



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Odontologia

Juliana de Noronha Santos Netto

**Análise clínico-patológica e qualitativa da expressão de
mediadores inflamatórios teciduais no líquen plano oral**

Rio de Janeiro

2021

Juliana de Noronha Santos Netto

**Análise clínico-patológica e qualitativa da expressão de mediadores
inflamatórios teciduais no líquen plano oral**



Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Área de concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer

Rio de Janeiro

2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB/B

N476 Netto, Juliana de Noronha Santos.
Análise clínico-patológica e qualitativa da expressão de mediadores inflamatórios teciduais no líquen plano oral / Juliana de Noronha Santos Netto. – 2021.
74 f.

Orientador: Ricardo Guimarães Fischer

Tese (doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Líquen plano bucal - Patologia. 2. Erupções liquenoides - patologia. 3. Interleucina-6. 4. Interleucina-17. 5. Interleucina-18. 6. Imuno-histoquímica. I. Fischer, Ricardo Guimarães. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. III. Título.

CDU
616.314

Bibliotecária: Adriana Caamaño CRB7/5235

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Juliana de Noronha Santos Netto

**Análise clínico-patológica e qualitativa da expressão de mediadores
inflamatórios teciduais no líquen plano oral**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Odontologia, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Área de concentração: Periodontia.

Aprovada em 5 de fevereiro de 2021.

Orientador:

Prof. Dr. Ricardo Guimarães Fischer

Faculdade de Odontologia - UERJ

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Marília Heffer Cantisano

Faculdade de Odontologia - UERJ

Prof.^a Dra. Aline Corrêa Abrahão

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof.^a Dra. Bruna Lavinias Sayed Picciani

Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Luciana Armada Dias

Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Fábio Vidal Marques

Universidade Estácio de Sá

Rio de Janeiro

2021

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese aos meus pais, Marlene de Noronha Santos (*in memoriam*) e Enéas Rabelo Netto (*in memoriam*) e ao meu filho Bernardo, representantes da minha essência.

AGRADECIMENTOS

Ao meu parceiro, companheiro, incentivador, professor e exemplo de caráter, Fábio. São 15 anos de cumplicidade, mas esses últimos têm exigido demais do nosso comprometimento, com o nosso trabalho e especialmente um com o outro. Com seu otimismo inigualável, faz o meu estresse parecer uma breve preocupação. Em meio à pandemia, nunca deixou de acreditar que eu ia conseguir. Obrigada por isso e por tudo que você representa na minha vida. Junto, agradeço ao nosso filho Bernardo que, com seis anos de idade, teve que entender que o trabalho também é importante para a mamãe e o papai... amo-te infinitamente, meu filho.

A minha irmã Amanda, por me incentivar e apoiar sempre, por ser a minha fortaleza nos momentos mais difíceis das nossas vidas. Sem você teria sido muito mais difícil.

A minha sogra Sueli, pelo apoio e incentivo nesses anos e a minha cunhada Daniela por trazer leveza aos meus momentos de pausa.

Ao meu padrinho Moa por vibrar com as minhas conquistas, assim como minha tia Rosa Lúcia, uma verdadeira mãe na ausência da minha.

Ao professor e orientador Dr. Ricardo Fischer, por me permitir a vivência do doutorado e acreditar nos projetos em parceria Patologia-Periodontia.

À técnica do laboratório de Patologia Bucal/FOUERJ, Aline, por todo auxílio e aos demais funcionários do laboratório, Marcelo e Cláudia, por todo apoio.

Aos funcionários da pós-graduação da FOUERJ, em especial, à secretária da pós-graduação Denise, por toda ajuda prestada.

Aos professores da pós-graduação da FOUERJ, especialmente os que contribuíram diretamente com a minha formação: Marília Cantisano, Geraldo Silva-Jr, Carlos Marcelo Figueredo, Eduardo Tinoco e Eduardo Veras. Foram ótimos momentos de convívio.

Aos alunos da FOUERJ que me permitiram dividir essa vivência, em especial, Karen Hurtado, por ter sido uma grande aluna de iniciação científica.

Aos colegas da turma de doutorado, João Canellas, Monike Santoro e Samira Fraga, pela troca de experiências, aflições e risadas. Obrigada, turma!

À aluna da Universidade Estácio de Sá Beatriz Miguel, por ter acreditado no meu trabalho e ter sido minha primeira aluna de iniciação científica com um projeto sobre líquen plano oral.

À professora Águida Miranda, por incentivar a minha formação e ser meu exemplo profissional.

Às professoras Ruth Tramontani e Teresa Cristina Santos, por sempre torcerem por mim e pela compreensão no trabalho.

À amiga Simone Amaral, por ouvir minhas queixas, mas também dividir boas risadas nesses últimos anos.

Aos membros da banca pelo aceite do convite e por serem profissionais da minha extrema admiração.

A todos que de alguma forma participaram dessa minha trajetória. Muito obrigada.

RESUMO

NETTO, Juliana de Noronha Santos. **Análise clínico-patológica e qualitativa da expressão de mediadores inflamatórios teciduais no líquen plano oral.** 2021. 74 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

O líquen plano oral (LPO) é uma condição imuno-inflamatória mucocutânea crônica que ainda possui etiologia e patogênese desconhecidas. Estudos mostrando a participação de citocinas no LPO, em especial, interleucinas (IL)-6, IL-17 e IL-18, são escassos, assim como a correlação das características clínicas e histológicas das lesões de LPO com a presença destes mediadores inflamatórios. Todas as lesões de LPO e de lesões liquenoides orais (LLO) foram revisadas a partir do arquivo do laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro e as características clínico-patológicas dos casos foram analisadas. Foram selecionados 40 casos de LPO para realização adicional de reações imuno-histoquímicas para IL-6, IL-17 e IL-18. A amostra total foi composta por 221 casos e mostrou que o LPO apresentou predileção por mulheres adultas, mais frequentemente acometidas pelo padrão reticular e com lesões localizadas predominantemente na mucosa jugal. Os 40 casos selecionados para a avaliação imuno-histoquímica incluíram pacientes com média de idade de 53 anos, sem predileção por gênero, e com lesões localizadas preferencialmente na mucosa jugal (85%), na gengiva/mucosa alveolar (47%) e na língua (42%). Quanto ao padrão clínico, 14 pacientes (35%) mostravam lesões exclusivamente reticulares e 26 (65%) mostravam lesões reticulares associadas a lesões atrófico-erosivas. Sintomas foram relatados por 53% dos pacientes e incluíram principalmente ardência e desconforto local. A análise histológica mostrou que o epitélio das lesões mostrava espessura normal, atrófica ou hiperplásica em, respectivamente, 17 (43%), 9 (22%) e 14 (35%) casos. A presença de hiperqueratose foi observada em 21 casos (53%) e exocitose de linfócitos T CD4+ e T CD8+ estava presente em, respectivamente, 17 (42%) e 30 (75%) casos. A análise imuno-histoquímica revelou que a IL-6 foi, de forma geral, a mais expressa, tanto no epitélio, quanto no conjuntivo. A expressão de IL-17 se mostrou intensa no tecido conjuntivo, em 40% dos casos. A IL-18 mostrou intensidade mais frequente leve/moderada tanto no epitélio (40%), quanto no tecido conjuntivo (45%). A presença de exocitose mostrou relação com a maior expressão das ILs e a expressão de IL-17 foi maior no epitélio mostrando hiperqueratose. Os resultados do presente estudo mostraram que as características clínicas das lesões de LPO e de LLO são distintas e podem ser utilizadas para diferenciação entre as duas entidades. Os achados histológicos e imunohistoquímicos sugerem que as ILs estudadas mostram-se mais presentes quando há exocitose linfócitos T CD4+ e T CD8+ e que sua expressão pode ter relação com as alterações epiteliais encontradas no LPO, participando da patogênese e da modulação da expressão da doença.

Palavras-chave: Líquen plano oral. Citocinas. Imuno-histoquímica. Interleucina-6. Interleucina-17. Interleucina-18.

ABSTRACT

NETTO, Juliana de Noronha Santos. **Clinicopathological and qualitative analysis of the expression of tissue inflammatory mediators in oral lichen planus.** 2021. 74 f. Tese (Doutorado em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

Oral lichen planus (OLP) is a chronic immunoinflammatory mucocutaneous condition of unknown etiology and pathogenesis. Studies focusing on the presence of cytokines in OLP, especially interleukin (IL)-6, IL-17 and IL-18, are scarce, as well as the correlation of clinical and histological characteristics with the presence of inflammatory mediators. All lesions diagnosed as OLP and oral lichenoid lesions (OLL) were reviewed from the files of the Oral Pathology laboratory, Dental School, Rio de Janeiro State University, and their clinicopathological characteristics were analyzed. Forty cases diagnosed as OLP were selected for additional immunohistochemical reactions directed against IL-6, IL-17 e IL-18. The total sample was composed by 221 cases and showed that OLP presented a predilection for adult females, mostly affected by lesions with the reticular pattern and located in the buccal mucosa. The 40 cases selected for the immunohistochemical reactions included patients with a mean age of 53 years, with no gender predilection, and with lesions located mostly in the buccal mucosa (85%), gingiva/alveolar mucosa (47%) and tongue (42%). The clinical pattern showed reticular lesions in 14 patients (35%) and reticular and atrophic/erosive lesions in 26 patients (65%). Symptoms were reported by 53% of the patients and included mostly burning sensation and local discomfort. Histological analysis showed that the epithelial thickness was normal, atrophic, or hyperplastic in, respectively, 17 (43%), 9 (22%) and 14 (35%) cases. The presence of hyperkeratosis was observed in 21 cases (53%), and exocytosis of T CD4+ and T CD8+ lymphocytes was present in, respectively, 17 (42%) and 30 (75%) cases. Immunohistochemical analysis showed that, in general, IL-6 was the most expressed IL both in epithelium and connective tissue. IL-17 expression was considered intense in the connective tissue from 40% of the cases. IL-18 expression was considered mostly mild/moderate both in epithelium (40% of the cases) and connective tissue (45% of the cases). The presence of exocytosis was associated with a higher expression of the ILs and expression of IL-17 was higher in epithelium showing hyperkeratosis. The results from the present study showed that the clinical characteristics of OLP and OLL are distinct and can be useful in differentiating these two diagnostic entities. The histological and immunohistochemical features suggest that the studied ILs are more expressed when there is exocytosis of both T CD4+ and T CD8+ lymphocytes. Expression of the ILs can be associated with the epithelial alterations encountered in OLP, participating in the pathogenesis and modulating the expression of the disease.

Keywords: Oral lichen planus. Cytokines. Immunohistochemistry. Interleukin-6. Interleukin-17. Interleukin-18.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Critérios diagnósticos clínicos e microscópicos para o líquen plano oral	29
Figura 2 –	Critérios diagnósticos clínicos e microscópicos para o líquen plano oral	29
Figura 3 –	Critérios utilizados para a avaliação da expressão imuno-histoquímica das interleucinas 6, 17 e 18	32
Figura 4 –	Fluxograma das etapas realizadas no trabalho.....	33
Figura 5 –	Características clínicas do LPO.....	35
Figura 6 –	Características histológicas do LPO.....	36
Figura 7 –	Expressão da presença de linfócitos T CD4+ e T CD8+ e intensidade das IL- 6, 17 e 18, em um caso de LPO (1)	50
Figura 8 –	Expressão da presença de linfócitos T CD4+ e T CD8+ e intensidade das IL- 6, 17 e 18, em um caso de LPO (2)	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Distribuição dos parâmetros clínicos por diagnóstico (LPO – líquen plano oral; LPO-C – compatível com LPO; LLO – lesões liquenoides orais)	37
Tabela 2 –	Distribuição da localização das lesões, do número de sítios anatômicos envolvidos, do aspecto clínico das lesões e da presença de sintomas pelo gênero dos pacientes (n=40, exceto para presença de sintomas)	39
Tabela 3 –	Distribuição da localização das lesões e da presença de sintomas de acordo com o aspecto clínico das lesões (n=40, exceto para presença de sintomas)	40
Tabela 4 –	Expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 no tecido epitelial e no tecido conjuntivo	41
Tabela 5 –	Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o envolvimento da mucosa jugal	42
Tabela 6 –	Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o envolvimento da língua	43
Tabela 7 –	Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o envolvimento da gengiva/mucosa alveolar	44
Tabela 8 –	Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o padrão clínico das lesões	45
Tabela 9 –	Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a presença de exocitose de linfócitos T CD4+ e CD8+	47

Tabela 10 – Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a espessura do tecido epitelial	48
Tabela 11 – Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a presença de hiperqueratose	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IFN	Interferon
IL	Interleucina
LLO	Lesão liquenoide oral
LPO	Líquen plano oral
MHC	<i>Main histocompatibility complex</i>
NF-kappaB	Fator nuclear kappa B
NK	<i>natural killer</i>
TGF- β	fator transformador do crescimento beta
Th	T <i>helper</i>
TNF- α	Fator de necrose tumoral-alfa
Treg	T reguladoras

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	13
1	REVISÃO DA LITERATURA	16
1.1	Líquen plano oral - características gerais	16
1.2	Etiopatogenia do LPO	19
1.3	Citocinas no LPO	21
1.3.1	<u>IL-6 no LPO</u>	23
1.3.2	<u>IL-17 no LPO</u>	24
1.3.3	<u>IL-18 no LPO</u>	25
2	PROPOSIÇÃO	27
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	Análise clínico-patológica	28
3.2	Análise imuno-histoquímica	30
4	RESULTADOS	34
4.1	Amostra completa	34
4.2	Amostra utilizada para a análise imuno-histoquímica	38
5	DISCUSSÃO	52
	CONCLUSÕES	59
	REFERÊNCIAS	60
	ANEXO - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa ..	70

INTRODUÇÃO

O líquen plano oral (LPO) é uma condição mucocutânea inflamatória crônica que afeta entre 1 a 2% da população e que mostra predileção por mulheres acima dos 40 anos de idade (ALRASHDAN et al. 2016; BUDIMIR et al. 2014; CARROZZO et al. 2019; MANKAPURE et al. 2016; ROOPASHREE et al. 2010; SILVERMAN et al. 1997). Clinicamente, o LPO afeta especialmente a mucosa jugal, a língua e a gengiva/mucosa alveolar, apresentando-se como lesões simétricas, bilaterais e múltiplas (BUDIMIR et al. 2014; CHENG et al. 2016; MANKAPURE et al. 2016; ROOPASHREE et al. 2010; VAN DER WAAL, 2009). São descritos seis tipos clínicos da doença, incluindo as formas reticular, papular, em placa, erosiva/atrófica, ulcerativa e bolhosa (ISMAIL et al. 2010). O padrão clínico reticular, caracterizado pela presença de estrias esbranquiçadas rendilhadas, representa o achado mais marcante da doença e pode estar frequentemente associado ao padrão atrófico/erosivo, que é considerado o segundo padrão mais comum e produz áreas eritematosas (CHENG et al. 2016; ISMAIL et al. 2010). Além do envolvimento da mucosa oral, pode haver acometimento de outras mucosas (em especial a mucosa genital) e da pele, produzindo nesta última, lesões em padrão papular poligonal de coloração violácea e com predileção pelos cotovelos, joelhos e punhos (LAVANYA et al. 2011).

As lesões liquenoides orais são condições que apresentam padrão liquenoide, mas que estão associadas a outros fatores etiológicos, tais como materiais restauradores odontológicos (em especial o amálgama de prata e, nesta situação, mostrando relação anatômica de íntimo contato com o material restaurador), medicamentos e a doença do enxerto contra o hospedeiro, ou que apresentam aspecto semelhante ao LPO, mas com ausência de um ou mais aspectos clínicos ou histopatológicos (VAN DER WAAL, 2009). Seu diagnóstico pode ser desafiador, visto que em muitos casos estas condições mostram grande similaridade clínica e histopatológica com o LPO.

Apesar das características clínicas sugestivas, o diagnóstico do LPO depende da confirmação dos aspectos histológicos característicos da doença, e a interpretação isolada da clínica ou da microscopia não é suficiente para confirmação diagnóstica (VAN DER MEIJ et al. 2002). O LPO é caracterizado pela presença de

um epitélio mostrando áreas de acantose e de atrofia, associado à hiperqueratose, e a presença de um infiltrado inflamatório predominantemente linfocítico de localização subepitelial, o qual produz degeneração das células da camada basal do epitélio (CHENG et al. 2016; VAN DER MEIJ & VAN DER WAAL, 2003).

O tratamento do LPO consiste em geral no seguimento clínico dos pacientes associado ao uso de esteroides tópicos, a fim de reduzir os sintomas e diminuir as manifestações clínicas da doença (CARROZZO et al. 2019). Episódios de exacerbação e remissão não são infrequentes. Além dos transtornos clínicos determinados pela doença, existem evidências de que o LPO pode estar associado a outras alterações locais e sistêmicas, incluindo hepatite e hipotireoidismo (CARROZZO et al. 2019), e de que a doença faça parte do grupo das desordens potencialmente malignas, reforçando a necessidade de controle dos pacientes acometidos por toda a vida (ALRASHDAN et al. 2016; GONZALEZ-MOLES et al. 2017; REIBEL et al. 2017; SUGERMAN et al. 2002).

A despeito de ser uma das doenças orais não infecciosas mais comuns, sua etiologia e os mecanismos de patogênese ainda não foram totalmente esclarecidos (CARROZZO et al. 2019; ROOPASHREE et al. 2010; SILVERMAN et al. 1997). Algumas hipóteses têm sido propostas a fim de esclarecer a etiologia e a patogênese do LPO (LAVANYA et al. 2011). A doença tem sido caracterizada como uma reação imunológica mediada por células T helper 1 (Th1), com a participação ativa de linfócitos T CD4+ e CD8+, muito embora também possa estar associada à presença de resposta mediada por células T helper 2 (Th2) (KURAGO, 2016; NOGUEIRA et al. 2015; SUGERMAN et al. 2002). Além destas células, também é possível observar a presença de linfócitos B e plasmócitos, sugerindo a participação de imunoglobulinas e da ativação do complemento em sua patogênese (SUGERMAN et al. 2002).

O LPO é caracterizado microscopicamente por apresentar um acúmulo de células T na lâmina própria, por apresentar exocitose de linfócitos e apoptose de queratinócitos (CHENG et al. 2016). Além das células imunes que compõem a etiopatogenia do LPO, uma complexa rede de citocinas e seus receptores têm papel fundamental na exacerbação e perpetuação da doença, visto que a resposta imune mediada por estas células é intensamente regulada por estes mediadores inflamatórios e seus receptores. Estes mediadores inflamatórios parecem ter um papel essencial na determinação do surgimento, duração e natureza da resposta

imune, participando da patogênese do LPO (KALOGERAKOU et al. 2008; LU et al. 2015). Evidências clínicas, morfológicas, imuno-histoquímicas e moleculares suportam uma desregulação imune na patogênese do LPO, com participação ativa de citocinas orquestrando o processo e determinando a progressão da doença (BAI et al. 2008).

