UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

ALOIZIO PREMOLI MACIEL

Análise de biomarcadores bucais carcinogênicos em indivíduos com doença renal crônica receptores de transplante renal

BAURU
2021

ALOIZIO PREMOLI MACIEL

Análise de biomarcadores bucais carcinogênicos em indivíduos com doença renal crônica receptores de transplante renal

Tese constituída por artigo apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Estomatologia, Radiologia e Imaginologia.

.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio da Silva Santos.

BAURU
2021

Maciel, Aloizio Premoli
Análise de biomarcadores bucais carcinogênicos em indivíduos com doença renal crônica receptores de transplante renal./ Aloizio Premoli Maciel. -- Bauru, 2021.
076 p. : il. ; 31 cm.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo, 2022

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio da Silva Santos

.

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação/tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura

Data:09/12/21

Comitê de Ética da FOB-USP
Protocolo nº:12798019.3.0000.5417
Data:11/07/2020

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Assistência Técnica Acadêmica
Serviço de Pós-Graduação

ANOS
FOB-USP
• 1962 - 2022 •

FOLHA DE APROVAÇÃO

Tese apresentada e defendida por
ALOIZIO PREMOLI MACIEL
e aprovada pela Comissão Julgadora
em 02 de fevereiro de 2022.

Prof. Dr. **DMITRY JOSÉ DE SANTANA SARMENTO**
UEPB

Prof.ª Dr.ª **ELEN ALMEIDA ROMÃO**
FMRP

Prof.ª Dr.ª **DENISE TOSTES OLIVEIRA**
FOB-USP

Prof. Dr. **PAULO SERGIO DA SILVA SANTOS**
Presidente da Banca
FOB - USP

Prof. Dr. Marco Antonio Hungaro Duarte
Presidente da Comissão de Pós-Graduação
FOB-USP

ERRATA

DEDICATÓRIA

Aos meus familiares, que me apoiaram durante todo o processo, em especial a minha mãe Sandra Premoli, vim e venci mãe!

A minha amada noiva Reyna Aguilar Quispe, que muito amor e dedicação sempre esteve a meu lado como amiga acima de tudo e agora como minha futura esposa, te amo muito. Te deixo minha admiração, respeito e amor.

Aos meus amigos, que sempre estiveram ao meu lado apesar da distância, aos novos amigos que Deus me presenteou durante essa jornada.

Aos pacientes transplantados renais, espero que esse trabalho possa colaborar com a saúde e o bem-estar de vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar do meu lado e sempre ter me guiado ao longo da minha vida, por ser um pai amoroso e gentil com o seu filho.

A minha mãe Sandra Premoli, pelo seu amor que é o mais bonito do mundo.

A meu pai Célio Maciel, pela amizade e carinho de sempre.

A minha noiva Reyna Aguilar Quispe, que em um mês será a minha esposa para sempre! Obrigado por tudo! Sem você nada disso teria sido possível. Melhor amiga, melhor companheira, minha alma gêmea!

A minha família que compreendeu e ainda compreende a minha ausência.

Aos meus amigos, em especial ao Marlon Marques, Daniel Câmara e Orlando Marreiro Neto, pelo amor a apoio!

Aos meus novo amigos, que agora depois de 6 anos já se tornaram velhos amigos...Eduardo Fiamoncini, Brena Manzano e Maricel Cárdenas meus padrinhos de casamento, obrigado pelo amor e carinho!

Aos meus colegas de trabalho, em especial ao meu grande amigo Fabiano Jeremias, que também é um grande entusiasta da docência e da academia, obrigado pela força, pelo carinho e lealdade, por sempre me dar apoio e orientações.

Ao meu orientador Paulo Sérgio das Silva Santos que me incentiva, me desafia e me guia ao longo da minha jornada acadêmica. Obrigado por ser um exemplo de pessoa e de profissional, por se importar com o meu sucesso e sempre abrir portas na minha vida. Gratidão eterna!

A professora Denise Tostes Oliveira, por se a primeira pessoa a me acolher em Bauru, por ser uma torcedora declarada do meu sucesso profissional e pessoal, tenha o meu muito obrigado por tudo!

A Dra. Elen Almeida Romão que abriu as portas do HC de Ribeirão Preto para a nossa equipe, a qual não seria possível finalizar esse projeto em tempo. Obrigado pela excelente recepção, pela contribuição intelectual e pelo carinho pelo o qual fui recebido.

A Dra. Daniela Ponce que acreditou nesse projeto e colaborou intelectualmente e financeiramente com a nossa equipe. Obrigado pela confiança e parceria.

Ao Dr. Cleverson Teixeira Soares que sempre abriu as portas dos seus laboratórios a comunidade da FOB, e agora a mim também, sempre muito receptivo, paciente e gentil com todos ao seu redor.

Ao professor Damante e sua esposa Eliana, obrigado pela a bela amizade que construímos! Mesmo após a sua aposentadoria seus ensinamentos ficaram profundos em nosso conhecimento, e as piadas também! Espero que Deus sempre te conserve alegre e feliz!

A professora Ana Capelozza, por ser um exemplo de professor e exalar amor a profissão e aos alunos ao seu redor, muito obrigado pelos ensinamentos! Muito obrigado professora!

A professora Izabel Bullen, por ser uma mãe a todos os alunos de pós-graduação do departamento, sempre preocupada e empenhada a ajudar a todos! Muito obrigado professora.

A professora Cassia Rubira pela confiança que a senhora sempre depositou em mim, pelos incentivos e ensinamento ao logo da minha jornada. Muito obrigado professora

Aos funcionários da FOB, em especial os do departamento de Cirurgia, Estomatologia, Patologia e Radiologia por estarem sempre juntos no processo da pós-graduação. Em especial ao Alxandre Fatiminha, Marina, Alexandre pelo apoio com os casos de Barretos, a Luciana que sempre nos cuida com os prazos e nos guia através da pós-graduação, a Andréia, Roberto e Marco que dentro da clínica da Estomatologia sempre nos trataram com carinho e ternura.

Aos funcionários da Anatomed Bauru, especialmente ao Everton que sempre me recebeu muito bem, me ajudou a finalizar o desenho do projeto e se dedicou ao nosso projeto. Muito Obrigado!

A toda a equipe da unidade de transplante renal do HC da FMRB, pelo acolhimento no setor e pela excelentíssima experiência que pude passar ao lado de vocês.

Aos funcionários do HEB que sempre auxiliam e nos direcionam academicamente e profissionalmente. Em especial a Rose e Daniela do NEP, muito amorosas e prestativas.

Aos meus alunos de graduação da UNIFEB, vocês não sabem, mas sempre busco inspiração e forças em vocês, muito obrigado pelo carinho.

“A flor que desabrocha na adversidade é a mais rara e bela de todas”.

Mulan

“Siga a sua paixão e a vida irá recompensá-lo”.

Tio Iroh

RESUMO

Receptores de transplante renal (RTR) tem um risco de manifestação de carcinoma espinocelular (CEC) de lábio inferior de 4 a 46.6 vezes maior que a população normal. A queilite Actínica (QA) é uma lesão potencialmente maligna que antecede à manifestação do CEC de lábio e poder ser identificada através do exame clínico. Da mesma maneira, uma das formas de realizar a monitorização da carcinogênese em RTR, é através da análise de anomalias nucleares a nível celular, para poder prevenir e identificar precocemente o CEC de lábio inferior em RTR. Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar a manifestação da QA e sua associação com a presença de anomalias nucleares nos RTR, para identificar biomarcadores na boca que se associem ao CEC de lábio inferior. Este estudo foi um estudo clínico-histopatológico, observacional, transversal com amostra por conveniência a través da avaliação clínica da QA e identificação histopatológica de anomalias nucleares da região do lábio inferior de RTR. A avaliação clínica foi realizada por um único examinador calibrado; a avaliação de alterações nucleares foi realizada por dois examinadores calibrados e cegados. Foram registradas informações do RTR como idade, sexo, cor de pele, tempo de diálise antes do transplante, tempo de transplante, imunossupressores, exposição a fatores de risco como etilismo, tabagismo, exposição solar e histórico de infecções virais. A avalição clínica foi realizada através de exame clínico e análise fotográfico do lábio inferior. Para a avaliação histopatológica, foram coletadas células do lábio inferior através de raspado tecidual e acondicionamento em vaios com metanol e corados por reação de Feulgen. As anomalias nucleares foram classificadas como micronúcleos, brotamento nuclear, ponte citoplasmático e binucleação. Para análise estatístico foram utilizados o teste exato de Fisher e Macnemar ($p<0,05$). A amostra foi de 48 RTR, com diagnóstico de QA em 29(60,41%). O estadiamento da QA foi associado a RTR leucodermas ($p<0,05$). A presença de QA foi associado ao histórico de exposição a agentes químicos voláteis etilismo e tabagismo ($p<0,05$); histórico de uso de tacrolimus, azatioprina e sirolimus ($p<0,001$). O estadiamento da QA foi associado ao uso de Micofenolato ($p<0,05$). A administração de menores doses de Sirolimus foi associado a grau III e IV de QA ($p<0,05$). Infecções por Epstein-Barr Vírus e Herpes Vírus Simples foram associados a presença da QA ($p<0,05$). Entre as anomalias nucleares, a binucleação celular foi associada a RTR com mais de 7 anos de TxR ($p=0,008$). Todas as anomalias

nucleares foram associadas ao uso de tacrolimus e micofenolato (p<0,001). A binucleação celular e brotamento nuclear foram associadas ao histórico de infeções virais oncogênicas e manifestação de QA (p<0,001). Portanto, a presença e a gravidade da QA em RTR estão associadas a cor da pele, fatores de risco da QA, uso de imunossupressores e histórico de infecções virais. A presença de binucleação nuclear e brotamento nuclear foram associadas à presença QA, principalmente indivíduos do sexo masculino, em uso de Tacrolimus e Micofenolato, com histórico de infecções de vírus oncogênicos e com mais de 7 anos decorridos do transplante renal.

Palavras-chave: Transplante de Rim; Queilite; Neoplasias labiais; Carcinogênese; Biomarcadores tumorais

ABSTRACT

Analysis of carcinogenic oral biomarkers in individuals with chronic kidney disease kidney transplant recipients

Kidney transplant recipients (KTR) have a risk of manifestation of lower lip squamous cell carcinoma (SCC) from 4 to 46.6 times higher than the normal population. Actinic cheilitis (AC) is a potentially malignant lesion that precedes the manifestation of lip SCC and can be identified through clinical examination. Similarly, the ways to monitor carcinogenesis in KTR is through the analysis of nuclear anomalies of the cells, in order to be able to prevent and identify early the SCC of the lower lip in KTR. Therefore, the aim of this study was to analyze the manifestation of AC and its association with the presence of nuclear anomalies in KTR, to identify biomarkers in the mouth that are associated with lower lip SCC. This study was a clinical-histopathological, observational, cross-sectional study, with a convenience sample through the clinical evaluation of AC, and histopathological identification of nuclear anomalies in the lower lip region of KTR. Clinical evaluation was performed by a single calibrated examiner, and the evaluation of nuclear anomalies was performed by two calibrated and blinded examiners. KTR information such as age, gender, skin color, dialysis time before transplantation, transplant time, immunosuppressants, risk factors such as alcohol consumption, smoking, sun exposure and history of viral infections were recorded. Clinical evaluation was performed through clinical examination and photographic analysis of the lower lip. For histopathological evaluation, lower lip cells were collected through tissue scraping and packaging in booing with methanol and colored by Feulgen reaction. Nuclear anomalies were classified as micronucleus, nuclear budding, nucleocytoplasmic bridge and binucleation. Fisher and Macnemar's exact test ($p<0.05$) was used for statistical analysis. The sample was 48 KTR, with a diagnosis of AC in 29 (60.41%). AC staging was associated with KTR leucodermas ($p<0.05$). The presence of AC was associated with a history of exposure to volatile chemical agents and smoking ($p<0.05$); history of use of tacrolimus, azathioprine and sirolimus ($p<0.001$). AC staging was associated with the use of Mycophenolato ($p<0.05$). The administration of lower doses of Sirolimus was associated with grade III and IV of QA ($p<0.05$). Epstein-Barr Virus and Herpes Simple Virus infections were associated with the presence of AC ($p<0.05$). Among nuclear anomalies, the cell binucleation was associated with KTR with more than 7 years of kidney transplantation

(p=0.008). All nuclear anomalies were associated with the use of tacrolimus and mycophenolato (p<0.001). Cell binucleation and nuclear budding were associated with a history of oncogenic viral infections and manifestation of AC (p<0.001). Therefore, the presence and severity of AC in KRT were associated with skin color, risk factors of AC, use of immunosuppressants, and history of viral infections. The presence of nuclear binucleation and nuclear budding were associated with the presence of AC, mainly in male individuals using tacrolimus and mycophenolate, with history of oncogenic virus infections and with more than 7 years elapsed from the kidney transplantation.

Keywords: Kidney Transplantation; Cheilitis; Labial neoplasms; Carcinogenesis; Tumor biomarkers

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Registro fotográfico do lábio inferior para avaliação da Queilite Actínica..... 23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação e Estadiamento Clínico da Queilite Actínica modificado, baseado na classificação de Poitevin 24

Tabela 2 - Características dos Receptores de Transplante Renal..... 25

Tabela 3 - Associação entre as Variáveis Demográficas com a Gravidade de QA..... 27

Tabela 4 - Associação do Sirolimus e o Micofenolato com a Gravidade de QA..... 28

Tabela 5 - Distribuição da queilite actínica e alterações nucleares nos receptores de transplante renal..... 45

Tabela 6 - Associação entre o uso de imunossupressores e as alterações nucleares..... 46

Tabela 7 - Associação entre o Histórico de Infeções Virais com as Alterações Nucelares..... 47

Tabela 8 - Associações Entre a Queilite Actínica e as Alterações Nucleares..... 48

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

RTR	Receptor de Transplante Renal
TxR	Transplante
QA	Queilite Actínica
CA	Câncer
CAL	Câncer de Lábio
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
DM	Diabetes Mellitus
MN	Micronúcle
CEC	Carconoma Espinocelular
LOPM	Lesões Potenciamente Malignas
CMV	Citomegalovírus
EBV	Epstein-Bar Vírus

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17
2 ARTIGOS 19
2.1 ARTIGO 1 19
2.2 ARTIGO 2 37
3 DICUSSÃO AMPLIADA E FUNDAMENTADA 57
4 REFERÊNCIAS 62
5 APÊNDICE 66
6 ANEXOS 67

1. INTRODUÇÃO

A doença renal crônica está associada ao aumento do risco de câncer em órgãos sólidos (MAISONNEUVE et al., 1999), o qual acomete a principalmente a mama, rim, próstata e boca (MAISONNEUVE et al., 1999; WOLFE et al., 1999). Outros tipos de neoplasias associadas à doença renal crônica e seu estágio final são o câncer de fígado, trato urinário, tireoide, língua e linfomas (LIANG et al., 2011; MAISONNEUVE et al., 1999). A carcinogênese relacionada à doença renal crônica ocorre pelos efeitos da uremia crônica, levando o indivíduo a ter alteração no reparo do DNA, deficiência nutricional, deficiência do sistema imune que são afetados também pelo uso de drogas citotóxicas (MAISONNEUVE et al., 1999; VAMVAKASA; BAHNERB; HEIDLANDB, 1998).

A incidência de câncer aumenta ainda mais após o transplante renal (TxR), que apesar de ser a terapia renal substitutiva de maior eficácia, aumenta o risco geral de câncer devido à imunossupressão medicamentosa (WOLFE et al., 1999). Este aumento da carcinogênese após o TxR está diretamente relacionado ao tempo de imunossupressão vigente, tempo de TxR, a idade do receptor de transplante renal (RTR) (KASISKE et al., 2004; KIM et al., 2014; WISGERHOF et al., 2011) e tipo de terapia imunossupressora utilizada (DEMIR et al., 2015; KASISKE et al., 2004; KYLLÖNEN; SALMELA; PUKKALA, 2000). Entre os tipos de neoplasias que acometem RTR estão o cânceres de pele não melanoma, linfomas não Hodgkin, leucemias e câncer renal.(BAŠIĆ-JUKIĆ et al., 2010; HOOVER; FRAUMENI, 1973; KYLLÖNEN; SALMELA; PUKKALA, 2000; MÄKITIE et al., 2008; WISGERHOF et al., 2011).

Além deste aumento da incidência de diversos tipo de neoplasias malignas em diversas regiões e órgãos do corpo humano, há estudos que também indicam que RTR têm um aumento na incidência de câncer na região de cabeça, em sua maioria com manifestação na pele, seguido do câncer de boca, tireoide, linfonodos, nasofaringe, orofaringe e cérebro (BAŠIĆ-JUKIĆ et al., 2010; MÄKITIE et al., 2008) (MÄKITIE et al., 2008; BAŠIĆ-JUKIĆ et al., 2010). O câncer de boca em RTR manifesta-se na língua,(LEE; GISSER, 1978) assoalho bucal (BRADFORD et al., 1990) e principalmente no lábio inferior (BERGER et al., 1971; HOOVER; FRAUMENI, 1973; MÄKITIE et al., 2008; WISGERHOF et al., 2011), especificamente na região de vermelhão labial com tipo histológico carcinoma espinocelular (CEC) (LÓPEZ-

PINTOR et al., 2011; VAN LEEUWEN et al., 2009; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998). O risco de manifestação do CEC de lábio inferior após o TxR é de 4 a 46.6 vezes maior que a população normal, e em alguns estudos chega a ser o segundo tipo de câncer mais incidente nos RTR (HOOVER; FRAUMENI, 1973; KYLLÖNEN; SALMELA; PUKKALA, 2000; MÄKITIE et al., 2008), o que aumenta a preocupação de realizar um diagnóstico precoce do CEC de lábio inferior nesta população. (BAŠIĆ-JUKIĆ et al., 2010; MÄKITIE et al., 2008)

Uma das formas de realizar a monitorização da carcinogênese, e que pode ser aplicada em RTR, é através da análise de anomalias nucleares a nível celular. Estes biomarcadores celulares indicam dano cromossomal e do material genético do núcleo das células que podem ocorrer por genotoxicidades, quando é observado a presença de micronúcleos celulares (MN) e brotamento nuclear. Da mesma maneira, pode acontecer por citotoxidade, quando a célula se manifesta com binucleação celular. (BOLOGNESI et al., 2013; SOMMER; BURACZEWSKA; KRUSZEWSKI, 2020).

