

Leucoplasia pilosa oral como marcador imunológico: estudo citológico em pacientes transplantados

Oral hairy leukoplakia as immune marker: cytological study in transplant patients

Leucoplasia pilosa oral como marcador imunológico: estudio citológico en pacientes trasplantados

RESUMO

Objetivo: Relacionar o grau de imunossupressão em pacientes transplantados renais ou submetidos a terapia imunossupressora com o diagnóstico de leucoplasia pilosa oral. **Métodos:** Um total de 46 pacientes foram divididos em três grupos: receptores de transplante renal (G1), pacientes em hemodiálise (G2) e indivíduos saudáveis (G3). As amostras foram coletadas de ambos os lados da língua usando uma escova endocervical estéril. Dois esfregaços foram preparados em lâminas de vidro convencionais, fixados em álcool a 96° e corados usando a técnica de Papanicolaou. As lâminas foram então examinadas para detectar alterações nucleares indicativas do efeito citopático do vírus Epstein-Barr (EBV). **Resultados:** O EBV foi detectado em 70% dos pacientes do G1, 40% do G2 e 0% do G3. **Conclusão:** A leucoplasia pilosa oral subclínica foi mais prevalente em pacientes transplantados renais em comparação com aqueles que não recebiam terapia imunossupressora. Isso sugere que o diagnóstico pode servir como um marcador potencial de comprometimento imunológico. **Palavras-chave:** Insuficiência renal crônica; Leucoplasia pilosa; Imunossupressão.

ABSTRACT

Objective: To relate the degree of immunosuppression in kidney-transplanted patients or those undergoing immunosuppressive therapy with the diagnosis of Oral Hairy Leukoplakia. **Methods:** A total of 46 patients were divided into three groups: kidney transplant recipients (G1), patients on hemodialysis (G2), and healthy individuals (G3). Samples were collected from both sides of the tongue using a sterile endocervical brush. Two smears were prepared on conventional glass slides, fixed in 96° alcohol, and stained using the Papanicolaou technique. The slides were then examined for nuclear changes indicative of the cytopathic effect of the Epstein-Barr Virus (EBV). **Results:** EBV was detected in 70% of patients in G1, 40% in G2, and 0% in G3. **Conclusion:** Subclinical Oral Hairy Leukoplakia was more prevalent in kidney-transplanted patients compared to those not receiving immunosuppressive therapy. This suggests that the diagnosis may serve as a potential marker of immune compromise. **Keywords:** Chronic Renal Insufficiency; Hairy Leukoplakia; Immunosuppression.

Marianne Silva Passos Lima
ORCID: 0009-0008-2456-0826
Universidade Federal de Sergipe (UFS), Brasil
E-mail: mariannepassos@hotmail.com

Liliane Maria Dantas Lira
ORCID: 0000-0002-1927-2589
Universidade Federal de Sergipe (UFS), Brasil
E-mail: lila-lira@hotmail.com

Diego Cruz Coelho
ORCID: 0009-0006-3122-579X
Universidade Federal de Sergipe (UFS), Brasil
E-mail: dcruz.coelho@gmail.com

Kaio dos Santos
ORCID: 0000-0003-2836-5047
Hospital Santa Casa de Piracicaba, Brasil
E-mail: kaio.ctbmf@gmail.com

Luiz Carlos Ferreira da Silva
ORCID: 0000-0002-2444-1981
Universidade Federal de Sergipe (UFS), Brasil
E-mail: lcsilva@infonet.com.br

RESUMEN

Objetivo: Relacionar el grado de inmunosupresión en pacientes trasplantados de riñón o sometidos a terapia inmunosupresora con el

diagnóstico de leucoplasia vellosa oral. **Métodos:** Se dividió a un total de 46 pacientes en tres grupos: receptores de trasplante de riñón (G1), pacientes en hemodiálisis (G2) y personas sanas (G3). Se tomaron muestras de ambos lados de la lengua utilizando un cepillo endocervical estéril. Se prepararon dos frotis en portaobjetos de vidrio convencionales, se fijaron en alcohol a 96 °C y se tiñeron utilizando la técnica de Papanicolaou. A continuación, se examinaron los portaobjetos en busca de cambios nucleares indicativos del efecto citopático del virus de Epstein-Barr (EBV). **Resultados:** Se detectó EBV en el 70 % de los pacientes del G1, en el 40 % del G2 y en el 0 % del G3. **Conclusión:** La leucoplasia vellosa oral subclínica fue más prevalente en los pacientes trasplantados de riñón que en los que no recibían terapia inmunosupresora. Esto sugiere que el diagnóstico puede servir como un posible marcador de compromiso inmunitario. **Palabras clave:** Insuficiencia renal crónica; Leucoplasia vellosa; Inmunosupresión.

