3): 317-321.
11. Sugeran 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.
12. Payandeh Z, Bahrani AA, Hoseinpoor R, Mortazavi Y, Rajabibazl M, Rahimpour A et al. The applications of anti-CD20 antibodies to treat various B cells disorders. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 2019; 109:2415-2426.
13. Santos, MAO, Lima, MM. CD20 role in pathophysiology of Hodgkin's disease. *Rev Assoc Med Bras.* 2017; 63(9): 810-813.
14. Maloney DG. Anti-CD20 antibody therapy for B-cell lymphomas. *N Engl J Med.* 2012; 366(21):2008-16.
15. Li H, Ayer LM, Lytton J, Deans JP. Store-operated cation entry mediated by CD20 in membrane rafts. *J Biol Chem.* 2003; 278(43):42427-34.
16. Li X, Ding Y, Zi M, Sun L, Zhang W, Chen S, Xu Y. CD19, from bench to bedside. *Immunol Lett.* 2017 Mar; 183:86-95.
17. Fujimoto M, Sato S. B cell signaling and autoimmune diseases: CD19/CD22 loop as a B cell signaling device to regulate the balance of autoimmunity. *J Dermatol Sci.* 2007 Apr;46(1):1-9. doi: 10.1016/j.jdermsci.2006.12.004. Epub 2007 Jan 12. PMID: 17223015.
18. Orlandini R, Jacinto R, Teixeira LR, Silva GA, Gallo CB, Innocentini LMAR, Ribeiro-Silva A, Motta ACF. Evidence for a significant role of B-cells in the pathogenesis of oral lichen planus: Preliminary results of a cross-sectional study. *J Cutan Pathol.* 2020; 47(3):310-313.
19. Lu R, Zhang J, Sun W, Du G, Zhou G. Inflammation-related cytokines in oral lichen planus: an overview. *J Oral Pathol Med.* 2015; 44(1):1-14.

20. Tellier J, Nutt SL. Plasma cells: The programming of an antibody-secreting machine. *Eur J Immunol.* 2019; 49(1):30-37.
21. Cyster JG, Allen CDC. B Cell Responses: Cell Interaction Dynamics and Decisions. *Cell.* 2019; 177(3): 524-540.
22. Dang VD, Hilgenberg E, Ries S, Shen P, Fillatreau S. From the regulatory functions of B cells to the identification of cytokine-producing plasma cell subsets. *Curr Opin Immunol.* 2014; 28:77-83.
23. Neves P, Lampropoulou V, Calderon-Gomez E, Roch T, Stervbo U, Shen P, Kühl AA, Loddenkemper C, Haury M, Nedospasov SA, Kaufmann SH, Steinhoff U, Calado DP, Fillatreau S. Signaling via the MyD88 adaptor protein in B cells suppresses protective immunity during *Salmonella typhimurium* infection. *Immunity.* 2010;33(5):777-90.
24. Hofmann K, Clauder AK, Manz RA. Targeting B Cells and Plasma Cells in Autoimmune Diseases. *Front Immunol.* 2018; 9:835.
25. Palaiologou M, Delladetsima I, Tiniakos D. CD138 (syndecan-1) expression in health and disease. *Histol Histopathol.* 2014; 29(2):177-89.
26. O'Connell FP, Pinkus JL, Pinkus GS. CD138 (syndecan-1), a plasma cell marker immunohistochemical profile in hematopoietic and nonhematopoietic neoplasms. *Am J Clin Pathol.* 2004; 121(2):254-63.
27. Kind S, Merenkow C, Büscheck F, Möller K, Dum D, Chirico V, Luebke AM, Höflmayer D, Hinsch A, Jacobsen F, Göbel C, Weidemann S, Fraune C, Möller-Koop C, Hube-Magg C, Clauditz TS, Simon R, Sauter G, Wilczak W, Bawahab AA, Izbicki JR, Perez D, Marx A. Prevalence of Syndecan-1 (CD138) Expression in Different Kinds of Human Tumors and Normal Tissues. *Dis Markers.* 2019; 23: 4928315.
28. Zyada MM, Fikry HE. Immunohistochemical study of syndecan-1 down-regulation and the expression of P35 protein in oral lichen planus: a clinicopathologic correlation with hepatitis C infection in the Egyptian population. *Ann Diagn Pathol.* 2010; 14(3):153-61.
29. Mahdavi N, Aminishakib P, Soltani N. Presence of B Cells and Plasma Cells in Oral Lichen Planus. *J Dent (Shiraz).* 2020; 21(3):209-214.
30. Montague LJ, Bhattacharyya I, Islam MN, Cohen DM, Fitzpatrick SG. Direct immunofluorescence testing results in cases of premalignant and malignant oral lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2015;119(6):675-683.
31. Andrade TAM, Masson-Meyers DS, Caetano GF, Terra VA, Ovidio PP, Jordão-Júnior AA, Frade MAC. Skin changes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Biophys*