A interleucina 6 (IL-6) é uma citocina multifuncional sintetizada em resposta a estímulos, como infecção e trauma, por uma variedade de células tais como macrófagos, neutrófilos, queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais (KISHIMOTO et al. 1995). Alguns estudos investigaram os níveis de IL-6 em pacientes com LPO e demonstraram diferenças significativas nos níveis desta IL nestes pacientes quando comparados a controles saudáveis (COSTA et al. 2010; EBERSOLE et al. 2013; LIU et al. 2017; PRAKASAM & SRINIVASAN, 2014).

Tem sido descrito que no ambiente no qual as citocinas atuam no LPO, linfócitos T CD4+ podem se diferenciar em vários subconjuntos, incluindo células Th1, Th2, Th9, Treg e Th17 (WANG et al. 2016). Células Th17, assim como a presença da IL-17, uma citocina pró-inflamatória, já foram identificadas em lesões de LPO (XIE et al. 2012; WANG et al. 2017). A IL-17 pode ativar diversas células, como células epiteliais, fibroblastos e condrócitos para produzir moléculas inflamatórias potentes (ONISHI & GAFFEN, 2010).

A IL-18 é uma citocina pleiotrópica e pró-inflamatória, originalmente designada como fator indutor de interferon gamma (IFN- γ). Evidências recentes sugerem que a IL-18 é uma citocina relevante na patogênese do LPO, sugerindo sua atuação na estimulação de IFN- γ e na produção de células T e de células *natural killer* (NK) (ZHANG et al. 2012). A IL-18 parece atuar como um fator de equilíbrio entre as respostas Th1 e Th2 e desempenhar um papel fundamental na modulação do estado imunológico (BAI et al. 2007; LU et al. 2015).

Embora os critérios clínicos e histológicos para o diagnóstico do LPO tenham sido descritos e validados na literatura, os mecanismos patogênicos exatos da doença permanecem desconhecidos. A participação das células inflamatórias e do sistema imune, assim como a expressão dos mediadores químicos por elas secretados e seus efeitos, podem fornecer informações importantes com relação a patogênese do LPO.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Líquen plano oral - características gerais

O líquen plano é considerado uma doença inflamatória crônica mucocutânea que usualmente afeta pacientes de meia idade e idosos e a sua etiopatogenia permanece incerta (ABDEL-HAQ; CARROZZO et al. 2019). Várias hipóteses têm sido propostas a fim de esclarecer sua etiologia e patogênese (LAVANYA et al. 2011). De forma resumida, acredita-se que a doença pode ser classificada como uma reação imune de hipersensibilidade tardia, mediada por células Th1 e que possui a participação ativa de linfócitos CD4+ e CD8+ e de linfócitos B e plasmócitos (KURAGO, 2016; NOGUEIRA et al. 2015; SUGERMAN et al. 2002).

O LPO afeta aproximadamente 1 a 2% da população, acometendo preferencialmente as mulheres (representando 63 a 70% dos casos) e ocorrendo especialmente em pacientes acima dos 40 anos de idade (ALRASHDAN et al. 2016; BUDIMIR et al. 2014; MANKAPURE et al. 2016; ROOPASHREE et al. 2010; SILVERMAN et al.1997). Além de acometer a mucosa oral e frequentemente iniciar-se a partir dela, pode acometer outras membranas mucosas, a pele, unhas e folículos pilosos e é caracterizada por uma grande variedade de manifestações clínicas e de subtipos (GOROUHI et al. 2014).

A literatura descreve seis padrões clínicos distintos de apresentação do LPO, incluindo lesões reticulares, papulares, em placa, erosivas, atróficas e bolhosas (ISMAIL et al. 2010). A forma reticular, caracterizada pela presença de finas estrias esbranquiçadas que se entrecruzam em um padrão rendilhado, é o achado clínico mais característico da doença (ROOPASHREE et al. 2010; VAN DER MEIJet al. 2003). Estas lesões localizam-se preferencialmente na mucosa jugal, na língua e na gengiva/mucosa alveolar, sendo, frequentemente, bilaterais, múltiplas e simétricas (BUDIMIR et al. 2014; CHENG et al. 2016; MANKAPURE et al. 2016; ROOPASHREE et al. 2010; VAN DER WAAL, 2009). A forma atrófica/erosiva é a segunda apresentação clínica mais comum, sendo caracterizada por áreas avermelhadas de atrofia ou erosão epitelial, as quais usualmente estão associadas às áreas reticulares (CARROZZO et al. 2019; SILVERMAN et al.1997). A forma

reticular de LPO é bastante típica, mas, na ausência deste padrão de apresentação clínica, os tipos não reticulares podem ser difíceis de diagnosticar clinicamente (VAN DER WAAL, 2009). Cabe ressaltar que vários padrões clínicos do LPO podem coexistir em um único paciente e podem variar em apresentação com o tempo.

Quando as lesões de LPO localizam-se na gengiva podem manifestar-se na forma de gengivite descamativa, com a presença de áreas com aspecto estriado e erosivo, mas podem simular o aspecto clínico de outras doenças gengivais, especialmente quando se sobrepõe biofilme às lesões de LPO (RAI et al. 2016; STONE et al. 2015). Estudos têm mostrado que o *status* periodontal de pacientes acometidos por LPO tende a ser pior do que o de pacientes saudáveis, caracterizando um quadro mais difícil de manejo clínico (LOPEZ-JORNET & CAMACHO-ALONSO, 2012). Além disso, a presença das lesões gengivais atrófico-erosivas de LPO associadas ao acúmulo de biofilme e cálculo local podem levar a uma maior incidência de destruição periodontal (RAMÓN-FLUIXÁ et al. 1999). No entanto, embora pacientes com LPO sejam mais propensos a serem infectados por diversos microorganismos, incluindo vírus (herpes simples, Epstein Barr, papilomavírus humano, vírus da hepatite C (ALRASHDAN et al. 2016; CARROZZO et al. 2019), o papel dos microorganismos periodontopatogênicos (como *Agregactibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) na patogênese do LPO ainda é incerto (ERTUGRUL et al. 2013).

As lesões cutâneas do LPO se apresentam como pápulas poligonais violáceas de aparecimento subagudo ou crônico progressivo, que mostram predileção pelas superfícies flexoras (punhos, cotovelos, joelhos) e pela região genital (LAVANYA et al. 2011). Pode haver ainda envolvimento ungueal, resultando na formação de fenda, pterígio ou em perda da unha, e envolvimento do couro cabeludo, podendo determinar alopecia progressiva (SUGERMAN et al. 2000b).

Além do acometimento mucocutâneo da doença e de todos os transtornos clínicos a ele associados, o diagnóstico do LPO é um desafio ainda maior pelo fato de existirem evidências de que a doença pode estar associada a outras alterações sistêmicas, incluindo hepatite e hipotireoidismo (CARROZZO et al. 2019). O LPO tem sido ainda considerado uma desordem potencialmente maligna, juntamente com a leucoplasia, a eritroplasia, a queilite actínica e a fibrose submucosa oral (ALRASHDAN et al. 2016; GONZALEZ-MOLES et al. 2017; REIBEL et al. 2017;

SUGERMAN et al. 2002). Embora este tema ainda seja controverso e o potencial de transformação maligna estimado do LPO seja baixo (entre 1 e 2.5%), o risco de desenvolvimento de um carcinoma de células escamosas em áreas de LPO confere importância adicional à doença (GONZALEZ-MOLES et al. 2017; REIBEL et al. 2017). A inflamação tem sido associada ao processo de carcinogênese e poderia influenciar este processo, já que atua na homeostase celular e na atividade metabólica da célula. O processo inflamatório pode estimular a ativação de mediadores citotóxicos como as espécies reativas de oxigênio e as espécies reativas de nitrogênio, as quais são capazes de produzir danos ao DNA (BALKWILL & MANTOVANI, 2001; VALLÉE & LECARPENTIER, 2018). Além disso, fatores inflamatórios podem facilitar a invasão e migração de células neoplásicas, levando à progressão do câncer (LU et al. 2006). Estas evidências biológicas associadas ao possível potencial de transformação maligna do LPO colocam a doença em destaque ainda maior dentro das doenças imuno-inflamatórias da mucosa oral e tornam necessário o seguimento dos pacientes afetados por toda a vida.

O diagnóstico do LPO deve ser feito apenas quando há confirmação clínica e histopatológica das lesões, reforçando que a realização de biópsias com finalidade diagnóstica é fundamental para o diagnóstico conclusivo da doença. Mesmo assim, muitos casos apresentam grande complexidade diagnóstica, já que se pode encontrar na literatura uma variedade de critérios definitivos para a doença (VAN DER MEIJ et al. 2002). O diagnóstico preciso do LPO, levando em conta os aspectos clínicos e histológicos, é fundamental para seu correto manejo e para o seguimento dos pacientes. O LPO é caracterizado histologicamente pela presença de um epitélio mostrando áreas de acantose e de atrofia, associado à hiperqueratose, e a presença de um infiltrado inflamatório predominantemente linfocítico de localização subepitelial, o qual produz degeneração das células da camada basal do epitélio (CHENG et al. 2016; VAN DER MEIJ & VAN DER WAAL, 2003). A presença destes achados microscópicos em associação a uma apresentação clínica compatível com a doença confirma o diagnóstico de LPO. Outras doenças, entretanto, podem mostrar características clínicas e histológicas semelhantes ao LPO e devem ser excluídas como diagnósticos diferenciais. Estas incluem especialmente as lesões liquenoides orais (LLO), as lesões associadas a doença do enxerto contra o hospedeiro, o lúpus eritematoso e a estomatite crônica ulcerativa (CHENG et al. 2016). As LLO são condições que se assemelham clínica e

histologicamente ao LPO e que podem estar associadas em especial a dois grupos de fatores: contato com materiais restauradores odontológicos (principalmente amálgama de prata) e medicamentos e outras substâncias exógenas (CHENG et al. 2016).

O tratamento do LPO é baseado no seguimento clínico dos pacientes e no controle das manifestações clínicas da doença, buscando oferecer uma melhor qualidade de vida aos pacientes. Os corticosteroides tópicos são a principal forma de tratamento, muito embora não existam evidências consistentes de remissão a longo prazo estabelecidas. Lesões orais persistentes a despeito da terapia esteroide tópica e episódios de exacerbação e remissão da doença são comuns. Desta forma, o uso de esteroides sistêmicos é indicado em situações pontuais, assim como outras propostas terapêuticas incluindo o uso de imunomoduladores, antioxidantes, terapia fotodinâmica e laserterapia, embora não existam evidências incontestes de sucesso com seu uso e seja essencial monitorar seus possíveis efeitos colaterais e adversos (AGHA-HOSSEINI et al. 2012; BAGAN et al. 2012; IBRAHIM & HAZZAA, 2012; SOBANIEC et al. 2013). Como não existem protocolos comparativos comuns estabelecidos é difícil monitorar as diferentes respostas aos tratamentos propostos para o LPO. Independente da forma de tratamento, em virtude da possibilidade de associação com outras doenças sistêmicas e do potencial de transformação maligna, os pacientes portadores de LPO devem ser acompanhados por toda a vida.

1.2 Etiopatogenia do LPO

A etiopatogenia do LPO ainda é desconhecida, entretanto, há concordância sobre a participação da resposta imune. Diversos estudos têm discutido sobre a participação e influência de antígenos extrínsecos, auto-antígenos alterados ou superantígenos no desenvolvimento e exacerbação da doença. Este gatilho antigênico é acompanhado por uma resposta inflamatória mista e uma complexa rede de citocinas que interagem dinamicamente para regular a resposta imune, além de moléculas citotóxicas (NEGI et al. 2019; WANG et al. 2014; WANG et al. 2017).

Ainda neste contexto, estudos sugerem que o LPO é uma doença crônica, mediada por células do sistema imune que produzem danos aos queratinócitos

basais na mucosa oral, os quais são reconhecidos como antigenicamente estranhos ou alterados. Estes queratinócitos, como células-alvo, sofrem apoptose, formando um coloide que se apresenta como glóbulos hialinos eosinofílicos homogêneos, chamados corpos de Civatte (PAYERAS et al. 2013; SUGERMAN et al. 2002). Uma vez ativos, os queratinócitos secretam quimiocinas, as quais atraem linfócitos e outras células imunes, induzindo o desenvolvimento do LPO e modulando sua cronicidade (FARHI et al. 2010; YAMAMOTO et al. 1995). A resposta imune é caracterizada pelo acúmulo de linfócitos Th1, predominantemente de subtipo CD4+, os quais posteriormente ativam os linfócitos T citotóxicos levando a apoptose dos queratinócitos (KHAN et al. 2003; SUGERMAN et al. 2002; THORNHILL, 2001). Os linfócitos T CD4+ e CD8+ produzem e respondem a inúmeras citocinas e mediadores inflamatórios resultando em variações na apresentação clínica de LPO.

As células Th1 normalmente produzem IFN- γ e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), citocinas que estão envolvidas na ativação de macrófagos e que também estão relacionadas a um papel na doença autoimune, além de infecções crônicas. As células Th2 produzem IL-4, IL-5 e IL-13 e desempenham um papel nas doenças alérgicas e de defesa contra parasitas helmínticos (SHAKER & HASSAN, 2012).

Uma característica marcante da patogenia do LPO é a atividade dos linfócitos T CD8+ citotóxicos que infiltram o epitélio e promovem apoptose dos queratinócitos basais, sobrejacente a um infiltrado inflamatório de linfócitos T CD4+ na lâmina própria. Além disso, a resposta imune é composta predominantemente por um misto de linfócitos T, porém outras células estão presentes no desenvolvimento da doença, como os macrófagos (FAYYAZI et al. 1999).

A maioria dos linfócitos intraepiteliais no LPO são T CD8+ citotóxicos e a maioria dos linfócitos no tecido conjuntivo são T CD4+ (MATTHEWS et al. 1984; SUGERMAN et al. 2002). O epitélio no LPO mostra ainda uma concentração de células de Langerhans, as quais são responsáveis por apresentarem e processarem antígeno para as células T e promoverem sua ativação (GUEIROS et al. 2012). Linfócitos T CD4+ são proeminentes em lesões iniciais, especialmente na porção superficial do tecido conjuntivo, com algumas células infiltrando o epitélio (Khan et al. 2003). Com o avanço das lesões, os linfócitos T CD8+ se tornam mais numerosos e causam danos aos queratinócitos basais (SUGERMAN et al. 2002). Além da população de Th1 e Th2, outras células têm sido descritas mais recentemente, como as células T reguladoras (Treg) as quais expressam um fator de

transcrição (FoxP3) que atua regulando a resposta imune (JAVVADI et al. 2016). Estas células secretam ainda fator transformador do crescimento beta (TGF- β) e IL-10, citocinas associadas à supressão da função das células T efectoras e das células apresentadoras de antígeno.

Os queratinócitos no LPO apresentam antígenos via complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe II dos linfócitos T CD4+ causando a secreção de citocinas pelas células Th1, tais como IL-2 e IFN- γ . As citocinas ativam os linfócitos T CD8+ causando a apoptose de queratinócitos via TNF- α , que por sua vez aumenta a ativação do fator nuclear kappa B (NF-kappaB) nas células T subepiteliais e leva ao aumento da expressão de outras citocinas pro-inflamatórias, incluindo IL-6 (GU et al. 2004; ZHANG et al. 2008). As células T CD4+ podem ainda, em ambientes específicos e modulados por citocinas, diferenciar em vários subgrupos, como células Th1, Th2, Th9, Treg e Th17 (CARVALHO et al. 2019; WANG et al. 2016).

Diversas causas possíveis têm sido associadas ao aparecimento de LPO, incluindo uso de medicamentos, infecções, estresse e, mais recentemente, predisposição genética (CARROZZO, 2014; SHARMA et al. 2012). Além disso, polimorfismos genéticos nas citocinas IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-4, IL-6 e IL-10 apresentam um papel importante na progressão e patogênese do LPO, sendo associados a uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento da doença (XAVIER et al. 2007).

1.3 Citocinas no LPO

As citocinas são proteínas solúveis de baixo peso molecular produzidas por diferentes células do sistema imunológico inato e adaptativo. Transmitem sinais por meio de receptores na superfície celular para células imunes ativas, diferenciadas ou em maturação e são importantes na ativação e modulação do sistema imune, influenciando sobremaneira os processos de crescimento e diferenciação celular (POSTAL & APPENZELLER, 2011; AGHA-HOSSEINI & MIRZAII-DIZGAH, 2013). As citocinas produzidas por células Th1 (IL-2, IFN- γ , TNF- α , IFN- α) desempenham um

papel fundamental na resposta imune celular e citocinas produzidas por células Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) garantem uma eficácia da resposta imune humoral.

Evidências clínicas, microscópicas, histológicas e moleculares suportam uma desregulação imune na patogênese do LPO e as citocinas participam ativamente do seu processo etiopatogênico (BAI et al. 2008; CHAUHAN et al. 2013; KIMKONG et al. 2011; PEKINER et al. 2012). Estudos indicam uma expressão aumentada de IFN- γ no LPO, implicando numa resposta predominantemente Th1 na doença (CARVALHO et al. 2019; PAYERAS et al. 2013; SUGERMAN et al. 2002). Por outro lado, a expressão de IL-4 e IL-5, citocinas tipicamente implicadas em respostas Th2, mostram um papel mais inconsistente na patogênese do LPO (LU et al. 2015). AL-MOHAYA et al. (2016) não encontraram diferenças nas frequências de polimorfismos dos alelos e genótipos de IL-6 e TGF- β 1 comparando pacientes com LPO e controles, mas sugeriram que diferentes polimorfismos em IFN- γ possam estar associados com riscos aumentados ou diminuídos de desenvolvimento do LPO.

Citocinas dependentes de NFkappaB, tais como IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α , parecem desempenhar um papel importante na patogênese do LPO (SANTORO et al. 2003; SUGERMAN et al. 2002). Estudos demonstraram que a saliva, o soro e células mononucleares do sangue periférico de pacientes com LPO não apresentam dominância Th1 ou Th2 distinta, mas apresentam um perfil de expressão geral misto de citocinas de ambas as respostas (LIU et al. 2009). Diversos estudos têm buscado encontrar evidências do papel específico das IL, tais como IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 e IL-17 no LPO (BAI et al. 2008; CHAUHAN et al. 2013; LU et al. 2015).