A presença destas anomalias nucleares e principalmente o MN, estão associados à manifestações de lesões orais potencialmente malignas (LOPM) (BLOCHING et al., 2000; GUPTA; GUPTA; AGARWAL, 2019; SANGLE et al., 2016), Estas LOPM também são biomarcadores para a carcinogênese do CEC do lábio inferior, o qual está associado ao aumento da displasia epitelial e a proliferação tumoral de células epiteliais (DANCYGER et al., 2018)

A queilite actínica (QA) é uma LOPM que, além de anteceder a manifestação do CEC no lábio inferior (DANCYGER et al., 2018) é a LOPM mais incidente em lábio inferior, a qual também possui manifestação nos RTR com transformação maligna para CEC no lábio inferior (VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998).

Devido a QA anteceder a manifestação do CEC de lábio, de poder ser identificada através do exame clínico, proporcionar um diagnóstico precoce do CEC de lábio inferior em RTR (DANCYGER et al., 2018; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998), além de ser associada a anomalias nucleares por ser uma LOPM, (BOLOGNESI et al., 2013; SOMMER; BURACZEWSKA; KRUSZEWSKI, 2020), e finalmente pela escassez de informações que associam a presença de QA e sua associação com as anomalias nucleares, o objetivo desta tese foi de analisar a manifestação de biomarcadores associados ao CEC labial, como manifestação de QA e sua associação com a presença anomalias nucleares e com o perfil clínico dos RTR, a fim de contribuir na prevenção do CEC labial em RTR.

2. ARTIGOS

2.1 Artigo 1

Título Perfil clínico dos receptores de transplante renal com manifestação da queilite actínica.

Autores Aloizio Premoli Maciel, Reyna Aguilar Quispe, Daniela Ponce, Cleverson Teixeira Soares, Carlos Augusto Molina, Elen Almeida Romão, Paulo Sérgio da Silva Santos.

Resumo

Introdução: Receptores de Transplante Renal (RTR) possuem maior incidência de Câncer de lábio (CAL) durante a imunossupressão do transplante renal (TxR), sendo o diagnóstico precoce possível através da identificação da Queilite Actínica (QA). Objetivo: Este estudo teve o objetivo de associar a manifestação clínica da QA com o perfil clínico dos RTR. **Métodos:** Estudo clínico observacional transversal, com amostra por conveniência. Foi realizado o diagnóstico e estadiamento clínico da QA em RTR, através da avaliação de um pesquisador experiente e calibrado e avaliação de registro fotográfico do lábio inferior. Também, foram registradas informações do RTR como dados demográficos, tempo de transplante, imunossupressores, exposição a fatores de risco como etilismo, tabagismo, exposição solar e infecções virais. Para associação das variáveis foram utilizados os testes Qui-quadrado e Macnemar. **Resultados:** A amostra foi de 48 RTR, com diagnóstico de QA em 29(60,41%). O estadiamento da QA foi associado a RTR leucodermas ($p<0,05$). Os fatores de risco associados à presença de QA foram o histórico de exposição a agentes químicos voláteis, etilismo e tabagismo ($p<0,05$). A ausência de histórico de exposição solar foi associado ausência de casos de QA grau IV ($p<0,001$). O histórico de uso de tacrolimus, azatioprina e sirolimus nos RTR obtiveram associação com a presença da QA ($p<0,001$). O estadiamento da QA foi associado ao uso de Micofenolato ($p<0,05$). A administração de menores doses de Sirolimus foi associado a grau III e IV de QA ($p<0,05$). Infecções por Epstein-Barr Vírus e Herpes Vírus Simples foram associados à presença da QA ($p<0,05$). **Conclusão:** A presença e a gravidade da QA em RTR foram associadas a cor da pele, fatores de risco da QA, uso de imunossupressores e histórico de infecções virais.

Palavras Chaves: Transplante de Rim; Queilite; Neoplasias labiais.

Introdução

Há mais de 20 anos, a literatura menciona evidências sobre o aumento do risco de câncer (CA) em indivíduos com Doença Renal Crônica (D'ARCY et al., 2021; MAISONNEUVE et al., 1999), que acomete geralmente mama, rim, próstata e boca (MAISONNEUVE et al., 1999; WOLFE et al., 1999). . A carcinogênese relacionada à doença renal crônica, ocorre pelos efeitos da uremia crônica, levando o indivíduo a ter alteração no reparo do DNA, deficiência nutricional, deficiência do sistema imune além do uso de drogas citotóxicas (MAISONNEUVE et al., 1999; VAMVAKASA; BAHNERB; HEIDLANDB, 1998). A incidência de CA aumenta ainda mais após o transplante renal (TxR), que apesar de ser a terapia renal substitutiva de maior eficácia, apresenta um aumento do risco geral de CA devido a imunossupressão medicamentosa (WOLFE et al., 1999).

O aumento da carcinogênese após o TxR pode estar relacionado ao tempo de imunossupressão vigente, tempo de TxR, idade do RTR (KASISKE et al., 2004; KIM et al., 2014; WISGERHOF et al., 2011) e tipo de terapia imunossupressora utilizada (DEMIR et al., 2015; KASISKE et al., 2004; KYLLÖNEN; SALMELA; PUKKALA, 2000; LAPRISE et al., 2019) Entre os tipos de CA que acometem RTR estão o CA de pele não melanoma, linfoma não Hodgkin assim como o CA de boca entre outros (BAŠIĆ-JUKIĆ et al., 2010; HOOVER; FRAUMENI, 1973; KYLLÖNEN; SALMELA; PUKKALA, 2000; MÄKITIE et al., 2008; WISGERHOF et al., 2011).

O CA de boca em RTR, manifesta-se com maior frequência na língua (LEE; GISSER, 1978), assoalho bucal (BRADFORD et al., 1990) e principalmente no lábio inferior (BERGER et al., 1971; HOOVER; FRAUMENI, 1973; MÄKITIE et al., 2008; WISGERHOF et al., 2011), especificamente na região de vermelhão labial, região onde é mais frequente o carcinoma espinocelular (LÓPEZ-PINTOR et al., 2011; VAN LEEUWEN et al., 2009; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998). A literatura menciona que o risco de CA de lábio (CAL) após o TxR é de 4 a 46.6 vezes maior que a população sem antecedente de transplante de órgãos. Assim mesmo, alguns estudos mencionaram que o CAL é o segundo tipo de CA mais incidente em RTR (HOOVER; FRAUMENI, 1973; KYLLÖNEN; SALMELA; PUKKALA, 2000; MÄKITIE et al., 2008). Portanto, realizar um diagnóstico precoce do CAL nos RTR é sumamente importante. (BAŠIĆ-JUKIĆ et al., 2010; MÄKITIE et al., 2008)

A carcinogênese do lábio ocorre devido ao aumento da displasia epitelial, proliferação tumoral e manifestação de lesões orais potencialmente malignas como a queilite actínica (QA) que antecede o CAL (DANCYGER et al., 2018). Devido à QA ser passível de ser identificada através do exame clínico e proporcionar um diagnóstico precoce do CAL em RTR, a prevenção do CAL torna-se possível através do diagnóstico e tratamento da QA (DANCYGER et al., 2018; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998). Apesar da literatura mencionar uma maior prevalência de QA em RTR, ainda não são claras as informações de quais são as características dos RTR que apresentam manifestação clínica da QA (NOLAN et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014), Portanto, o objetivo deste estudo foi analisar o perfil clínico dos RTR e sua associação com a manifestação clínica da QA, a fim de contribuir na prevenção e diagnóstico precoce

Material e Métodos

Caracterização do Estudo e Parâmetros Éticos

Este estudo é caracterizado como uma pesquisa clínica observacional transversal, realizada entre os anos de 2020 e 2021. O estudo foi realizado através da colaboração de três instituições médico-odontológicas, as quais realizavam atendimento hospitalar e ambulatorial a RTR. O presente estudo foi submetido e aprovado do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos sob o protocolo CAAE12798019.3.0000.5417 com registro no REBEC U1111-1272-4314. Os RTR participaram de forma voluntária, sob a assinatura e esclarecimento prévia de um termo de consentimento livre e esclarecido.

Características da Amostra

A amostra foi de conveniência, constituída por 48 RTR dentro dos critérios de inclusão como: idade acima de 18 anos, independente do sexo e etnia, com mais de 24 meses de TxR, com tratamento imunossupressor vigente, receptores de transplante de um único órgão, sem associação de síndromes e em acompanhamento com médico nefrologista em ambiente ambulatorial e/ou hospitalar. Foram excluídos os receptores de múltiplos órgãos, com distúrbios neurológicos ou psiquiátricos que podiam impedir o diálogo e avaliação clínica, com exposição a imunossupressores

antes do transplante renal, que estejam em tratamento vigente com quimioterápicos ou com histórico de radioterapia na região de cabeça e pescoço.

Todos os RTR foram avaliados em ambiente ambulatorial ou durante a internação hospitalar.

Características dos Receptores de Transplante Renal.

Foram coletadas informações dos RTR como o sexo, idade, cor da pele, tempo de diagnóstico da doença renal crônica, tempo de diálise antes do TxR, tempo de realização do TxR, se doador era vivo ou cadáver, fatores etiológicos da doença renal crônica, nome farmacológico e dose dos medicamentos imunossupressores, histórico de rejeição do TxR, histórico de tabagismo, etilismo, exposição a agente químicos voláteis e exposição solar crônica maior a 10 anos. Os dados foram coletados através de uma avaliação clínica odontológica e posteriormente com dados confirmados através do acesso ao prontuário hospitalar eletrônico do RTR.

Também foram coletadas informações sobre o histórico de infeções virais após o TxR como as infecções por Citomegalovírus, Poliomavírus, Epstein-Barr Vírus, Herpes Simples Vírus, além de outros vírus que também infectam os RTR, como a Varicella-Zoster Vírus, Vírus Hepatite B, C e variantes, Adenovírus, Papilomavírus Humano, Rubella Vírus e Vírus da Imunodeficiência Humana. Após a constatação do histórico de infecção viral, foi realizado a confirmação da infeção através do acesso dos prontuários eletrônicos para avaliação da análise dos resultados de PCR

Avaliação Clínica da Queilite Actínica nos Receptores de Transplante Renal

A análise clínica da QA foi realizada por um cirurgião-dentista calibrado (teste kappa intravaliador >0,8) com experiência na área de estomatologia, através da avaliação clínica da mucosa labial, semimucosa labial, comissura labial e tecidos peribucais. Além da avaliação clínica, para a confirmação do diagnóstico e estadiamento clínico da QA, foi realizado o registro fotográfico de diferentes ângulos do lábio inferior (Fig. 1).

Figura 1. 1.1 Boca fechada, para avaliação da parte central do lábio e região perilabial; 1.2 registro lateral esquerdo da boca semiaberta, para avaliação da região lateral esquerda do lábio e da semimucosa labial esquerda; 1.3 Registro central da boca semiaberta, para avaliação central do lábio e semimucosabial; 1.4 Registro lateral direito da boca semiaberta, para avaliação da região lateral direita do lábio e da semimucosa labial direita; 1.5 Registro central com a boca aberta, para avaliação completa do vermelhão de lábio e semimucosa labial; 1.6 Registro central com versão labial, para avaliação do vermelhão de lábio e mucosa labial.

Todos os registros fotográficos foram realizados com uma máquina fotográfica Canon© de modelo EOS Rebel T5, em modo manual 1/640, com configurações de foco (F) 22, ISSO 100; em uma lente Canon© macro de 100mm 1:2:8; disparado com flash Canon© macro ring lite MR-14EXII.

Para a o diagnóstico e estadiamento da QA, foram levadas em consideração as características clínicas identificadas tanto clinicamente quanto nas 6 tomadas fotográficas de acordo a Poitevin, et.al modificado (POITEVIN et al., 2017). É importante ressaltar que foram acrescentadas algumas descrições clínicas pertinentes para maior acurácia da identificação de caraterísticas clínicas de QA que não estavam mencionadas nesta classificação (POITEVIN et al., 2017), porém, que a literatura menciona como relevante (NOLAN et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014) descritas na Tabela 1. No estadiamento de Grau II, foi acrescentado avaliação da perda do limite mucocutâneo entre o vermelhão do lábio e a borda da pele perilabial. No estadiamento de Grau III, foi acrescentado macroqueilia e/ou edema perilabial inferior e/ou perda da linha muco-cutânea labial. No estadiamento de Grau IV, foi acrescentado, dor e aumento da resiliência de regiões labiais durante a palpação.

Tabela 1 – Classificação e Estadiamento Clínico da Queilite Actínica *adaptada pelos autores.*

Grau da Queilite Actínica	Características Clínicas
Grau I – Alterações Iniciais	Ressecamento e descamação no vermelhão dos lábios.
Grau II – Alterações Leves	Atrofia na borda do vermelhão dos lábios, apresentando superfícies moles e áreas pálidas com erupções cutâneas. Perda do limite mucocutâneo entre o vermelhão do lábio e a borda da pele perilabial, ou/e uma linha melanótica escura demarcando esse limite. Esta linha melanótica deve ser diferente das efélides ou de outras lesões pigmentadas. *Pode estar associado ou não as características clínicas descritas no grau I.*
Grau III – Alterações Moderadas	Áreas ásperas e escamosas *(crostas)* nas partes mais secas do vermelhão e áreas hiperqueratóticas, especialmente quando se espalham para o úmido da mucosa labial (limite entre mucosa e semimucosa). Eritema e/ou microerosões menores e 3 mm presentes na semimucosa ou mucosa labial. Macroqueilia e/ou edema perilabial inferior e/ou perda da linha muco-cutânea labial. Pode estar associado ou não as características descritas no grau I e no grau II.
Grau IV – Alterações Graves	Ulceração presente em um ou mais locais do vermelhão do lábio e/ou presença de placa sugestiva de leucoplasia, principalmente em locais mais traumáticos, devido ao histórico de consumo de cachimbo ou cigarros. Dor e aumento da resiliência de regiões labiais durante a palpação. Essas lesões podem sugerir que um processo de malignização em andamento, especialmente quando elas estão acompanhadas por áreas endurecidas à palpação. *Pode estar associado ou não as características descritas no grau I, II e III.*

Análise Estatística

Para análise estatística foi utilizado o Software Jamovi™versão 2.0 de 2021. Para avaliar se as variáveies eram paramétricas ou não paramêticas foi utilizado o test Shaphiro-Wilk. Para análise da associação classificação da QA com variáveis nominais, foi utilizado o teste Exato de Fisher. Para análise entre variáveis qualitativas nominais dicotômicas, como a presença da QA, foi utilizado o teste McNemar com nível de confiança de $p < 0,05$

Resultados

Caraterísticas dos Receptores de Transplante Renal

A amostra por conveniência foi composta por 48 indivíduos RTR, dos quais 30(62,5%) eram do sexo masculino e 18(37,5%) do sexo feminino. A idade variou entre 18 a 77 anos com média de 52,06 anos de idade com desvio padrão (±) 15,07. A cor da pele da amostra foi constituída em sua maioria por 31(64,58%) indivíduos melanodermas, 16(33,33%) leucodermas e 1(2,08%) xantodermas.

O principal fator etiológico da doença renal crônica envolveu a hipertensão arterial sistêmica (HAS) que se apresentou de forma isolada em 12(25%) RTR, seguido de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM) 7(14,58%), HAS associada a DM em 6(12,5%) indivíduos, glomerulonefrite em 3(6,25%) e nefrite aguda pelo de uso de anti-inflamatórios não-esteroidais em 2(4,16%) consecutivamente.

Outros fatores etiológicos do tipo Vasculite Rim-Pulmão, Insuficiência Renal de Jessio, Rins Policísticos, Rins Policísticos associada a HAS, Nefrite Aguda associada a HAS, Aplasia Renal, Mal Formação Renal, Atrofia Renal, Refluxo Urinário, Obstrução da Uretra, Eclampsia e Lúpus Eritematoso Sistêmico ocorreram em apenas cada 1(2,08%) de cada caso nos RTR. Com fator etiológico idiopático foram 4(8,33%) RTR.

O tempo de diagnóstico da doença renal crônica variou entre 3 a 50 anos de diagnóstico, com média de 16,36 ± 9,93 anos. O tempo de diálise pré-Txr dos RTR foi entre 1 a 16 anos com média de 5 ± 3,45 anos. Já em relação aos anos de TxR e imunossupressão, variou entre 2 e 43 anos com média de 9,38 ± 9,47anos.

A distribuição das características dos RTR encontram-se na tabela 2. A imunossupressão medicamentosa foi realizada em todos os casos com prednisona (5mg/d). Tabela 2. Características dos Receptores de Transplante Renal.

Indicadores	N=48	100%
Histórico de Rejeição do TxR	11	22,91
Doador Falecido (cadáver)	42	87,5
Doador Vivo	6	12,5

Uso de Tacrolimus	43	89,58
Uso de Micofenolato	36	75
Uso de Azatioprina	11	22,91
Uso de Sirolimus	10	20,83
Uso de Ciclosporina	4	8,33
Associação de Imunossupressores	46	95,83
Imunossupressão Tripla	10	20,83
Imunossupressão Dual	36	75
Infeção Viral após o TxR	32	66,66
Citomegalovírus	26	54,16
Poliomavírus	21	43,75
Epstein-Barr Vírus,	17	35,41
Herpes Simples Vírus	5	10,41
Varicella-Zoster Vírus	3	6,25
Vírus Hepatite C	2	4,16
Adenovírus	1	2,08
Papilomavírus Humano	1	2,08
Rubella Vírus	1	2,08
Infecção por quatro vírus	1	2,08
Infecção por três vírus	13	27,08
Infecção por dois vírus	13	27,08

TxR: Transplante Renal

Manifestação de QA em RTR

A QA manifestou-se em 29(60,41%) RTR e com maior prevalência em seus graus iniciais, QA grau I em 10(20,83%) indivíduos, QA grau II em 6 (12,5%), QA grau III em 8(16,66%) e QA grau IV em 5(10,41%). Os fatores etiológicos relacionados a QA estiveram presentes em 34(70,83%) casos. A exposição solar foi a mais prevalente em 22(45,83%), seguida do histórico de tabagismo em 20(41,66%), exposição à agentes químicos voláteis em 16(33,33%) e etilismo em 15(31,25%) indivíduos consecutivamente.

