

**ELISA RAQUEL MARTINS DA COSTA MARQUES**

**Avaliação imuno-histoquímica das células dendríticas no  
lúpus eritematoso oral**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientador: Prof. Dr. Marcello Menta Simonsen  
Nico

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Hsieh

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 13 de outubro de 2011. A  
versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo  
2023**

**ELISA RAQUEL MARTINS DA COSTA MARQUES**

**Avaliação imuno-histoquímica das células dendríticas no  
lúpus eritematoso oral**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para obtenção do  
título de Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientador: Prof. Dr. Marcello Menta Simonsen  
Nico

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Hsieh

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 13 de outubro de 2011. A  
versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo  
2023**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Marques, Elisa Raquel Martins da Costa  
Avaliação imuno-histoquímica das células  
dendríticas no lúpus eritematoso oral / Elisa Raquel  
Martins da Costa Marques. -- São Paulo, 2023.  
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Dermatologia.  
Orientador: Marcello Menta Simonsen Nico.  
Coorientador: Ricardo Hsieh .

Descritores: 1.Lúpus eritematoso 2.Manifestações  
orais 3.Mucosa bucal 4.Células dendríticas 5.Células  
de Langerhans 6.Antígenos CD123

USP/FM/DBD-026/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

## **DEDICATÓRIA**

Ao meu marido, Telmo, pela sua enorme compreensão, amor e dedicação a mim, pelo incentivo e pelo apoio incondicional a todos os meus sonhos e pela satisfação pelas conquistas minhas mais do que pelas próprias.

Aos meus filhos, Gustavo e Giulia, pelo carinho, incentivo, dedicação, apoio e compreensão.

À minha mãe, Lourdes, por sua dedicação, estímulo, presença e amor incondicional, em todos os momentos da minha vida e por ter me incentivado sempre a busca pelo conhecimento.

Ao meu pai, Jarbas, pelos bons momentos que convivemos e pelo exemplo de caráter.

Ao meu irmão, Jarbas Eduardo, antes de tudo um amigo, grande incentivador do meu crescimento profissional.

Aos meus cunhados, Thiers e Maria Alice, que tornam a minha família ainda melhor.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcello Menta S. Nico, a quem admiro pela sabedoria e dedicação, agradeço pela condução segura, apoio e confiança e pelo privilégio de trabalhar mais uma vez ao seu lado.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Sílvia Vanessa Lourenço, profissional competente, dedicada e brilhante, a quem admiro, e devo o apoio e os ensinamentos que tornaram possível a realização deste estudo. Um exemplo dentro da área da pesquisa por estar sempre à frente de seu tempo.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Miriam Nacami Sotto, pelo incentivo e ajuda para que este estudo pudesse ser realizado.

À Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Aparecida Constantino Vilela, profissional brilhante e generosa, a quem devo tudo que sei sobre as colagenoses e com quem tive o privilégio de conviver no Ambulatório de Colagenoses do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Ao Prof. Dr. Ricardo Hsieh, profissional competente e, antes de tudo, um amigo, por seu apoio incondicional, seu carinho e orientações que tornaram possível a realização deste projeto.

Ao Prof. Dr. Nilton Di Chiachio, meu eterno mestre, profissional dedicado, competente e grande incentivador do meu progresso profissional e acadêmico.

À Dra. Ada Regina Trindade Almeida, grande amiga, profissional brilhante e competente, minha eterna fonte inspiradora, pelo carinho, ensinamentos e apoio sempre, mesmo nos momentos mais difíceis.

À Fernanda, Milena, Giovanna e Tatiana pela ajuda inestimável, apoio e ensinamento, sem os quais não seria possível a realização deste trabalho.

À Ana Maria Gonçalves Silva, pela amizade, por suas orientações preciosas e apoio à realização das reações.

À Raquel, pela amizade e apoio para a realização deste estudo.

Aos funcionários do Departamento de Dermatologia e dos Laboratórios de Imunofluorescência e de Histopatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela colaboração na realização deste trabalho.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação.  
*Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias.*

Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentações; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
Lista de gráficos	
Resumo	
Abstract	
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 OBJETIVOS .....	9
3 REVISÃO DA LITERATURA .....	11
3.1 Manifestações Cutâneas do Lúpus Eritematoso .....	12
3.1.1 Lúpus eritematoso cutâneo agudo (LECA) .....	13
3.1.2 Lúpus eritematoso cutâneo subagudo (LECSA) .....	14
3.1.3 Lúpus eritematoso cutâneo crônico (LECC).....	17
3.2 Envolvimento Mucoso no Lúpus Eritematoso.....	20
3.3 Lúpus Eritematoso Oral.....	21
3.3.1 Lúpus eritematoso oral crônico .....	23
3.3.2 Lúpus eritematoso oral subagudo .....	26
3.3.3 Lúpus eritematoso oral agudo.....	26
3.4 Histopatologia das Lesões Orais .....	27
3.5 Imunofluorescência Direta das Lesões Orais .....	29
3.6 Etiopatogenia do Lúpus Eritematoso.....	31
3.6.1 Fatores genéticos.....	32
3.6.2 Envolvimento hormonal.....	34
3.6.3 Autoanticorpos .....	35
3.6.4 Radiação ultravioleta.....	35
3.6.5 Células B.....	39
3.6.6 Células T .....	40
3.6.7 Neutrófilos .....	41
3.6.8 Células dendríticas.....	42
3.7 Células Dendríticas .....	42
3.7.1 Histórico .....	42
3.7.2 Origem, função e nomenclatura .....	44
3.7.3 Células dendríticas convencionais .....	47
3.7.4 Células dendríticas plasmocitoides .....	49
3.7.5 Células dendríticas foliculares.....	50
3.8 Células Dendríticas da Pele .....	54
3.8.1 Células Dendríticas Epidérmicas .....	54
3.8.2 Células Dendríticas Dérmicas .....	54
3.9 Células dendríticas das mucosas .....	56
3.10 Células de Langerhans.....	57
3.11 Células dendríticas e a radiação ultravioleta (RUV) .....	61



3.12 Células dendríticas em doenças infecciosas, imunomediadas e outras .....	63
3.13 Células dendríticas e lúpus eritematoso.....	66
3.13.1 Estudos de células dendríticas plasmocitoides no LE.....	71
3.13.2 Estudos com células dendríticas foliculares no LE .....	75
3.13.3 Estudos com células dendríticas convencionais e células de Langerhans no LE .....	76
4 MÉTODOS .....	78
4.1 Aprovação do Comitê de Ética .....	79
4.2 Casuística.....	79
4.2.1 Critérios de exclusão .....	80
4.3 Classificação das Lesões Orais.....	81
4.4 Avaliação Histopatológica .....	81
4.5 Imunofluorescência Direta.....	84
4.5.1 Técnica de imunofluorescência direta .....	84
4.6 Avaliação dos Espécimes por Imuno-histoquímica .....	85
4.6.1 Técnica de imuno-histoquímica.....	85
4.7 Análise Morfométrica.....	87
4.7.1 Captura e análise das imagens.....	88
4.8 Análise Estatística .....	93
5 RESULTADOS.....	95
5.1 Análises Descritivas .....	96
5.1.1 Análise descritiva do Grupo LE Oral (n = 60).....	96
5.1.1.1 Análise dos dados clínicos e epidemiológicos .....	96
5.1.1.2 Análise dos dados de imunofluorescência direta .....	102
5.1.2 Análise descritiva comparativa dos dados entre as lesões de LE de mucosa intraoral (n = 40) e grupo controle/mucosas híginas (n = 10) .....	104
5.1.2.1 Análise dos aspectos histológicos .....	104
5.1.2.2 Análise dos aspectos imuno-histoquímicos .....	108
5.1.2.2.1 Análise semiquantitativa da imunoexpressão do marcador CD1a.....	108
5.1.2.2.2 Análise semiquantitativa da imunoexpressão do marcador Langerina.....	109
5.1.2.2.3 Análise semiquantitativa da imunoexpressão do marcador CD123.....	110
5.1.2.2.4 Análise semi-quantidade da imunoexpressão do marcador CD21.....	110
5.1.3 Análises comparativas dos dados entre os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar) (n = 40) e semimucosa (área com exposição solar) (n = 20).....	111
5.1.3.1 Análise dos dados de imuno-histoquímica.....	111
5.1.3.1.1 Análise semiquantitativa da imunoexpressão do marcador CD1a.....	112
5.1.3.1.2 Análise semiquantitativa da imunoexpressão do marcador Langerina.....	112

5.1.3.1.3	Análise semiquantitativa da imunexpressão do anticorpo CD123.....	113
5.1.3.1.4	Análise semiquantitativa da imunexpressão do anticorpo CD21.....	113
5.2	Análises Estatísticas.....	115
5.2.1	Análise estatística comparativa entre o subgrupo de mucosa intraoral (n = 40) e o grupo controle (n = 10).....	115
5.2.1.1	Análise estatística dos dados histológicos.....	115
5.2.2	Análises morfométricas e estatísticas comparando os subgrupos mucosa intraoral (n = 40) e controle (n = 10), e os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar) e semimucosa (com exposição solar) (n = 20).....	118
5.2.2.1	Análise estatística dos dados de Imuno-histoquímica.....	118
5.2.2.1.1	Análise morfométrica e estatística da imunexpressão de CD1a.....	120
5.2.2.1.2	Análise morfométrica da imunomarcção de Langerina.....	122
5.2.2.1.3	Análise morfométrica da imunomarcção de CD123.....	124
5.2.2.1.4	Análise morfométrica da imunomarcção de CD21.....	126
6	DISCUSSÃO.....	128
7	CONCLUSÕES.....	157
8	ANEXOS.....	159
9	REFERÊNCIAS.....	175

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	- Anticorpos
ACR	- <i>American College of Rheumatology</i> , Colégio Americano de Reumatologia
Ag	- Antígeno
APC	- Células apresentadoras de antígenos
APRIL	- <i>A Proliferation Inducing Ligand</i> , ligante de indução de proliferação
AR	- Artrite reumatoide
BAFF ou BLyS	- <i>B cell Activating Fator</i> ou <i>B cell lymphocyte stimulator</i> , fator ativador de células B ou fator estimulador de linfócitos B
BDCA-2 ou CD303	- <i>Blood Derived Dendritic Cell Antigen-2</i>
C	- Complemento
CAMP	- Peptídeo antimicrobiano Catelicidina
CCR2	- Receptor de quimiocina tipo 2
CCR7	- Receptor de quimiocina tipo 7
CD	- <i>Cluster of differentiation</i> , agrupamento de diferenciação
cDC	- <i>Conventional dendritic cell</i> , células dendríticas convencionais ou clássicas
CEC	- Carcinoma espinocelular
CAPPesp	- Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CK	- Citoqueratinas
CL	- Células de Langerhans
CTLA	- <i>Cytotoxic T-lymphocyte associated protein</i>
CXCL	- Ligante de quimiocinas
CXCR	- Receptor de quimiocinas
DC	- Células dendríticas
DDC	- Células dendríticas dérmicas
DECH	- Doença do enxerto contra o hospedeiro
DII	- Doença inflamatória intestinal
DNA	- Ácido desoxirribonucleico

ds-DNA	- Ácido desoxirribonucleico dupla hélice ou fita dupla
EM	- Esclerose múltipla
EPL	- Erupção polimorfa à luz
EULAR	- <i>European Alliance of Associations for Rheumatology</i>
F	- Feminino
FAN	- Fator antinúcleo
Fas e FasL	- Proteína Fas e ligante de Fas
fc	- Fragmento constante, fração constante
fDC	- <i>Follicular dendritic cell</i> , células dendríticas foliculares
GB	- Grânulo de Birbeck
HC-FMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade De São Paulo
HE	- Hematoxilina eosina
HLA	- <i>Human leukocyte antigens</i> , antígenos de leucócitos humanos
HMGB1	- <i>High Mobility group box protein 1</i> , proteína do grupo de alta mobilidade box 1
ICAM 1	- Molécula de adesão intracelular
IDO	- Indoleamine 2-3 -dioxigenase
Ig	- Imunoglobulina
IL	- Interleucina
IFN	- Interferon
IMFD	- Imunofluorescência Direta
IRF	- interferon regulatory factor, fator regulador de interferon
JELP	- Junção epitélio lâmina própria
Anti-La/ SS-B	- Anticorpo anti La
LE	- Lúpus Eritematoso
LEC	- Lúpus Eritematoso Cutâneo
LECA	- LECA Lúpus Eritematoso Cutâneo Agudo
LECC	- Lúpus Eritematoso Cutâneo Crônico
LECSA	- Lúpus Eritematoso Cutâneo Sub Agudo
LED	- Lúpus Eritematoso Discoide
LES	- Lúpus Eritematoso Sistêmico
LP	- Líquen Plano
LPO	- Líquen Plano Oral

LPP	- Líquen Plano Pilar
mDC	- Células dendríticas mieloides
MHC	- Complexos de Histocompatibilidade Maiores
MI	- Mucosa intraoral
MMP	- Matrizes das metaloproteinases
NETs	- <i>Neutrophil extracellular traps</i> , rede extracelular de neutrófilos
NOD	- do inglês <i>Nucleotide -binding and oligomerization domain</i>
NK	- <i>Natural killer</i>
PAS	- Ácido periódico de Schiff
PCR	- Técnica da reação em cadeia da polimerase transcriptase reversa
pDC	- <i>Plasmacytoid dendritic cell</i> , células dendríticas plasmocitoides
p53	- Osfoproteína nuclear p53
PNA <sub>d</sub>	- <i>Peripheral lymph node addressin</i>
RIG	- do inglês <i>retinoic acid-inducible gene 1</i>
RMN	- Receptor de manose de macrófagos
Anti Ro/SSA	- Anticorpo anti Ro
ROS	- Espécie reativa de oxigênio
Ro52	- Proteína Ro com 52 kilodalton
RUV	- Radiação ultravioleta
RUVA	- Radiação ultravioleta A
RUVB	- Radiação ultravioleta B
SLICC	- <i>Systemic lupus International Collaborating Clinics</i>
Sm	- Anticorpo anti Sm
SM	- Semimucosa
TPS	- Tampão trizma base
TCF	- Fator de transcrição 4 da proteína E
TGF	- Fator de crescimento Transformador
Th	- linfócitos T helpers, T auxiliar
TLR	- Toll-like receptors, receptor Toll-like
TNF	- Fator de Necrose Tumoral
TRAIL	- Ligante de indução da apoptose relacionada ao TNF
TrB	- Transitional B cell

- T reg - Linfócitos T reguladores
- TYK2 - Tyrosine kinase 2 (gene)
- VGII - *Vestigial-like family*
- ZMB - Zona da membrana basal

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (A) Paul Langerhans com sua esposa; (B) imagem da célula retratada em 1868: a célula de Langerhans; (C) Imagem digital imunofluorescente moderna, que, apesar de toda tecnologia, acrescenta pouco à sua representação original .....	43
Figura 2 - Imagem digitalizada inicial do epitélio da amostra de paciente com LE oral com expressão positiva de CD1a.....	89
Figura 3 - Imagem com maior aproximação (20X) da seleção da área do epitélio da amostra de paciente com LE oral com expressão positiva de CD1a .....	90
Figura 4 - Imagem digitalizada do epitélio da amostra de paciente com LE oral com expressão positiva de CD1a e a padronização da cor de marcação.....	90
Figura 5 - Imunomarcção da proteína CD1a visualizada através da cor vermelha no epitélio da amostra de paciente com LE oral .....	91
Figura 6 - Seleção e contagem da imunomarcção positiva da proteína CD1a (contagem em verde) no epitélio da amostra de paciente com LE oral .....	91
Figura 7 - Soma da imunomarcção positiva da proteína CD1a (em verde) no epitélio da amostra de paciente com LE oral .....	92
Figura 8 - Soma da área do campo do epitélio da amostra de paciente com LE oral com expressão positiva de CD1a.....	92
Figura 9 - Exemplos clínicos de lesões de lúpus eritematoso com correspondência das lesões cutâneas e mucosas orais.....	98
Figura 10 - Exemplos clínicos de lesões orais de lúpus eritematoso .....	99
Figura 11 - Aspectos histopatológicos e de imunofluorescência direta de lesões orais de LE.....	106
Figura 12 - Expressão das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 nas lesões orais do LE .....	119
Figura 13 - Expressão das proteínas Langerina, CD123 e CD21 nas lesões orais do LE .....	120

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequência dos dados clínicos e epidemiológicos do LE oral (n = 60) .....	100
Tabela 2 - Frequência das lesões orais no início da doença e das características clínicas das formas orais de LE .....	101
Tabela 3 - Frequência das úlceras orais (n = 4) de acordo com a localização da lesão, tempo de duração da doença, tipo e forma clínica do LE .....	101
Tabela 4 - Dados das frequências das imunofluorescências diretas do LE oral (n = 60) .....	103
Tabela 5 - Análise da frequência dos dados das imunofluorescências diretas positivas do grupo de LE oral (n = 41) .....	103
Tabela 6 - Dados histopatológicos do epitélio, lâmina própria e membrana basal entre o subgrupo mucosa intraoral (n = 40) e grupo controle (n = 10) .....	107
Tabela 7 - Comparação dos dados histológicos do infiltrado inflamatório entre o subgrupo mucosa intraoral e controle .....	108
Tabela 8 - Análise da frequência da imunexpressão das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 entre o subgrupo mucosa intraoral (n = 40) e o controle (n = 10) .....	111
Tabela 9 - Análise da frequência da imunexpressão das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa .....	114
Tabela 10 - Análise estatística dos dados histológicos comparativos entre as lesões de LE de mucosa intraoral (n = 40) e controle (n = 10) (somente epitélio e membrana basal) .....	116
Tabela 11 - Análise estatística dos dados histológicos comparativos entre as lesões de LE de mucosa intraoral (n = 40) e controle (n = 10) (somente lâmina própria) .....	117



## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Representação dos resultados dos dados morfométricos e estatísticos da imunomarcagem da proteína CD1a, comparativos entre o subgrupo de LE mucosa intraoral e controle e entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa .....121
- Gráfico 2 - Representação dos resultados dos dados morfométricos da imunomarcagem da proteína Langerina, comparativos entre o subgrupo de LE mucosa intraoral e controle e entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa .....123
- Gráfico 3 - Representação dos resultados dos dados morfométricos da imunoexpressão da proteína CD123, comparando o subgrupo de LE mucosa intraoral e controle e os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa.....125
- Gráfico 4 - Representação dos dados morfométricos da imunoexpressão da proteína CD21, comparando o subgrupo de LE mucosa intraoral e controle e os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa.....127

## RESUMO

Marques ERM. *Avaliação imuno-histoquímica das células dendríticas no lúpus eritematoso oral* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

**Introdução:** lúpus eritematoso (LE) é uma doença inflamatória crônica, autoimune. As células dendríticas têm uma participação importante na fisiopatologia do LE. Estão envolvidas tanto na produção de citocinas que medeiam a cascata dos fenômenos inflamatórios quanto no processamento inapropriado ou apresentação anormal de antígenos, causando uma estimulação excessiva de células B autorreativas a antígenos nucleares. O papel das células dendríticas no LE sistêmico e nas lesões cutâneas do LE é observado em diversos trabalhos. Porém, ainda pouco se sabe sobre a participação dos diferentes tipos de células dendríticas na resposta imune do LE oral e como se comportam em lesões orais expostas e não expostas à radiação solar. **Métodos:** a expressão das células dendríticas representadas pelas proteínas CD1a, CD21, CD123 e Langerina de 60 biópsias de LE oral incluindo espécimes de mucosa intraoral (área não exposta ao sol) e semimucosa labial/ vermelhão (área exposta) foram investigadas, comparadas e analisadas topograficamente no epitélio e na lâmina própria (área superficial ou junção epitélio lâmina própria (JELP) e região perivascular profunda), por meio da técnica de imuno-histoquímica. **Resultados:** dos 60 espécimes de LE oral, 40 foram obtidos da mucosa intraoral e 20 da semimucosa. A comparação entre as amostras de LE oral da mucosa intraoral e o controle (10 espécimes) demonstrou expressão de CD1a diminuída no epitélio ( $p = 0,003$ ) e aumentada na região perivascular profunda ( $p = 0,002$ ); Langerina diminuída no epitélio, porém sem diferença estatística ( $p = 0,944$ ) e aumentada na lâmina própria ( $p = 0,012$ ), na JELP ( $p = 0,006$ ); CD21 presente em apenas 2 amostras de LE oral (epitélio  $p =$

0,012; lâmina própria  $p < 0,001$  na área perivascular profunda  $p = 0,018$ ); CD123 aumentado em todas as topografias, porém com muito maior expressão na lâmina própria (epitélio  $p = 0,005$ ; lâmina própria  $p < 0,001$ ; JELP  $p < 0,001$ ; perivascular profunda  $p < 0,001$ ). Na comparação entre semimucosa e mucosa intraoral, obteve-se maior expressão de CD123 na área de exposição solar (semimucosa) no epitélio ( $p = 0,024$ ); lâmina própria ( $p = 0,047$ ) na JELP ( $p = 0,001$ ); Langerina teve diferença somente na JELP na mucosa intraoral ( $p = 0,043$ ). Não houve diferenças na imunoexpressão de CD1a e CD21 entre as duas áreas. **Conclusões:** os achados indicam que as células dendríticas caracterizadas pela expressão positiva de CD1a, Langerina e CD123 estão presentes nas lesões orais de LE e, ainda, que a imunoexpressão dessas proteínas foram coincidentes com as regiões do infiltrado inflamatório, sugerindo que elas exercem um importante papel na resposta imune da doença. Há diferenças na expressão de células dendríticas entre a semimucosa e a mucosa intraoral, com aumento da expressão das células dendríticas plasmocitoides, marcadas por CD123 nas áreas expostas ao sol. Futuros estudos com um número maior de amostras serão necessários para corroborar e confirmar esses achados.

Descritores: Lúpus eritematoso; Manifestações orais; Mucosa bucal; Células dendríticas; Células de Langerhans; Antígenos CD123.

## ABSTRACT

Marques ERM. *Immunohistochemical evaluation of dendritic cells in oral lupus erythematosus* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2023.

Lupus erythematosus (LE) is a chronic, autoimmune inflammatory disease. Dendritic cells play an important role in the pathophysiology of LE. They are involved both in the production of cytokines that mediate the cascade inflammatory phenomena of LE and in inappropriate processing or abnormal presentation of antigens, causing excessive stimulation of autoreactive B cells to nuclear antigens. The role of dendritic cells in systemic lupus erythematosus and cutaneous lesions of LE is observed in several studies. However, little is still known about the participation of different dendritic cell types in the immune response of oral LE and how they behave in oral lesions exposed and unexposed to solar radiation. **Material and Methods:** the expression of dendritic cells represented by the CD1a, CD21, CD123 and Langerin proteins of 60 oral LE biopsies including specimens of intraoral mucosa (area not exposed to the sun) and lip vermilion/semimucosa (exposed area) were investigated, compared and analyzed topographically in the epithelium and lamina propria (superficial area or lamina propria epithelial junction (JELP) and deep perivascular region) using immunohistochemistry technique. **Results:** of the 60 oral LE specimens, 40 were in the intraoral mucosa and 20 in the semimucosa. Comparison between oral LE samples from the intraoral mucosa and the control (10 specimens) showed decreased CD1a expression in the epithelium ( $p = 0,003$ ) and increased in the deep perivascular region ( $p = 0,002$ ); Langerin decreased in epithelium, however without statistical difference ( $p = 0,944$ ), and increased in lamina propria ( $p = 0,012$ ), in JELP ( $p = 0,006$ ); CD21 expression were present in only 2 oral LE specimens (epithelium  $p = 0,012$ ; lamina propria  $p < 0,001$ ; in deep

perivascular area  $p = 0,018$ ); CD123 is increased in all topographies (epithelium  $p < 0,005$ ; lamina propria  $p < 0,001$ ; JELP  $p < 0,001$ ; deep perivascular  $p < 0,001$ ), but showing much higher expression in the lamina propria. In the comparison between semimucosa and intraoral mucosa, we obtained higher expression of CD123 in the sun exposure area (semimucosa) in the epithelium ( $p = 0,024$ ); lamina propria ( $p = 0,047$ ) in the JELP ( $p = 0,001$ ); Langerin had a difference only in the JELP in the intraoral mucosa ( $p = 0,043$ ). There were no differences in CD1a and CD21 immunolabeling between the two areas. **Conclusions:** the finding indicate that dendritic cells characterized by positive expression of CD1a, Langerin and CD123 are present in the oral lesions of LE, moreover, the immunoexpressions of these proteins were coincident with the inflammatory infiltrate sites, suggesting that they play an important role in the immune response of the disease. There are differences in dendritic cell expression between the semimucosa and intraoral mucosa, with increased immunolabeling of plasmacytoid dendritic cells, marked by CD123 in sun exposed areas. Further studies with a larger number of oral LE samples are needed to corroborate and confirm these findings.

Descriptors: Lupus erythematosus; Oral manifestations; Mouth mucosa; Dendritic cells; Langerhans cells; Antigens CD123.

# **1 INTRODUÇÃO**

O lúpus eritematoso (LE) é uma doença inflamatória crônica, autoimune, de etiologia multifatorial e caracterizada por um largo espectro de manifestações de variável evolução (Moura Filho *et al.*, 2014; Achtman e Werth, 2015; Chacón-Dulcey *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2021).

O LE é mais frequente no sexo feminino entre a segunda e a terceira década de vida. No entanto, pode ocorrer em qualquer idade e em ambos os sexos (Chiewchengchol *et al.*, 2015; Achtman e Werth, 2015; La Paglia *et al.*, 2017; Rees *et al.*, 2017; Blake e Daniel, 2019; Garelli *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2021). A etnia também é um fator de risco importante em algumas populações, sendo maior em afro-caribenhos, havaianos e polinésios, quando comparados com outros grupos (Jarrett e Werth, 2019).

As manifestações clínicas do LE são variadas, podendo ter acometimento multissistêmico (LE sistêmico, LES) ou localizar-se apenas na pele (LE cutâneo, LEC), sendo considerado por muitos autores uma doença espectral (Achtman e Werth, 2015; La Paglia *et al.*, 2017; Chacón-Dulcey *et al.*, 2020).

O acometimento cutâneo é muito frequente e pode estar presente em qualquer estágio da doença, podendo se apresentar como a primeira manifestação da doença em até 28% dos casos e acometer quase 85% dos pacientes com LES (Sontheimer e Provost, 1997; Kuhn e Landman, 2014; Ghosh *et al.*, 2020).

As lesões cutâneas do LE são classificadas em específicas e não específicas (Gillian e Sontheimer, 1981), sendo as primeiras subdivididas em três principais formas, denominadas agudas, subagudas e crônicas, de acordo com suas características clínicas e histológicas vistas apenas no LE (Sontheimer, 2004; Moura Filho *et al.*, 2014; Jatwani e Holmes, 2021; McDaniel *et al.*, 2021). Essa classificação é utilizada universalmente. Embora ainda não haja consenso, foi proposta a introdução de uma quarta categoria: a forma Intermitente (Kuhn e Landman, 2014; Kuhn *et al.*, 2017).

As lesões não específicas podem ser vistas em doentes de LE, assim como em outras doenças. São consideradas lesões não específicas: vasculite, fenômeno de Raynaud, telangiectasias periungueais, livedo racemoso, alopecia não cicatricial e a calcinose cutânea, entre outras. Em geral, acompanham a forma sistêmica ou representam reativação da doença (Sontheimer, 2004; Ghosh *et al.*, 2020; Chanprapaph *et al.*, 2021).

Já as formas específicas podem estar presentes tanto no LEC como no LES. Nesse caso, recebe a denominação de LE sistêmico com lesão cutânea do tipo crônica, subaguda ou aguda (Jiménez *et al.*, 2005; Jatwani e Holmes, 2021).

Qualquer uma das manifestações específicas de LE pode apresentar lesões mucosas, havendo descrições de lesões na mucosa oral, conjuntival, nasal, vaginal e até mesmo a perianal (Burge *et al.*, 1989; Nico *et al.*, 2014; Romiti *et al.*, 2014; Del Alcázar-Viladomiu *et al.*, 2018; Dammacco, 2018). Porém, a prevalência do envolvimento mucoso é incerta por ser, em geral, subestimada (Burge *et al.*, 1989).



Na literatura, a frequência do acometimento da mucosa oral é variável. Nas várias séries de casos, foram encontradas de 5% a 54% de manifestações orais no LES e de 3 a 25% no LEC (Burge *et al.*, 1989; Lourenço *et al.*, 2006 e 2007; López-Labady *et al.*, 2007; Mays *et al.*, 2012; Khatibi *et al.*, 2012; Del-Barrio Díaz *et al.*, 2020). Acredita-se que a variação se deva ao fato de a maioria das lesões mucosas orais serem assintomáticas e não avaliadas nos exames médicos de rotina (Orteu *et al.*, 2001; Mays *et al.*, 2012).

As manifestações orais apresentam-se de diversas formas e sua descrição varia na literatura. Com o intuito de uniformizar as diversas denominações existentes, Nico *et al.* (2008), correlacionaram as lesões orais do LE com as lesões cutâneas, classificando-as em crônicas, subagudas e agudas, concluindo que as apresentações orais representam o análogo mucoso do LE cutâneo (Nico *et al.*, 2008).

A manifestação mais comum da forma oral crônica do LE é a lesão discoide, caracterizada por lesão eritematosa bem delimitada, arredondada ou irregular, de superfície atrófica ou ulcerada com estrias radiadas brancas e telangiectasias, localizadas mais comumente na mucosa jugal. A forma oral subaguda do LE apresenta-se como placa eritematosa bem delimitada, levemente deprimida. É forma bastante rara, pois o LE subagudo caracteriza-se pela fotossensibilidade, sendo incomum lesões intraorais. Já a forma oral aguda compreende diversas apresentações clínicas, como máculas eritematosas ou eritêmato purpúricas no palato e erosões ou ulcerações na mucosa (Nico *et al.*, 2008).

A causa do LE permanece ainda pouco esclarecida e sua etiopatogenia é considerada um evento multifatorial, resultante de uma complexa interação entre fatores genéticos, hormonais, ambientais, autoanticorpos e componentes celulares da pele e do sistema imune. Em um indivíduo geneticamente predisposto, determinados gatilhos como infecções, hormônios, radiações ultravioletas e exposições às drogas podem iniciar processos inflamatórios que, concomitante à formação de autoantígenos, influenciam o sistema imune, levando a numerosas anormalidades imunorreguladoras (Duarte, 2012; Kirchhof e Dutz, 2014).

A patogênese das lesões cutâneas específicas do LE, desde a sequência dos eventos que iniciam a resposta imune até o seu desenvolvimento, permanece não totalmente compreendida. Acredita-se que os mecanismos que levam ao LE resultem de um desequilíbrio entre as respostas humoral e celular e, nesse cenário, as células dendríticas desempenham papel fundamental (Kirchhof e Dutz, 2014; Jarrett e Werht, 2019; Zhou *et al.*, 2021).

As células dendríticas são um grupo heterogêneo de células (Seitz e Matsushima, 2010; Seré *et al.*, 2012; Ganguly *et al.*, 2013) que existem em pequeno número na pele e também nos tecidos linfoides (Fransen *et al.*, 2010; Kashem *et al.*, 2017; Waisman *et al.*, 2017). As células dendríticas (DC) estão envolvidas em diversas etapas da patogênese do LE, desde a produção de citocinas que medeiam a cascata dos fenômenos inflamatórios até o processamento inapropriado ou apresentação anormal de antígenos, que culminam na produção de autoanticorpos (Seitz e Matsushima, 2010; Kirchhof e Dutz, 2014; Jarrett e Werht, 2019).

Há uma grande diversidade de subtipos de DCs, com diferenças funcionais consideráveis (Fransen *et al.*, 2010; Kashem *et al.*, 2017; Waisman *et al.*, 2017). Embora apresentem funções em comum como a capacidade de capturar, processar e apresentar antígenos, diferem em localização, caminhos de migração, função imunológica, e dependência de estímulos variados, infecciosos e inflamatórios para sua geração (Shortman e Naik, 2007).

Mais recentemente, estudos de expressão genética possibilitaram maior conhecimento sobre as origens das DCs (Kashem *et al.*, 2017). Assim, sabe-se que as células dendríticas plasmocitoides (pDC) e as células dendríticas convencionais (cDC), também denominadas mieloides (Collin e Bigley, 2018), originam-se a partir de um precursor próprio do sistema hematopoiético (Schraml e Reis e Sousa, 2015).

As pDC são encontradas no sangue e nos tecidos linfoides e na pele em algumas condições inflamatórias (Zhou *et al.*, 2021). As cDC podem ser encontradas na pele, mucosas e tecidos linfoides (Kaewraemruaen *et al.*, 2020).

As células de Langerhans são DCs únicas e especializadas que têm origem embrionária a partir de progenitores do saco vitelínico e de monócitos de fígado fetal e, em condições normais, residem na epiderme/epitélio (Kaewraemruaen *et al.*, 2020).

Há uma categoria separada de células dendríticas: são as chamadas células dendríticas foliculares (fDC) (Seitz e Matsushima, 2010) que, diferentemente das anteriores, são derivadas de células tronco

mesenquimais, desenvolvendo-se a partir de células perivasculares (Aguzzi *et al.*, 2014). Recebem esse nome porque estão presentes nos centros germinativos dos folículos linfoides (Seitz e Matsushima, 2010). As fDC são encontradas nos linfonodos, no baço e nos tecidos linfoides associados a mucosas (Seitz e Matsushima, 2010).

As células dendríticas também podem ser identificadas por marcadores proteicos. Assim, as células convencionais são reconhecidas pela imunomarcação de CD1a (Silva *et al.*, 2020); as células de Langerhans são identificadas pelos marcadores proteicos CD1a (Nasiri *et al.*, 2018) e Langerina (Romani *et al.*, 2010). Já as DC plasmocitoides expressam a proteína CD123 (Chen *et al.*, 2019b) e as células dendríticas foliculares podem ser identificadas pelo marcador proteico CD21 (Bălănescu *et al.*, 2010; Das *et al.*, 2017).

No LE, as células dendríticas exercem um papel importante, participando de diversas fases do desenvolvimento da doença. As pDCs (CD 123) estão envolvidas com a produção de IFN tipo I (Seitz e Matsushima, 2010; Li *et al.*, 2018; Jarrett e Werht, 2019; Kaewraemruaen *et al.*, 2020), cuja liberação leva à piora da inflamação, ativação de células hematopoiéticas e diferenciação de células B autorreativas (Das *et al.*, 2017).

As células dendríticas foliculares (fDC, DC21) estão relacionadas com a sobrevivência das células B autorreativas, propiciando a formação de autoantígenos (Seitz e Matsushima, 2010; Zhou *et al.*, 2021). Já as células dendríticas convencionais participam do desbalanço entre as células T

reguladoras (Treg) e Th17 envolvidas na patogênese do LE (Oukka, 2008; Chan *et al.*, 2012; Kaewraemruaen *et al.*, 2020). E as células de Langerhans têm um importante papel na apoptose dos queratinócitos e na apresentação de autoantígenos às células T, contribuindo para a formação da patogênese do LE (Garelli *et al.*, 2020).

Na literatura, são poucos os trabalhos sobre o papel das células dendríticas no LES e nas lesões cutâneas de LE (Farkas *et al.*, 2001; Abreu-Velez *et al.*, 2009; Tomasini *et al.*, 2010; Bălănescu *et al.*, 2010; Xie *et al.*, 2011; Liao *et al.*, 2013; Walsh *et al.*, 2015; Brown *et al.*, 2014; Kollivas *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019b; Li *et al.*, 2018; Nasiri *et al.*, 2018). E sua participação na fisiopatologia da doença continua ainda não totalmente esclarecida. Até o momento, são escassas as pesquisas sobre a participação das células dendríticas nas lesões orais do LE e, em nenhum dos estudos, os autores avaliaram topograficamente as diversas células dendríticas, o que nos motivou a realizar este trabalho. Além disso, a radiação solar, principal gatilho da apoptose na doença, interfere na forma e função das células dendríticas no LE. Na presente pesquisa, buscou-se ainda analisar possíveis diferenças entre a imunexpressão dessas células nas lesões mucosas orais expostas e não expostas ao sol.

## **2 OBJETIVOS**

1) Analisar a casuística clínica das manifestações orais do lúpus eritematoso em pacientes do ambulatório do Departamento de Dermatologia do HC-FMUSP (Ambulatório de Estomatologia e Colagenoses).

2) Avaliar os aspectos histopatológicos do lúpus eritematoso da mucosa oral.

3) Avaliar os aspectos de imunofluorescência direta do lúpus eritematoso oral.

4) Identificar topograficamente a presença de células dendríticas por meio da análise da expressão proteica das moléculas CD1a, CD21, CD 123 e Langerina, no epitélio e na lâmina própria (áreas superficiais ou de junção epitélio lâmina própria (JELP) e região perivascular profunda).

5) Comparar o perfil de expressão das proteínas (CD1a, CD21, CD123 e Langerina) das células dendríticas, das lesões mucosas intraorais (fotoprotégidas) com o das lesões da semimucosa labial (expostas ao sol).

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**



### 3.1 Manifestações Cutâneas do Lúpus Eritematoso

O acometimento cutâneo no lúpus eritematoso é muito frequente. Quando afetada, a pele pode ser o único órgão envolvido (LE cutâneo, LEC) ou fazer parte de um comprometimento multissistêmico (LE sistêmico, LES). (Sontheimer e Provost, 1997; Achtman e Werth, 2015; La Paglia *et al.*, 2017; Koch e Tikly, 2019; Ghosh *et al.*, 2020; Chanprapaph *et al.*, 2021). Em alguns casos, as lesões cutâneas podem resultar em cicatrizes desfigurantes, levando a uma perda significativa da qualidade de vida (Zhou *et al.*, 2020).

O LE cutâneo tem uma vasta gama de apresentações e, devido a essa diversidade, Gillian fez uma classificação comumente utilizada até hoje. O autor dividiu as lesões tegumentares em específicas e não específicas, sendo as primeiras subdivididas em três principais formas, denominadas agudas, subagudas e crônicas, de acordo com suas características clínicas e histológicas, vistas apenas no LE (Gillian e Sontheimer, 1981; Sontheimer, 2004; Moura Filho *et al.*, 2014; Concha *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2019a; McDaniel *et al.*, 2021).

No entanto, Kuhn e Landman (2014), propuseram a introdução de uma quarta categoria: a forma Intermitente, reafirmada em 2017 no Fórum da Academia Europeia de Dermatologia em cooperação com a EADV (do inglês *European Academy of Dermatology and Venereology*) e utilizada em alguns estudos (Kuhn *et al.*, 2017).

As lesões não específicas podem ser vistas em doentes de LE, assim como em outras doenças. São consideradas lesões não específicas: vasculite, fenômeno de Raynaud, telangiectasias periungueais, livedo racemoso, alopecia não cicatricial e a calcinose cutânea, entre outras.

As manifestações não específicas podem acompanhar a forma sistêmica ou representar reativação da doença (Sontheimer, 2004; Obermoser *et al.*, 2010; Ghosh *et al.*, 2020; Chanprapaph *et al.*, 2021).

Qualquer uma das formas específicas pode estar presente tanto no LE exclusivamente cutâneo (LEC), quanto na forma sistêmica (LES), que, nesse caso, recebe a denominação de LE sistêmico com lesão cutânea do tipo aguda, subaguda ou crônica (Jiménez *et al.*, 2005; Kuhn e Landman, 2014).

### **3.1.1 Lúpus eritematoso cutâneo agudo (LECA)**

As lesões cutâneas agudas estão fortemente associadas à forma sistêmica do LE, podendo preceder as manifestações multissistêmicas por semanas ou meses. Caracterizam-se por eritema (rush), que pode ser localizado (eritema malar ou em asa de borboleta ou mariposa) ou generalizado (Sontheimer, 2004; Kuhn *et al.*, 2005, Obermoser *et al.*, 2010; Blake e Daniel, 2019; Garelli *et al.*, 2020; Chanprapaph *et al.*, 2021), predominantemente em áreas fotoexpostas, podendo ser acompanhado de edema ou descamação e desaparecer sem deixar cicatrizes ou despigmentações (Obermoser *et al.*, 2010; Blake e Daniel, 2019; Garelli *et al.*, 2020; Chanprapaph *et al.*, 2021). Em geral, as manifestações cutâneas agudas vêm acompanhadas de sintomatologia sistêmica como febre, mal-estar geral e artralguas. Frequentemente estão

associadas a lesões inespecíficas, principalmente alopecia difusa, telangiectasias periungueais, alterações cuticulares (Obermoser *et al.*, 2010).

Uma apresentação rara, porém, grave de LE cutâneo agudo é o LE bolhoso, que pode simular eritema polimorfo bolhoso ou necrólise epidérmica tóxica, pêfigo vulgar e queilite induzida por drogas (Duarte, 2012; Blake e Daniel, 2019).

O LE bolhoso é caracterizado por bolhas tensas e agrupadas que aparecem na pele normal ou eritematosa de pacientes com LE ativo. Segundo Nico *et al.* (2014), as lesões bolhosas do LE podem ser consideradas como uma variação hiperaguda de uma lesão LE específica. Pacientes com LECA frequentemente apresentam comprometimento sistêmico, com sorologia positiva na maioria dos casos (Blake e Daniel, 2019).

### **3.1.2 Lúpus eritematoso cutâneo subagudo (LECSA)**

O lúpus eritematoso cutâneo subagudo, caracteriza-se clinicamente por fotossensibilidade e por lesões papulo-escamosas (psoriasiforme) e/ou anulares (anulares policíclicas), recorrentes e simétricas, localizadas em áreas fotoexpostas (Sontheimer, 2004; Blake e Daniel, 2019; Jatwani e Holmes, 2021; Chanprapaph *et al.*, 2021). Comumente acometem face, pescoço, parte superior do tronco e os braços (Jatwani e Holmes, 2021; Chanprapaph *et al.*, 2021), podendo poupar as articulações interfalangeanas e o couro cabeludo (Sontheimer, 2004). Em alguns casos, pacientes com LECSA podem desenvolver lesões vesico-bolhosas, localizadas na periferia das lesões anulares (Obermoser *et al.*, 2010, Blake e Daniel, 2019).

Em geral, as lesões cutâneas evoluem sem deixar cicatrizes atróficas, mas podem levar a hipopigmentação pós-inflamatória que em geral é transitória (Obermoser *et al.*, 2010; Jatwani e Holmes, 2021). Apesar de morfologicamente diferentes, as duas apresentações clínicas não têm implicações prognósticas e podem coexistir no mesmo doente. Além disso, em até 20% dos casos, as lesões do LECSA podem ocorrer em conjunto com LE discoide ou LECA (Sontheimer, 2004).

As manifestações cutâneas não específicas podem também estar presentes no LECSA, principalmente o Fenômeno de Raynaud e a vasculite leucocitoclástica (Obermoser *et al.*, 2010). Manifestações extracutâneas como as do sistema musculoesquelético, tais como artralguas e artrites, assim como febre e indisposição, são frequentemente observadas, principalmente no início da doença ou após exposição solar (Blake e Daniel, 2019; Jatwani e Holmes, 2021).

O LECSA pode estar associado ao comprometimento interno em 50% dos casos. No entanto, o envolvimento do sistema renal e do sistema nervoso central é raro, ocorrendo em somente até 10% dos casos (Sontheimer, 2004; Obermoser *et al.*, 2010; Blake e Daniel, 2019; Jatwani e Holmes, 2021).

Algumas drogas podem induzir a formação do LECSA (Maz e Kahlenberg, 2020) A maioria delas é capaz de causar lesões similares ao LECSA idiopático, com distribuição em áreas de fotoexposição. No entanto, tendem a ser em menor número e aparentemente afetam mais as pernas (Blake e Daniel, 2019). Outra diferença é que o LECSA induzido por drogas pode afetar ambos os sexos com início mais tardio (Jatwani e Holmes, 2021).

O primeiro caso descrito seguiu-se ao tratamento com hidroclorotiazida. Mas outras drogas como inibidores da Enzima Conversora da Angiotensina, anticonvulsivantes, bloqueadores de canal de cálcio, terbinafina, inibidores de bomba de próton, anti-inflamatórios não hormonais, estatinas e imunomoduladores como o anti Fator de Necrose Tumoral alfa (anti-TNF- $\alpha$ ) já foram descritos (Obermoser *et al.*, 2010; Blake e Daniel, 2019; Garelli *et al.*, 2020; Jatwani e Holmes, 2021).