A liberação de citocinas por queratinócitos tem sido investigada em diversas doenças, incluindo o LPO (ELDER et al. 1989; YAMAMOTO et al. 1994). Acredita-se que estas células, nos quadros de inflamação crônica da mucosa oral, produzam muitas citocinas e tenham a capacidade de interagir com outras células, como fibroblastos, células endoteliais e linfócitos, por meio dessas citocinas (BOXMAN et al. 1993; STRANGE et al. 1993). Os queratinócitos no LPO sinalizam com os principais antígenos do MHC de classe II aos linfócitos T CD4+, estimulando a secreção de IL-2 e de IFN- γ , os quais estão associados às células Th1, ativando as células T CD8+ e levando à apoptose dos queratinócitos via TNF- α . Esta citocina promove a ativação do NFkappaB nas células T subepiteliais, causando o aumento

da expressão de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-6 (GU et al. 2004; ROOPASHREE et al. 2010; SUGERMAN et al. 2000a; ZHANG et al. 2008). Outros estudos têm demonstrado que a IL-10, por sua vez, tem a capacidade de inibição do NFkappaB, determinando seus efeitos antiinflamatórios (LENTSCH et al. 1997; SCHOTTELIUS et al. 1999; WANG et al. 1995;).

BABIUCH et al. (2020) demonstraram o aumento da expressão de citocinas dependentes de NFkappaB, incluindo IL-6, IL-8 e TNF- α , em espécimes teciduais e na saliva de pacientes com carcinoma de células escamosas e com desordens potencialmente malignas, como a leucoplasia oral e o LPO. Além disso, os resultados do trabalho sustentam a possibilidade de que as citocinas em questão possam participar da patogênese destas condições e de que biomarcadores inflamatórios possam ser úteis no processo de transformação maligna na mucosa oral.

Dessa forma, a expressão tecidual de IL, assim como seus níveis no soro e na saliva, em pacientes com LPO podem ser considerados importantes marcadores patogénéticos da doença e, eventualmente, podem ser considerados indicadores para uma futura resposta terapêutica (NIBALI et al. 2012; SUN et al. 2002).

1.3.1 IL-6 no LPO

A IL-6 é uma das citocinas mais diretamente associadas ao processo inflamatório (CHOY & PANAYI, 2001). É responsável pela síntese de moléculas de fase aguda no fígado e por regular a via inflamatória/imunológica, o metabolismo ósseo e funções endócrinas no organismo (TERRY et al. 2000). É uma citocina multifuncional que pode ser sintetizada em resposta a diversos estímulos, incluindo desde quadros infecciosos até eventos traumáticos, por uma variedade de células tais como macrófagos, neutrófilos, queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais (KISHIMOTO et al. 1995).

A IL-6 é capaz de estimular inúmeros processos biológicos incluindo produção de anticorpos e autoanticorpos, ativação de linfócitos T, diferenciação de linfócitos B, aumento nas proteínas de fase aguda, hematopoiese, indução de angiogênese, aumento da permeabilidade vascular e diferenciação osteoclástica. A superprodução

de IL-6 está envolvida na patogênese de diversas doenças, como artrite reumatoide, doença de Castleman, artrite idiopática juvenil e doença de Crohn (NISHIMOTO et al. 2000). O gene humano da IL-6 está localizado no cromossomo 7p21 e polimorfismos genéticos em IL-6 têm sido associados à modulação do risco em doenças inflamatórias e imunológicas crônicas (BOWCOCK et al. 1988; FISHMAN et al. 1998; TERRY et al. 2000).

A participação de IL-6 no desenvolvimento do LPO pode incluir o crescimento e a diferenciação de linfócitos T, a apoptose de queratinócitos da camada basal e a proliferação epitelial (GU et al. 2004). Estudos têm demonstrado uma maior concentração salivar e sérica de IL-6 em pacientes com LPO comparados a controles, especialmente nas formas ulceradas e mais graves (GU et al. 2004; ZHANG et al. 2008). Além disso, as concentrações séricas e salivares de IL-6 têm sido consideradas marcadores úteis no monitoramento do *status* da doença e na resposta terapêutica (RHODUS et al. 2006; SUN et al. 2002). ABDEL-HAQ et al. (2014) estudaram a concentração de IL-6 e da neopterin (um marcador de atividade citotóxica dos linfócitos T) por meio de suas concentrações no sangue e saliva, em pacientes com LPO e cutâneo em comparação a um grupo controle, mostrando maiores concentrações de IL-6 em pacientes com LPO e cutâneo. MOZAFFARI et al. (2018) reforçaram em uma meta-análise que a IL-6 é um biomarcador importante no LPO, confirmando sua participação na patogênese da doença.

1.3.2 IL-17 no LPO

A IL-17 é um citocina pró-inflamatória pleiotrópica de papel fundamental na patogênese de algumas doenças cutâneas como a psoríase vulgar e a artrite psoriásica. É uma citocina característica das células Th17, mas que pode ser produzida também por macrófagos, mastócitos, células NK, neutrófilos e linfócitos T. A IL-17 pode regular positivamente e/ou mostrar ação sinérgica com mediadores locais em processos inflamatórios e, com isso, determinar a lesão da matriz extracelular por meio do estímulo a produção de metaloproteinases de matriz (JOVANOVIC et al. 2001).

Células Th17 podem surgir durante respostas imunes contra patógenos extracelulares e fungos em infecções em camundongos, bem como em humanos (RUDNER et al. 2007; YE et al. 2001;) A manutenção e expansão das células Th17 foram associadas à expressão de IL-23, uma citocina que desempenha um papel fundamental no aparecimento de doenças autoimunes e que regula a produção de IL-17 (BETTELLI et al. 2007; HARRINGTON et al. 2005; HARRINGTON et al. 2006).

O gene da IL-17 é localizado no cromossomo 6p12.1 e contém 3 éxons e 2 íntrons. A IL-17A G197A (rs2275913) é a mutação mais estudada nesta IL e tem sido associada ao aumento da susceptibilidade a diversas doenças sistêmicas como câncer gástrico, doença de Crohn, colite ulcerativa e lupus eritematoso juvenil sistêmico (SPEECKAERT et al. 2016), mas pouco se sabe sobre a sua participação em doenças orais.

Acredita-se que a IL-17 desempenhe um papel importante na patogênese do LPO, no entanto, a literatura ainda é escassa sobre o real significado da participação desta citocina na doença, especialmente nas lesões cutâneas. ZYCHOWSKA et al. (2020) demonstraram que a expressão imuno-histoquímica de IL-17 em lesões cutâneas de líquen plano foi significativamente maior quando comparada com controles com pele saudável. A IL-17 não produz seus efeitos apenas nas células imunes, mas também nos queratinócitos e nos fibroblastos. Concentrações séricas aumentadas de IL-17 e maior expressão tecidual da citocina têm sido demonstradas no LPO (GUEIROS et al. 2018; MONTEIRO et al. 2015; WANG et al. 2013). FIRTH et al. (2015), por outro lado, demonstraram que a maioria das células IL-17+ estavam localizadas na porção mais profunda do estroma no LPO, próximas a mastócitos, levantando a possibilidade desta associação na patogênese do LPO.

1.3.3 IL-18 no LPO

A IL-18 é uma citocina pro-inflamatória envolvida na regulação da resposta imune inata e adquirida, sendo produzida por macrófagos, monócitos e osteoblastos (DINARELLO & FANTUZZI, 2003; GERDES et al. 2002). A IL-18 tem um papel importante na regulação de IFN- γ e em múltiplas funções incluindo o aumento da citotoxicidade de células T e células NK, o aumento da produção de perforina e a

indução de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (DAO et al. 1996; HOSHINO et al. 1999). A propriedade biológica mais evidente da IL-18 é sua habilidade de induzir a produção de INF- γ na presença de IL-12, tendo sido descrita como um fator de indução de IFN- γ (OKAMURA et al. 1995). Além disso, a IL-18 estimula a produção de TNF- α e aumenta a diferenciação de linfócitos T em Th1 e interfere na síntese da citocina anti-inflamatória IL-10 (NAKAHIRA et al. 2002; PUREN et al. 1998).

A expressão de IL-18 e sua atividade funcional foram associadas com a regulação da resposta imune inata e adquirida da mucosa oral (ZHANG et al. 2012). Tem sido sugerido que a patogênese do LPO pode envolver inicialmente IL-18, por meio da ativação de Th1, aumentando a expressão de citocinas Th1 como TNF- α e IFN- γ e levando a apoptose de queratinócitos (HAY et al. 2016; ZHANG et al. 2012).

A IL-18 parece estar adicionalmente envolvida na produção de linfócitos T e NK em colaboração com a IL-12. Esta citocina pode ser expressa por uma grande variedade de células, como células de Kupffer, macrófagos, linfócitos T e B, osteoblastos, queratinócitos, células dendríticas, astrócitos e micróglia, possuindo uma importante participação na cascata da inflamação. Na ausência de IL-12, a IL-18 orienta a diferenciação de Th2, estimulando a produção de IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. Dessa forma, a IL-18 parece atuar como fator modulador entre Th1 e Th2 e, com isto, participar na modulação do *status* imune no LPO (BAI et al. 2007; LU et al. 2015).

Embora existam evidências de que IL-6, IL-17 e IL-18 possam ser importantes no mecanismo de patogênese do LPO, a maioria dos estudos têm avaliado suas alterações séricas e salivares. Poucos estudos têm avaliado sua presença e localização específica tecidual, buscando correlacionar sua expressão com parâmetros clínicos e histológicos no LPO.

2 PROPOSIÇÃO

Os objetivos do presente estudo incluíram: (1) avaliar de forma descritiva e comparativa as características clínico-patológicas do LPO e das LLO; (2) avaliar a expressão dos mediadores inflamatórios IL-6, IL-17 e IL-18 no LPO, correlacionando com os aspectos clínicos e microscópicos da doença.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Análise clínico-patológica

O presente estudo teve caráter retrospectivo e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (registro número 3.770.736) (ANEXO), tendo sido realizado seguindo todos os preceitos éticos estabelecidos pela declaração de Helsinki.

Os arquivos do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro foram revisados entre os anos de 2005 e 2019 e todos os casos diagnosticados histologicamente como compatíveis com LPO e com LLO foram selecionados. Após esta revisão inicial, os casos que não apresentavam cortes histológicos adequados para análise ou blocos de parafina disponíveis para novos cortes, os casos que não apresentavam informações clínicas suficientes e os casos diagnosticados como outras doenças de padrão liquenoide (como a doença do enxerto contra o hospedeiro) foram excluídos da amostra. Todos os casos que mostravam um infiltrado inflamatório liquenoide, mas que foram diagnosticados como outras condições após a correlação clínica ou a realização de reações imuno-histoquímicas (como, por exemplo, algumas leucoplasias e leucoeritropias e a estomatite crônica ulcerativa) também foram excluídos da amostra final.

Após esta seleção inicial, lâminas histológicas contendo cortes corados em hematoxilina e eosina (HE) de todos os casos foram revisadas para confirmação diagnóstica. Cortes adicionais corados em HE foram realizados quando houve dúvida no diagnóstico ou quando os cortes originais não mostravam todos os critérios necessários para a análise. A análise histológica foi realizada em conjunto com o professor da disciplina de Patologia Bucal responsável pelo laboratório. Os critérios histológicos utilizados para o diagnóstico do LPO e das LLO foram aqueles sugeridos por estudos considerados referências no assunto, incluindo VAN DER MEIJ & VAN DER WAAL (2003) e CHENG et al. (2016) (Figuras 1 e 2).

Figura 1. Critérios diagnósticos clínicos e microscópicos para o líquen plano oral.

Table 2. Proposal for a set of modified WHO diagnostic criteria of oral lichen planus (OLP) and oral lichenoid lesions (OLL)

Clinical criteria	
Presence of bilateral, more or less symmetrical lesions	
Presence of a lace-like network of slightly raised gray-white lines (reticular pattern)	
Erosive, atrophic, bulbous and plaque-type lesions are only accepted as a subtype in the presence of reticular lesions elsewhere in the oral mucosa	
In all other lesions that resemble OLP but do not complete the aforementioned criteria, the term 'clinically compatible with' should be used	
Histopathologic criteria	
Presence of a well-defined band-like zone of cellular infiltration that is confined to the superficial part of the connective tissue, consisting mainly of lymphocytes	
Signs of 'liquefaction degeneration' in the basal cell layer	
Absence of epithelial dysplasia	
When the histopathologic features are less obvious, the term 'histopathologically compatible with' should be used	
Final diagnosis OLP or OLL	
To achieve a final diagnosis clinical as well as histopathologic criteria should be included	
OLP	A diagnosis of OLP requires fulfillment of both clinical and histopathologic criteria
OLL	The term OLL will be used under the following conditions:
	1. Clinically typical of OLP but histopathologically only 'compatible with' OLP
	2. Histopathologically typical of OLP but clinically only 'compatible with' OLP
	3. Clinically 'compatible with' OLP and histopathologically 'compatible with' OLP

Fonte: VAN DER MEIJ & VAN DER WAAL, 2003

Figura 2. Critérios diagnósticos clínicos e microscópicos para o líquen plano oral.

Table IV. Comparison of the WHO criteria,¹⁹ the modified WHO criteria,¹ and the proposed criteria for OLP

	<i>WHO criteria</i>	<i>Modified WHO criteria</i>	<i>Proposed criteria</i>
<i>Clinical criteria</i>	Usually multiple, and often symmetric in distribution - White papular, reticular (lace-like network of slightly raised gray-white lines), annular, or plaque-type lesions - White lines radiating from the papules - Atrophic lesions with or without erosion - Bullae are rare	Bilateral, more or less symmetric lesions - Erosive, atrophic, bulbous, and plaque-type lesions are only accepted as a subtype in the presence of reticular lesions elsewhere in the oral mucosa - Lace-like network of slightly raised gray-white lines (reticular pattern)	Multifocal symmetric distribution White and red lesions exhibiting one or more of the following forms: - Reticular/papular - Atrophic (erythematous) - Erosive (ulcerative) - Plaque - Bullous Lesions are not localized exclusively to the sites of smokeless tobacco placement Lesions are not localized exclusively adjacent to and in contact with dental restorations Lesion onset does not correlate with the start of a medication Lesion onset does not correlate with the use of cinnamon-containing products
<i>Histopathologic criteria</i>	Orthokeratosis or parakeratosis Epithelial thickness varies, saw-tooth rete ridges sometimes seen Civatte bodies in the basal layer of the epithelium or superficial lamina propria A narrow band of eosinophilic material in the basement membrane Well-defined band-like zone of cellular infiltration that is confined to the superficial lamina propria, consisting mainly of lymphocytes Liquefaction degeneration in the basal cell layer	Well-defined, band-like zone of cellular infiltration consisting mainly of lymphocytes and confined to the superficial lamina propria Liquefaction degeneration in the basal cell layer Absence of epithelial dysplasia	Band-like or patchy, predominately lymphocytic infiltrate in the lamina propria confined to the epithelium-lamina propria interface Basal cell liquefactive (hydropic) degeneration Lymphocytic exocytosis Absence of epithelial dysplasia Absence of verrucous epithelial architectural change

Fonte: CHENG et al. 2016

Casos apresentando displasia epitelial e/ou arquitetura epitelial verrucosa e casos diagnosticados como outras entidades após a revisão histológica foram excluídos da amostra. Os casos diagnosticados como LPO foram aqueles que preencheram todos os critérios histológicos descritos pelas referências utilizadas. Casos diagnosticados como LLO mostravam um infiltrado inflamatório predominantemente linfocítico subepitelial em banda e também um infiltrado profundo disposto em padrão perivascular e por vezes formando centros germinativos. Casos apresentando a maioria, mas não todos os critérios para o diagnóstico de LPO, e sem a presença do infiltrado linfocítico profundo e dos centros germinativos foram diagnosticados como compatíveis com LPO.

Após a revisão histológica para confirmação diagnóstica e estabelecimento da amostra final, os registros laboratoriais contendo as informações clínicas de todos os casos foram revisados. As informações obtidas incluíram a idade e o gênero dos pacientes, o tempo de evolução e os sintomas associados às lesões, e o aspecto clínico e a localização anatômica das lesões.

Ao final da revisão clínica e histológica, todas as informações foram tabuladas em uma planilha desenhada especificamente para o estudo, categorizadas quando indicado e avaliadas de forma descritiva e comparativa utilizando o *software Statistical Program for Social Sciences* (IBM, versão 2.0), considerando o nível de significância de 5% ($p=0.05$). Para as variáveis numéricas foi utilizado o teste T e para as variáveis categóricas foi utilizado o teste do qui-quadrado.

3.2 Análise imuno-histoquímica

Quarenta casos com diagnóstico final de LPO foram selecionados a partir da amostra principal para a realização das reações imuno-histoquímicas. Os critérios para seleção dos 40 casos incluíram espécimes com representatividade adequada e com informações clínicas mais completas. Os blocos de parafina destes 40 casos foram selecionados e cortes histológicos de 3 μm de cada bloco foram obtidos em lâminas silanizadas específicas para a realização da imuno-histoquímica. Nestes casos a avaliação histológica incluiu adicionalmente aos critérios avaliados em toda

a amostra, a presença ou não de hiperqueratose e a espessura do tecido epitelial (classificado em normal, atrófico ou hiperplásico).

Foram realizadas reações imuno-histoquímicas utilizando anticorpos primários anti-CD4 (mouse monoclonal antibody, M3354, Spring Biosciences, Califórnia, Estados Unidos, diluição 1:100), anti-CD8 (mouse monoclonal antibody, M7103, Dako, Califórnia, Estados Unidos, diluição 1:200), anti-IL-6 (mouse monoclonal antibody, SC-130326, Santa Cruz Biotechnology, Califórnia, Estados Unidos, diluição 1:500), anti-IL-17 (rabbit policlonal antibody, SC-7927, Santa Cruz Biotechnology, Califórnia, Estados Unidos, diluição 1:200) e anti-IL-18 (rabbit policlonal antibody, SC-7954, Santa Cruz Biotechnology, Califórnia, Estados Unidos, diluição 1:200). Para a realização das reações imuno-histoquímicas os cortes foram inicialmente desparafinizados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de álcool absoluto, 90°, 70° e 50° e submetidos à recuperação antigênica utilizando tampão citrato pH 6.0 em microondas em potência máxima por 12 minutos. A inativação da peroxidase endógena foi realizada por meio da imersão dos cortes em peróxido de hidrogênio a 3% por 10 minutos e foi seguida da incubação dos cortes com os anticorpos primários em câmara úmida a 4°C por 16 horas. Controles positivos (pulmão para IL-6; polimorfonucleares para IL-17 e baço para IL-18) e negativos (omissão dos anticorpos primários) foram incluídos em todas as reações, segundo as orientações dos fabricantes. Após a incubação com os anticorpos primários os cortes foram incubados com os anticorpos secundários de um sistema imunoenzimático de detecção de antígenos livre de biotina (Reveal Polyvalent HRP-DAB detection system, SPD-125, Spring Biosciences, California, Estados Unidos). As reações foram visualizadas com auxílio do cromógeno diaminobenzidina (Reveal Polyvalent HRP-DAB detection system, SPD-125, Spring Biosciences, California, Estados Unidos), contra-coloração com hematoxilina de Carazzi e montagem com resina e lamínulas.