Associação de sexo e etnia dos RTR com a manifestação e grau de QA

O sexo e a cor da pele não apresentaram associação significativa com a manifestação da QA (p >0,05). Porém, quando associados com o grau de QA à cor da pele, houve associação significativa (p=0,035), onde a manifestação clínica mais

avançada da QA como graus III e IV esteve presente em RTR leucodermas. Também, se observou que os RTR do sexo masculino embora sem associação estatística significativa (p =0,07) possuíram tanto maior prevalência de QA quanto estadiamentos mais graves quando comparado ao sexo feminino (Tabela 3).

Tabela 3- Associação entre as Variáveis Demográficas com a Gravidade de QA

		Classificação da Queilite Actínica					
		Lábios Normais	Grau I	Grau II	Grau III	Grau IV	Total RTR
Etnia (p=0,035)	Leucoderma	5	2	0	5	4	16
	Melanoderma	13	8	6	3	1	31
	Xantodemra	1	0	0	0	0	1
	Total	19	10	5	8	5	48
Sexo (p=0,078)	Feminino	7	3	5	3	0	18
	Masculino	12	7	1	5	5	30
	Total	16	10	6	8	5	48

QA: Queilite Actínica; RTR: Receptor de Transplante Renal

Associação entre fatores de risco e manifestação e grau de QA em RTR

Quando os fatores de risco foram associados a manifestação da QA houve resultado estatisticamente significativo associado a exposição a agentes químicos voláteis (p=0,007), etilismo (0,008) e tabagismo (p=0,05). Já quando os fatores de risco foram associados ao grau de QA somente a exposição solar mostrou relevância (p<0,001). É importante ressaltar que indivíduos que relataram ausência de histórico de exposição solar crônica não apresentaram grau IV de QA quando comparado ao tabagismo, etilismo e a exposição a agentes químicos voláteis, que mesmo ausentes, houve casos de grau IV de QA.

Associação dos indicadores de RTR e manifestação de QA

A manifestação de QA foi associada significativamente a infecções por Herpes Vírus Simples (p<0,001) e Epstein-Barr Vírus (p=0,028). O histórico de rejeição do TxR obteve associação significativa à manifestação de QA (p=0,001), porém, foi observado que a maioria dos RTR sem histórico de rejeição do transplante (n=24/82,5%) manifestou QA quando comparado à minoria dos RTR com rejeição de TxR (n=5/17,5%).

Em relação aos imunosupressores, houve uma associação significativa da prevalência de QA quando os RTR utilizaram Tacrolimus, Azatioprina e Sirolimus (p<0,001). Quando associado o grau de QA ao uso de imunossupressores, somente o Micofenolato teve associação estatística significativa (p<0,05). Quando a dose dos imunossupressores e o grau de QA foram associados, somente o Sirolimus teve uma associação estatística significativa (p=0,018), sendo que quanto menor a dose de Sirulimus maior o grau de manifestação clínica da QA nos RTR (Tabela 4)..

Tabela 4- Associação do Sirolimus e o Micofenolato com a Gravidade de QA

		Classificação da Queilite Actínica					
		Lábios Normais	Grau I	Grau II	Grau III	Grau IV	Total RTR
Sirolimus mg/dia (p=0,018)	0 mg/dia	16	10	4	5	3	38
	1 mg/dia	2	0	0	3	2	7
	2 mg/dia	0	0	2	0	0	2
	3 mg/dia	1	0	0	0	0	1
	Total	19	10	6	8	6	48
Uso de Sirolimus (p=0,208)	Ausente	16	10	4	5	3	38
	Presente	3	0	2	3	2	10
	Total	19	10	6	8	5	48
Micofenolato mg/dia (p=0,292)	0mg/dia	14	9	5	7	2	37
	50mg/dia	1	0	0	0	1	2
	75mg/dia	0	1	0	0	0	1
	100mg/dia	4	0	1	1	2	8
	Total	19	10	6	8	5	48

Uso de	Ausente	3	2	1	2	4	18
Micofenolato	Presente	16	8	5	6	1	30
(p<0,05)	Total	19	10	6	8	5	48

QA: Queilite Actínica; RTR: Receptor de Transplante Renal

Discussão

Existem diversas lesões bucais observadas em RTR, estas lesões bucais variam desde reações à terapia imunossupressora, como a hiperplasia gengival medicamentosa, infecções oportunistas como a candidíase oral (GÜLEÇ; HABERAL, 2010) e até mesmo lesões orais potencialmente malignas (LEVARDA-HUDOLIN et al., 2016). O presente estudo avaliou a manifestação da QA em RTR, uma lesão oral potencialmente maligna que tem evolução clínica para carcinoma espinocelular (DANCYGER et al., 2018; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998).

Tanto a QA quanto o CAL possuem maior incidência nos RTR quando comparados a indivíduos que não receberam TxR (NOLAN et al., 2012). Por tal razão, a avaliação odontológica se torna importante para prevenção do CAL, já que, além de possuir um diagnóstico precoce antes de sua transformação maligna, há um melhor prognostico quando o CAL e presença da QA ocorrem simultaneamente no paciente(DE ABREU et al., 2006). Diante desta premissa, este estudo associou o perfil clínico dos RTR que manifestaram QA, para desta maneira, contribuir com o diagnóstico precoce da QA como estratégia para a prevenção de CAL em RTR.

Estudos indicam que lesões epiteliais potencialmente malignas como a QA, Ceratose Actínica, Doença de Bowen, ou lesões epiteliais malignas como CA de pele não-melanoma e CAL acabam se manifestando de forma concomitante nos RTR (MARSHALL, 1974; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998), principalmente nos que recebem Azatioprina e Ciclosporina(MARSHALL, 1974). No presente artigo, observamos que além da Azatioprina, outros imunossupressores como o uso do Tacrolimus e Sirolimus também foram associados à presença da QA. Estas associações podem contribuir na identificação de RTR com maior incidência de lesões orais potencialmente malignas, principalmente se houver manifestação de lesões do tipo epiteliais malignas ou potencialmente malignas na pele [5,27].

Outro estudo mencionou que além da Azatioprina, a exposição solar crônica também está associada a maiores incidências do CAL (VAN LEEUWEN et al., 2009). No presente estudo, o maior grau de QA como o grau IV que tem um maior risco de

evolução para CAL, foi associado a indivíduos com exposição solar crônica e em uso de Micofenolato. Consideramos um achado interessante, já que, outros estudos epidemiológicos que analisaram os imunossupressores e a QA ou CAL, mencionaram principalmente sua associação com Azatioprina e a Ciclosporina (MARSHALL, 1974; VAN LEEUWEN et al., 2009).

A exposição solar crônica é o principal fator etiológico associado à QA (DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; JADOTTE; SCHWARTZ, 2012), e de acordo com estudos epidemiológicos, tanto a prevalência quanto a gravidade da QA aumentam quando o histórico de tempo de exposição solar crônica é maior que 10(MIRANDA et al., 2012), 15 (DOS SANTOS et al., 2018) e 30 anos(DE OLIVEIRA RIBEIRO; DA SILVA; MARTINS-FILHO, 2014). Esta associação faz com que diversas classes de trabalhadores que se expõem cronicamente ao sol entrem no grupo de risco para o desenvolvimento da QA, como nos casos de trabalhadores de extrativismo de mineração(DOS SANTOS et al., 2018), trabalhadores da praia(DE SOUZA LUCENA et al., 2012), trabalhadores na agricultura de cana de açúcar(MIRANDA et al., 2012) e pescadores(DE OLIVEIRA RIBEIRO; DA SILVA; MARTINS-FILHO, 2014). Os estudos que relataram a incidência de QA e CAL nos RTR, e até mesmo os que estudam QA em população sem TxR(DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2018), possuem em sua grande maioria estudos em populações de países equatoriais ou de clima quente tropical, com população leucoderma, como por exemplo estudos em populações Australianas e Brasileiras, (DE ABREU et al., 2006; DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2018; MARSHALL, 1974; MIRANDA et al., 2012; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998)os quais mencionaram também que junto ao fator geográfico de maior incidência de raios solares, a cor da pele também é um fator relacionado a maior indecência da QA (DE OLIVEIRA RIBEIRO; DA SILVA; MARTINS-FILHO, 2014; DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2018) e até mesmo o CAL(VAN LEEUWEN et al., 2009).

O presente estudo contou com uma população de 33% de indivíduos leucodermas, com 45,83 % de histórico de exposição solar crônica. Essas caraterísticas podem ter contribuído para manifestação da QA em 60% dos RTR. Observou-se ainda que a QA se manifestou em graus mais leves I e II em indivíduos melanodermas, e de forma muito mais grave nos indivíduos leucodermas. Principalmente, aqueles com histórico de exposição solar, os quais manifestaram QA

grau IV, que é o estadiamento mais avançado e que sugere maiores graus de displasia e maior risco de evolução para CAL (POITEVIN et al., 2017).

Além da exposição solar, cor da pele e ocupação (JADOTTE; SCHWARTZ, 2012; RODRÍGUEZ-BLANCO et al., 2018) , na literatura, outros fatores de risco tem sido associados à manifestação da QA, como a posição geográfica, imunossupressão, falta de uso de protetores labiais (JADOTTE; SCHWARTZ, 2012) idade maior que 60 anos (DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; RODRÍGUEZ-BLANCO et al., 2018) histórico de CAL não melanoma, (RODRÍGUEZ-BLANCO et al., 2018) fatores socioeconômicos (DE SOUZA LUCENA et al., 2012) e em indivíduos do sexo feminino(DE OLIVEIRA RIBEIRO; DA SILVA; MARTINS-FILHO, 2014). Por outro lado, os fatores etiológicos como o etilismo e tabagismo, não vêm demonstrando associação com a prevalência de QA em RTR (JADOTTE; SCHWARTZ, 2012), diferente do casos que já evoluíram para CAL, os quais possuem associação com o histórico de tabagismo (LÓPEZ-PINTOR et al., 2011).

No presente estudo, apesar dos casos mais graves de QA terem se manifestado em RTR com histórico de exposição solar crônica; o histórico de etilismo, tabagismo, e a exposição a agentes químicos voláteis como agrotóxicos e solventes estiveram associados à manifestação de QA nos RTR. Esta associação de fatores etiológicos sugere que a carcinogênese no RTR também está envolvida ao efeito cumulativo, multifatorial de diversos fatores etiológicos carcinogênicos aumentados pela imunossupressão(LÓPEZ-PINTOR et al., 2011) e intensificados pela uremia crônica antes do TxR (MAISONNEUVE et al., 1999; VAMVAKASA; BAHNERB; HEIDLANDB, 1998).

A literatura também menciona que além dos maiores índices de CAL nos RTR, o câncer de rim, de glândulas endócrinas e os linfomas não-Hodgkin (SHANG et al., 2016) (BIRKELAND et al., 1995) também são mais incidentes nessa população. A manifestação destas neoplasias malignas, assim como a sua carcinogênese, podem estar associados a infecções por Epstein-Barr Vírus e Herpes Vírus Humano-8, principalmente as do tipo Linfoproliferativa e Sarcoma de Kaposi (LE, 2016). No presente estudo, observou-se que a presença de QA estava associada ao histórico de infecção por Epstein-Barr Vírus e pelo Herpes Vírus Simples.

A manifestação de infecções por Vírus Herpes Simples em lábios com QA, pode apresentar posterior evolução para CAL em RTR (MARTIN; MARSHALL, 1971). Desta maneira, o histórico manifestações de lesões infeciosas virais desencadeadas

por Epstein-Barr Vírus e Herpes Vírus Simples sugerem que podem servir como biomarcadores para RTR com maiores taxas de desenvolvimento da QA e CAL, principalmente, devido à presença de Epstein-Barr Vírus, que infecta a mucosa oral normal sem a presença de lesões em mais de 70% dos RTR (AMMATUNA et al., 1998, 2001).

A presença de outros vírus oncogênicos associados a manifestações de lesões potencialmente malignas em RTR também é mencionado na literatura (NETO PIMENTEL et al., 2019), como por exemplo a associação da QA e a infeção por Papiloma Vírus Humano, principalmente a variante p16. A literatura menciona que foi possível observar a transformação maligna de QA pela infecção de variantes p16 e 18 do Papiloma Vírus Humano (NETO PIMENTEL et al., 2019). Em casos de QA com infecção do Papiloma Vírus Humano, pacientes também apresentaram histórico de infecção por Poliomavírus (NETO PIMENTEL et al.,2019c) No presente estudo não houve associação entre o histórico de infeção do Poliomavírus e do Papiloma Vírus Humano com presença ou estadiamento da QA.

Embora a QA seja uma lesão potencialmente maligna diagnosticada clinicamente, para melhor estudo da carcinogênese labial pós-TxR, os futuros estudos devem conter maior casuística e ser comparado com um grupo controle. Desta maneira, avaliar a presença de QA e fatores etiológicos comuns entre ambos os grupos, podendo assim determinar indicadores mais precisos. Além disso, deverão avaliar a dose intravenosa dos imunossupressores e relação com o Antígeno de Histocompatibilidade Humana - HLA. Essas informações e caraterísticas propostas para futuros estudos, estiveram ausentes neste estudo sendo as principais limitações. Também, sugerimos que a análise de outros biomarcadores da carcinogênese labial, além da QA, como as alterações nucleares, estudos imuno-histoquímicos e proteicos podem ser avaliados a fim de estabelecer protocolos de prevenção e diagnóstico precoce mais precisos do CAL nos RTR.

Conclusão

Graus mais graves de QA como os graus III e IV apresentaram associação com RTR leucodermas. A QA foi associada a RTR com histórico de exposição a agentes químicos voláteis, etilismo e tabagismo. A exposição solar crônica teve associação com o grau da QA, sendo que quando ausente este fator de risco, também se tinha ausência de graus avançados da QA como o IV. Os RTR em uso de

imunossupressores como o Tacrolimus, Sirolimus em Azatioprina foram associados a maior prevalência de QA. O único imunossupressor com associação aos diferentes graus da QA foi o Micofenolato. Por outro lado, graus mais avançados III e IV de QA em RTR foram associados a uso de menores doses de Sirulimus. Finalmente, o histórico de infecções após o TxR por Epstein-Barr e Herpes Vírus Simples também foram associados à maior prevalência de QA.

Referências

AMMATUNA, P. et al. Detection of Epstein-Barr virus (EBV) DNA and antigens in oral mucosa of renal transplant patients without clinical evidence of oral hairy leukoplakia (OHL). **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 27, n. 9, p. 420–427, 1998.

AMMATUNA, P. et al. Presence of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and human papillomavirus in normal oral mucosa of HIV-infected and renal transplant patients. **Oral Diseases**, v. 7, n. 1, p. 34–40, 2001.

BAŠIĆ-JUKIĆ, N. et al. Head and Neck Malignancies in Croatian Renal Transplant Recipients. **BOSNIAN JOURNAL OF BASIC MEDICAL SCIENCES**, v. 10, n. Supplement 1, p. 37–39, 2010.

BERGER, H. M. et al. Epidermoid Carcinoma of the Lip After Renal Transplantation: Report of Two Cases. **Archives of Internal Medicine**, v. 128, n. 4, p. 609–612, 1971.

BIRKELAND, S. A. et al. Cancer risk after renal transplantation in the nordic countries, 1964–1986. **International Journal of Cancer**, v. 60, n. 2, p. 183–189, 1995.

BRADFORD, C. R. et al. Squamous Carcinoma of the Head and Neck in Organ Transplant Recipients. **The Laryngoscope**, v. 100, n. 2, p. 190–194, 1990.

D’ARCY, M. E. et al. Risk of Rare Cancers among Solid Organ Transplant Recipients. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 113, n. 2, p. 199–207, 2021.

DANCYGER, A. et al. Malignant transformation of actinic cheilitis: A systematic review of observational studies. **Journal of investigative and clinical dentistry**, v. 9, n. 4, p. e12343, 2018.

DE ABREU, M. A. M. M. et al. Actinic cheilitis adjacent to squamous carcinoma of the lips as an indicator of prognosis. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 72,

n. 6, p. 767–771, 2006.
DE OLIVEIRA RIBEIRO, A.; DA SILVA, L. C. F.; MARTINS-FILHO, P. R. S. Prevalence of and risk factors for actinic cheilitis in Brazilian fishermen and women. **International Journal of Dermatology**, v. 53, n. 11, p. 1370–1376, 2014.
DE SANTANA SARMENTO, D. J. et al. Actinic cheilitis: Clinicopathologic profile and association with degree of dysplasia. **International Journal of Dermatology**, v. 53, n. 4, p. 466–472, 2014.
DE SOUZA LUCENA, E. E. et al. Prevalence and factors associated to actinic cheilitis in beach workers. **Oral Diseases**, v. 18, n. 6, p. 575–579, 2012.
DEMIR, T. et al. Cancer Screening of Renal Transplant Patients Undergoing Long-Term Immunosuppressive Therapy. **Transplantation Proceedings**, v. 47, n. 5, p. 1413–1417, 2015.
DOS SANTOS, R. F. et al. Prevalence of and factors associated with actinic cheilitis in extractive mining workers. **Brazilian Dental Journal**, v. 29, n. 2, p. 214–221, 2018.
GÜLEÇ, A. T.; HABERAL, M. Lip and oral mucosal lesions in 100 renal transplant recipients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 62, n. 1, p. 96–101, 2010.
HOOVER, R.; FRAUMENI, J. F. Risk of Cancer in Renal-Transplant Recipients. **The Lancet**, v. 302, n. 7820, p. 55–57, 1973.
JADOTTE, Y. T.; SCHWARTZ, R. A. Solar cheilosis: An ominous precursor: Part I. Diagnostic insights. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 66, n. 2, p. 173–184, 2012.
KASISKE, B. L. et al. Cancer after kidney transplantation in the United States. **American Journal of Transplantation**, v. 4, n. 6, p. 905–913, 2004.
KIM, J. H. et al. Post-transplant malignancy: A burdensome complication in renal allograft recipients in Korea. **Clinical Transplantation**, v. 28, n. 4, p. 434–442, 2014.
KYLLÖNEN, L.; SALMELA, K.; PUKKALA, E. Cancer incidence in a kidney-transplanted population. **Transplant International**, v. 13, n. SUPPL. 1, 2000.
LAPRISE, C. et al. Risk of lip cancer after solid organ transplantation in the United States. **American Journal of Transplantation**, v. 19, n. 1, p. 227–237, 2019.
LE, J. Oncogenic γ Herpesviruses EBV and HHV8 in Kidney Transplantation. **Seminars in Nephrology**, v. 36, n. 5, p. 362–371, 2016.
LEE, S. W.; GISSER, S. D. SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE TONGUE IN

A NINE YEAR RENAL TRANSPLANT SURVIVOR A Case Report with a Discussion of the Risk of Development of Epithelial Carcinomas in Renal Transplant Survivors. **American Cancer Society**, v. 41, n. 1, p. 1–6, 1978.