O LECSA está associado aos antígenos de histocompatibilidade HLA B8 e HLA-DR3, DQ2, DRw52 e também à deficiência congênita da fração C2 e C4 do complemento (Specker e Schneider, 2005, Obermoser *et al.*, 2010, Jatwani e Holmes, 2021).

Pode também evoluir com FAN positivo e está relacionado com a produção de autoanticorpos Ro/SS-A e La/SS-B (Lee *et al.*, 1994; Sontheimer, 2004; Obermoser *et al.*, 2010; Blake e Daniel, 2019; Maz e Kahlenberg, 2020; Jatwani e Holmes, 2021). Os filhos de mães portadoras destes autoanticorpos podem desenvolver lesões similares à forma clínica do LECSA, com distribuição em áreas fotoexpostas, principalmente na região periorbitária da face, caracterizando o LE neonatal (Lee, 2005; Blake e Daniel, 2019).

Outras doenças autoimunes como a síndrome de Sjögren, a artrite reumatoide e a tireoidite de Hashimoto, podem estar associadas ao LECSA (Sontheimer, 2004; Specker e Schneider, 2005, Blake e Daniel, 2019).

São também descritos casos de LECSA paraneoplásico, onde há associação do LE com tumor de mama, pulmões ou Linfoma de Hodgkins, sendo necessária a pesquisa nos casos de difícil resposta à terapia convencional (Obermoser *et al.*, 2010; Kuhn *et al.*, 2017; Jatwani e Holmes, 2021).

### 3.1.3 Lúpus eritematoso cutâneo crônico (LECC)

A principal e mais comum forma de apresentação do LECC é a lesão discoide (LE discoide - LED) que representa 80% dos LE cutâneos (Lin *et al.*, 2007; Kuhn e Landman, 2014; Jarrett e Werht, 2019; McDaniel *et al.*, 2021).

As lesões ativas são caracterizadas por pápulas ou placas infiltradas, eritematosas, arredondadas ou elípticas, com escamas aderentes e rolhas córneas, que evoluem para cicatrizes atróficas e despigmentação (hipopigmentação central e hiperpigmentação periférica) (Jiménez *et al.*, 2005; Lin *et al.*, 2007; Blake e Daniel, 2019; Chanprapaph *et al.*, 2021). No couro cabeludo, frequentemente evoluem com destruição dos folículos pilosos, levando a alopecia cicatricial (Chen *et al.*, 2019a; McDaniel *et al.*, 2021).

O LED pode se apresentar de forma localizada, acometendo principalmente a face, couro cabeludo e o pavilhão auricular. Menos frequentemente, atinge áreas abaixo do segmento cefálico sendo, nesse caso, considerado disseminado (Lin *et al.*, 2007; Blake e Daniel, 2019; Maz e Kahlenberg, 2020; McDaniel *et al.*, 2021). Essas diferenças de apresentação têm importância prognóstica, pois embora o LECC tenha apenas de 5% a 10% de chance de sistematização, o LE em sua forma generalizada passa a ter 20% (Chong *et al.*, 2012; McDaniel *et al.*, 2021). Embora as lesões acometam principalmente áreas fotoexpostas, podem ocorrer em áreas fotoprotégidas como palmas, plantas e mucosas (Duarte, 2012; McDaniel *et al.*, 2021) e outras ainda mais incomuns, como as unhas (Obermoser *et al.*, 2010).

Doentes com lesões discoides, mesmo sem manifestações sistêmicas, podem cursar com artralguas, mal-estar, mas raramente apresentam febre e cerca de um terço dos doentes apresenta FAN positivo (Concha *et al.*, 2019).

Embora não haja ainda autoanticorpos específicos para diferenciar os subtipos do LEC, nos pacientes de LED pode ser encontrado o anticorpo antianexin 1, sugerindo ser este um potencial marcador diagnóstico para essa forma (McDaniel *et al.*, 2021). No entanto, até o momento, critérios clínicos ainda norteiam seu diagnóstico (Elman *et al.*, 2020). Um outro dado importante do LED é o possível desenvolvimento de carcinoma de células escamosas em lesões de longa duração ou lesões cicatriciais (Blake e Daniel, 2019; McDaniel *et al.*, 2021).

Uma variante incomum do LED é o LE hipertrófico ou verrucoso que se caracteriza pelo aspecto intensamente queratósico, acometendo as superfícies extensoras dos braços, em geral associado às lesões discoides clássicas (Obermoser *et al.*, 2010; Blake e Daniel, 2019; Chanprapaph *et al.*, 2021).

O LED liquenoide se apresenta como pápulas violáceas ou pequenas placas com escamas aderentes, localizadas nas extremidades que evoluem, deixando lesões atróficas acastanhadas com hiperpigmentação periférica (Chanprapaph *et al.*, 2021).

Outras manifestações cutâneas do LECC incluem o lúpus profundo e a paniculite lúpica. Ambas são raras, ocorrendo em apenas 3% dos casos (Obermoser *et al.*, 2010; Chanprapaph *et al.*, 2021). Tanto o lúpus profundo quanto a paniculite caracterizam-se pela formação de nódulos eritematosos,

assintomáticos ou dolorosos, que podem ulcerar, sofrer calcificação ou infecção secundária. Em ambos há o acometimento do tecido subcutâneo, que pode estar acompanhado de lesões discoides na pele subjacente (lúpus profundo) ou não (paniculite lúpica) (Blake e Daniel, 2019). As lesões ocorrem na face, braços, tronco, nádegas e mamas e regridem, deixando áreas cicatriciais deprimidas e inestéticas. Cursam em geral com FAN negativo, mas podem ter associação com LES, principalmente a paniculite lúpica (Kuhn e Landman, 2014).

Uma outra variante incomum do LECC é a perniose lúpica ou chilblain lúpus que recebe esse nome por apresentar lesões semelhantes ao eritema pérmio. Caracteriza-se por lesões edematosas, eritematosas ou purpúricas, pruriginosas ou dolorosas, localizadas nas extremidades, com início ou piora no frio (Blake e Daniel, 2019) e que podem estar associadas às lesões discoides (Kuhn e Landman, 2014). A presença dessas lesões marca uma maior possibilidade de evolução para doença sistêmica (Chen *et al.*, 2019a).

O lúpus comedônico é uma rara variante do LECC, que se apresenta como lesão comedão-like, simulando acne, principalmente na face (Vieira *et al.*, 2018).

O lúpus túmido, mais uma variante incomum do LECC, é caracterizado por placa eritematoviolácea, edematosa (urticada), sem descamação, que regride sem deixar cicatriz ou hipocromia que afeta a face e o tronco (Muylaert *et al.*, 2016; Blake e Daniel, 2019; Chen *et al.*, 2019a). Em geral, evolui com perfil normal de autoanticorpos, com bom prognóstico e a resolução espontânea em dias ou semanas (Blake e Daniel, 2019). Por



raramente evoluir para doença sistêmica, não deixar cicatrizes e por estar associado a muita fotossensibilidade, alguns estudiosos questionam a classificação do LE tímido dentro do grupo dos LECC, e o incluem em uma nova forma de LE denominada forma intermitente, criada exclusivamente para ele (Kuhn e Landman, 2014).

Quaisquer das formas de LE podem apresentar manifestações mucosas, podendo ocorrer em diversas regiões (Burge *et al.*, 1989; Nico *et al.*, 2014; Romiti *et al.*, 2014; Del Alcázar-Viladomiu *et al.*, 2018).

### **3.2 Envolvimento Mucoso no Lúpus Eritematoso**

A prevalência do envolvimento mucoso no LE é incerta e como suas manifestações podem ser pouco sintomáticas, acredita-se que sejam subestimadas. Além disso, os achados clínicos da mucosa são pouco documentados e, em geral, não é feita a distinção entre lesões agudas ou crônicas (Burge *et al.*, 1989; Mays *et al.*, 2012; Menzies *et al.*, 2018).

As manifestações mucosas podem acometer qualquer uma das formas de LE. Burge *et al.* (1989), em estudo com 121 pacientes, encontraram achados clínicos de envolvimento mucoso em 21% dos pacientes com LES e 24% dos pacientes com LECC. Já Brennan *et al.* (2005) relataram acometimento de 80% a 90% dos pacientes com LES.

As lesões mucosas podem ocorrer isoladamente ou como parte de um envolvimento multissistêmico do LES (Brennan *et al.*, 2005).

No LE sistêmico juvenil, as manifestações mucocutâneas são comuns (Chiewchengchol *et al.*, 2015; Rodsaward *et al.*, 2017), podendo ser um dos

primeiros sintomas da doença (Novak *et al.*, 2018). Além disso, o envolvimento mucoso, principalmente na forma de úlceras orais e/ou nasais, são importantes na definição da doença sistêmica, pois integra um dos critérios de diagnóstico de LES pela SLICC (do inglês *Systemic lupus International Collaborating Clinics*), em 2012; e pela EULAR (do inglês *European Alliance of Associations for Rheumatology*) e ACR (do inglês *American College of Rheumatology*), em 2019 (Petri *et al.*, 2012; Hamburger, 2016; Aringer *et al.*, 2019 e 2020).

Diversas mucosas podem ser acometidas. Há relatos de lesões nas mucosas oral, conjuntival, nasal, vaginal e até mesmo perianal (Burge *et al.*, 1989; Nico *et al.*, 2014; Romiti *et al.*, 2014; Del Alcázar-Viladomiu *et al.*, 2018; Dammacco, 2018).

### **3.3 Lúpus Eritematoso Oral**

O LE pode promover variadas manifestações orais que têm um impacto importante na qualidade de vida do paciente (Kudsi *et al.*, 2021; Manzano *et al.*, 2021).

Tanto o LES como o LEC podem cursar com lesões orais. Às vezes, essas podem ser a única manifestação da doença (Ranginwala *et al.*, 2012; Mays *et al.*, 2012). Na literatura, a frequência do acometimento da mucosa oral é variável. Nas diversas séries de casos, foram encontradas de 5% a 54% de manifestações orais no LES e de 3% a 25% no LEC (Burge *et al.*, 1989; Lourenço *et al.*, 2006 e 2007; López-Labady *et al.*, 2007; Mays *et al.*, 2012; Khatibi *et al.*, 2012; Del-Barrio Díaz *et al.*, 2020). Isso reflete o fato

de que muitas lesões são assintomáticas, passando despercebidas, além de muitas avaliações médicas não incluírem o exame oral de rotina (Orteu *et al.*, 2001; Mays *et al.*, 2012; Menzies *et al.*, 2018).

Em geral, o diagnóstico do LE oral é difícil, pois as lesões da mucosa oral podem se apresentar de diversas formas (Nico *et al.*, 2008; Manfredini *et al.*, 2021), podendo mimetizar outras doenças como por exemplo Líquen plano oral e as reações liquenoides a drogas ou metais (Mays *et al.*, 2012; Menzies *et al.*, 2018). Podem se apresentar como mácula ou placa eritematosa, ulceração circundada ou não de estrias radiadas brancas ou placas brancas. Além disso, os padrões das lesões orais diferem de acordo com os vários tipos de LE. Por exemplo, as ulcerações envolvem principalmente a mucosa bucal e labial e estão mais associadas ao LES (Mays *et al.*, 2012).

A frequência das úlceras orais varia muito nos diversos estudos de LES. Assim, Jonsson *et al.* (1984), obteve 13,04% dessas manifestações em 51 pacientes. Já Urman *et al.* (1978) encontrou 26% em 182 indivíduos, resultado semelhante ao obtido por Khatibi *et al.* (2012) com 28,1% em 102 doentes e Kudsi *et al.* (2021) com 27,6% em 42 pacientes. Já Abid *et al.* (2013), obtiveram quase 72% de úlceras orais em 46 pacientes.

As úlceras orais também são uma das principais características clínicas em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico de início juvenil (Rodsaward *et al.*, 2017), podendo ser um dos primeiros sintomas clínicos da doença (Novak *et al.*, 2018).

Na literatura, uma grande variedade de termos clínicos tem sido empregada na descrição das lesões mucosas orais. Termos como “lesões orais discoides”, “queilite lúpica”, “placas ulcerativas”, “placas em favo de mel”, “lesões brancas”, “lesões liquenoides” entre outros, são empregados, não havendo padronização entre os trabalhos (Orteu *et al.*, 2001; Nico *et al.*, 2008; Manfredini *et al.*, 2021).

Com o intuito de obter uniformidade na nomenclatura dessas manifestações, Nico *et al.* (2008), correlacionaram as lesões orais com as lesões cutâneas do LE, classificando as manifestações orais em agudas, subagudas e crônicas, concluindo que essas representam o análogo mucoso do LE cutâneo.

Para uma melhor compreensão, utilizou-se essa classificação para a definição das lesões orais.

### **3.3.1 Lúpus eritematoso oral crônico**

A manifestação mais comum da forma oral crônica do LE é a lesão discoide. Embora sejam descritas tanto na forma sistêmica como na forma exclusivamente cutânea, Burgue *et al.* (1989) encontraram essas lesões mais frequentemente no LECC. Em geral, as lesões discoides orais são acompanhadas das lesões cutâneas, mas não raramente podem ocorrer como manifestação exclusiva. No LES podem representar o primeiro sinal da doença em 40% dos casos (Orteu *et al.*, 2001; Nico *et al.*, 2008; Ranginwala *et al.*, 2012; Manfredini *et al.*, 2021).

Clinicamente, as lesões discoides orais se apresentam como lesões eritematosas bem delimitadas, arredondadas ou irregulares, de superfície atrófica ou ulcerada com estrias radiadas brancas e telangiectasias. Nesses casos, o diagnóstico diferencial deve ser feito principalmente com líquen plano e leucoplasia (Plemons *et al.*, 1999; Orteu *et al.*, 2001; Manfredini *et al.*, 2021).

Variantes da forma crônica oral são as lesões queratóticas, verrucosas e em “favo de mel” (Nico *et al.*, 2008; Nico e Lourenço, 2012a; Manikkath *et al.*, 2018; Demitsu *et al.*, 2020). Segundo Nico *et al.* (2008), o aspecto “em favo de mel” ocorre em lesões de longa duração e representa um quadro cicatricial.

As manifestações orais discoides podem ser tanto dolorosas como assintomáticas, o que ocorre em cerca de 50% a 80% dos casos (Schjødt *et al.*, 1981; Orteu *et al.*, 2001; Nico *et al.*, 2008; Ranginwala *et al.*, 2012).

Localizam-se predominantemente na mucosa bucal, no processo alveolar, na mucosa labial e na borda do vermilião (Schjødt *et al.*, 1978; Ranginwala *et al.*, 2012). Menos frequentemente, pode haver o envolvimento das gengivas, que se apresentam como lesões eritematosas e descamativas, em geral associadas às lesões cutâneas (McCarthy *et al.*, 1960; Kranti *et al.*, 2012).

As manifestações labiais em geral estão associadas a lesões semelhantes em outros locais, mas o comprometimento exclusivo pode ocorrer (Nico *et al.*, 2014; João *et al.*, 2020). Ambos os lábios, superiores e inferiores, podem apresentar lesões discoides bem delimitadas ou difusas

(Greenberg *et al.*, 2017; João *et al.*, 2020). No entanto, os lábios inferiores tendem a ser mais acometidos, possivelmente por sofrerem mais traumas ou estarem mais expostos ao sol (Greenberg *et al.*, 2017).

As lesões labiais se apresentam como pequenas pápulas em tons de rosa, placas em forma de moeda ou lesões difusas confluentes, com estrias radiadas, em geral assimétricas (Nico *et al.*, 2014; Greenberg *et al.*, 2017). As lesões labiais ativas, assim como as incipientes, e até mesmo as cicatriciais, tendem a ofuscar a borda vermelha. Essa característica tem importância diagnóstica, pois ocorre frequentemente (Nico *et al.*, 2014; João *et al.*, 2020). Com a evolução, as lesões labiais no LE, podem se tornar despigmentadas, ceratóticas, erodidas, atróficas e até verrucosas e deixar cicatrizes desfigurantes (Nico *et al.*, 2014).

Na literatura, há descrições de transformação de lesões discoides orais, principalmente as localizadas nos lábios, em carcinomas de células escamosas, o que enfatiza a importância do acompanhamento dessas lesões (Martin *et al.*, 1979; Handlers *et al.*, 1985; Fernandes *et al.*, 2015; Makita *et al.*, 2016; Menzies *et al.*, 2018).

No LE sistêmico juvenil, as lesões orais discoides se assemelham às do adulto, apresentando placas e estrias atróficas radiadas e telangectasias, especialmente na mucosa bucal e palato mole. Os lábios podem também estar envolvidos, apresentando queilite tanto no lábio superior como no inferior, representando nos casos mais severos (queilite erosiva extensa) atividade da doença (Rodsaward *et al.*, 2017).

### **3.3.2 Lúpus eritematoso oral subagudo**

Manifestações intraorais e labiais no LECSA são incomuns, já que essa forma se caracteriza pela intensa fotossensibilidade (Nico *et al.*, 2008 e 2011). No entanto, pode ocorrer em pacientes com comprometimento facial intenso, característica não muito observada no LECSA (Nico *et al.*, 2014).

Apresentam-se como mácula eritematosa bem delimitada, levemente deprimida, em geral localizada no palato, podendo ocorrer também na mucosa bucal e gengiva (Nico *et al.*, 2008).

Nos lábios, tanto superior como inferior, apresentam-se como placas eritematosas descamativas, mal delimitadas no vermilião (Nico *et al.*, 2008).

Diagnóstico diferencial em geral não é necessário, pois as lesões características estão presentes em outras áreas do corpo (Nico *et al.*, 2014).

### **3.3.3 Lúpus eritematoso oral agudo**

A forma oral aguda compreende diversas apresentações clínicas que se localizam, preferencialmente, no palato. Correspondem às lesões do LE cutâneo agudo, podendo, no entanto, ocorrer mesmo na ausência dessas (Nico *et al.*, 2008).

Clinicamente, podem se apresentar como máculas eritematosas ou eritêmatos purpúricas em geral localizadas no palato e erosões ou ulcerações com distribuição simétrica ou assimétrica pela mucosa (Nico *et al.*, 2008). Outras apresentações como lesões aftoides e bolhosas, hemorragias e gengivites também podem ocorrer (Nico *et al.*, 2008). Para alguns autores, as lesões ulceradas orais são consideradas um sinal de alerta, sugerindo um pior prognóstico.

No entanto, Jorizzo *et al.* (1992) demonstraram que essas lesões representam lesões específicas de LE (mucosite de interface) sem implicações prognósticas.

As lesões labiais são muito comuns e tanto os lábios superiores como os inferiores podem ser acometidos. Em geral, estão associadas ao “rush” malar ou asa de borboleta e se apresentam como eritema ou edema, erosão, crostas e necrose frequentemente associadas às manifestações intraorais (Nico *et al.*, 2014).

No LE sistêmico bolhoso, as lesões orais ocorrem em aproximadamente 30% dos pacientes. Quando acomete os lábios, o LE bolhoso apresenta-se como múltiplas e pequenas bolhas tensas e crostas ao longo do vermilião (Nico e Lourenço, 2012b).

Lesões exclusivamente nessa localização são raras, e comumente estão associadas a lesões em múltiplos lugares. O diagnóstico diferencial é feito com o pênfigo vulgar, eritema multiforme e herpes simplex (Nico *et al.*, 2014).

### **3.4 Histopatologia das Lesões Orais**

O histopatológico do LE oral apresenta-se como uma mucosite superficial ou superficial e profunda perivascular e de interface com mucinose. E deve ser diferenciado dos demais processos com histologia semelhante como o Líquen plano (Müller, 2017). Encontra-se hiperqueratose, alternância de hiperplasia e atrofia epitelial, alteração na maturação epitelial, espongirose, vacuolização dos queratinócitos basais e espessamento da membrana basal (López-Labady *et al.*, 2007; Marques *et al.*, 2020; Chanprapaph *et al.*, 2021).



A membrana basal espessada pode ser evidenciada pela reação histoquímica de PAS – ácido periódico de *Schiff*. Na lâmina própria, o infiltrado linfo-histiocitário, pode ser focal, superficial, perivascular profundo ou em faixa justa epitelial (Schjødt, 1984; Jonsson *et al.*, 1984; Antonovych, 1995; Callen, 1997; Lee e Ackerman, 1997; Orteu *et al.*, 2001; Crowson e Magro, 2001; Nico *et al.*, 2014; Chanprapaph *et al.*, 2021).

Pequenas variações são observadas nas diversas formas de LE. As lesões crônicas em geral mostram hiperqueratose e /ou atrofia do epitélio e infiltrado inflamatório profundo (Andreasen e Poulsen 1964; Schjødt, 1984; Ranginwala *et al.*, 2012). As formas de LECSA revelam infiltrado mais superficial. O LECA mostra escasso infiltrado, alguns neutrófilos e mais mucinose (Karjalainen e Tomich, 1989; Nico *et al.*, 2014). No LE bolhoso, encontra-se uma exacerbação dos achados do LECA associado a intenso infiltrado neutrofílico e muita mucina (Nico e Lourenço, 2012b). As ulcerações resultam de degeneração acentuada das células basais com descolamento epitelial. Lesões no vermilião revelam características idênticas (Nico *et al.*, 2014).

Frequentemente, encontra-se presença aumentada de mucina na derme das lesões cutâneas de LE (Vincent e Chan, 2015; Chanprapaph *et al.*, 2021). No entanto, esses depósitos podem, também, estar presentes na pele normal com fotodano, em quantidades pequenas ou moderadas (Vincent e Chan, 2015).

Os depósitos de mucina podem aparecer precocemente nos casos de LEC agudo e tornam-se mais proeminentes nos casos de LEC subagudo e crônico (Fernandez-Flores e Saeb-Lima, 2016). Assim como nas lesões cutâneas, pode-se encontrar aumento de mucina também no LE oral (Nico *et al.*, 2008).

Estudos imuno-histoquímicos de lesões orais de LE mostram alterações na maturação epitelial determinada pela expressão alterada de citoqueratinas. Lourenço *et al.* (2006), demonstraram a presença das citoqueratinas (CK) 1, CK 5/6, CK14 e CK16 em 26 casos de LE oral, indicando, respectivamente, processo de diferenciação, hiperproliferação e ativação de queratinócitos. Sugere-se que essa expressão seja estimulada pelo aumento de citocinas (Lourenço *et al.*, 2006). Posteriormente, Lourenço *et al.* (2007) estudaram os componentes do infiltrado inflamatório de lesões orais de 46 doentes. Demonstraram, por estudos de imuno-histoquímica, o predomínio de linfócitos T, principalmente dos subtipos CD3+ e CD4+, seguidos por CD8+ no infiltrado inflamatório das lesões orais do LE. Marques *et al.* (2010), demonstraram a participação das citocinas Th1 e Th2, com aumento expressivo de INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-10.

### **3.5 Imunofluorescência Direta das Lesões Orais**

O diagnóstico histopatológico da lesão oral do LE pode ser incrementado pelo exame de imunofluorescência direta (IMFD), auxiliando no diagnóstico diferencial com outras dermatites/mucosites de interface. Os depósitos de imunoglobulinas (Ig) IgM, IgG, IgA, complemento C3 e fibrinogênio são encontrados na zona da membrana basal (ZMB) das lesões orais de LE, de forma focal ou contínua, com padrões variados, tais como homogêneo, fibrilar, linear e granuloso (Orteu *et al.*, 2001; Sun *et al.*, 2019).

Às vezes, depósitos de IgM e IgG podem ser observados na parede dos pequenos vasos sanguíneos e nos núcleos dos queratinócitos epidérmicos no LED (Sun *et al.*, 2019).

As lesões orais de LE demonstram comumente reatividade para IgM e C3 nos corpos coloides e fluorescência granular ou contínua na zona da membrana basal (Marques *et al.*, 2010; Nico *et al.*, 2014). Esses achados também podem estar presentes em outras doenças e em peles fotoexpostas, e por isso são considerados não específicos (Nico *et al.*, 2014). Mas enquanto os depósitos de IgG e IgA são os mais específicos, os depósitos de IgM mostram maior sensibilidade (Orteu *et al.*, 2001).

O depósito de imunorreagentes na ZMB pode ser demonstrado no LES (em 100% da mucosa lesada e em 75% da não lesada) e no LE discoide (em 73% da mucosa lesada) (Orteu *et al.*, 2001). E a positividade da IMFD de biópsias de tecidos aparentemente normais de pacientes com LED, indica chance aumentada de desenvolvimento de doença sistêmica.

O teste da banda lúpica, no qual é feita a identificação do depósito conjunto de IgG, IgM, IgA e complemento na ZMB (Banda Lúpica) contribui para o diagnóstico, prognóstico e evolução da terapêutica do LE (Sun *et al.*, 2019).

É importante lembrar que a IMFD é mais comumente positiva em lesões de mais de 6 semanas de duração e localizadas no segmento cefálico, pescoço e extremidades superiores, mais que no tronco (Sun *et al.*, 2019).

### 3.6 Etiopatogenia do Lúpus Eritematoso

A etiopatogenia do LE é resultante de uma complexa interação entre vários fatores patogênicos e permanece ainda pouco esclarecida. Sabe-se que participam do processo diversos mecanismos como os genéticos, hormonais, ambientais, autoanticorpos e componentes celulares da pele e do sistema imune. Acredita-se que primariamente para o desenvolvimento do LE, seja necessária uma predisposição genética para a doença (Kuhn e Bijl, 2008; Kirchhof e Dutz, 2014; Kuhn *et al.*, 2017; Fetter *et al.*, 2022) e, em um indivíduo geneticamente predisposto, determinados gatilhos como infecções, hormônios, radiações ultravioletas, cigarro e exposições às drogas possam iniciar processos inflamatórios (Kuhn *et al.*, 2017; Sirobhusanam *et al.*, 2020; Garelli *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2021). Concomitantemente, são formados autoantígenos, provavelmente através de antígenos liberados por células apoptóticas (Blake e Daniel, 2019; Zhou *et al.*, 2021). Associado a isso, diversas disfunções, tais como a diminuição da fagocitose e a deficiência de complementos, reduzem a “limpeza” das células apoptóticas, levando, conseqüentemente, ao aumento da exposição de autoantígenos e contribuindo para uma maior indução da resposta inflamatória (Wolf *et al.*, 2018). Ainda participam, com importante papel no início da doença, através de uma interativa e complexa rede, diversas células como os queratinócitos, neutrófilos, células B, Linfócitos T helpers 1 e 17 (Th1 e Th17) e, principalmente, as células dendríticas (DC) (Herrmann *et al.*, 2000; Herndon *et al.*, 2005; Kirchhof e Dutz, 2014; La Paglia *et al.*, 2017; Jarrett e Werht, 2019; Blake e Daniel, 2019; Zhou *et al.*, 2021).

Novos estudos demonstram o importante papel dos queratinócitos na patogênese do LE, que além de sofrerem a apoptose também medeiam os primeiros sinais às células imunes localizadas na derme (Zhou *et al.*, 2021).

Numerosas citocinas também estão envolvidas nesse processo (Marques *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2018; Blake e Daniel, 2019; McDaniel *et al.*, 2021). Elas promovem a propagação da resposta inflamatória e a supressão da tolerância do sistema imune, recrutando e promovendo a ativação de células T.

As células B autorreativas passam a produzir autoanticorpos, que são parte importante dos critérios de diagnóstico e a chave de algumas manifestações clínicas do LE. Diversos mecanismos, então, amplificam e realimentam a resposta imune e culminam com o início e a perpetuação das lesões de LE em diversos órgãos, tal como a pele (Duarte, 2012; Kirchhof e Dutz, 2014; La Paglia *et al.*, 2017; Blake e Daniel, 2019). No LE cutâneo, quando não associado ao quadro sistêmico, parece não haver influência das células inflamatórias e anticorpos circulantes, mas sim dos infiltrados inflamatórios cutâneos (McDaniel *et al.*, 2021).

### **3.6.1 Fatores genéticos**

Os fatores genéticos têm um importante papel no desenvolvimento do LE. Observa-se isso pelo maior risco da doença em gêmeos monozigóticos (25% a 57%) em relação aos dizigóticos (2% a 9%) (Kirchhof e Dutz, 2014) e a maior predisposição do LE em indivíduos que apresentam complexos de histocompatibilidade maiores (MHC) do tipo HLA B8, DR3, DR2, DQA1, DRB1 (Li *et al.*, 2018). Sabe-se também que múltiplos genes contribuem

para uma maior suscetibilidade. Genes como TYK2 (do inglês *Tyrosine Kinase 2*), IRF5 (do inglês *interferon regulatory factor 5*) e CTLA4 (do inglês *cytotoxic-T lymphocyte associated protein*) estão associados ao LES e também conferem maior risco de desenvolvimento de LED (Garelli *et al.*, 2020).

Genótipos ligados às deficiências de complementos (C1q, C2 e C4) e ao polimorfismo do gene promotor do Fator de Necrose Tumoral (TNF) alfa (-308A) representam um significativo fator de risco para a doença (Werth *et al.*, 2000; Achtman e Werth, 2015; Li *et al.*, 2018). Foram também identificados genes que codificam moléculas envolvidas na modulação da resposta imune. Dessa forma, agem na função de diversas células como linfócitos T e B, células apresentadoras de antígenos e neutrófilos, e que interferem nos processos de sinalização celular e nos mecanismos de limpeza de debris nucleares, de células apoptóticas e até mesmo de complexos imunes, contribuindo para o aumento do risco do desenvolvimento do LE (Kirchhof e Dutz, 2014; Blake e Daniel, 2019). Um dos exemplos são os genes associados às células dendríticas e células NK (do inglês *Natural Killer*) cuja expressão está aumentada exclusivamente na lesão cutânea do LED, mas não na lesão cutânea do LES ou no sangue, tanto do LES quanto LED (Li *et al.*, 2020). Mais recentemente, Berthier *et al.* (2019) demonstraram que LED e LESA (associados ou não a manifestação sistêmica) compartilham os mesmos genes, porém se diferenciam na sua expressão, apresentando estímulo à via de sinalização para IFN-tipo I.

### 3.6.2 Envolvimento hormonal

A ação do componente hormonal no desenvolvimento do LE é evidenciada pela maior incidência da doença no sexo feminino, pela maior probabilidade de agravamento durante a gestação e reposição hormonal e a observação, em geral, de uma evolução benigna no sexo masculino (Kuhn *et al.*, 2017; Kudsi *et al.*, 2021).

A piora da doença durante a gravidez pode ser relacionada aos altos níveis de estrogênio e prolactina, que promoveriam a sobrevivência e ativação de células B autorreativas, estimulando a produção de autoanticorpos (Kirchhof e Dutz, 2014). Alguns trabalhos demonstram que o estrógeno duplica a expressão de superfície de Ro/SSA em culturas de queratinócitos expostos a RUV-B e aumenta a ligação de autoanticorpos anti Ro/SSA e La/SSB à membrana plasmática. Além disso, pode estimular o promotor de IFN- $\gamma$  e a atividade de células NK (Garelli *et al.*, 2020).

Uma outra evidência para o predomínio da incidência nas mulheres é dada pela expressão aumentada de VgLL3 (do inglês *Vestigial-like Family member 3*) na pele feminina e em peles de pacientes com LE, independente do sexo. VgLL3 é um cofator de transcrição que governa a expressão de genes inflamatórios ligados à autoimunidade, incluindo o LEC e, em trabalhos com modelos animais masculinos, sua expressão aumentada promove ataque autoimune tanto cutâneo como sistêmico (Garelli *et al.*, 2020).

### 3.6.3 Autoanticorpos

A participação de autoanticorpos é bem conhecida no LE, mas seu papel exato ainda permanece obscuro. Sabe-se que para a formação dos autoanticorpos é necessária a interação de fatores genéticos e fatores externos (radiação solar, entre outros) que desencadeiam a apoptose e a consequente exposição de autoantígenos, que então são apresentados para linfócitos T e B, formando uma resposta imunológica persistente. Em um cenário onde haja a quebra da tolerância imunológica, essa reação é perpetuada e se formam células de memória T e B dirigidas contra esses autoantígenos. Assim, a partir desses mecanismos complexos e na dependência do autoantígeno exposto, será formado o respectivo autoanticorpo.

Esses anticorpos terão, então, a capacidade de se fixar em diferentes tecidos, fixar complementos e promover inflamação (La Paglia *et al.*, 2017).

Há como exemplos os anticorpos Anti Ds-DNA, Anti-Ro-ssA e Anti-Sm (Garelli *et al.*, 2020).

### 3.6.4 Radiação ultravioleta

A fotossensibilidade é uma característica importante do LE e a radiação ultravioleta (RUV), particularmente a RUV-B, está relacionada tanto com a formação e exacerbação das lesões cutâneas como com a piora dos quadros sistêmicos (Zhou *et al.*, 2021). Kuhn *et al.* (2011), em um estudo multicêntrico, demonstraram que pacientes com LEC desenvolveram lesões cutâneas após exposição a um protocolo de fotoprovocação com UVA e UVB, principalmente os pacientes com a forma subcutânea e a túmida.



A participação da RUV na patogênese do LE ocorre através de diversas formas como a apoptose, a indução da liberação de citocinas e a formação de autoanticorpos e autoantígenos (Zhou *et al.*, 2021).

A principal delas é a promoção da apoptose dos queratinócitos, através do dano do DNA (Bijl e Kallenberg, 2006; Achtman e Werth, 2015; Wolf *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2021). Segundo Zhou *et al.* (2021), a apoptose pode ocorrer em padrões de distribuição diferentes de acordo com os subtipos de LE. Assim, no LED, a apoptose se concentra principalmente na porção basal, enquanto no LECSA, na porção suprabasal. E são múltiplos os mecanismos pelos quais a RUV desencadeia a apoptose dos queratinócitos: através da fosfoproteína nuclear de 53 KDa (p53), do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e através do Fas e Fas-ligante (Fas-L) (Zhou *et al.*, 2021).

Outra participação da RUV na patogênese do LE ocorre através da indução da liberação de citocinas e quimiocinas. Em resposta à RUV, os queratinócitos irradiados são induzidos a liberarem diversas citocinas como TNF- $\alpha$ , Fator de crescimento Transformador Beta (TGF- $\beta$ ) e Interleucina (IL) 1 alfa que medeiam a liberação de novas citocinas inflamatórias (secundárias), que recrutam novas células inflamatórias e imunes, promovendo uma cascata de inflamação. Além disso, a IL-1 induz a expressão da molécula de adesão celular-1 (ICAM-1) que auxilia na migração dos leucócitos para a pele (Zhou *et al.*, 2021).

Também, após a exposição à RUV, há um aumento da produção de Interferon tipo I (IFN-tipo I), que está relacionado com a atividade tanto da forma cutânea quanto sistêmica do LE (Wolf *et al.*, 2018). O IFN-tipo I tem

como fonte principal as células dendríticas plasmocitoides que se infiltram nas lesões cutâneas de LEC.

Outra citocina importante é o IFN-  $\kappa$ , que é seletivamente expresso pelos queratinócitos (Sarkar *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2021). Sarkar *et al.* (2018) demonstraram expressão aumentada de IFN-  $\kappa$  apenas na epiderme das lesões cutâneas de LEC. Acredita-se que a citocina aumenta a capacidade de resposta do epitélio ao IFN-  $\alpha$  e a sensibilidade dos queratinócitos a RUV (Sarkar *et al.*, 2018; Wolf *et al.*, 2018). Assim, IFN-  $\kappa$  promove a fotossensibilidade através da sinalização para a produção de IFN-  $\alpha$  pelas células dendríticas plasmocitoides (Garelli *et al.*, 2020).

A IL-6 também está relacionada com a RUV. É uma citocina inflamatória produzida por monócitos, células B e também pelos queratinócitos. Quando irradiados pela RUV, os queratinócitos são induzidos a aumentar sua liberação. Os achados de aumento de IL-6 no soro de pacientes com LES e nas lesões cutâneas de LEC, apoiam o papel de gatilho da IL-6 na patogênese do LE (Zhou *et al.*, 2021). No LEC, a IL-6 é primariamente produzida pelos queratinócitos, mas o aumento de sua liberação é mediado pelo Interferon kappa (IFN- $\kappa$ ), também um membro da família dos IFN-tipo I (Zhou *et al.*, 2021).

A RUV também induz os queratinócitos a produzirem outras quimiocinas inflamatórias. O IFN- tipo I induz a expressão de ligantes de quimiocinas, particularmente a CXCL (do inglês *Chemokine ligand*) 10. E queratinócitos produzem CXCL10 em resposta a IFN-  $\alpha$ , um dos membros da família dos IFN-tipo I. Por sua vez, CXCL10 recruta células T helpers tipo

1 (Th1) para a pele lesionada, iniciando ações imunológicas mediadas por Th1, que podem resultar na apoptose dos queratinócitos (Zhou *et al.*, 2021).

Em decorrência da apoptose, ocorre a exposição de autoantígenos, que então são apresentados ao sistema imune, deflagrando a resposta inflamatória (Casciola-Rosen *et al.* 1994; Casciola-Rosen e Rosen, 1997; Wolf *et al.*, 2018). A relação da RUV com a formação dos autoantígenos e autoanticorpos é apoiada na literatura pelos achados que demonstram que a pele não lesionada de pacientes com LEC apresenta expressão aumentada da proteína Ro52 após exposição à RUV e autoanticorpos Ro52, são encontrados em lesões cutâneas de LEC. Outra evidência é que a RUV pode levar a translocação da nucleoproteína HMGB1 (do inglês *High Mobility Group Box Protein 1*) para o citoplasma. Essa evidência é demonstrada nas lesões cutâneas de LEC, onde se observa aumento da expressão e translocação de HMGB1. Além disso, nos queratinócitos apoptóticos, a HMGB1 é translocada para o citoplasma e se liga ao DNA para formar imunocomplexos que ativam células dendríticas plasmocitoides, responsáveis pela produção de IFN tipo I (Zhou *et al.*, 2021).

Em resumo, esses achados sugerem que a apoptose induzida pela RUV desencadeie a exposição de autoantígenos e a produção e liberação de citocinas que recrutam novas células inflamatórias e imunes. Dentre elas, linfócitos autorreativos T e B e células dendríticas, que possivelmente produzam e mantenham o processo inflamatório, resultando na destruição tecidual (Rosenbaum e Werth, 2005; Kirchhof e Dutz, 2014; Achtman e Werth, 2015; Zhou *et al.*, 2021).

### 3.6.5 Células B

No LE, a produção de autoanticorpos contra antígenos próprios ocorre principalmente pela perda de tolerância das células B. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar esse quadro, como por exemplo o aumento da apoptose celular e defeitos na limpeza dos debris das células apoptóticas. Mas outro possível fator desencadeante da perda de tolerância poderia decorrer de “erros” nos vários estágios de desenvolvimento das células B, principalmente no estágio das células B de transição – TrB (do inglês *transitional B cell*). Esses “erros” levariam à sobrevivência e proliferação de células B autorreativas e, assim, à persistência do processo inflamatório no LE (Maz e Kahlenberg, 2020).

Liu *et al.* (2019) demonstraram a relação entre a hiperatividade do Interferon tipo I e a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6, pelas células B de transição. Outros trabalhos também comprovaram que os níveis do fator ativador de células B (BAFF - do inglês *B-cell activating factor* ou BLyS - citocina da família TNF, regulador da homeostase das células B periféricas e do desenvolvimento e sobrevivência das células B de transição) estão aumentados nos pacientes com LES (Landolt-Marticorena *et al.*, 2011; Samy *et al.*, 2017). Além disso, Belimumab, um inibidor de BAFF, pode levar à seleção negativa de células B autorreativas ativadas (Huang *et al.*, 2018). O conjunto desses trabalhos demonstra a contribuição das células B para a patogênese do LES.

Já no LEC, a participação das células B pode ser observada em alguns estudos. Chong *et al.* (2014) demonstraram expressão aumentada de

BAFF (BLyS) na epiderme de lesões cutâneas de LE discoide, em comparação com controles saudáveis e lesões de psoríase. Wenzel *et al.* (2018) demonstraram a expressão aumentada de BAFF (BLyS) através de imuno-histoquímica e análise da expressão gênica nas lesões cutâneas de vários subtipos de LEC.

Recentemente, alguns estudos têm demonstrado boa resposta com o tratamento com Belimumab de casos resistentes de LEC não responsivos a terapêuticas habituais (Dresco *et al.*, 2020; Salle *et al.*, 2020). Esses dados sugerem que as células B têm um papel relevante na patogênese do LEC (Maz e Kahlenberg, 2020).

### **3.6.6 Células T**

As células T contribuem na patogênese do LES através de diversos mecanismos como a secreção de citocinas pró inflamatórias e o auxílio às células B. Além disso, os linfócitos Th17 (do inglês *T helper*) que expressam IL17 estão aumentados na circulação de pacientes com LES e se relacionam com a atividade da doença. Estudos demonstram que o aumento das células Th 17 produtoras de IL17 e a diminuição de células T reg (do inglês *T Regulatory Cells*) no LES, contribuem para a nefrite lúpica (Maz e Kahlenberg, 2020).

No LEC, a importância das células T está na função citotóxica que ela exerce contra as estruturas da pele, particularmente os queratinócitos basais (Maz e Kahlenberg, 2020; Fetter *et al.*, 2022).

### 3.6.7 Neutrófilos

Os neutrófilos têm um papel relevante na patogênese do LES. Como um mecanismo da imunidade inata, os neutrófilos formam uma rede extracelular (NETs - do inglês *neutrophil extracellular traps*), constituída, principalmente, pelo material nuclear do neutrófilo e o conteúdo de seus grânulos citoplasmáticos. Como consequência, o neutrófilo passa por um processo de morte celular denominado NETosis.

Embora esse mecanismo ocorra com o intuito de conter e eliminar patógenos, estudos recentes o associam a algumas patologias autoimunes como o LES (Maz e Kahlenberg, 2020).

Essa teoria é apoiada por algumas evidências como: a) presença em pacientes com LES de um tipo anormal de neutrófilo chamado granulócito de baixa densidade, que produz e libera excessivamente NETs; b) o soro de pacientes portadores de LES tem a capacidade de induzir a formação de NETs; c) complexos de DNA presentes dentro das redes podem acionar a produção de autoanticorpos pelas Células B (Maz e Kahlenberg, 2020).

As Nets parecem também estar envolvidas no LEC. Villanueva *et al.* (2011), observaram que os granulócitos de baixa densidade estão associados às lesões cutâneas de LEC e Denny *et al.* (2010), demonstraram a presença das NETs nas lesões de LEC. A RUV pode, também, induzir NETosis, o que poderia explicar a ligação entre a exposição solar e as lesões cutâneas do LE (Neubert *et al.*, 2019).

### **3.6.8 Células dendríticas**

As células dendríticas (DC) (do inglês *Dendritic cells*) são células da imunidade inata que atuam como células apresentadoras de antígenos e são importantes tanto para ativação quanto para a tolerância imunológica (Kaewraemruaen *et al.*, 2020).

No LE, exercem um importante papel na patogênese da doença, estando envolvidas em diversas etapas, desde a produção de citocinas que medeiam a cascata dos fenômenos inflamatórios até o processamento inapropriado ou apresentação anormal de antígenos, que culminam na produção de autoanticorpos (Kirchhof e Dutz, 2014; Jarrett e Werht, 2019; Kaewraemruaen *et al.*, 2020).