Todas as lâminas derivadas das reações imuno-histoquímicas foram avaliadas sob microscopia ótica por dois observadores em conjunto, incluindo a aluna e o professor responsável pelo Laboratório de Patologia Bucal. As avaliações imuno-histoquímicas partiram da seleção da área mais representativa (*hot spot*) da lâmina no aumento de 4x, seguida do aumento em 40x e realização de digitalização destas áreas. O foco da imagem se deu na transição epitélio/tecido conjuntivo e foi considerada a área que apresentava maior acometimento e intensidade de

marcação. A avaliação da presença de linfócitos CD4+ e CD8+ foi realizada no tecido conjuntivo dentro do infiltrado liquenoide e no tecido epitelial nas áreas de exocitose. A expressão de IL-6, IL-17 e IL-18 foi avaliada no tecido epitelial e no tecido conjuntivo da lâmina própria em localização subepitelial e em associação ao infiltrado linfocítico liquenoide. A expressão foi classificada em negativa/focal (quando negativo ou quando até 5% do componente tecidual avaliado expressava a IL), leve/moderado (quando a expressão era observada em 5 a 50% do componente tecidual avaliado) e forte (quando mais de 50% do componente tecidual avaliado expressava a IL). Os critérios utilizados foram adaptados de BABIUCH et al. (2020) (Figura 3).

Figura 3. Critérios utilizados para a avaliação da expressão imuno-histoquímica das interleucinas 6, 17 e 18.

Table 1. Immunoreactive score for cytokines immunohistochemistry.

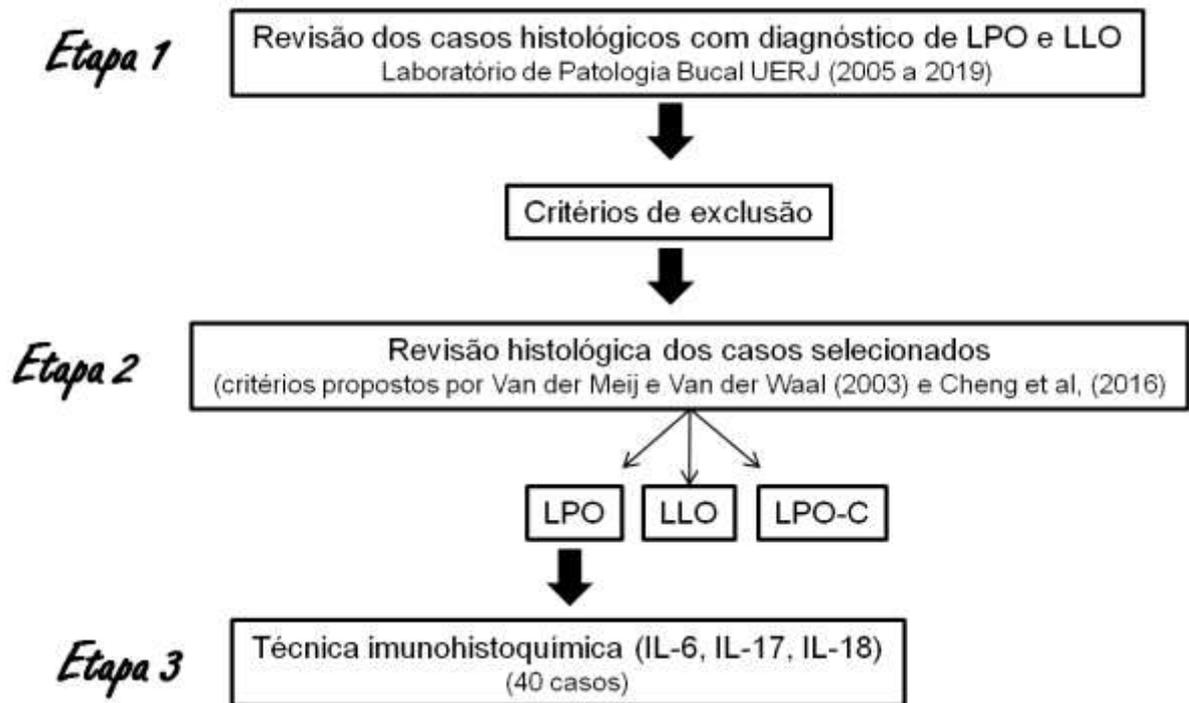
Score	Percentage of Immunopositive Cells	Staining Intensity
0	0	Negative
1	<5	Weak
2	5–50	Moderate
3	>50	Strong

All histopathological and immunohistochemical evaluations were made by board-certified specialist in pathomorphology (K.O.) in the Chair of Pathomorphology, Jagiellonian University Medical College, Krakow, Poland.

Fonte: BABIUCH et al. 2020.

Os resultados da avaliação histológica e imuno-histoquímica foram analisados de maneira descritiva e comparativa levando em consideração os aspectos clínicos dos 40 casos selecionados. Todas as informações foram também tabuladas em uma planilha desenhada especificamente para o estudo, categorizadas quando indicado, e avaliadas de forma descritiva e comparativa utilizando o *software Statistical Program for Social Sciences* (IBM, versão 2.0), considerando o nível de significância de 5% ($p=0.05$), assim como realizado para amostra total. Para as variáveis numéricas foi utilizado o teste T e para as variáveis categóricas foi utilizado o teste do qui-quadrado.

Figura 4. Fluxograma das etapas realizadas no trabalho.



4 RESULTADOS

4.1 Amostra completa

A amostra final foi composta por 221 pacientes, incluindo 119 casos diagnosticados como LPO (53.8%), 65 como compatíveis com LPO (29.4%) e 37 como LLO (16.7%). Com relação ao gênero, 160 eram mulheres (72.4%) e 61 homens (27.6%) (relação mulheres:homens de 2.6:1) e a idade média dos pacientes foi de 54 anos (variando de 16 a 86 anos). As mulheres foram mais acometidas nos três grupos, mas o número de homens afetados foi maior nas LLO (Tabela 1). A idade média dos pacientes foi menor no LPO (52.3 anos) em comparação com as LLO (57.9 anos) ($p=0.020$), mas não houve diferença quando comparada com a idade média dos pacientes com lesões compatíveis com LPO (55.2 anos).

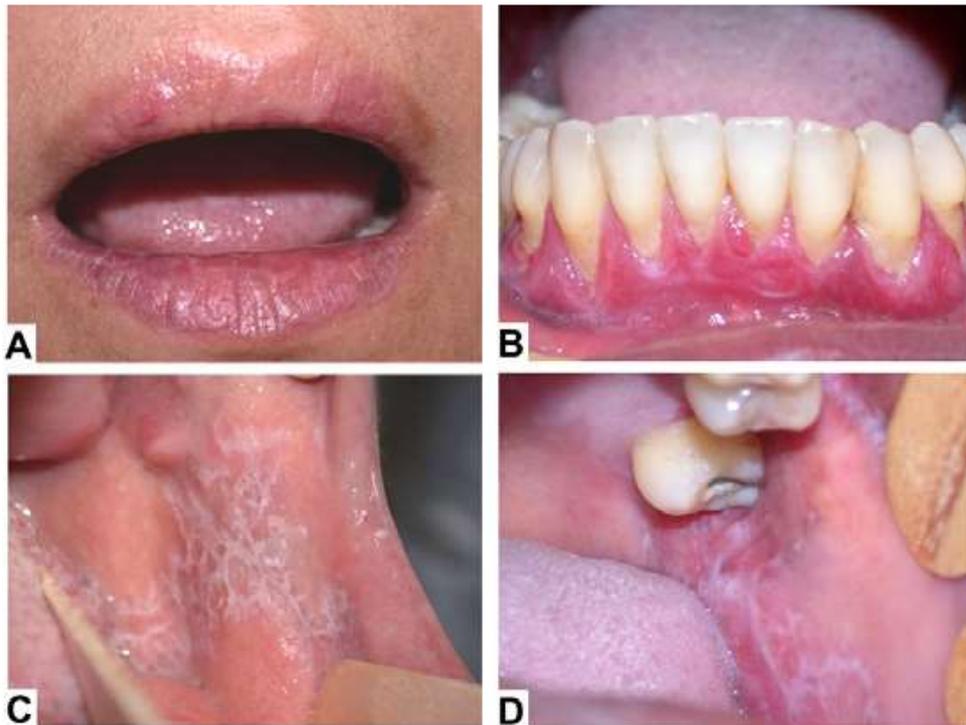
Sintomas, incluindo especialmente desconforto, queimação e dor, foram relatados por 48.8% dos pacientes ($n=160$) e foram mais frequentes em mulheres (55%) do que em homens (33%) ($p=0.009$). Sintomas foram mais relatados quando existia envolvimento gengival e por pacientes acometidos por lesões atróficas/erosivas/ulceradas (associadas ou não com áreas reticulares) ($p<0.0001$). Não houve diferença estatisticamente significativa com relação à presença de sintomas comparando os três grupos.

A mucosa jugal foi a localização anatômica mais afetada (157 casos, 71%), seguida da língua (100 casos, 45.2%) e da gengiva/mucosa alveolar (44 casos, 19.9%). A língua foi mais acometida nos homens ($p=0.004$) e a gengiva/mucosa alveolar nas mulheres ($p=0.021$). O envolvimento da mucosa jugal e da língua foi mais frequente no LPO e o envolvimento da gengiva/mucosa alveolar foi infrequente nas LLO. O número de sítios anatômicos envolvidos foi maior no LPO e nos casos compatíveis com LPO em comparação com as LLO, mas as diferenças não foram estatisticamente significativas (Figura 5 e figura 6 e tabela 1).

O padrão reticular isolado foi a forma mais comum de apresentação clínica (117 casos, 52.9%), seguida da associação entre os padrões reticular e atrófico/erosivo/ulcerado (92 casos, 41.6%) e do padrão atrófico/erosivo/ulcerado isolado (12 casos, 5.4%). Lesões em placa estavam presentes em 11 casos (5%) e

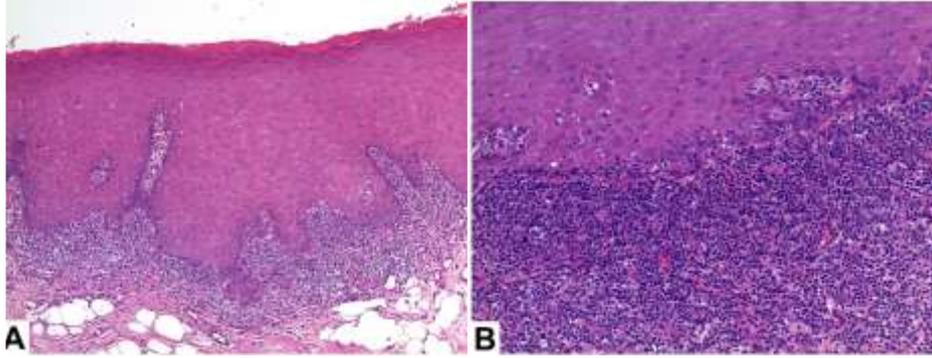
bolhas em 2 casos (0.9%), mas sempre associadas com outros padrões clínicos. O padrão reticular isolado foi mais frequentemente encontrado no LPO, enquanto a associação de padrões reticular e atrófico/erosivo/ulcerado foi mais comum nas lesões compatíveis com LPO e nas LLO ($p=0.025$) (Tabela 1).

Figura 5. Características clínicas do LPO.



Legenda: A. Estrias brancas associadas com áreas eritematosas discretas no lábio inferior. B. Gengiva livre e inserida inferior anterior mostrando áreas eritematosas difusas e estrias brancas focais. C e D. Mucosa jugal mostrando o padrão característico de estrias esbranquiçadas do padrão reticular. Fonte: Miguel et al. 2018.

Figura 6. Características histológicas do LPO.



Legenda: A. Epitélio escamoso estratificado mostrando acantose e paraqueratose associado a um infiltrado inflamatório subepitelial em um padrão em banda. (HE, 100x). B. Detalhe do infiltrado inflamatório em banda composto majoritariamente por linfócitos produzindo degeneração da camada basal (HE, 200x). Fonte: Miguel et al. 2018.

Tabela 1. Distribuição dos parâmetros clínicos por diagnóstico.

Parâmetro	Diagnóstico (n=221)			P *
	LPO (n=119)	LPO-C (n=65)	LLO (n=37)	
Gênero				0.130
Feminino	91 (76%)	47 (72%)	22 (59%)	
Masculino	28 (24%)	18 (28%)	15 (41%)	
Localização anatômica das lesões				
Mucosa jugal				0.084
Não	27 (23%)	24 (37%)	13 (35%)	
Sim	92 (77%)	41 (63%)	24 (65%)	
Língua				0.465
Não	61 (51%)	37 (57%)	23 (62%)	
Sim	58 (49%)	28 (43%)	14 (38%)	
Gengiva/mucosa alveolar				0.141
Não	92 (77%)	51 (78%)	34 (92%)	
Sim	27 (23%)	14 (22%)	3 (8%)	
Número de sítios acometidos				0.108
Um	54 (45%)	38 (58%)	27 (73%)	
Dois	51 (43%)	20 (31%)	8 (22%)	
Três	9 (8%)	4 (6%)	2 (5%)	
Mais de três	5 (4%)	3 (5%)	-	
Aspecto clínico das lesões				0.025
Reticular	73 (61%)	28 (43%)	16 (43%)	
Atrófico/erosivo/ulcerado	4 (4%)	7 (11%)	1 (3%)	
Reticular + atrófico/erosivo/ulcerado	42 (35%)	30 (46%)	20 (54%)	

Nota:* Qui-quadrado de Pearson. LPO – líquen plano oral; LPO-C – compatível com LPO; LLO – lesões liquenoides orais. Fonte: A autora, 2021.

O tempo de evolução médio das lesões foi de 19.7 meses (variando de 1 a 360 meses). O tempo de evolução médio relatado pelas mulheres (22.6 meses) foi o dobro do relatado pelos homens (11 meses) (p=0.261). Pacientes assintomáticos

relataram tempo de evolução mais longo (24.5 meses) em comparação com pacientes sintomáticos (16 meses) ($p=0.399$). Pacientes acometidos exclusivamente por lesões reticulares relataram tempo de evolução mais longo (21.5 meses) que os pacientes acometidos pela forma reticular em associação com a forma atrófica/erosiva/ulcerada (16.9 meses) ($p=0.628$). Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes com relação ao tempo de evolução das lesões comparando LPO (11.6 meses), lesões compatíveis com LPO (22.3 meses) e LLO (45.8 meses).

4.2 Amostra utilizada para a análise imuno-histoquímica

A amostra final utilizada para análise da expressão de IL-6, IL-17 e IL-18 foi composta por 40 casos diagnosticados como LPO, incluindo 19 mulheres (47%) e 21 homens (53%). A idade média dos pacientes foi de 52.8 anos (± 13.87 , variando dos 20 aos 80 anos de idade). Não houve diferença estatisticamente significativa entre a idade média dos homens (50.7 anos, ± 12.28) e das mulheres (55.2 anos, ± 15.42) incluídos na amostra ($p=0.313$). A localização das lesões mostrou que 34 pacientes (85%) apresentavam lesões na mucosa jugal, 17 pacientes (42%) apresentavam lesões na língua e 19 pacientes (47%) apresentavam lesões na gengiva/mucosa alveolar. Com relação ao número de sítios anatômicos acometidos, 12 pacientes (30%) mostravam acometimento de apenas um sítio anatômico, 20 (50%) de dois sítios anatômicos e 8 (20%) de três ou mais sítios anatômicos. Clinicamente, 14 pacientes (35%) mostravam lesões exclusivamente reticulares e 26 pacientes (65%) mostravam lesões reticulares associadas a lesões atrófico-erosivas. Sintomas estavam descritos em 34 pacientes e mostraram 21 pacientes sintomáticos (53%), os quais reportavam principalmente ardência e desconforto local. O tempo de evolução das lesões estava descrito em nove casos e mostrou média de 7.4 meses (± 7.6 , variando de 1 a 24 meses).

A distribuição da localização das lesões, do número de sítios anatômicos envolvidos, do aspecto clínico das lesões e da presença de sintomas mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados os gêneros dos pacientes (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição da localização das lesões, do número de sítios anatômicos envolvidos, do aspecto clínico das lesões e da presença de sintomas pelo gênero dos pacientes (n=40, exceto para presença de sintomas).

Parâmetro	Gênero		p *
	Feminino (n=19)	Masculino (n=21)	
Lesões na mucosa jugal			0.308
Não	4 (21%)	9 (9%)	
Sim	15 (79%)	19 (91%)	
Lesões na língua			0.184
Não	13 (68%)	10 (48%)	
Sim	6 (32%)	11 (52%)	
Lesões na gengiva/mucosa alveolar			0.987
Não	10 (53%)	11 (52%)	
Sim	9 (47%)	10 (48%)	
Número de sítios acometidos			0.626
Um	7 (37%)	5 (24%)	
Dois	9 (47%)	11 (52%)	
Três ou mais que 3	3 (16%)	5 (24%)	
Aspecto clínico das lesões			0.119
Reticular	9 (47%)	5 (24%)	
Reticular + atrófico/erosivo	10 (53%)	16 (75%)	
Presença de sintomas (n=34)			0.533
Não	7 (44%)	6 (33%)	
Sim	9 (56%)	12 (67%)	

Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

A média de idade dos pacientes que apresentavam sintomas (54.5 anos, ± 12.19) foi semelhante à média daqueles que não apresentavam sintomas (55.2 anos, ± 14.25) ($p=0.888$). A média de idade dos pacientes apresentando lesões exclusivamente reticulares (56.3 anos, DP 13.97) também foi semelhante a média de idade daqueles apresentando lesões reticulares e atrófico-erosivas associadas (51 anos, ± 13.72) ($p=0.258$).

A gengiva/mucosa alveolar foi mais acometida por lesões de padrão reticular em associação com o padrão atrófico-erosivo ($p=0.002$), em contraste com uma tendência ao predomínio do padrão reticular exclusivo na mucosa jugal ($p=0.051$) e uma distribuição semelhante dos padrões clínicos na língua ($p=0.973$). A presença de sintomas foi mais comum nos pacientes portadores da forma reticular associada à forma atrófico-erosiva (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição da localização das lesões e da presença de sintomas de acordo com o aspecto clínico das lesões ($n=40$, exceto para presença de sintomas).

Parâmetro clínico	Aspecto clínico das lesões		p *
	Reticular	Reticular + atrófico/erosivo	
Lesões na mucosa jugal			0.051
Não	0	6 (100%)	
Sim	14 (41%)	20 (59%)	
Lesões na língua			0.973
Não	8 (35%)	15 (65%)	
Sim	6 (35%)	11 (65%)	
Lesões na gengiva/mucosa alveolar			0.002
Não	12 (57%)	9 (43%)	
Sim	2 (10%)	17 (90%)	
Presença de sintomas ($n=34$)			0.009
Não	9 (69%)	4 (31%)	
Sim	5 (24%)	16 (76%)	

Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

Com relação aos aspectos microscópicos (além dos parâmetros histológicos básicos necessários para o diagnóstico de LPO), o epitélio mostrou espessura normal, atrófica ou hiperplásica em, respectivamente, 17 (43%), 9 (22%) e 14 (35%) casos. A presença de hiperqueratose foi observada em 21 casos (53%) e exocitose de linfócitos T CD4+ e de linfócitos T CD8+ estava presente em, respectivamente, 17 (42%) e 30 (75%) casos.