LEVARDA-HUDOLIN, K. et al. Oral lesions in kidney transplant recipients. **Acta Clinica Croatica**, v. 55, n. 3, p. 459–463, 2016.

LÓPEZ-PINTOR, R. M. et al. Lip cancer in renal transplant patients. **Oral Oncology**, v. 47, n. 1, p. 68–71, 2011.

MAISONNEUVE, P. et al. Cancer in patients on dialysis for end-stage renal disease: An international collaborative study. **Lancet**, v. 354, n. 9173, p. 93–99, 1999.

MÄKITIE, A. A. et al. Head and neck cancer in renal transplant patients in Finland. **Acta Oto-Laryngologica**, v. 128, n. 11, p. 1255–1258, 2008.

MARSHALL, V. **Premalignant and malignant skin tumours in immunosuppressed patientsTransplantation**, 1974.

MARTIN, T. H. T. N. D.; MARSHALL, C. Tumours in Immunosuppressed Patients'. v. 43, n. 3, 1971.

MIRANDA, A. M. O. et al. Prevalence of actinic cheilitis in a population of agricultural sugarcane workers. **Acta odontológica latinoamericana : AOL**, v. 25, n. 2, p. 201–206, 2012.

NETO PIMENTEL, D. R. et al. Detection of human papillomaviruses and human polyomaviruses in immunosuppressed and immunocompetent individuals with actinic cheilitis: a case series. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 33, n. 12, p. e461–e464, 2019.

NOLAN, A. et al. The prevalence of dysplasia and malignant lip lesions in transplant patients. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 41, n. 2, p. 113–118, 2012.

OLIVEIRA, F. A. F. et al. Early diagnosis of lip cancer preceded by a persistent actinic lesion in a kidney transplant patient: A case report. **General Dentistry**, v. 62, n. 4, p. e26–e29, 2014.

POITEVIN, N. A. et al. Actinic cheilitis: proposition and reproducibility of a clinical criterion. **BDJ Open**, v. 3, n. 1, p. 1–4, 2017.

RODRÍGUEZ-BLANCO, I. et al. Actinic cheilitis prevalence and risk factors: A cross-sectional, multicentre study in a population aged 45 years and over in north-west Spain. **Acta Dermato-Venereologica**, v. 98, n. 10, p. 970–974, 2018.

SHANG, W. et al. Cancer risk in patients receiving renal replacement therapy: A meta-analysis of cohort studies. **Molecular and Clinical Oncology**, v. 5, n. 3, p.

315–325, 2016.

VAMVAKASA, S.; BAHNERB, U.; HEIDLANDB, A. Cancer in End-Stage Renal Disease: Potential Factors Involved. **American Journal of Nephrology**, v. 18, p. 89–95, 1998.

VAN LEEUWEN, M. T. et al. Immunosuppression and other risk factors for lip cancer after kidney transplantation. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 18, n. 2, p. 561–569, 2009.

VAN ZUUREN, E. J.; DE VISSCHER, J. G. A. M.; BAVINCK, J. N. B. Carcinoma of the lip in kidney transplant recipients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 38, n. 3, p. 497–499, 1998.

WISGERHOF, H. C. et al. Incidence of cancer in kidney-transplant recipients: A long-term cohort study in a single center. **Cancer Epidemiology**, v. 35, n. 2, p. 105–111, 2011.

WOLFE, R. A. et al. Comparison of Mortality in All Patients on Dialysis, Patients on Dialysis Awaiting Transplantation, and Recipients of a First Cadaveric Transplant. **New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 23, p. 1725–1730, 1999.

2.2 ARTIGO 2

Título

Associação entre anomalias nucleares e queilite actínica em receptores de transplante renal.

Autores

Aloizio Premoli Maciel, Reyna Aguilar Quispe, Daniela Ponce, Cleverson Teixeira Soares, Carlos Augusto Molina, Elen Almeida Romão, Paulo Sérgio da Silva Santos.

Resumo

Introdução: As anomalias nucleares são alterações genéticas celulares que estão associadas a manifestações de lesões orais potencialmente malignas (LOPM) e do carcinoma espinocelular (CEC) da boca. Estes biomarcadores celulares podem ser utilizados para monitorar a carcinogênese do CEC de lábio inferior em receptores de transplante renal (RTR), os quais possuem maiores incidências de LOPM e CEC de lábio inferior. **Objetivo:** Analisar a presença de anomalias nucleares em RTR na região do lábio inferior e associar com a presença de queilite actínica (QA) e demais parâmetros dos RTR. **Métodos:** Estudo clínico observacional transversal, com amostra por conveniência. Foram registradas informações dos RTR como dados demográficos, tempo de diálise e de transplante renal, imunossupressores e histórico de infecções virais oncogênicas. Também foi realizado o diagnóstico e estadiamento clínico da QA em RTR, através da avaliação de um pesquisador experiente e calibrado e avaliação de registro fotográfico do lábio inferior. Foram coletadas células do lábio inferior através de raspado tecidual e acondicionamento em vaios com metanol para posterior processo em citologia em meio aquoso. Para avaliação das anomalias nucleares como micronúcleos, brotamento nuclear e binucleação celular foi utilizado a coloração por reação de Feulgen. Para associação das variáveis foram utilizados os testes Exato de Fischer e Macnemar. **Resultados:** A binucleação celular foi associada a RTR com mais de 7 anos de TxR (p=0,008). Todas as anomalias nucleares foram associadas ao uso de tacrolimus e micofenolato (p<0,001). A binucleação celular e brotamento nuclear foram associadas ao histórico de infeções virais oncogênicas (p<0,001). Apesar da prevalência de MN não ter tido associação com a manifestação da QA, observamos que a presença de binucleação celular e brotamento nuclear foram associadas à manifestação da QA. **Conclusão:** A presença de binucleação nuclear e brotamento nuclear foram associadas à presença QA nos RTR, principalmente, indivíduos do sexo masculino, em uso de Tacrolimus e

Micofenolato, com histórico de infecções de vírus oncogênicos e com mais de 7 anos decorridos do TxR.

Palavras-Chave: Transplante de Rim; Queilite; Neoplasias labiais; Carcinogênese; Núcleo celular

Introdução

As anomalias nucleares são alterações a nível celular que indicam dano cromossomal e do material génico do núcleo das células. Estas alterações podem ocorrer por genotoxicidades, quando é observado a presença de micronúcleos (MN) celulares e brotamento nuclear; ou por citotoxidade, quando a célula se manifesta com binucleação. Estas anomalias ocorrem quando o dano celular consegue alterar o material genético sem causar apoptose ou necrose da célula, o que faz com que a mesma continue apta para mitoses, aumentando não somente o dano genético como também a quantidade de células com anomalias nucleares (BOLOGNESI et al., 2013; SOMMER; BURACZEWSKA; KRUSZEWSKI, 2020).

Existem diversos tipos de fatores etiológicos associados à manifestação destas anomalias nucleares como obesidade, diabetes, condições nutricionais, exposição solar, pesticidas, compostos orgânicos, tabagismo e etilismo(KASHYAP; REDDY, 2012; WAGNER et al., 2021). A maioria destes fatores etiológicos também estão relacionados à carcinogênese celular e à manifestação de lesões orais potencialmente malignas (LOPM) e até mesmo ao carcinoma espinocelular (CEC) de boca (KASHYAP; REDDY, 2012). Por isso, a presença de anomalias nucleares estão associados a diversos tipos de LOPM e ao CEC de boca, sendo utilizado como um biomarcador celular associado às manifestações destas lesões (GUPTA; GUPTA; AGARWAL, 2019; SHRAVANI et al., 2018).

Estas mesmas LOPM e o CEC de boca possuem uma maior incidência em receptores de transplante renal (RTR) devido à imunossupressão medicamentosa utilizada na prevenção da rejeição do transplante renal (TxR)(LEVARDA-HUDOLIN et al., 2016; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998). A carcinogênese após o TxR está relacionada às doenças de base, medicamentos e tempo de diálise adquiridos antes do TxR, onde já é possível constatar a presença de MN em células bucais (VAN LEEUWEN et al., 2009). A carcinogênese bucal pode piorar dependendo do tipo de imunossupressor utilizado, com o aumento do tempo do TxR, e com o aumento da idade dos RTR (VAN LEEUWEN et al., 2009). Por essa razão, o exame

clínico intra e extraoral é indicado para o acompanhamento das LOPM assim como acompanhar a possível manifestação clínica de CEC bucal. Desta maneira poder estabelecer estratégias de prevenção a fim de minimizar a morbimortalidade dos indivíduos com estas lesões.

Portanto, é relevante o estudo das LOPM que evoluem para CEC no lábio inferior, destas se destacando a Queilite Actínica (QA)(NOLAN et al., 2012) sendo a LOPM mais incidente em lábio inferior, a qual também se manifesta nos RTR, e que pode sofrer transformação maligna para CEC (VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998). Os únicos estudos que avaliaram células da mucosa oral de RTR não avaliaram a presença de anomalias nucleares, tampouco avaliaram células do lábio inferior (KELES et al., 2011, 2015), portanto, devido à escassa literatura sobre anomalias nucleares no lábio inferior de RTR, este estudo teve o objetivo de analisar a presença de anomalias nucleares em RTR na região do lábio inferior e sua associação com a presença de QA e demais parâmetros dos RTR.

Material e Métodos

Caracterização do Estudo e Parâmetros Éticos

Este estudo caracteriza-se por ser uma pesquisa clínica, observacional e transversal realizada entre os anos de 2020 e 2021. O estudo foi realizado através da colaboração de três instituições médico-odontológicas, as quais realizam atendimento hospitalar e ambulatorial a RTR. O estudo contou ainda com a parceria de um laboratório de estudos anatomopatológicos referência na região para estudos citopatológicos. O presente estudo foi submetido e aprovado do Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos sob o protocolo CAAE12798019.3.0000.5417 com resgistro REBEC U1111-1272-4314. Os RTR participaram de forma voluntária, sob a assinatura e esclarecimento prévia de um termo de consentimento livre e esclarecido.

Características da Amostra

A amostra foi obtida por conveniência, já que todos os indivíduos RTR com disponibilidade e condições físicas de irem até os seus centros de referência durante a pandemia da COVID-19 foram atendidos. Estes, deslocaram-se para fins exclusivos de atendimento e suporte médico e/ou odontológico nos casos de urgência. Durante a visita presencial, os RTR foram convidados a participar voluntariamente no presente estudo.

Para este estudo foram utilizados os seguintes critérios de inclusão: idade acima de 18 anos, independente do sexo e etnia, com mais de 24 meses de TxR, com tratamento imunossupressor vigente, receptores de transplante de um único órgão, sem associação de síndromes e sob acompanhamento com médico nefrologista em ambiente ambulatorial e/ou hospitalar. Foram excluídos da amostra total os receptores de múltiplos órgãos, com distúrbios neurológicos ou psiquiátricos que impeçam o diálogo e avaliação clínica, com exposição a imunossupressores antes do transplante renal, que estejam em tratamento vigente com quimioterápicos ou com histórico de radioterapia na região de cabeça e pescoço.

Todos os RTR foram avaliados em ambiente ambulatorial ou durante a internação hospitalar.

Características dos Receptores de Transplante Renal.

Foram coletadas informações dos RTR como o sexo, idade, cor da pele, tempo de diagnóstico da doença renal crônica, tempo de diálise antes do TxR, tempo decorrido da realização do TxR, se doador era vivo ou cadáver. Os dados foram coletados através de uma avaliação clínica odontológica e posteriormente confirmadas através do acesso ao prontuário hospitalar eletrônico do RTR.

Também foram coletadas informações sobre o histórico de infeções virais após o TxR como as infecções por Citomegalovírus, Poliomavírus, Epstein-Barr Vírus, Herpes Simples Vírus, além de outros vírus que também infectam os RTR, como a Varicella-Zoster Vírus, Vírus Hepatite B, C e variantes, Adenovírus, Papilomavírus Humano, Rubella Vírus e Vírus da Imunodeficiência Humana. Após a constatação do histórico de infecção viral, foi realizado a confirmação da infeção através do acesso dos prontuários eletrônicos para avaliação da análise dos resultados de Proteína C Reativa (PCR).

Neste estudo foram realizados, uma avaliação clínica e citopatológica que serão descritos a seguir:

Avaliação Clínica da Queilite Actínica

A análise clínica da QA foi realizada por um cirurgião-dentista calibrado (teste kappa intravaliador >0,8) com experiência na área de estomatologia, através da avaliação clínica da mucosa labial, semimucosa labial, comissura labial e tecidos peribucais. Além da avaliação clínica dos lábios, para a confirmação do diagnóstico e

estadiamento clínico da QA, também foi realizado um registo fotográfico de diferentes ângulos do lábio inferior os quais serão descritos a seguir.

Foram realizadas seis tomadas fotográficas do lábio inferior, de forma que a primeira deveria ser com a boca fechada, para avaliação da parte central do lábio e região perilabial. A segunda fotografia foi um registro lateral esquerdo da boca semiaberta, para avaliação da região lateral esquerda do lábio e da semimucosa labial esquerda. A terceira tomada fotográfica foi da região central da boca semiaberta, para avaliação central do lábio e semimucosabial. A quarta foi um registro lateral direito da boca semiaberta, para avaliação da região lateral direita do lábio e da semimucosa labial direita. A quinta foi da região central com a boca totalmente aberta, para avaliação completa do vermelhão de lábio e semimucosa labial. A sexta fotografia foi um registro central com reversão labial, para avaliação do vermelhão de lábio e mucosa labial até o fundo de sulco vestibular.

Todos os registros fotográficos do lábio inferior dos RTR foram realizados com uma máquina fotográfica Canon© de modelo EOS Rebel T5, em modo manual 1/640, com configurações de foco (F) 22, ISSO 100; em uma lente Canon© macro de 100mm 1:2:8; disparado com flash Canon© macro ring lite MR-14EXII.

Para a o diagnóstico e estadiamento da QA, foram levadas em consideração tanto as características clínicas, identificadas clinicamente utilizando-se os critérios da QA de acordo a Poitevin, et.al modificado (POITEVIN et al., 2017). Em relação às seis fotografias registradas do lábio inferior, é importante ressaltar que foram acrescentadas algumas descrições clínicas pertinentes para maior acurácia da identificação de caraterísticas clínicas de QA que não estavam mencionadas nesta classificação (POITEVIN et al., 2017), porém, que a literatura menciona como relevante (NOLAN et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014). No estadiamento II, foi acrescentado avaliação da perda do limite mucocutâneo entre o vermelhão do lábio e a borda da pele perilabial. No estadiamento III, foi acrescentado macroqueilia e/ou edema perilabial inferior e/ou perda da linha muco-cutânea labial. No estadiamento IV, foi acrescentado, dor e aumento da resiliência de regiões labiais durante a palpação.

Coleta, coloração e análise citológica

Coleta

As regiões do lábio inferior de interesse para coleta foram: o limite externo da mucosa labial vestibular, vermelhão labial e toda a semimucosa labial até o limite da linha mucocutânea.

Antes da coleta, os RTR foram recomendados a ficar três horas sem fumar, antes do esfregaço da mucosa oral, assim como não ingerir nenhum tipo de alimentos com corantes, como café, refrigerantes, chocolate e bebidas alcoólicas. Antes do raspado, o paciente realizou bochechos com 5ml de solução de soro fisiológico a 0,9%, por 1 minuto, com o lábio inferior vertido para dentro da boca para iniciar o processo de hidratação labial, terminado o bochecho, o indivíduo desprezava o soro em copo descartável.

Após o bochecho com soro fisiológico, era acondicionado uma gaze embebida em solução fisiológica a 0,9% de forma delicada, sem causar atrição contra as estruturas labiais, depositada na região da mucosa labial, vermelhão dos lábios, semimucosa labial e lábio inferior. A gaze permaneceu por 1 minuto nos lábios antes a raspagem. Após a primeira coleta, a gaze umedecida foi acondicionada novamente no lábio por mais 1 minuto antes da segunda manobra de raspagem, a qual era realizada novamente nos mesmos sítios mencionados.

Durante a coleta foram utilizados kits vaios (pap test) The ThinPrep® e auxílio de espátula coletora (pap test) The ThinPrep® para realização do raspado do lábio inferior. Estas células foram designadas para um processo de citologia esfoliativa em meio aquoso, imediatamente acondicionadas no vaio com solução de 30-6-% metanol utilizado como solução fixadora(TANAKA et al., 2020).

O procedimento de raspagem foi realizado em dois momentos seguidos. No primeiro, o processo de raspado era realizado por meio de 20 movimentos nas regiões de interesse. Após as primeiras 10 raspagens a espátula era invertida a fim de promover aderência das células epiteliais na espátula coletora, então era feito mais 10 movimentos com outra região da espátula na mesma região de interesse. Devido a necessidade de imersão da espátula coletora dento do meio líquido com o agente fixador, a espátula utilizada na primeira raspagem era descartada, por tanto, uma nova espátula era utilizada para a segunda etapa da coleta, onde se repetia todo o processo já descrito desde a hidratação prévia dos lábios, totalizando assim 40 raspagens epiteliais no final do processo. O depósito das células epiteliais esfoliadas dentro do meio aquoso é realizado através da imersão da espátula coletora associada

a múltiplos toques contínuos da espátula do fundo do vaio, nesse processo também era realizada 40 toques da espátula coletada no fundo do vaio.

Para execução deste método foi realizado um estudo piloto com 20% da amostra final, a fim de verificar se a hidratação labial prévia à raspagem facilitava o deslizamento das espátulas coletoras nos lábios. Desta forma foi possível obter a quantidade adequada de células epiteliais, sem causar estímulos dolorosos ou lesões nos lábios dos RTR.