## **3.7 Células Dendríticas**

### **3.7.1 Histórico**

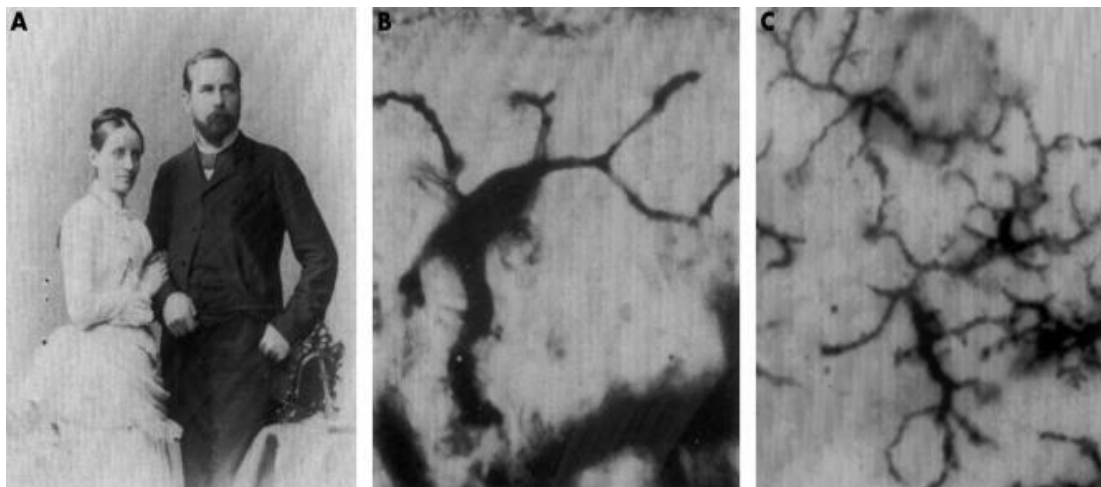
Em 1868, Paul Langerhans descreveu células epidérmicas com formatos estelares, que receberam seu nome (Langerhans, 1868). Porém, somente quase 100 anos depois, Silberberg (1973) demonstrou que essas células pertenciam ao sistema imunológico. Simultaneamente, em 1973, o trabalho de Steinman e Cohn (1973) permitiu a identificação de células dendríticas no tecido linfóide e sua relação funcional com as células de Langerhans. Mas somente em 1993, as células dendríticas dérmicas foram descobertas (Kashem *et al.*, 2017).

Somente após a percepção da extraordinária capacidade das DC para apresentação de antígenos houve um crescente interesse em sua biologia.

Desde então, as células dendríticas vêm sendo estudadas, e são uma grande promessa para a terapia de doenças humanas. Isso porque as DC podem tanto melhorar a imunidade, podendo ser utilizadas no combate ao câncer como também podem induzir a tolerância, que é essencial no caso de transplantes e doenças autoimunes (Waisman *et al.*, 2017).

Porém, apesar dos trabalhos crescentes, suas complexas características e seu papel no sistema imune permanecem ainda não totalmente esclarecidos, tornando necessário seu estudo (Valladeau e Saeland, 2005; Novak *et al.*, 2010).

Abaixo, na Figura 1, imagens ilustrativas de Paul Langerhans e da célula descrita por ele.



**Figura 1 - (A) Paul Langerhans com sua esposa; (B) imagem da célula retratada em 1868: a célula de Langerhans; (C) Imagem digital imunofluorescente moderna, que, apesar de toda tecnologia, acrescenta pouco à sua representação original [Fonte: Jolles, 2002]**



### 3.7.2 Origem, função e nomenclatura

As células dendríticas são um grupo heterogêneo de células, derivadas em sua grande maioria de precursores hematopoiéticos da medula óssea (Seré *et al.*, 2012; Ganguly *et al.*, 2013; Collin e Bigley, 2018). Existem em pequenas quantidades em tecidos com interface com o meio exterior, principalmente a pele, nariz, pulmões, intestinos mas também em tecidos linfoides como baço, timo, nódulos linfáticos. São encontradas também em estado imaturo no sangue.

Um aspecto importante é a grande diversidade de subtipos de DC, com diferenças funcionais consideráveis.

Em um ambiente normal, as células dendríticas são responsáveis pela vigilância imunológica, pela proteção contra patógenos e pela apresentação de antígenos (Fransen *et al.*, 2010; Kashem *et al.*, 2017; Waisman *et al.*, 2017). As DC são sentinelas especializadas e fazem a ligação entre o sistema imune inato e o sistema imune adaptativo. Elas reconhecem patógenos por meio de padrões de receptores de reconhecimento, incluindo a lectina do tipo C e os receptores do tipo toll (do inglês *Toll-like receptors - TLRs*), e então migram para áreas linfoides contendo células T, onde apresentam os antígenos derivados dos patógenos às células T especializadas. Por outro lado, as DC são responsáveis também pela manutenção da tolerância imunológica. Elas participam da fagocitose de células apoptóticas e de debris celulares. Essas ações são importantes para a prevenção da exposição de autoantígenos e, em consequência, para a prevenção da formação de reações imunes a eles (Fransen *et al.*, 2010; Kashem *et al.*, 2017; Waisman *et al.*, 2017).

Assim, de acordo com a natureza dos primeiros sinais que recebem, as DC através das citocinas secretadas e das proteínas expressas em sua superfície, conseguem determinar o tipo de polarização de resposta das células T, levando a respostas imunes divergentes. Dessa forma, além de sua função clássica de conduzir respostas adaptativas do tipo Th1, as DCs podem ser polarizadas em direção a uma resposta do tipo Th2, ou em direção à tolerância imunológica periférica através da indução de células T reguladoras, sendo assim consideradas como os principais reguladores da imunidade (Fransen *et al.*, 2010; Kaewraemruaen *et al.*, 2020).

Existem vários tipos de DC no organismo humano e eles podem ser identificados de várias formas (Merad e Ginhoux, 2007; Stebut, 2011).

Embora todas as DC sejam capazes de capturar, processar e apresentar antígenos para células T, diferem em localização, caminhos de migração, função imunológica e dependência de estímulos inflamatórios ou infecciosos para sua geração (Shortman e Naik, 2007). Tradicionalmente, são definidas com base em sua morfologia celular, na expressão de marcadores específicos e características funcionais, como a capacidade de migrar para áreas de células T de órgãos linfoides secundários e ativar linfócitos T (Schraml e Reis e Sousa, 2015). No entanto, essas propriedades podem se modificar em condições de inflamação ou infecção (Schraml e Reis e Sousa, 2015). Assim, as DC formadas em condições normais podem ser diferentes daquelas formadas durante a resposta inflamatória. As DCs podem, também, ser nomeadas pela sua localização anatômica. Nesse sentido, podem ser divididas em DC teciduais e DC residentes nos linfonodos (Collin e Bigley, 2018).

Por outro lado, uma forma mais atual de denominá-las é pela origem da linhagem de seu precursor, independente do fenótipo, função ou localização (Schraml e Reis e Sousa, 2015; Kashem *et al.*, 2017; Collin e Bigley, 2018). Mais recentemente, estudos de expressão genética permitiram determinar que as DC se originam de um precursor próprio (Kashem *et al.*, 2017). A partir desse precursor, originam-se as células dendríticas plasmocitoides (do inglês *plasmacytoid dendritic cell*, pDC) (também chamadas de não convencionais por sua forma não estelar, lembrando um plasmócito) e células dendríticas convencionais ou clássicas (do inglês *conventional dendritic cell*, cDC) (Schraml e Reis e Sousa, 2015; Worbs *et al.*, 2017). As pDC diferenciam-se terminalmente na medula óssea e as células convencionais, ainda na forma de um precursor, migram através do sangue para órgãos linfoides e não linfoides, onde terminam sua diferenciação (Kaewraemruaen *et al.*, 2020). As DC convencionais podem também ser denominadas de DC mieloides (Collin e Bigley, 2018). O termo "mieloide" foi introduzido há cerca de duas décadas, e permanece válido para definir um grupo comum de antígenos presentes nas células dendríticas convencionais. Neste estudo, os termos "mieloide" e "convencional" serão usados em conjunto para descrever as células dendríticas desta classe (Collin e Bigley, 2018). Assim, utilizando essa nomenclatura, há as DC plasmocitoides (pDC) e DC convencionais (cDC).

Uma categoria separada de células dendríticas são as chamadas células dendríticas foliculares (do inglês *follicular dendritic cell*, fDC). Recebem esse nome porque estão presentes nos centros germinativos dos folículos linfoides (Seitz e Matsushima, 2010; El Shikh *et al.*, 2022).

As fDC são células não hematopoiética, derivadas de células tronco mesenquimais desenvolvendo-se a partir de células perivasculares (Aguzzi *et al.*, 2014; El Shikh *et al.*, 2022). Por se localizarem nos órgãos linfoides e apresentarem aparência dendrítica, foram por muito tempo erroneamente consideradas um subtipo de células convencionais (Aguzzi *et al.*, 2014).

Portanto, para este estudo, foram utilizadas as denominações de células dendríticas convencionais (cDC), plasmocitoides (pDC) e foliculares (fDC).

### **3.7.3 Células dendríticas convencionais**

As células dendríticas convencionais ou clássicas são consideradas o protótipo das células apresentadoras de antígenos dentro do sistema imune. Apresentam algumas características como o aspecto estelar, expressão MHC classe II, e a capacidade de captar antígenos e migrar para linfonodos para apresentar os antígenos captados para linfócito T naive (Worbs *et al.*, 2017). Têm grande expressão na sua superfície de CD1a+, além de outros marcadores. São encontradas na pele, na mucosa, no baço, no sangue e nos linfonodos. Diferem-se das pDcs, além do fenótipo, mas também por propriedades funcionais como maior ativação e diferenciação das células T devido à capacidade de apresentação de antígenos e produção de citocinas (Kaewraemruaen *et al.*, 2020). São grandes secretoras de IL12 e suas duas principais funções são induzir respostas imunes adaptativas específicas a patógenos e manter a autotolerância. Esta imunovigilância coloca a cDC na interface da imunidade inata e adaptativa (Seitz e Matsushima, 2010; Chan *et al.*, 2012).

São divididas em dois subtipos: cDC1 e cDC2, que se diferenciam pelo fenótipo, função e fatores de transcrição. Desses, os fatores reguladores de interferon (do inglês *interferon regulatory factor*), IRF 4 e 8 são muito importantes.

Tais fatores regulam a indução da resposta inata, obtida por diversos receptores de reconhecimento de padrões durante as infecções, além da apresentação de antígenos restritos ao complexo maior de histocompatibilidade classe (MHC) I e II, induzindo as células T para uma resposta imune ou de tolerância (Sirvent *et al.*, 2020). O IRF 8 é necessário para o desenvolvimento da cDC1, enquanto o IRF 4 é fundamental para o desenvolvimento da cDC2 (Kaewraemruaen *et al.*, 2020).

Anteriormente, as células de Langerhans (CL) eram consideradas uma das mais importantes células dendríticas mieloides ou convencionais residentes na pele (Seitz e Matsushima, 2010; Ganguly *et al.*, 2013). Atualmente, devido à descoberta de sua origem a partir de macrófagos de saco vitelínico e monócitos de fígado fetal, as células de Langerhans epidérmicas passaram a ser consideradas, por alguns autores, como um grupo de células dendríticas à parte (Kaewraemruaen *et al.*, 2020). Por essa razão, neste estudo, serão descritas separadamente.

### 3.7.4 Células dendríticas plasmocitoides

As células dendríticas plasmocitoides, estão presentes no sangue e órgãos linfoides e expressam na superfície CD123 (interleucina-3 receptora de cadeia alfa), CD303 (ou BDCA-2 do inglês *Blood Derived Dendritic Cell Antigen-2*) e os receptores Toll-like (TLRs, do inglês *Toll like receptor*) 7 e 9 (Seitz e Matsushima, 2010; Dias de Oliveira *et al.*, 2021; Bardawil *et al.*, 2021).

Comparativamente às células dendríticas convencionais, as pDCs ativam pouco as células T por terem menor expressão de MHC classe II e moléculas coestimuladoras e estão envolvidas com a produção de Interferon Tipo I (IFN I) (Seitz e Matsushima, 2010; Chan *et al.*, 2012; Kashem *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018; Jarrett e Werht, 2019, Kaewraemruaen *et al.*, 2020).

As pDcs exercem inúmeras funções. Na resposta imune inata, agem produzindo uma resposta rápida às infecções virais por meio da produção de IFN tipo 1 e apoptose das células infectadas. Além disso, promovem maior ativação de células NK (do inglês Natural Killer) através do IFN tipo I e a produção de IL-12 e IL18.

No entanto, seu papel na imunidade adaptativa é muito mais amplo, apresentando diversas funções, como: a) tornam-se apresentadoras de antígenos tanto para linfócitos T CD4+ (do inglês *helper T lymphocytes cells*) como para CD8+, através da expressão das moléculas MHC classe I e II juntamente com coestimuladores (CD80, CD86, CD40); b) promovem uma resposta Th1 (do inglês *T helper 1*); c) influenciam a ativação da célula B assim como a expansão e estimulação de plasmócitos e a secreção de

anticorpos; d) expressam IDO (indoleamine 2,3-dioxigenase) e induzem a produção de TGF- $\beta$  (fator de crescimento transformador beta) e IL6 que podem gerar resposta T reg (T reguladora) ou resposta Th17, respectivamente; e) tornam-se capazes de regular a imunidade através da destruição de células tumorais, da indução da apoptose de células T CD4+ infectadas e a supressão da proliferação de células T; f) secretam quimiocinas que atraem as células imunes para os locais de inflamação (Kaewraemruaen *et al.*, 2020; Dias de Oliveira *et al.*, 2021).

### 3.7.5 Células dendríticas foliculares

As células dendríticas foliculares expressam vários marcadores de superfície, sendo um deles o CD21. São formadas nos gânglios linfáticos e são responsáveis pela ativação dos linfócitos B (El Shikh *et al.*, 2022).

Estão presentes nos centros germinativos dos folículos linfoides dos linfonodos, do baço e nos tecidos linfoides associados à mucosa (Seitz e Matsushima, 2010).

Diferentemente das DCs convencionais que ativam células T “naive” pela apresentação de antígeno processado por meio de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC), as fDC parecem apresentar antígeno não processado na forma de imunocomplexos para células B (Aguzzi *et al.*, 2014; El Shikh *et al.*, 2022).

Esse recurso, juntamente com o fornecimento de quimiocinas, moléculas de adesão e fatores tróficos, permite que as fDC moldem as respostas das células B e moldem o microambiente local.

Dessa forma, as fDC têm um papel de ligação entre a resposta inata e adaptativa relacionada às células B (Aguzzi *et al.* 2014).

A participação das fDC também é importante para a manutenção dos folículos de células B funcionantes. Para tanto, as fDC trabalham em colaboração mútua com as células B. Enquanto as fDC fornecem sinais para sequestrar e manter as células B dentro dos folículos, as células B são essenciais para o desenvolvimento e manutenção das fDC através do fornecimento de TNF e Linfotóxina. Órgãos linfoides que não possuem células B ou qualquer dessas citocinas também são desprovidos de fDC, o que demonstra a interdependência entre as fDC, células B e os folículos linfoides. Portanto, as fDC são uma parte constitutiva dos folículos das células B nos órgãos linfoides secundários (linfonodos, baço e os tecidos linfoides associados à mucosa) que monitoram continuamente o sangue e a linfa para patógenos que chegam (Aguzzi *et al.*, 2014).

As fDC reconhecem estímulos inatos por intermédio dos receptores de reconhecimento Toll-lik e, a partir daí, amplificam as respostas adaptativas. Além disso, controlam a remoção de células B apoptóticas do centro germinativo (Aguzzi *et al.*, 2014; Abbas *et al.*, 2015). A remoção de células B apoptóticas mediada por fDC tem um papel crucial na prevenção da autoimunidade. No entanto, as fDC podem, também, contribuir para a mesma, ao mediar o recrutamento de células T helpers foliculares autorreativas e, ao reterem complexos autoimunes, levam à seleção de células B autorreativas (Aguzzi *et al.*, 2014).

Outra forma de participação das fDC nos centros germinativos é



através do fornecimento de citocinas (Aguzzi *et al.*, 2014). Elas são fonte de Fator Ativador de Células B (BAFF ou BlyS do inglês *B-Lymphocyte stimulator*) e podem, dessa forma, impactar a sobrevivência de células B foliculares e centros germinativos. Isso porque a sinalização mediada pela citocina BAFF é necessária para a homeostase das células B em desenvolvimento e, do mesmo modo, para as células B maduras. As fDC também produzem a citocina próinflamatória interleucina 6 (IL-6). Estudos em camundongos sem essa citocina demonstraram redução do tamanho dos centros germinativos de células B (Aguzzi *et al.*, 2014).

Além disso, as fDC impactam a manutenção e dinâmica dos centros germinativos por meio de uma cascata de sinalização. Em resumo, as fDC tanto contribuem para autoimunidade por exibição de autoantígenos como previnem a autoimunidade por serem importantes guardiões da tolerância, graças à regulação da limpeza de células apoptóticas, selecionando negativamente as células B autorreativas e induzindo a geração de DC tolerogênicas incapazes de estimular as células T (Aguzzi *et al.*, 2014).

Por outro lado, durante condições inflamatórias e infecções crônicas, as fDC também podem ser geradas “de novo” em órgãos não linfoides. Por conseguinte, a presença persistente de antígenos pode provocar a reorganização do tecido em tecidos linfoides terciários, também denominados ectópicos, contendo centros germinativos e fDC totalmente diferenciados (Silva-Sanchez *et al.*, 2018; El Shikh *et al.*, 2022). Segundo Aguzzi *et al.* (2014), as fDC presentes em tecidos linfoides terciários seriam provenientes de precursores estromais, mesenquimais, mais comumente,

residentes em seus órgãos alvos, nos espaços perivasculares, estando lá mesmo antes da formação dos tecidos linfoides terciários. Entretanto, os tecidos linfoides terciários podem quase aparecer em qualquer parte do corpo. Assim, as fDC podem surgir rapidamente a partir da vascularização intrínseca tecidual onipresente e participam dos tecidos linfoides terciários recém-montados (Aguzzi *et al.*, 2014). Segundo Silva-Sanchez *et al.* (2018), os tecidos linfoides terciários estão associados a infecções crônicas e doenças inflamatórias e autoimunes. Na literatura, foram encontrados estudos da presença de estruturas linfoides ectópicas em diversas doenças como artrite reumatoide (El Shikh *et al.*, 2022), nefrite lúpica (Chang *et al.*, 2011), nas glândulas salivares de pacientes com Síndrome de Sjögren (Silva Santos *et al.*, 2018), e no Líquen plano oral (Navas Alfaro *et al.*, 2003). Bombardieri *et al.* (2012), em estudo experimental, conseguiram induzir tecido linfoide ectópico nas glândulas salivares de camundongos imunossuprimidos. Segundo Larsson e Warfvinge (1998), os folículos linfoides terciários podem ocasionalmente se desenvolver em reações liquenoides orais em locais normalmente carentes de tecido linfoide.

Embora essas estruturas sejam associadas às infecções crônicas e às doenças inflamatórias, Silva-Sanchez *et al.* (2018) as consideram como um componente normal do sistema imunológico, embora temporário, cujo papel é atenuar a inflamação e a infecção, facilitando as respostas imunes locais.

Diversas DC localizam-se na pele e são responsáveis, juntamente com outras células do sistema imune, pela manutenção da homeostasia e indução da resposta inflamatória cutânea (Kashem *et al.*, 2017).

### **3.8 Células Dendríticas da Pele**

A pele é a principal barreira física entre o organismo e o ambiente externo, mas também participa ativamente da defesa do hospedeiro pela capacidade de gerar e manter reações imunes e inflamatórias. Para tanto, é constituída de linfócitos e células dendríticas entre outras, formando, assim, um sistema imune cutâneo (Valladeau e Saeland, 2005).

Para melhor entender as células dendríticas localizadas na pele, pode-se dividi-las didaticamente em epidérmicas e dérmicas.

#### **3.8.1 Células Dendríticas Epidérmicas**

Na epiderme, especificamente nas camadas basais e suprabasais, há uma densa rede de células de Langerhans. Elas representam 3% a 5% da população total de células epidérmicas e sua densidade varia de 200 a 1000 células/mm<sup>2</sup>, dependendo da área anatômica. Em condições normais, as CL são as únicas células apresentadoras de antígenos residentes na epiderme (Kashem *et al.*, 2017).

#### **3.8.2 Células Dendríticas Dérmicas**

As células dendríticas dérmicas (DDC do inglês *Dermal Dendritic cells*) localizam-se na matriz extracelular, na parte superior da derme reticular e na região próxima aos capilares. Assim como seus homólogos CL na epiderme, são capazes de alertar o sistema imune ao receber um sinal de perigo. São compostas de várias subpopulações de diferentes origens como alguns

subtipos de cDCs, a cDC1 e cDC2, oriundas do progenitor derivado de células tronco hematopoiéticas de células dendríticas convencionais, que regularmente repovoa a derme. Esses subtipos de cDCs diferem entre si pelas expressões de moléculas de superfície, como a expressão de Langerina (CD207) e CD1a, assim como as CL presentes na epiderme, mas que se diferem destas pela presença de outros marcadores (Worbs *et al.*, 2017).

Ainda na derme, foram encontradas células dendríticas que se originam dos monócitos e que são recrutadas para a derme, principalmente durante a inflamação (Worbs *et al.*, 2017).

Também na derme, pode-se encontrar as células dendríticas plasmocitoides (pDC), também conhecidas como células naturais produtoras de interferon alfa/beta e que raramente estão presentes na pele normal (Worbs *et al.*, 2017). Embora sua origem seja linfoide, elas podem estar presentes na derme em condições inflamatórias (Kashem *et al.*, 2017). Dependendo do contexto e sinais recebidos, podem induzir tolerância ou ativar resposta imune (Swiecki e Colonna, 2015).

Pouco se sabe sobre a movimentação das pDcs "*in vivo*". No entanto, as pDCs apresentam algumas características que permitem indicar uma possível migração para a epiderme como por exemplo: a) expressão de receptores de quimiocinas, responsáveis pela movimentação de células de Langerhans para a pele; b) expressão de CXCR (do inglês *Chemokine receptor*) 3, cujos ligantes são altamente expressos na pele inflamada; c) expressão de receptores que se ligam a vasos inflamados dérmicos (Worbs *et al.*, 2017).

Estudos em camundongos e humanos descreveram a pDC em pele normal, embora em níveis muito baixos (Palamara *et al.*, 2004; Valladeau e Saeland, 2005).

Embora raras na pele normal, as pDC foram descritas em maior concentração em localizações cutâneas de diversos processos inflamatórios, tais como na dermatite atópica, na dermatite de contato, na psoríase e nas lesões cutâneas de LE (Valladeau e Saeland, 2005; Farkas *et al.*, 2001; McNiff e Kaplan, 2008; Tomasini *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2014; Kolivras *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2019b; Dias de Oliveira *et al.*, 2021).

Além da pele, as células dendríticas podem, também, estar presentes nas mucosas, representadas por diferentes subpopulações (Borgne *et al.*, 2007; Novak *et al.*, 2010; Hovav, 2014).

### **3.9 Células dendríticas das mucosas**

As membranas mucosas apresentam diversas populações de células dendríticas (DC), cuja distribuição varia de acordo com a natureza do revestimento epitelial e o estado inflamatório do tecido (Hovav, 2014). Nas mucosas em monocamada (intestino) ou pseudoestratificada (pulmões) as DC estão localizadas, essencialmente, na lâmina própria, e são pouco representadas no epitélio (Borgne *et al.*, 2007). Já nas mucosas com epitélio pluriestratificado como a oral, vaginal e a mucosa retal, as DC localizam-se nas camadas epiteliais e no tecido conjuntivo da lâmina própria (Borgne *et al.*, 2007). Há, também, diferenças entre as subpopulações de DC presentes nas diferentes mucosas. Como exemplo: nas mucosas nasais predominam

as pDC e as cDC que expressam lectinas específicas e exclusivas como a CD 206 e CD 209 (Novak *et al.*, 2010). Já na mucosa oral, um conjunto de células apresentadoras de antígenos MHCII+ está presente tanto no epitélio quanto na lâmina própria. No epitélio, a população predominante de células dendríticas consiste nas células de Langerhans que expressam langerina/CD207 e CD1a. Na lâmina própria, são representadas por macrófagos e uma menor população de subtipos de células dendríticas que compreende, principalmente, células dendríticas convencionais tipo 2 CD1c+ (cDC2) e subpopulações menores de células apresentadoras de antígenos expressando CD1a ou langerina (Solhaug *et al.*, 2022).

Devido à importância de sua participação tanto na pele quanto na mucosa e por apresentarem características próprias, as células de Langerhans serão estudadas à parte.

### **3.10 Células de Langerhans**

Na pele e na mucosa, as células de Langerhans (CL) representam uma forma única e especializada de DC que são pensadas para mediar as principais funções da pele/mucosa no fornecimento de resposta e tolerância imunológica (Sirvent *et al.*, 2020). São consideradas únicas porque apresentam tanto características de macrófagos quanto de células dendríticas. Originam-se, assim como os macrófagos, de progenitores do saco vitelino e de monócitos de fígado fetal, que povoam a epiderme durante a fase embrionária (Hoeffel *et al.*, 2012; Ginhoux e Jung, 2014; Guilliams *et al.*, 2014; Guilliams e van de Laar, 2015; Clayton *et al.*, 2017; Doebel *et al.*,

2017; Kaewraemruaen *et al.*, 2020). Mas seu fenótipo e funções são semelhantes às das células dendríticas convencionais, como a eficiente capacidade de apresentar antígenos para as células T “naive” (Clayton *et al.*, 2017; Doebel *et al.*, 2017; Sirvent *et al.*, 2020). No entanto, diferenciam-se das células convencionais por serem reguladas por genes que são influenciados pelos fatores reguladores de Interferon (IRF) 4 e 1, em combinação com outros fatores (Sirvent *et al.*, 2020; Davies *et al.*, 2021).

Fenotipicamente, as CL humanas caracterizam-se pela grande expressão em sua superfície de CD1a e Langerina (CD207), uma lectina do tipo C (Achachi *et al.*, 2015; Sirvent *et al.*, 2020). No nível ultra estrutural, a CL apresenta caracteristicamente uma organela citoplasmática única conhecida como grânulo de Birbeck (GB), em formato de raquete de tênis (Kashem *et al.*, 2017). O GB é formado por Langerina, a qual funciona como um marcador-chave da linhagem CL (Polak *et al.*, 2014). As lectinas do tipo C (um tipo de domínio proteico (Abbas *et al.*, 2015) são capazes de fazer a ligação com porções de carboidratos presentes em microrganismos, permitindo que as CL internalizem antígenos. Além disso, a presença desse domínio permite que as CL tenham funções diversificadas que incluem a adesão célula a célula, resposta imune aos patógenos e à apoptose (Achachi *et al.*, 2015; West e Bennett, 2018). As CL ainda estão implicadas na absorção de alérgenos, através da expressão de receptores de alta e baixa afinidade à IgE e à proteína de ligação à IgE. Finalmente, as CL são potentes células apresentadoras de antígenos (APC) na pele/mucosa aos linfócitos T “naive”. Podem expressar tanto moléculas MHC de classe I quanto de classe II (Polak *et al.*, 2014; Kashem *et al.*, 2017; Sirvent *et al.*, 2020).

No contexto da MHC classe II, iniciam a resposta antígeno específica por intermédio dos linfócitos T CD4, ativando células T CD4 “naive” em linfonodos drenantes da pele assim como células T CD4 de memória residentes na pele (Sirvent *et al.*, 2020). São também eficientes na apresentação de antígenos no contexto da MHC classe I, resultando na ativação e expansão das células T CD8 efectoras, antígeno específico (Sirvent *et al.*, 2020). Têm a capacidade de projetar seus dendritos através das junções intercelulares para adquirir o antígeno do estrato córneo (Kashem *et al.*, 2017; Sirvent *et al.*, 2020). Quando um antígeno (Ag) proteico entra através da pele/mucosa, as CL ligam esse Ag à sua superfície e o processa. Para que isso aconteça, as CL saem de um estado inicialmente imaturo e sofrem um processo de maturação que se inicia a partir da reação dessas células a sinais característicos (oriundos de infecção, inflamação ou da destruição de tecidos) e que culmina com a migração, interação com linfócitos T “naive” e o início de uma resposta imunológica específica. Durante o processo de maturação, as CL são transformadas de células predominantemente de captura de antígeno a células apresentadoras de antígenos (Fransen *et al.*, 2010, Kashem *et al.*, 2017; Sirvent *et al.*, 2020).

Os sinais que estimulam as CL incluem: produtos derivados de agentes patogênicos, ligação desses com receptores de Toll-like, genes que promovem a capacidade de resposta ao estresse oxidativo e às citocinas inflamatórias, fator regulador de Interferon 4 (IRF4) e citocinas inflamatórias como TNF alfa, IL1 e IL 2 (Borgne *et al.*, 2007; Kashem *et al.*, 2017; Sirvent



*et al.*, 2020). Sob esses estímulos, as CL sofrem redução de sua adesividade e, carregando o Ag processado, migram da epiderme para os vasos linfáticos e dali para os linfonodos regionais, onde passam a residir nas regiões parafoliculares do córtex, recebendo a denominação de células dendríticas interdigitantes. Finalmente, nos linfonodos, apresentam o Ag às células T CD4<sup>+</sup> “naive”, que penetram no gânglio a partir do sangue (Kashem *et al.*, 2017).

Alguns mecanismos interferem na migração das CL, como a indução de citocinas e a expressão das matrizes das metaloproteinases (MMP) 9 e 2, que são necessárias para haver a migração. Ainda a expressão de receptores de quimiocinas, tais como CCR7 e CCR2 (que se modificam por sinais inflamatórios) podem controlar a migração das CL tanto do sangue para a epiderme, quanto desta para os linfonodos regionais.

Durante sua migração, as CL aumentam sua expressão de moléculas MHC da classe II e de coestimuladores, bem como sua capacidade de processamento de antígenos, tornando células apresentadoras de antígenos (APCs) altamente eficientes (Kashem *et al.*, 2017).

Como é feita a reposição das CL na epiderme, ainda não está muito esclarecido. Acredita-se que, sob certas circunstâncias, as CL mantêm-se localmente e se replicam na epiderme (Solhaug *et al.*, 2022) ou são repovoadas por meio da diferenciação de um precursor de CL encontrado nos folículos pilosos (Gilliam *et al.*, 1998; Nagao *et al.*, 2012). Porém, quando a pele é o local da inflamação ou está sob fortes estímulos inflamatórios, como radiações ultravioletas, a CL é renovada a partir dos

precursores mieloides circulantes tais como os monócitos (Merad *et al.*, 2002; Borgne *et al.*, 2007; Seré *et al.*, 2012; Crispin *et al.*, 2013; Reich e Mędrek, 2013; Achachi *et al.*, 2015; Kashem *et al.*, 2017, Solhaug *et al.*, 2022) Segundo Achachi *et al.* (2015), durante a recuperação da inflamação epidérmica induzida pela RUV, dois subgrupos de DC inflamatórias se desenvolvem e são consideradas precursoras das CL. Essas células dendríticas expressam CD1a. Entretanto, podem expressar, ou não, CD207, surgindo após a exposição solar e dotadas de propriedades de ativação das células T semelhantes às CL (Achachi *et al.*, 2015).

### **3.11 Células dendríticas e a radiação ultravioleta (RUV)**

A radiação ultravioleta (RUV) tem um impacto importante na homeostase da pele (Ullrich e Byrne, 2012). Ela leva à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), neuropeptídeos e citocinas, que interferem na função de apresentação de antígenos das células dendríticas (Ullrich, 2005; Wolf *et al.*, 2018). Além disso, a inflamação cutânea induzida pela RUV é responsável por alterações na morfologia e no tráfico das DC na epiderme, promovendo uma imunossupressão local temporária (Seité *et al.*, 2003; Gibbs e Norval, 2013).

Inicialmente após a exposição à RUV, as CL migram para os linfonodos drenantes da pele, resultando em uma diminuição do número de células na epiderme. Ao mesmo tempo, monócitos circulantes são recrutados para a pele, onde medeiam funções imunossupressoras pela ativação de linfócitos T supressores e liberação de IL10.

A depleção das células dendríticas epidérmicas (Células de Langerhans) pela exposição à RUV já foi demonstrada em diversos estudos (Meunier, 1999; Laihia e Jansen, 2000; Facy *et al.*, 2005; Bechetoille *et al.*, 2007; Achachi *et al.*, 2015) e é relatada, ainda, após a exposição crônica (Macve *et al.*, 2004; McLoone *et al.*, 2005), inclusive, essa depleção já foi observada por Janssens *et al.* (2005) na epiderme de pele não lesada de paciente de LE, exposta à RUVB, onde a diminuição da CL ocorreu independentemente do tipo de LE (LED, LECSA, LES).

Hatakeyama *et al.* (2017) demonstraram que as CL, após fagocitarem queratinócitos apoptóticos induzidos pela RUV, migram para os linfonodos regionais, onde regulam a expansão celular nos linfonodos e, em consequência, a inflamação. Segundo Shipman *et al.* (2018), as CL têm a capacidade de controlar a apoptose de queratinócitos induzida pela RUV e a lesão cutânea decorrente, pela estimulação do receptor do fator de crescimento epidérmico de queratinócitos. Em pesquisas em modelos animais, observaram que o fornecimento desses receptores de ligantes para peles com LES levava a uma redução da fotossensibilidade, demonstrando a importância das CL na fisiopatologia do LE. Berthier *et al.* (2019), em um estudo com 90 biópsias cutâneas de LEC, observaram uma deficiência nas vias de sinalização dos receptores de crescimento epidérmico.

A RUV pode atuar sobre as pDcs, como já foi demonstrado por Rossi *et al.* (2018), na erupção polimorfa à luz (EPL). Nesse estudo, o autor considerou a presença de pDcs, tanto na epiderme quanto na derme das lesões de EPL, assim como nos controles hígidos, após a realização de fototestes com RUVA e RUVB. No entanto, na EPL, a expressão foi muito maior.

No LE, a RUV atua, também, sobre as pDCs, desencadeando a produção dos ligantes de quimiocinas como CXCL9, CXCL10 e CXCL11 que atraem as pDCs e outras células inflamatórias para os locais de agressão tecidual. Em estudo com modelos animais, a RUV-B induziu a ativação e infiltração de pDCs na pele exposta ao sol, as quais se acumularam na junção dermoepidérmica (Yin *et al.*, 2014). Segundo Cederblad *et al.* (1998), enquanto as pDCs se acumulam na lesão cutânea do LE, no LES há uma diminuição das pDCs no sangue.

Todos esses achados demonstram que a RUV exerce ação sobre as células dendríticas, principalmente no LE (Lehmann e Homey, 2009).

### **3.12 Células dendríticas em doenças infecciosas, imunomediadas e outras**

As células dendríticas participam da defesa contra agentes patogênicos e são fundamentais para iniciar tanto a resposta inata quanto a adaptativa. Estão envolvidas em um grande número de doenças, incluindo moléstias infecciosas e parasitárias, dermatoses mediadas por linfócitos T e neoplasias cutâneas.

A importância do papel das células dendríticas na tuberculose pulmonar é comprovada há muitos anos (Lapa e Silva e Boechat, 2004), tendo o importante papel de induzir a resposta imunoprotetora por tempo prolongado. A presença das DC, juntamente com outros tipos de células da linhagem macrófágica, é essencial para o estabelecimento do granuloma, que configura uma proteção do hospedeiro contra a disseminação da infecção (Lapa e Silva e Boechat, 2004).

Nas doenças imunomediadas, a contribuição das DC ainda não está totalmente esclarecida. Estudos de pacientes com diferentes doenças autoimunes, incluindo artrite reumatoide (AR), Esclerose múltipla (EM) e Doença Inflamatória Intestinal (DII) revelaram várias anormalidades na ativação ou função das DC (Minarrieta *et al.*, 2017).

Na psoríase, estão envolvidas tanto as células de Langerhans como plasmocitoides, sendo essas últimas provavelmente responsáveis pela iniciação do processo (Rotsztejn *et al.*, 2012; Glitzner *et al.*, 2014; Raaby *et al.*, 2017; Vyas *et al.*, 2019; Tokuyama e Magushi, 2020).

Moura *et al.*, em 2018, estudaram as células dendríticas na rosácea e identificaram diminuição da expressão de CD1a (células de Langerhans) enquanto as pDcs foram encontradas de forma isolada ou em pequenos “clusters”.

Deguchi *et al.* (2002) estudaram as células apresentadoras de antígenos nas doenças mediadas por linfócitos T. No Líquen Plano (LP), demonstraram o aumento da expressão das células dendríticas epidérmicas e dérmicas que expressam CD1a, em relação ao controle de pele normal. A imunomarcagem dessas células ao redor do infiltrado mononuclear perivascular na derme superficial das lesões foi relacionada com a patofisiologia da doença.

Na literatura, foram encontrados, juntamente, estudos de células dendríticas em variadas doenças localizadas nas mucosas. Por exemplo, no Líquen Plano Oral, foi observado o aumento da expressão de CD1a e Langerina (207) tanto no epitélio como no estroma das lesões, indicando que

as células dendríticas têm papel importante no desenvolvimento do infiltrado inflamatório liquenoide do LP (Santoro *et al.*, 2005; Kulkarni *et al.*, 2016; Souto *et al.*, 2016; Solhaug *et al.*, 2022).

Veasey *et al.* (2020), estudaram as células de Langerhans epiteliais através da expressão de CD1a nas verrugas anogenitais com o intuito de averiguar diferenças na imunidade de pacientes com muitas ou poucas lesões. Entretanto, não observaram diferenças estatísticas entre os dois grupos.

Já nos tumores orais, Silva *et al.* (2020), em um estudo multicêntrico, relacionaram a diminuição da expressão de células CD1a e CD207 com o desenvolvimento de Carcinomas espinocelulares orais, inferindo que esse achado pode ser indicador de transformação nos casos de lesões orais potencialmente malignas, como leucoplasia e fibrose submucosa orais. Apesar disso, não encontraram diferenças estatísticas em relação ao CD 303 (DC plasmocitoide) em relação aos grupos estudados. Por outro lado, Botari *et al.*, em 2014, demonstraram aumento significativo da expressão das células dendríticas CD1a no infiltrado inflamatório da mucosa jugal de 26 pacientes portadores de leucemia mieloide crônica que apresentaram a doença do enxerto versus hospedeiro crônica.

No LE, as células dendríticas estão envolvidas na patogênese, na terapêutica, assim como no diagnóstico diferencial com outras doenças, notadamente o Líquen Plano (Bardawil *et al.*, 2021).

### 3.13 Células dendríticas e lúpus eritematoso

As células dendríticas participam de diversas formas da patogênese do LE, desde a iniciação, amplificação e perpetuação da doença (Kaewraemruaen *et al.*, 2020; Fetter *et al.*, 2022). Elas estimulam a liberação e produção de citocinas inflamatórias como IL6 e IFN tipo I, as quais medeiam a cascata dos fenômenos inflamatórios da doença. Além do mais, parecem apresentar funções alteradas como: diminuição da habilidade de fagocitar células apoptóticas, processamento inapropriado e apresentação anormal de antígenos. Essas ações deficientes levam a uma estimulação excessiva de células B autorreativas que reagem aos antígenos nucleares, levando à manutenção de um estado de autoimunidade (Kirchhof e Dutz, 2014; Fetter *et al.*, 2022). Os efeitos das células dendríticas nas respostas humorais do LE já foram demonstrados em modelos animais por Teichmann *et al.* (2010).

Também se atribui às células dendríticas a participação na quebra da tolerância no LE. O aumento de mediadores inflamatórios decorrentes da formação de autoantígenos, resultantes de apoptose, parece ativar mais facilmente as cDC, levando à diminuição da tolerância (Chan *et al.*, 2012). As cDC participam do desbalanço entre as células T reguladoras (Treg) e Th17 envolvidas na patogênese do LE. Acredita-se que o aumento de citocinas IL6 e TNF alfa decorrente do contato das cDC com os restos apoptóticos, leva à diminuição das T reguladoras e aumento das Th17 (Oukka, 2008; Chan *et al.*, 2012; Kaewraemruaen *et al.*, 2020). O aumento da produção de citocinas da família Th17 (IL17 e IL23) e a diminuição das T reguladoras são observados em pacientes com LES e relacionados com a piora da doença (Oukka, 2008; Chan *et al.*, 2012).

Alterações nas células de Langerhans também já foram descritas. Sontheimer e Bergstresser (1982) identificaram mudanças na morfologia, diminuição na densidade, perda dos processos dendríticos e ocasionalmente a presença de aspectos bizarros nas CLs das lesões de 7 pacientes com LE (5 LECSA e 2 LED). King *et al.* (2015) demonstraram, em modelo animal, a importância da CL para manutenção da tolerância imunológica da pele.

A grande produção de IFN tipo I no LES é atribuída às células dendríticas plasmocitoides ativadas. Embora estejam em baixo número no sangue de pacientes com LES, podem ser encontradas nos gânglios linfáticos, na pele e em órgãos alvos desses pacientes.

Considera-se que essa produção aumentada de IFN I seja desencadeada pela formação de complexos imunes que são posteriormente detectados por TLR (do inglês *Toll-like receptor*) tipo 7 e 9. Essa ação resulta na ativação de pDC e, em efeito, na secreção de IFN tipo I (Seitz e Matsushima, 2010; Li *et al.*, 2018; Sakata *et al.*, 2018; Kaewraemruaen *et al.*, 2020; Maz e Kahlenberg, 2020; Fetter *et al.*, 2022).

No LES, os neutrófilos também atuam como fonte de ácidos nucleicos endógenos que ativam as pDCs. Nesse caso, após serem expostos aos anticorpos específicos de ribonucleoproteínas, os neutrófilos liberam NETs que contém cromatina de DNA, peptídeo antimicrobiano catelicidina (CAMP) e HMGB1, os quais ativam o TLR9 nas pDCs, resultando, também, na secreção de IFN tipo I (Kaewraemruaen *et al.*, 2020). Ainda os glicocorticoides endógenos influenciam na homeostase e na sobrevivência das pDCs (Swiecki e Colonna, 2015).



Além da participação no LE através da produção de IFN tipo I, as pDCs também são responsáveis pela liberação de outras citocinas inflamatórias como o TNF- $\alpha$ , IL-6 e a molécula BAFF e a apresentação de antígenos às células T CD4+ (Maz e Kahlenberg, 2020). Estudos em modelos animais com LE relacionaram a depleção de pDc com a melhora da autoimunidade, demonstrando a participação dessas células no LES (Rowland *et al.*, 2014).

No LEC, as pDCs também exercem um papel relevante. Desde o trabalho de Farkas *et al.* (2001), demonstrando a presença das pDCs nos infiltrados das lesões cutâneas do LE, elas ganharam destaque na patogênese da doença, identificadas como a origem da produção anormal de IFN tipo I (Saadeh *et al.*, 2016; Maz e Kahlenberg, 2020; Zhou *et al.*, 2021; Fetter *et al.*, 2022). Recentemente, Karnell *et al.* (2021), confirmaram a importância das pDCs na produção do IFN-tipo I no LEC. O uso de um anticorpo monoclonal (anticorpo monoclonal anti-ILT7) foi capaz de reduzir as pDcs residentes no tecido de lesões cutâneas de pacientes com LEC, levando à diminuição da atividade local de IFN- tipo I e à melhora da atividade clínica da doença.

Além do mais, IFN produzido pelas pDcs também exerce uma relação importante com o infiltrado de células imunes no LE. Wenzel *et al.*, (2007) demonstraram que o padrão de expressão de uma proteína induzida pelo interferon pode refletir as características de distribuição dos infiltrados nos diferentes tipos de LE cutâneo. Por conseguinte, correspondendo à localização do IFN, o infiltrado se localiza na derme superior no LED e LESA, enquanto nas

formas de LE profundo e tímido, adquirem distribuição subcutânea e perivascular, respectivamente. Mais tarde Tomasini *et al.* (2010) relacionaram o arranjo das pDCs nos infiltrados com as diversas formas de LE.

As células dendríticas plasmocitoides podem, também, produzir INF- $\alpha$ , um membro da família do IFN-tipo I, e sua produção pode ser induzida por exossomas (vesículas de 30-90 nm, secretadas para o meio extracelular por vários tipos de células, inclusive queratinócitos) (Zhou *et al.* 2021). Isso demonstra que os queratinócitos têm a capacidade de induzir a produção de INF- $\alpha$  pelas pDCs, regulando, assim, a imunidade cutânea no LEC (Zhou *et al.*, 2021).

O INF- $\alpha$  induz a liberação de ligantes de quimiocinas (CXCL9, CXCL10 e CXCL11), que têm em comum os receptores CXCR3 e recrutam células Th1 e células T CD8+ para a pele lesada. As pDCs expressam os receptores CXCR3, podendo, desse modo, ser recrutadas para a pele inflamada em resposta à produção local de INF- $\alpha$ . Vermi *et al.* (2009) demonstraram que as pDCs podem ser observadas na junção dermoepitelial em associação com células T citotóxicas, nas áreas de severo dano epitelial.

As pDCs também expressam L-selectin em grande quantidade e seu ligante PNA<sub>d</sub> (do inglês, *peripheral lymph node addressin*) é encontrado nas células endoteliais nas lesões cutâneas de LE, indicando recrutamento das pDCs para os sítios da inflamação.