Com relação à expressão imuno-histoquímica, de forma geral a IL-6 foi a IL mais expressa tanto no tecido epitelial quanto no tecido conjuntivo. A expressão de IL-6 foi considerada intensa no tecido epitelial e no tecido conjuntivo em 50% e 63% dos casos, respectivamente. A expressão de IL-17 no tecido epitelial foi considerada leve/moderada em 48% dos casos e considerada intensa no tecido conjuntivo em 40% dos casos. A IL-18 foi a IL menos expressa nos casos avaliados, tendo sido considerada ausente/focal no tecido epitelial em 42% dos casos e leve/moderada no tecido conjuntivo em 45% dos casos. A tabela 4 mostra a expressão imuno-histoquímica da IL-6, IL-17 e IL-18 nos tecidos epitelial e conjuntivo.

Tabela 4. Expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 no tecido epitelial e no tecido conjuntivo.

IL / localização	Expressão imuno-histoquímica		
	Ausente/focal	Leve/moderada	Intensa
IL-6			
Tecido epitelial	11 (28%)	9 (22%)	20 (50%)
Tecido conjuntivo	6 (15%)	9 (22%)	25 (63%)
IL-17			
Tecido epitelial	13 (32%)	19 (48%)	8 (20%)
Tecido conjuntivo	10 (25%)	14 (35%)	16 (40%)
IL-18			
Tecido epitelial	17 (42%)	16 (40%)	7 (18%)
Tecido conjuntivo	14 (35%)	18 (45%)	8 (20%)

Fonte: A autora, 2021.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas com relação à distribuição da expressão das IL avaliadas no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a presença de lesões na mucosa jugal (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o envolvimento da mucosa jugal.

Expressão das IL	Presença de lesões na mucosa jugal		
	Não (n=6)	Sim (n=34)	p
IL-6 – tecido epitelial			0.655
Ausente / focal	2 (33%)	9 (27%)	
Leve / moderada	2 (33%)	7 (21%)	
Intensa	2 (33%)	18 (53%)	
IL-6 – tecido conjuntivo			0.394
Ausente / focal	2 (33%)	4 (12%)	
Leve / moderada	1 (17%)	8 (23%)	
Intensa	3 (50%)	22 (65%)	
IL-17 – tecido epitelial			0.606
Ausente / focal	3 (50%)	10 (29%)	
Leve / moderada	2 (33%)	17 (50%)	
Intensa	1 (17%)	7 (21%)	
IL-17 – tecido conjuntivo			0.828
Ausente / focal	1 (17%)	9 (27%)	
Leve / moderada	2 (33%)	12 (35%)	
Intensa	3 (50%)	13 (38%)	
IL-18 – tecido epitelial			0.084
Ausente / focal	5 (83%)	12 (35%)	
Leve / moderada	1 (17%)	15 (44%)	
Intensa	0	7 (21%)	
IL-18 – tecido conjuntivo			0.161
Ausente / focal	4 (67%)	10 (29%)	
Leve / moderada	2 (33%)	16 (47%)	
Intensa	0	8 (24%)	

Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

A expressão de IL6 no tecido epitelial foi menor nos casos que mostravam lesões localizadas na língua (p=0.036). Não foram observadas diferenças

estatisticamente significativas com relação à distribuição da expressão da IL6 no tecido conjuntivo e das demais IL avaliadas no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a presença de lesões na língua (Tabela 6).

Tabela 6. Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o envolvimento da língua.

Expressão das IL	Presença de lesões na língua		p
	Não (n=23)	Sim (n=17)	
IL-6 – tecido epitelial			0.036
Ausente / focal	3 (13%)	8 (47%)	
Leve / moderada	5 (22%)	4 (24%)	
Intensa	15 (65%)	5 (29%)	
IL-6 – tecido conjuntivo			0.181
Ausente / focal	3 (13%)	3 (18%)	
Leve / moderada	3 (13%)	6 (35%)	
Intensa	17 (74%)	6 (47%)	
IL-17 – tecido epitelial			0.315
Ausente / focal	7 (30%)	6 (35%)	
Leve / moderada	13 (57%)	6 (35%)	
Intensa	3 (13%)	5 (30%)	
IL-17 – tecido conjuntivo			0.125
Ausente / focal	4 (17%)	6 (35%)	
Leve / moderada	11 (48%)	3 (18%)	
Intensa	8 (35%)	8 (47%)	
IL-18 – tecido epitelial			0.674
Ausente / focal	10 (44%)	7 (41%)	
Leve / moderada	10 (44%)	6 (35%)	
Intensa	3 (12%)	4 (24%)	
IL-18 – tecido conjuntivo			0.122
Ausente / focal	8 (35%)	6 (35%)	
Leve / moderada	8 (35%)	10 (59%)	
Intensa	7 (30%)	1 (6%)	

Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

Não foram observadas diferenças na expressão das IL nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo o envolvimento da gengiva/mucosa alveolar (Tabela 7).

Tabela 7. Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o envolvimento da gengiva/mucosa alveolar.

Expressão das IL	Presença de lesões na gengiva/mucosa alveolar		
	Não (n=21)	Sim (n=19)	p
IL-6 – tecido epitelial			0.660
Ausente / focal	7 (33%)	4 (21%)	
Leve / moderada	4 (19%)	5 (26%)	
Intensa	10 (48%)	10 (53%)	
IL-6 – tecido conjuntivo			0.698
Ausente / focal	4 (19%)	2 (11%)	
Leve / moderada	5 (24%)	4 (21%)	
Intensa	12 (57%)	13 (68%)	
IL-17 – tecido epitelial			0.724
Ausente / focal	8 (38%)	5 (26%)	
Leve / moderada	9 (43%)	10 (53%)	
Intensa	4 (19%)	4 (21%)	
IL-17 – tecido conjuntivo			0.409
Ausente / focal	7 (33%)	3 (16%)	
Leve / moderada	6 (29%)	8 (42%)	
Intensa	8 (38%)	8 (42%)	
IL-18 – tecido epitelial			0.662
Ausente / focal	10 (48%)	7 (37%)	
Leve / moderada	7 (33%)	9 (47%)	
Intensa	4 (19%)	3 (16%)	
IL-18 – tecido conjuntivo			0.080
Ausente / focal	9 (43%)	5 (26%)	
Leve / moderada	6 (29%)	12 (63%)	
Intensa	6 (29%)	2 (11%)	

Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

Não foram observadas diferenças na expressão das IL nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o padrão clínico de apresentação das lesões (Tabela 8).

Tabela 8. Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 nos tecidos epitelial e conjuntivo de acordo com o padrão clínico das lesões.

Expressão das IL	Padrão clínico das lesões		p
	Reticular (n=14)	Reticular + atrófico/erosivo (n=21)	
IL-6 – tecido epitelial			0.104
Ausente / focal	3 (21%)	8 (31%)	
Leve / moderada	1 (7%)	8 (31%)	
Intensa	10 (71%)	10 (38%)	
IL-6 – tecido conjuntivo			0.557
Ausente / focal	1 (7%)	5 (19%)	
Leve / moderada	3 (21%)	6 (23%)	
Intensa	10 (71%)	15 (58%)	
IL-17 – tecido epitelial			0.442
Ausente / focal	3 (21%)	10 (39%)	
Leve / moderada	7 (50%)	12 (46%)	
Intensa	4 (29%)	4 (15%)	
IL-17 – tecido conjuntivo			0.925
Ausente / focal	3 (21%)	7 (27%)	
Leve / moderada	5 (36%)	9 (35%)	
Intensa	6 (43%)	10 (39%)	
IL-18 – tecido epitelial			0.792
Ausente / focal	5 (36%)	12 (46%)	
Leve / moderada	6 (43%)	10 (39%)	
Intensa	3 (21%)	4 (15%)	
IL-18 – tecido conjuntivo			0.190
Ausente / focal	4 (28%)	10 (39%)	
Leve / moderada	5 (36%)	13 (50%)	
Intensa	5 (36%)	3 (11%)	

Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

A distribuição da expressão das IL no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a presença ou não de exocitose de linfócitos T CD4+ mostrou que a expressão de IL-6 no tecido conjuntivo foi mais frequente ($p=0.037$), que houve uma tendência à maior expressão de IL-17 no tecido epitelial ($p=0.051$), que houve maior expressão de IL-17 no tecido conjuntivo ($p=0.029$) e que houve maior expressão de IL-18 no tecido conjuntivo nos casos apresentando exocitose. Nos casos mostrando exocitose de linfócitos T CD8+ houve maior expressão de IL-6 no tecido conjuntivo (Tabela 9).

A distribuição da expressão imuno-histoquímica das IL no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a espessura epitelial mostrou que não houve diferenças estatisticamente significativas (Tabela 10).

A distribuição da expressão imuno-histoquímica das IL no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a presença de hiperqueratose mostrou que houve maior expressão de IL-6 no tecido epitelial dos casos sem hiperqueratose ($p=0.027$) e que houve maior expressão de IL-17 no tecido epitelial dos casos com hiperqueratose ($p=0.037$) (Tabela 11).

As figuras 4 e 5 mostram exemplos da presença de linfócitos T CD4+ e T CD8+ no tecido conjuntivo e nas áreas de exocitose e da expressão imuno-histoquímica de IL-6, IL-17 e IL-18 com diferentes padrões de intensidade em dois casos de LPO incluídos na amostra avaliada.

Tabela 9. Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a presença de exocitose de linfócitos T CD4+ e CD8+.

Expressão das IL	Exocitose de linfócitos T CD4+			Exocitose de linfócitos T CD8+		
	Não	Sim	P *	Não	Sim	P *
	(n=23)	(n=17)		(n=10)	(n=30)	
IL-6 – tecido epitelial			0.138			0.075
Ausente / focal	9 (39%)	2 (12%)		5 (50%)	6 (20%)	
Leve / moderada	5 (22%)	4 (23%)		3 (30%)	6 (20%)	
Intensa	9 (39%)	11 (65%)		2 (20%)	18 (60%)	
IL-6 – tecido conjuntivo			0.037			0.001
Ausente / focal	6 (26%)	0		5 (50%)	1 (3%)	
Leve / moderada	6 (26%)	3 (18%)		2 (20%)	7 (23%)	
Intensa	11 (48%)	14 (82%)		3 (30%)	22 (74%)	
IL-17 – tecido epitelial			0.051			0.099
Ausente / focal	11 (48%)	2 (12%)		6 (60%)	7 (23%)	
Leve / moderada	8 (35%)	11 (65%)		3 (30%)	16 (54%)	
Intensa	4 (17%)	4 (23%)		1 (10%)	7 (23%)	
IL-17 – tecido conjuntivo			0.029			0.269
Ausente / focal	9 (39%)	1 (6%)		4 (40%)	6 (20%)	
Leve / moderada	5 (22%)	9 (53%)		4 (40%)	10 (33%)	
Intensa	9 (39%)	7 (41%)		2 (20%)	14 (47%)	
IL-18 – tecido epitelial			0.337			0.193
Ausente / focal	12 (52%)	5 (29%)		6 (60%)	11 (37%)	
Leve / moderada	8 (35%)	8 (47%)		4 (40%)	12 (40%)	
Intensa	3 (13%)	4 (24%)		0	7 (23%)	
IL-18 – tecido conjuntivo			0.049			0.156
Ausente / focal	11 (48%)	3 (18%)		6 (60%)	8 (27%)	
Leve / moderada	10 (43%)	8 (47%)		3 (30%)	15 (50%)	
Intensa	2 (9%)	6 (35%)		1 (10%)	7 (23%)	

Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

Tabela 10. Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a espessura do tecido epitelial.

Expressão das IL	Espessura do tecido epitelial			P *
	Normal (n=17)	Atrófico (n=9)	Hiperplásico (n=14)	
IL-6 – tecido epitelial				0.375
Ausente / focal	6 (35%)	3 (33%)	2 (14%)	
Leve / moderada	5 (30%)	2 (22%)	2 (14%)	
Intensa	6 (35%)	4 (45%)	10 (72%)	
IL-6 – tecido conjuntivo				0.355
Ausente / focal	3 (18%)	2 (22%)	1 (7%)	
Leve / moderada	6 (35%)	1 (11%)	2 (14%)	
Intensa	8 (47%)	6 (67%)	11 (79%)	
IL-17 – tecido epitelial				0.122
Ausente / focal	7 (41%)	3 (33%)	3 (21%)	
Leve / moderada	9 (53%)	5 (56%)	5 (36%)	
Intensa	1 (6%)	1 (11%)	6 (43%)	
IL-17 – tecido conjuntivo				0.358
Ausente / focal	6 (35%)	3 (33%)	1 (7%)	
Leve / moderada	6 (35%)	3 (33%)	5 (36%)	
Intensa	5 (30%)	3 (33%)	8 (57%)	
IL-18 – tecido epitelial				0.702
Ausente / focal	9 (53%)	4 (45%)	4 (29%)	
Leve / moderada	6 (35%)	3 (33%)	7 (50%)	
Intensa	2 (12%)	2 (22%)	3 (21%)	
IL-18 – tecido conjuntivo				0.095
Ausente / focal	8 (47%)	3 (33%)	3 (21%)	
Leve / moderada	9 (53%)	3 (33%)	6 (43%)	
Intensa	0	3 (33%)	5 (36%)	

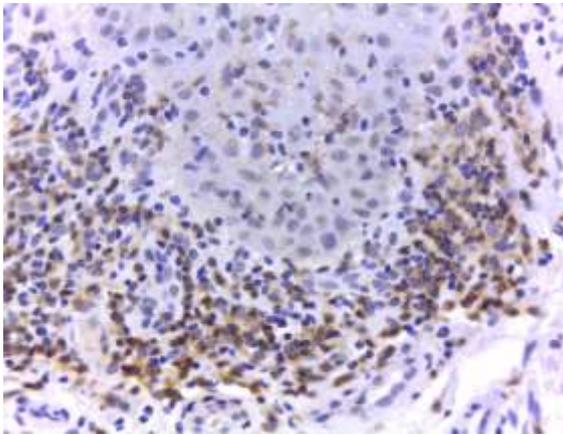
Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

Tabela 11. Distribuição da expressão imuno-histoquímica das interleucinas (IL) 6, 17 e 18 no tecido epitelial e no tecido conjuntivo de acordo com a presença de hiperqueratose.

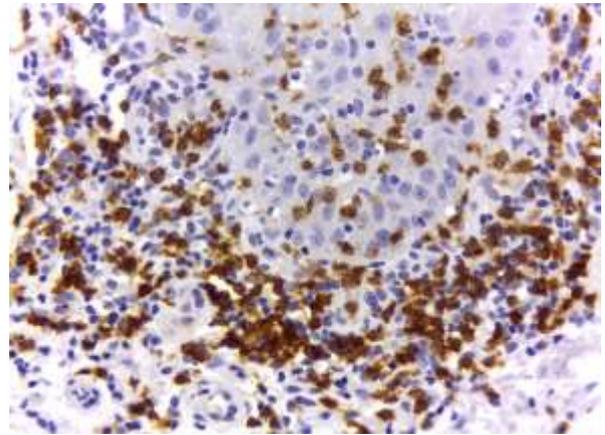
Expressão das IL	Presença de hiperqueratose		p
	Não (n=19)	Sim (n=21)	
IL-6 – tecido epitelial			0.027
Ausente / focal	5 (27%)	6 (29%)	
Leve / moderada	1 (5%)	8 (38%)	
Intensa	13 (68%)	7 (33%)	
IL-6 – tecido conjuntivo			0.183
Ausente / focal	4 (21%)	2 (10%)	
Leve / moderada	2 (11%)	7 (33%)	
Intensa	13 (68%)	12 (57%)	
IL-17 – tecido epitelial			0.037
Ausente / focal	9 (48%)	4 (19%)	
Leve / moderada	5 (26%)	14 (67%)	
Intensa	5 (26%)	3 (14%)	
IL-17 – tecido conjuntivo			0.065
Ausente / focal	6 (32%)	4 (19%)	
Leve / moderada	9 (47%)	5 (24%)	
Intensa	4 (21%)	12 (57%)	
IL-18 – tecido epitelial			0.152
Ausente / focal	11 (58%)	6 (29%)	
Leve / moderada	5 (26%)	11 (52%)	
Intensa	3 (16%)	4 (19%)	
IL-18 – tecido conjuntivo			0.584
Ausente / focal	8 (42%)	6 (29%)	
Leve / moderada	7 (37%)	11 (52%)	
Intensa	4 (21%)	4 (19%)	

Nota: * Qui-quadrado de Pearson. Fonte: A autora, 2021.

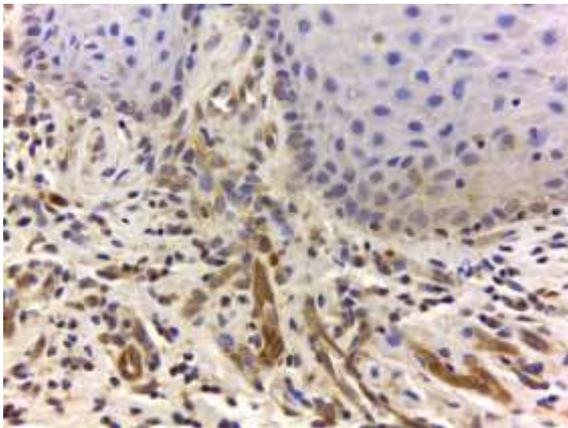
Figura 7. Expressão imuno-histoquímica da presença de linfócitos T CD4+ e T CD8+ e das IL-6, 17 e 18, em um caso de LPO (1).