INTRODUÇÃO

Até 90% dos pacientes com insuficiência renal desenvolverão sinais e sintomas nos tecidos moles e duros da cavidade oral, alguns dos quais são causados pela própria doença e outros decorrentes do seu tratamento.¹ Entre os efeitos colaterais associados à cavidade oral estão a hiperplasia gengival, infecções oportunistas como candidíase e leucoplasia pilosa oral (LPO), carcinoma espinocelular dos lábios e linfoma não-Hodgkin.⁵

A LPO está relacionada à imunossupressão em geral. Foi relatada em pacientes HIV-positivos, em pacientes recebendo terapia imunossupressora para leucemia aguda e também após transplantes de órgãos.^{8,10} Sua associação com a AIDS levou muitos a acreditar que a LPO poderia ser uma forma de infecção oportunista usada como marcador diagnóstico e prognóstico de infecção. No entanto, atualmente, acredita-se que a lesão seja um indicador precoce de um estado de imunodeficiência.^{7,10,11}

Trata-se de uma infecção permissiva, não maligna, causada pelo vírus Epstein-Barr (EBV), com alto índice de replicação viral lítica, que pode estar presente na saliva ou em células adjacentes infectadas.^{4,15} Normalmente, um indivíduo saudável pode controlar e limitar a replicação do EBV, mas em um indivíduo com comprometimento imunológico, a reativação viral subclínica pode ocorrer com mais frequência.^{9,15} Clinicamente, manifesta-se como uma placa branca, tipicamente não removível por raspagem, com localização preferencial nas placas laterais da língua. Pode ser uni ou bilateral,^{7,11} e tam-

bém pode afetar outras áreas da mucosa oral, como mucosa bucal, palato, língua dorsal e ventral, assoalho bucal e orofaringe.¹¹ A superfície pode ser plana, corrugada ou pilosa, e suas características clínicas são características, mas não patognomônicas.⁷

Quando o diagnóstico clínico se torna incerto em tais lesões brancas, o diagnóstico é estabelecido pelo exame histológico do tecido a partir de uma biópsia para identificar o padrão tecidual e a presença de EBV. Até o momento, o padrão-ouro para o diagnóstico de LPO é a detecção do DNA do EBV em biópsias de células epiteliais orais de lesões por hibridização *in situ*.⁴ No entanto, as biópsias requerem procedimentos invasivos, o que pode não ser possível em todos os pacientes devido ao comprometimento do estado imunológico. Além disso, equipamentos sofisticados e caros são necessários para demonstrar o EBV, que podem não estar ao alcance imediato, tornando-os impraticáveis. Assim, uma técnica confiável e simples como a citologia pode ser usada como parâmetro diagnóstico, na qual as alterações celulares induzidas pelo EBV podem ser identificadas com confiabilidade.^{4,13}

O aspecto histopatológico é caracterizado por hiperqueratose, parakeratose, acantose, papilomatose, presença de células balonizadas com alterações nucleares na camada espinhosa, discreto infiltrado inflamatório intraepitelial e o tecido conjuntivo subjacente frequentemente está associado à presença de candidíase oral.⁷ Essas características podem ser identificadas pela análise citológica nas formas clínicas e subclínicas das lesões orais.⁶

Geralmente, a LPO é assintomática e resolve-se espontaneamente, não havendo indicação de tratamento.¹⁰ No entanto, em alguns casos, pode haver dor e sensação de queimação, além de comprometimento estético para o paciente, sendo necessário o tratamento.¹ A terapia indicada pode incluir antivirais tópicos, como aciclovir, desciclovir, zidovudina, ganciclovir e podofilina. Alguns autores sugerem o uso de podofilina tópica, excisão cirúrgica e crioterapia oral.^{11,13}

Este estudo tem como objetivo relacionar o grau de imunossupressão em pacientes transplantados renais ou em uso de terapia imunossupressora com o diagnóstico de Leucoplasia Pilosa Oral.