Outra evidência demonstra que chemerin, uma proteína multifuncional, que promove quimiotaxia para pDCs, tem a expressão aumentada nas lesões cutâneas de LE.

As pDCs, assim como os queratinócitos e as células citotóxicas, podem também produzir Interferon tipo lambda (IFN- $\lambda$ ), membro da família do Interferon tipo III. E o IFN- $\lambda$  pode ser encontrado na epiderme de lesões de LED e LECSA. A produção de IFN - $\lambda$ , assim como IFN- $\alpha$  pelas células dendríticas plasmocitoides perpetuam a resposta imune, indicando que o IFN-tipo III coopera com o IFN tipo I na patogênese do LEC (Zhou *et al.*, 2021).

As fDCs também participam da fisiopatologia do LE. Sabe-se que as fDC participam da remoção de materiais apoptóticos e adquirem autoantígenos e os apresenta às células B. Além disso, as fDC protegem as células B da apoptose nos centros germinativos pelo fornecimento de ligantes (Notch e BAFF). Assim, as fDC promovem a sobrevivência das células B. Portanto, defeitos na limpeza de materiais apoptóticos e de células B podem proporcionar um ambiente propício para a formação de autoantígenos, sugerindo que a fDC possam estar relacionadas com a indução do LE (Seitz e Matsushima, 2010; Zhou *et al.*2021).

Em vista disso, na fisiopatologia do LE, há a provável participação de diversas células dendríticas, principalmente as DC plasmocitoides, DC foliculares, DC convencionais e as células de Langerhans. Nos variados estudos, as DC são identificadas por meio de marcadores proteicos.

### 3.13.1 Estudos de células dendríticas plasmocitoides no LE

Na literatura, as DC plasmocitoides são comumente identificadas através da imuno-histoquímica pela expressão da proteína CD123 (Farkas *et al.*, 2001; Tomasini *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2014; Walsh *et al.*, 2015; Kolvras *et al.*, 2016; Fening *et al.*, 2016; Liau *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2019b; Karagun *et al.*, 2021). Nas condições normais, não são encontradas na pele. Todavia, Farkas *et al.*, em 2001, conseguiram demonstrar que as pDcs podem estar presentes em cenários inflamatórios. Os autores foram os primeiros a confirmar o aumento de células dendríticas plasmocitoides (CD123) nas lesões cutâneas de LES. Desde então, diversos estudos foram realizados utilizando as pDCs como auxiliar no diagnóstico diferencial de diversas patologias.

Tomasini *et al.* (2010) estudaram a presença e distribuição das DC plasmocitoides, utilizando CD123, em uma série de patologias cutâneas, inclusive o LE (17 LES; 54 LED; 32 LE tímido). Concluíram que há diferenças na distribuição das pDCs nas diferentes doenças, podendo essas servirem como auxiliar no diagnóstico diferencial do LE. Identificaram agrupamentos (“Clusters”) de pDC maiores e mais largos no LE, diferentemente das demais patologias. Quanto aos vários tipos de LE, observaram uma distribuição superficial no LES e LED, enquanto no LE tímido as pDC tenderam a se localizar próximo ao plexo vascular profundo. Em relação à dermatomiosite, notaram padrões semelhantes ao LES com correlação positiva entre a intensidade do infiltrado inflamatório e a quantidade de grupos de pDC.

McNiff e Kaplan (2008) observaram maior expressão de pDCs (CD123) no LE predominantemente localizadas na derme, enquanto na dermatomiosite situavam-se mais na epiderme.

Brown *et al.* (2014) demonstraram que as lesões de LE, apresentavam menos células T regulatórias e mais pDC, na forma de “cluster”, compreendendo quase 20% do infiltrado em comparação com as lesões de Rosácea.

Walsh *et al.* (2015) constataram que a presença das pDCs pode representar uma forma auxiliar de diagnóstico nos casos suspeitos de LE, com acurácia de 77%, na comparação do infiltrado inflamatório de lesões cutâneas de LED hipertrófico e o de doenças inflamatórias e neoplásicas. Já Ko *et al.* (2011) obtiveram expressão intensa de CD123 na junção dermoepidérmica de todos os espécimes de LE hipertrófico, enquanto nos casos de CEC e de Queratose actínica, a imunomarcação ocorreu em raras amostras.

Karagun *et al.* (2021), demonstraram expressão positiva de CD123 nas amostras de LEC, erupção polimorfa à luz, pitiríase rósea e micose fungoide, porém com maior imunomarcação no LEC e Erupção polimorfa à luz.

Variados autores utilizaram a expressão de CD123 pela técnica de imuno-histoquímica, como diagnóstico diferencial entre as alopecias cicatriciais de LE e as de outras etiologias como Líquen Plano Pilar, Alopecia Frontal Fibrosante e Alopecia Central Cicatricial Centrífuga (Sleiman *et al.*, 2015; Kolivras *et al.*, 2016; Fening *et al.*, 2016; Rakhshan *et al.*, 2020).

Observaram expressão aumentada de pDCs nos casos de LE, agrupadas e distribuídas na região perivascular, periecrina, perifolicular e envolvendo a junção dermoepidérmica.

Recentemente, Krishnamurthy *et al.* (2022) estudaram a distribuição de CD123 em 69 casos de alopecias cicatriciais e não cicatriciais, de diversas etiologias como LE, Folliculite decalvante, alopecia areata e tricotilomania. No LE, 85% das amostras (n = 17 de 20), apresentaram expressão CD 123 nas regiões dos infiltrados dérmicos perifoliculares, periécrinos, superficiais e profundos. Nos três casos onde não se observaram imunomarcação de CD123, o infiltrado foi escasso. As demais alopecias foram, na sua grande maioria, negativas para a expressão de CD 123.

González-Cruz *et al.* (2018) encontraram agregados de pDCs (CD123) em todos os 12 casos de Paniculite lúpica. Em um deles, as pDCs localizaram-se na junção dermoepidérmica.

Muitos estudos demonstraram expressão agrupada e aumentada de CD123 na Paniculite lúpica quando comparada com casos de linfoma de células T subcutâneo paniculite like, um dos seus principais diagnósticos diferenciais (Liau *et al.*, 2013; LeBlanc *et al.* 2016, Sitthinamsuwan *et al.*, 2018; Chen *et al.* (2019b).

Diferentemente do LE, as pDCs presentes nos linfomas apresentam-se em pequenos grupos (Bosisio *et al.*, 2015). De acordo com Liau *et al.* (2013), as alterações de interface epidérmicas observadas no LE são correspondentes à presença das pDC na derme papilar.

Chen *et al.* (2019b) compararam a expressão de CD123 entre as lesões de LE cutâneo com as de Micose Fungoide, reafirmando a utilidade da expressão imuno-histoquímica de CD123 no diagnóstico diferencial entre LE e as formas de linfoma. Ainda, Roda *et al.* (2019) descreveram um caso de LE cutâneo crônico que histopatologicamente mimetizava uma micose fungoide. A expressão de CD123 aumentada na junção dermoepidérmica foi decisiva, juntamente com a presença do depósito de mucina e o espessamento da membrana basal para firmar o diagnóstico de LE.

Wang *et al.* (2017) compararam a expressão de CD123 entre 39 amostras de eritema pérmio idiopático e 20 lesões cutâneas de perniose lúpica ou Chilblain lúpico, porém não demonstraram diferenças entre os dois grupos.

Recentemente, Chanprapaph *et al.* (2022) realizaram uma análise comparativa da expressão de CD123 pela técnica de imuno-histoquímica nas lesões orais (12 LE, 39 LP e 19 lesões liquenoides) e observaram aumento da proteína CD123 nas lesões de LE oral em relação ao Líquen plano (LP) oral, localizados, principalmente, na junção mucosa-submucosa e nas áreas superficiais e profundas perivasculares. Quando comparado com as outras lesões liquenoides, as pDcs foram encontradas de forma mais numerosa no LE e no LP orais.

### 3.13.2 Estudos com células dendríticas foliculares no LE

Poucos são os estudos sobre a participação das células dendríticas foliculares no LE. Nesses estudos, as DC foliculares são identificadas pela expressão do marcador proteico CD21 (Baumann *et al.*, 2002; Bălănescu *et al.*, 2010; Das *et al.*, 2017).

Baumann *et al.*, em 2002 verificaram a presença de fDC em pacientes com LES. Seus achados sugeriram que os debris apoptóticos não eram completamente retirados pelos macrófagos dos centros germinativos linfoides e, conseqüentemente, autoantígenos nucleares se ligariam às fDC responsáveis pela sinalização às células B autorreativas, promovendo a autoimunidade.

Em 2010, Bălănescu *et al.* estudaram os componentes celulares, inclusive as células dendríticas CD21, do infiltrado inflamatório de 20 amostras de lesões de LECSA, comparados com controles saudáveis e observaram diminuição dessas células no infiltrado das lesões cutâneas.

Das *et al.*, em 2017, utilizando camundongos com LES, observaram que DC foliculares (CD21) secretavam IL6 e fator ativador de célula B (BAFF). Além disso, captavam e retinham complexos autoimunes compostos de proteínas ribonucleotídeas, autoanticorpos e complemento. Isto desencadeava TLR7 endossomal e levava à secreção de interferon IFN tipo I. O bloqueio da secreção de IFN tipo I pelas fDC restaurava a tolerância de células B e reduzia a quantidade de centros germinativos nos tecidos linfoides e autoanticorpos patogênicos. Assim, demonstraram que as fDCs são uma fonte crítica de autoimunidade (Das *et al.*, 2017).



### 3.13.3 Estudos com células dendríticas convencionais e células de Langerhans no LE

As DC convencionais, assim como as células de Langerhans, podem ser identificadas pela expressão da proteína CD1a (Abreu-Velez *et al.*, 2009; Xie *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2018; Nasiri *et al.*, 2018). No entanto, no caso das CL, além da expressão proteica CD1a, que é específica para CL em humanos, há similarmente um marcador mais importante identificado como Langerina (Romani *et al.*, 2010).

No LE cutâneo, os estudos com esses marcadores demonstram em geral uma depleção dessas células na epiderme e migração das mesmas para a derme.

Assim, Mori *et al.* (1994) demonstraram diminuição da expressão de CD1a (células de Langerhans) na epiderme de lesões atróficas de LED, e presença das mesmas na derme das lesões cutâneas de LED (oito amostras) e de LESA (cinco espécimes), comparadas com a pele normal.

Abreu-Velez *et al.* (2009) demonstraram a presença de células dendríticas CD1a no folículo piloso, ao redor da zona da membrana basal e das glândulas sebáceas próxima ao pelo em um paciente com LES.

Xie *et al.* (2011) encontraram aumento de CD1a no infiltrado inflamatório de 5 amostras de lesões cutâneas de LED comparadas com controle normal, porém não obtiveram significância estatística.

Nasiri *et al.* (2018) observaram diferenças nos padrões de distribuição e densidade de CD1a, com diminuição significativa da concentração de CL na epiderme de LED e na região perifolicular do LPP.

Van Joost *et al.* (1985), estudaram as células de Langerhans no LE oral, porém por meio do marcador OKT-6, em uma única paciente com LED. Observaram poucas CL tanto no epitélio quanto na lâmina própria de apenas 3 lesões orais obtidas da língua e mucosa bucal.

Visando a um maior entendimento do LE oral, estudos imuno-histoquímicos já foram realizados. Em 2006 e 2007, Lourenço *et al.* estudaram o perfil celular do epitélio e do infiltrado inflamatório. Marques *et al.* (2010), pesquisaram o perfil das citocinas das lesões de LE da mucosa oral.

Diante dos achados anteriores e a carência de trabalhos científicos, propomos estudar o papel das células dendríticas nas lesões orais de LE, através da avaliação da imunoexpressão das proteínas CD1a, Langerina, CD21 e CD123. E devido à importância da ação da RUV sobre as células dendríticas, buscou-se demonstrar possíveis diferenças entre as expressões dessas proteínas nas lesões mucosas de LE oral expostas e não expostas à radiação ultravioleta.

## **4 MÉTODOS**

#### **4.1 Aprovação do Comitê de Ética**

Este projeto está de acordo com os princípios da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi submetido à análise do Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), tendo sido aprovado em 16 de março de 2017, sob o número do Parecer 1.967.787. A carta de aprovação encontra-se no Anexo A.

#### **4.2 Casuística**

Trata-se de um estudo observacional transversal retrospectivo.

A amostra foi selecionada dos arquivos do Laboratório de Dermatopatologia da Divisão de Dermatologia do HC-FMUSP, sendo composta de 60 espécimes oriundas de biópsia de lesões orais de doentes com diagnóstico clínico e histopatológico de lúpus eritematoso, fixados em formol tamponado e conservados em parafina, sem restrição de gênero ou faixa etária, com ou sem tratamento, acompanhados nos Ambulatórios de Colagenoses e de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, no período de 2003 a 2019.

Os dados clínicos e epidemiológicos tais como idade, sexo, raça, localização e apresentação clínica das lesões orais do LE, forma e duração da doença, foram incluídos na análise e foram obtidos por meio da avaliação de prontuários dos arquivos do Hospital das Clínicas da FMUSP.

Posteriormente, as 60 lesões orais foram divididas em 2 subgrupos: o primeiro, composto de amostras de mucosa intraoral (não expostas ao sol), obtidas da mucosa jugal, do palato, língua, gengiva e da mucosa labial superior (n = 40); e o segundo, de espécimes de semimucosa oral (expostas ao sol), obtidas sempre do vermilião (vermelhão) do lábio inferior (n = 20).

O grupo controle, também denominado grupo de mucosas saudáveis, foi formado por amostras de fragmentos de mucosa oral sadia, obtidas retrospectivamente de 10 pacientes submetidos a exodontia de terceiros molares, cujas margens cirúrgicas foram encaminhadas para exame anatomopatológico e posteriormente mantidos nos arquivos do Laboratório de Dermatopatologia da Divisão de Dermatologia do HC-FMUSP. A finalidade do grupo controle foi comparar os aspectos teciduais da mucosa de pacientes não portadores de LE, sem o escopo de comparar dados clínico- epidemiológicos.

#### **4.2.1 Critérios de exclusão**

Foram excluídos do estudo espécimes com material insuficiente para análise e/ou sem prontuários.

### 4.3 Classificação das Lesões Orais

As 60 lesões orais coletadas foram classificadas clinicamente em lesões agudas, subagudas e crônicas, de acordo com Nico *et al.* (2008), pelo seu aspecto clínico-morfológico obtido de dados do prontuário e, em casos duvidosos, segundo analogia com lesões cutâneas presentes no mesmo doente. Foram consideradas como lesões crônicas aquelas com aspecto típico, frequentemente descritas como “discoides”, “queratóticas”, “verrucosas”, em “favo de mel” e “ulcerada crônica”. Quanto às lesões subagudas – lesões mucosas bem demarcadas, arredondadas, eritematosas, levemente deprimidas, em doentes com LE cutâneo subagudo típico; lesões agudas – lesões com aspecto típico descrito frequentemente como “purpúrico”, “erodido”, “aftoide” ou “bolhoso”, comumente afetando doentes com envolvimento sistêmico grave (Nico *et al.*, 2008).

### 4.4 Avaliação Histopatológica

Os espécimes das biópsias realizadas para confirmação e documentação do diagnóstico de LE oral dos 60 casos incluídos, subdivididos em lesões de Mucosa intraoral (área não exposta ao sol) (n = 40) e Semimucosa (área exposta ao sol) (n = 20) assim como as 10 amostras do grupo controle (grupo de mucosas saudáveis) foram analisados morfológicamente por microscopia óptica de luz. Os cortes de 5 µm dos espécimes estudados embebidos em parafina foram processados histologicamente, preparados e corados por hematoxilina/eosina (HE) e ácido periódico de Schiff (PAS), para análise histopatológica dos espécimes por dois pesquisadores.

O diagnóstico anatomopatológico do LE oral foi baseado na análise do HE e também na coloração de PAS, utilizada com a finalidade de avaliar o espessamento da membrana basal. Para demonstração da presença e localização do depósito de mucina nos espécimes, foi escolhida a coloração de Alcian Blue (Ph = 2,5) (Schjødt, 1984; Jonsson *et al.*, 1984; Karjalainen e Tomich, 1989; Nico *et al.*, 2008; Champrapaph *et al.*, 2022).

No epitélio, foram analisadas as seguintes características histológicas através do HE: hiperqueratose, hiperplasia, atrofia, acantose, hipergranulose, espongirose e vacuolização dos queratinócitos basais/ degeneração hidrópica, apoptose/corpos apoptóticos, exocitose de linfócitos e atipia epitelial (Andreasen e Poulsen 1964; Schjødt, 1984; Jonsson *et al.*, 1984; Karjalainen e Tomich, 1989; Orteu *et al.*, 2001; Lourenço *et al.*, 2007; López-Labady *et al.*, 2007; Nico *et al.*, 2008; Ranginwala *et al.*, 2012; Chanprapaph *et al.*, 2022).

Na lâmina própria, foi avaliado o edema intersticial e de endoteliócitos, a presença de trombos e o infiltrado inflamatório.

Detalhadamente, foi realizada a análise do infiltrado inflamatório segundo sua constituição celular, localização e padrão de apresentação.

De acordo com os componentes celulares, o infiltrado foi definido como:

a) linfomononuclear quando formado por células mononucleares tais como monócitos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos; b) Linfoplasmocitário, quando constituído predominantemente por plasmócitos e linfócitos; c) Linfocitário, quando formado por linfócitos; d) Linfoplasmocitário com raros

ou alguns neutrófilos, quando presentes as células anteriormente citadas associadas a neutrófilos (Urman *et al.*, 1978; Schiødt, 1984; Jonsson *et al.*, 1984; Burgue *et al.*, 1989; Orteu *et al.*, 2001; Lourenço *et al.*, 2007; Chanprapaph *et al.*, 2022). Quanto à localização, foi dividido em: a) superficial - quando presente na lâmina própria superficial e/ou na junção epitélio/lâmina própria; b) perivascular profundo - quando localizado profundamente na lâmina própria ao redor dos vasos e, c) infiltrado ao redor das glândulas salivares, quando presentes (Andreasen e Poulsen 1964; Schiødt, 1984; Jonsson *et al.*, 1984; Karjalainen e Tomich, 1989; Orteu *et al.*, 2001; Lourenço *et al.*, 2007; Nico *et al.*, 2008; Chanprapaph *et al.*, 2022).

Quanto ao padrão, foi classificado em focal (em pequenas áreas próximas à membrana basal ou ao redor dos vasos), difuso (infiltrado em faixa); liquenoide (infiltrado em faixa acompanhando a membrana basal, associado a necrose de queratinócitos basais) (Andreasen e Poulsen 1964; Schiødt, 1984; Orteu *et al.*, 2001; Lourenço *et al.*, 2007; López-Labady *et al.*, 2007). Para a avaliação da intensidade dos infiltrados, foram utilizados os termos ausente (0); leve/incipiente (também interpretado como mínimo ou pouco) (+); moderado (++) ou intenso/forte (+++) (Schiødt, 1984).

O grupo controle/mucosa saudável foi comparado com o subgrupo de LE de mucosa intraoral (n = 40), por ser formado por amostras que foram obtidas de restos de cirurgia de exodontia.



## **4.5 Imunofluorescência Direta**

O exame de imunofluorescência direta foi realizado em 53 dos 60 espécimes cujos dados foram obtidos dos respectivos prontuários.

### **4.5.1 Técnica de imunofluorescência direta**

As amostras de lesões de mucosa oral foram transportadas acondicionadas em meio de Michel, armazenadas com crioprotetor e colocadas em freezer a -20°C, para posterior corte em criostato a -20°C, em fragmentos de espessura de 4 µ. Os cortes obtidos foram colocados em lâmina silanizada (três cortes por lâmina) e receberam o conjugado constituído por uma anti-imunoglobulina humana produzida em animal imunizado e associada a um fluorocromo = conjugado FITC diluído em Azul de Evans. Foram utilizados conjugados anti-humanos anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA e anti-C3 (marca Sigma Aldrich). Sob temperatura ambiente, os cortes permaneceram com o conjugado por 30 minutos, em câmara úmida no escuro, para a formação do imunocomplexo. Posteriormente, as lâminas foram lavadas em TBS (tampão trizma base com cloreto de cálcio) pH 7,5 por 20 minutos e montadas com glicerina tamponada (pH 8,5) e lâmina de vidro. Foram mantidas no escuro e sob refrigeração até o momento da leitura em microscópio de fluorescência HBO 50w (filtro CB12) marca Carl Zeiss, com oculares de 10x e objetivas de 16x e 40x, acoplado a uma câmara fotográfica, para registro dos resultados.

#### 4.6 Avaliação dos Espécimes por Imuno-histoquímica

Após a confirmação diagnóstica, os espécimes foram submetidos ao processamento imuno-histoquímico, utilizando novos cortes de espessura de 3 µm de cada caso. A reação imuno-histoquímica foi realizada por meio da técnica da imunoperoxidase, empregando os anticorpos CD1a, CD 21, CD 123 e Langerina, cujo protocolo foi padronizado para cada um deles, como descrito e resumido no Quadro 1.

**Quadro 1 - Anticorpos utilizados, clones, titulação e procedência**

Anticorpo primário	Procedência e clone	Titulação	Recuperação antigênica	Anticorpo secundário e procedência	Controle
CD1a	Dako 010	1:100	Tampão citrato pH 6,0/ <i>Steamer</i>	<i>Novolink</i> <sup>TM</sup> Max Polymer Detection System	Tonsila
CD21	<i>Cell marque</i> 2G9	1:100	Tampão Citrato pH 6,0/ <i>Steamer</i>	<i>Novolink</i> <sup>TM</sup> Max Polymer Detection System	Tonsila
CD123	<i>Invitrogen</i> <i>Clone 6H6</i>	1:50	Tampão Tris- EDTA pH 9,0/ <i>Banho-Maria</i>	<i>Novolink</i> <sup>TM</sup> Max Polymer Detection System	Líquen Plano
Langerina	<i>Cell marque</i> 12D6	1:500	Tampão Citrato pH 6,0/ <i>Steamer</i>	<i>Novolink</i> <sup>TM</sup> Max Polymer Detection System	Pele

##### 4.6.1 Técnica de imuno-histoquímica

Foram inicialmente desparafinizados cortes de 3 µm dos 60 espécimes de LE oral, selecionados em três banhos de xilol: o primeiro, a 60°C por 30 minutos; o segundo e o terceiro, à temperatura ambiente por 10 minutos cada. A seguir, os cortes foram reidratados em cadeia descendente de etanol (dois banhos de 2 minutos cada em etanol 100%, dois banhos de 2 minutos cada em etanol 95%, respectivamente) e imersos em solução de hidróxido de amônia a 10% durante 10 minutos para a remoção de

pigmentos formólicos. Após lavagem em água corrente por 5 minutos e água destilada por 5 minutos, a recuperação dos epítomos antigênicos foi realizada com tampão citrato pH 6,0 em *steamer* por 45 minutos (com exceção do anticorpo CD123 que passou por recuperação antigênica com tampão Tris-EDTA pH 9,0 em banho-maria por 20 minutos). Após esse período, as lâminas passaram por tempo de resfriamento (20 minutos), em temperatura ambiente.

Após a lavagem em água corrente e água destilada, foi realizada a incubação do material em solução de peróxido de hidrogênio 20 volumes, dois banhos por 10 minutos cada, com o intuito de bloquear a peroxidase endógena tecidual. Repetida a lavagem com água corrente e água destilada, os cortes foram imersos duas vezes em solução Tris HCl pH 7,4 por cinco minutos cada.

Em seguida, os cortes foram incubados em leite Molico a 10% diluído em PBS pH 7,4 por 30 minutos com intuito de bloquear eventuais proteínas inespecíficas.

Foi realizada a incubação primária dos anticorpos analisados “*overnight* (Quadro 1). Os procedimentos posteriores foram sempre precedidos de duas lavagens em solução Tris HCl pH7,4.

Após a incubação com o anticorpo primário, os espécimes foram incubados com anticorpo secundário sistema Novolink™, de acordo com as instruções do fabricante.

Para a etapa de revelação, os espécimes foram incubados com o cromógeno diaminobenzidina – DAB (Dako Cytomation™) - por 3 minutos,

que evidenciou a reação por meio de coloração acastanhada. Os cortes foram posteriormente lavados em água corrente e água destilada e contracolorados com hematoxilina de Carazzi por 5 minutos. Posteriormente, foram montados em resina *Erv-mount*<sup>™</sup> para o exame ao microscópio de luz.

Os controles negativos das reações supracitadas foram realizados por meio da incubação de espécimes com soro não-imune, e os positivos pertinentes foram incluídos de acordo com as especificações de cada anticorpo.

A análise imuno-histoquímica dos mesmos anticorpos foi realizada nos 10 espécimes de mucosa de indivíduos não portadores de LE (grupo controle/mucosa saudável), mantidos nos arquivos do Laboratório de Dermatopatologia da divisão de Dermatologia do HC-FMUSP obtidos retrospectivamente e originários de cirurgia dentária (exodontia de terceiros molares).

#### **4.7 Análise Morfométrica**

O método de avaliação da expressão das proteínas nas células dendríticas foi quantitativo, levando-se em conta a topografia das células dendríticas imunomarcadas.

#### **4.7.1 Captura e análise das imagens**

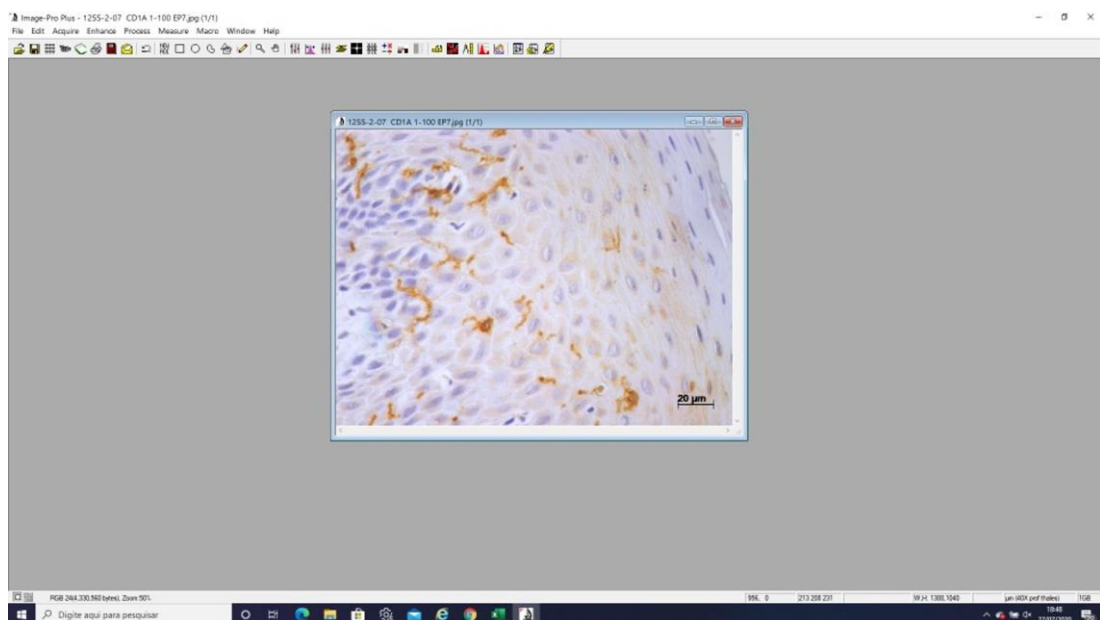
As imagens histológicas foram obtidas por meio de microscópio de luz Zeiss Axioskop 40 (Zeiss, Goettingen, Germany), conectado a uma câmera digital Zeiss AxioCam MRc e ao programa Axiovision Release 4.8.2.

Para a análise das imagens, foi empregado o programa Image Pro Plus (versão 4.1 para Windows 98/NT/2000, media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA). O programa permite a captura da imagem digital com possibilidade de inserção de grade de correção, marcação e contagem das áreas de interesse. As imagens capturadas foram armazenadas no formato JPEG (Joint Photographic Experts Group).

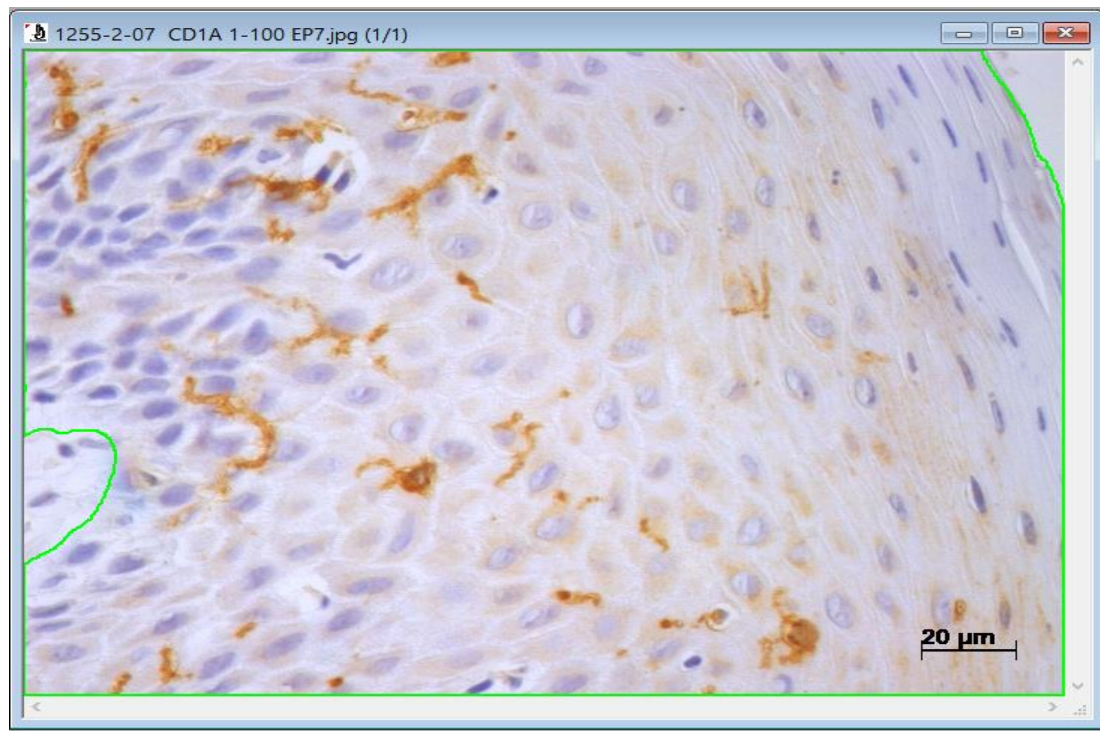
Inicialmente, foi realizada a padronização de cores pela calibração do programa Image Pro Plus, com base na resolução da imagem. Posteriormente, após a captura das imagens em objetivas de 40X, foram selecionados 20 campos no total (10 campos do epitélio e 10 campos da lâmina própria) de cada amostra das lesões orais de LE e do grupo controle/mucosa saudável, para as seguintes proteínas: CD1a, Langerina, CD21 e CD 123. Os campos foram selecionados de forma padronizada (sempre iniciando na extremidade esquerda, indo para o centro e depois para a extremidade direita), com intuito de obter maior amostragem de cada lâmina. Foram ainda analisadas, em cada amostra, para cada marcador proteico, mais três campos com maior concentração ("hot spots") dos agrupamentos localizados na lâmina própria, nas regiões superficiais (superficial/junção epitélio- lâmina própria) e profundas ao redor dos vasos.

Em todo processo, houve, eventualmente, variações no número de imagens geradas, devido a diferenças nas áreas teciduais totais de cada caso.

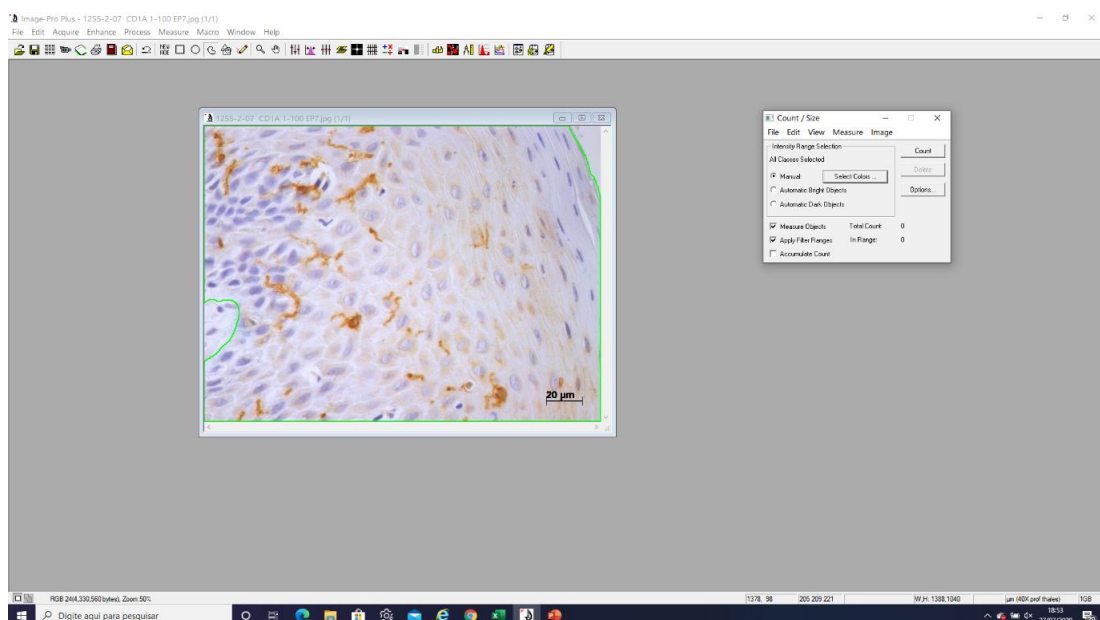
A quantificação da expressão imuno-histoquímica de cada marcador (CD1a, Langerina, CD21 e CD 123) foi feita por meio da técnica da segmentação semiautomatizada, no programa Image Pro-plus que discriminou as áreas de interesse (epitélio, lâmina própria e as regiões superficiais e profundas) nos campos selecionados, delimitados pela própria ferramenta do programa. A área positiva, assim como a área total de cada segmento pesquisado, foi registrada. Os resultados provenientes das análises morfológicas foram anotados manualmente e depois transferidos para tabelas informatizadas. Abaixo, nas Figuras de 2 a 8, exemplos da quantificação realizada pelo programa Image Pro-plus.



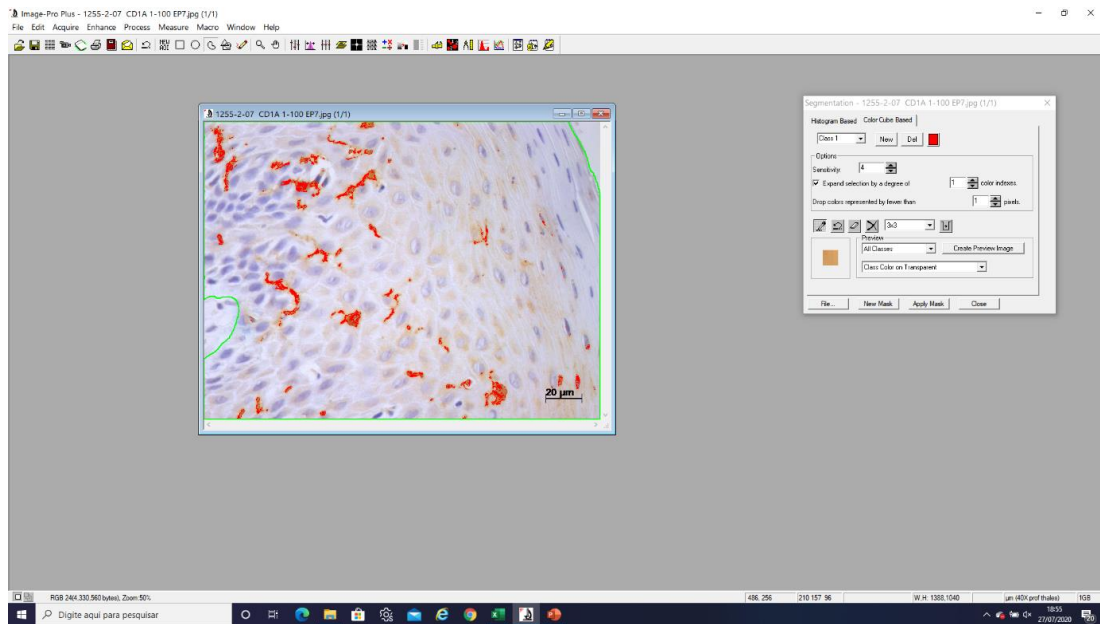
**Figura 2 - Imagem digitalizada inicial do epitélio da amostra de paciente com LE oral com expressão positiva de CD1a**



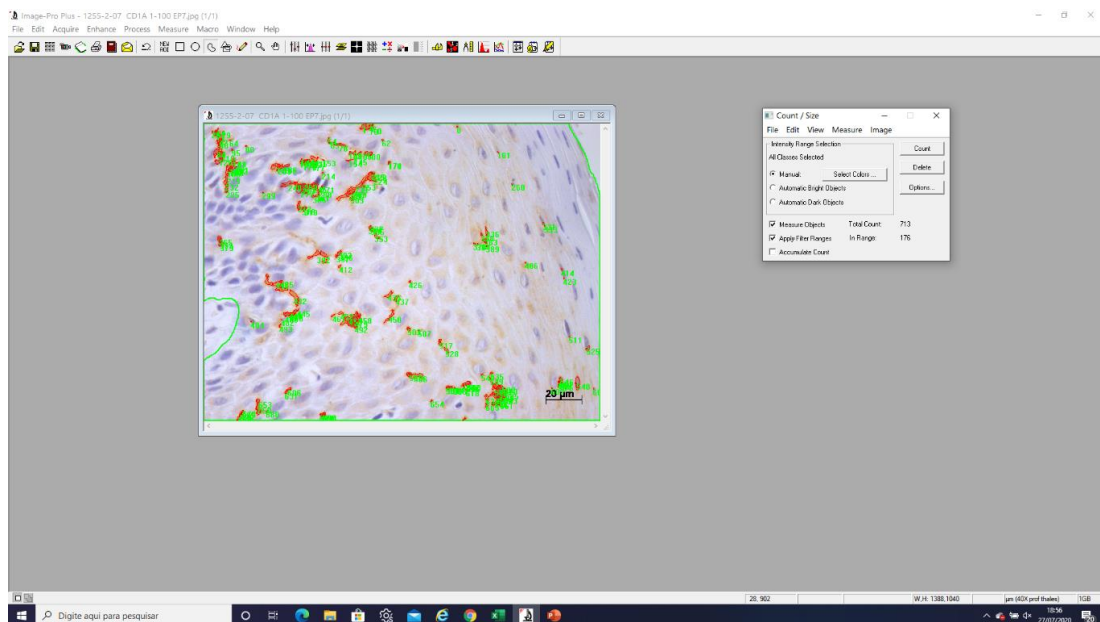
**Figura 3 - Imagem com maior aproximação (20X) da seleção da área do epitélio da amostra de paciente com LE oral com expressão positiva de CD1a**



**Figura 4 - Imagem digitalizada do epitélio da amostra de paciente com LE oral com expressão positiva de CD1a e a padronização da cor de marcação**

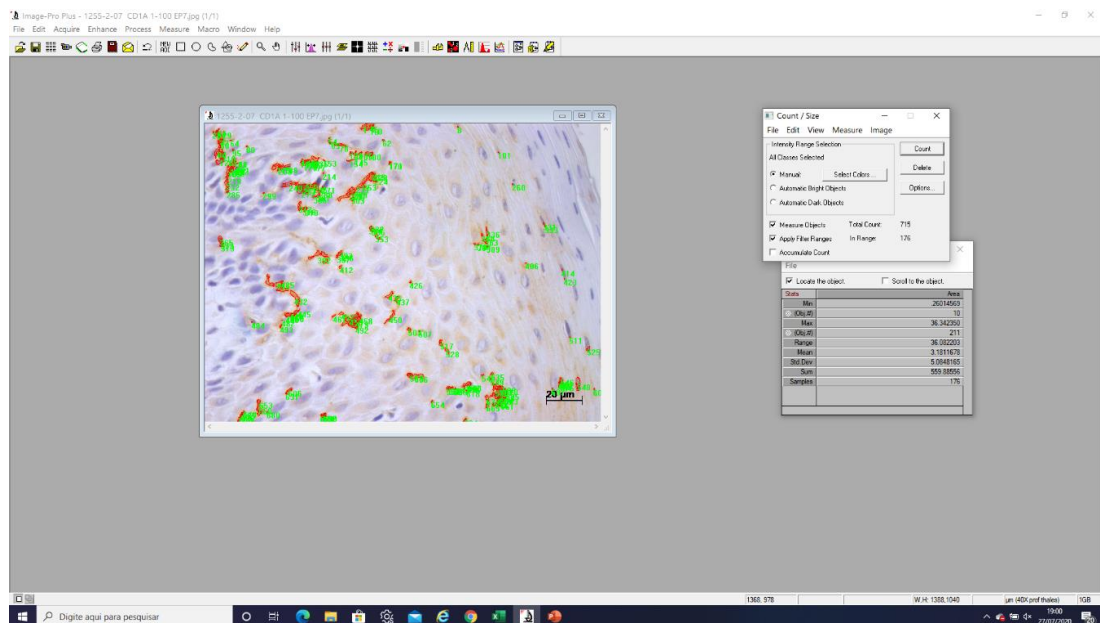


**Figura 5 - Imunomarcção da proteína CD1a visualizada através da cor vermelha no epitélio da amostra de paciente com LE oral**

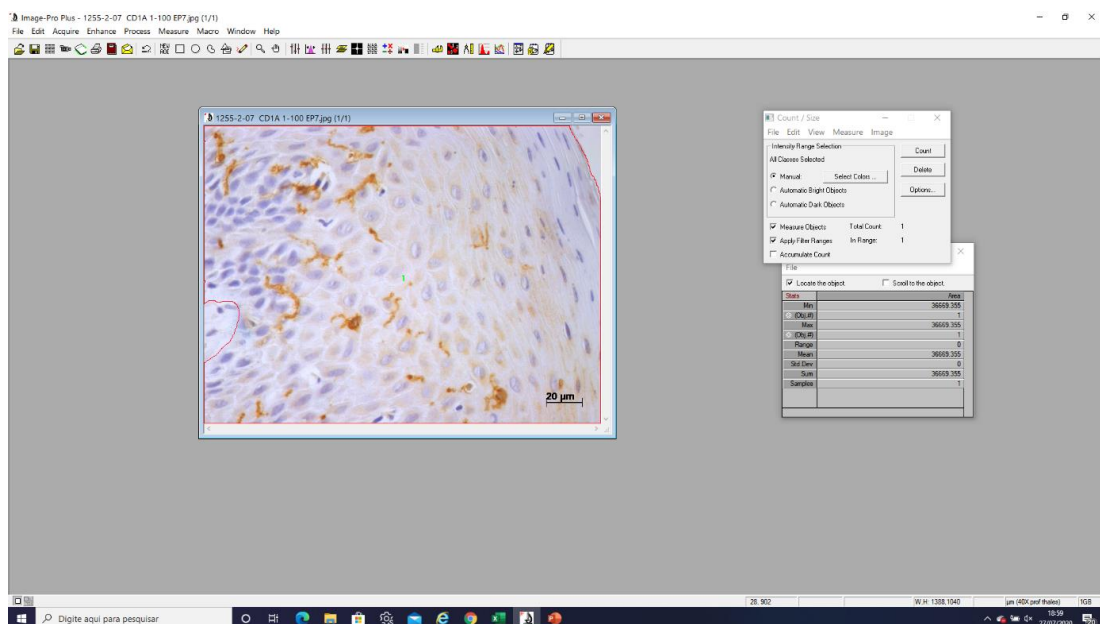


**Figura 6 - Seleção e contagem da imunomarcção positiva da proteína CD1a (contagem em verde) no epitélio da amostra de paciente com LE oral**





**Figura 7 - Soma da imunomarcção positiva da proteína CD1a (em verde) no epitélio da amostra de paciente com LE oral**



**Figura 8 - Soma da área do campo do epitélio da amostra de paciente com LE oral com expressão positiva de CD1a**

#### 4.8 Análise Estatística

Todos os resultados foram analisados estatisticamente. Para as frequências e distribuições das variáveis clínico-epidemiológicas e histológicas do estudo considerando os grupos de LE oral ( $n = 60$ ), subdivido em lesões de Mucosa intraoral (área não exposta ao sol) ( $n = 40$ ) e Semimucosa (área exposta ao sol) ( $n = 20$ ), foram calculadas as medidas de tendência central (média, mediana, desvio padrão, intervalo de confiança e significância) e foram identificadas as variáveis com distribuição normal por intermédio do teste de Shapiro-Wilk. As análises consideraram confiabilidade de 95%. As correlações testaram a hipótese nula pelo teste de Spearman ( $H_0$  - não há correlação entre as variáveis). Os pares de variáveis que obtiveram significância ( $p$ ) menor do que 5% descartaram a hipótese nula e adotaram a hipótese alternativa ( $H_1$  - há correlação entre as variáveis) e foram tabuladas com as informações das significâncias e com o correspondente Coeficiente de Correlação (Rho de Spearman), que indica a força da correlação. Para as variáveis que não seguem a distribuição normal, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Os dados foram previamente tabulados com programação Python, em ambiente JupyterLab (Versão 1.2.6) e analisados com linguagem R, no ambiente RStudio (Versão 1.2.5042).