Coloração das lâminas histopatologicas

Após a coleta das células, as amostras coletadas foram armazenadas nos próprios vaios (pap test) The ThinPrep®, fixadas com metanol, até o momento do processamento automatizado HOLOGIC The ThinPrep2000® para fixação das células coletadas nas lâminas de vidro ThinPrep2000® (TANAKA et al., 2020).

Este processo foi realizado por um único técnico de laboratório de citologia. O processo de coloração escolhido foi a reação de Feulgen devido a sua superior evidenciação nuclear quando comparado com outras colorações não fluorescentes (TOLBERT; SHY; ALLEN, 1992), já que, o método Feulgen/Fast green, melhora a identificação do DNA dos núcleos e micronúcleos, seguido do reagente de contrastante (contra-coloração) Fast-Green, que delineia o citoplasma celular. Após a coloração das lâminas foi realizada a montagem com Permount (Fisher) e lamínulas ThinPrep2000® para a análise.

Análise citopatológica

Todas as análises nucleares das células foram realizadas por dois examinadores, calibrados (teste kappa intra-examiandor e extra-examinador >0,08) e de tipo cega em relação à análise interavaliador.

As lâminas foram observadas sob um microscópio de luz em menor aumento (×400) para análise panorâmica e grande aumento (×1000) para contagem de micronúcleos. Foram contadas aproximadamente 1000 mil células com núcleos intactos e limites celulares em cada lâmina.

Os critérios utilizados foram baseados na classificação das anormalidades nucleares de Tolbert et al. 1992. Desta forma, foram analisados os seguintes tipos e alterações nucleares: presença de células com ponte nucleoplásmática, de células binucleadas, de células com brotamento nuclear e células micronucleadas. Em

relação aos MN foram considerados redondos ou ovalados; com textura e coloração semelhante à do núcleo principal e com diâmetro que varia entre 1/3 e 1/16 do núcleo principal (RAMOS et al., 2014; TOLBERT; SHY; ALLEN, 1992).

Análise Estatística

O Software utilizado para a análise estatística foi o Jamovi™versão 2.0 de 2021. Para escolha do teste estatístico e verificar se as variáveis eram paramétricas ou não paramétricas foi utilizado o teste Shapiro Wilk. Para associação da classificação das QA, quantidade de MN e outras variáveis qualitativas foi utilizado o teste Exato de Fisher. A análise entre variáveis nominais dicotômicas como a presença da QA, MN, Brotamento, Binucleação foi utilizado o teste McNemar. Para todas as análises estatísticas indutivas foram considerados níveis de significância de 95% ($p<0,05$).

RESULTADOS

Caraterísticas dos RTR

A amostra inicial do estudo foi de 48 RTR, porém devido a material insuficiente de uma das amostras, o estudo contemplou um número amostral de 47 RTR. A idade dos indivíduos analisados variou entre 18 e 77 com média de 52,9 e desvio padrão (±) de 14,8. Dos indivíduos avaliados, 30(63,82%) eram do sexo masculino e 17(36,17%) do sexo feminino. A cor da pele encontrada foi melanoderma em 31(65,95%) indivíduos, 15 (31,91%) leucodermas e 1(2,12%) xantoderma.

O tempo de realização do diagnóstico da doença renal crônica variou ente 3 e 50 anos, com média de 16,6 ± 9,9 anos, já o tempo de realização de diálise antes do TxR variou entre 4,9 ± 3,5 anos. Em relação aos anos decorridos do TxR e imunossupressão, houve variação entre 2 e 43 anos com média de 9,6 ± 9,4anos.

Os rins transplantados foram em 41(87,23%) casos de doador falecido e em 6(12,76%) de doador vivo. O Tacrolimus foi utilizado em 42(89,36%) RTR como imunossupressão medicamentosa, o Micofenolato em 35(74,46%), Azatioprina e Sirolimus em 10(21,27%) RTR cada um, por fim a Ciclosporina foi utilizada em apenas em 4(8,51%) RTR. Nenhum RTR fez uso de Everolimus e apesar a realização dos respectivos imunossupressores, o histórico de rejeição do TxR ocorreu em 11(23,40%) RTR, os quais encontram-se em terapia para controle da complicação.

Após o TxR, infecções virais ocorreram em 31(65,95%) RTR, destas infecções destacaram-se o Citomegalovírus (CMV) com 26(55,31%) casos de infeção, o

Poliomavírus com 20 (42,55%) e o Epstein-Bar Vírus (EBV) com 16 (34,04%) casos. Houve ainda o histórico de infecção por outros vírus como o Herpes Vírus Simples em 5(10,63%) casos e o Herpes Zoster (Varicela Zoster Vírus) em 3 (6,38%). A distribuição de RTR com QA e alterações nucleares estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição da queilite actínica e alterações nucleares nos receptores de transplante renal

Queilite actínica/Alterações Nucleares	n	%
Presença de queilite actínica	29	61,7
Ausência de queilite actínica	18	38,3
Queilite actínica grau I	10	21,3
Queilite actínica grau II	6	12,8
Queilite actínica grau III	8	17,0
Queilite actínica grau IV	5	10,6
Presença de Micronúcleo	20	42,6
Ausência de micronúcleos	27	57,4
Presença de 1 micronúcleo celular	7	14,9
Presença de 2 micronúcleos celulares	10	21,3
Presença de 3 micronúcleos celulares	2	4,3
Presença de 5 micronúcleos celulares	1	2,1
Células com Brotamento	9	19,1
Células Binucleada	14	29,8
Células com Ponte Nucleoplasmática	1	2,1

Associação de anomalias nucleares e as características demográficas dos RTR

A idade teve associação com presença de brotamento nuclear, principalmente em RTR com idades próximas aos 66 anos (p=0,002). O sexo também foi um fator demográfico que apresentou associação com as alterações nucleares do lábio inferior, já que, RTR do sexo masculino tiveram maior presença de brotamento nuclear (p<0,001) assim como uma maior presença de células binucleadas (p<0,001). A mesma binucleação celular também foi associada a RTR melanodermas (p=0,001). Estes indivíduos melanodermas também possuíam mais de 1 MN dentro de uma única célula (p=0,046).

Associação de anomalias nucleares e parâmetros dos RTR

Sobre os parâmetros dos RTR, observou-se que indivíduos que realizaram diálise por período maior que 10 anos antes do TxR, manifestaram mais células binucleadas no lábio inferior (p=0,038). A binucleação celular também foi associada a indivíduos transplantados com período maior que 7 anos principalmente nos que estavam entre os 10 e 12 anos pós TxR (p=0,008).

Também houve associação do uso de alguns imunossupressores e o histórico de infecções virais com a presença de alterações nucleares nos RTR descritas nas Tabelas 2 e 3 respectivamente.

Tabela 2 – Associação entre o uso de imunossupressores e as alterações nucleares

Imunossupressores	**MN Presente n (%)**	**1 MN n (%)**	**2 MN n (%)**	**3 MN n (%)**	**5 MN n (%)**	**Brotamento Presente n (%)**	**Binucleação Presente n (%)**	**Ponte Nucleoplasmática Presente n (%)**
Tacrolimus Presente	19 (95,2%)	6 (85,7%)	10 (100%)	2 (100%)	1(100%)	9 (100%)	13 (92,9%)	1 (100%)
Tacrolimus Ausente	1 (4,8 %)	1 (14,3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7,1%)	0 (0%)
Tacrolimus p	**<0,001***	0,666	0,666	0,666	0,666	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***
Micofenolato Presente	17 (85%)	6 (85,7%)	9 (90%)	1 (50%)	0 (0%)	6 (66,7%)	11 (78,6%)	1 (100%)
Micofenolato Ausente	3 (15%)	1 (14,3%)	1(10%)	1 (50%)	1 (100%)	3 (33,3%)	3 (21,4%)	0 (0%)
Micofenolato p	**<0,001***	0,466	0,466	0,466	0,466	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***
Azatioprina Presente	4 (20%)	0 (0%)	7 (70%)	1 (50%)	1 (100%)	0 (0%)	1 (7,1%)	0 (0%)
Azatioprina Ausente	16 (80%)	7 (100%)	3 (30%)	1 (50%)	0 (0%)	9 (100%)	13 (92,9%)	1 (100%)
Azatioprina p	**0,033**	0,397	0,397	0,397	0,397	0,819	0,397	**<0,001***
Sirolimus Presente	3 (15%)	1 (14,3%)	1(10%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (33,3%)	4 (28,6%)	0 (0%)
Sirolimus Ausente	17 (85%)	6 (85,7%)	9 (90%)	2 (100%)	1 (100%)	6 (6,67%)	10 (71,4%)	1 (100%)
Sirolimus p	**0,041**	0,37	0,37	0,37	0,37	0,782	0,371	**0,007**
Ciclosporina Presente	2 (10%)	2 (28,6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7,1%)	0 (0%)

Ciclosporina Ausente	18 (90%)	5 (71,4 %)	10 (100 %)	2 (100 %)	1 (100%)	9 (100%)	13 (92,9%)	1 (100%)
Ciclosporina p	**<0,001 ***	0,349	0,349	0,349	0,349	0,166	0,012	0,18

MN: Micronúcleo: Significância admitida foi de 95%; O Teste Exato de Fisher foi utilizado para as associações entre a quantidade de micronúcleos nas células e o uso dos imunossupressores; O Teste McNemar foi utilizado para a associação entre as variáveis dos imunossupressores com a presença de micronúcleo, brotamento, binucleação e ponte nucleoplasmática.

Finalmente foram associadas alterações nucleares com a presença de QA com associação significativa (p<0,005), porém, quando as alterações nucleares foram associadas aos diferentes graus de QA não houve relevância estatística (p=NS)(tabela 4).

Tabela 3- Associação entre o Histórico de Infeções Virais com as Alterações Nucelares

Infecções Virais	**MN Presente n (%)**	**1 MN Celular n (%)**	**2 MN Celular n (%)**	**3 MN Celular n (%)**	**5 MN Celular n (%)**	**Brotamento Nuclear n (%)**	**Binucleação n (%)**	**Ponte Nucleoplasmática n (%)**
CMV positivo	12 (60%)	5 (71,%)	6 (60%)	0 (0%)	1 (100%)	6 (66,6%)	8 (57,1%)	1 (100%)
CMV negativo	8 (40%)	2 (28,6%)	4 (40%)	2 (100%)	0 (0%)	3 (33,3%)	6 (42,9%)	0 (0%)
CMV p	0,201	0,478	0,478	0,478	0,478	**<0,001***	**0,014**	**<0,001***
POM positivo	9 (45%)	2 (28,6%)	7 (70%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (44,4%)	4 (28,6%)	1 (100%)
POM negativo	11 (65%)	5 (71,%)	3 (30%)	2 (100%)	1 (100%)	5 (55,6%)	10 (71,4%)	0 (0%)
POM p	1	0,208	0,208	0,208	0,208	**0,016**	0,239	**<0,001***
EBV positivo	6 (30%)	1(14,3 %)	5 (50%)	2 (100%)	1 (100%)	4 (44,4%)	5 (35,7%)	1 (100%)
EBV negativo	14 (70%)	6 (85,7%)	5 (50%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (55,6%)	9 (64,35)	0 (0%)
EBV p	0,414	0,494	0,494	0,494	0,494	0,09	0,655	**<0,001***
HSV positivo	3 (15%)	2 (28,6%)	1 (10%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
HSV negativo	17 (85%)	5 (71,%)	9 (90%)	0 (0%)	1 (100%)	9 (100%)	14 (100%)	1 (100%)
HSV p	**<0,001***	0,492	0,492	0,492	0,492	0,285	0,039	0,102

VZV positivo	2 (10%)	1(14,3 %)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	1 (7,1%)	0 (0%)
VZV negativo	18 (90%)	6 (85,7%)	10 (100%)	2 (100%)	0 (0%)	9 (100%)	13 (92,9%)	1 (100%)
VZV p	**<0,001***	0,055	0,055	0,055	0,055	0,083	**0,005**	0,317
HIS. IV positivo	14 (70%)	5 (71,%)	8 (80%)	0 (0%)	1 (100%)	7 (77,8%)	10 (71,4%)	1 (100%)
HIS. IV negativo	6 (30%)	2 (28,6%)	2 (20%)	2 (100%)	0 (0%)	2 (22,2%)	4 (28,6%)	0 (0%)
HIS.IV p	**0,022**	0,306	0,306	0,306	0,306	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***
QIV 1	3 (15%)	2 (28,6%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (22,2%)	3 (21,4%)	0 (0%)
QIV 2	4 (20%)	0 (0%)	3 (30%)	0 (0%)	1 (100%)	2 (22,2%)	4 (28,6%)	0 (0%)
QIV 3	7(35%)	3 (42,9%)	4 (40%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7,1%)	1 (100%)
QIV 4	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7,1%)	0 (0%)
QIVD P	0,628	0,567	0,567	0,567	0,567	0,932	0,168	0,426

MN: Micronúcleo; CMV: Citomegalovírus; POM: Poliomavírus; EBV: Epstein-Barr Vírus; HSV: Herpes Vírus Simples; VZV: Varicela Zoster Vírus; HIS.IV: Histórico de Infecção Viral pós Transplante; QIV: Quantidade de Infecções Virais Distintas; Foi admitido uma significância de 95%; O Teste Exato de Fisher foi utilizado para as associações entre a quantidade de micronúcleos nas células e a presença de das infecções virais especificas e inespecíficas. Teste McNemar foi utilizado para a associação entre as variáveis de infeções virais específicas com a presença de micronúcleo, brotamento, binucleação e ponte nucleoplasmática.

Tabela 4 – Associações Entre a Queilite Actínica e as Alterações Nucleares

Alterações Nucleares	Presença de QA	Ausência de QA	p	QA grau I	QA grau II	QA grau III	QA grau IV	p
Presença de MN (n) /%	12 (60%)	8 (40%)	0,072	6 (30.0 %)	2 (10.0 %)	4 (20.0 %)	0 (0%)	0,27
1 MN Celular (n) /%	5 (71.4 %)	2 (28,6%)	0,903	3 (42.9 %)	0 (0%)	2 (28,9%)	0 (0%)	0,554
2 MN Celular (n) /%	5 (71.4 %)	5 (50%)	0,903	3 (42.9 %)	1(100%)	1(100%)	0 (0%)	0,554
3 MN Celular (n) /%	1 (50%)	1 (50%)	0,903	0 (0%)	1(100%)	0 (0%)	0 (0%)	0,554
5 MN Celular (n) /%	1 (100%)	0 (0%)	0,903	0 (0%)	0 (0%)	1(100%)	0 (0%)	0,554
Brotamento Nuclear (n) /%	6 (66,7%)	3 (33,3%)	**<0,001***	2 (22.2 %)	1(11.1 %)	3 (33,3%)	0 (0%)	0.649

Binucleação Nuclear (n) /%	6 (42,9%)	8 (57,1%)	**0,007***	4 (28.6 %)	0 (0%)	2 (14,3%)	0 (0%)	0,142
Ponte Nucleoplasmática (n) /%	0 (100%)	1 (0%)	**<0,001***	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1

QA: Queilite Actínica; MN: Micronúcleo; Foi admito uma significância de 95%; O Teste Exato de Fisher para associação entre a quantidade de micronúcleos e o estadiamento da queilite actínica; O Teste McNemar foi utilizado para a associação da presença de queilite actínica e as variáveis de presença de micronúcleo, brotamento, binucleação e ponte nucleoplasmática.

DISCUSSÃO

Estudos sobre análise de anomalias nucleares de genotoxicidade ou citotoxicidade de células da boca de indivíduos com doença renal crônica ou em RTR ainda são muito escassas na literatura. Principalmente quando se diz respeito a análise de células do lábio inferior (AYKANAT et al., 2016; GANDHI; TUNG, 2017). O presente estudo realizou as análises citológicas no lábio inferior, especificamente na região de mucosa labial, vermelhão do lábio e semimucosa dos lábios inferiores, já que, a literatura indica que essas regiões são alvo de lesões orais potencialmente malignas e de carcinoma espinocelular (CEC) em RTR (D'ARCY et al., 2021; LAPRISE et al., 2019; MARSHALL, 1974; NOLAN et al., 2012; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998). Portanto, o estudo da região de mucosa labial, vermelhão do lábio e semimucosa dos lábios inferiores é importante para contribuir com as análises da carcinogênese e prevenção do CEC de lábio em RTR.

A análise de células bucais da região de mucosas jugais bilaterais foram realizadas em indivíduos com doença renal crônica sob hemodiálise, e a principal anomalia nuclear encontrada foi a binucleação nuclear (BN), um biomarcador de distúrbios proliferativos celulares (GANDHI; TUNG, 2017). Este estudo revela ainda que, quanto maior o tempo de hemodiálise, maior foi a presença de MN e BN (GANDHI; TUNG, 2017). No presente estudo, não se observou associação ou correlação entre a presença de anomalias nucleares e o tempo de diálise.

A análise de células da mucosa jugal, porém em crianças com doença renal crônica na fase pré-diálise, sob hemodiálise e após o TxR, observou maiores quantidades de anomalias nucleares, como o MN em todos os grupos avaliados (AYKANAT et al., 2016). Porém, a manifestação de BN e brotamento celular foram mais frequente em RTR (AYKANAT et al., 2016). Observamos no presente estudo

aumento da quantidade de BN associada ao aumento do tempo de diálise e TxR. Duas outras pesquisas analisaram células bucais de adultos RTR, porém como a região de estudo foi a mucosa jugal através de avaliação citomorfométrica, os artigos evidenciam outros tipos de alterações celulares que não contribuem para a avaliação da carcinogênese em lábio inferior (KELES et al., 2011, 2015).

O uso de imunossupressores e sua relação com MN também foram alvo de estudo in vitro, utilizando as concentrações medicamentosas séricas de RTR, onde foi possível observar, que quanto maior concentração sérica de Tracrolimus e Ciclosporina, maior foi a presença de MN (CILIÃO et al., 2015). No presente estudo houve presença significativa de anomalias nucleares, como o MN, quando o RTR utilizava Tacrolimus e Micofenolato. Observamos ainda que a presença de MN ocorreu mais em RTR que não realizavam terapia imunossupressora com Ciclosporina, provavelmente porque é um imunossupressor cada vez mais está em desuso.