METODOLOGIA

Este estudo é uma avaliação prospectiva transversal da prevalência de achados citopatológicos compatíveis com LPO, divididos em 3 grupos. O primeiro é composto por pacientes transplantados renais, o segundo por pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise e o terceiro grupo, o gru-

po controle. Pacientes regularmente examinados no Ambulatório de Nefrologia de Sergipe (CLINESE) compõem os dois primeiros grupos. Após aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal de Sergipe, sob o número 16209614.7.0000.5546, os pacientes foram informados sobre o estudo, os procedimentos a serem realizados e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Em seguida, realizamos anamnese e exame físico e coletamos amostras da cavidade oral.

Foram avaliados 46 pacientes. Entre eles, 30 foram diagnosticados com insuficiência renal crônica. O grupo 1 foi composto por 10 pacientes submetidos a transplante renal e em uso de terapia imunossupressora; o grupo 2 foi composto por 20 pacientes em hemodiálise. O grupo 3 foi composto por 16 estudantes da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Sergipe, que deveriam ser clinicamente saudáveis. É importante ressaltar que todos os pacientes foram submetidos a testes de HIV, apresentando uma amostra totalmente soronegativa para o vírus da AIDS, e clinicamente não foram observadas lesões de LPO em nenhum paciente submetido a este estudo.

A coleta de amostras foi realizada a partir da realização de duas varreduras, uma de cada lado da língua, utilizando uma escova endocervical ginecológica estéril (Kolplast ci Ltda), com luvas de exame individuais. Em seguida, foram realizados dois esfregaços em placas de vidro convencionais colocadas em um frasco contendo álcool 96% e, finalmente, as lâminas foram coradas pela técnica de Papanicolaou. Os esfregaços foram avaliados quanto à celularidade, arranjo celular, células inflamatórias, presença de bactérias ou fungos e alterações nucleares representativas do efeito citopático do EBV, que representaram os critérios para o diagnóstico citológico de Leucoplasia Pílosa Oral.

Para o diagnóstico, adotaram-se os critérios descritos na literatura^{6,7}, considerando alterações nucleares que representam o efeito citopático do EBV em queratinócitos (inclusão tipo Cowdry A, "vidro fosco" e "nuclear beading") como critério suficiente para o diagnóstico citopatológico e, se forem suficientemente representativas, outros métodos não são necessários.^{6,7} O tipo de alteração "Cowdry A" (Figura 1) é uma inclusão eosinofílica intranuclear central circundada por uma zona clara. O tipo "vidro fosco" (Figura 2) é uma inclusão eosinofílica ou basofílica que homogeneiza toda a superfície nuclear e exibe marginalização periférica da cromatina. "Nuclear Beading" (Figura 3) é uma marginalização proeminentemente periférica com aglomeração da cromatina nuclear.⁶ Finalmente, foi feita uma correlação entre os dados coletados e o diagnóstico citopatológico.

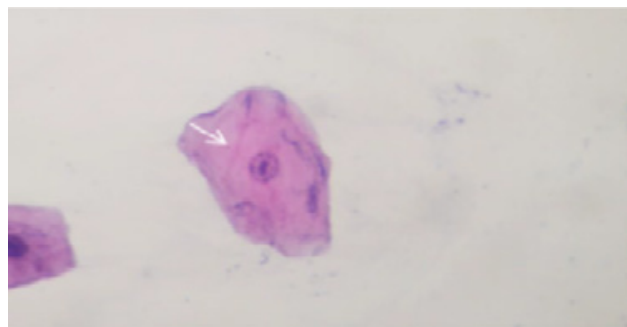


Figura 1 - Inclusão tipo Cowdry A, coloração de Papanicolaou (400x)

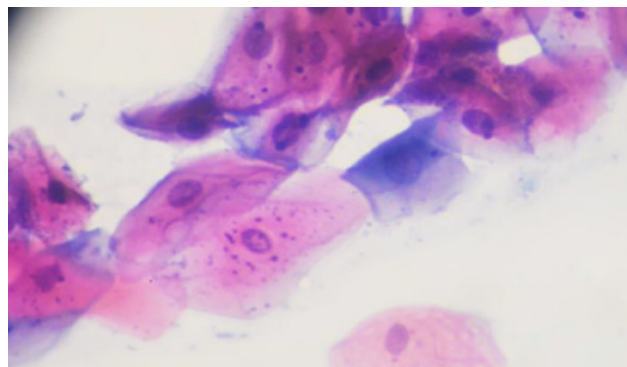


Figura 2 - Inclusão tipo vidro fosco, coloração de Papanicolaou (400x)