Adicionalmente, foi realizada a avaliação estatística dos dados histológicos, utilizando os modelos citados acima entre as lesões da mucosa intraoral ( $n = 40$ ) e as lesões do grupo controle/mucosas saudáveis ( $n = 10$ ).

Para comparar os dados morfométricos das expressões imuno-histoquímicas das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 foram considerados os grupos Controle/Mucosa Saudável (n = 10) e os subgrupos Mucosa intraoral (área não exposta ao sol) (n = 40) e Semimucosa (área exposta ao sol) (n = 20) e a distribuição das proteínas quanto a sua localização no epitélio, lâmina própria e, dentro desta, nas áreas superficiais (superficial/ junção epitélio-lâmina própria) e nas áreas perivasculares profundas. Como os dados não seguem a distribuição normal, foi utilizado para a análise estatística o modelo linear generalizado, com distribuição de probabilidade tipo Tweedie, e comparação post-hoc pelo procedimento de Sidak. O nível de significância usado foi  $p < 0,05$ , bicaudal. O processamento estatístico foi realizado pelo programa IBM SPSS25.

Por ser constituído apenas de amostras obtidas de restos de cirurgia intraoral, o grupo controle/mucosa saudável foi comparado com o subgrupo de LE de mucosa intraoral. Em uma segunda etapa, foram comparados os dados morfométricos das expressões imuno-histoquímicas das mesmas proteínas entre os subgrupos Mucosa intraoral (área não exposta ao sol) e Semimucosa (área exposta ao sol).

## **5 RESULTADOS**

## **5.1 Análises Descritivas**

### **5.1.1 Análise descritiva do Grupo LE Oral (n = 60)**

#### **5.1.1.1 Análise dos dados clínicos e epidemiológicos**

A análise dos prontuários dos 60 doentes estudados neste trabalho mostrou predomínio do sexo feminino (n = 47, 78%) em relação ao sexo masculino (n = 13, 22%), variando de 11 a 76 anos, com idade média de 38,5 anos. Houve maior acometimento da doença nos brancos (n = 38, 63%), seguido de pardos n = 17, 28%), pretos (n = 4, 7%) e apenas 1 (2%) amarelo.

Em relação à forma do LE, houve predomínio de LEC (n = 32, 53%) em relação à LES (n = 28, 47%).

Quanto à localização, as lesões orais ocorreram predominantemente nos lábios (n = 27 de 60, 45,0%), seguido do palato (n = 15 de 60, 25,0%), mucosa jugal (n = 14 de 60, 23,3%), gengiva (n = 2 de 60, 3,3%) e língua (n = 2 de 60, 3,3%).

A manifestação clínica oral mais frequente foi a crônica discoide (n = 41 de 60, 68,3%), seguida pela aguda (n = 17 de 60, 28,3%) e subaguda (n = 2 de 60, 3,3%). A forma crônica discoide ocorreu, principalmente, nos lábios (n = 22 de 41, 54%), enquanto a forma aguda prevaleceu no palato (n = 8 de 17, 47%).

A presença de úlceras ocorreu em quatro casos (n = 4 de 60, 7%), todas presentes na forma aguda do LES, localizadas no lábio superior (n = 2 de 4, 50%), palato (n = 1 de 4, 25%) e mucosa jugal (n = 1 de 4, 25%), surgindo no início (n = 3 de 4, 75%) ou no período de até 1 ano de duração da doença (n = 1 de 4, 25%).

Em 19 dos 60 casos, a lesão oral surgiu no início do quadro de LE (32% dos casos), sendo 58% mais frequente no LES (11 de 19 amostras). O tempo de duração mais longo da doença foi de 35 anos.

Todas as informações referentes à idade, sexo, raça, duração e o tipo de LE (LES ou LEC), a localização das lesões orais, e seus aspectos clínicos estão resumidos no Anexo B.

O resumo da frequência das variáveis clínicas epidemiológicas, e mais especificamente a frequência dos dados das lesões orais no início da doença, das características das formas orais e das úlceras orais encontram-se nas tabelas 1, 2 e 3. Algumas imagens representativas das lesões orais de LE estão ilustradas nas Figuras 9 e 10.



**Figura 9 - Exemplos clínicos de lesões de lúpus eritematoso com correspondência das lesões cutâneas e mucosas orais. A, B: LE agudo; C, D: LE subagudo; D, E: LE discoide [Fonte: cortesia Prof. Dr. Marcello Menta]**



**Figura 10 - Exemplos clínicos de lesões orais de lúpus eritematoso. A, B, C: Lesões discoides intraorais (áreas cobertas); D: Lesão aguda intraoral (área coberta); E: Lesão discoide no vermilião superior e inferior (área exposta); F: Lesão discoide no vermilião inferior (área exposta) [Fonte: cortesia Prof. Dr. Marcello Menta - imagens A, B, C e D]**



**Tabela 1 - Frequência dos dados clínicos e epidemiológicos do LE oral (n = 60)**

Dados clínicos epidemiológicos Grupo LE oral (n = 60)		N (%)
Idade	de 10 a 20 anos	2 (3,3%)
	21 a 30 anos	23 (38,3%)
	31 a 40 anos	10 (16,7%)
	41 a 50 anos	9 (15,0%)
	mais de 50 anos	16 (26,7%)
Sexo	Mulheres	47 (78%)
	Homens	13 (22%)
Raça	Branca	38 (63%)
	Parda	17 (28%)
	Preta	4 (7%)
	Amarela	1 (2%)
Tempo de duração da doença no momento do aparecimento da lesão oral	0 anos (início)	19 (32%)
	até 1 ano	8 (13%)
	até 4 anos	11 (18%)
	até 10 anos	9 (15%)
	De 11 a 20 anos	7 (12%)
	mais de 21 anos	6 (10%)
Tipo de lúpus eritematoso	LEC	32 (53%)
	LES	28 (47%)
Forma clínica da lesão oral	Crônica discoide	41 (68,3%)
	Subaguda	2 (3,3%)
	Aguda	17 (28,3%)
Localização das lesões orais	Lábios	27 (45,0%)
	Palato	15 (25,0%)
	Mucosa jugal	14 (23,3%)
	Gengiva	2 (3,3%)
	Língua	2 (3,3%)
	Presença de úlceras orais	4 (7%)

**Tabela 2 - Frequência das lesões orais no início da doença e das características clínicas das formas orais de LE**

Lesão oral	Tipo/localização	Condição /Local	N (%)
<b>Lesão oral</b>			
No início da doença n = 19 de 60	Tipo de lúpus eritematoso	Cutâneo	8 de 19 (42%)
		Sistêmico	11 de 19 (58%)
<b>Características da forma clínica</b>			
Crônica discoide n = 41 de 60	Localização	Lábios	22 de 41 (54%)
		Palato	5 de 41 (12%)
		Mucosa jugal	12 de 41 (29%)
		Gengiva	0 de 41 (0%)
		Língua	2 de 41 (5%)
Aguda n = 17 de 60	Localização	Lábios	5 de 17 (29%)
		Palato	8 de 17 (47%)
		Mucosa jugal	2 de 17 (12%)
		Gengiva	2 de 17 (12%)
		Língua	0 de 17 (0%)
Subaguda n = 2 de 60	Localização	Lábios	0 de 2 (0%)
		Palato	2 de 2 (100%)
		Mucosa jugal	0 de 2 (0%)
		Gengiva	0 de 2 (0%)
	Localização	Língua	0 de 2 (0%)

**Tabela 3 - Frequência das úlceras orais (n = 4) de acordo com a localização da lesão, tempo de duração da doença, tipo e forma clínica do LE**

Variáveis	N (%)	
Tempo de duração da doença	0 anos (início)	3 de 4 (75%)
	até 1 ano	1 de 4 (25%)
Tipo de lúpus eritematoso	Cutâneo	0 de 4 (0%)
	Sistêmico	4 de 4 (100%)
Forma clínica da lesão oral	Aguda	4 de 4 (100%)
	Subaguda	0 de 4 (0%)
	Crônica discoide	0 de 4 (0%)
Localização das úlceras orais	Palato	1 de 4 (25%)
	Lábio superior	2 de 4 (50%)
	Mucosa Jugal	1 de 4 (25%)

### 5.1.1.2 Análise dos dados de imunofluorescência direta

Foram obtidos, pela análise dos prontuários, os resultados das imunofluorescências diretas (IFD) de 53 das 60 amostras do grupo de LE oral. Desses, a IFD foi positiva em 41 amostras (n = 41 de 53, 77%) e ausente ou negativa em 12 (n = 12 de 53, 23%). Nas IFD positivas (n = 41) foram encontradas imunoglobulinas (Ig) de forma isolada ou associadas e/ou com o complemento (C3), na zona da membrana basal (ZMB), nas paredes dos vasos, nos corpos citoides e no núcleo dos queratinócitos. O padrão encontrado predominantemente foi o granuloso (n = 18 de 41, 44%), seguido do homogêneo (n = 11 de 41, 27%), presença de homogêneo e granuloso (n = 3 de 41, 7%) e não foi especificado o padrão em 9 (n = 9 de 41, 22%). Os depósitos localizaram-se preponderantemente na zona da membrana basal de forma isolada (n = 21 de 41, 51%) ou associada a outros locais (parede dos vasos, núcleo de queratinócitos e corpos citoides) (15 de 41, 37%) e nos corpos citoides isoladamente (n = 5 de 41, 12%). A imunoglobulina mais observada foi a da classe IgM (n = 20 de 41, 49%) de forma isolada. A presença de IgG ou C3 isolados ocorreu em apenas uma amostra cada (n = 1 de 41, 2% cada). A presença concomitante de mais de uma imunoglobulina com ou sem o complemento foi encontrada em 13 amostras (n = 13 de 41, 32%). Em seis espécimes foi observado depósito simultâneo de IgM, IgG, IgA e C3 na zona da membrana basal. As IFD positivas foram mais frequentes no LEC (n = 23 de 41, 56%) que no LES (n = 18 de 41, 44%). Entre as formas clínicas de LE oral, a IFD foi positiva predominantemente na forma crônica (n = 28 de 41, 68%).

Todos os dados das IFD encontram-se no Anexo C. As análises das frequências e a distribuição das classes e as localizações dos imunoreactantes estão resumidas, respectivamente, nas Tabelas 4 e 5 e no Anexo D.

**Tabela 4 - Dados das frequências das imunofluorescências diretas do LE oral (n = 60)**

Variáveis		N (%)
Imunofluorescências diretas informadas n = 53 de 60 (88%)	Positiva	41 de 53 (77%)
	Ausente/Negativa	12 de 53 (23%)
Imunofluorescências diretas não informadas n = 7 de 60 (12%)		-

**Tabela 5 - Análise da frequência dos dados das imunofluorescências diretas positivas do grupo de LE oral (n = 41)**

Variáveis		N (%)
Tipo de lúpus eritematoso	Sistêmico	18 de 41 (44%)
	Cutâneo	23 de 41 (56%)
Formas clínicas do lúpus eritematoso oral	Crônica discoide	28 de 41 (68%)
	Aguda	11 de 41 (27%)
	Subaguda	2 de 41 (5%)
Padrão do depósito	Granuloso	18 de 41 (44%)
	Homogêneo	11 de 41 (27%)
	Homogêneo e Granuloso	3 de 41 (7%)
Localização do depósito	Não especificado o padrão	9 de 41 (22%)
	ZMB isolada	21 de 41 (51%)
	ZMB associada a outros locais	15 de 41 (37%)
Imunorreagentes	Corpos citoides isolados	5 de 41 (12%)
	IgM isoladamente	20 de 41 (49%)
	IgG isoladamente	1 de 41 (2%)
	IgA isoladamente	0 de 41 (0%)
	C3 isoladamente	1 de 41 (2%)
	Depósito de Imunoglobulinas IgG ou IgM ou IgA combinadas com ou sem complemento	13 de 41 (32%)
Depósito simultâneo de IgM, IgG, IgA e C3 na ZMB	6 de 41 (15%)	

IgM: imunoglobulina M; IgG: imunoglobulina G; IgA: Imunoglobulina A; C3: complemento C3; ZMB: zona da membrana basal.

### **5.1.2 Análise descritiva comparativa dos dados entre as lesões de LE de mucosa intraoral (n = 40) e grupo controle/mucosas hígdas (n = 10)**

#### **5.1.2.1 Análise dos aspectos histológicos**

O aspecto histológico observado nas 40 amostras de lesões de LE oral demonstrou no epitélio a presença de hiperqueratose (n = 14 de 40, 35%), atrofia (n = 6 de 40, 15%), hipergranulose (n = 7 de 40, 17,5%) e atipia (2 de 40, 4,8%) porém não muito frequente. Entretanto, achados como a degeneração hidrópica/ vacuolização da camada basal e a apoptose de queratinócitos ocorreram com maior frequência (31 de 40, 77,5% e 28 de 40, 70%, respectivamente). Todos estes achados não foram encontrados no controle.

Ainda no epitélio foi observado em ambos os grupos a acantose (n = 24 de 40, 60% na mucosa intraoral e n = 8 de 10, 80% no controle) e hiperplasia epitelial (3 de 40, 7,5% na mucosa intraoral e n = 8 de 10, 80% no controle), porém muito mais frequente no grupo controle. Já a espongiose (24 de 40, 60% na mucosa intraoral e n = 3 de 10, 30% no controle) e a exocitose de linfócitos (n = 20 de 40, 50% na mucosa intraoral e n = 3 de 10 30% do controle) estiveram mais presentes no grupo de LE oral (mucosa intraoral).

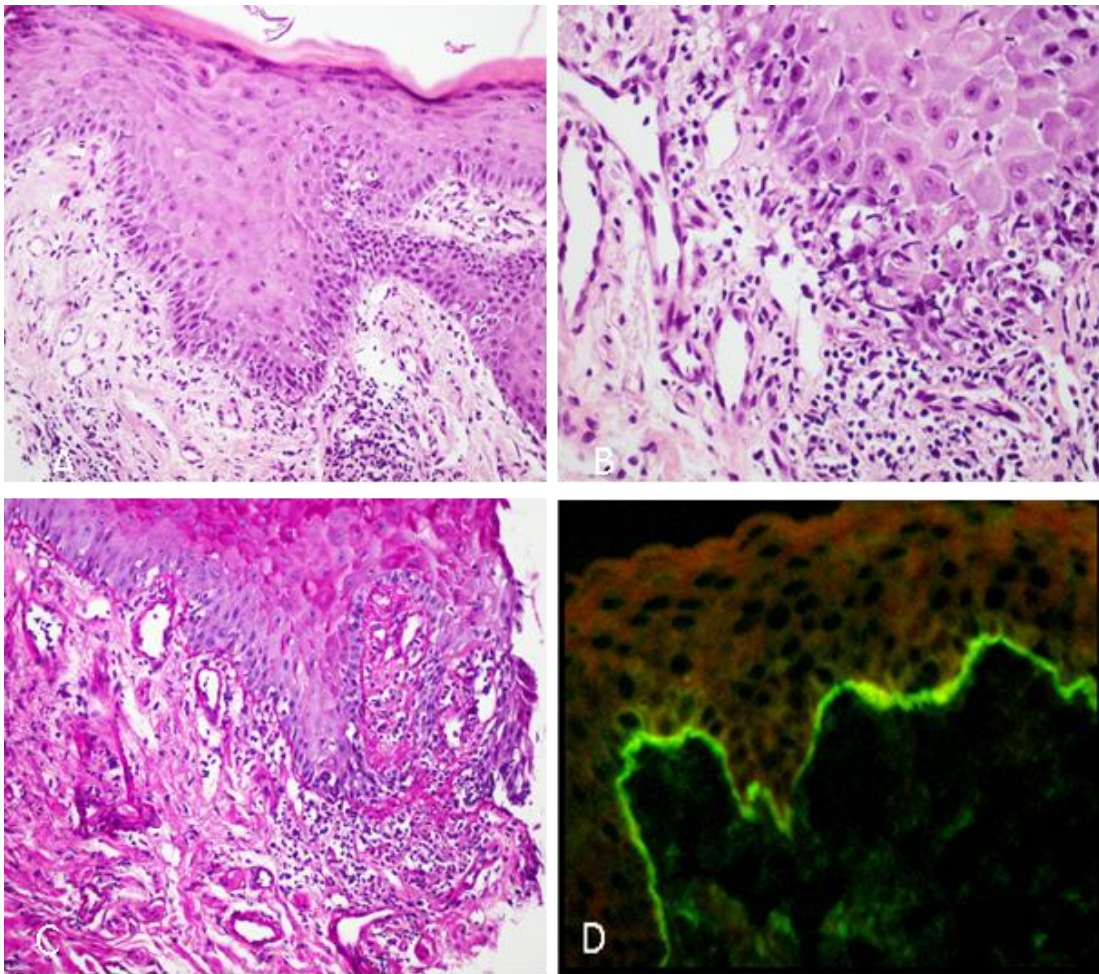
O espessamento da membrana basal tanto epitelial quanto da parede dos vasos foi observado somente no grupo LE oral (mucosa intraoral) (n = 33 de 40, 83,5% e n = 37 de 40, 92,5% respectivamente).

Na lâmina própria, as presenças de edema de endoteliócitos, de trombos e a reação positiva para Alcian Blue nas glândulas salivares foram

observadas somente nos casos de LE oral (n = 5 de 40, 12,5%, n = 6 de 40, 15% e n = 3 de 40, 7,5%). Os achados edema intersticial e reação positiva para Alcian Blue no interstício ocorreram em ambos, porém mais frequentemente no grupo mucosa intraoral em relação ao grupo controle (n = 13 de 40, 32,5% e n = 1 de 10, 10%; n = 27 de 40, 67,5% e n = 4 de 10, 40% respectivamente).

Quanto ao infiltrado, houve diferenças entre os dois grupos. No grupo controle o infiltrado foi mínimo (n = 10 de 10, 100%), superficial (superficial/junção epitélio lâmina própria) (n = 10 de 10, 100%); focal (n = 10 de 10, 100%); e na sua maioria linfoplasmocitário (8 de 10, 80%). Já no grupo do LE da mucosa intraoral foi observado infiltrado superficial /junção epitélio lâmina própria (JELP) (n = 39 de 40, 97,5%), perivascular profundo (n = 37 de 40, 92,5%) e ao redor das glândulas salivares (n = 4 de 40, 10%). Na sua grande maioria apresentou o padrão liquenoide (n = 22 de 40, 55%) ou difuso (n = 10 de 40, 25%). O aspecto focal esteve presente em oito das 40 amostras (n = 8 de 40, 20%). O infiltrado foi, na sua grande maioria, linfomononuclear (n = 20 de 40, 50%).

Alguns dos achados histológicos encontrados estão ilustrados na Figura 11. A análise da frequência dos dados comparativos entre a histologia dos grupos de LE da mucosa intraoral (n = 40) e controle/mucosas saudáveis estão resumidos nas Tabelas 6 e 7.



**Figura 11 - Aspectos histopatológicos e de imunofluorescência direta de lesões orais de LE. A: acantose irregular, hipergranulose, com infiltrado linfocitário aproximando-se da junção epitélio lâmina própria (hematoxilina e eosina, aumento original 20X); B: degeneração vacuolar da camada basal com exocitose de linfócitos (hematoxilina e eosina, aumento original de 40X); C: infiltrado inflamatório perivascular associado ao espessamento da membrana basal (PAS, aumento original de 20x); D: imunofluorescência direta mostrando depósitos homogêneos de IgM ao longo da membrana basal**

**Tabela 6 - Dados histopatológicos do epitélio, lâmina própria e membrana basal entre o subgrupo mucosa intraoral (n = 40) e grupo controle (n = 10)**

<b>Epitélio</b>	<b>Mucosa intraoral (n = 40) Controle (n = 10)</b>	
Hiperqueratose	14 (35,0%)	0 (0%)
Atrofia	6 (15,0%)	0 (0%)
Acantose	24 (60,0%)	8 (80,0%)
Hipergranulose	7 (17,5%)	0 (0,0%)
Hiperplasia Epitelial	3(7,5%)	8 (80,0%)
Espongiose	24 (60,0%)	3 (30,0%)
Degeneração Hidrópica	31 (77,5%)	0 (0%)
Apoptose queratinócitos	28 (70,0%)	0 (0%)
Exocitose de linfócitos	20 (50,0%)	3 (30,0%)
Atipia epitelial	2(4,8%)	0 (0,0%)
<b>Membrana Basal</b>	<b>Mucosa intraoral (n = 40)</b>	<b>Controle (n = 10)</b>
Membrana basal epitelial espessada	33 (82,5%)	0 (0%)
Membrana basal dos vasos espessada	37 (92,5%)	0 (0%)
<b>Lâmina própria</b>	<b>Mucosa intraoral (n = 40)</b>	<b>Controle (n = 10)</b>
Edema intersticial	13 (32,5%)	1 (10,0%)
Edema de endoteliócitos	5 (12,5%)	0 (0%)
Presença de Trombos	6 (15,0%)	0 (0%)
Alcian Blue Intersticial	27 (67,5%)	4 (40,0%)
Alcian blue Glândular	3 (7,5%)	0 (0%)



**Tabela 7 - Comparação dos dados histológicos do infiltrado inflamatório entre o subgrupo mucosa intraoral e controle**

Infiltrado	Mucosa intraoral (n = 40)	Controle (n = 10)
Infiltrado superficial/ junção epitélio lâmina própria	39 (97,5%)	10 (100,0%)
Infiltrado perivascular profundo	37 (92,5%)	0 (0%)
Infiltrado ao redor das glândulas salivares	4 (10,0%)	0 (0%)
Forma do infiltrado	Liquenoide: 22 (55,0%)	Liquenoide: 0 (0%)
	Focal: 8 (20,0%)	Focal: 0 (100,0%)
	Difuso: 10 (25,0%)	Difuso: 0 (0,0%)
Tipo celular	Linfomononuclear: 20 (50,0%)	Linfomononuclear: 0 (0%)
	Linfocitário 7: (17,5%)	Linfocitário: 2 (20%)
	Linfoplasmocitário: 6 (15%)	Linfoplasmocitário: 8 (80%)
	Linfomononuclear com raros/alguns neutrófilos: 2 (5%)	Linfomononuclear com raros/alguns neutrófilos: 0 (0%)
	Linfoplasmocitário com raros/alguns neutrófilos: 5 (12,5%)	Linfoplasmocitário com raros/alguns neutrófilos: 0 (0%)
	Intenso: 13 (32,5%)	Intenso: 0 (0%)
Intensidade do infiltrado	Moderado: 11 (27,5%)	Moderado: 0 (0%)
	Mínimo: 16 (40,0%)	Mínimo: 10 (100,0%)

### 5.1.2.2 Análise dos aspectos imuno-histoquímicos

Foram analisados os resultados da avaliação imuno-histoquímica de cada anticorpo de acordo com sua localização topográfica na mucosa oral, entre o grupo de LE (mucosa intraoral, n = 40) e controle (n = 10).

#### 5.1.2.2.1 Análise semiquantitativa da imunoexpressão do marcador CD1a

Foi observado marcação positiva no epitélio para CD1a em 39 das 40 amostras de LE da mucosa intraoral (97,5%) e em todas as amostras do grupo controle (n = 10 de 10, 100%).

Na lâmina própria, a marcação de CD1a ocorreu em 35 dos 40 espécimes (87,5%), sendo que sua localização foi um pouco maior região da JELP ou superficial (n = 32 de 40, 80%) que na área perivascular profunda (n = 30 de 40, 75%). No controle, houve imunomarcação em sete amostras de 10 (70%), com distribuição maior na região da JELP ou superficial (n = 7 de 10, 70%) que na área perivascular profunda (n = 5 de 10, 50%).

#### **5.1.2.2.2 Análise semiquantitativa da imunoexpressão do marcador Langerina**

Foi obtido expressão positiva para Langerina no epitélio em 31 das 40 amostras da mucosa intraoral do LE (77,5%) e em todas as amostras do grupo controle (n = 10 de 10, 100%). Já na lâmina própria da mucosa intraoral, a imunomarcação da Langerina ocorreu somente em 14 dos 40 espécimes (35%), localizadas na grande maioria na JELP ou superficial (n = 14 de 40, 35%) e poucas na área perivascular profunda (n = 6 de 40, 15%).

No controle, a imunoexpressão ocorreu em apenas dois espécimes de 10 (20%), com pouca expressão tanto na região da JELP ou superficial (n = 1 de 10, 10%) quanto na área perivascular profunda (n = 1 de 10, 10%).

#### **5.1.2.2.3 Análise semiquantitativa da imunoexpressão do marcador CD123**

No epitélio, foi observada pouca expressão positiva para CD123 nas amostras da mucosa intraoral do LE (n = 7 de 40, 17,5%). Já no controle não houve imunomarcagem.

Na lâmina própria, a imunoexpressão de CD123 ocorreu em 38 das 40 amostras da mucosa intraoral do LE (95%), localizadas na JELP ou superficial (n = 33 de 40, 82,5%) e na área perivascular profunda, sendo predominante nesta última (n = 37 de 40, 92,5%). No controle, a expressão de CD123 ocorreu na lâmina própria (n = 5 de 10, 50%), com localização na região perivascular profunda (n = 1 de 10, 10%).

#### **5.1.2.2.4 Análise semi-quantidade da imunoexpressão do marcador CD21**

Na mucosa intraoral do LE a imunoexpressão de CD21 ocorreu em apenas uma amostra no epitélio (n = 1 de 40, 2,5%) e em duas amostras na lâmina própria (n = 2 de 40, 5%), todas localizadas na área perivascular profunda (n = 2 de 40, 5%).

No controle não houve expressão para CD21 em nenhuma topografia.

Os resultados das análises das frequências da imunoexpressão das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 estão resumidos na Tabela 8.

**Tabela 8 - Análise da frequência da imunoexpressão das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 entre o subgrupo mucosa intraoral (n = 40) e o controle (n = 10)**

Marcadores	Localização	Mucosa Intraoral (n = 40)	Controle (n = 10)
CD1a	Epitélio	39 de 40 (97,5%)	10 de 10 (100%)
	Lâmina própria	35 de 40 (87,5%)	7 de 10 (70%)
	Junção epitélio lâmina própria/Superficial	32 de 40 (80%)	7 de 10 (70%)
	Perivascular Profundo	30 de 40 (75%)	5 de 10 (50%)
Langerina	Epitélio	31 de 40 (77,5%)	10 de 10 (100%)
	Lâmina própria	14 de 40 (35%)	2 de 10 (20%)
	Junção epitélio lâmina própria/Superficial	15 de 40 (37,5%)	1 de 10 (10%)
	Perivascular Profundo	6 de 40 (15%)	1 de 10 (10%)
CD123	Epitélio	7 de 40 (17,5%)	0 de 0 (0%)
	lâmina própria	38 de 40 (95%)	5 de 10 (50%)
	Junção epitélio lâmina própria/Superficial	33 de 40 (82,5%)	0 de 10 (0%)
	Perivascular Profundo	37 de 40 (92,5%)	1 de 10 (10%)
CD21	Epitélio	1 de 40 (2,5%)	0 de 10 (0%)
	lâmina própria	2 de 40 (5%)	0 de 10 (0%)
	Junção epitélio lâmina própria/Superficial	0 de 40 (0%)	0 de 10 (0%)
	Perivascular Profundo	2 de 40 (5%)	0 de 10 (0%)

### 5.1.3 Análises comparativas dos dados entre os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar) (n = 40) e semimucosa (área com exposição solar) (n = 20)

#### 5.1.3.1 Análise dos dados de imuno-histoquímica

A avaliação da expressão imuno-histoquímica das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 entre os subgrupos mucosa intraoral (não exposta ao sol) e semimucosa (exposta ao sol) serão analisados separadamente e de acordo com sua localização topográfica na mucosa oral.

#### **5.1.3.1.1 Análise semiquantitativa da imunexpressão do marcador CD1a**

No epitélio, a expressão da proteína CD1a ocorreu em 39 das 40 amostras (97,5%) da mucosa intraoral e na totalidade dos espécimes da semimucosa (n = 20 de 20, 100%).

Na lâmina própria, a imunomarcacão ocorreu em 35 das 40 amostras da mucosa intraoral (87,5%), presente em 80% na região da JELP ou superficial (n = 32 de 40) e também em 75% na região perivascular profunda (n = 30 de 40). Já na semimucosa, a imunomarcacão ocorreu em 18 de 20 espécimes (90%), presente em 70% na região superficial ou JELP (n = 14 de 20) e em 80% na área perivascular profunda (n = 16 de 20).

#### **5.1.3.1.2 Análise semiquantitativa da imunexpressão do marcador Langerina**

A expressão positiva para Langerina ocorreu no epitélio em 31 das 40 amostras (77,5%) da mucosa intraoral do LE e em quase a totalidade dos espécimes da semimucosa (n = 19 de 20 espécimes, 95%).

Já na lâmina própria, a imunomarcacão de Langerina ocorreu em 14 dos 40 espécimes (35%) da mucosa intraoral, localizadas em sua maioria na JELP ou superficial (n = 14 de 40, 35%) e algumas na área perivascular profunda (n = 6 de 40, 15%). Na semimucosa, a imunexpressão foi positiva na lâmina própria (n = 8 de 20, 40%) presentes na região da JELP ou superficial em cinco amostras de 20 (25%) e na área perivascular profunda em sete espécimes de 20 (35%).

#### **5.1.3.1.3 Análise semiquantitativa da imunopressão do anticorpo CD123**

Houve diferenças na expressão de CD123 no epitélio entre a mucosa intraoral (sem exposição solar) e a semimucosa (com exposição solar).

Foi observada imunomarcção no epitélio em sete das 40 amostras da mucosa intraoral do LE (17,5%) enquanto na semimucosa a expressão foi positiva em 11 dos 20 espécimes (55%).

Na lâmina própria, na mucosa intraoral do LE, a imunopressão de CD123 ocorreu em 38 das 40 amostras (95%), localizadas na JELP ou superficial (n = 33 de 40, 82,5%) e na área perivascular profunda (n = 37 de 40, 92,5%). Na semimucosa a totalidade das amostras foram positivas para imunomarcção de CD123 (n = 20 de 20, 100%) localizadas na JELP ou superficial (n = 17 de 20, 85%) e na região perivascular profunda (n = 19 de 20, 95%).

#### **5.1.3.1.4 Análise semiquantitativa da imunopressão do anticorpo CD21**

A imunopressão de CD21 ocorreu em poucas amostras de ambos os grupos, tanto no epitélio quanto na lâmina própria.

No epitélio, foi observada em somente uma amostra (n = 1 de 40, 2,5%) da mucosa intraoral e em nenhuma da semimucosa (n = 0 de 20, 0%).

Na lâmina própria, na mucosa intraoral, a imunopressão de CD21 ocorreu em apenas dois dos 40 espécimes (5%), localizadas na sua totalidade na área perivascular profunda (n = 2 de 40, 5%). Na semimucosa,

também houve pouca expressão positiva de CD21 tanto na JELP ou superficial (n = 1 de 20, 5%) quanto na área perivascular profunda (n = 2 de 20, 10%).

O resultado das análises das frequências das expressões das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 estão resumidos na Tabela 9.

**Tabela 9 - Análise da frequência da imunexpressão das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa**

Marcadores	Localização	Mucosa Intraoral (n = 40)	Semimucosa (n = 20)
CD1a	Epitélio	39 de 40 (97,5%)	20 de 20 (100%)
	Lâmina própria	35 de 40 (87,5%)	18 de 20 (90%)
	Junção epitélio lâmina própria/Superficial	32 de 40 (80%)	14 de 20 (70%)
	Perivascular profundo	30 de 40 (75%)	16 de 20 (80%)
Langerina	Epitélio	31 de 40 (77,5%)	19 de 20 (95%)
	Lâmina própria	14 de 40 (35%)	8 de 20 (40%)
	Junção epitélio lâmina própria/Superficial	15 de 40 (37,5%)	5 de 20 (25%)
	Perivascular profundo	6 de 40 (15%)	7 de 20 (35%)
CD123	Epitélio	7 de 40 (17,5%)	11 de 20 (55%)
	Lâmina própria	38 de 40 (95%)	20 de 20 (100%)
	Junção epitélio lâmina própria/Superficial	33 de 40 (82,5%)	17 de 20 (85%)
	Perivascular Profundo	37 de 40 (92,5%)	19 de 20 (95%)
CD21	Epitélio	1 de 40 (2,5%)	0 de 20 (0%)
	Lâmina própria	2 de 40 (5%)	3 de 20 (15%)
	Junção epitélio lâmina própria/Superficial	0 de 40 (0%)	1 de 20 (5%)
	Perivascular profundo	2 de 40 (5%)	2 de 20 (10%)

## 5.2 Análises Estatísticas

### 5.2.1 Análise estatística comparativa entre o subgrupo de mucosa intraoral (n = 40) e o grupo controle (n = 10)

#### 5.2.1.1 Análise estatística dos dados histológicos

Houve diferenças nos achados histológicos de hiperqueratose ( $p = 0,02906$ ), hiperplasia ( $p = 0,0000009561$ ), degeneração hidrópica da camada basal ( $p = 0,00007798$ ) e apoptose de queratinócitos ( $p = 0,00007863$ ) predominantes no epitélio do grupo de LE da mucosa intraoral em relação ao grupo controle. Também foi observado espessamento da membrana basal epitelial e das paredes dos vasos preponderante nos espécimes de LE intraoral em comparação com o controle ( $p = 0,00000108$  e  $p = 0,00000003533$ , respectivamente). Na lâmina própria houve diferenças estatísticas nos grupos de variáveis que incluem o padrão, a intensidade, o tipo celular predominante no infiltrado, e a presença do infiltrado perivascular profundo ( $p = 0,00002873$ ;  $p = 0,001414$ ;  $p = 0,002289$ ;  $p = 0,000000003533$ , respectivamente). A presença do infiltrado inflamatório na área superficial ou da junção epitélio lâmina própria não teve significância estatística ( $p = 0,6171$ ). As análises estatísticas dos dados histológicos comparativos entre os dois grupos estão resumidas nas Tabela 10 e 11.



**Tabela 10 - Análise estatística dos dados histológicos comparativos entre as lesões de LE de mucosa intraoral (n = 40) e controle (n = 10) (somente epitélio e membrana basal)**

Variáveis	Grupo controle (n = 10)		Média	Desvio Padrão	Mediana	Intervalo Interquartil	Significância (p)
	Mucosa intraoral (n = 40)						
<b>Epitélio</b>							
Hiperqueratose	Grupo Controle		0	0	0	0	$p = 0,02906$
	Mucosa Intraoral		0,35	0,4830459	0	1	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Atrofia	Grupo Controle		0	0	0	0	$p = 0,1962$
	Mucosa Intraoral		0,15	0,3616303	0	0	$p > 0,05$
Acantose	Grupo Controle		0,8	0,421637	1	0	$p = 0,2433$
	Mucosa Intraoral		0,6	0,4961389	1	1	$p > 0,05$
Hipergranulose	Grupo Controle		0	0	0	0	$p = 0,1579$
	Mucosa Intraoral		0,175	0,3848076	0	0	$p > 0,05$
Hiperplasia	Grupo Controle		0,8	0,421637	1	0	$p = 0,0000009561$
	Mucosa Intraoral		0,075	0,2667468	0	0	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Espongiose	Grupo Controle		0,3	0,4830459	0	0,75	$p = 0,09191$
	Mucosa Intraoral		0,6	0,4961389	1	1	$p > 0,05$
Degeneração Hidrópica	Grupo Controle		0	0	0	0	$p = 0,000007798$
	Mucosa Intraoral		0,775	0,4229021	1	0	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Apoptose de queratinócitos	Grupo Controle		0	0	0	0	$p = 0,00007863$
	Mucosa Intraoral		0,7	0,4640955	1	1	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Exocitose de linfócitos	Grupo Controle		0,3	0,4830459	0	0,75	$p = 0,2612$
	Mucosa Intraoral		0,5	0,5063697	0,5	1	$p > 0,05$
Atipia Epitelial	Grupo Controle		0	0	0	0	$p = 0,4750$
	Mucosa Intraoral		0,05	0,2207214	0	0	$p > 0,05$
<b>Membrana Basal</b>							
Epitelial	Grupo Controle		0	0	0	0	$p = 0,00000108$
	Mucosa Intraoral		0,825	0,3848076	1	0	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Da parede dos vasos	Grupo Controle		0	0	1	0	$p = 0,00000003533$
	Mucosa Intraoral		0,925	0,2667468	1	0	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>

Os valores da significância (p) para as variáveis categóricas foram baseadas no Kruskal-Wallis rank sum test.  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

**Tabela 11 - Análise estatística dos dados histológicos comparativos entre as lesões de LE de mucosa intraoral (n = 40) e controle (n = 10) (somente lâmina própria)**

Variáveis	Grupo controle n = 10 Mucosa Intraoral n = 40	Média	Desvio Padrão	Mediana	Intervalo Interquartil	Significância (p)
<b>Lâmina própria</b>						
Infiltrado superficial/JELP	Grupo Controle	1	0	1	0	$p = 0,6171$
	Mucosa Intraoral	0,975	0,1581	1	0	$p > 0,05$
Forma do Infiltrado superficial/JELP	Grupo Controle	3	0	3	0	$p = 0,00002873$
	Mucosa Intraoral	1,95	0,6775	2	0,25	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Infiltrado Perivascular Profundo	Grupo Controle	0	0	0	0	$p = 0,000000003533$
	Mucosa Intraoral	0,925	0,2667	1	0	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Tipo celular predominante no infiltrado	Grupo Controle	4	2,1082	3	0	$p = 0,002289$
	Mucosa Intraoral	2,4	2,0102	1,5	2	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Intensidade do Infiltrado	Grupo Controle	1	0	1	0	$p = 0,001414$
	Mucosa Intraoral	1,925	0,859	2	2	<b><math>p &lt; 0,05</math></b>
Infiltrado ao redor da Glândula Salivar	Grupo Controle	0	0	0	0	$p = 0,302$
	Mucosa Intraoral	0,1	0,3038218	0	0	$p > 0,05$
Edema Intersticial	Grupo Controle	0,1	0,3162	0	0	$p = 0,1606$
	Mucosa Intraoral	0,325	0,4743	0	1	$p > 0,05$
Edema de Endoteliócitos	Grupo Controle	0	0	0	0	$p = 0,2433$
	Mucosa Intraoral	0,125	0,3349321	0	0	$p > 0,05$
Presença de trombos	Grupo Controle	0	0	0	0	$p = 0,1962$
	Mucosa Intraoral	0,15	0,3616	0	0	$p > 0,05$
Alcian Blue Intersticial	Grupo Controle	0,4	0,5164	0	1	$p = 0,1127$
	Mucosa Intraoral	0,675	0,4743	1	1	$p > 0,05$
Alcian Blue Glandular	Grupo Controle	0	0	0	0	$p = 0,3766$
	Mucosa Intraoral	0,075	0,2667	0	0	$p > 0,05$

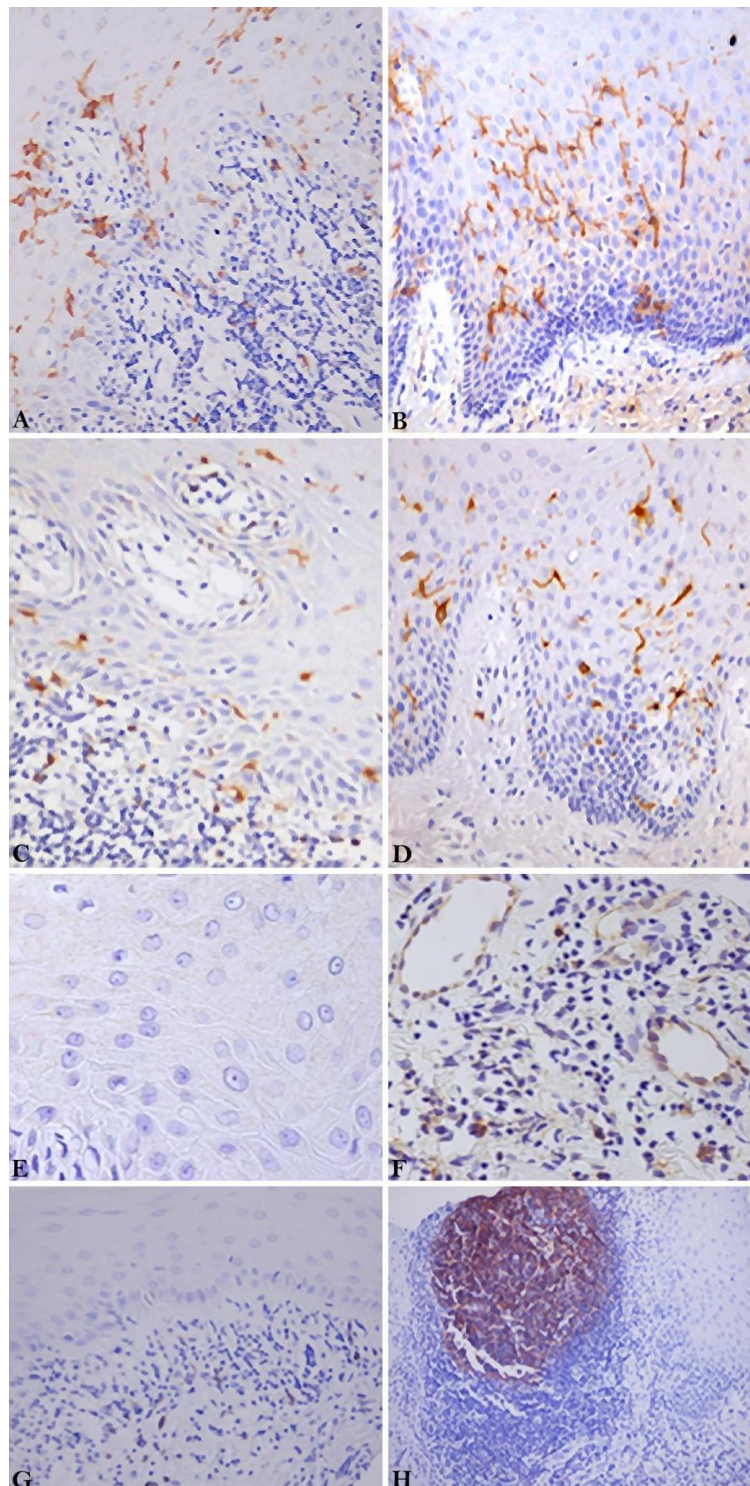
JELP: Junção epitélio lâmina própria.