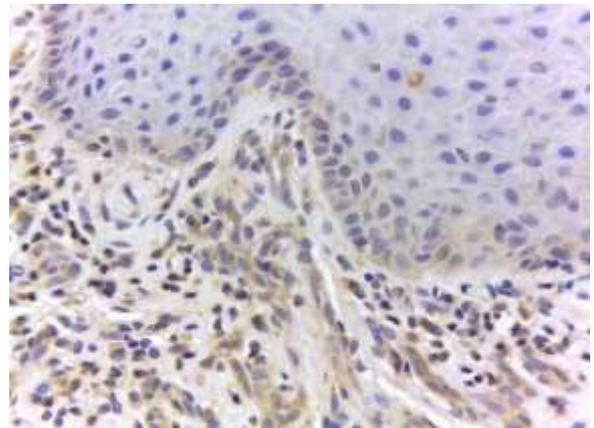
A. Presença de linfócitos T CD4+



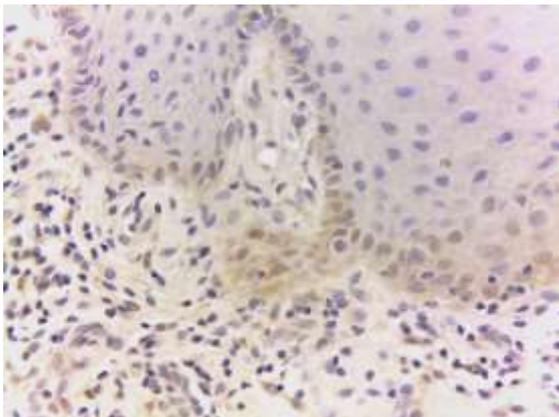
B. Presença de linfócitos T CD8+



C. Expressão intensa de IL-6



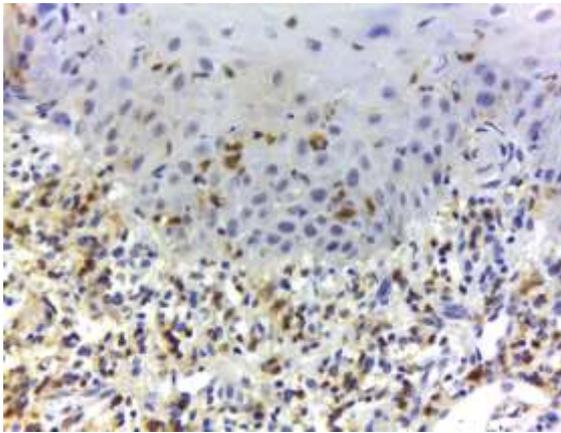
D. Expressão leve/moderada de IL-17



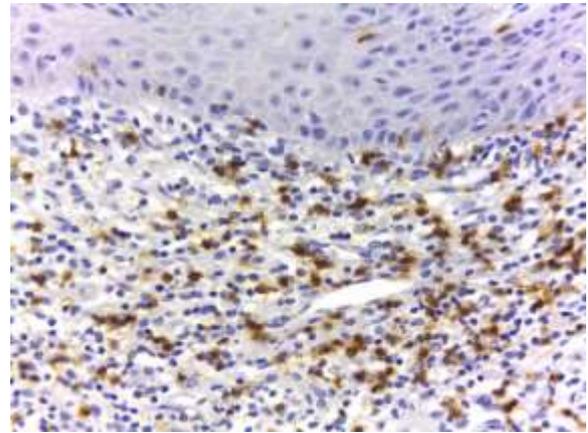
E. Expressão leve/moderada de IL-18

Nota: Todas - imunoperoxidase, 400 x. Fonte: A autora, 2021.

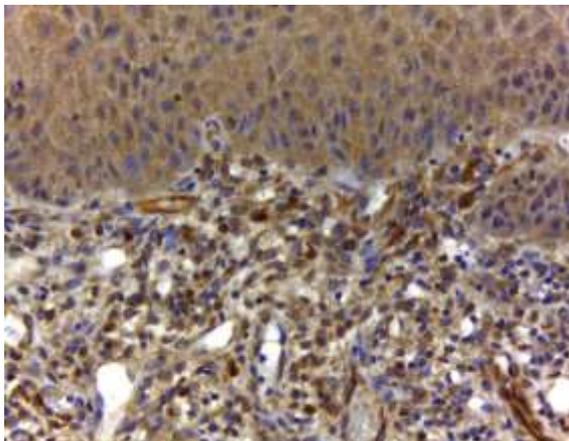
Figura 8. Expressão imuno-histoquímica da presença de linfócitos T CD4+ e T CD8+ e das IL-6, 17 e 18, em um caso de LPO (2).



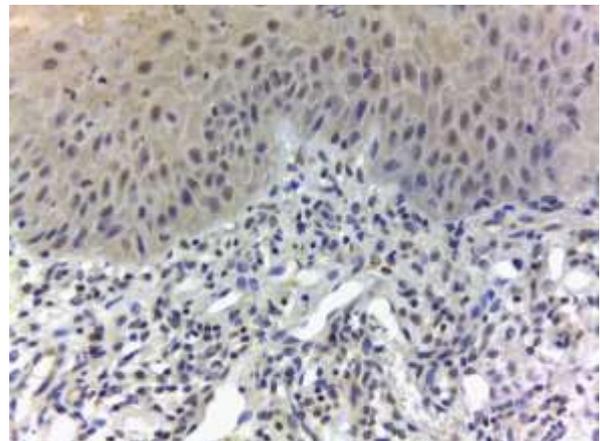
A. Presença de linfócitos T CD4+



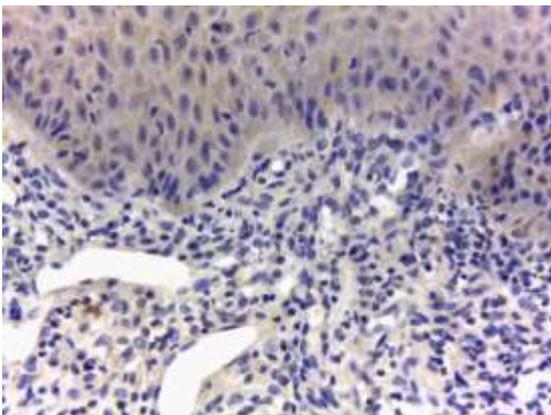
B. Presença de linfócitos T CD8+



C. Expressão intensa de IL-6



D. Expressão leve/moderada de IL-17



E. Expressão leve/moderada de IL-18

Nota: Todas - imunoperoxidase, 400 x. Fonte: A autora, 2021.

5 DISCUSSÃO

O LPO é uma doença mucocutânea crônica caracterizada pela participação de células e de mediadores inflamatórios da resposta imune modulando a expressão e manifestação da doença a qual ainda tem sua patogênese não completamente compreendida.

Um dos grandes desafios no diagnóstico do LPO é a variedade de apresentações clínicas que compõem a doença. Os critérios clínicos e histológicos para o diagnóstico do LPO mais amplamente aceitos na literatura são compostos pela descrição inicial da doença feita pela Organização Mundial da Saúde (KRAMER et al. 1978), complementada pelos estudos de VAN DER MEIJ & VAN DER WAAL (2003) e de CHENG et al. (2016). Muitos estudos, entretanto, não explicitam os critérios diagnósticos utilizados, possivelmente incluindo na mesma amostra casos de LPO, LLO e outras entidades que possam mostrar padrão liquenoide. Na seleção inicial da amostra realizada no presente estudo foram utilizados estritamente os critérios clínico-patológicos propostos por VAN DER MEIJ & VAN DER WAAL (2003) e CHENG et al. (2016), enfatizando a importância de diferenciar clínica e histopatologicamente estes grupos de condições, ao contrário da falta de inclusão de critérios diagnósticos específicos em outros estudos (YIN et al. 2017; ZHANG et al. 2012; ZYCHOWSKA et al. 2020).

Com relação aos dados sócio-demográficos e clínicos da amostra inicialmente selecionada a partir dos arquivos do laboratório, observamos um predomínio das mulheres (72.4%) e predileção por pacientes adultos com média de 54 anos de idade, achados em concordância com a literatura (ISMAIL et al. 2010; XAVIER et al. 2007; ZHANG et al. 2012). O aspecto clínico das lesões mostrou que as formas reticular e atrófico-erosiva foram as mais comuns e que a associação entre os dois padrões clínicos foi frequente, tal como demonstrado em outros estudos (WANG et al. 2015; XAVIER et al. 2007; YIN et al. 2017; ZHANG et al. 2008; ZHANG et al. 2012). Alguns estudos incluíram subdivisões clínicas distintas dos padrões tradicionais de classificação do LPO, como lesões em padrão erosivo e não erosivo (NEGI et al. 2019; POURALIBABA et al. 2013), dificultando a comparação dos resultados com o presente estudo e com a literatura.

A mucosa jugal foi o sítio de predileção das lesões no presente estudo, tendo sido acometida em 71% dos casos, seguido pela língua, achado semelhante à maioria dos estudos da literatura (ABDEL-HAQ et al. 2014; ALRASHDAN et al. 2016; CARROZZO et al. 2020). O acometimento da gengiva/mucosa alveolar mostrou correlação com os sintomas, já que as lesões nesta região anatômica habitualmente têm padrão erosivo/descamativo e frequentemente apresentam biofilme e cálculo associados, o que potencializa o desconforto do paciente, além de aumentar o risco de sangramento local (CHENG et al. 2014).

Após a revisão completa dos arquivos e a classificação de todos os casos em LPO, LLO e em lesões compatíveis com LPO, buscamos selecionar para a avaliação imuno-histoquímica apenas casos com diagnóstico de LPO. Essa amostra padronizada, incluindo apenas casos com aspectos clínicos e histológicos característicos de LPO, facilitou a interpretação dos resultados e a comparação dos mesmos com resultados da literatura.

Em relação à participação dos linfócitos T CD4+ e T CD8+ na patogênese do LPO, alguns estudos sugerem que a doença seja caracterizada pelo desenvolvimento de uma resposta imune do tipo Th1 (LU et al. 2011), em contraste com outros que sugerem uma predominância da resposta Th2 (LIU et al. 2009) ou ainda o desequilíbrio entre linhagens Th1 e Th2 (RHODUS et al. 2007) e, inclusive, redução na produção de citocinas Th1 e Th2 (KALOGERAKOU et al. 2008). De fato, no presente estudo foi possível observar tanto a presença de células T CD4+ quanto de células T CD8+ e, além disso, a expressão da citocina IL-17, a qual está fortemente associada ao subgrupo de linfócitos Th17. Microscopicamente, os linfócitos T citotóxicos estão frequentemente presentes entre as camadas epiteliais, entretanto os linfócitos T helper são usualmente encontrados junto à lâmina própria, adicionalmente a outros tipos de linfócitos como o os Tregs (VERED et al. 2013). No presente estudo foi possível observar uma maior presença de exocitose de linfócitos T CD8+ em comparação com os linfócitos T CD4+, embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa.

Curiosamente, no estudo de RHODUS et al. (2007), os achados nos fluidos orais mostraram que TNF- α , IL1- α , IL-6 e IL-8 em pacientes com LPO diminuíram significativamente, em comparação com controles. De acordo com os autores, o resultados sugeriram a presença de uma condição dominante de citocinas Th2 nos pacientes com LPO, embora evidências anteriores tenham sugerido um perfil de

citocinas Th1 na doença (SUGERMAN et al. 2002). No presente estudo foram escolhidas citocinas correlacionadas às respostas tanto Th1 quanto Th2, além de Th17. Todas as citocinas se mostraram presentes na maioria dos casos estudados, indicando que provavelmente possa haver desequilíbrio entre linhagens Th1 e Th2.

Uma observação importante feita durante a revisão da literatura pertinente ao presente estudo foi o fato de termos encontrado poucos trabalhos (7 no total) que avaliaram e evidenciaram a presença de citocinas no LPO, por meio da utilização de espécimes teciduais e da técnica imuno-histoquímica. A maioria dos estudos avaliou a presença das citocinas em fluidos, incluindo saliva e soro, os quais são úteis para mostrar a produção sistêmica e multitecidual das IL, mas não fornecem informações sobre a sua expressão nos diferentes compartimentos teciduais. Dessa forma, reforçamos a necessidade de mais trabalhos utilizando a técnica imuno-histoquímica, eventualmente associados a outras técnicas que permitam a quantificação da produção das citocinas.

Estudos recentes indicam que a IL-17 é o principal mediador tecidual da inflamação em várias doenças autoimunes e inflamatórias e que a expressão desta citocina foi detectada em soro e em espécimes teciduais de pacientes com artrite reumatoide, esclerose múltipla e lúpus eritematoso sistêmico. (LOHR et al. 2009). Estas evidências motivaram o interesse na avaliação da expressão da IL-17 no presente estudo, com pacientes portadores de LPO, visto que a etiopatogênese desta condição está relacionada com a desregulação do sistema imune. SHAKER & HASSAN (2012), avaliando o soro de pacientes com LPO, encontraram níveis significativamente maiores de IL-17 em pacientes com LPO, comparado ao grupo controle. Além disso, nos trabalhos de WANG et al. (2014) e WANG et al. (2015), foi observada a relação de IL-17 com o LPO e, inclusive, a evidência de que níveis elevados de expressão de IL-17 no soro foram encontrados em pacientes com LPO erosivo, mas não em pacientes com LPO do tipo reticular. Curiosamente, no presente estudo, observamos maior expressão de IL-17 nos casos que histologicamente apresentavam hiperqueratose e que, conseqüentemente estavam associados a apresentações clínicas na forma de lesões brancas e não vermelhas. Estes resultados também não concordam com os achados de POURALIBABA et al. (2013), que sugeriram uma possível correlação entre IL-17 e a severidade do LPO, já que esta citocina estava presente em maior quantidade nos casos erosivos.

No presente estudo, foi possível observar que a marcação imuno-histoquímica mais intensa para a IL-17 foi no tecido conjuntivo em 40% dos casos, concordando com os achados de FIRTH et al. (2015) no qual os autores observaram que as células IL-17+ estavam mais profundas no tecido conjuntivo, em contraste com outros trabalhos (LU et al. 2014; SHEN et al. 2014). O papel das células Th17 e, particularmente da IL-17, na patogênese do LPO pode estar relacionado a potencialização de reações mediadas por linfócitos T e indução da produção de quimiocinas e outras citocinas que, juntos, agravam a resposta imune inflamatória. Esses eventos representam, portanto, um dos mecanismos possíveis de dano tecidual induzido por IL-17 nas lesões de LPO (MONTEIRO et al. 2015).

MOZAFFARI et al. (2018), em uma meta-análise, sugeriram que a IL-6 é um biomarcador importante no LPO e confirmaram sua participação na patogênese da doença. Os autores demonstraram que os níveis de IL-6 séricos e salivares são maiores em pacientes portadores de LPO em comparação a controles, mas ressaltaram que os resultados dos diferentes estudos podem não ser totalmente comparáveis em virtude de diferenças metodológicas, incluindo desde amostras pequenas a diferenças nos *kits* de mensuração utilizados. No presente estudo, identificamos a marcação da IL-6 como a citocina mais expressa no LPO, em comparação com IL-17 e IL18, reforçando a ideia de que esta citocina é importante na patogênese da doença. Além disso, foi possível observar que nos casos com exocitose de linfócitos T CD8+ havia maior expressão da IL-6, sugerindo a possível participação desta citocina na destruição dos queratinócitos. GOEL et al. (2015) reforçaram também que a IL-6 está intensamente expressa em pacientes com LPO, sugerindo adicionalmente que esta citocina possa ser um biomarcador importante na escolha da terapia mais adequada para tratamento do LPO resistente.

O recente estudo de BABIUCH et al. (2020) correlacionou a expressão de citocinas dependentes de NFkappaB (TNF- α , IL-1 α , IL-6 e IL-8) na saliva e por meio da avaliação de espécimes teciduais por imuno-histoquímica. Os resultados mostraram a presença de IL-6 no epitélio e no estroma em 15 pacientes com LPO, tendo sido, ao nosso conhecimento, o primeiro estudo a realizar escores de imunoreatividade teciduais dentro deste tema. Nossos critérios de análise da expressão imuno-histoquímica de IL-6, IL-17 e IL-18 foram semelhantes aos utilizados por BABIUCH et al. (2020) para que pudéssemos comparar de forma mais direta os resultados. Embora o critério de análise utilizado tenha limitações

subjetivas, nos pareceu o mais apropriado por não limitar a análise à intensidade da marcação das citocinas ou às células marcadas, visto que as IL encontram-se localizadas tanto no meio intra quanto intercelular. Um exemplo da importância da avaliação das diferenças metodológicas entre os estudos são os resultados de RHODUS et al. (2005) que observaram níveis salivares aumentados de TNF- α , IL-1 α , IL-6 e IL-8 em pacientes com LPO, mas não excluíram casos de LPO mostrando displasia epitelial da amostra.

No trabalho de CARVALHO et al. (2019) foi feito um estudo avaliando a marcação imuno-histoquímica para linfócitos CD3+, CD4+ e CD8+, mostrando um elevado número de células epiteliais com imunopositividade para CD4+ (mais de 25 células/área) no LPO, comparado ao grupo de inflamação mucosa inespecífica. No presente estudo, a marcação constante mostrando positividade para a presença de linfócitos T CD4+ e CD8+, reforça o achado da participação das células T na patogênese do LPO. Ainda no estudo de CARVALHO et al. (2019), em relação à expressão de IFN- α , IL-17 e IL-33, a avaliação da citocina IL-17 não mostrou diferença comparada ao grupo controle. Apesar disso, a expressão de INF- α se mostrou elevada, corroborando dados de outros autores que associam a resposta predominante Th1 da doença (PAYERAS et al. 2013; SUGERMAN et al. 2002). Curiosamente, os dados do presente estudo mostraram a IL-18 como a citocina menos expressa nos casos, apesar desta citocina ser considerada fator indutor de IFN- γ . Como o LPO é uma doença crônica, talvez o momento do diagnóstico possa influenciar neste balanço Th1/Th2. No estudo de ZHANG et al. (2012), os autores encontraram uma expressão intensa de IL-18 nas lesões de LPO, a qual tem sido associada a uma fase mais grave da doença.

FIRTH et al. (2015), estudando a expressão de IL-17 e de FoxP3 (fator de transcrição expresso por Tregs) em 17 casos de LPO hiperplásico observou que havia maior expressão de FoxP3 do que de IL-17, contrariamente ao observado em outros estudos (LU et al. 2014; SHEN et al. 2014). No trabalho em questão, a marcação de IL-17 estava expressa em maior quantidade no estroma mais profundo, contrariamente ao nosso trabalho, no qual encontramos maior expressão de IL-17 no tecido epitelial, especialmente nos casos com hiperqueratose. Já nos casos sem hiperqueratose, uma expressão maior de IL-6 no epitélio foi encontrada. De forma similar aos resultados do estudo de FIRTH et al. (2015), JAVVADI et al. (2016), avaliando a expressão de IL-17 e de FoxP3 em casos de LPO com lesões brancas e

atróficas, identificaram um número maior de casos com marcação para FoxP3 do que para IL-17, reforçando a ideia de que um desequilíbrio imune participa da patogênese do LPO.

No estudo de MONTEIRO et al. (2015), a imunoexpressão epitelial de IL-17 foi significativamente maior nas lesões de LPO comparadas às lesões de hiperplasias fibrosas inflamatórias. A concentração aumentada de IL-17 nos queratinócitos nas lesões de LPO pode sugerir um recrutamento de células inflamatórias no local do dano epitelial. Da mesma forma, SHEN et al. (2014) mostraram que a expressão de FoxP3 e IL-17 em LPO foi significativamente maior em comparação com controles e que a expressão de FoxP3 foi maior no LPO do que nas lesões cutâneas de líquen plano, sugerindo que este dado possa estar associado à diferença no comportamento clínico das duas variantes da doença.