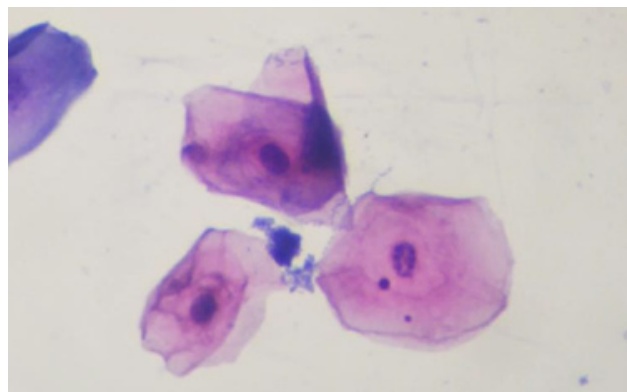


Figura 3 - Inclusão do tipo nuclear beading, coloração de Papanicolaou (400x)

RESULTADOS

CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

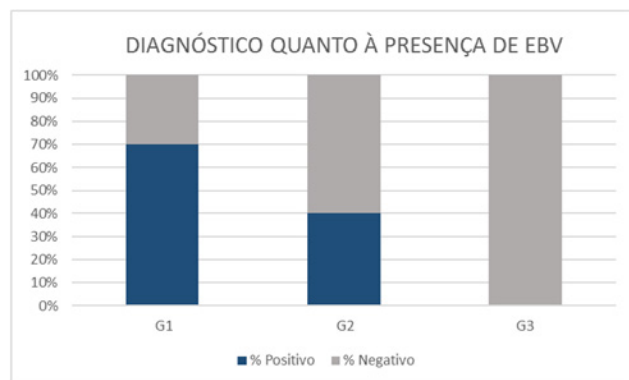
No grupo 1, 6 pacientes (60%) eram do sexo feminino e 4 (40%) do sexo masculino. A idade dos participantes variou de 20 a 60 anos, com média de 35,6 anos (DP 10,99, S2 120,84). No grupo 2, 20 pacientes participaram do estudo, 7 (35%) eram do sexo feminino e 13 (65%) do sexo masculino. A idade dos participantes variou de 20 a 76 anos, com média de 49,5 anos (DP 14,84, S2 220,34). O terceiro grupo, o grupo controle, 10 (62,5%) pacientes eram do sexo feminino e 6 (37,5%) do sexo masculino. A idade dos participantes variou de 20 a 27 anos, com média de 21,93 anos (DP 1,95, S2 3,80).

É importante ressaltar que todos os pacientes foram submetidos a testes de HIV, apresentando uma amostra totalmente soronegativa para o vírus da AIDS, e clinicamente não foram observadas lesões de LPO em nenhum paciente submetido a este estudo.

PREVALÊNCIA DE LPO SUBCLÍNICA E ACHADOS CITOLÓGICOS

Observou-se maior ocorrência de LPO subclínica em pacientes submetidos a transplante renal (70%) quando comparados aos pacientes em hemodiálise (40%) e aos pacientes controle (0%). (Tabela 1)

Tabela 1 - Porcentagens de pacientes diagnosticados com leucoplasia pilosa oral subclínica divididos em grupos



A maioria dos pacientes diagnosticados com LPO subclínica no Grupo 1 eram do sexo feminino, com uma taxa de 57,14%. No entanto, no grupo 2, a maioria dos pacientes diagnosticados com LPO pertencia ao grupo masculino, com uma taxa de 87,5%. A LPO subclínica não foi diagnosticada em nenhum dos pacientes do grupo controle.

A análise citológica foi realizada em 92 lâminas (uma de cada lado da língua dos 46 pacientes). As lâminas apresentaram aparência semelhante, com celularidade suficiente para análise. Alterações nucleares foram encontradas em ambos os lados da língua, sendo o tipo de inclusão Cowdry A o mais frequente, seguido pela inclusão em vidro fosco, e o tipo de inclusão nuclear com perolização foi o menos observado.

DISCUSSÃO

Reuter et al. (2011)¹⁰ relataram que a patogênese da LPO é complexa e inclui uma interação persistente entre replicação e virulência do EBV, imunossupressão sistêmica e supressão da imunidade local do hospedeiro.

Miracles et al. (2004)¹¹ sugeriram que estudos com diagnóstico meramente clínico para identificar LPO não refletem o número real de casos, pois dessa

forma não é possível excluir as "pseudoleucoplasias" pilosas e identificar lesões subclínicas.