Os valores da significância (p) para as variáveis categóricas foram baseadas no Kruskal-Wallis rank sum test.  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

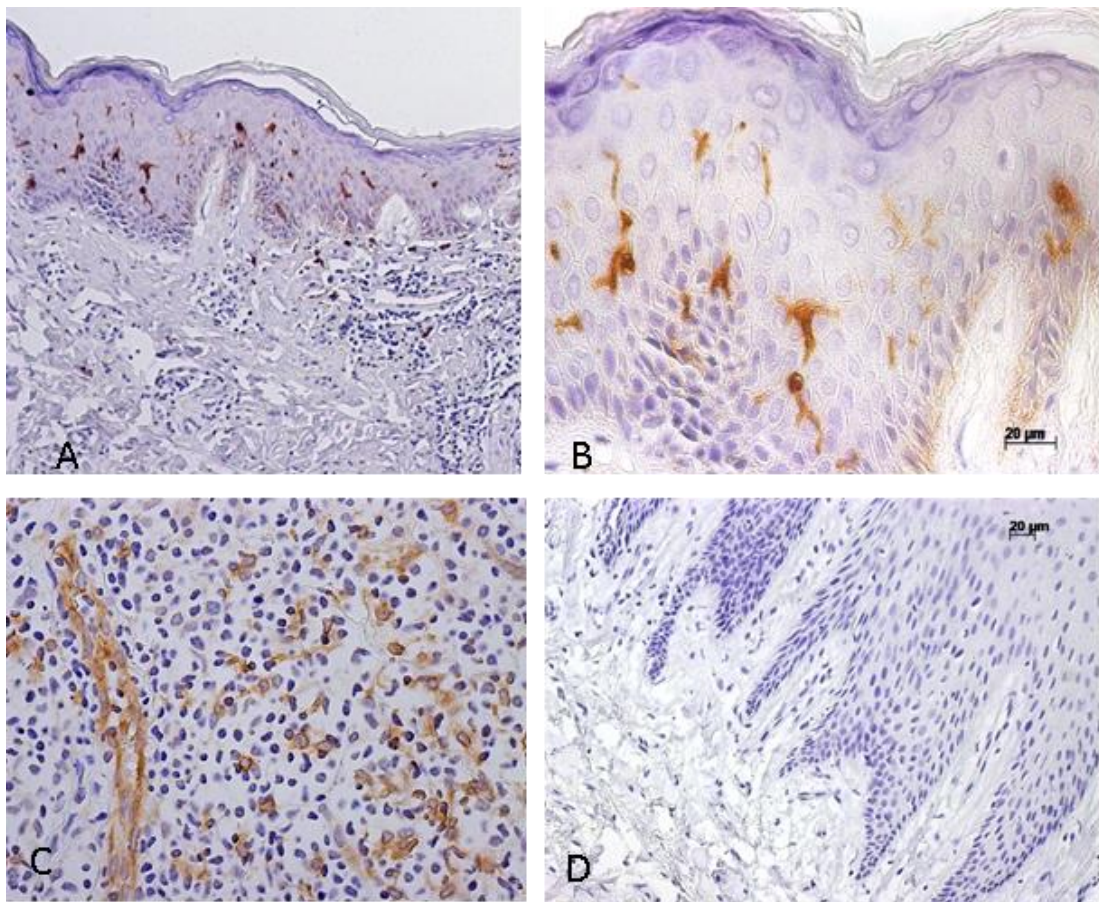
## **5.2.2 Análises morfométricas e estatísticas comparando os subgrupos mucosa intraoral (n = 40) e controle (n = 10), e os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar) e semimucosa (com exposição solar) (n = 20)**

### **5.2.2.1 Análise estatística dos dados de Imuno-histoquímica**

As análises morfométricas das expressões das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 foram realizadas conforme sua localização na morfologia da lesão oral: epitélio e lâmina própria, sendo nesta última, avaliadas de acordo com a distribuição das moléculas na área da JELP e na área perivascular profunda. Os resultados destas análises estão ilustrados nas Figura 12 e 13.



**Figura 12 -** Expressão das proteínas CD1a, Langerina, CD123 e CD21 nas lesões orais do LE. A e B: expressão de CD1a no epitélio e no infiltrado na lâmina própria (aumento original 40X); C e D: expressão de Langerina no epitélio e no infiltrado na lâmina própria (aumento original 40X); E: Ausência de expressão de CD 123 no epitélio. F: expressão de CD123 no infiltrado na lâmina própria e marcação interna dos endotélios (aumento original 40X); G: expressão muito fraca de CD21 no infiltrado inflamatório das lesões orais de LE. (aumento original 40X). F: imunoposição intensa de CD21 no tecido linfóide ectópico presente no espécime de LE oral (aumento original 40X)



**Figura 13 - Expressão das proteínas Langerina, CD123 e CD21 nas lesões orais do LE. A: imunomarcção de Langerina no epitélio (aumento de 10X); B: detalhe da imunoexpressão de Langerina no epitélio (aumento de 20X), onde pode se observar a forma dendrítica da célula; C: imunomarcção intensa de CD123 no infiltrado e o controle de marcação interna do endotélio (aumento de 40X); D: ausência de expressão de CD21 no epitélio e lâmina própria**

#### **5.2.2.1.1 Análise morfométrica e estatística da imunoexpressão de CD1a**

##### **a) Análise da imunomarcção de CD1a entre o subgrupo mucosa intraoral e controle**

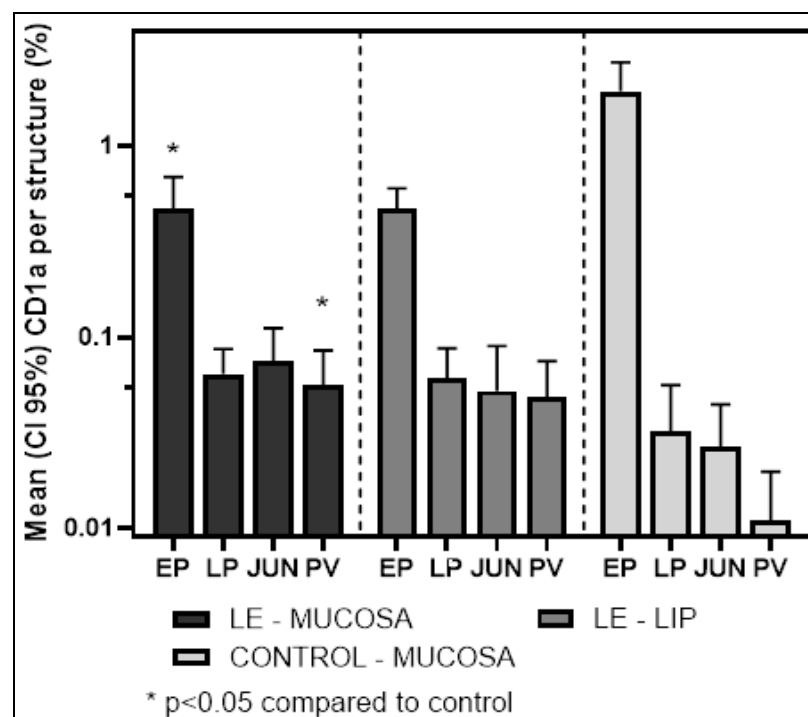
A mucosa intraoral em comparação ao controle apresenta imunoexpressão de CD1a diminuída na topografia do Epitélio ( $p = 0,003$ ) e aumento na lâmina própria na região da JELP ou superficial, porém sem significância estatística ( $p = 0,153$  e  $p = 0,060$  respectivamente). Na área Perivascular Profunda está aumentada com significância estatística ( $p = 0,002$ ).

**b) Análise da imunoposição de CD1a entre os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar, n = 40) e semimucosa (com exposição solar, n = 20)**

Não houve diferenças na expressão da proteína CD1a entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa.

Todos os resultados das imunomarcações de CD1a estão resumidos no Anexo E, e representados no Gráfico 1.

**Gráfico 1 - Representação dos resultados dos dados morfométricos e estatísticos da imunomarcação da proteína CD1a, comparativos entre o subgrupo de LE mucosa intraoral e controle e entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa**



EP: epitélio; LP: lâmina própria; JUN: junção epitélio lâmina própria; PV: perivascular profundo; LE-MUCOSA: subgrupo mucosa intraoral (sem exposição solar); LE-LIP, subgrupo semimucosa (com exposição solar); Control-Mucosa: grupo controle.

Acima: Interpretação gráfica da comparação dos dados morfométricos dos Subgrupo Mucosa Intraoral (sem exposição solar) e Grupo Controle.

As representações acima demonstraram que o Subgrupo Mucosa Intraoral apresentou significância estatística para a proteína CD1a (EP; PV); quando comparado ao Grupo controle. O Subgrupo Mucosa intraoral não apresentou diferenças estatísticas para a proteína CD1a quando comparado com o Subgrupo da Semimucosa.

#### **5.2.2.1.2 Análise morfométrica da imunomarcção de Langerina**

##### **a) Análise da imunoexpressão de Langerina entre o subgrupo mucosa intraoral e controle**

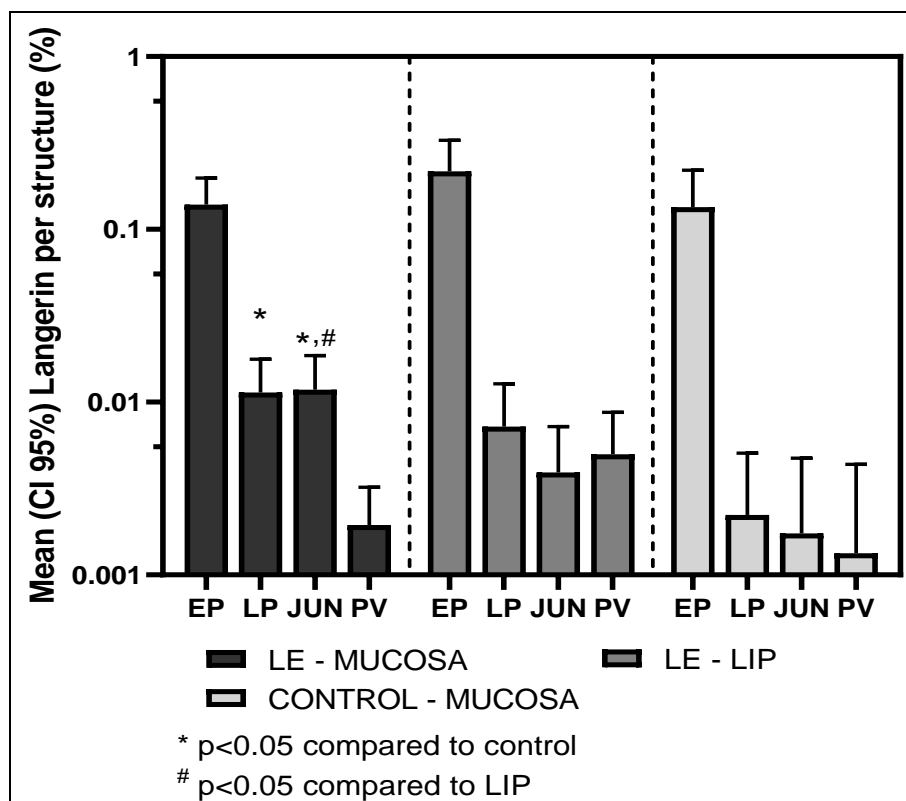
A expressão imuno-histoquímica da proteína Langerina está diminuída no epitélio do subgrupo de LE mucosa intraoral em relação ao grupo controle, porém sem significância estatística ( $p = 0,944$ ). Na topografia da lâmina própria sua distribuição está aumentada ( $p = 0,012$ ), na área da JELP ou superficial ( $p = 0,006$ ) em relação ao controle. Não houve diferença significativa na região perivascular profunda ( $p = 0,596$ ).

##### **b) Análise da imunoexpressão de Langerina entre os subgrupos mucosa intraoral (n = 40) e semimucosa (n = 20)**

Houve diferenças na imunoexpressão da proteína Langerina entre o subgrupo mucosa intraoral (área sem exposição solar) e semimucosa (com exposição solar) apenas na topografia da JELP ( $p = 0,043$ ).

Todos os resultados das imunoexpressões da Langerina estão resumidos no Anexo F, e representados abaixo no Gráfico 2.

**Gráfico 2 - Representação dos resultados dos dados morfométricos da imunomarcção da proteína Langerina, comparativos entre o subgrupo de LE mucosa intraoral e controle e entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa**



EP: epitélio; LP: lâmina própria; JUN: junção epitélio lâmina própria; PV: perivascular profundo; LE-MUCOSA: subgrupo mucosa intraoral (sem exposição solar); LE-LIP, subgrupo semimucosa (com exposição solar); Control-Mucosa: grupo controle.

Acima: Representação gráfica da comparação dos dados morfométricos entre os subgrupos mucosa intraoral e grupo controle e os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar) e semimucosa (com exposição solar).

As representações acima demonstraram que o subgrupo mucosa intraoral apresentou significância estatística para a proteína Langerina (LP; JUN) quando comparado ao grupo controle. O subgrupo mucosa intraoral apresentou diferença estatística para a proteína Langerina (JUN) quando comparada com o subgrupo da semimucosa.



### **5.2.2.1.3 Análise morfométrica da imunomarcção de CD123**

#### **a) Análise da imunoexpressão de CD123 entre o subgrupo mucosa intraoral e controle**

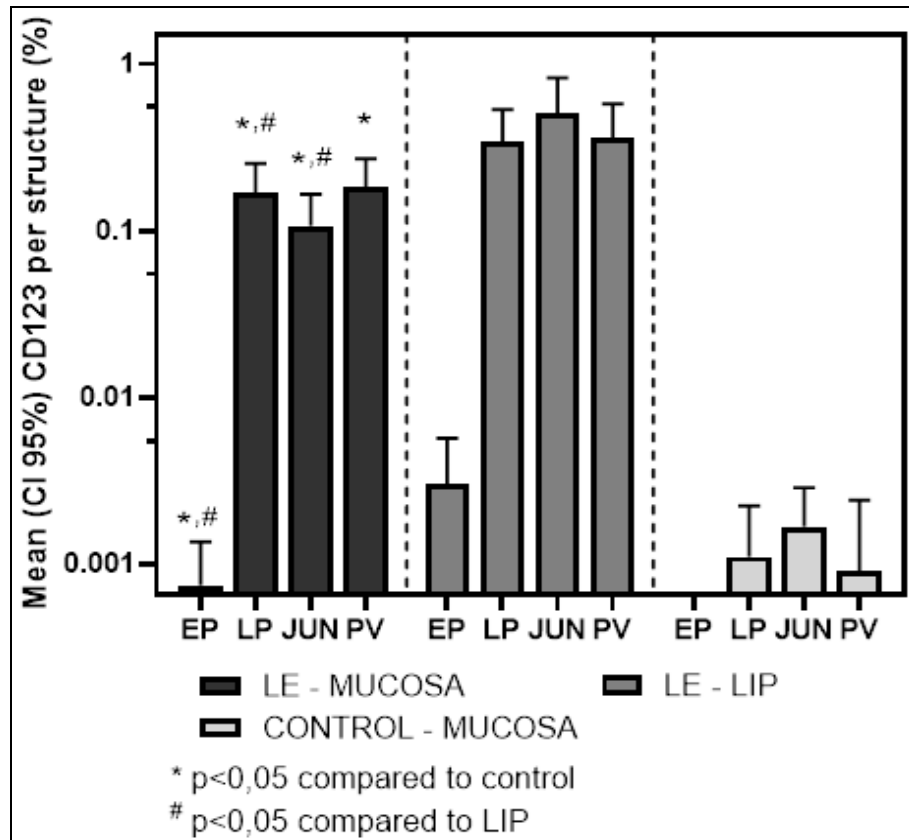
A imunoexpressão da molécula CD123 está aumentada em todas as topografias na comparação entre LE mucosa intraoral com o grupo controle (Epitélio  $p = 0,005$ ; lâmina própria  $p < 0,001$ ; Junção Epitélio lâmina própria  $p < 0,001$ ; Perivascular Profunda  $p < 0,001$ ).

#### **b) Análise da imunoexpressão de CD123 entre os subgrupos mucosa intraoral (n = 40) e semimucosa (n = 20)**

Houve diferenças na expressão da proteína CD123 entre os dois grupos, sendo maior no subgrupo semimucosa (com exposição solar) em comparação ao subgrupo mucosa intraoral (sem exposição solar) tanto no epitélio ( $p = 0,024$ ) como na lâmina própria ( $p = 0,047$ ) em sua localização na JELP ( $p = 0,001$ ).

Todos os resultados das imunoexpressões de CD123 estão resumidos no Anexo G, e representados abaixo no Gráfico 3.

**Gráfico 3 - Representação dos resultados dos dados morfométricos da imunoexpressão da proteína CD123, comparando o subgrupo de LE mucosa intraoral e controle e os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa**



EP: epitélio; LP: lâmina própria; JUN: junção epitélio lâmina própria; PV: perivascular profundo; LE-MUCOSA: subgrupo mucosa intraoral (sem exposição solar); LE-LIP, subgrupo semimucosa (com exposição solar); Control-Mucosa: grupo controle.

Acima: Gráfico representando a comparação dos dados morfométricos entre os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar) e grupo controle e os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa. As representações acima demonstraram que o Grupo Mucosa Intraoral apresentou significância estatística para a proteína CD123 (EP; LP; JUN; PV) quando comparado ao Grupo controle. E que o subgrupo mucosa intraoral (sem exposição solar) teve significância estatística (EP; LP; JUN) em comparação ao subgrupo semimucosa (com exposição solar).

#### **5.2.2.1.4 Análise morfométrica da imunomarcção de CD21**

##### **a) Análise da imunoexpressão de CD21 entre o subgrupo mucosa intraoral e controle**

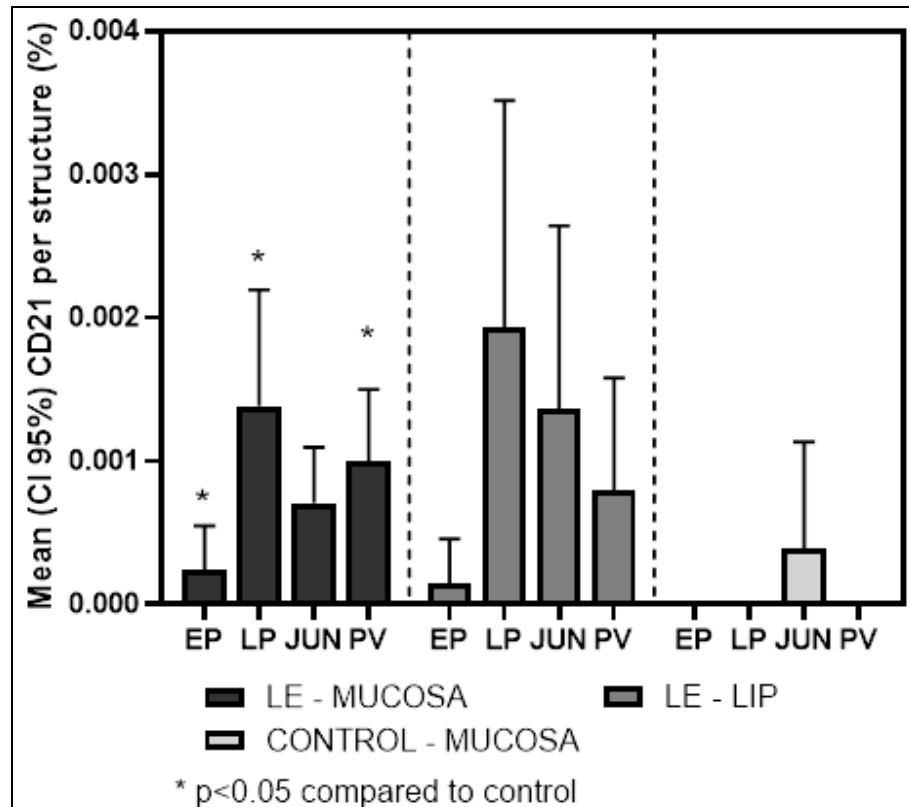
Há aumento da imunomarcção da molécula CD21 no subgrupo do LE mucosa Intraoral em relação ao controle, na topografia do epitélio ( $p = 0,012$ ) e lâmina própria ( $p = <0,001$ ) e nesta, na área perivascular profunda ( $p < 0,001$ ).

##### **b) Análise da imunoexpressão de CD21 entre os subgrupos mucosa intraoral (n = 40) e semimucosa (n = 20)**

Não houve diferenças na expressão da proteína CD21 entre os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar) e semimucosa (com exposição solar).

A análise dos resultados está representada no anexo H e reproduzida no Gráfico 4.

**Gráfico 4 - Representação dos dados morfométricos da imunoexpressão da proteína CD21, comparando o subgrupo de LE mucosa intraoral e controle e os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa**



EP: epitélio; LP: lâmina própria; JUN: junção epitélio lâmina própria; PV: perivascular profundo; LE-MUCOSA: subgrupo mucosa intraoral (sem exposição solar); LE-LIP, subgrupo semimucosa (com exposição solar); Control-Mucosa: grupo controle.

Acima: Gráfico representando a comparação dos dados morfométricos entre o subgrupo mucosa intraoral e grupo controle e os subgrupos mucosa intraoral (sem exposição solar) e semimucosa (com exposição solar). Mucosa Intraoral apresentou significância estatística para as proteínas CD21 (EP; LP; PV) quando comparado ao Grupo controle. Não houve diferenças estatísticas para a imunoexpressão da proteína CD21 entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa.

O estudo estatístico dos dados histológicos e frequência da mucosa intraoral *versus* semimucosa, foi feito para comprovar a semelhança histológica entre as duas, embora não façam parte do presente estudo estes dados constam no Anexo I.

## **6 DISCUSSÃO**

No atual estudo, a análise das 60 amostras de LE oral, encontrou dados clínicos e epidemiológicos semelhantes aos já relatados anteriormente na literatura, como o predomínio do sexo feminino (n = 47 de 60, 78%), maior acometimento de brancos (n = 38 de 60, 63%) e idades predominantes entre a segunda e a terceira década de vida (Lourenço *et al.* 2007; Marques *et al.*, 2010). Na amostragem, foi observado pequeno predomínio de lesões orais no LEC (n = 32 de 60, 53%) em relação ao LES (n = 28 de 60, 47%). As manifestações orais do LE podem ocorrer tanto no LEC como no LES e, na literatura, sua frequência é bastante variável. Assim como nesse trabalho, o predomínio de lesões orais no LEC já foi observado por outros autores. Burgue *et al.* (1989) obtiveram 9 casos de LEC em 14 pacientes com LE oral. Lourenço *et al.* (2007), observaram em 46 pacientes com LE oral, 33 com LEC.

Em relação à apresentação clínica do LE, foi obtido maior frequência da forma crônica discoide (n = 41 de 60, 68,3%). Esse dado é compatível com os achados de trabalho anterior, onde os autores observaram 22 casos com a forma crônica discoide em 29 pacientes (76%) (Marques *et al.*, 2010).

Quanto à localização, as lesões orais ocorreram predominantemente nos lábios (n = 27 de 60, 45%), palato (n = 15 de 60, 25%) e mucosa jugal (n = 14 de 60, 23,3%), confirmando os achados da literatura (Lourenço *et al.*, 2007; Marques *et al.*, 2010; Chanprapaph *et al.*, 2022). Foi observado,

também, que a lesão oral surgiu no início da doença em 19 dos 60 espécimes (32%); nesses casos, ocorrendo mais frequentemente nos casos de LES (11 de 19, 58%).

As úlceras orais fazem parte dos critérios para definição do LES (Petri *et al.*, 2012; Hamburger, 2016; Aringer *et al.*, 2019 e 2020) e são citadas por muitos autores com frequência variável como parte do envolvimento multissistêmico (Urman *et al.*, 1978; Jonsson *et al.*, 1984; Khatibi *et al.*, 2012; Abid *et al.*, 2013; Kudsi *et al.*, 2021). Neste atual trabalho, foram encontrados apenas quatro casos de úlcera oral (n = 4 de 60,7%), porém todas na forma aguda do LES e todas no período de até 1 ano de duração da doença. Vale ressaltar que não foi considerado como úlceras neste estudo, casos descritos no prontuário como exulcerações ou erosões, causados segundo Nico *et al.* (2008), provavelmente por traumas mecânicos ou marcada liquenificação das células basais.

Na literatura, não há um consenso em relação à frequência das úlceras orais no LE, podendo variar entre 13% a 72%, todos em casuísticas de LES (Urman *et al.*, 1978; Jonsson *et al.*, 1984; Abid *et al.*, 2013; Kudsi *et al.*, 2021). Apesar do pequeno número de casos (n = 4 de 60,7%), os resultados encontrados reafirmam sua importância, pois todos os casos do presente estudo ocorreram na forma de LES, nos primeiros anos de atividade da doença (Jonsson *et al.*, 1984).

Histologicamente, o LE oral apresenta-se como uma mucosite superficial ou superficial e profunda perivascular e de interface (Müller, 2017). No epitélio, são evidentes e frequentes os achados de degeneração

hidrópica e a apoptose dos queratinócitos basais de forma focal ou disseminada. Podem, também, estar presentes a hiperqueratose, áreas de acantose alternadas com a atrofia, hiperplasia e variáveis graus de espongirose. Esses achados já foram bem documentados anteriormente por diversos autores e foram confirmados no presente estudo, quando comparado o subgrupo de mucosa intraoral constituído por 40 amostras com o controle formado também por amostras hígdas de mucosa intraoral (n = 10) (Andreasen e Poulsen 1964; Schiødt, 1984; Jonsson *et al.*, 1984; Orteu *et al.*, 2001; Nico *et al.*, 2014; Chanprapaph *et al.*, 2022).

Porém, foi obtido significância estatística somente para os achados de hiperqueratose ( $p = 0,02906$ ), hiperplasia ( $p = 0,0000009561$ ), degeneração hidrópica da camada basal ( $p = 0,00007798$ ) e apoptose de queratinócitos ( $p = 0,00007863$ ).

Quanto à espongirose, apesar de ser um achado presente na lesão oral do LE, segundo Nico *et al.* (2008), não é importante para o diagnóstico da doença.

Atrofia e acantose também podem estar presentes, mas não são exclusivos do LE, já que podem ser observados em outros diagnósticos diferenciais como líquen plano e lesões liquenoides orais (Müller, 2017; Chanprapaph *et al.*, 2022). Também foi encontrado, em algumas amostras, a presença de atipia epitelial e exocitose de linfócitos, já relatadas anteriormente na literatura, mas para ambos não foi obtido significância estatística (Schiødt, 1984; Jorizzo *et al.*, 1992).



O espessamento da membrana basal epitelial e da parede dos vasos, evidenciado pela coloração de PAS são característicos da doença, e auxiliam no diagnóstico (Schjødt, 1984; Müller, 2017). No presente estudo foi obtido diferenças estatísticas para ambas ( $p = 0,00000108$  e  $p = 0,00000003533$ , respectivamente), reafirmando sua importância no diagnóstico do LE.

Na lâmina própria, constantemente são encontrados edema e a presença de infiltrado inflamatório predominantemente linfocitário superficial e perivascular profundo que pode ser focal, perivascular ou em faixa justa epitelial (Andreasen e Poulsen 1964; Schjødt, 1984; Jonsson *et al.*, 1984; Callen, 1997; Antonovych, 1995; Lee e Ackerman, 1997; Orteu *et al.*, 2001; Crowson e Magro, 2001; Nico *et al.*, 2014; Chanprapaph *et al.*, 2022). Segundo Chanprapaph *et al.* (2022), a presença dos infiltrados nessas áreas pode ser considerada quase exclusiva do LE oral. Neste estudo, foi observado frequentemente esses achados, confirmando as descrições da literatura.

Para os grupos de variáveis que incluem a forma, a intensidade e o tipo celular do infiltrado, além da presença do infiltrado na localização perivascular profunda, foi obtido diferenças estatísticas ( $p = 0,00002873$ ;  $p = 0,001414$ ;  $p = 0,002289$  e  $p = 0,000000003533$ ).

Assim como no LE cutâneo, nas lesões orais de LE a mucina também pode estar presente (Crowson e Magro, 2001; Nico *et al.*, 2008; Vincent e Chan, 2015; Chanprapaph *et al.*, 2021). No presente estudo, a mucina foi identificada pela reação de Alcian Blue e foi detectada no interstício das lesões orais (27 dos 40 casos, 67,5%) como também nas glândulas salivares menores.

A presença de mucina no LE já foi bem documentada pelos estudos de Vincent e Chan (2015) e Fernandez-Flores e Saeb-Lima (2016), que demonstraram que sua presença pode ser utilizada como um auxiliar na confirmação do diagnóstico da doença. No entanto, também pode estar presente em outras situações em pequenas quantidades, como na pele normal com fotodano (Vincent e Chan, 2015). Segundo Nico *et al.* (2008), a mucina também pode ser encontrada nas glândulas salivares menores. Essa frequência de mucina nas glândulas foi pequena: apenas três, de 40 amostras, 7,5%. Isso porque a maior parte do material de estudo utilizada nesta pesquisa, obtido por biópsias, não contém glândulas salivares menores, justificado pelo fato de que a presença delas não é fundamental para o diagnóstico do LE.

No LE, a imunofluorescência direta associada à histopatologia, é um importante método auxiliar no diagnóstico da doença e demonstra padrão predominantemente granular ou contínuo, com depósito de IgM, e eventualmente de IgG, IgA ou C3 na zona da membrana basal (Orteu *et al.*, 2001; Sun *et al.*, 2019; Garelli *et al.*, 2020). Lourenço *et al.* (2007) observaram em 46 amostras de LE oral, depósito predominante de IgG com ou sem C3 em padrão linear na ZMB.

Marques *et al.* (2010) encontraram presença de IgM e eventualmente IgG, IgA e C3 em padrão granular na ZMB.

Da análise dos prontuários dos 60 casos de LE oral, foram obtidos 53 resultados de imunofluorescência e desses, 41 eram positivos. Na presente casuística, foi observado presença predominante da imunofluorescência

direta positiva para IgM na ZMB, com padrão granuloso ou homogêneo, em conformidade com a literatura.

Sun *et al.* (2019), descreveram a presença de depósitos de IgM e IgG, que podem eventualmente ser observados na parede dos vasos sanguíneos e núcleos dos queratinócitos epidérmicos. Semelhantemente, neste trabalho, foram observadas essas características nos vasos e no epitélio.

A presença simultânea dos depósitos de IgG, IgM, IgA e C3 na ZMB, comumente relacionados com os quadros sistêmicos da doença, foram encontrados em apenas 6 dos 41 casos de LE oral na atual análise.

Todos os aspectos analisados e citados acima contribuem positivamente para o melhor entendimento da fisiopatologia do LE oral. Mas, ainda para um maior conhecimento, atualmente estuda-se muito o papel das células dendríticas em doenças inflamatórias e doenças autoimunes, como o LE.

O sistema dendrítico humano compreende distintos tipos de células que juntos parecem orquestrar a imunopatologia do LE. Embora essas células estejam envolvidas em diversas etapas da doença, ainda pouco se sabe sobre os tipos de células dendríticas que participam da resposta imune. Muitos estudos sobre o papel dessas células na patogênese da doença são, na maioria das vezes, realizados em animais ou *in vitro* (Teichmann *et al.*, 2010; King *et al.*, 2015; Das *et al.*, 2017). Ademais, abordam, na grande maioria das vezes, a participação de uma única célula dendrítica e são realizados em lesões cutâneas de LE. Na literatura, alguns pesquisadores estudaram as células dendríticas plasmocitoides (CD123), detectando a

presença delas no infiltrado inflamatório de LEC (Farkas *et al.*, 2001; Tomasini *et al.*, 2010; Walsh *et al.*, 2015). Escassos trabalhos até o momento analisaram a presença de células dendríticas nas lesões orais de LE.

Van Joost *et al.* (1985) analisaram as células de Langerhans por meio de marcadores como OKT-06 em uma única paciente de LE oral. Chanprapaph *et al.* (2022) abordaram apenas quantitativamente as células dendríticas plasmocitoides.

O presente trabalho é único e inédito, pois foi avaliado quantitativamente e topograficamente as subpopulações de células dendríticas nas lesões orais de LE, tanto no epitélio como na lâmina própria através das expressões de CD1a, Langerina, CD123 e CD21. Adicionalmente, foi comparado a expressão dessas células nas áreas com e sem exposição solar (semimucosa e mucosa intraoral, respectivamente).

As células dendríticas convencionais são representadas pela imunomarcagem de CD1a, assim como a célula de Langerhans. Esta última expressa Langerina (CD207) e CD1a e, nas condições normais, localiza-se principalmente na epiderme e/ou epitélio. No entanto, segundo Santoro *et al.* (2005) e Silva *et al.* (2020), no epitélio podem estar presentes células imaturas que expressam CD1a. E, embora sejam mais estudadas nessa localização, as células dendríticas marcadas por CD1a assim como CD207 podem, também, estar presentes na derme ou lâmina própria, porém em menor número (Solhaug *et al.*, 2022).

Na literatura, há diferenças na forma de se referir a essas células. Assim, no epitélio, Silva *et al.* (2020) as diferenciam, e referem-se a elas de acordo com sua expressão: células CD1a ou CD207. Outros autores referem-se às células CD1a presentes no epitélio como células de Langerhans (Mori *et al.*, 1994; Nasiri *et al.*, 2018; Veasey *et al.*, 2020). Já as células dendríticas CD1a+ presentes na derme ou lâmina própria, recebem as denominações de: CD1a dérmicas (Deguchi *et al.*, 2002); células de Langerhans dérmicas (Nasiri *et al.*, 2018); células de Langerhans (Lourenço *et al.*, 2007); enquanto outros utilizam a denominação de células dendríticas mieloides (Botari *et al.*, 2014). Neste trabalho, foram adotadas as denominações propostas por Deguchi *et al.* (2002) e Silva *et al.* (2020), utilizando os termos: células dendríticas CD1a e/ou Langerina presentes no epitélio ou lâmina própria.

A presença das células dendríticas marcadas por CD1a já foi confirmada e quantificada através da imuno-histoquímica em diversas doenças cutâneas e mucosas sendo que a imunoexpressão foi variada de acordo com a patologia (Deguchi *et al.*, 2002; Moura *et al.*, 2018; Veasey *et al.*, 2020; Santoro *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2020).

Assim, Deguchi *et al.* (2002), observaram aumento da expressão das células dendríticas epidérmicas e dérmicas CD1a+ no Líquen plano, quando comparado ao controle de pele normal.

Essas células foram encontradas principalmente ao redor do infiltrado mononuclear perivascular na derme superficial e segundo Deguchi *et al.* (2002), a presença das células nestas topografias estaria relacionada com a

patofisiologia da doença. Resultados semelhantes foram obtidos por Santoro *et al.* (2005), estudando diferentes células dendríticas, inclusive as marcadas por CD1a e Langerina (CD207), em 16 amostras de lesões orais de Líquen Plano. Os autores encontraram aumento da expressão dessas células tanto no epitélio quanto no estroma das lesões, indicando que teriam papel importante no desenvolvimento do infiltrado inflamatório liquenoide do LP. Mais tarde, esses resultados foram confirmados por outros autores (Kulkarni *et al.*, 2016; Souto *et al.*, 2016; Solhaug *et al.*, 2022). Botari *et al.* (2014) notaram aumento significativo das células dendríticas CD1a+ no infiltrado inflamatório da mucosa jugal de 26 pacientes com leucemia mieloide crônica que apresentaram a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) crônica. No entanto, Silva *et al.* (2020), em um estudo multicêntrico, demonstraram diminuição das células dendríticas no epitélio da mucosa oral, tanto as marcadas por CD1a quanto as com imunoexpressão de CD 207 (Langerina) em casos de fibrose submucosa oral, fibrose submucosa oral associada a carcinoma de células escamosas oral e carcinoma de células escamosas.

No LE, Mori *et al.* (1994), demonstraram que as células CD1a+ (células de Langerhans) estavam diminuídas nas áreas atróficas da epiderme, mas presentes também na derme das lesões cutâneas de LE (oito amostras de LED e cinco espécimes de LESA), quando comparadas com a pele normal. Nasiri *et al.* (2018) também observaram diminuição da imunomarcagem de CD1a+ (células de Langerhans) na epiderme e aumento da expressão na derme, na região perifolicular das lesões de alopecia cicatricial de LED em comparação com amostras de Líquen plano pilar

(LPP). Da mesma forma, Xie *et al.* (2011) demonstraram aumento de CD1a no infiltrado celular de amostras de lesões cutâneas de LED. Até o momento não foram encontradas publicações sobre células dendríticas com marcação de CD1a e Langerina no epitélio de lesões orais de LE. Desse modo, foram comparados os presentes resultados com os estudos de LE cutâneo. Então, assim como Mori *et al.* (1994) e Nasiri *et al.* (2018), foi encontrado no presente estudo, a diminuição da imunoposição de CD1a no epitélio das lesões orais de LE com significância estatística ( $p = 0,003$ ), quando comparados com o controle de mucosas hígidas. Dos 40 casos de LE intraoral estudados, foi encontrado marcação positiva para CD1a em 39 das 40 amostras (97,5%) e em 100% dos espécimes do grupo controle. Acompanhando os resultados de CD1a, foi observado imunoposição positiva da Langerina em 31 das 40 (77,5%) amostras de LE intraoral e em 100% dos controles saudáveis. No entanto, embora a imunomarcação para Langerina estivesse diminuída no epitélio das lesões orais em relação ao controle, não foi obtida significância estatística ( $p = 0,944$ ).

A exata causa da diminuição das células com expressão CD1a e Langerina no epitélio/epiderme das lesões de LE ainda permanece desconhecida. No entanto, postula-se que devido às suas funções de apresentadora de antígenos nos estágios iniciais da doença, após fagocitarem e processarem os restos apoptóticos para a apresentação às células T, passam a migrar para os linfonodos drenantes, resultando na diminuição da sua presença no epitélio (Worbs *et al.*, 2017; Nasiri *et al.*, 2018).

Lourenço *et al.* (2007) caracterizaram o infiltrado inflamatório de 46 lesões orais de LE e observaram que o infiltrado é formado, principalmente, por Linfócitos T, enquanto as células B, macrófagos e células marcadas por CD1a (Langerhans de acordo com a autora) estão em menor número. Em concordância com os autores, foi encontrado no presente estudo células marcadas por CD1a na lâmina própria das lesões orais. Também foi observado que a expressão está aumentada em relação ao controle, assemelhando-se aos achados de estudos de lesões cutâneas de LE (Xie *et al.*, 2011; Nasiri *et al.*, 2018), apesar de não ter obtido significância estatística ( $p = 0,153$ ).

Ademais, foi estratificada a localização de CD1a na topografia da lâmina própria ( $p = 0,153$ ) e foi observado que sua expressão ocorreu tanto na junção epitélio lâmina própria (JELP) ou superficial, como na área perivascular profunda, porém com significância estatística somente na segunda ( $p = 0,060$  e  $p = 0,002$  respectivamente). Também foi encontrado aumento da expressão de Langerina na lâmina própria ( $p = 0,012$ ), porém diferentemente de CD1a, foi obtido significância estatística somente na porção superficial ou JELP ( $p = 0,03$ ). Essa diferença em relação à localização da expressão de CD1a e Langerina, já foi observada anteriormente por Santoro *et al.* (2005) e Kulkarni *et al.* (2016) em lesões de Líquen plano oral (LPO).

Nestes estudos, as células dendríticas marcadas por Langerina localizaram-se principalmente ao longo da interface da lâmina própria, enquanto as células dendríticas dérmicas CD1a foram encontradas em menor frequência nessa localização (Santoro *et al.*, 2005; Kulkarni *et al.*, 2016).



No atual estudo foi observada uma maior expressão de CD1a em relação à Langerina, em todas as topografias das lesões de LE oral, assemelhando-se aos estudos de LPO. Como o LPO apresenta certa semelhança histopatológica com o LE oral, sendo às vezes difícil seu diagnóstico diferencial, foi possível considerá-lo nesta discussão.

No presente controle formado por amostras de mucosa intraoral hígdas, foi obtido, no epitélio, presença de CD1a e Langerina positivas em 100% de todas as amostras (n = 10 de 10). Na lâmina própria, CD1a, apresentou expressão positiva em sete amostras de 10 (70%) localizadas respectivamente na junção epitélio lâmina própria (n = 7 de 10, 70%) e perivascular profundo (n = 5 de 10, 50%). Já a expressão positiva para Langerina ocorreu em apenas duas amostras de 10 (20%), distribuídas na junção epitélio lâmina própria e perivascular profunda (n = 1 de 10, 10% para cada topografia). Os dados encontrados foram semelhantes aos obtidos por outros autores que estudaram a mucosa oral normal, e obtiveram expressão abundante de células dendríticas marcadas por CD1a e CD207 no epitélio, logo acima da camada basal, com expressão muito maior que na lâmina própria, presentes como sentinelas imunológicas prontas para a captura de antígenos (Santoro *et al.*, 2005; Souto *et al.*, 2016; Kulkarni *et al.*, 2016; Solhaug *et al.*, 2022).

As células dendríticas convencionais (CD1a) e as células de Langerhans participam da inicialização da doença e suas ações resultam no desbalanço entre as células T reguladoras e o estímulo à inflamação (Oukka, 2008; Chan *et al.*, 2012; Kaewraemruaen *et al.*, 2020).

Além disso, sabe-se que o infiltrado do LE oral, assim como o cutâneo, pode estar presente na junção, nas áreas perivasculares superficiais, e na região perivascular profunda (Schiødt, 1984; Jonsson *et al.*, 1984; Antonovych, 1995; Callen, 1997; Lee e Ackerman, 1997; Orteu *et al.*, 2001; Crowson e Magro, 2001; Nico *et al.*, 2014; Chanprapaph *et al.*, 2021). Como no atual trabalho as expressões tanto de CD1a como as de Langerina estão aumentadas na lâmina própria e coincidem com as localizações do infiltrado inflamatório do LE, é possível inferir que ambas exercem papel relevante na patogênese do LE oral.

As células dendríticas plasmocitoides são comumente reconhecidas pela expressão proteica CD123 e não são encontradas em condições normais na pele, mas sim em condições inflamatórias (Bardawil *et al.*, 2021).

Desde o estudo de Farkas *et al.*, em 2001, quando foi demonstrado o aumento das células plasmocitoides nas lesões cutâneas do LES, estas ganharam papel de destaque na fisiopatologia da doença. Atribui-se a elas a produção aumentada de IFN tipo I, a liberação de outras citocinas inflamatórias como o TNF- $\alpha$ , IL6 e a molécula BAFF, além da apresentação de antígenos às células T CD4+. As pDCs produzem interferon tipo I em resposta à imunocomplexos endógenos e têm papel determinante na inicialização do processo inflamatório do LE (Saadeh *et al.*, 2016; Fetter *et al.*, 2022).

A expressão aumentada de CD123, principal marcador das pDc, já foi bem documentada em uma variedade de doenças inflamatórias e em diferentes formas de LE cutâneo (Bardawil *et al.*, 2021), sendo inclusive utilizada para auxiliar no diagnóstico diferencial do LE (McNiff e Kaplan,

2008; Tomasini *et al.*, 2010; Ko *et al.*, 2011; Liao *et al.*, 2013; Brown *et al.*, 2014; Walsh *et al.*, 2015; Sleiman *et al.*, 2015; LeBlanc *et al.* 2016; Kolivras *et al.*, 2016; Fening *et al.*, 2016; Sitthinamsuwan *et al.*, 2018; González-Cruz *et al.*, 2018; Chen, *et al.*, 2019b; Roda *et al.*, 2019; Karagun *et al.*, 2021; Rakhshan *et al.*, 2020; Krishnamurthy *et al.*, 2022).

No entanto, embora haja diversos trabalhos com lesões cutâneas, até o momento, apenas um único estudo avaliou as células dendríticas plasmocitoides nas lesões orais de LE. Recentemente, Chanprapaph *et al.* (2022), através da técnica de imuno-histoquímica, observaram aumento da expressão de CD123 na lâmina própria dos espécimes de LE oral.

No presente trabalho, também utilizando a imunomarcagem de CD123, foi observado um aumento importante da expressão de pDCs nas amostras de LE oral, semelhante a Chanprapaph *et al.* (2022). No entanto, diferentemente deles que compararam as amostras de LE com lesões de LP e lesões liquenoides orais, no atual estudo foi comparado as amostras a espécimes de mucosa extraída de exodontia de indivíduos hígidos.

O padrão e a distribuição das pDCs também têm sido descritos em diversas doenças e nas diferentes formas cutâneas de LE (McNiff e Kaplan, 2008; Tomasini *et al.*, 2010; Ko *et al.*, 2011; Liao *et al.*, 2013; Brown *et al.*, 2014; Walsh *et al.*, 2015; Chen, *et al.*, 2019b; Sleiman *et al.*, 2015; Fening *et al.*, 2016; Kolivras *et al.*, 2016; González-Cruz *et al.*, 2018; Roda *et al.*, 2019; Rakhshan *et al.*, 2020; Krishnamurthy *et al.*, 2022; Chanprapaph *et al.*, 2022). Os estudos, tanto os que utilizam as amostras de couro cabeludo e pele, quanto o único de amostra oral, demonstram que a imunomarcagem de

CD123 das pDCs no LE revela uma distribuição na junção epitélio lâmina própria, nas áreas perivasculares superficiais e profundas.