CHITRAPRYIA et al. (2015) estudaram níveis de IL-17 e IL-18 nos tecidos gengivais de indivíduos com gengiva saudável, gengivite crônica e periodontite crônica moderada e encontraram níveis aumentados em pacientes com gengivite crônica para ambas as citocinas. No presente estudo não foi possível observar diferenças na expressão das IL no tecido epitelial e conjuntivo de acordo com o envolvimento da gengiva/mucosa alveolar nos pacientes avaliados.

O presente estudo apresenta algumas limitações metodológicas incluindo o número de casos de LPO incluídos na amostra final utilizada para a realização das reações imuno-histoquímicas. Por outro lado, a aplicação de critérios clínicos e histológicos estritos permitiu a seleção de uma amostra mais homogênea e passível de comparação mais fidedigna com outros estudos. Como dito anteriormente, existem poucos estudos que avaliaram a expressão imuno-histoquímica de citocinas em LPO, reforçando estas dificuldades. Além disso, a subjetividade na avaliação da expressão imuno-histoquímica das IL é outra limitação do estudo, mas buscamos seguir um modelo de classificação disponível na literatura que permitisse fácil reprodução e, portanto, comparação dos resultados. Por último, outra limitação do estudo é a utilização de uma metodologia retrospectiva, que permite a seleção de um número maior de casos, mas utiliza informações já coletadas e disponíveis em formulários. É fundamental que, a partir dos resultados encontrados no presente estudo e nos estudos previamente publicados, possam ser traçados estudos prospectivos com padronização da seleção da amostra e seleção adequada dos

controles, para que a participação da IL-6, da IL-17 e da IL-18 na patogênese e na expressão do LPO possam ser melhor estabelecidos.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo mostraram que as características clínicas, incluindo a idade média e o gênero dos pacientes, e a localização anatômica e o aspecto clínico preferencial das lesões de LPO e de LLO são distintos e podem ser utilizados na diferenciação entre os dois grupos diagnósticos.

Com relação à avaliação imuno-histoquímica nossos resultados mostraram que IL-6 foi a citocina mais expressa. A presença de exocitose mostrou relação com a maior expressão das interleucinas e a expressão de IL-17 foi maior no epitélio mostrando hiperqueratose. Estes achados em conjunto sugerem que as IL estudadas mostram-se mais presentes quando há maior presença de linfócitos T CD4+ e CD8+ no epitélio e que sua expressão pode ter relação com as alterações epiteliais encontradas no LPO, participando de sua patogênese e da expressão da doença.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAQ, A. et al. Interleukin-6 and neopterin levels in the serum and saliva of patients with lichen planus and oral lichen planus. *J. Oral. Pathol. Med.*, v. 43, n. 10, p. 734-9, Nov 2014.
- AGHA-HOSSEINI, F.; MOSLEMI, E.; MIRZAI-DIZGAH, I. Comparative evaluation of low-level laser and CO2 laser in treatment of patients with oral lichen planus. *J. Oral. and Maxillofac. Surg.*, v. 41, n. 10, p. 1265-9, Oct 2012.
- AGHA-HOSSEINI, F.; MIRZAI-DIZGAH, I. p53 as a neoplastic biomarker in patients with erosive and plaque like forms of oral lichen planus. *J. Contemp. Dent. Pract.* v. 1, n. 1, p. 1-3, Jan 2013.
- AL-MOHAYA, M.A.M. et al. Association of genetic polymorphisms in interferon- γ , interleukin-6 and transforming growth factor- β 1 gene with oral lichen planus susceptibility. *B.M.C. Oral Health.*, v. 16, p. 76, Aug 2016.
- ALRASHDAN, M.S.; CIRILLO, N.; McCULLOUGH, M. Oral lichen planus: a literature review and update. *Arch. Dermatol. Res.*, v. 308, n. 8, p. 539-51, Oct 2016.
- BABIUCH, K. et al. Evaluation of proinflammatory, NF-kappaB dependent cytokines: IL-1 α , IL-6, IL-8, and TNF- α in tissue specimens and saliva of patients with oral squamous cell carcinoma and oral potentially malignant disorders. *J. Clin. Med.*, v. 9, n. 3, p. 867, Mar 2020.
- BAGAN, J. et al. Topical therapies for oral lichen planus management and their efficacy: a narrative review. *Curr. Pharm. Des.*, v. 18, n. 34, p. 5470-80, 2012.
- BAI, J. et al. Association of polymorphisms in the human IFN-gamma and IL-4 gene with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese cohort. *J. Interf. Cytokine Res.*, v. 28, n. 6, p. 351-8, Jun 2008.
- BAI, J. et al. Interleukin-18 gene polymorphisms and haplotypes in patients with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese cohort. *Tissue Antigens.*, v. 70, n. 5, p. 390-7, Nov 2007.
- BALKWILL, F.; MANTOVANI, A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*, v. 17, n. 357(9255), p. 539-45, Feb 2001.
- BETTELLI, E.; OUKAA, M.; KUCHROO, V.K. T(H-17) cells in the circle of immunity and autoimmunity. *Nat. Immunol.* v. 8, n. 4, p. 345-50, Apr 2007.
- BOWCOCK, A.M. et al. The human interferon-beta 2/hepatocyte stimulating factor/interleukin-6 gene: DNA polymorphism studies and localization to chromosome 7p21. *Genomics*, v. 3, n. 1, p. 8-16, Jul 1988.
- BOXMAN, I. et al. Modulation of IL-6 production and IL-1 activity by keratinocyte-fibroblast interaction. *J. Invest. Dermatol.*, v. 101, n. 3, p. 316- 24, Sep 1993.

BUDIMIR, V. et al. Oral lichen planus - retrospective study of 563 Croatian patients. *Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal.*, v. 19, n. 3, p. e255-60, May 2014.

CARROZZO, M. Understanding the pathobiology of oral lichen planus. *Curr. Oral Health Rep.*, v. 1, p. 173–9., 2014.

CARROZZO, M. et al. Oral lichen planus: a disease or a spectrum of tissue reactions? Types, causes, diagnostic algorithms, prognosis, management strategies. *Periodontol. 2000*, v. 80, n. 1, p. 105–25, Jun 2019.

CARVALHO, M.F.M.S. et al. Cytokines levels and salivary microbiome play a potential role in oral lichen planus diagnosis. *Sci. Rep.*, v. 9, n. 1, p. 18137, Dec 2 2019.

CHAUHAN, I. et al. Association of cytokine gene polymorphisms with oral lichen planus in Malayalam-speaking ethnicity from South India (Kerala). *J. Interfer. Cytokine Res.*, v. 33, n. 8, p. 420-7, Aug 2013.

CHENG, Y.L. et al. 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.*, v. 122, n. 3, p. 332-54, Sep 2016.

CHENG, Y.S.L. et al. Salivary interleukin-6 and -8 in patients with oral cancer and patients with chronic oral inflammatory diseases. *J. Periodontol.*, v. 85, n. 7, p. 956-65, July 2014.

CHITRAPRIYA, M.N.; RAO, S.R.; LAVU, V. Interleukin-17 and interleukin-18 levels in different stages of inflammatory periodontal disease. *J. Indian. Soc. Periodont .*, v. 19, n. 1, p. 14-27, Jan-Feb 2015.

CHOY, E.H.; PANAYI, G.S. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.*, v. 344, n. 12, p. 907-16, Mar 2001.

COSTA, P.P. et al. Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. *J. Periodontol.*, v. 81, n. 3, p.384-91, Mar 2010.

DAO, T. et al. Interferon-gamma-inducing factor, a novel cytokine, enhances Fas ligand-mediated cytotoxicity of murine T helper 1 cells. *Cell Immunol.*, v. 173, n. 2, p. 230-5, Nov 1996.

DINARELLO, C.A.; FANTUZZI, G. Interleukin-18 and host defense against infection. *Infect. Dis.*, v. 187, p. 370–84, Jun 2003.

EBERSOLE, J.L. et al. Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. *J. Clin. Immunol.*, v. 33, n. 1, p. 271-9, Jan 2013.

ELDER, J.T. et al. Overexpression of transforming growth factor alpha in psoriatic epidermis. *Science*, v.243, n. 4892, p. 811-14, Feb 10 1989.

ERTUGRUL, A.S. et al. Periodontopathogen profile of healthy and oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *Int. J. Oral Sci.*, v. 5, n. 2, p. 92-7, Jun 2013.

FARHI, D.; DUPIN, N. Pathophysiology, etiologic factors, and clinical management of oral lichen planus, part I: facts and controversies. *Clin. Dermatol.*, v. 28, n. 1, p.100-8, Jan-Feb 2010.

FAYYAZI, A. et al. T lymphocytes and altered keratinocytes express interferon- γ and interleukin 6 in lichen planus. *Arch. Dermatol. Res.*, v. 291, n. 9, p. 485-90, Sep 1999.

FIRTH, F.A. et al. Regulation of immune cells in oral lichen planus. *Arch. Dermatol. Res.*, v. 307, n. 4, p. 333-39, May 2015.

FISHMAN, D. et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J. Clin. Invest.*, v. 102, n. 7, p. 1369–76, Oct 1988.

GERDES, N. et al. Expression of interleukin (IL)-18 and functional IL-18 receptor on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for atherogenesis. *J. Exp. Med.*, v. 195, n. 2, p. 245-57, Jan 2002.

GOEL, S. et al. Role of serum interleukin-6 in deciding therapy for multidrug resistant oral lichen planus. *J. Clin. Exp. Dent.*, v. 7, n. 4, p. 477-82, Oct 2015.

GONZALEZ-MOLES, M.A. et al. Is oral cancer incidence among patients with oral lichen planus/oral lichenoid lesions underestimated? *J. Oral Pathol. Med.*, v. 46, n. 2, p. 148-53, Feb 2017.

GOROUHI, F.; DAVARI, P.; FAZEL, N. Cutaneous and mucosal lichen planus: a comprehensive review of clinical subtypes, risk factors, diagnosis, and prognosis. *Sci. World J.*, v. 2014, p. 742826, Jan 2014.

GU, G.M. et al. Oral and Serum IL-6 levels in oral lichen planus patients. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Radiol. Endod.*, v. 98, n. 6, p. 673-8, Dec 2004.

GUEIROS, L. A. et al. Increased number of Langerhans cells in oral lichen planus and oral lichenoid lesions. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, v. 113, n. 5, p. 661-6, May 2012.

GUEIROS, L. A. et al. IL17A polymorphism and elevated IL17A serum levels are associated with oral lichen planus. *Oral Dis.*, v. 24, n. 3, p. 377-383, Apr 2018.

HARRINGTON, L.E. et al. Interleukin 17- producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nat. Immunol.*, v. 6, n. 11, p. 1123-32, Nov 2005.

HARRINGTON, L.E.; MANGAN, P.R.; WEAVER, C.T. Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage. *Curr. Opin. Immunol.*, v. 18, n. 3, p. 349-56, Jun 2006.

HAY, R.A. et al. Association of interleukin (IL)18 and IL10 gene polymorphisms with oral lichen planus risk; a case-control study. *J. Dermatol. Sci.*, v. 83, n. 3, p. 244-47, Sep 2016.

HOSHINO, T. et al. IL-18 is a potent coinducer of IL-13 in NK and T cells: a new potential role for IL-18 in modulating the immune response. *J. Immunol.*, v.162, n. 9, p. 5070-7, May 1999.

IBRAHIM, S.S.; HAZZAA, H.H. Topical pimecrolimus effect on Fas inducing apoptosis in oral lichen planus, a clinical immunohistochemical study. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 41, n. 4, p. 315-21, Apr 2012.

ISMAIL, S.B.; KUMAR, S.K.; ZAIN, R.B. Oral lichen planus and lichenoid reactions: etiopathogenesis, diagnosis, management and malignant transformation. *J. Oral Sci.*, v. 49, n. 2, p. 89-106, Jun 2007.

JAAVADI, L.R. et al. Regulatory T-cells and IL17A+ cells infiltrate oral lichen planus lesions. *Pathology.*, v. 48, n. 6, p. 564-73, Oct 2016.

JOVANOVIC, D.V. et al. Modulation of TIMP-1 synthesis by antiinflammatory cytokines and prostaglandin E2 in interleukin 17 stimulated human monocytes/macrophages. *J. Rheumatol.*, v. 28, n. 4, p. 712-18, Apr 2001.

KALOGERAKOU, F. et al. Detection of T cells secreting type 1 and type 2 cytokines in the peripheral blood of patients with oral lichen planus. *Hippokratia*, v. 12, n. 4, p. 230-5, 2008.

KHAN, A. et al. Th1 cytokines in oral lichen planus. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 32, n. 2, p. 77-83, Feb 2003.

KIMKONG, I. et al. Tumour necrosis factor-alpha gene polymorphisms and susceptibility to oral lichen planus. *Oral Dis.*, v. 17, n. 2, p. 206-209, Mar 2011.

KISHIMOTO, T. et al. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood.*, v. 86, n. 4, p. 1243-54, Aug 1995.

KRAMER, I.R. Definition of leukoplakia and related lesions: An aid to studies on oral precancer. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v. 46, n. 4, p. 518-39, Oct 1978.

KURAGO, Z.B. Etiology and pathogenesis of oral lichen planus: an overview. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, v. 122, n. 1, p. 72-80, Jul 2016.

LAVANYA, N. et al. Oral lichen planus: an update on pathogenesis and treatment. *J. Oral Maxillofac. Pathol.*, v. 15, n. 2, p127-32, May 2011.

- LENTSCH, A.B. et al. In vivo suppression of NFkB and preservation of I κ B α by interleukin-10 and interleukin-13. *J. Clin. Invest.*, v. 100, n. 10, p. 2443-8, Nov 15 1997.
- LIU, J. et al. The relationship between levels of salivary and serum interleukin-6 and oral lichen planus: a systematic review and meta-analysis. *J. Am. Dent. Assoc.*, v. 148, n. 10, p. 743-749, Oct 2017.
- LIU, W. et al. IFN-gamma and IL-4 in saliva of patients with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese population. *Inflammation.*, v. 32, n. 2, p. 176-81, Jun 2009.
- LOHR, J. et al. Balance of Th1 and Th17 effector and peripheral regulatory T cells. *Microbes Infect.*, v. 11, n. 5, p. 589-93, Apr 2009.
- LÓPEZ-JORNET, P.; CAMACHO-ALONSO, F. Periodontal conditions in patients with oral lichen planus: a pilot study. *Quintessence Int.*, v. 43, n. 2, p. 147-52, Feb 2012.
- LU, H.; OUYANG, W.; HUANG, C. Inflammation, a key event in cancer development. *Mol. Cancer Res.*, v. 4, n. 4, p. 221-33, Apr 2006.
- LU, R. et al. Overexpression and selectively regulatory roles of IL-23/IL-17 axis in the lesions of oral lichen planus. *Mediators Inflamm.*, v. 2014, p. 701094, 2014.
- LU, R. et al. Inflammation-related cytokines in oral lichen planus: an overview. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 44, n. 1, p. 1-14, Jan 2015.
- LU, R. et al. Expression of T-bet and GATA-3 in peripheral blood mononuclear cells of patients with oral lichen planus. *Arch. Oral Biol.*, v. 56, n. 5, p. 499-505, May 2011.
- MANKAPURE, P.K. et al. Clinical profile of 108 cases of oral lichen planus. *J. Oral Sci.*, v. 58, n. 1, p. 43-7, 2016.
- MATTEWS, J.B.; SCULLY, C.M.; POTTS, A.J. Oral lichen planus: an immunoperoxidase study using monoclonal antibodies to lymphocyte subsets. *Br. J. Dermatol.*, v. 111, n. 5, p. 587-95, Nov 1984.
- MIGUEL, B.F. et al. Clinicopathological features of oral lichen planus patients diagnosed in a single Oral Medicine service in Brazil: a descriptive study. *Rev. Bras. Odontol.*, v. 75, e1372.
- MONTEIRO, B.V.B. et al. Immunoexpression of Th17-related cytokines in oral lichen planus. *App. Immunohistochem. Mol. Morphol.*, v. 23, n. 6, p. 409-415, Jul 2015.
- MOZZAFFARI, H.F.; SHARIFI, R.; SADEGHI, M. Interleukin-6 levels in the serum and saliva of patients with oral lichen planus compared with healthy controls: a meta-analysis study. *Centr. Eur J. Immunol.*, v. 43, n. 1, p. 103-108, 2018.
- NAKAHIRA, M. et al. Synergy of IL-12 and IL-18 for IFN-gamma gene expression: IL-12-induced STAT4 contributes to IFN-gamma promoter activation by up-regulating

the binding activity of IL-18-induced activator protein 1. *J. Immunol.*, v. 168, n. 3, p. 1146–53, Feb 2002.

NEGI, D. et al. Assessment of Interleukin-18 gene polymorphism and serum levels in oral lichen planus in an Indian population. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 48, n. 3, p. 244-250, Mar 2019.

NIBALI, I. et al. Interleukin-6 in oral diseases: a review. *Oral Dis.*, v. 18, n. 3, p. 236-43, Apr 2012.

NISHIMOTO, N.; KISHIMOTO, T.; YOSHIZAKI, K. Anti-interleukin 6 antibody treatment in rheumatic disease. *Ann. Rheum. Dis.*, v. 59, Suppl 1(Suppl 1), p. i21–7, Nov 2000.

NOGUEIRA, P.A.; CARNEIRO, S.; RAMOS-E-SILVA, M. Oral lichen planus: an update on its pathogenesis. *Int. J. Dermatol.*, v. 54, n. 9, p. 1005-10, Sep 2015.

ONISHI, R.M.; GAFFEN, S.L. Interleukin-17 and its target genes: mechanisms of interleukin-17 function in disease. *Immunology*. v. 129, n. 3, p. 311-21, Mar 2010.

OKAMURA, H. et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature*, v. 378, n. 6552, p. 88–91, Nov 2 1995.

PAYERAS, M.R. et al. Oral lichen planus: Focus on etiopathogenesis. *Arch. Oral Biol.*, v. 58, n. 9, p. 1057-69, Sep 2013.

PEKINER, F.N. et al. Cytokine profiles in serum of patients with oral lichen planus. *Cytokine.*, v. 60, n. 3, p. 701-706, Dec 2012.

POSTAL, M.; APPENZELLER, S. The role of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cytokine*, v. 56, n. 3, p. 537-543, Dec 2011.

POURALIBABA, F. et al. Serum Level of Interleukin 17 in Patients with Erosive and Non erosive Oral Lichen Planus. *J. Dent. Res. Dent. Clin. Dent. Prospects*, v. 7, n. 2, p. 91-4, 2013.

PRAKASAM, S.; SRINIVASAN, M. Evaluation of salivary biomarker profiles following non-surgical management of chronic periodontitis. *Oral Dis.*, v. 20, n. 2, p. 171-7, Mar 2014.