O presente estudo associou a presença anomalias nucleares em células do lábio inferior de RTR com o histórico de infecções por vírus oncogênicos como CMV, Poliomavírus, EBV, Herpes Vírus Simples e Herpes Zoster. Assim, foi observado que o histórico de infeção por um ou mais vírus oncogênicos, foi associado à maior prevalência de MN nos RTR, porém sem associação específica a algum dos vírus mencionados.

Entretanto, alguns estudos que avaliaram a presença de anomalias nucleares de indivíduos não transplantados, com histórico de infecções por vírus oncogênicos, (ILYINSKIKH et al., 1998; URAZOVA et al., 2001), revelaram que quanto maiores concentrações séricas de títulos de IgG para EBV, maior era a prevalência de MN (ILYINSKIKH et al., 1998), além de evidenciar que tanto em casos de infeção aguda ou mesmo após 1 ano de resolução da infecção por EBV, os indivíduos com o histórico desta infecção apresentaram maior prevalência de MN (URAZOVA et al., 2001). Porém, estes estudos realizaram esta avaliação através da análise de linfócitos coletados na corrente sanguínea que está mais relacionada com infecções à distância, e não permite associação direta entre anomalias nucleares e possíveis lesões no lábio inferior em RTR.

A prevalência de lesões orais potencialmente malignas e sua associação com anomalias nucleares vem sendo estudadas a mais de 20 anos (PRASAD; MUKUNDAN; KRISHNASWAMY, 1995), dentre as lesões orais potencialmente

malignas estudadas destacam-se a leucoplasia, o líquen plano e a fibrose da submucosa oral, as quais todas foram associadas a maior prevalência de MN (BLOCHING et al., 2000; GUPTA; GUPTA; AGARWAL, 2019; SÁNCHEZ-SILES et al., 2014; SANGLE et al., 2016). O aumento da prevalência de MN, nos indivíduos com leucoplasia, está associado a indivíduos com exposição a solventes orgânicos e uso de tabaco (BLOCHING et al., 2000; SANGLE et al., 2016). Apenas um artigo associou outras anomalias nucelares como BN e Brotamento nuclear com a presença da leucoplasia oral (SÁNCHEZ-SILES et al., 2014). Todos os estudos citados anteriormente sobre a presença de anomalias nucleares em indivíduos com lesões orais potencialmente malignas não avaliaram a presença de anomalias nucleares na queilite actínica nem avaliação da região de lábio inferior (BLOCHING et al., 2000; GUPTA; GUPTA; AGARWAL, 2019; SÁNCHEZ-SILES et al., 2014; SANGLE et al., 2016) .

O presente estudo revelou que não há associação significativa entre a presença de MN e a QA (p=0,072), o que contraria a os demais estudos que associas MN a lesões orais potencialmente malignas (BLOCHING et al., 2000; GUPTA; GUPTA; AGARWAL, 2019; SANGLE et al., 2016). Este resultado que quase se aproxima de um valor significativo, e pode ser sido influenciado pela pequena amostra deste estudo. Além disso, outro fator que pode ter contribuído para esse resultado é a quantidade de células com MN que podem variar de acordo com a região bucal analisada, sendo mais presente por exemplo, na mucosa jugal, palato duro e língua respectivamente(SUHAS et al., 2004).

Além da presença de MN aumentar significativamente em indivíduos com lesões orais potencialmente malignas, há também aumento mais importante ainda quando há a presença do CEC de boca (SHRAVANI et al., 2018). Associou-se também a presença de MN com estadiamentos mais graves do CEC de boca (SANGLE et al., 2016), por isso o MN pode ser utilizado para prever o risco de desenvolvimento do CEC de boca, principalmente em tabagistas crônicos (ALPIRE et al., 2021) e em indivíduos que praticam o tabagismo simultâneo ao etilismo (BOHRER et al., 2005). Assim como há associação entre o tabagismo e a presença de anomalias nucleares, também há a mesma associação em indivíduos que utilizam enxaguatórios bucais que contém álcool (DÓREA et al., 2012; ZAMORA-PEREZ et al., 2013) e com histórico de exposição solar crônica (NAIR-SHALLIKER et al., 2014). Entretanto, o estudo que associou o aumento de MN com o histórico de exposição solar crônica foi

realizado em células linfocitárias circulantes na corrente sanguínea (NAIR-SHALLIKER et al., 2014), o que impossibilita a associação destes achados com lesões no lábio inferior. Da mesma maneira, o presente estudo não revelou associação entre o histórico de exposição crônica e a presença de MN de células do lábio inferior ($p>0,05$).

A manifestação de MN nos lábios foi estudada na mucosa e semimucosa do lábio superior e que observaram associação positiva (KLARIC et al., 2013) e negativa (REZENDE et al., 2016) entre a presença de MN e o contato do ácido clareador dental nas superfícies epiteliais. Já em um estudo que analisou a presença de MN em diversas regiões da boca, incluindo o vermelhão do lábio inferior, observou que o vermelhão do lábio possuía menos MN do que o assolho bucal e a face lateral da língua (BOHRER et al., 2005). Apesar do lábio inferior manifestar menos MN do que outros sítios bucais (BOHRER et al., 2005) o que pode justificar a associação não significativa entre o MN e a QA no presente estudo, a falta de análises que associem a exposição solar crônica e alterações específicas do no lábio inferior (NAIR-SHALLIKER et al., 2014), junto a escassos estudos que analisam MN em indivíduos com QA, ainda não permite ter resultados conclusivos.

As limitações deste estudo foram o tamanho da amostra, ausência de um grupo controle e perfil de tipo transversal. Por essa razão, sugerimos que futuras pesquisas possam avaliar a presença de anomalias nucleares em RTR com QA com maior número de participantes, e de preferência estudos longitudinais avaliem os RTR antes e depois do transplante renal afim de observar tanto a evolução das QA, quanto a presença de anomalias nucleares antes e depois do TxR.

CONCLUSÃO

A presença de anomalias nucleares foi associada à presença da queilite actínica nos receptores de transplante renal, principalmente as anomalias de binucleação nuclear e brotamento nuclear. Estas anomalias nucleares estão principalmente associadas a indivíduos do sexo masculino, em uso de Tacrolimus e Micofenolato, que possuem o histórico de infecções de vírus oncogênicos, histórico de mais de 10 anos de realização de diálise e com mais de 7 anos decorridos do transplante renal. As anomalias de binucleação e brotamento nuclear são biomarcadores celulares mais significativos para a queilite actíinca em receptores de transplante renal, quando comparados com a presença de micronúcleo.

REFERÊNCIAS

ALPIRE, M. E. S. et al. Are cytogenetic assays in exfoliated cells able to predict the development of oral cancer in chronic smokers? **Human and Experimental Toxicology**, v. 40, n. 10, p. 1803–1804, 2021.

AYKANAT, B. et al. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal epithelial cells of children with chronic kidney disease. **Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju**, v. 67, n. 4, p. 317–325, 2016.

BLOCHING, M. et al. Exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict the relative risk of cancer in the upper aerodigestive tract using the MN-assay. **Oral Oncology**, v. 36, n. 6, p. 550–555, 2000.

BOHRER, P. L. et al. Assessment of micronucleus frequency in normal oral mucosa of patients exposed to carcinogens. **Acta Cytologica**, v. 49, n. 3, p. 265–272, 2005.

BOLOGNESI, C. et al. The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - An update and expanded photogallery. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 753, n. 2, p. 100–113, 2013.

CILIÃO, H. L. et al. Cytotoxic and genotoxic effects of high concentrations of the immunosuppressive drugs cyclosporine and tacrolimus in MRC-5 cells. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 67, n. 2, p. 179–187, 2015.

D'ARCY, M. E. et al. Risk of Rare Cancers among Solid Organ Transplant Recipients. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 113, n. 2, p. 199–207, 2021.

DÓREA, L. N. T. M. et al. Chromosomal damage and apoptosis in exfoliated buccal cells from individuals with oral cancer. **International Journal of Dentistry**, v. 2012, 2012.

GANDHI, G.; TUNG, G. Sensitivity and specificity prediction of the buccal micronucleus cytome assay in end-stage renal disease patients on dialysis: A case-control study. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 822, n. June, p. 1–9, 2017.

GUPTA, J.; GUPTA, K.; AGARWAL, R. Comparison of different stains in exfoliated oral mucosal cell micronucleus of potentially malignant disorders of oral cavity. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 15, n. 3, p. 615, 2019.

ILYINSKIKH, N. N. et al. Frequencies of micronucleated lymphocytes and Epstein-Barr virus contamination in Altai region residents living near the Semipalatinsk atomic

testing ground. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 31, n. 1, p. 11–17, 1998.

KASHYAP, B.; REDDY, P. S. Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: Means to assess the nuclear abnormalities in different diseases. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 8, n. 2, p. 184–191, 2012.

KELES, M. et al. Exfoliative cytology of oral mucosa in kidney transplant patients: A cytomorphometric study. **Transplantation Proceedings**, v. 43, n. 3, p. 871–875, 2011.

KELES, M. et al. Changes in Exfoliative Cell of Oral Mucosa in Kidney Transplant Patients. **Transplantation Proceedings**, v. 47, n. 5, p. 1425–1428, 2015.

KLARIC, E. et al. Genotoxic effect of two bleaching agents on oral mucosa. **Cancer Genomics and Proteomics**, v. 10, n. 5, p. 209–215, 2013.

LAPRISE, C. et al. Risk of lip cancer after solid organ transplantation in the United States. **American Journal of Transplantation**, v. 19, n. 1, p. 227–237, 2019.

LEVARDA-HUDOLIN, K. et al. Oral lesions in kidney transplant recipients. **Acta Clinica Croatica**, v. 55, n. 3, p. 459–463, 2016.

MARSHALL, V. **Premalignant and malignant skin tumours in immunosuppressed patientsTransplantation**, 1974.

NAIR-SHALLIKER, V. et al. The association between personal sun exposure, serum vitamin D and global methylation in human lymphocytes in a population of healthy adults in South Australia. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 765, p. 6–10, 2014.

NOLAN, A. et al. The prevalence of dysplasia and malignant lip lesions in transplant patients. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 41, n. 2, p. 113–118, 2012.

OLIVEIRA, F. A. F. et al. Early diagnosis of lip cancer preceded by a persistent actinic lesion in a kidney transplant patient: A case report. **General Dentistry**, v. 62, n. 4, p. e26–e29, 2014.

POITEVIN, N. A. et al. Actinic cheilitis: proposition and reproducibility of a clinical criterion. **BDJ Open**, v. 3, n. 1, p. 1–4, 2017.

PRASAD, M. P. R.; MUKUNDAN, M. A.; KRISHNASWAMY, K. Micronuclei and carcinogen DNA adducts as intermediate end points in nutrient intervention trial of precancerous lesions in the oral cavity. **European Journal of Cancer. Part B: Oral Oncology**, v. 31, n. 3, p. 155–159, 1995.

RAMOS, M. A. et al. Micronucleus evaluation of exfoliated buccal epithelial cells using

liquid-based cytology preparation. **Acta Cytologica**, v. 58, n. 6, p. 582–588, 2014.

REZENDE, M. et al. Clinical evaluation of genotoxicity of in-office bleaching. **Operative Dentistry**, v. 41, n. 6, p. 578–586, 2016.

SÁNCHEZ-SILES, M. et al. Cytogenetic biomonitoring in oral leukoplakia patients with mild dysplasia. **International Journal of Dermatology**, v. 53, n. 12, p. 1454–1459, 2014.

SANGLE, V. A. et al. Comparative study of frequency of micronuclei in normal, potentially malignant diseases and oral squamous cell carcinoma. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, v. 7, n. 1, p. 33–38, 2016.

SHRAVANI, R. et al. Comparative Study of Frequency of Micronuclei Using Papanicolaou Stain in Potentially Malignant Disorders and Oral Squamous Cell Carcinoma. **Indian Journal of Dental Advancements**, v. 10, n. 1, 2018.

SOMMER, S.; BURACZEWSKA, I.; KRUSZEWSKI, M. Micronucleus assay: The state of art, and future directions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 7–9, 2020.

SUHAS, S. et al. Application of the micronucleus test to exfoliated epithelial cells from the oral cavity of beedi smokers, a high-risk group for oral cancer. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 561, n. 1–2, p. 15–21, 2004.

TANAKA, K. et al. Comparison of ThinPrep Integrated Imager-Assisted Screening versus Manual Screening of ThinPrep Liquid-Based Cytology Specimens. **Acta Cytologica**, v. 64, n. 5, p. 486–491, 2020.

TOLBERT, P. E.; SHY, C. M.; ALLEN, J. W. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 271, n. 1, p. 69–77, 1992.

URAZOVA, O. I. et al. Cytogenetic impairments of peripheral blood lymphocytes during infectious mononucleosis. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 131, n. 4, p. 392–393, 2001.

VAN LEEUWEN, M. T. et al. Immunosuppression and other risk factors for lip cancer after kidney transplantation. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 18, n. 2, p. 561–569, 2009.

VAN ZUUREN, E. J.; DE VISSCHER, J. G. A. M.; BAVINCK, J. N. B. Carcinoma of the lip in kidney transplant recipients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 38, n. 3, p. 497–499, 1998.

WAGNER, K. H. et al. Impact of dietary and lifestyle interventions in elderly or people diagnosed with diabetes, metabolic disorders, cardiovascular disease, cancer and micronutrient deficiency on micronuclei frequency – A systematic review and meta-analysis. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 787, p. 108367, 2021.

ZAMORA-PEREZ, A. L. et al. Increased number of micronuclei and nuclear anomalies in buccal mucosa cells from people exposed to alcohol-containing mouthwash. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 36, n. 2, p. 255–260, 2013.

3. DISCUSSÃO AMPLIADA E FUNDAMENTADA

O presente estudo avaliou a manifestação da QA em RTR, que é uma lesão oral potencialmente maligna que tem evolução clínica para carcinoma espinocelular (DANCYGER et al., 2018; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998). Além disso, também foram associação a QA e caraterísticas dos RTR com a presença de anomalias nucleares, para criar estratégias que possam contribuir à prevenção e diagnóstico precoce do câncer de lábio inferior (CAL).

Tanto a QA quanto o CAL possuem maior incidência nos RTR quando comparados a indivíduos que não receberam TxR (NOLAN et al., 2012). Por isso, a avaliação odontológica se torna importante para prevenção do CAL, já que, além de possuir um diagnóstico precoce antes de sua transformação maligna, há um melhor prognostico quando o CAL e presença da QA ocorrem simultaneamente no mesmo paciente (DE ABREU et al., 2006). Diante desta premissa, este estudo associou o perfil clínico dos RTR que manifestaram QA com as anomalias nucleares.

Neste estudo, observamos que além da Azatioprina, outros imunossupressores como o uso do Tacrolimus e Sirolimus também foram associados à presença da QA. Estas associações podem contribuir na identificação de RTR com maior incidência de lesões orais potencialmente malignas, principalmente se houver manifestação de lesões do tipo epiteliais malignas ou potencialmente malignas na pele (ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998). O uso de imunossupressores foi associada à presença de MN quando havia concentrações medicamentosas séricas mais altas nos de RTR, onde foi possível observar, que quanto maior concentração sérica de Tracrolimus e Ciclosporina, maior foi a presença de MN (CILIÃO et al., 2015). No presente estudo houve presença significativa de anomalias nucleares como o MN em RTR que utilizavam Tacrolimus e Micofenolato. Observamos ainda que a presença de MN ocorreu mais em RTR que não realizavam terapia imunossupressora com Ciclosporina, provavelmente porque é um imunossupressor que cada vez mais está em desuso.

Neste estudo, o maior grau de QA com maior risco de evolução para CAL foi observado em indivíduos com exposição solar crônica e em uso de Micofenolato, um achado interessante, já que, outros estudos epidemiológicos que analisaram os imunossupressores e a QA ou CAL, mencionaram principalmente sua associação com

Azatioprina e a Ciclosporina somente (MARSHALL, 1974; VAN LEEUWEN et al., 2009).

A exposição solar crônica é o principal fator etiológico associado a QA(DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; JADOTTE; SCHWARTZ, 2012), e de acordo com estudos epidemiológicos, tanto a prevalência quanto a gravidade da QA aumentam quando o histórico de tempo de exposição solar crônica é maior que 10(MIRANDA et al., 2012), 15 (DOS SANTOS et al., 2018) e 30 anos(DE OLIVEIRA RIBEIRO; DA SILVA; MARTINS-FILHO, 2014). Esta associação faz com que diversas classes de trabalhadores que se expõem cronicamente ao sol entrem no grupo de risco para o desenvolvimento da QA, como acontece com os trabalhadores de extrativismo de mineração(DOS SANTOS et al., 2018), de praia(DE SOUZA LUCENA et al., 2012) e de trabalhadores na agricultura de cana de açúcar(MIRANDA et al., 2012) e pescadores(DE OLIVEIRA RIBEIRO; DA SILVA; MARTINS-FILHO, 2014). Os estudos que relataram a incidência de QA e CAL nos RTR, e até mesmo os que estudam QA em população sem TxR (DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2018), pertencem a estudos com populações de países equatoriais ou de clima quente tropical com população leucoderma, como por exemplo estudos em populações Australianas e Brasileiras, (DE ABREU et al., 2006; DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2018; MARSHALL, 1974; MIRANDA et al., 2012; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998) os quais mencionaram também que junto ao fator geográfico de maior incidência de raios solares, a cor da pele também é um fator relacionado a maior indecência da QA (DE OLIVEIRA RIBEIRO; DA SILVA; MARTINS-FILHO, 2014; DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2018) e até mesmo do CAL(VAN LEEUWEN et al., 2009).

Apesar das anomalias nucelares também possuírem diversos fatores etiológicos associados à QA, como exposição solar, tabagismo e etilismo, condições nutricionais e pesticidas entre outros (KASHYAP; REDDY, 2012; WAGNER et al., 2021). Neste estudo, não houve associação entre a presença de anomalias nucleares e os fatores de risco estudados. Entanto, houve associação ente a presença de anomalias nucleares e a presença da QA, corroborando os achados da literatura que associam a presença de anomalias nucleares com as e a manifestação de lesões orais potencialmente (KASHYAP; REDDY, 2012),

O presente estudo contou com uma população de 33% de indivíduos leucodermas, com 45,83 % de histórico de exposição solar crônica. Essas caraterísticas podem ter contribuído na manifestação da QA em 60% dos RTR. Observou-se ainda que a QA se manifestou em graus mais leves I e II em indivíduos melanodermas, e de forma muito mais grave nos indivíduos leucodermas, principalmente aqueles com histórico de exposição solar, que manifestaram QA grau IV e que sugere maiores graus de displasia e indicações de evolução para CAL (POITEVIN et al., 2017). Corroborando com esses achados, além dos RTR melanodermas apresentarem associação com manifestação de QA, também se observou sua relação com a presença de MN. Estes achados são peculiares e não estão de acordo com outros estudos que demonstraram que todas as alterações a nível clínico ou celular causadas pelo sol, ocorre mais em indivíduos leucodermas (DE ABREU et al., 2006; DE SANTANA SARMENTO et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2018; MARSHALL, 1974; MIRANDA et al., 2012; VAN ZUUREN; DE VISSCHER; BAVINCK, 1998.