Segundo Kuhn e Landman (2014), as pDcs são responsáveis pelo aspecto histológico de dermatite de interface, que se apresenta como infiltrado denso perivascular e perifolicular, característico de todos os subtipos de lesão cutânea de LE. Segundo Tomasini *et al.* (2010), essas células são as maiores responsáveis pela formação destes infiltrados.

As pDcs produzem grandes quantidades de IFN que, por sua vez, induzem a expressão de ligantes de quimiocinas inflamatórias (CXCL9, CXCL10, CXCL11), que se unem a CXCR-3 (pertencente à família de receptores de quimiocinas CXC) e são responsáveis por direcionar o recrutamento de células efetoras para a lesão cutânea. Essas quimiocinas e seus ligantes são, também, expressas pelas pDCs, e ainda são recrutadas para a pele, provendo recursos adicionais para a produção de IFN, promovendo um autorrecrutamento de células pró-inflamatórias (Kuhn e Landman, 2014; Fetter *et al.*, 2022). O mesmo processo ocorre na junção dermoepidérmica, onde também os ligantes de quimiocinas mediadas por IFN, aqui principalmente CXCL10, que se expressa na epiderme basal, nos locais de degeneração hidrópica, onde linfócitos citotóxicos CXCR3+ invadem a epiderme e induzem apoptose (Kuhn e Landman, 2014; Fetter *et al.*, 2022). Os linfócitos citotóxicos que invadem a epiderme basal transportam, dentro de seus grânulos, quimiocinas mediadas por IFN e direcionam o recrutamento dos linfócitos CXCR3+ e as células dendríticas plasmocitoides. Dessa forma, as pDcs podem estar presentes tanto na

epiderme, como nos infiltrados superficiais ou de junção dermoepidérmica como também nos perivasculares profundos do LE cutâneo (Zhou *et al.*, 2021). Conforme Nico *et al.* (2008), as lesões orais de LE seriam análogas das lesões cutâneas, por esse motivo, esta discussão foi correlacionada com as lesões de LEC.

Nesta casuística, das 40 amostras de LE intraoral analisadas, foi obtido marcação positiva para CD123 em 38 espécimes, com aumento da imunexpressão na lâmina própria, tanto na sua porção superficial ou de JELP quanto na região perivascular profunda, com significância estatística (lâmina própria  $p < 0,001$ ; junção epitélio lâmina própria  $p < 0,001$ ; perivascular profunda  $p < 0,001$ ), em concordância com os achados da literatura (Tomasini *et al.*, 2010; Ko *et al.*, 2011; Liao *et al.*, 2013; Brown *et al.*, 2014; Walsh *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2019b; Sleiman *et al.*, 2015; Fening *et al.*, 2016; Kolvras *et al.*, 2016; González-Cruz *et al.*, 2018; Roda *et al.*, 2019; Rakhshan *et al.*, 2020; Krishnamurthy *et al.*, 2022; Chanprapaph *et al.*, 2022).

Acredita-se que nas lesões mucosas, assim como o que ocorre nas lesões cutâneas de LE, as pDcs circulantes tendem a migrar e infiltrar os locais de maior dano epitelial como a ZMB, áreas perianexiais, e áreas ao redor dos vasos sanguíneos superficiais e profundos (Saadeh *et al.*, 2016), o que explicaria a forma de distribuição das pDCs nas amostras de LE oral neste estudo. Além disso, de acordo com Wenzel *et al.* (2007), o IFN produzido pelas células dendríticas plasmocitoides é o grande responsável pelo direcionamento da formação do infiltrado. Nas diversas formas de LE, o

IFN pode ser encontrado em localizações diferentes e a disposição dos infiltrados é, de certa forma, dependente da forma de distribuição do IFN. Assim, no LE discoide e no subagudo, a presença de IFN, confirmada pela expressão de sua proteína, mixovirus A, ocorre principalmente na epiderme e derme superior, enquanto nas formas como LE túmido localiza-se no infiltrado perivascular e, no LE profundo em um padrão subcutâneo, coincidente com as localizações de seus infiltrados (Wenzel *et al.*, 2007; Fetter *et al.*, 2022). Infelizmente, neste presente estudo, não foi possível analisar a distribuição das pDcs de acordo com as formas clínicas do LE oral para confirmar esse dado, o que poderá ser objeto de novas pesquisas no futuro.

Adicionalmente neste estudo, foi encontrado em sete das 40 lesões mucosas de LE, aumento da expressão de CD123 também no epitélio com significância estatística ( $p = 0,05$ ), embora sempre associada à imunomarcção predominantemente na lâmina própria. A presença de pDCs na epiderme já foi descrita em outras patologias como Líquen plano (Santoro *et al.*, 2005; Tomasini *et al.*, 2010); Psoríase pustulosa (Vyas *et al.*, 2019) e Dermatomiosite (McNiff e Kaplan, 2008). Tomasini *et al.* (2010) e McNiff e Kaplan (2008) também observaram a presença de pDc na epiderme em algumas amostras de LE, embora a imunomarcção tenha sido predominantemente no infiltrado inflamatório, semelhante aos atuais achados.

Chanpraph *et al.* (2022) em seu estudo de LE oral, não avaliaram a presença de pDcs no epitélio das lesões orais.

Embora a presença de pDc no LE seja predominantemente no infiltrado inflamatório, como confirmado nesta pesquisa, a presença no epitélio dessas células dendríticas talvez reflita uma maior agressão tecidual nessas localizações. Vermi *et al.* (2009) demonstraram que as células dendríticas plasmocitoides podem ser observadas na junção dermoepitelial em associação com células T citotóxicas, nas áreas de severo dano epitelial. Neste estudo, muitas das amostras das lesões orais com essas características apresentaram clinicamente erosões, bolhas e úlceras, demonstrando grande dano no epitélio. No entanto, para a confirmação dessa hipótese, novos estudos serão necessários.

Nos controles formados de mucosas hígidas foram encontradas em cinco amostras (n = 5 de 10) expressão mínima de CD123, todos distribuídos na lâmina própria em mínimos infiltrados perivasculares profundos. A presença de expressão positiva de CD123 nessas amostras pode ser explicada pelo fato de essas serem espécimes obtidos através de exodontia de terceiros molares, situação em geral acompanhada de pequeno processo inflamatório.

Então, uma vez que a expressão de CD123 está presente quase na totalidade das amostras de LE oral, localizada predominantemente na lâmina própria, coincidente com a distribuição dos infiltrados inflamatórios, é possível inferir que as células dendríticas plasmocitoides têm um importante papel na fisiopatologia do LE oral.

As células dendríticas foliculares expressam vários marcadores de superfície, sendo um deles o CD21. No LE, participam da remoção de

materiais apoptóticos e autoantígenos, e os apresentam para células B. Também promovem a sobrevivência das células B, evitando que sofram apoptose nos centros germinativos. Segundo Baumann *et al.* (2002), debris apoptóticos que não foram retirados totalmente pelos macrófagos, se ligam às fDcs, que ativam as células B, promovendo a formação de autoantígenos, contribuindo com o processo inflamatório do LE.

Normalmente, as fDCs localizam-se nos folículos linfoides dos linfonodos, baço e nos tecidos linfoides associados à mucosa (Seitz e Matsushima, 2010). No entanto, as fDcs, assim como as células dendríticas plasmocitoides, podem estar presentes em condições inflamatórias e infecções crônicas em tecidos não linfoides (Aguzzi *et al.*, 2014; Silva-Sanchez *et al.*, 2018).

Dos 40 casos de LE intraoral, foi encontrado apenas duas amostras com imunomarcagem positiva para CD21 e o controle constituído de mucosas hígidas foi integralmente negativo. Porém, além das duas amostras, foi observado em alguns outros espécimes, imunoexpressão intensa de CD21 agrupada na lâmina própria, provavelmente correspondente a folículos linfoides ectópicos.

Estruturas linfoides ectópicas já foram relatadas anteriormente na literatura em doenças autoimunes como a nefrite lúpica (Chang *et al.*, 2011), nas glândulas salivares de pacientes com Síndrome de Sjögren (Silva-Sanchez *et al.*, 2018), na artrite reumatoide (El Shikh *et al.*, 2022) e no Líquen Plano Oral (Navas Alfaro *et al.*, 2003). Assim como sua formação já foi induzida experimentalmente nas glândulas salivares de camundongos



imunossuprimidos (Bombardieri *et al.*, 2012). Essas estruturas estão associadas às infecções crônicas e às doenças inflamatórias. No entanto, segundo Silva-Sanchez *et al.* (2018), apesar de sua associação com patologias, essas estruturas são consideradas um componente normal, embora transitório, do sistema imunológico que facilita as respostas imunes locais e cuja função é diminuir a inflamação e a infecção. Dessa forma, apesar de ser encontrado uma marcação intensa e agrupada de CD21 em algumas regiões de algumas amostras, devido ao fato de esses achados poderem corresponder a tecidos imunológicos normais, essas áreas não foram consideradas em nesta análise morfométrica.

Até o momento, são escassos os trabalhos sobre a participação de CD21 no LE. Foi encontrado apenas um trabalho utilizando a marcação de CD21 no LE cutâneo e nenhum na mucosa oral do LE.

Assim, esta comparação foi realizada com esse único estudo. Bălănescu *et al.* (2010) analisaram 10 lesões cutâneas de LESA e 10 controles saudáveis sob os aspectos histológicos e da expressão de diversos marcadores pró apoptóticos, incluindo CD21 entre outros. Encontraram pouca expressão de CD21 na derme em relação aos controles normais.

Neste presente trabalho, os resultados divergiram dos achados desse estudo, pois foi observada expressão aumentada de CD21 em relação ao controle de mucosas hígidas, tanto no epitélio ( $p = 0,012$ ) como na lâmina própria ( $p = <0,001$ ) localizada na região perivascular profunda ( $p = 0,018$ ).

Contudo, como a imunomarcagem de CD21 positiva foi muito pouco expressiva em neste grupo de LE oral (apenas duas amostras em 40 casos, 5%), acredita-se que as células dendríticas linfoides marcadas por CD21 não exerçam papel de destaque na fisiopatologia do LE oral. No entanto, novas pesquisas, com uma maior casuística, serão necessárias para confirmar esses achados.

Neste estudo, também foi comparado o perfil das células dendríticas nas lesões orais do LE localizadas na mucosa intraoral (MI) (área não exposta ao sol, n = 40) e na semimucosa (SM) do lábio inferior (área exposta ao sol, n = 20). Apesar da alta frequência da fotossensibilidade em pacientes com LE cutâneo, o exato mecanismo pelo qual a RUV influencia no curso patogênico da doença ainda permanece pouco compreendido. Sabe-se que a RUV é capaz de induzir tanto respostas anormais na pele, como lesões cutâneas em doentes com LE, além de agravar e potencializar quadros sistêmicos da doença (Lehmann *et al.*, 1990; Kuhn *et al.*, 2001; Lin *et al.*, 2007; Kuhn *et al.*, 2011; Lehmann e Homey, 2009; Li *et al.*, 2020). E a RUV é considerada o principal gatilho para a autoimunidade. Através da indução de apoptose dos queratinócitos e associada a anormalidades na geração e limpeza dos materiais apoptóticos, a RUV leva a uma importante formação de autoantígenos.

Comumente na pele normal, como foi demonstrado *in vitro* por Bechetoille *et al.* (2007), após a radiação solar, há a formação de um estado inflamatório caracterizado pela secreção de citocinas inflamatórias, principalmente TNF e IL6, e diminuição da produção de IL10. Ao mesmo

tempo, células de Langerhans e células dendríticas dérmicas migram em direção aos linfonodos drenantes.

Em pacientes com erupção polimorfa à luz (EPL), Rossi *et al.* (2018) demonstraram a presença de células plasmocitoides após fototestes com RUVA e RUVB, tanto na epiderme quanto na derme das amostras, inclusive em todos os espécimes dos controles saudáveis, porém com maior expressão de pDcs na derme dos casos de EPL.

No LE, segundo Zhou *et al* (2021), após a RUV os queratinócitos irradiados induzem a liberação de TNF- $\alpha$  e IL-1 que medeiam a liberação de outras citocinas como IL-6, IL-10, IL-17 e, secundariamente, a molécula de adesão celular ICAM-1, que auxilia na migração dos leucócitos para a pele, promovendo a inflamação. Ao mesmo tempo, células de Langerhans migram para os linfonodos drenantes, apresentando o material fagocitado para linfócitos T. Os imunocomplexos formados, oriundos de apoptose dos queratinócitos, ativam células dendríticas plasmocitoides, que vão em direção a pele (Wolf *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2021). Diversos estudos demonstram que as células dendríticas plasmocitoides acumulam-se nas lesões cutâneas de LE induzidas pela RUV e são responsáveis pelo aumento da secreção de IFN- $\alpha$ , importante citocina ligada à patogênese do LE (Lehmann e Homey, 2009; Kuhn e Landmann, 2014; Zhou *et al.*, 2021, Fetter *et al.*, 2022). Apesar dos trabalhos existentes na literatura sobre a ação da RUV sobre as células dendríticas nas lesões cutâneas do LE, não encontramos estudos correlacionando esse aspecto às lesões orais. Acredita-se, portanto, ser este um trabalho pioneiro.

No presente estudo, foi comparado a expressão de células dendríticas CD1a entre os grupos de mucosa intraoral (sem exposição solar) e semimucosa (com exposição solar) e não foi obtido diferenças estatísticas em nenhuma das topografias analisadas (epitélio  $p = 0,998$ ; lâmina própria  $p = 0,850$ ; região JELP  $p = 0,414$ ; perivascular profunda  $p = 0,687$ ).

A RUV, principalmente a RUVB, após induzir a apoptose dos queratinócitos, promove a depleção das células CD1a na epiderme, e aumento dessas na derme, provavelmente em decorrência da migração dessas células em direção aos linfonodos drenantes, como já foi bem documentado na literatura pele normal e no LE cutâneo (Laihia e Jansen, 2000; Janssens *et al.*, 2005; Facy *et al.*, 2005; Furio *et al.*, 2005; McLoone *et al.*, 2005; Gibbs e Norval, 2013). Foi obtido tal padrão neste estudo com as lesões orais de LE da mucosa intraoral. Percebe-se essa mesma tendência no grupo da semimucosa. No entanto, por ser este grupo formado exclusivamente por amostras obtidas do lábio inferior e o grupo controle ser constituído por amostras de mucosa hígida intraorais, essa tendência deverá ser confirmada em estudo posterior. Além disso, foi observado, ao se comparar a expressão de CD1a nas lesões expostas (semimucosa) e não expostas ao sol (mucosa intraoral), maior imunoexpressão das células CD1a tanto no epitélio como na lâmina própria no grupo da semimucosa.

Acredita-se que possa haver duas possibilidades para a interpretação dessa diferença: ou pela exposição do grupo da semimucosa a uma agressão tecidual maior (fenômeno observado por Santoro *et al.* (2005) e Solhaug *et al.* (2022) no líquen plano oral) ou pela persistência da exposição

à RUV, que talvez pudesse levar a um comportamento diferente das células dendríticas nestas localizações. No entanto, estudos experimentais em camundongos demonstraram que a exposição crônica à RUVB também reduz o número de células de Langerhans na epiderme e aumentam no linfonodo drenante (Macve *et al.*, 2004; McLoone *et al.*, 2005), o que nos faz descartar a segunda hipótese.

Entretanto, não se sabe se essa resposta seria diferente no LE oral, pois na literatura não foi encontrado estudos semelhantes.

É possível, então, depreender que apesar da RUV interferir nas células dendríticas CD1a, promovendo sua depleção na epiderme e migração para a lâmina própria, e a RUV ser importante na deflagração da resposta imune no LE, o fato de não se obter diferenças estatísticas entre os dois grupos, nos faz inferir que após a inicialização da doença, essas células comportam-se de forma semelhante tanto nas lesões expostas (semimucosa) como nas não expostas (mucosa intraoral).

Semelhante a expressão de CD1a, também na imunoexpressão de Langerina, não foi observado diferenças estatísticas em ambos os grupos, em relação à expressão no epitélio ( $p = 0,504$ ), na lâmina própria ( $p = 0,288$ ) e nessa região perivascular profunda ( $p = 0,209$ ). No entanto, foi encontrado diferenças na região superficial ou da junção epitélio/lâmina própria ( $p = 0,043$ ).

A RUV age sobre as células dendríticas epidérmicas marcadas por Langerina (células de Langerhans epidérmicas) modificando sua forma e função (Seité *et al.*, 2003, Gibbs e Norval, 2013). E assim como as células

dendríticas marcadas por CD1a, as células com imunoexpressão de Langerina também migram da epiderme em direção à derme após a agressão causada pela RUV aos queratinócitos, promovendo uma depleção dessas células na epiderme (Gibbs e Norval, 2013). Esse resultado foi observado neste estudo no epitélio do grupo da mucosa intraoral de LE. Entretanto, ao contrário do que era esperado, foi observado no epitélio da semimucosa uma tendência de aumento da expressão de Langerina, não acompanhando o padrão de distribuição aguardado. No entanto, esse achado necessitará ser confirmado em trabalho futuro, pois devido às diferentes origens de localização das lesões da semimucosa e das amostras do controle de mucosa hígida, ambos não puderam ser comparados.

Contudo, estes experimentos foram feitos em duplicatas, confirmando os resultados obtidos. De qualquer modo, acredita-se que esse achado não invalida os presentes resultados já que não houve diferenças estatísticas entre os grupos nesta topografia.

As células apresentadoras de antígenos, principalmente as marcadas por Langerina, têm grande importância na modulação da resposta inflamatória através da indução de células T reguladoras e citocinas como Interleucina (IL) 10 e 12 (Sarkar *et al.*, 2018). No presente estudo, embora, tenha ocorrido maior expressão de Langerina no grupo da mucosa intraoral, na região superficial ou JELP em relação à semimucosa ( $p = 0,043$ ), a imunomarcagem de Langerina na lâmina própria como um todo foi pouco expressiva ( $n = 14$  de 40, 35% na MI, e  $n = 8$  de 20, 40% na SM), comparativamente ao epitélio ( $n = 31$  de 40, 77,5% na MI e  $n = 19$  de 20,

95%), com valores de mediana que variaram de 0,000% à 0,003%, confirmando a pouca presença dessas células nessas áreas e inferindo pouca participação das células na formação do infiltrado inflamatório.

Assim, já que não foi obtido diferenças estatísticas para imunoexpressão de langerina em nenhuma das outras topografias ( $p = 0,504$  no epitélio;  $p = 0,288$  na lâmina própria;  $p = 0,209$  na região perivascular profunda) e foi encontrado pouca expressão na JELP, é possível pressupor que as células marcadas por Langerina apesar de exercerem importante papel na deflagração e modulação da reação inflamatória, a partir da inicialização do processo, não sofram mais interferência da exposição da radiação solar.

Não foi encontrado estudos sobre a influência da radiação solar sobre as células dendríticas foliculares marcadas por CD21. Nesta casuística, foram poucas as amostras com expressão positiva para CD21, tanto no grupo de mucosa intraoral ( $n = 2$  de 40, 5%) quanto no grupo da semimucosa ( $n = 2$  de 20, 10%). Ademais, no presente trabalho, não foi obtido diferenças estatísticas na expressão das células dendríticas marcadas por CD21 entre os subgrupos de mucosa intraoral e semimucosa em nenhuma das topografias estudadas: epitélio ( $p = 0,434$ ); lâmina própria ( $p = 0,433$ ); área superficial ou JELP ( $p = 0,395$ ); região perivascular profunda ( $p = 617$ ).

Então, infere-se que a partir do início do processo imune estimulado pela RUV, as células dendríticas foliculares não sofram interferência da exposição solar nas lesões orais de LE.

Neste estudo, observou-se que a expressão de células dendríticas marcadas com CD123 foi maior no grupo da semimucosa em comparação com a mucosa intraoral, com significância estatística: epitélio ( $p = 0,024$ ), lâmina própria ( $p = 0,047$ ), região superficial ou junção epitélio lâmina própria ( $p = 0,001$ ). Embora também tenha sido observado maior imunomarcagem na região perivascular profunda, não foi obtido diferença significativa para essa topografia ( $p = 0,072$ ).

O aumento da imunoexpressão de CD123 na semimucosa pode ser explicado talvez por uma maior lesão tecidual causada pela intensa exposição solar nesse grupo. Porém, como até o momento não foi encontrado estudos relacionados à influência da RUV nas células dendríticas plasmocitoides nas lesões orais do LE, os presentes dados foram comparados com os achados encontrados nos estudos de LE cutâneo. Já em 2009, Lehmann e Homey propuseram um modelo em LE cutâneo, que pode explicar esse aumento. De acordo com os autores, a injúria tecidual, resultante de apoptose e necrose de queratinócitos induzida pela radiação solar, recruta e ativa células T e pDCs, guiando essas células para as áreas de maior agressão tecidual. Essas células, após a migração para a área de dano, então liberam citocinas (IFN- $\alpha$ ) e amplificam a produção de quimiocinas e o recrutamento de leucócitos. As pDcs ali acumuladas são responsáveis por um maior aumento da secreção de IFN- $\alpha$ , resultando na lesão de LE.

Também foi observada neste estudo uma diferença expressiva entre a imunomarcagem de pDcs na região superficial ou de junção epitélio lâmina



própria entre os dois grupos ( $p = 0,001$ ), o que não foi encontrado na região perivascular profunda ( $p = 0,072$ ). Novamente, a diferença pode ser explicada pela maior injúria tecidual causada pela radiação solar. Os queratinócitos irradiados, além de produzirem citocinas inflamatórias que deflagram a cascata de inflamação e que dá início a formação da lesão cutânea de LE, expressam, também, IFN- $\kappa$ . Este interferon é responsável pelo aumento da fotossensibilidade, através da sinalização para a produção de IFN- $\alpha$  pelas células dendríticas plasmocitoides (Sarkar *et al.*, 2018, Wolf *et al.*, 2018; Garelli *et al.*, 2020) e IFN- $\alpha$ , através das quimiocinas, direciona a localização da formação do infiltrado inflamatório do LE (Wenzel *et al.*; 2007; Kuhn e Landmann, 2014; Zhou *et al.*, 2021, Fetter *et al.*, 2022).

Mas a expressão aumentada das células plasmocitoides pode ainda determinar um outro aspecto. De acordo com Fetter *et al.* (2022), esse dado tem uma importante relação com o aumento do grau do infiltrado na derme. Tal correlação não foi possível obter nesta pesquisa, sendo necessário novos estudos para a confirmação.

Então, a somatória desses achados, nos permite inferir que a RUV interfere nas células dendríticas plasmocitoides marcadas pela proteína CD123, aumentando sua expressão nas áreas de fotoexposição.

## **7 CONCLUSÕES**

1) As manifestações clínicas orais do LE são compostas, principalmente, pela forma cutânea da doença, pela predominância da apresentação crônica discoide, localizada preferencialmente nos lábios, palato e mucosa jugal.

2) Os aspectos histopatológicos do LE oral revelam uma predileção de disposição do infiltrado inflamatório superficial ou de interface e profundo perivascular, constituído predominantemente por linfócitos. No epitélio, há marcadamente degeneração hidrópica e apoptose dos queratinócitos, associadas ao espessamento da camada basal epitelial e dos vasos.

3) A análise da imunofluorescência direta mostra predominantemente depósitos de padrão granuloso, constituídos por imunoglobulina da classe IgM encontrada na Zona da Membrana Basal.


4) As células dendríticas representadas pelas moléculas CD1a, Langerina e CD123 são expressas nas lesões orais de LE. A imunomarcação dessas moléculas localizadas na lâmina própria, coincidente com as áreas de infiltrado inflamatório, sugere sua participação na resposta imunológica da doença.

5) A expressão de células dendríticas na mucosa exposta ao sol (vermilião labial) e na mucosa intraoral (sem exposição solar) apresentam diferenças, com maior imunomarcação das células dendríticas plasmocitoides (representadas pela expressão de CD123) nas lesões mucosas orais expostas à radiação solar.


## **8 ANEXOS**

## Anexo A - Carta aprovação CAPPesp

DermA



USP - HOSPITAL DAS  
CLÍNICAS DA FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS NO LUPUS ERITEMATOSO ORAL.

**Pesquisador:** Marcello MEnta Simonsen Nico

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 64311717.5.0000.0068

**Instituição Proponente:** HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.967.787

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de um estudo observacional descritivo e retrospectivo. Serão incluídos espécimes de biópsias de lesões orais de 30 pacientes com diagnóstico de Lúpus Eritematoso (LE) e amostras de biópsias de mucosa oral de 10 pacientes sem doenças autoimunes, como controle, dos arquivos do Laboratório de Dermatopatologia do Departamento de Dermatologia da FMUSP. As amostras de LE oral serão divididas em lesões intraorais (não exposta ao sol) (Grupo 1) e lesões de semi-mucosa oral (Exposta ao sol) Grupo 2. Será realizada análise em H.E e imuno-histoquímica. Dados como sexo, cor, idade, localização e apresentação clínica das lesões orais do LE serão incluídos através da análise dos respectivos prontuários.

**Objetivo da Pesquisa:**

Geral - O objetivo deste estudo é avaliar a presença e distribuição das células dendríticas nas lesões orais do LE, e seu possível papel na patogênese da doença. Específicos - A) Identificar os perfis de células dendríticas com base na expressão de moléculas CD1a, CD21 e Langerina no epitélio e no infiltrado inflamatório das lesões orais do LE. B) Comparar o perfil das células dendríticas das lesões mucosas intraorais (não expostas ao sol) com o das lesões da semi-mucosa labial (expostas ao sol).

**Endereço:** Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
**Bairro:** Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.967.787

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

O risco é mínimo por se tratar de espécimes já coletados e armazenados.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto é interessante e pertinente, apresenta metodologia adequada aos objetivos propostos.

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

Nenhuma

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

Sem pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

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

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_845319.pdf	31/01/2017 12:32:48		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	31/01/2017 12:32:09	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Outros	Cadastro_online_16059.pdf	31/01/2017 12:28:26	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	29/01/2017 22:45:17	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010  
 UF: SP Município: SAO PAULO  
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS  
CLÍNICAS DA FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 1.967.787

SAO PAULO, 16 de Março de 2017

Assinado por:  
**ALFREDO JOSE MANSUR**  
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar  
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010  
UF: SP Município: SAO PAULO  
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

## Anexo B - Dados clínicos e epidemiológicos do LE Oral (n = 60)

Casos	Idade	Sexo	Raça	LES/LEC	Duração da Doença	Forma da Lesão Mucosa	Local
<b>Mucosa Intraoral</b>							
1	59	F	Parda	LEC	4 anos	Crônica Discoide	Lábio Superior
2	38	F	Branca	LES	8 anos	Crônica Discoide	Palato
3	46	F	Branca	LEC	7 anos	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
4	28	F	Branca	LES	9 meses	Aguda	Palato
5	38	M	Branca	LEC	início	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
6	25	F	Branca	LES	início	Aguda	Mucosa Jugal
7	53	M	Branca	LEC	início	Crônica Discoide	Lábio Superior
8	27	F	Preta	LEC	6 anos	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
9	27	F	Branca	LES	2 anos	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
10	33	F	Branca	LES	11 anos	Crônica discoide	Lábio Superior
11	26	F	Preta	LES	7 anos	Crônica discoide	Mucosa Jugal
12	11	F	Parda	LES	início	Aguda	Palato
13	34	F	Parda	LES	2 anos	Crônica discoide	Lábio superior
14	57	M	Branca	LES	10 anos	Aguda	Palato
15	36	F	Parda	LEC	início	Crônica Discoide	Palato
16	42	F	Branca	LEC	3 anos	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
17	27	F	Branca	LES	início	Aguda	Palato
18	24	F	Parda	LES	4 meses	Subaguda	Palato
19	43	F	Branca	LEC	4 anos	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
20	33	M	Parda	LES	início	Aguda *	Lábio Superior
21	22	F	Branca	LES	1 ano	Aguda *	Palato
22	53	F	Parda	LES	14 anos	Crônica Discoide	Lingua
23	23	F	Branca	LES	início	Subaguda	Palato
24	23	F	Amarela	LES	início	Aguda *	Labio superior
25	31	F	Branca	LES	1 ano	Aguda	Gengiva
26	45	F	Branca	LES	27 anos	Aguda	Palato
27	24	M	Parda	LES	início	Aguda	Gengiva
28	26	F	Branca	LES	início	Aguda *	Mucosa Jugal
29	58	F	Parda	LES	início	Aguda	Labio superior
30	21	M	Branca	LES	início	Aguda	Palato
31	55	F	Parda	LEC	22 anos	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
32	27	F	Branca	LES	10 anos	Crônica Discoide	Palato
33	38	M	Branca	LEC	início	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
34	19	F	Branca	LES	6 anos	Aguda	Palato
35	76	F	Branca	LEC	2 anos	Crônica Discoide	Lingua
36	57	F	Branca	LEC	início	Crônica Discoide	Mucosa Jugal
37	31	F	Parda	LES	1 ano	Crônica discoide	Mucosa Jugal
38	26	F	Branca	LEC	4 anos	Crônica discoide	Palato
39	48	F	Branca	LEC	3 anos	Crônica discoide	Mucosa Jugal
40	29	F	Branca	LEC	7 anos	Crônica discoide	Palato
<b>Semimucosa</b>							
41	21	F	Branca	LES	3 meses	Aguda	Lábio Inferior
42	51	F	Branca	LEC	21 anos	Crônica Discoide	Lábio Inferior
43	21	M	Branca	LEC	início	Crônica Discoide	Lábio Inferior
44	47	F	Parda	LEC	11 anos	Crônica Discoide	Lábio Inferior
45	41	M	Parda	LEC	14 anos	Crônica Discoide	Lábio inferior
46	22	M	Branca	LEC	1 ano	Crônica Discoide	Lábio Inferior
47	28	F	Parda	LEC	2 anos	Crônica Discoide	Lábio Inferior
48	76	M	Preta	LEC	11 anos	Crônica Discoide	Lábio inferior
49	42	F	Branca	LEC	início	Crônica Discoide	Lábio inferior
50	52	F	Branca	LEC	1 ano	Crônica Discoide	Lábio inferior
51	21	M	Branca	LES	início	Aguda	Lábio inferior
52	29	F	Parda	LEC	4 anos	Crônica Discoide	Lábio inferior
53	57	F	Branca	LEC	início	Crônica Discoide	Lábio inferior
54	70	F	Branca	LEC	17 anos	Crônica discoide	Lábio inferior
55	47	F	Parda	LEC	16 anos	Crônica Discoide	Lábio Inferior
56	26	F	Branca	LEC	26 anos	Crônica discoide	Lábio Inferior
57	63	F	Branca	LEC	2 anos	Crônica discoide	Lábio Inferior
58	63	M	Branca	LEC	21 anos	Crônica Discoide	Lábio inferior
59	31	F	Parda	LEC	9 anos	Crônica Discoide	Lábio inferior
60	62	F	Preta	LES	35 anos	Crônica Discoide	Lábio inferior

MI: mucosa intraoral; SM: semimucosa; F: feminino; M: masculino; LES: lúpus eritematoso sistêmico; LEC: lúpus eritematoso cutâneo; Sinal de asterisco \*: presença de úlcera.



## Anexo C - Aspectos da imunofluorescência direta do LE oral (n = 60)

Caso	Imunofluorescência
<b>Mucosa Intraoral</b>	
1	Presença de fluorescência linear, intensa, contínua na ZMB para anti IgG e C3
2	Não Informada
3	Ausência de fluorescência específica.
4	Presença de fluorescência homogênea, intensa e contínua na ZMB e corpos citoides para anti-IgM.
5	Presença de fluorescência homogênea, contínua moderada na ZMB para Anti IgG e raros corpos citoides fluorescentes na derme papilar para Anti IgM.
6	Presença de fluorescência granulosa, discreta, característica ZMB e corpos citoides fluorescentes na derme papilar para anti IgM
7	Presença de fluorescência homogênea, intensa, contínua na ZMB e corpos citoides fluorescentes na derme papilar para anti IgM
8	Presença de fluorescência granulosa, contínua, moderada na ZMB para anti- IgM e C3
9	Ausência de fluorescência específica
10	Ausência de fluorescência
11	Ausência de fluorescência específica
12	Fluorescência dos núcleos dos queratinócitos para Anti IgG; Fluorescência granulosa moderada contínua na ZMB para Anti IgM e C3.
13	Presença de fluorescência granulosa, moderada, contínua na ZMB para anti-IgG,IgM,IgA,C3
14	Não Informada
15	Presença de fluorescência dos núcleos de queratinócitos epidérmicos para anti IgG, granulosa contínua moderada na ZMB e corpos citoides fluorescentes na derme papilar para anti-IgM
16	Presença de fluorescência granulosa, moderada, contínua na ZMB e corpos fluorescentes na derme papilar para anti-IgM
17	Presença de fluorescência granulosa contínua, intensa na ZMB para anti IgM.
18	Presença de fluorescência granulosa intensa contínua na ZMB para anti- IgM e anti- C3 e moderada para anti- IgG
19	Não Informada
20	Presença de fluorescência granulosa, discreta, contínua na ZMB para anti-C3
21	Presença de fluorescência granulosa, discreta, contínua na ZMB e ao redor dos vasos da derme para anti IgM e IgA.
22	Presença de fluorescência granulosa, discreta, contínua na ZMB para Anti IgM
23	Presença de fluorescência granulosa, focal, moderada na ZMB para Anti-IgM e Anti C3
24	Ausência de fluorescência específica
25	Não Informada
26	Ausência de fluorescência específica
27	Presença de fluorescência granulosa, contínua, moderada na ZMB para anti- IgM.
28	Presença de Fluorescência linear, moderada, contínua na ZMB para anti IgA, Anti IgG e anti C3. Presença de fluorescência linear, discreta, contínua na ZMB para anti IgM.
29	Ausência de Fluorescência específica
30	Presença de fluorescência contínua, moderada na ZMB para anti IgG, IgM, IgA e C3
31	Não Informada
32	Presença de fluorescência homogênea, discreta, contínua na ZMB e corpos citoides fluorescentes na derme papilar para Anti IgM

*continua*

conclusão

**Caso Imunofluorescência****Mucosa Intraoral**

- 33 Presença de fluorescência homogênea, focal, discreta na ZMB para anti IgM.  
Presença de fluorescência granulosa, moderada, contínua na ZMB para anti C3.
- 34 Presença de fluorescência homogênea, moderada, contínua na ZMB e na parede dos vasos da lâmina própria para Anti IgM

**Mucosa Intraoral**

- 35 Fluorescência granulosa, discreta, descontínua da ZMB, e raros corpos citoides fluorescentes na derme papilar para Anti IgM.
- 36 Ausência de Fluorescência
- 37 Presença de fluorescência granulosa, discreta descontínua na ZMB para anti IgM; homogênea, discreta focal na ZMB para Anti IgG; granulosa, discreta contínua na ZMB e na parede dos vasos da derme papilar para Anti C3.
- 38 Ausência de fluorescência específica
- 39 Presença de fluorescência positiva em numerosos corpos citoides na derme papilar para Anti IgM
- 40 Presença de corpos citoides fluorescentes na derme papilar para IgM e IgA

**Semimucosa**

- 41 Ausência de fluorescência específica
- 42 Presença de fluorescência homogênea, intensa, contínua na ZMB para anti-IgM.
- 43 Presença de fluorescência homogênea, intensa, contínua na ZMB e corpos citoides fluorescentes na derme papilar para anti IgM
- 44 Presença de fluorescência homogênea, moderada, contínua na ZMB para anti IgG, IgM, IgA E C3
- 45 Presença de fluorescência granulosa, moderada, contínua na ZMB para IgM
- 46 Presença de fluorescência homogênea, intensa, contínua na ZMB e corpos citoides fluorescentes na derme papilar para anti IgM
- 47 Presença de fluorescência granulosa, focal, discreta na ZMB para Anti-IgG, IgM e C3
- 48 Presença de fluorescência granulosa moderada focal na ZMB para Anti IgM
- 49 Ausência de fluorescência específica
- 50 Não Informada
- 51 Presença de fluorescência contínua, moderada na ZMB para anti IgG, IgM, IgA e C3
- 52 Presença de fluorescência granulosa moderada contínua na ZMB para IgM e presença de fluorescência moderada homogênea contínua para IgG
- 53 Presença de fluorescência homogênea, moderada, contínua, na ZMB para anti IgG.
- 54 Numerosos corpos citoides fluorescentes na derme papilar para anti IgM.
- 55 Ausência de fluorescência específica
- 56 Presença de fluorescência em raros corpos citoides na derme papilar para Anti IgM.
- 57 Presença de fluorescência homogênea e moderada e descontínua na ZMB para anti IgG, anti IgA, anti IgM e anti C3.
- 58 Presença de fluorescência de corpos citoides na derme papilar para anti IgM.
- 59 Não informada
- 60 Presença de fluorescência granulosa moderada, contínua na ZMB e corpos citoides fluorescentes na derme papilar para anti IgM.

ZMB: zona da membrana basal; Anti-IgM: Anti imunoglobulina M; Anti-IgG: anti imunoglobulina G; Anti-IgA: anti imunoglobulina A; Anti C3: anti Complemento C3.

**Anexo D - Análise da frequência das classes e localização dos imunorreagentes das imunofluorescências diretas positivas do grupo de LE oral (n = 41) e dos subgrupos mucosa intraoral (n = 26) e semimucosa (n = 15)**

Imunoreactantes		Imunofluorescências Positivas		
Classe	Localização	LE Oral (n = 41)	Mucosa intraoral (n = 26)	Semimucosa (n = 15)
IgM	ZMB	7 de 41 (17%)	4 de 26 (15%)	3 de 15 (20%)
	ZMB e Corpos citoides	9 de 41 (22%)	6 de 26 (23%)	3 de 15 (20%)
	Corpos citoides	4 de 41 (10%)	1 de 26 (4%)	3 de 15 (20%)
IgM+C3	ZMB	2 de 41 (5%)	2 de 26 (8%)	0 de 15 (0%)
IgM+IgA	ZMB e parede dos vasos	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)
	Corpos citoides	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)
IgM+IgG	ZMB	1 de 41 (2%)	0 de 26 (0%)	1 de 15 (7%)
IgG	ZMB	1 de 41 (2%)	0 de 26 (0%)	1 de 15 (7%)
IgG+C3	ZMB	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)
C3	ZMB	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)
IgM+IgG+IgA+C3	ZMB	6 de 41 (15%)	3 de 26 (11,5%)	3 de 15 (20%)
IgM+IgG+C3	ZMB	2 de 41 (5%)	1 de 26 (4%)	1 de 15 (7%)
IgG/IgM	ZMB/corpos citoides	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)
IgM+C3/ IgG	ZMB/núcleo dos queratinócitos	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)
IgM/IgG	ZMB e corpos citoides/núcleo dos queratinócitos	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)
IgM/C3	ZMB e Parede dos vasos/ ZMB	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)
IgM+IgG/C3	ZMB/ZMB e parede dos vasos	1 de 41 (2%)	1 de 26 (4%)	0 de 15 (0%)

IFD: Imunofluorescência; LEO: lúpus eritematoso oral ZMB: zona da membrana basal; IgM: imunoglobulina M; IgG: Imunoglobulina G; IgA: imunoglobulina A; C3: complemento C3.

**Anexo E - Comparação dos dados morfométricos. Análise da proteína CD1a entre os subgrupos Mucosa Intraoral (sem exposição solar) e Semimucosa (com exposição solar) e destes com o controle**

Variáveis	Grupos	Mediana	Percentil 25	Percentil 75	p MxC	p MxS
CD1a EP	Mucosa Intraoral	<b>0,1980%</b>	0,1020%	0,4310%	0,003 p < 0,005	0,998 p > 0,005
	Semimucosa	<b>0,5610%</b>	0,1760%	0,6310%		
	Controle	<b>1,9120%</b>	0,6870%	2,5850%		
CD1a LP	Mucosa Intraoral	<b>0,0430%</b>	0,0210%	0,0730%	0,153 p > 0,05	0,850 p > 0,05
	Semimucosa	<b>0,0520%</b>	0,0130%	0,0920%		
	Controle	<b>0,0300%</b>	0,0040%	0,0480%		
CD1a JUN	Mucosa Intraoral	<b>0,0370%</b>	0,0120%	0,0890%	0,060 p > 0,05	0,414 p > 0,05
	Semimucosa	<b>0,0200%</b>	0,0030%	0,0530%		
	Controle	<b>0,0240%</b>	0,0050%	0,0450%		
CD1a PV	Mucosa Intraoral	<b>0,0290%</b>	0,0050%	0,0650%	0,002 p < 0,05	0,687 p > 0,05
	Semimucosa	<b>0,0210%</b>	0,0070%	0,0910%		
	Controle	<b>0,0050%</b>	0,0000%	0,0250%		

EP: epitélio; LP: lâmina própria; JUN: Junção epitélio lâmina própria; PV: perivascular profundo; MxC: grupo mucosa intraoral comparado com grupo controle; MxS: grupo mucosa intraoral comparado com grupo semimucosa.

Os valores da significância (p) foram baseados no modelo linear generalizado, com distribuição de probabilidade tipo Tweedie, e comparação post-hoc pelo procedimento de Sidak. p < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

**Anexo F- Comparação dos dados morfométricos. Análise da proteína Langerina entre os subgrupos Mucosa Intraoral (sem exposição solar) e Semimucosa (com exposição solar) e destes com o controle**

Variáveis	Grupos	Mediana	Percentil 25	Percentil 75	p MxC	p MxS
Lang EP	Mucosa Intraoral	<b>0,0500%</b>	0,0090%	0,1850%	0,944 p > 0,005	0,504 p > 0,005
	Semimucosa	<b>0,1330%</b>	0,0610%	0,2580%		
	Controle	<b>0,1120%</b>	0,0550%	0,1890%		
Lang LP	Mucosa Intraoral	<b>0,0030%</b>	0,0000%	0,0110%	0,012 p < 0,05	0,288 p > 0,005
	Semimucosa	<b>0,0030%</b>	0,0000%	0,0060%		
	Controle	<b>0,0000%</b>	0,0000%	0,0040%		
Lang JUN	Mucosa Intraoral	<b>0,0020%</b>	0,0000%	0,0150%	0,006 p < 0,05	0,043 p < 0,05
	Semimucosa	<b>0,0000%</b>	0,0000%	0,0050%		
	Controle	<b>0,0000%</b>	0,0000%	0,0010%		
Lang PV	Mucosa Intraoral	<b>0,0000%</b>	0,0000%	0,0020%	0,596 p > 0,05	0,209 p > 0,05
	Semimucosa	<b>0,0010%</b>	0,0000%	0,0080%		
	Controle	<b>0,0000%</b>	0,0000%	0,0000%		

EP: epitélio; LP: lâmina própria; JUN: Junção epitélio lâmina própria; PV: perivascular profundo; MxC: grupo mucosa intraoral comparado com grupo controle; MxS: grupo mucosa intraoral comparado com grupo semimucosa.

Os valores da significância (p) foram baseados no modelo linear generalizado, com distribuição de probabilidade tipo Tweedie, e comparação post-hoc pelo procedimento de Sidak. p < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

**Anexo G - Comparação dos dados morfométricos. Análise da proteína CD123 entre os subgrupos Mucosa Intraoral (sem exposição solar) e Semimucosa (com exposição solar) e desses subgrupos com o controle**

Variáveis	Grupos	Mediana	Percentil 25	Percentil 75	p MxC	p MxS
CD123 EP	Mucosa Intraoral	0,0000%	0,0000%	0,0000%	0,005 p < 0,05	0,024 p < 0,05
	Semimucosa	0,0010%	0,0000%	0,0040%		
	Controle	0,0000%	0,0000%	0,0000%		
CD123 LP	Mucosa Intraoral	0,0740%	0,0290%	0,2090%	<0,001 p < 0,05	0,047 p < 0,05
	Semimucosa	0,1850%	0,0520%	0,5670%		
	Controle	0,0000%	0,0000%	0,0020%		
CD123JUN	Mucosa Intraoral	0,0550%	0,0190%	0,1250%	<0,001 p < 0,05	0,001 p < 0,05
	Semimucosa	0,2690%	0,0330%	0,5630%		
	Controle	0,0010%	0,0000%	0,0030%		
CD123 PV	Mucosa Intraoral	0,0770%	0,0210%	0,2150%	<0,001 p < 0,05	0,072 p > 0,05
	Semimucosa	0,0990%	0,0380%	0,6690%		
	Controle	0,0000%	0,0000%	0,0010%		

EP: epitélio; LP: lâmina própria; JUN: Junção epitélio lâmina própria; PV: perivascular profundo; MxC: grupo mucosa intraoral comparado com grupo controle; MxS: grupo mucosa intraoral comparado com grupo semimucosa.