- Res Commun. 2017 Sep 2;490(4):1154-1161. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.06.166. Epub 2017 Jun 28. PMID: 28668393.
32. Laine J, Konttinen YT, Beliaev N, Happonen RP. Immunocompetent cells in amalgam-associated oral lichenoid contact lesions. *J Oral Pathol Med.* 1999 Mar;28(3):117-21. doi: 10.1111/j.1600-0714.1999.tb02008.x. PMID: 10069539.
 33. Mattila R, Ahlfors E, Syrjänen S. CD27 and CD38 lymphocytes are detected in oral lichen planus lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011 Feb;111(2):211-7. doi: 10.1016/j.tripleo.2010.09.075. PMID: 21237436.
 34. Larsson A, Warfvinge G. Immunohistochemistry of 'tertiary lymphoid follicles' in oral amalgam-associated lichenoid lesions. *Oral Dis.* 1998 Sep;4(3):187-93. doi: 10.1111/j.1601-0825.1998.tb00277.x. PMID: 9972169.
 35. Omar AA, Hietanen J, Kero M, Lukinmaa PL, Hagström J. Oral lichen planus and chronic junctional stomatitis: differences in lymphocyte subpopulations. *Acta Odontol Scand.* 2009;67(6):366-9. doi: 10.1080/00016350903136605. PMID: 19626466.
 36. Nagao Y, Sata M, Kage M, Kameyama T, Ueno T. Histopathological and immunohistochemical study of oral lichen planus-associated HCV infection. *Eur J Intern Med.* 2000 Oct;11(5):277-282. doi: 10.1016/s0953-6205(00)00107-2. PMID: 11025253.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Perfil clínico, histopatológico, imunopatológico, neuroendócrino e proteômico de pacientes com diagnóstico de líquen plano oral

Pesquisador: Ana Carolina Fragoso Motta

Área Temática:

Versão: 15

CAAE: 33703114.8.0000.5419

Instituição Proponente: Universidade de Sao Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.646.820

Apresentação do Projeto:

Previamente, o Projeto da Pesquisa intitulado “Perfil clínico histopatológico imunopatológico neuroendócrino e proteômico de pacientes com diagnóstico de líquen plano oral” foi apresentado a este Comitê que, após devida apreciação, recomendou sua aprovação. Esta notificação, aqui tratada, se refere exclusivamente à Emenda de no. 13 desta Pesquisa, que se encontra em curso.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliação de Emenda.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com a opinião deste Relator, não cabe aqui a avaliação específica de riscos e benefícios relacionados a esta Pesquisa, tendo em vista que o seu Projeto já havia sido devidamente avaliado por este Comitê, que o aprovou.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Foram fornecidos dados suficientemente claros para que os aspectos referentes à emenda à Pesquisa fosse apreciada por este Relator.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisadora reuniu, na respectiva “Emenda”, dados suficientemente claros para que esta relatoria fosse plenamente exercida. O Formulário de Emenda foi devidamente apresentado,

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K ç sala k-10

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-904

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-0493

Fax: (16)3315-4102

E-mail: cep@forp.usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP - FORP/USP



Continuação do Parecer: 4.646.820

preenchendo requisitos de especificação de alteração (aumento do número total de participantes de 70 para 230), bem como sua justificativa e o pedido por maior prazo para processamento das amostras, como transcreve-se a seguir.

“Essa emenda tem por finalidade informar e justificar aos CEPs das instituições participantes: a) O novo número de participantes do estudo - considerando ser uma doença comum e a disponibilidade de participantes, esse aumento beneficiará o alcance dos objetivos e resultará em maior relevância dos resultados; b) Com o aumento do número de participantes necessitaremos maior prazo para processamento das amostras.”

Em decorrência do pedido de Emenda, o Projeto de Pesquisa original foi alterado em conformidade com as mudanças propostas no formulário mencionado.

Recomendações:

Este Relator recomenda ao CEP responsável a aprovação da Emenda no. 13 do Projeto de Pesquisa, assim como apresentado. Recomenda-se, ainda a aprovação do pedido por maior prazo para apresentação de relatórios.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada. A pesquisadora deverá anexar novo cronograma na Plataforma Brasil.

Considerações Finais a critério do CEP:

Emenda aprovada conforme deliberado na 246ª Reunião Ordinária do CEP/FORP de 08/04/2021.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1315580_E13.pdf	25/03/2021 12:24:54		Aceito
Outros	Formulario_emenda_24_03_2021.pdf	25/03/2021 12:22:47	Ana Carolina Fragoso Motta	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_emenda_24_03_21.pdf	25/03/2021 12:22:01	Ana Carolina Fragoso Motta	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	25/03/2021 12:21:09	Ana Carolina Fragoso Motta	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_controle_emenda_saliva_09_12_2018.pdf	09/12/2018 16:43:45	Ana Carolina Fragoso Motta	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE_controle_tecido_09_12_2018.pdf	09/12/2018 16:41:47	Ana Carolina Fragoso Motta	Aceito

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K ç sala k-10

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-904

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-0493

Fax: (16)3315-4102

E-mail: cep@forp.usp.br



USP - FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO
PRETO DA USP - FORP/USP



Continuação do Parecer: 4.646.820

Justificativa de Ausência	TCLE_controle_tecido_09_12_2018.pdf	09/12/2018 16:41:47	Ana Carolina Fragoso Motta	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_LPO_emenda_09_12_2018.pdf	09/12/2018 16:41:20	Ana Carolina Fragoso Motta	Aceito
Envio de Relatório Parcial	formacomprp2014.pdf	09/03/2015 15:55:58		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

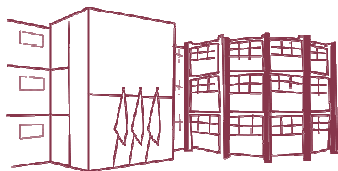
Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 13 de Abril de 2021

Assinado por:
Simone Cecilio Hallak Regalo
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida do Café s/nº - Bloco K ç sala k-10
Bairro: Monte Alegre **CEP:** 14.040-904
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3315-0493 **Fax:** (16)3315-4102 **E-mail:** cep@forp.usp.br



Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEx-CoG nº 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 531ª Reunião Ordinária, realizada em 03 de junho de 2024, **aprovou**, fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

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

Ribeirão Preto, 03 de junho de 2024.

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