No presente estudo, apesar dos casos mais graves de QA terem se manifestado em RTR com o histórico de exposição solar crônica, o histórico de etilismo, tabagismo e a exposição a agentes químicos voláteis, estiveram associados à manifestação de QA nos RTR. Esta associação de fatores etiológicos pode representar que a carcinogênese no RTR também está envolvida ao efeito cumulativo multifatorial de diversos fatores etiológicos carcinogênicos aumentados pela imunossupressão(LÓPEZ-PINTOR et al., 2011) e intensificados pela uremia crônica antes do TxR(MAISONNEUVE et al., 1999; VAMVAKASA; BAHNERB; HEIDLANDB, 1998).

A literatura também menciona que além dos maiores índices de CAL nos RTR, o câncer de rim, de glândulas endócrinas e os linfomas não-Hodgkin (SHANG et al., 2016) (BIRKELAND et al., 1995) também são mais incidentes nessa população. A manifestação destas neoplasias malignas, assim como a sua carcinogênese, podem estar associados a infecções por Epstein-Barr Vírus e Herpes Vírus Humano-8, principalmente as do tipo Linfoproliferativa e Sarcoma de Kaposi (LE, 2016). No presente estudo, observou-se que a presença de QA estava associada ao histórico de infecção por Epstein-Barr Vírus e pelo Herpes Vírus Simples.

O histórico de infecções por Vírus Herpes Simples em lábios com QA de RTR, pode apresentar maior risco de evolução para CAL (MARTIN; MARSHALL, 1971).

Desta maneira, o histórico de infecções virais desencadeadas por Epstein-Barr Vírus e Herpes Vírus Simples, sugere que estas informações podem servir como biomarcadores para os RTR com maiores taxas de desenvolvimento da QA e CAL, principalmente, devido à presença de Epstein-Barr Vírus que infecta a mucosa oral normal sem a manifestação de lesões em mais de 70% dos RTR (AMMATUNA et al., 1998, 2001).

A presença de outros vírus oncogênicos associados a manifestação de lesões potencialmente malignas em RTR, também é mencionado na literatura (NETO PIMENTEL et al., 2019), como por exemplo a associação da QA e a infeção por Papiloma Vírus Humano, principalmente as variantes p16. Em alguns casos, foi possível observar a transformação maligna de QA infectadas pelas variantes p16 e 18 do Papiloma Vírus Humano(NETO PIMENTEL et al., 2019). No presente estudo, não houve associação entre o histórico de infeção do Poliomavírus e do Papiloma Vírus Humano com presença ou estadiamento da QA.

Observamos ainda que houve a presença anomalias nucleares em células do lábio inferior de RTR quando houve histórico de infecções por vírus oncogênicos como CMV, Poliomavírus, EBV, Herpes Vírus Simples e Herpes Zoster. Assim, foi observado que o histórico de infeção por um ou mais vírus oncogênicos, foi associado à maior prevalência de MN nos RTR, porém sem associação específica a algum dos vírus mencionados.

Entretanto, alguns estudos que avaliaram a presença de anomalias nucleares de indivíduos não transplantados, com histórico de infecções por vírus oncogênicos, (ILYINSKIKH et al., 1998; URAZOVA et al., 2001), revelaram que quanto maiores concentrações séricas de títulos de IgG para EBV, maior era a prevalência de MN (ILYINSKIKH et al., 1998). Assim mesmo, quando RTR que tanto em casos de infeção aguda ou mesmo após 1 ano de resolução da infecção por EBV, apresentaram maior prevalência de MN (URAZOVA et al., 2001). Porém, estes estudos realizaram esta avaliação de anomalias nucleares através da análise de linfócitos coletados na corrente sanguínea que está mais relacionada com infecções à distância, e não permite associação direta entre anomalias nucleares e possíveis lesões no lábio inferior em RTR.

Apesar dos resultados semelhantes em relação aos parâmetros dos RTR com a QA e os MN , o presente estudo revelou que não houve associação significativa entre a presença de MN e a QA. Estes resultados, contrariam os demais estudos que

associam MN às lesões orais potencialmente malignas (BLOCHING et al., 2000; GUPTA; GUPTA; AGARWAL, 2019; SANGLE et al., 2016). Este resultado pode ter sido influenciado pela pequena amostra deste estudo. Além disso, outro fator que pode ter contribuído para esse resultado é a quantidade de células com MN que podem variar de acordo com a região bucal analisada, sendo mais presente por exemplo, na mucosa jugal, palato duro e língua respectivamente(SUHAS et al., 2004).

A manifestação de MN nos lábios foi estudada na mucosa e semimucosa do lábio superior e que apresentou associação positiva (KLARIC et al., 2013) e negativa (REZENDE et al., 2016) entre a presença de MN e o contato do ácido clareador dental nas superfícies epiteliais. Já em um estudo que analisou a presença de MN em diversas regiões da boca, incluindo o vermelhão do lábio inferior, observou que o vermelhão do lábio possuía menos MN do que o assolho bucal e a face lateral da língua (BOHRER et al., 2005).

Segundo a literatura, o lábio inferior pode manifestar menos MN do que outros sítios bucais (BOHRER et al., 2005), o que pode justificar que não se tenha tido associação significativa entre o MN e a QA no presente estudo. Da mesma maneira, a falta de análises que associem a exposição solar crônica e alterações específicas do no lábio inferior (NAIR-SHALLIKER et al., 2014), e a escassa literatura sobre anomalias nucleares como o MN em indivíduos com QA, ainda não permite ter resultados conclusivos.

Sugerimos que futuras pesquisas possam avaliar a presença de anomalias nucleares em RTR com QA com maior número de participantes, de preferência estudos longitudinais que avaliem os RTR antes e depois do transplante renal afim de observar tanto a evolução das QA, quanto a presença de anomalias nucleares antes e depois do TxR. Além disso, estudos futuros deverão avaliar a dose intravenosa dos imunossupressores e sua relação com o Antígeno de Histocompatibilidade Humana - HLA. Essas informações e caraterísticas propostas para futuros estudos foram as principais limitações neste estudo. Também, sugerimos que a análise de outros biomarcadores da carcinogênese labial, além da QA, como as alterações a níveis nucleares, imuno-histoquímicos e proteicas possam ser avaliadas para poder contribuir na prevenção e diagnóstico precoce do CEC de lábio inferior nos RTR.

4. REFERÊNCIAS

AMMATUNA, P. et al. Detection of Epstein-Barr virus (EBV) DNA and antigens in oral mucosa of renal transplant patients without clinical evidence of oral hairy leukoplakia (OHL). **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 27, n. 9, p. 420–427, 1998.

AMMATUNA, P. et al. Presence of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus and human papillomavirus in normal oral mucosa of HIV-infected and renal transplant patients. **Oral Diseases**, v. 7, n. 1, p. 34–40, 2001.

BAŠIĆ-JUKIĆ, N. et al. Head and Neck Malignancies in Croatian Renal Transplant Recipients. **BOSNIAN JOURNAL OF BASIC MEDICAL SCIENCES**, v. 10, n. Supplement 1, p. 37–39, 2010.

BERGER, H. M. et al. Epidermoid Carcinoma of the Lip After Renal Transplantation: Report of Two Cases. **Archives of Internal Medicine**, v. 128, n. 4, p. 609–612, 1971.

BIRKELAND, S. A. et al. Cancer risk after renal transplantation in the nordic countries, 1964–1986. **International Journal of Cancer**, v. 60, n. 2, p. 183–189, 1995.

BLOCHING, M. et al. Exfoliative cytology of normal buccal mucosa to predict the relative risk of cancer in the upper aerodigestive tract using the MN-assay. **Oral Oncology**, v. 36, n. 6, p. 550–555, 2000.

BOHRER, P. L. et al. Assessment of micronucleus frequency in normal oral mucosa of patients exposed to carcinogens. **Acta Cytologica**, v. 49, n. 3, p. 265–272, 2005.

BOLOGNESI, C. et al. The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - An update and expanded photogallery. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 753, n. 2, p. 100–113, 2013.

BRADFORD, C. R. et al. Squamous Carcinoma of the Head and Neck in Organ Transplant Recipients. **The Laryngoscope**, v. 100, n. 2, p. 190–194, 1990.

CILIÃO, H. L. et al. Cytotoxic and genotoxic effects of high concentrations of the immunosuppressive drugs cyclosporine and tacrolimus in MRC-5 cells. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 67, n. 2, p. 179–187, 2015.

DANCYGER, A. et al. Malignant transformation of actinic cheilitis: A systematic review of observational studies. **Journal of investigative and clinical dentistry**, v. 9, n. 4, p. e12343, 2018.

DE ABREU, M. A. M. M. et al. Actinic cheilitis adjacent to squamous carcinoma of the lips as an indicator of prognosis. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 72, n. 6, p. 767–771, 2006.

DE OLIVEIRA RIBEIRO, A.; DA SILVA, L. C. F.; MARTINS-FILHO, P. R. S. Prevalence of and risk factors for actinic cheilitis in Brazilian fishermen and women. **International Journal of Dermatology**, v. 53, n. 11, p. 1370–1376, 2014.

DE SANTANA SARMENTO, D. J. et al. Actinic cheilitis: Clinicopathologic profile and association with degree of dysplasia. **International Journal of Dermatology**, v. 53, n. 4, p. 466–472, 2014.

DE SOUZA LUCENA, E. E. et al. Prevalence and factors associated to actinic cheilitis in beach workers. **Oral Diseases**, v. 18, n. 6, p. 575–579, 2012.

DEMIR, T. et al. Cancer Screening of Renal Transplant Patients Undergoing Long-Term Immunosuppressive Therapy. **Transplantation Proceedings**, v. 47, n. 5, p. 1413–1417, 2015.

DOS SANTOS, R. F. et al. Prevalence of and factors associated with actinic cheilitis in extractive mining workers. **Brazilian Dental Journal**, v. 29, n. 2, p. 214–221, 2018.

GUPTA, J.; GUPTA, K.; AGARWAL, R. Comparison of different stains in exfoliated oral mucosal cell micronucleus of potentially malignant disorders of oral cavity. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 15, n. 3, p. 615, 2019.

HOOVER, R.; FRAUMENI, J. F. Risk of Cancer in Renal-Transplant Recipients. **The Lancet**, v. 302, n. 7820, p. 55–57, 1973.

ILYINSKIKH, N. N. et al. Frequencies of micronucleated lymphocytes and Epstein-Barr virus contamination in Altai region residents living near the Semipalatinsk atomic testing ground. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 31, n. 1, p. 11–17, 1998.

JADOTTE, Y. T.; SCHWARTZ, R. A. Solar cheilosis: An ominous precursor: Part I. Diagnostic insights. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 66, n. 2, p. 173–184, 2012.

KASHYAP, B.; REDDY, P. S. Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: Means to assess the nuclear abnormalities in different diseases. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 8, n. 2, p. 184–191, 2012.

KASISKE, B. L. et al. Cancer after kidney transplantation in the United States. **American Journal of Transplantation**, v. 4, n. 6, p. 905–913, 2004.

KIM, J. H. et al. Post-transplant malignancy: A burdensome complication in renal allograft recipients in Korea. **Clinical Transplantation**, v. 28, n. 4, p. 434–442, 2014.

KLARIC, E. et al. Genotoxic effect of two bleaching agents on oral mucosa. **Cancer Genomics and Proteomics**, v. 10, n. 5, p. 209–215, 2013.

KYLLÖNEN, L.; SALMELA, K.; PUKKALA, E. Cancer incidence in a kidney-transplanted population. **Transplant International**, v. 13, n. SUPPL. 1, 2000.

LE, J. Oncogenic γ Herpesviruses EBV and HHV8 in Kidney Transplantation. **Seminars in Nephrology**, v. 36, n. 5, p. 362–371, 2016.

LEE, S. W.; GISSER, S. D. SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF THE TONGUE IN A NINE YEAR RENAL TRANSPLANT SURVIVOR A Case Report with a Discussion of the Risk of Development of Epithelial Carcinomas in Renal Transplant Survivors. **American Cancer Society**, v. 41, n. 1, p. 1–6, 1978.

LIANG, J. A. et al. The association between malignancy and end-stage renal disease in Taiwan. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, v. 41, n. 6, p. 752–757, 2011.

LÓPEZ-PINTOR, R. M. et al. Lip cancer in renal transplant patients. **Oral Oncology**, v. 47, n. 1, p. 68–71, 2011.

MAISONNEUVE, P. et al. Cancer in patients on dialysis for end-stage renal disease: An international collaborative study. **Lancet**, v. 354, n. 9173, p. 93–99, 1999.

MÄKITIE, A. A. et al. Head and neck cancer in renal transplant patients in Finland. **Acta Oto-Laryngologica**, v. 128, n. 11, p. 1255–1258, 2008.

MARSHALL, V. **Premalignant and malignant skin tumours in immunosuppressed patientsTransplantation**, 1974.

MARTIN, T. H. T. N. D.; MARSHALL, C. Tumours in Immunosuppressed Patients'. v. 43, n. 3, 1971.

MIRANDA, A. M. O. et al. Prevalence of actinic cheilitis in a population of agricultural sugarcane workers. **Acta odontológica latinoamericana : AOL**, v. 25, n. 2, p. 201–206, 2012.

NAIR-SHALLIKER, V. et al. The association between personal sun exposure, serum vitamin D and global methylation in human lymphocytes in a population of healthy adults in South Australia. **Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 765, p. 6–10, 2014.

NETO PIMENTEL, D. R. et al. Detection of human papillomaviruses and human polyomaviruses in immunosuppressed and immunocompetent individuals with actinic cheilitis: a case series. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 33, n. 12, p. e461–e464, 2019.

NOLAN, A. et al. The prevalence of dysplasia and malignant lip lesions in transplant patients. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 41, n. 2, p. 113–118, 2012.

POITEVIN, N. A. et al. Actinic cheilitis: proposition and reproducibility of a clinical criterion. **BDJ Open**, v. 3, n. 1, p. 1–4, 2017.

REZENDE, M. et al. Clinical evaluation of genotoxicity of in-office bleaching. **Operative Dentistry**, v. 41, n. 6, p. 578–586, 2016.

SANGLE, V. A. et al. Comparative study of frequency of micronuclei in normal, potentially malignant diseases and oral squamous cell carcinoma. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, v. 7, n. 1, p. 33–38, 2016.

SHANG, W. et al. Cancer risk in patients receiving renal replacement therapy: A meta-analysis of cohort studies. **Molecular and Clinical Oncology**, v. 5, n. 3, p. 315–325, 2016.

SOMMER, S.; BURACZEWSKA, I.; KRUSZEWSKI, M. Micronucleus assay: The state of art, and future directions. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 4, p. 7–9, 2020.

SUHAS, S. et al. Application of the micronucleus test to exfoliated epithelial cells from the oral cavity of beedi smokers, a high-risk group for oral cancer. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 561, n. 1–2, p. 15–21, 2004.

URAZOVA, O. I. et al. Cytogenetic impairments of peripheral blood lymphocytes during infectious mononucleosis. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 131, n. 4, p. 392–393, 2001.

VAMVAKASA, S.; BAHNERB, U.; HEIDLANDB, A. Cancer in End-Stage Renal Disease: Potential Factors Involved. **American Journal of Nephrology**, v. 18, p. 89–95, 1998.

VAN LEEUWEN, M. T. et al. Immunosuppression and other risk factors for lip cancer after kidney transplantation. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**, v. 18, n. 2, p. 561–569, 2009.

VAN ZUUREN, E. J.; DE VISSCHER, J. G. A. M.; BAVINCK, J. N. B. Carcinoma of the lip in kidney transplant recipients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 38, n. 3, p. 497–499, 1998a.

VAN ZUUREN, E. J.; DE VISSCHER, J. G. A. M.; BAVINCK, J. N. B. Carcinoma of the lip in kidney transplant recipients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 38, n. 3, p. 497–499, 1998b.

WAGNER, K. H. et al. Impact of dietary and lifestyle interventions in elderly or people diagnosed with diabetes, metabolic disorders, cardiovascular disease, cancer and micronutrient deficiency on micronuclei frequency – A systematic review and meta-analysis. **Mutation Research - Reviews in Mutation Research**, v. 787, p. 108367, 2021.

WISGERHOF, H. C. et al. Incidence of cancer in kidney-transplant recipients: A long-term cohort study in a single center. **Cancer Epidemiology**, v. 35, n. 2, p. 105–111, 2011.

WOLFE, R. A. et al. Comparison of Mortality in All Patients on Dialysis, Patients on Dialysis Awaiting Transplantation, and Recipients of a First Cadaveric Transplant. **New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 23, p. 1725–1730, 1999.