Dias et al. (2001)⁷ também acreditam que, devido à importância da LBO para o diagnóstico e prognóstico, a detecção de uma fase subclínica pode contribuir para o diagnóstico e monitoramento da AIDS e de outras condições imunossupressoras. No entanto, a ausência de lesão clínica é um impedimento à biópsia, que pode ser superado com o uso da citologia, uma técnica eficaz, não invasiva, segura e de baixo custo.⁷

Komatsu et al. (2005)⁹ observaram em seus estudos a presença de EBV em 80% dos pacientes HIV positivos sem evidência clínica de LPO, o que sugere uma lesão subclínica. Assim, eles consideraram possível a existência de uma fase subclínica causada pela reinfecção pelo vírus do epitélio. No entanto, essa reinfecção não necessariamente evolui para uma manifestação clínica, mas provavelmente ocorreria apenas se a resposta imune do hospedeiro para controlar a replicação viral fosse suprimida.⁹

Diferentemente do nosso estudo, Reginald et al. (2010)¹³ observaram, no entanto, um diagnóstico positivo em 30% de um grupo de pacientes HIV-positivos sem evidência clínica de LPO. No entanto, esses resultados também os levaram a acreditar que a LPO causada por EBV poderia ser detectada em uma fase subclínica. Eles também sugeriram que a LPO pode, até certo ponto, ser detectada usando citologia esfoliativa, mas com cautela. Outros estudos sobre os efeitos da LPO em condições imunocomprometidas e a comparação da citologia em tais casos com técnicas mais sensíveis, como PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) e hibridização *in situ* para demonstrar o DNA do EBV, podem atuar como um calibrador para usar a citologia como uma ferramenta diagnóstica para a detecção precoce de imunodeficiência, promovendo assim o tratamento precoce.¹³

Ammatuna et al. (1998)² detectaram, em seus estudos, a presença de DNA do EBV por PCR a partir de raspados de mucosa oral com aparência normal em 29 de 40 pacientes transplantados renais (72,5%). Os resultados obtidos em nosso estudo (prevalência de 70% em pacientes transplantados renais) foram semelhantes aos obtidos por eles, que revelaram a alta prevalência de infecção epitelial por EBV em pacientes transplantados; no entanto, diferem dos resultados encontrados em pacientes saudáveis (30%), quando comparados aos nossos resultados (0%).²

Ammatuna et al. (2001)³ realizaram outro estudo, também utilizando raspados de mucosa lingual e bucal sem evidência clínica de LPO de 40 pacientes transplantados renais, detectando DNA do EBV por PCR em 65% dos casos (26 de 40). Resultados também semelhantes aos obtidos em nosso estudo. No

mesmo estudo, o DNA-EBV foi detectado em 16,6% dos pacientes controle, resultados mais próximos aos encontrados em nosso estudo.³

Até o momento, não foram encontrados estudos que relacionem os achados em pacientes transplantados renais e saudáveis com aqueles em uso de terapia hemodialítica, o que sugere que este seja o primeiro estudo envolvendo esse grupo específico de pacientes. Acreditamos que os resultados estejam relacionados ao nível de imunossupressão que o tratamento hemodialítico pode causar nos pacientes, justificando a maior porcentagem na presença de LPO quando comparados a pacientes saudáveis e menor quando comparados a pacientes transplantados renais.

Komatsu et al. (2005)⁹ relataram em seus estudos a presença de EBV em 55,56% dos voluntários saudáveis, resultados divergentes aos encontrados em nosso estudo, o que pode estar relacionado à maior sensibilidade da PCR, aumentando a chance de falsos positivos. Esse fator também pode explicar a divergência dos resultados encontrados por outros autores.^{2,3,9}

Ammatuna et al. (2001)³ também sugeriram que a grande diferença encontrada na porcentagem de diagnóstico entre os dois grupos pode estar relacionada à maior capacidade dos pacientes imunocompetentes de controlar e limitar a replicação do EBV.

Dias, et al. (2001)⁷ verificaram que a avaliação da distribuição das alterações nucleares pelas diferentes camadas epiteliais mostrou que as inclusões do tipo Cowdry A foram as mais frequentes, seguidas pelas inclusões do tipo vidro fosco, que foram o segundo tipo mais comum, e as inclusões nucleares peroladas foram ocasionais, o que corrobora com os dados encontrados em nosso estudo.