PUREN, A.J. et al. Interleukin-18 (IFN-gamma-inducing factor) induces IL-8 and IL-1 beta via TNF-alpha production from non-CD141 human blood mononuclear cells. *J. Clin. Invest.*, v. 101, n. 3, p. 711–21, Feb 1998.

RAI, N.P. et al. Relation between periodontal status and pre-Cancerous condition (oral lichen planus): a pilot study. *Adv. Clin. Exp. Med.*, v. 25, n. 6, p. 763-6, Jul-Aug 2016.

RAMÓN-FLUIXÁ, C. et al. Periodontal status in patients with oral lichen planus: a study of 90 cases. *Oral Dis.*, v. 5, n. 4, p. 303-6, Oct 1999.

REIBEL, J. et al. Oral potentially malignant disorders and oral epithelial dysplasia. In: EL-NAGGAR, A. K., et al (Eds.). *WHO Classification of Head and Neck Tumours*. Lyon: IARC press; 2017. p 112-115.

RHODUS, N.L. et al. The feasibility of monitoring NF-kappaB associated cytokines: TNF-alpha, IL-1alpha, IL-6, and IL-8 in whole saliva for the malignant transformation of oral lichen planus. *Mol. Carcinog.*, v. 44, n. 2, p. 77-82, Oct 2005.

RHODUS, N.L. et al. Proinflammatory cytokine levels in saliva before and after treatment of (erosive) oral lichen planus with dexamethasone *Oral Dis.*, v. 12, n. 2, p. 112-6, Mar 2006.

RHODUS, N.L.; CHENG, B.; ONDREY, F. Th1/Th2 cytokine ratio in tissue transudates from patients with oral lichen planus. *Mediators Inflamm.*, v. 2007, p. 19854, 2007.

ROOPASHREE, M.R. et al. Pathogenesis of oral lichen planus - a review. *J. Oral. Pathol. Med.*, v. 39, n. 10, p.729-34, Nov 2010.

RUDNER, X.L. et al. Interleukin-23 (IL-23)–IL-17 cytokine axis in murine *Pneumocystis carinii* infection. *Infect. Immun.*,v. 75, n. 6, p. 3055–61, Jun 2007.

SANTORO, A. et al. NF-kappaB expression in oral and cutaneous lichen planus. *J. Pathol.*, v. 201, n. 3, p. 466–72, Nov 2003.

SCHOTTELIUS, A.J.G. et al. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of kB kinase activity and nuclear factor kB DNA binding. *J. Biol. Chem.*, v. 274, n. 45, p. 31868–74, Nov 1999.

SHAKER, O.; HASSAN, A.S. Possible role of interleukin-17 in the pathogenesis of lichen planus. *Br. J. Dermatol.*, v. 166, n. 6, p. 1367-8, Jun 2012.

SHARMA, A. et al. Lichen planus – an update and review. *Cutis*, v. 90, n. 1, p. 17-23, Jul 2012.

SHEN, Z. et al. Expression of Foxp3 and interleukin-17 in lichen planus lesions with emphasis on difference in oral and cutaneous variants. *Arch. Dermatol. Res.*, v. 306, n. 5, p. 441-6, Jul 2014.

SILVERMAN, S.Jr.; BAHL, S. Oral lichen planus update: clinical characteristics, treatment response and malignant transformation. *Am. J. Dent.*, v. 10, n. 6, p. 259-63, Dec 1997.

SOBANIEC, S. et al. Clinical assessment of the efficacy of photodynamic therapy in the treatment of oral lichen planus. *Lasers Med. Sci.*, v. 28, n. 1, p. 311-6, Jan 2013.

SPEECKAERT, R. et al. The many faces of interleukin-17 in inflammatory skin diseases. *Br. J. Dermatol.*, v. 175, n. 5, p. 892-901, Nov 2016.

STONE, S.J. et al. The impact of structured plaque control for patients with gingival manifestations of oral lichen planus: a randomized controlled study. *J. Clin. Periodontol.*, v. 42, n. 4, p. 356-62, Apr 2015.

STRANGE, P. et al. T-lymphocyte clones initiated from lesional psoriatic skin release growth factors that induce keratinocyte proliferation. *J. Invest. Dermatol.*, v. 101, n. 5, p. 695-700, Nov. 1993.

SUGERMAN, P.B.; SATTWEWHITE, K.; BIGBY, M. Autocytotoxic T-cell clones in lichen planus. *Br. J. Dermatol.*, v. 142, n. 3, p. 449-456, 2000 (a).

SUGERMAN, P.B. et al. Oral lichen planus. *Clin. Dermatol.*, v. 18, n. 5, p. 533-9, Sep-Oct 2000 (b).

SUGERMAN, P.B. et al. The pathogenesis of oral lichen planus. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.*, v. 13, n. 4, p. 350-65, 2002.

SUN, A. et al. Serum interleukin-6 level is a useful marker in evaluating therapeutic effects of levamisole and Chinese medicinal herbs on patients with oral lichen planus. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 31, n. 4, p. 196-203, 2002.

TERRY, C.F.; LOUKACI, V.; GREEN, F.R. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J. Biol. Chem.*, v. 275, n. 24, p. 18138-44, Jun 2000.

THORNHILL, M.H. Immune mechanisms in oral lichen planus. *Acta Odontol. Scand.*, v. 59, n. 3, p. 174-7, Jun 2001.

VALLÉE, A.; LECARPENTIER, Y. Crosstalk between peroxisome proliferator-activated receptor gamma and the canonical WNT/beta-catenin pathway in chronic inflammation and oxidative stress during carcinogenesis. *Front. Immunol.*, v. 9, p. 745, Apr 2018.

VAN DER WAAL, I. Oral lichen planus and oral lichenoid lesions; a critical appraisal with emphasis on the diagnostic aspects. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.*, v. 14, n. 7, p. E310-4, jul 1 2019.

VAN DER MEIJ, E.H. et al. Interobserver and intraobserver variability in the clinical assessment of oral lichen planus. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 31, n. 2, p. 95-8, Feb 2002.

VAN DER MEIJ, E.H.; SCHEPMAN, K.P.; VAN DER WAAL, I. The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a prospective study. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, v. 96, n. 2, p. 164-71, Aug 2003.

VAN DER MEIJ, E.H.; VAN DER WAAL, I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria

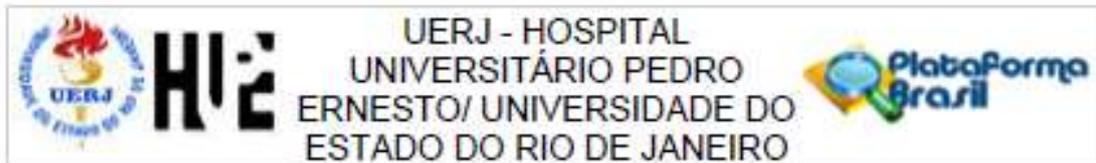
- and suggestions for modifications. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 32, n. 9, p. 507–512, Oct 2003.
- VERED, M. et al. Inflammatory cells of immunosuppressive phenotypes in oral lichen planus have a proinflammatory pattern of expression and are associated with clinical parameters. *Clin. Oral Investig.*, v. 17, n. 5, p. 1365-73, Jun 2013.
- WANG, H. et al. Role of distinct CD4+ T helper subset in pathogenesis of oral lichen planus. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 45, n. 6, p. 385-93, Jul 2016.
- WANG, H. et al. Oral lichen planus may enhance the expression of Th17-associated cytokines in local lesions of chronic periodontitis. *Clin. Oral Investig.*, v. 18, n. 6, p.1647-54, Jul 2014.
- WANG, H. et al. Overexpression and varied clinical significance of Th9 versus Th17 cells in distinct subtypes of oral lichen planus. *Arch. Oral Biol.*, v. 80, p. 110-116, Aug 2017.
- WANG, H. et al. Interaction between oral lichen planus and chronic periodontitis with Th17-associated cytokines in serum. *Inflammation*, v. 36, n. 3, p. 696-704, June 2013.
- WANG, K. et al. Analysis of oral microbial community and Th17-associated cytokines in saliva of patients with oral lichen planus. *Microbiol. Immunol.*, v. 59, n. 3, p. 105-13, Mar 2015.
- WANG, P. et al. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kB (NFkB) activation in human monocytes. *J. Biol. Chem.*, v. 270, p. 9558–63, 1995.
- XAVIER, G.M. et al. Investigation of functional gene polymorphisms interleukin-1beta, interleukin-6, interleukin-10 and tumor necrosis factor in individuals with oral lichen planus. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 36, n. 8, p. 476–81, Sep 2007.
- XIE, S. et al. Implications of Th1 and Th17 cells in pathogenesis of oral lichen planus. *J. Huazhong. Univ. Sci. Technol. Med. Sci.*, v. 32, n. 3, p. 451-457, June 2012.
- YAMAMOTO, T.; OSAKI, T. Characteristic cytokines generated by keratinocytes and mononuclear infiltrates in oral lichen planus. *J. Invest. Dermatol.*, v. 104, n. 5, p. 784-8, May 1995.
- YAMAMOTO, T. et al. Cytokine production by keratinocytes and mononuclear infiltrates in oral lichen planus. *J. Oral Pathol. Med.*, v. 23, n. 7, p. 309-315, Aug 1994.
- YE, P. et al. Requirement of interleukin 17 receptor signaling for lung CXC chemokine and granulocyte colony-stimulating factor expression, neutrophil recruitment, and host defense. *J. Exp. Med.*, v. 194, n. 4, p. 519–27, Aug 20 2001.
- YIN, M. et al. Identifying the association between interleukin-6 and lichen planus: A meta-analysis. *Biomed. Rep.*, v. 6, n. 5, p. 571-575, May 2017.

ZHANG, Y. et al. NF- κ B-dependent cytokines in saliva and serum from patients with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese population. *Cytokine*, v. 41, n. 2, p. 144-9, Feb 2008.

ZHANG, Y. et al. Salivary and serum interleukin-18 in patients with oral lichen planus: a study in an ethnic Chinese population. *Inflammation.*, v. 35, n. 2, p. 399-404, Apr 2012.

ZYCHOWSKA, M.; BATYCKA-BARAN, A.; BARAN, W. Increased serum level and high tissue immunoexpression of interleukin 17 in cutaneous lichen planus: a novel therapeutic target for recalcitrant cases? *Dis. Markers*, v. 2020, p. 6521274, 2020.

ANEXO - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise qualitativa e quantitativa da presença de mediadores inflamatórios teciduais e no fluido gengival de pacientes com líquen plano oral

Pesquisador: JULIANA DE NORONHA SANTOS NETTO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 26283519.9.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Pedro Ernesto

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.770.736

Apresentação do Projeto:

O líquen plano oral (LPO) é uma condição imunológica mediada por células T. Apesar de ser uma das doenças não-infecciosas orais mais comuns, a etiologia e os mecanismos de patogênese do LPO ainda não foram totalmente esclarecidos. A doença pode ser classificada como uma reação imune de hipersensibilidade tardia, mediada por células Th (helper) 1 e que possui participação ativa de linfócitos CD4+ e CD8+. Além disso, uma complexa rede de citocinas e seus receptores têm papel importante na exacerbação e perpetuação da doença, visto que a resposta imune mediada por células Th1 provavelmente é regulada por estes mediadores inflamatórios e seus receptores. O objetivo deste estudo é comparar as características clínico-patológicas, imunoistoquímicas e a mensuração do fluido gengival em pacientes com LPO, na tentativa de determinar um perfil de expressão dos mediadores inflamatórios interleucinas (IL) 1-, IL 2, IL 4, IL 6, IL 8, IL 12, IL 17, interferon (IFN)- e fator de necrose tumoral (TNF)-, avaliando sua importância na determinação da histogênese e do comportamento biológico da doença. A casuística será obtida a partir dos arquivos do Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da UERJ (FO/UERJ). A análise

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

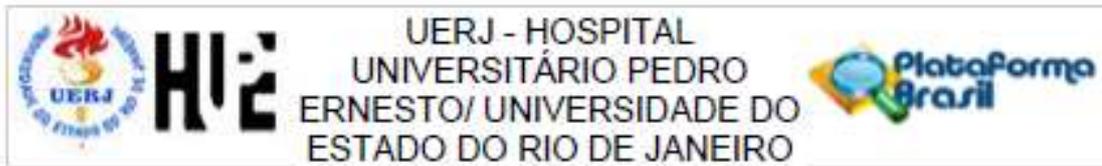
CEP: 20.551-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2868-8253

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Protocolo: 3.770.736

clínico-patológica e imunoistoquímica (por meio da técnica da imunoperoxidase) incluirá 50 pacientes com LPO e será feita por meio da revisão dos registros laboratoriais dos casos e da revisão histopatológica das lâminas. Serão adicionalmente analisados fluidos gengivais de 50 pacientes-controle do ambulatório de Estomatologia da Associação Brasileira de Odontologia (ABO-RJ) e da Universidade Estácio de Sá. Os resultados serão descritos e comparados incluindo o perfil sócio-demográfico, clínico, histopatológico, imunoistoquímico e da mensuração do fluido gengival nos pacientes afetados por LPO em comparação aos controles. Espera-se avaliar o perfil imunoistoquímico da presença de mediadores inflamatórios no LPO, assim como sua quantificação no fluido gengival, buscando auxiliar na compreensão da histogênese da doença

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o perfil imunológico dos pacientes portadores de LPO e grupo-controle.

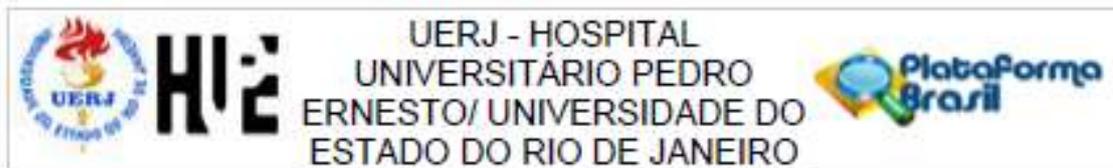
Objetivo Secundário:

Identificar os pacientes diagnosticados com LPO atendidos durante o período de 2007 a 2019, atendidos nos ambulatórios de Estomatologia da ABO -RJ e da Universidade Estácio de Sá; Convocar os pacientes supracitados para reavaliação e atualização da evolução da doença; Realizar a avaliação periodontal destes pacientes, incluindo a coleta de fluido gengival; Realizar estudo da expressão de mediadores inflamatórios IL 1-, IL 2, IL 4, IL 6, IL 8, IL 12, IL 17, IFN- e TNF- por meio de imunoistoquímica em blocos de parafina do material previamente coletado dos pacientes selecionados, arquivados no Laboratório de Patologia Oral da FO/UERJ; Realizar estudo da expressão dos mesmos mediadores inflamatórios no fluido gengival coletado dos pacientes; Realizar as etapas de avaliação periodontal, coleta do fluido gengival e estudo da expressão dos mesmos mediadores inflamatórios no fluido gengival coletado de pacientes-controle; Estabelecer uma possível correlação entre os resultados obtidos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Prezado pesquisador: Caracteriza-se como risco direto para os participantes da pesquisa a

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo	
Bairro: Vila Isabel	CEP: 20.551-030
UF: RJ	Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253	E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.770.736

possibilidade de desconforto ou constrangimento no momento do preenchimento dos questionários. Os pesquisadores devem se comprometer a minimizar os riscos ou desconfortos que possam vir a ser causados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa está bem estruturada e o referencial teórico e metodológico estão explicitados, demonstrando aprofundamento e conhecimento necessários para sua realização. As referências estão adequadas e a pesquisa é exequível.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos iminentes aos participantes envolvidos de pesquisa.

Foram analisados os seguintes documentos de apresentação obrigatória:

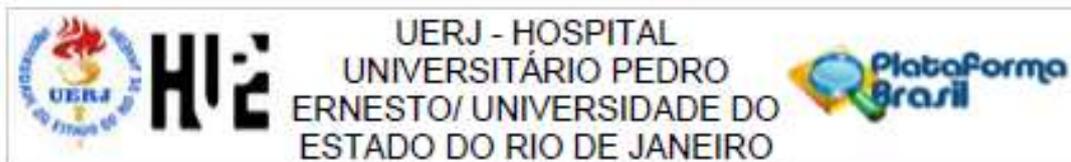
- 1) Folha de Rosto para pesquisa envolvendo seres humanos: Documento devidamente preenchido, datado e assinado
- 2) Projeto de Pesquisa: Adequado
- 3) Orçamento financeiro e fontes de financiamento: adequado/apresentado
- 4) Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: Adequado
- 5) Cronograma: Adequado
- 6) Documentos pertinentes à inclusão do HUPE: Adequado
- 7) Currículo do pesquisador principal e demais colaboradores: anexados e conforme as normas.

Os documentos de apresentação obrigatória foram enviados a este Comitê, estando dentro das boas práticas e apresentando todos dados necessários para apreciação ética e tendo sido avaliadas as informações contidas na Plataforma Brasil e as mesmas se encontram dentro das normas vigentes e sem riscos iminentes aos participantes envolvidos de pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto pode ser realizado da forma como está apresentado. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº468/2012, o projeto pode ser enquadrado na categoria – APROVADO.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2868-8253 E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.770.738

Considerações Finais a critério do CEP:

Em consonância com a resolução CNS 468/12 e a Norma Operacional CNS 001/13, o CEP recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

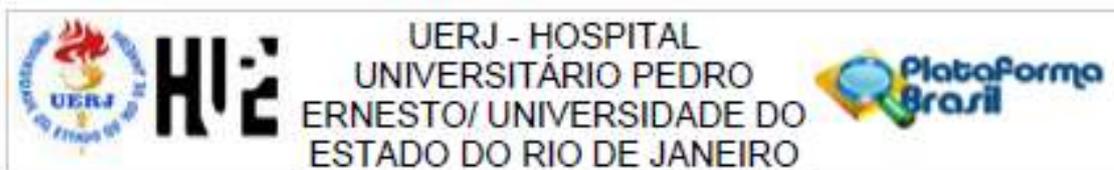
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1431769.pdf	16/10/2019 09:15:38		Aceito
Outros	declaracao_de_ciencia.PDF	16/10/2019 09:14:22	JULIANA DE NORONHA SANTOS NETTO	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.PDF	16/10/2019 09:12:06	JULIANA DE NORONHA SANTOS NETTO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tle_uerj_2019.docx	07/10/2019 10:43:16	JULIANA DE NORONHA SANTOS NETTO	Aceito
Outros	uso_de_arquivo_ju.jpeg	09/09/2019 14:00:15	JULIANA DE NORONHA SANTOS NETTO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_doutorado_juliana.docx	09/09/2019 13:54:19	JULIANA DE NORONHA SANTOS NETTO	Aceito
Cronograma	cronograma_execucao.docx	09/09/2019 13:51:07	JULIANA DE NORONHA SANTOS NETTO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2868-8253 E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 3.770.736

Não

RIO DE JANEIRO, 13 de Dezembro de 2019

Assinado por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com