5. APÊNDICE

6. ANEXO

Parecer consubstanciado do cep

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA
Título da Pesquisa: Análise de Biomarcadores Bucais Carcinogênicos em Indivíduos com Doença Renal

Crônica Receptores de Transplante Renal. **Pesquisador:** PAULO SÉRGIO DA SILVA SANTOS

Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 12798019.3.0000.5417
Instituição Proponente: Universidade de Sao Paulo **Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.239.320

Apresentação do Projeto:

Este estudo será caracterizado como uma pesquisa translacional do tipo caso-controle clínico e laboratorial. O estudo será realizado na Faculdadede Odontologia de Bauru e Hospital Estadual de Bauru. Os pacientes serão recrutados nas clínicas de Triagem, Estomatologia e no Centro de Pesquisas Clínicas da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo, assim como no Setor de Terapia Renal Substitutiva do Hospital Estadual de Bauru. Os exames clínicos, coleta de dados e de material biológico serão realizados no Centro de Pesquisas Clínicas, e Hospital da Clínicas de Ribeirão Preto da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Haverá 1 grupo controle com50indivíduos receptores de transplante renal e um grupo controle com 50 indivíduos sem doença renal crônica.Cada grupo de estudo será constituído por 50 indivíduos com idade acima de 18 anos, pareados por gênero e idade entre sim, com diagnóstico de doença renal crônica e que aceitem participar voluntariamente da pesquisa. Serão excluídas pessoas com doenças infectocontagiosas (ex: Hepatites, AIDS), com distúrbios neurológicos, psiquiátricos, que estejam em tratamento com quimioterápicos ou que tenham realizado radioterapia em região de cabeça e pescoço.O grupo controle será pareado por gênero e por idade com os demais grupos, constituído de 50 indivíduos sem quaisquer comprometimentos sistêmicos que altere drasticamente as condições da saúde oral, como a diabetes mellitus, doenças autoimunes, doença renal crônica, doenças hepáticas, doenças hematológicas, com diagnóstico de câncer ou em tratamento oncológico, usuários de drogas

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

ilícitas,transplantados de órgãos, em terapia imunossupressora, distúrbios endócrinos e com doenças infectocontagiosas e fumantes.Informações do paciente como o sexo, idade, tempo de diagnóstico da doença base, tempo (em meses) que realizou diálise peritoneal ou\e hemodiálise antes dotransplante renal, tempo em meses que realizou transplante de rim, nome, dose, e tempo de uso dos medicamentos em uso, principalmente osimunossupressores, doenças e comorbidades presentes e exames sorológicos de rotina.Os participantes deste estudo serão submetidos avaliações bucais através anamnese direcionada a sintomatologias de disgeusia, disfagia, ardor bucal, xerostomia e dor na boca ou dente seguindo o padrão de avaliação da escala visual analógica de dor (EVAD) dentária ou bucal (PRICE et al.,1983. Em seguida, os indivíduos receberam uma avaliação da toda a boca na busca de alterações da normalidade. Após o exame odontológico osindivíduos realizarão avaliação periodontal através do periograma (EKE et al., 2012).Serão realizados exame de citologia esfoliativa nos participantes, os quais serão posteriormente corados com Papanicolau, hematoxilina e eosina eReação de Feulgen para posterior análise morfológica, morfométrica, alterações degenerativas, nucleares e quanto a presença de micronúcleos.Será realizado a coletado 10ml de saliva para avaliação proteômica de 10 indivíduos de cada grupo. O software ProteinLynx Global Server (PLGS)versão 3.0 será utilizado para processar e pesquisar os dados LC-MSE contínuos. As proteínas serão identificadas utilizando o algoritmo decontagem de íons do software, sendo realizada pesquisa na base de dados Homo sapiens (revisado apenas, UniProtKB/Swiss-Prot) baixada em abril de 2017 a partir do UniProtKB (http://www.uniprot.org/).Será realizado análise imuno-citoquimica de células provenientes no vermelhão de lábio, mucosa jugal e assoalho bucal com os imunomarcadoreshMLH1,hMSH2 e GSTpi nos indivíduos do grupos controle e grupo de estudo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:Analisar a presença de biomarcadores celulares, salivares e alterações bucais, nos RTR e compará-las com indivíduos saudáveis.Objetivo Secundário:Constatar a presença de sintomas específicos, por meio de anamnese direcionada e graduação qualitativa destes sintomas, nos receptores de transplante renal e compara-los com o grupo controle.Constatar a presença de lesões potencialmente malignas, por meio de avaliação estomatológica e o estadiamento clínico da lesão, nos receptores de transplante renal e compara-los com o grupo controle.Constatar a presença de doença periodontal através avaliação periodontal, por meio de periograma completo, nos receptores de transplante renal ecompara-los com o grupo controle.Identificar a presença de fatores endógenos e exógenos que contribuam com o processo de carcinogênese bucal e labial, por meio de aplicação deum questionário específico, nos receptores de transplante renal e

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

compara-los com o grupo controle.Analisar a presença de biomarcadores celulares do lábio inferior por meio da avaliação de micronúcleos, e imunomarcação das proteínas MLH1,MSH2 e GSTpi, nos receptores de transplante renal e compara-los com o grupo controle.Analisar a presença de biomarcadores salivares, por meio de avaliação proteômica e constatação de proteínas oncogênicas, nos receptores de transplante renal e compara-los com o grupo controle.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos dessa pesquisa são o possível constrangimento no momento do exame, cansaço e desconforto no momento da raspagem das mucosasda boca.Benefícios:Os benefícios desta pesquisa incluem o diagnóstico de alterações dentárias (como lesões de cárie, pulpite, abscessos dento-alveolares agudos ecrônicos), periodontais (como gengivite e periodontite), protéticas, (falta de dentes e necessidade de reabilitação), estomatológicas (lesões compotêncial de malignização, doenças infecciosas bucais, câncer bucal, lesões reacionais, cistos e tumores dos maxilares) ou de outra naturezaodontológica, o qual será imediatamente encaminhado para o tratamento dessas alterações, além da obtenção de informações que possam ajudarno futuro a melhorar a saúde bucal e contribuir na monitorização e controle de câncer de boca de indivíduos com doença renal crônica antes e após o transplante renal.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto de pesquisa já aprovado, encaminhado novamente com alterações.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos obrigatórios foram apresentados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de projeto de pesquisa já analisado e aprovado por este CEP. Em emenda realizada, os pesquisadores pretendem realizar diversas modificações, sendo elas: •Título (página 1)•Pesquisadores (página 1)•Adição o item “hipótese”(páginas 6)•Adição do item objetivos gerais (páginas 6)•Adição do item objetivos específicos (páginas 6)•Caracterização e local da pesquisa” parágrafo único. (páginas 7 e 8)•Grupo de Estudo, primeira frase(página 8)•Grupo de controle, segunda linha(página 8)•Adição do item Avaliação clínica; linhas 8-14 do primeiro parágrafo (página 9)•Coleta de dados linhas 1 e 2 do primeiro parágrafo; linhas 2 e 3 do terceiro parágrafo (página 11)•Coloração: Reação de Feulgen, primeiro parágrafo; linha 6 do terceiro paráfrafo (páginas 11e 12)•Quantificação e classificação de micronúcleos, paragrafo 6 (páginas14).•Material e Coleta, primeiro parágrafo (página 14)•Adição do item citoinclusão, primeiro parágrafo(página 17)•Análise imuno-citoquímica, segundo parágrafo(página 19)Termo de Consentimento Livre e

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

Continuação do Parecer: 4.239.320

Esclarecido•Página 1, parágrafo 1e 9.Carta de Anuência Interna ao Centro Integrado de Pesquisas•Confecção de um novo documento.Carta de Anuência Externa Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto•Confecção de um novo documento.
Todos os documentos pertinentes que fazem referência as alterações foram apresentados de forma correta, e desta forma, sou de parecer favorável a aprovação da emenda.

Considerações Finais a critério do CEP:

A emenda apresentada pelo(a) pesquisador(a) foi considerada APROVADA na reunião ordinária do CEP de 05/08/2020, via Google Meet, devido à pandemia da COVID-19 e por orientações da CONEP, com base nas normas éticas da Resolução CNS 466/12. Ao término da pesquisa o CEP-FOB/USP exige a apresentação de relatório final. Os relatórios parciais deverão estar de acordo com o cronograma e/ou parecer emitido pelo CEP. Alterações na metodologia, título, inclusão ou exclusão de autores, cronograma e quaisquer outras mudanças que sejam significativas deverão ser previamente comunicadas a este CEP sob risco de não aprovação do relatório final. Quando da apresentação deste, deverão ser incluídos todos os TCLEs e/ou termos de doação assinados e rubricados, se pertinentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1548327_E1.pdf	11/07/2020 01:43:21		Aceito
Outros	EMENDA_HCRB.pdf	11/07/2020 01:37:26	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	Emenda_ao_CEP_PDF.pdf	11/07/2020 01:35:17	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	EMENDA_PROJETO.pdf	11/07/2020 01:34:34	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	EMENDA_DOC_CIP.pdf	11/07/2020 01:29:30	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	EMENDA_novo_tcleebiorepositorio.pdf	11/07/2020 01:24:51	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	cartadeencaminhamento26042019.pdf	29/04/2019 13:29:00	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	anuenciahistobio.pdf	27/04/2019 00:36:40	Aloizio Premoli Maciel	Aceito

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

USP - FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU DA USP

Continuação do Parecer: 4.239.320

Declaração de Pesquisadores	declaracaopesquisadores.pdf	27/04/2019 00:26:17	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	questionariotecnicoprojeto.pdf	27/04/2019 00:23:19	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	anatomed.pdf	27/04/2019 00:21:22	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	anuenciatriagem.pdf	27/04/2019 00:14:57	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	anuenciaexternaheb.pdf	27/04/2019 00:12:57	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	anuenciacpc.pdf	27/04/2019 00:11:04	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Outros	anuenciaestomato.pdf	27/04/2019 00:03:45	Aloizio Premoli Maciel	Aceito
Folha de Rosto	26042019folhaderosto.pdf	26/04/2019 23:18:16	Aloizio Premoli Maciel	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BAURU, 26 de Agosto de 2020

Assinado por:

Juliana Fraga Soares Bombonatti (Coordenador(a))

Endereço: DOUTOR OCTAVIO PINHEIRO BRISOLLA 75 QUADRA 9
Bairro: VILA NOVA CIDADE UNIVERSITARIA **CEP:** 17.012-901
UF: SP **Município:** BAURU
Telefone: (14)3235-8356 **Fax:** (14)3235-8356 **E-mail:** cep@fob.usp.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIO E BIOREPOSITÓRIO

Queremos convidá-lo (a) a participar da pesquisa **Análise de Biomarcadores Bucais Carcinogênicos em Indivíduos com Doença Renal Crônica Receptores de Transplante Renal** sob responsabilidade do **Prof. Dr. Paulo Sérgio da Silva Santos e do doutorando Aloizio Premoli Maciel** realizada na Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB/USP em parceria com o Hospital Estadual de Bauru (HEB). Esta pesquisa tem como objetivo analisar a presença de biomarcadores celulares, salivares e alterações bucais, nos receptores de transplante renal e compará-las com indivíduos saudáveis.

Caso o(a) senhor(a) aceite participar da pesquisa, você será devidamente encaminhado ao Centro de Pesquisas Clínicas (CPC) da Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB) onde receberá tratamento e acompanhamento odontológico por uma equipe de cirurgiões-dentistas capacitados em atendimentos a pacientes com doença renal crônica e transplantados de rim, sendo que o tratamento odontológico deve ser realizado para cada paciente com o objetivo de proporcionar saúde bucal e evitar infecções de boca que possam acometer outras regiões e se tornar uma condição grave. Durante o período do tratamento odontológico no CPC você passará pelas avaliações diretas da pesquisa. Mesmo após o término da pesquisa, você continuará a receber atendimento odontológico na FOB ou no HEB de acordo com suas necessidades. Além disso, se o senhor(a) possui diagnóstico de doença renal crônica, em caso de quaisquer alterações de ordem física, fisiológica e psicológica você será encaminhado ao HEB para devido tratamento.

Caso você tenha o diagnóstico de doença renal crônica, você fará parte do grupo de estudo e caso não possua o diagnóstico da doença renal crônica, fará parte do grupo controle, realizando as mesmas avaliações que o grupo que estará participando da pesquisa.

Você será submetido a um exame clínico odontológico, no qual serão avaliadas e registradas (fotograficamente) as condições bucais, gengivais e periodontais (gengiva e osso ao redor dos dentes). Na avaliação odontológica, serão coletados e armazenados 10 ml de sua saliva que servirá de amostra para análise das proteínas presentes na sua própria saliva. A amostra de sua saliva será armazenada no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo. O armazenamento dessas

amostras obedecerá aos requisitos estabelecidos na Resolução CNS Nº 441 de 12 de maio de 2011 do Conselho Nacional de Saúde, para o armazenamento de material biológico humano. A avaliação odontológica completa desta pesquisa contará com um tempo de uma hora de duração.

A amostra de sua saliva e os resultados provenientes dela serão usados apenas para as finalidades descritas no protocolo de pesquisa e no presente termo de consentimento livre e esclarecido. Após a conclusão do estudo, as amostras serão armazenadas até por 10 anos, pois poderão ser usadas em estudos futuros. Após este período as amostras serão desprezadas.

Será realizada também, a coleta das células da sua boca de forma não dolorosa e sem causar danos a sua boca ou dentes, através de uma leve raspagem com uma espátula de metal nas mucosas das bochechas e lábios. Caso o senhor(a) permita que nós utilizemos a sua saliva e/ou suas células coletadas da boca em pesquisas futuras que venham a beneficiar os pacientes com doença renal crônica, por favor assinale abaixo umas das opções:

Concordo com o uso da minha saliva e das minhas células da boca para a realização de pesquisas futuras. ( )

Disponibilizo o uso da minha saliva e das minhas células da boca somente para a presente pesquisa. ( )

A amostra das suas células será armazenada no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Ciências Biológicas, Departamento de Estomatologia e no Centro Integrado de Pesquisas da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo. O armazenamento dessas amostras obedecerá aos requisitos estabelecidos na Resolução CNS Nº 441 de 12 de maio de 2011 do Conselho Nacional de Saúde, para o armazenamento de material biológico humano.

No final da avaliação, caso seja identificado alguma condição bucal anormal ou lesão bucal, será realizado um registro fotográfico exclusivo da região bucal e você receberá o tratamento odontológico adequado pelos pesquisadores. Todas as informações registradas, incluindo a fotografia, são absolutamente confidenciais, guardados pelo sigilo profissional (Art 9º do Código de Ética Odontológica), sendo passiveis de uso em aulas, congressos e em publicações em revistas científicas nacionais e internacionais pelos pesquisadores desta pesquisa.

Caso haja o descobrimento de alguma alteração com o seu material biológico coletado, se o senhor(a) permitir, (células da boca e saliva) entraremos em contato

para que as devidas explicações sejam feitas, assim como a nossa conduta odontológica em relação a estas alterações, conforme a Resolução CNS nº 441 de 2011.

Iremos solicitar da Instituição/Hospital o qual o senhor(a) realiza acompanhamento e/ou tratamento para a doença renal crônica informações como os resultados de exames de sangue, medicamentos utilizados, tempo de diagnóstico da doença renal crônica, tempo e tipo de tratamento realizado e dos dados referentes a terapia da doença renal crônica.

A participação nessa pesquisa é totalmente voluntária e o Sr.(a) poderá recusar-se a participar ou desistir da pesquisa em qualquer momento do exame, sem prejuízos a nenhuma parte envolvida. Não haverá benefício financeiro aos participantes da pesquisa e os custos de locomoção para tratamento renal e odontológico (caso necessário) serão totalmente de responsabilidade do paciente e responsável. Em casos de recrutamentos extraordinários exclusivos para a pesquisa, o participante poderá ser reembolsado pelos gastos com o transporte gastos para tal. Após aceitar a participação nesta pesquisa, você receberá uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Diante de algum dano causado ao paciente oriundo da pesquisa, o paciente terá a garantia de indenização. (Lei 466/12, Item IV3, “a”,“b”, “c”, “d”, “e”, “f”, “g”, “h”).

O participante da pesquisa, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico armazenado em Biobanco ou Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A retirada do consentimento será formalizada por manifestação, por escrito e assinada, pelo participante da pesquisa ou seu representante legal, cabendo-lhe a devolução das amostras existentes, conforme a Resolução CNS nº 441 de 2011.

Os riscos dessa pesquisa são o possível constrangimento no momento do exame, cansaço e desconforto no momento da raspagem das mucosas da boca, os quais você poderá se reportar e imediatamente pausaremos o procedimento e continuaremos no momento em que o você se sentir à vontade para continuar. Os benefícios desta pesquisa incluem o diagnóstico de alterações bucais e o tratamento dessas alterações, além de informações que possam ajudar no futuro a melhorar a saúde bucal e contribuir na monitorização e controle de câncer de boca de indivíduos com doença renal crônica antes e após o transplante renal.

Em caso de dúvidas sobre sua participação e os benefícios que esta pesquisa implicará, o (a) senhor (a) poderá entrar em contato com os pesquisador responsáveis no endereço: Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brizolla 9-75 – Bauru SP, pelo telefone (14) 3226-6113 ou e-mail: paulosss@usp.br. Para denúncias e reclamações entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa FOB-USP, Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brizolla 9-75 – Bauru SP ou pelo telefone (14) 3235-8356, e-mail: cep@fob.usp.br, quando pertinente.

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____ __, portador da cédula de identidade _____, após leitura minuciosa das informações constantes neste TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, DECLARA e FIRMA seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO concordando em participar da pesquisa proposta. Fica claro que o participante da pesquisa, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica)

Por fim, como pesquisador(a) responsável pela pesquisa, DECLARO o cumprimento do disposto na Resolução CNS nº 466 de 2012, contidos nos itens IV.3, e IV.4, este último se pertinente, item IV.5.a e na íntegra com a resolução CNS nº 466 de dezembro de 2012.

Por estarmos de acordo com o presente termo o firmamos em duas vias igualmente válidas (uma via para o participante da pesquisa e outra para o pesquisador) que serão rubricadas em todas as suas páginas e assinadas ao seu término, conforme o disposto pela Resolução CNS nº 466 de 2012, itens IV.3.f e IV.5.d.

Bauru, SP, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Participante da Pesquisa Nome/Assinatura do Pesquisador(a) Responsável

O **Comitê de Ética em Pesquisa – CEP**, organizado e criado pela **FOB-USP**, em 29/06/98 (**Portaria GD/0698/FOB**), previsto no item VII da Resolução CNS nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (publicada no DOU de 13/06/2013), é um Colegiado interdisciplinar e independente, de relevância pública, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado para defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Qualquer denúncia e/ou reclamação sobre sua participação na pesquisa poderá ser reportada a este CEP:

Horário e local de funcionamento:

Comitê de Ética em Pesquisa

Faculdade de Odontologia de Bauru-USP - Prédio da Pós-Graduação (bloco E - pavimento superior), de segunda à sexta-feira, no horário das **14hs às 17 horas**, em dias úteis.

Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75

Vila Universitária – Bauru – SP – CEP 17012-901

Telefone/FAX(14)3235-8356

e-mail: cep@fob.usp.br