Como a LPO não causa sintomas significativos, não é necessário tratamento. Além disso, por estar associada a comprometimento imunológico, com melhora do sistema de defesa do paciente, espera-se uma regressão espontânea.¹¹

CONCLUSÃO

Leucoplasia Pilosa Oral Subclínica foi prevalente em pacientes transplantados renais quando comparados a pacientes que não estavam recebendo terapia imunossupressora, possivelmente sugerindo o diagnóstico como um possível marcador de comprometimento imunológico. A alteração nuclear de inclusão tipo Cowdry A mostrou-se a mais prevalente nos achados citológicos. A citologia esfoliativa para o diagnóstico de Leucoplasia Pilosa Oral é um método eficaz, de baixo custo, não invasivo e de fácil execução. Assim, a análise citopatológica por meio

de raspados bilaterais da língua de pacientes transplantados renais pode ser utilizada como ferramenta de acompanhamento clínico e laboratorial para exames de rotina desses pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Álamo SM, Esteve CG, Pérez MGS. Considerações odontológicas para o paciente com doença renal. *J Clin Exp Dent*. 2011;3(2):112-9.
2. Ammatuna P, Campisi G, Cefalù M, Giambelluca D, Alaimo C, Mancuso S, et al. Detecção de DNA e antígenos do vírus Epstein-Barr (EBV) na mucosa oral de pacientes transplantados renais sem evidência clínica de leucoplasia pilosa oral (LPO). *J Oral Pathol Med*. 1998;27(9):420-7.
3. Ammatuna P, Campisi G, Giovannelli L, Giambelluca D, Alaimo C, Mancuso S, et al. Presença do vírus Epstein-Barr, citomegalovírus e papilomavírus humano na mucosa oral normal de pacientes infectados pelo HIV e transplantados renais. *Oral Dis*. 2001;7(1):34-40.
4. Braz-Silva PH, Santos RTM, Schussel JL, Gallottini M. Diagnóstico de leucoplasia pilosa oral por hibridização in situ do vírus Epstein-Barr em citologia em base líquida. *Cytopathology*. 2014;25(1):21-6.
5. de la Rosa-García E, Mondragón-Padilla A, Irigoyen-Camacho ME, Bustamante-Ramírez MA. Lesões orais em um grupo de pacientes transplantados renais. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10:196-204.
6. Dias EP, Rocha ML, Jr AS, Spyrides KS, Ferreira SMS, Polignano GAC, et al. Leucoplasia Pilosa Oral: Características Histopatológicas e Citopatológicas de uma Fase Subclínica. *Am J Clin Pathol*. 2000;114:395-401.
7. Dias EP, Spyrides KS, Junior AS, Rocha ML, Fonseca ECD. Leucoplasia pilosa oral: características histopatológicas da fase subclínica. *Pesqui Odontol Bras*. 2001;15(2):104-11.
8. Greenspan D, GJ, Conant M, Petersen V, Silverman S Jr, de Souza Y. Leucoplasia "pilosa" oral em homens homossexuais: evidência de associação com papilomavírus e um vírus do grupo herpes. *Lancet*. 1984;2(8407):831-4.
9. Komatsu TL, Rivero ERC, Magalhães MH-CGd, Nunes FD. Vírus Epstein-Barr em raspa-

dos de leucoplasia pilosa oral: identificação por PCR. *Braz Oral Res.* 2005;19(4):317-21.

10. Kreuter A, Wieland U. Leucoplasia pilosa oral: um indicador clínico de imunossupressão. *CMAJ.* 2011;183(8):932.
11. Milagres A, Ramos RT, Castiliano MH, Dias EP. Leucoplasia Pilosa Oral em Paciente HIV Positivo: Revisão da Literatura e Relato de Caso. *DST - J bras Doenças Sex Transm.* 2004;16(2):58-62.
12. Milagres A, Dias EP, Tavares DdS, Cavalcante RM, Dantas VA, Oliveira SPd, et al. Prevalência de leucoplasia pilosa oral e infecção epitelial pelo vírus Epstein-Barr em gestantes e pacientes com diabetes mellitus – estudo citopatológico e molecular. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102(2):159-64.
13. Reginald A, Sivapathasundharam B. Leucoplasia pilosa oral: um estudo de citologia esfoliativa. *Contemp Clin Dent.* 2010;1(1):10-3.
14. Ribeiro RdCHM, Oliveira GASAd, Ribeiro DF, Bertolin DC, Cesarino CB, Lima LCEQd, et al. Caracterização e etiologia da insuficiência renal crônica em unidade de nefrologia do estado de São Paulo. *Acta Paul Enferm.* 2008;21(Número Especial):207-11.
15. Walling DM, Flaitz CM, Adler-Storthz K, Nichols CM. Uma técnica não invasiva para estudar a infecção e doença epitelial oral pelo vírus Epstein-Barr. *Oral Oncol.* 2003;13:433-44.