Os valores da significância (p) foram baseados no modelo linear generalizado, com distribuição de probabilidade tipo Tweedie, e comparação post-hoc pelo procedimento de Sidak. p < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

**Anexo H - Comparação dos dados morfométricos. Análise da proteína CD21 entre os subgrupos Mucosa Intraoral (sem exposição solar) e Semimucosa (com exposição solar) e desses subgrupos com o controle**

Variáveis	Grupos	Mediana	Percentil 25	Percentil 75	p MxC	p MxS
CD21 EP	Mucosa Intraoral	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0000%	0,012 p < 0,05	0,434 p > 0,05
	Semimucosa	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0000%		
	Controle	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0000%		
CD21 LP	Mucosa Intraoral	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0020%	<0,001 p < 0,05	0,433 p > 0,05
	Semimucosa	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0020%		
	Controle	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0000%		
CD21 JUN	Mucosa Intraoral	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0010%	0,394 p > 0,05	0,395 p > 0,05
	Semimucosa	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0020%		
	Controle	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0000%		
CD21 PV	Mucosa Intraoral	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0010%	<0,001 p < 0,05	0,617 p > 0,05
	Semimucosa	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0010%		
	Controle	<b>0,00%</b>	0,0000%	0,0000%		

EP: epitélio; LP: lâmina própria; JUN: Junção epitélio lâmina própria; PV: perivascular profundo; MxC: grupo mucosa intraoral comparado com grupo controle; MxS: grupo mucosa intraoral comparado com grupo semimucosa.

Os valores da significância (p) foram baseados no modelo linear generalizado, com distribuição de probabilidade tipo Tweedie, e comparação post-hoc pelo procedimento de Sidak. p < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

## Anexo I - Estudo estatístico dos dados histológicos e frequência da mucosa intraoral e semimucosa

### Comparação dos dados histológicos entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa (epitélio e lâmina própria)

Local	Mucosa intraoral (n = 40)	Semimucosa (n = 20)
<b>Epitélio</b>		
Hiperqueratose	14 (35,0%)	13 (65,0%)
Atrofia	6 (15,0%)	4 (20,0%)
Acantose	24 (60,0%)	12 (60,0%)
Hipergranulose	7 (17,5%)	6 (30,0%)
Hiperplasia Epitelial	3(7,5%)	5 (25,0%)
Espongiose	24 (60,0%)	12 (60,0%)
Degeneração Hidrópica	31 (77,5%)	17 (85,0%)
Apoptose queratinócitos	28 (70,0%)	15 (75,0%)
Exocitose de linfócitos	20 (50,0%)	10 (50,0%)
Atipia epitelial	2(4,8%)	0 (0,0%)
<b>Membrana Basal</b>		
Epitelial espessada	33 (82,5%)	17 (85,0%)
Dos vasos espessada	37 (92,5%)	18 (90,0%)
<b>Lâmina Própria</b>		
Edema intersticial	13 (32,5%)	6 (30,0%)
Edema de endoteliócitos	5 (12,5%)	2 (10,0%)
Presença de Trombos	6 (15,0%)	4 (20,0%)
Alcian Blue Intersticial	27 (67,5%)	12 (60,0%)
Alcian blue Glândular	3 (7,5%)	1 (5,0%)



**Comparação dos dados histológicos entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa (infiltrado inflamatório)**

<b>Infiltrado</b>	<b>Mucosa intraoral (n = 40)</b>	<b>Semimucosa (n = 20)</b>
Infiltrado superficial/junção Epitélio Lâmina Própria	39 (97,5%)	18 (90,0%)
Infiltrado perivascular profundo	37 (92,5%)	20 (100,0%)
Infiltrado ao redor das glândulas salivares	4 (10,0%)	1 (5,0%)
Forma do infiltrado	Liquenoide 22(55,0%)	Liquenoide 5 (25,0%)
	Focal 8 (20,0%)	Focal 10 (50,0%)
	Difuso 10 (25,0%)	Difuso 5 (25,0%)
Tipo celular	Linfomononuclear 20 (50,0%)	Linfomononuclear 10 (50,0%)
	Intenso 13 (32,5%)	Intenso 10 (50,0%)
Intensidade do infiltrado	Moderado 11 (27,5%)	Moderado 7 (35,0%)
	Mínimo 16 (40,0%)	Mínimo 3 (15,0%)

**Análise estatística dos dados histológicos comparativos entre os subgrupos mucosa intraoral e semimucosa (epitélio e membrana basal)**

Variáveis	Mucosa Intraoral (n = 40) Semimucosa (n = 20)	Média	Desvio Padrão	Mediana	Intervalo Interquartil	Significância (p)
<b>Epitélio</b>						
Hiperqueratose	Mucosa Intraoral	0,35	0,4830459	0	1	0,029
	Semimucosa	0,65	0,4893605	1	1	<0,05
Atrofia	Mucosa Intraoral	0,15	0,3616203	0	0	0,6271
	Semimucosa	0,2	0,4103913	0	0	>0,05
Acantose	Mucosa Intraoral	0,6	0,4961389	1	1	1,0000
	Semimucosa	0,6	0,5026247	1	1	>0,05
Hipergranulose	Mucosa Intraoral	0,175	0,3848076	0	0	0,2719
	Semimucosa	0,3	0,4701623	0	1	>0,05
Hiperplasia	Mucosa Intraoral	0,075	0,2667468	0	0	0,06231
	Semimucosa	0,25	0,4442617	0	0,25	>0,05
Espongiose	Mucosa Intraoral	0,6	0,4961389	1	1	1,0000
	Semimucosa	0,6	0,5026247	1	1	>0,05
Degeneração Hidrópica	Mucosa Intraoral	0,775	0,4229021	1	0	0,4972
	Semimucosa	0,85	0,3663475	1	0	>0,05
Apoptose de queratinócitos	Mucosa Intraoral	0,7	0,4640955	1	1	0,6879
	Semimucosa	0,75	0,4442617	1	0,25	>0,05
Exocitose de linfócitos	Mucosa Intraoral	0,5	0,5063697	0,5	1	1,0000
	Semimucosa	0,5	0,5129892	0,5	1	>0,05
Atipia Epitelial	Mucosa Intraoral	0,05	0,2207214	0	0	1,0000
	Semimucosa	0	0	0	0	>0,05
<b>Membrana Basal</b>						
Epitelial	Mucosa Intraoral	0,825	0,3848076	1	0	0,8081
	Semimucosa	0,85	0,3663475	1	0	>0,05
Parede dos vasos	Mucosa Intraoral	0,925	0,2667468	1	0	0,7433
	Semimucosa	0,9	0,3077935	1	0	>0,05

Os valores da significância (p) para as variáveis categóricas foram baseadas no Kruskal-Wallis rank sum test.  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

### Análise estatística dos dados histológicos comparativos entre os subgrupos mucosa e semimucosa (lâmina própria)

Lâmina Própria	Local	Média	Desvio Padrão	Mediana	Intervalo Interquartil	Significância (p)
Infiltrado superficial/JELP	Mucosa	0,975	0,1581139	1	0	0,2127
	Semimucosa	0,9	0,3077935	1	0	>0,05
Forma do Infiltrado	Mucosa	1,95	0,6774765	2	0,25	0,1295
	Semimucosa	2,25	0,8506963	2,5	1,25	>0,05
Infiltrado Perivascular Profundo	Mucosa	0,925	0,2667468	1	0	0,2127
	Semimucosa	1	0	1	0	>0,05
Tipo celular predominante no infiltrado	Mucosa	2,4	2,01023	1,5	2	0,9462
	Semimucosa	2,35	1,814416	1,5	2	>0,05
Intensidade do Infiltrado	Mucosa	1,925	0,8589648	2	2	0,06799
	Semimucosa	2,35	0,7451598	2,5	1	>0,05
Infiltrado ao redor da Glândula Salivar	Mucosa	0,1	0,3038218	0	0	0,5124
	Semimucosa	0,05	0,2236068	0	0	>0,05
Edema Intestinal	Mucosa	0,325	0,4743416	0	1	0,8457
	Semimucosa	0,3	0,4701623	0	1	>0,05
Edema de Endoteliócitos	Mucosa	0,125	0,3349321	0	0	0,778
	Semimucosa	0,1	0,3077935	0	0	>0,05
Presença de trombos	Mucosa	0,15	0,3616203	0	0	0,6271
	Semimucosa	0,2	0,4103913	0	0	>0,05
Alcian Blue Intersticial	Mucosa	0,675	0,4743416	1	1	0,5691
	Semimucosa	0,6	0,5026247	1	1	>0,05
Alcian Blue Glandular	Mucosa	0,075	0,2667468	0	0	0,7167
	Semimucosa	0,05	0,2236068	0	0	>0,05

JELP: Junção Epitélio Lâmina Própria

Os valores da significância (p) para as variáveis categóricas foram baseadas no Kruskal-Wallis rank sum test.  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## **9 REFERÊNCIAS**

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular*, 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2015.

Abid N, Khan AS, Otaibi FHA. Systemic lupus erythematosus (SLE) in the eastern region of Saudi Arabia. A comparative study. *Lupus*. 2013;22(14):1529-33.

Abreu-Velez AM, Girard JG, Howard MS. Antigen presenting cells in the skin of a patient with hair loss and systemic lupus erythematosus. *N Am J Med Sci*. 2009;1(4): 205-10.

Achachi A, Vocanson M, Bastien P, Péguet-Navarro J, Grande S, Goujon C, Breton L, Castiel-Higounenc I, Nicolas JF, Gueniche A. UV radiation induces the epidermal recruitment of dendritic cells that compensate for the depletion of langerhans cells in human. *J Invest Dermatol*. 2015 Aug;135(8):2058-67.

Achtman JC, Werth VP. Pathophysiology of cutaneous lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2015;17(1):182.

Aguzzi A, Kranich J, and Krautler NJ. Follicular dendritic cells: origin, phenotype, and function in health and disease. *Trends Immunol*. 2014;35(3):105-13.

Andreasen JO, Poulsen HE. Oral manifestations in discoid and systemic lupus erythematosus II Histologic investigation. Investigation. *Acta Odontol Scand.* 1964;22(4):389-400.

Antonovych TT. *Pathology of systemic lupus erythematosus*. Washington DC: American Registry of Pathology and Armed Forces Institute of Pathology; 1995.

Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, Smolen JS, Wofsy D, Boumpas DT, Kamen DL, Jayne D, Cervera R, Costedoat-Chalumeau N, Diamond B, Gladman DD, Hahn B, Hiepe F, Jacobsen S, Khanna D, Lerstrøm K, Massarotti E, McCune J, Ruiz-Irastorza G, Sanchez-Guerrero J, Schneider M, Urowitz M, Bertsias G, Hoyer BF, Leuchten N, Tani C, Tedeschi SK, Touma Z, Schmajuk G, Anic B, Assan F, Chan TM, Clarke AE, Crow MK, Czirják L, Doria A, Graninger W, Halda-Kiss B, Hasni S, Izmirly PM, Jung M, Kumánovics G, Mariette X, Padjen I, Pego-Reigosa JM, Romero-Diaz J, Rúa-Figueroa Fernández Í, Seror R, Stummvoll GH, Tanaka Y, Tektonidou MG, Vasconcelos C, Vital EM, Wallace DJ, Yavuz S, Meroni PL, Fritzler MJ, Naden R, Dörner T, Johnson SR. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2019;71(9):1400-12.

Aringer M, Leuchten N, Johnson SR. New Criteria for Lupus. *Curr Rheumatol Rep.* 2020;22(6):18.

Bălănescu E, Bălănescu P, Tănăsescu C, Olteanu R, Badea C, Ardeleanu C. Immunohistochemical aspects of apoptosis in subcutaneous lupus erythematosus. *Rom J Intern Med.* 2010;48(3):261-5.

Bardawil T, Khalil S, Kurban M, Abbas O. Diagnostic utility of plasmacytoid dendritic cells in dermatopathology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2021;87(1):3-13.

Baumann I, Kolowos W, Voll RE, Manger B, Gaipf U, Neuhuber WL, Kirchner T, Kalden JR, Herrmann M. Impaired uptake of apoptotic cells into tingible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2002;46(1):191-201.

Bechettille N, Dezutter-Dambuyant C, Damour O, André V, Orly I, Perrier E. Effects of solar ultraviolet radiation on engineered human skin equivalent containing both Langerhans cells and dermal dendritic cells. *Tissue Eng.* 2007;13(11):2667-79.

Berthier CC, Tsoi LC, Reed TJ, Stannard JN, Myers EM, Namas R, Xing X, Lazar S, Lowe L, Kretzler M, Gudjonsson JE, Kahlenberg JM. Molecular profiling of cutaneous lupus lesions identifies subgroups distinct from clinical phenotypes. *J Clin Med.* 2019;8(8):1244.

Bijl M, Kallenberg CGM. Ultraviolet light and cutaneous lupus. *Lupus.* 2006;15:724-7.

Blake SC, Daniel BS. Cutaneous lupus erythematosus: A review of the literature. *Int J of Womens Dermatol.* 2019;5(5):320-9.

Bombardieri M, Barone F, Lucchesi D, Nayar S, van den Berg WB, Proctor G, Buckley CD, Pitzalis C. Inducible tertiary lymphoid structures, autoimmunity, and exocrine dysfunction in a novel model of salivary gland inflammation in C57BL/6 mice. *J Immunol.* 2012;189(7):3767-76.

Borgne ML, Dubois B, Kaiserlian D. Cellules dendritiques des muqueuses et de la peau. *Medecinesciences.* 2007;23:819-25.

Bosisio F, Boi S, Caputo V, Chiarelli C, Oliver F, Ricci R, Cerroni L. Lobular panniculitic infiltrates with overlapping histopathologic features of lupus panniculitis (lupus profundus) and subcutaneous T-cell lymphoma: a conceptual and practical dilemma. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(2):206-11.

Botari CM, Nunes AJ, Souza MP, Orti-Raduan ES, Salvio AG. Oral chronic graft-versus-host disease: analysis of dendritic cells subpopulations. *An Bras Dermatol.* 2014;89(4):632-7.

Brennan MT, Valerin MA, Napenãs JJ, Lockhart PB. Oral manifestation of patients with lupus erythematosus. *Dent Clin North Am.* 2005;49(1):127-41.

Brown TT, Choi EY, Thomas DG, Hristov AC, Chan MP. Comparative analysis of rosacea and cutaneous lupus erythematosus: histopathologic features, T-cell subsets, and plasmacytoid dendritic cells. *J Am Acad Dermatol.* 2014;71(1):100-7.

Burge SM, Frith PA, Juniper RP, Wojnarowska F. Mucosal involvement in systemic and chronic cutaneous lupus erythematosus. *Br J Dermatol.* 1989;121(6):727-41.



Callen JP. Oral manifestations of collagen vascular disease. *Sem Cutan Med Surg.* 1997;16(4):323-7.

Casciola-Rosen L, Rosen A. Ultraviolet light–induced keratinocyte apoptosis: a potencial mechanism for the induction of skin lesions and autoantibody production in LE. *Lupus.* 1997;6(2):175-80.

Casciola-Rosen LA, Anhalt G, Rosen A. Autoantigens targeted in systemic lupus erythematosus are clustered in two populations of surface structures on apoptotic keratinocytes. *J Exp Med.* 1994;179(4):1317-30.

Cederblad B, Blomberg S, Vallin H, Perers A, Alm GV, Rönnblom L. Patients with systemic lupus erythematosus have reduced numbers of circulating natural interferon-alpha- producing cells. *J Autoimmun.* 1998;11(5):465-70.

Chacón-Dulcey V, López-Labady J, Villarroel-Dorrego M, Frías J, Tirado W, González N, Alfonzo RP. Oral manifestations associated with antimalarial therapy in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2020;29(7):761-6.

Chan VS, Nie YJ, Shen N, Yan S, Mok MY, Lau CS. Distinct roles of myeloid and plasmacytoid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 2012;11(12):890-7.

Chang A, Henderson SG, Brandt D, Liu N, Guttikonda R, Hsieh C, Kaverina N, Utset TO, Meehan SM, Quigg RJ, Meffre E, Clark MR. In situ B cell-mediated immune responses and tubulointerstitial inflammation in human lupus nephritis. *J Immunol.* 2011;186(3):1849-60.

Chanprapaph K, Pomsoong C, Tankunakorn J, Eden C, Suchonwanit P, Rutnin S. Comparative Analyses of Clinical Features, Histopathology, and CD123 Immunohistochemistry of Oral Lupus Erythematosus, Lichen Planus, and Other Lichenoid Lesions. *Dermatology*. 2022;238(3):464-475.

Chanprapaph K, Tankunakorn J, Suchonwanit P, Rutnin S. Dermatologic Manifestations, Histologic Features and Disease Progression among Cutaneous Lupus Erythematosus Subtypes: A Prospective Observational Study in Asians. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2021;11(1):131-47.

Chen KL, Krain RL, Werth VP. Advancing understanding, diagnosis, and therapies for cutaneous lupus erythematosus within the broader context of systemic lupus erythematosus. *F1000Res*. 2019a;8:F1000 Faculty Rev-332.

Chen SJT, Tse JY, Harms PW, Hristov AC, Chan MP. Utility of CD123 immunohistochemistry in differentiating lupus erythematosus from cutaneous T-cell lymphoma. *Histopathology*. 2019b;74(6):908-916.

Chiewchengchol D, Murphy R, Edwards SW, Beresford MW. Mucocutaneous manifestations in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a review of literature. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2015;13:1.

Chong BF, Song J, Olsen NJ. Determining risk factors for developing systemic lupus erythematosus in patients with discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol*. 2012;166(1):29-35.

Chong BF, Tseng LC, Kim A, Miller RT, Yancey KB, Hosler GA. Differential expression of BAFF and its receptors in discoid lupus erythematosus patients. *J Dermatol Sci.* 2014;73(3):216-224.

Clayton K, Vallejo AF, Davies J, Sirvent S, Polak ME. Langerhans Cells- Programmed by the Epidermis. *Front Immunol.* 2017;8:1676.

Collin M, Bigley V. Human dendritic cell subsets: an update. *Immunology.* 2018;154(1):3-20.

Concha JSS, Patsatsi A, Marshak-Rothstein A, Liu ML, Sinha AA, Lee LA, Merola JF, Jabbari A, Gudjonsson JE, MD, Chasset F, Jarrett P, MD.BS, Chong B, Arkin L, Fernandez AP, Caproni M, Greenberg SA, Kim HJ, Pearson DR, Femia A, Vleugels RA, Fiorentino D, Fujimoto M, Wenzel J, Werth VP. Advances in Cutaneous Lupus Erythematosus and Dermatomyositis: A report from the 4th International Conference on Cutaneous Lupus Erythematosus An ongoing need for international consensus and collaborations. *J Invest Dermatol.* 2019;139(2):270-6.

Crispin MK, Fuentes-Duculan J, Gulati N, Johnson-Huang LM,1Lentini1T, Sullivan-Whalen M, Gilleaudeau P, Cueto I, Suárez-Fariñas M, Lowes MA, Krueger JG. Gene Profiling of Narrowband UVB-Induced Skin Injury Defines Cellular and Molecular Innate Immune Responses. *J Invest Dermatol.* 2013;133(3):692-701.

Crowson NA, Magro C. The cutaneous pathology of lupus erythematosus: a review. *J Cutan Pathol.* 2001;28(1):1-23.

Dammacco R. Systemic lupus erythematosus and ocular involvement: an overview. *Clin Exp Med.* 2018;18(2):135-49.

Das A, Heesters BA, Bialas A, O'Flynn J, Rifkin IR, Ochando J, Mittereder N, Carlesso G, Herbst R, Carroll MC. Follicular Dendritic Cell Activation by TLR Ligands Promotes Autoreactive B Cell Responses. *Immunity.* 2017;46(1):106-119

Davies J, Vallejo AF, Sirvent S, Porter G, Clayton K, Qumbelo Y, Stumpf P, West J, Gray CM, Chigorimbo-Murefu NTL, MacArthur B, Polak ME. An IRF1-IRF4 Toggle-Switch Controls Tolerogenic and Immunogenic Transcriptional Programming in Human Langerhans Cells. *Front Immunol.* 2021;12:665312.

Deguchi M, Aiba S, Ohtani H, Nagura H, Tagami H. Comparison of the distribution and numbers of antigen-presenting cells among T-lymphocyte-mediated dermatoses: CD1a+, factor XIIIa+, and CD68+ cells in eczematous dermatitis, psoriasis, lichen planus and graft-versus-host disease. *Arch Dermatol Res.* 2002;294(7):297-302.

Del Alcázar-Viladomiu E, López-Pestaña A, Tuneu-Valls A. Lupus Erythematosus Affecting the Genitalia: An Unusual Site. *Actas Dermosifiliogr (Engl Ed).* 2018;109(1):78-80.

Del Barrio-Diaz P, Reyes-Vivanco C, Cifuentes-Mutinelli M, Manriquez J, Vera-Kellet C. Association between oral lesions and disease activity in lúpus erythematosus. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020;34(2):349-56.

Demitsu T, Jinbu Y, Yabe H, Yamada T, Kawase M, Kakurai M, Umemoto N, Tanaka A, Sugawara H. Verrucous lupus erythematosus localized to the oral mucosa and fingers rapidly progressed to systemic lupus erythematosus followed by fatal invasive aspergillosis. *Int J Dermatol.* 2020;59(12), e445-e447.

Denny MF, Yalavarthi S, Zhao W, Thacker SG, Anderson M, Sandy AR, McCune WJ, Kaplan MJ. A distinct subset of proinflammatory neutrophils isolated from patients with systemic lupus erythematosus induces vascular damage and synthesizes type I IFNs. *J Immunol.* 2010;184(6):3284-97.

Dias de Oliveira NF, Santi CG, Maruta CW, Aoki V. Plasmacytoid dendritic cells in dermatology. *An Bras Dermatol.* 2021;96(1):76-81.

Doebel T, Voisin B, Nagao K. Langerhans Cells - The Macrophage in Dendritic Cell Clothing. *Trends Immunol.* 2017;38(11):817-28.

Dresco F, Puzenat E, Delobbeau M, Salard D, Lihoreau T, Pelletier F, Aubin F. Resistant and progressive cutaneous lupus erythematosus treated with belimumab: A retrospective monocentric study. *Rev Med Interne.* 2020;41(3):152-9.

Duarte AA. *Colagenoses e a dermatologia.* 2<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Di Livros; 2012. p.14-73.

El Shikh MEM, El Sayed R, Aly NAR, Prediletto E, Hands R, Fossati-Jimack L, Bombardieri M, Lewis MJ, Pitzalis C. Follicular dendritic cell differentiation is associated with distinct synovial pathotype signatures in rheumatoid arthritis. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:1013660.

Elman SA, Joyce C, Braudis K, Chong BF, Fernandez AP, Furukawa F, Hasegawa M, Kim HJ, Li SJ, Lian CG, Szepietowski JC, Werth VP, Merola JF. Creation and validation of classification criteria for discoid lupus erythematosus. *JAMA Dermatol.* 2020;156(8):901-6.

Facy V, Flouret V, Régnier M, Schmidt R. Reactivity of Langerhans cells in human reconstructed epidermis to known allergens and UV radiation. *Toxicol In Vitro.* 2005;19(6):787-95.

Farkas L, Beiske K, Lund-Johansen F, Brandtzaeg P, Jahnsen FL. Plasmacytoid dendritic cells (natural interferon- $\alpha/\beta$ -producing cells) accumulate in cutaneous lupus erythematosus lesions. *Am J Pathol.* 2001;159(1):237-43.

Fening K; Parekh V; McKay K. CD123 immunohistochemistry for plasmacytoid dendritic cells is useful in the diagnosis of scarring alopecia. *J Cutan Pathol.* 2016;43(8):643-8.

Fernandes MS, Girisha BS, Viswanathan N, Sripathi H, Noronha TM. Discoid lupus erythematosus with squamous cell carcinoma: a case report and review of the literature in Indian patients. *Lupus.* 2015;24(14):1562-6.

Fernandez-Flores A, Saeb-Lima M. Mucin as a diagnostic clue in dermatopathology. *J Cutan Pathol.* 2016;43(11):1005-16.

Fetter T, Braegelmann C, de Vos L, Wenzel J. Current Concepts on Pathogenic Mechanisms and Histopathology in Cutaneous Lupus Erythematosus. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:915828.

Fransen JH, van der Vlag J, Ruben J, Adema GJ, Berden JH, Hilbrands LB. The role of dendritic cells in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(2):207.

Furio L, Berthier-Vergnes O, Ducarre B, Schmitt D, Peguet-Navarro J. UVA radiation impairs phenotypic and functional maturation of human dermal dendritic cells. *J Invest Dermatol.* 2005;125(5):1032-8.

Ganguly D, Haak S, Sisirak V, Reizis B. The role of dendritic cells in autoimmunity. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(8):566-77.

Garelli CJ, Refat MA, Nanaware PP, Ramirez-Ortiz ZG, Rashighi M, Richmond JM. Current Insights in Cutaneous Lupus Erythematosus Immunopathogenesis. *Front Immunol.* 2020;11:1353.

Ghosh AP, Nag F, Biswas S, Rao R, De A. Clinicopathological and Immunological Profile of Patients with Cutaneous Manifestations and their Relationship with Organ Involvement in Systemic Lupus Erythematosus Attending a Tertiary Care Center of Eastern India. *Indian J Dermatol.* 2020;65(1): 22-8.

Gibbs NK, Norval M. Photoimmunosuppression: a brief overview. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2013;29(2):57-64.

Gilliam AC, Kremer IB, Yoshida Y, Stevens SR, Tootell ET, Teunissen MBM, Hammerberg C, Cooper KD. The Human Hair Follicle: A Reservoir of CD40/B7-Deficient Langerhans Cells that Repopulate Epidermis After UVB Exposure. *J Invest Dermatol.* 1998;110(\$):422-7.

Gillian JN, Sontheimer RD. Distinctive cutaneous subsets in the spectrum of lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol*. 1981;4(4):471-5.

Ginhoux F, Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(6):392-404.

Glitzner E, Korosec A, Brunner PM, Drobits B, Amberg N, Schonthaler HB, Kopp T, Wagner EF, Stingl G, Holcman M, Sibilica M. Specific roles for dendritic cell subsets during initiation and progression of psoriasis. *EMBO Mol Med*. 2014;6(10):1312-27.

González-Cruz C, Español GA, Fàbrega BF, Calderón VC, Pichel MG, Briones VGP. Paniculitis lúpica: características clínico-patológicas de una serie de 12 pacientes. *Med Clin (Barc)*. 2018;151(11):444-44.

Greenberg SA, Schlosser BJ, Mirowski GW. Diseases of the lips. *Clin Dermatol*. 2017;35(5):e1-e14.

Guilliams M, Ginhoux F, Jakubzick C, Naik SH, Onai N, Schraml BU, Segura E, Tussiwand R, Yona S. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(8):571-8.

Guilliams M, van de Laar L. A Hitchhiker's Guide to Myeloid Cell Subsets: Practical Implementation of a Novel Mononuclear Phagocyte Classification System. *Front Immunol*. 2015;6:406.

Hamburger J. Orofacial manifestations in patients with inflammatory rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2016;30(5):826-50.



Handlers JP, Abrams AM, Aberle AM, Auyong T, Melrose RJ. Squamous cell carcinoma of the lip developing in discoid lupus erythematosus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985;60(4):382-6.

Hatakeyama M, Fukunaga A, Washio K, Taguchi K, Oda Y, Ogura K, Nishigori C. Anti-Inflammatory Role of Langerhans Cells and Apoptotic Keratinocytes in Ultraviolet-B-Induced Cutaneous Inflammation. *J Immunol.* 2017;199(8):2937-47.

Herndon MT, Tsokos GC. What in Autoimmunity: Basic mechanisms and concepts. In: Kuhn A, Lehmann P, Ruzicka T (eds). Cutaneous lupus erythematosus. Berlin:Springer-Verlag; 2005. p.8-17.

Herrmann M, Voll RE, Kalden JR. Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunol Today.* 2000;21(9):424-6.

Hoeffel G, Wang Y, Greter M, See P, Teo P, Malleret B, Leboeuf M, Low D, Oller G, Almeida F, Choy SHY, Grisotto M, Renia L, Conway SJ, Stanley ER, Chan JKY, Ng LG, Samokhvalov IM, Merad M, Ginhoux F. Adult Langerhans cells derive predominantly from embryonic fetal liver monocytes with a minor contribution of yolk sac-derived macrophages. *J Exp. Med.* 2012;209(6):1167-81.

Hovav AH. Dendritic cells of the oral mucosa. *Mucosal Immunol.* 2014;7(1):27-37.

Huang W, Quach TD, Dascalu C, Liu Z, Leung T, Byrne-Steele M, Pan W, Yang Q, Han J, Lesser M, Rothstein TL, Furie R, Mackay M, Aranow C, Davidson A. Belimumab promotes negative selection of activated autoreactive B cells in systemic lupus erythematosus patients. *JCI Insight*. 2018;3(17):e122525.

Janssens AS, Lashley EE, Out-Luiting CJ, Willemze R, Pavel S, de Gruijl FR. UVB-induced leucocyte trafficking in the epidermis of photosensitive lupus erythematosus patients: normal depletion of Langerhans cells. *Exp Dermatol*. 2005;14(2):138-42.

Jarrett P, Werth VP. A review of cutaneous lupus erythematosus: improving outcomes with a multidisciplinary approach. *J Multidiscip Healthc*. 2019;12:419-428.

Jatwani S, Holmes MPH. Subacute cutaneous lupus erythematosus Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021, Aug 9.

Jiménez S, Cervera R, Ingelmo M, Font J. The Epidemiology of Lupus Erythematosus. In: Kuhn A, Lehmann P, Ruzicka T. (eds). Cutaneous Lupus Erythematosus. Berlin: Springer-Verlag; 2005. p.33-44.

João AL, Brasileiro A, Neves JM, Lencastre A, Pinheiro RR. Discoid lupus erythematosus of the lip: a case of refractory cheilitis. *Lupus*. 2020;29(7):804-5.

Jolles S. Paul Langerhans. *J Clin Pathol*. 2002;55(4):243.

Jonsson R, Heyden G, Westberg NG, Nyberg G. Oral mucosal lesions in systemic lupus erythematosus: a clinical, histopathological and immunopathological study. *J Rheumatol*. 1984;11(1): 38-42.

Jorizzo JL, Salisbury PL, Rogers III RS, Goldsmith SM, Shar GG, Callen JP, Wise CM, Semble EL, White WL. Oral lesions in systemic lupus erythematosus: do ulcerative lesions represent a necrotizing vasculitis? *J Am Acad Dermatol*. 1992;27:389-94.

Kaewraemruaen C, Ritprajak P, Hirankarn N. Dendritic cells as key players in systemic lupus erythematosus. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2020;38(4):225-232.

Karagun E, Gamsizkan M, Buyucek S, Coskun S. CD123 immunoexpression in cutaneous lupus erythematosus, polymorphous light eruption, pityriasis rosea, and mycosis fungoides. *Postepy Dermatol Alergol*. 2021;38(6):994-1000.

Karjalainen TK, Tomich CE. A histopathologic study of oral mucosal lupus erythematosus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1989;67(5):547-54.

Karnell JL, Wu Y, Mittereder N, Smith MA, Gunsior M, Yan L, Casey KA, Henault J, Riggs JM, Nicholson SM, Sanjuan MA, Vousden KA, Werth VP, Drappa J, Illei GG, Rees WA, Ratchford JN; VIB7734 Trial Investigators. Depleting plasmacytoid dendritic cells reduces local type I interferon responses and disease activity in patients with cutaneous lupus. *Sci Transl Med*. 2021;13(595):eabf8442.

Kashem SW, Haniffa M, Kaplan DH. Antigen-Presenting Cells in the Skin. *Annu Rev Immunol.* 2017;35:469-99.

Khatibi M, Shakoopour A, Moosavian Jahromi Z, Ahmadzadeh A. The prevalence of oral mucosal lesions and related factors in 188 patients with systemic lúpus erythematosus. *Lupus.* 2012;21(12):1312-5.

King JK, Philips RL, Eriksson AU, Kim PJ, Halder RC, Lee DJ, Singh RR. Langerhans Cells Maintain Local Tissue Tolerance in a Model of Systemic Autoimmune Disease. *J Immunol.* 2015;195(2):464-76.

Kirchhof MG, Dutz JP. The Immunopathology of Cutaneous Lupus Erythematosus. *Rheum Dis Clin N Am.* 2014(40):455-74.

Ko CJ, Srivastava B, Braverman I, Antaya RJ, McNiff JM. Hypertrophic lupus erythematosus: the diagnostic utility of CD123 staining. *J Cutan Pathol.* 2011;38(11):889-92.

Koch K, Tikly M. Spectrum of cutaneous lupus erythematosus in South Africans with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2019;28(8):1021-6.

Kolivras A, Thompson C. Clusters of CD1231 plasmacytoid Dendritic cells help distinguish lupus alopecia from lichen planopilaris. *J Am Acad Dermatol.* 2016;74 (6):1267-9.

Kranti K, Seshan H, Juliet J. Discoid lupus erythematosus involving gingiva. *J Indian Soc Periodontol.* 2012;16(1):126-8.

Krishnamurthy S, Tirumalae R, Inchara YK. Plasmacytoid Dendritic Cell Marker (CD123) Expression in Scarring and Non-scarring Alopecia. *J Cutan Aesthet Surg*. 2022;15(2):179-82.

Kudsi M, Nahas LD, Alsawah R, Hamsho A, Omar A. The prevalence of oral mucosal lesions and related factors in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Res Ther*. 2021;23(1):229.

Kuhn A, Aberer E, Bata-Csörgő Z, Caproni M, Dreher A, Frances C, Gläser R, Klötgen HW, Landmann A, Marinovic B, Nyberg F, Olteanu R, Ranki A, Szepletowski JC, Volc-Platzer B. S2k guideline for treatment of cutaneous lupus erythematosus - guided by the European Dermatology Forum (EDF) in cooperation with the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV). *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31(3):389-404.

Kuhn A, Bijl M. Pathogenesis of cutaneous lupus erythematosus. *Lupus*. 2008;17(5):389-93.

Kuhn A, Landmann A. The classification and diagnosis of cutaneous lupus erythematosus. *J Autoimmun*. 2014;48-49:14-9.

Kuhn A, Sonntag M, Richter-Hintz D, Oslislo C, Megahed M, Ruzicka T, Lehmann P. Phototesting in lupus erythematosus: a 15 year experience. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45(1):86-95.

Kuhn A, Sontheimer R, Ruzicka T. Clinical manifestations of cutaneous lupus erythematosus. In: Kuhn A, Lehmann P, Ruzicka T (eds). *Cutaneous Lupus Erythematosus*. Berlin:Springer-Verlag; 2005. p.59-92.

Kuhn A, Wozniacka A, Szepietowski JC, Gläser R, Lehmann P, Haust M, Sysa-Jedrzejowska A, Reich A, Oke V, Hügél R, Calderon C, de Vries DE, Nyberg F. Photoprovocation in cutaneous lupus erythematosus: a multicenter study evaluating a standardized protocol. *J Invest Dermatol.* 2011;131(8):1622-30.

Kulkarni G, Sakki EP, Kumar YV, Kolimi S, Perika R, Karthik KV, Kumar KM, Kalyan VS. Expression of CD1a by Langerhan's Cells in Oral Lichen Planus - A Retrospective Analysis. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(6):ZC28-31.

La Paglia GMC, Leone MC, Lepri G, Vagelli R, Valentini E, Alunno A, Tani C. One year in review 2017: systemic lupus erythematosus *Clin Exp Rheumatol.* 2017; 35(4): 551-61.

Laihia JK, Jansen CT. Solar-simulating irradiation of the skin of human subjects in vivo produces Langerhans cell responses distinct from irradiation ex vivo and in vitro. *Exp Dermatol.* 2000;9(4):240-7.

Landolt-Marticorena C, Wither R, Reich H, Herzenberg A, Scholey J, Gladman DD, Urowitz MB, Fortin PR, Wither J. Increased expression of B cell activation factor supports the abnormal expansion of transitional B cells in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2011;38(4):642-51.

Langerhans P. Über die nerven der menschlichen haut. *Archives of Pathological Anatomy.* 1868;44:325-37.

Lapa e Silva JR, Boechat N. The resurgence of tuberculosis and the impact of the study of pulmonary immunopathogenesis. *J Bras Pneumol.* 2004;30(4) 478-84.

Larsson A, Warfvinge G. Immunohistochemistry of 'tertiary lymphoid follicles' in oral amalgam-associated lichenoid lesions. *Oral Diseases*.1998;4:187-193.

LeBlanc RE, Tavallaee M, Kim YH, Kim J. Useful parameters for distinguishing subcutaneous panniculitis-like T-Cell lymphoma from lupus erythematosus panniculitis. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(6):745-54.

Lee LA, Roberts CM, Frank MB, McCubbin VR, Reichlin M. The autoantibody response to Ro/SSA in Cutaneous Lupus Erythematosus. *Arch Dermatol*. 1994;130(10):1262-8.

Lee LA. Transient autoimmunity related to maternal autoantibodies: neonatal lupus. *Autoimmunity Reviews*. 2005;4(4):207-13.

Lee SS, Ackerman AB. Lupus dermatitis is an expression of systemic lupus erythematosus. *Dermatopathol Pract Concept*. 1997;3(4):346-7.

Lehmann P, Holzle E, Kind P, Goerz G, Plewig G. Experimental reproduction of skin lesions in lupus erythematosus by UVA and UVB radiation. *J Am Acad Dermatol*. 1990;22(2):181-87.

Lehmann P, Homey B. Clinic and pathophysiology of photosensitivity in lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2009;8(6):456-61.

Li Q, Wu H, Liao W, Zhao M, Chan V, Li L, Zheng M, Chen G, Zhang J, Lau CS, Lu Q. A comprehensive review of immune-mediated dermatopathology in systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun*. 2018;93:1-15.

Li Q, Wu H, Zhou S, Zhao M, Lu Q. An Update on the Pathogenesis of Skin Damage in Lupus. *Curr Rheumatol Rep*. 2020;22(5):16.

Liau JY, Chuang SS, Chu CY, Ku WH, Tsai JH, Shih TF. The presence of clusters of plasmacytoid dendritic cells is a helpful feature for differentiating lupus panniculitis from subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. *Histopathology*. 2013;62(7):1057-66.

Lin JH, Dutz JP, Sontheimer RD, Werth VP. Pathophysiology of cutaneous lupus erythematosus. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007;33(1-2):85-106.

Liu M, Guo Q, Wu C, Sterlin D, Goswami S, Zhang Y, Li T, Bao C, Shen N, Fu Q, Zhang X. Type I interferons promote the survival and proinflammatory properties of transitional B cells in systemic lupus erythematosus patients. *Cell Mol Immunol*. 2019;16(4):367-79.

López-Labady J, Villarroel-Dorrego M, González N, Pérez R, Mata de Henning M. Characterization of oral lesions in patients with LE. *J Oral Pathol Med*. 2007;36(1):5247.

Lourenço SV, Carvalho FRG, Boggio P, Sotto MN, Vilela MAC, Rivitti EA, Nico MMS. Lupus erythematosus: clinical and histopathological study of oral manifestations and immunohistochemical profile of the inflammatory infiltrate. *J Cutan Pathol*. 2007;34(7):558-64.

Lourenço SV, Sotto MN, Vilela MAC, Carvalho FRG, Rivitti EA, Nico MMS. Lupus erythematosus: clinical and histopathological study of oral manifestations and immunohistochemical profile of epithelial maturation. *J Cutan Pathol*. 2006;33(10):657-62.



Macve JC, McKenzie RC, Norval M. Exposure to multiple doses of UVB radiation reduces the numbers of epidermal Langerhans cells and lymph node dendritic cells in mice. *Photochem Photobiol Sci.* 2004;3(1):91-5.

Makita E, Akasaka E, Sakuraba Y, Korekawa A, Aizu T, Kaneko T, Nakano H, Sawamura D. Squamous cell carcinoma on the lip arising from discoid lupus erythematosus: a case report and review of Japanese patients. *Eur J Dermatol.* 2016;26(4):395-6.

Manfredini M, Pedroni G, Bigi L, Apponi R, Murri Dello Diago A, Dattola A, Farnetani F, Pellacani G. Acquired White Oral Lesions with Specific Patterns: Oral Lichen Planus and Lupus Erythematosus. *Dermatol Pract Concept.* 2021;11(3):e2021074.

Manikkath S, Venkatta RB, Nair SP, Kumar GN. Verrucous Disseminated Discoid Lupus Erythematosus with Plantar and Oral Lesions in the Absence of Systemic Lupus Erythematosus. *Indian Dermatol Online J.* 2018;9(2):129-31.

Manzano BR, da Silva Santos PS, Bariquelo MH, Merlini NRG, Honório HM, Rubira CMF. A case-control study of oral diseases and quality of life in individuals with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin Oral Investig.* 2021;25(4):2081-92.

Marques ER, Lourenço SV, Lima DM, Nico MM. Oral lesions in lupus erythematosus-cytokines profiles of inflammatory infiltrate. *J Cutan Pathol.* 2010;37(4):439-45.

Marques ERMC, Silva R, Hsieh R. Oral mucosal manifestation of lupus erythematosus: a short review. *Dental Oral Biol Craniofac Res.* 2020;3(2):2-4.

Martin S, Rosen T, Locker E. Metastatic squamous cell carcinoma of the lip. Occurrence in blacks with discoid lupus erythematosus. *Arch Dermatol.* 1979;115(10):1214.

Mays JW, Sarmadi M, Moutsopoulos NM. Oral manifestations of systemic autoimmune and inflammatory diseases: diagnosis and clinical management. *Evid Base Dent Pract.* 2012;S1:265-82.

Maz MP, Kahlenberg JM. Cutaneous and systemic connections in lupus. *Curr Opin Rheumatol.* 2020;32(6),583-9.

McCarthy FP, McCarthy PL. Shklar: Chronic desquamative gingivitis: A reconsideration. *Oral Surg.* 1960;13:1300-13.

McDaniel B, Sukumaran S, Koritala T, Tanner LS. Discoid lupus erythematosus. Treasure Island (FL) StatPearls Publishing; 2021.

McLoone P, Woods GM, Norval M. Decrease in langerhans cells and increase in lymph node dendritic cells following chronic exposure of mice to suberythemal doses of solar simulated radiation. *Photochem Photobiol.* 2005;81(5):1168-73.

McNiff JM, Kaplan DH. Plasmacytoid dendritic cells are present in cutaneous dermatomyositis lesions in a pattern distinct from lupus erythematosus. *J Cutan Pathol.* 2008;35(2):452-6.

Menzies S, O'Shea F, Galvin S, Wynne B. Oral manifestations of lupus. *Ir J Med Sci.* 2018;187(1):91-93.

Merad M, Ginhoux F. Dendritic cell genealogy: a new stem or just another branch. *Immunology.* 2007;8(11):199-201.

Merad M, Manz MG, Karsunky H, Wagers A, Peters W, Charo I, Weissman IL, Cyster JG, Engleman EG. Langerhans cells renew in the skin throughout life under steady-state conditions. *Nat Immunol.* 2002;3(12):1135-41.

Meunier L. Ultraviolet light and dendritic cells. *Eur J Dermatol.* 1999;9(4):269-75.

Minarrieta L, Ghorbani P, Sparwasser T, Berod L. Metabolites: deciphering the molecular language between DCs and their environment. *Seminar Immunopathol.* 2017;39(2):177-96.

Mori M, Pimpinelli N, Romagnoli P, Bernacchi E, Fabbri P, Giannotti B. Dendritic cells in cutaneous lupus erythematosus: a clue to the pathogenesis of lesions. *Histopathology.* 1994;24(4):311-21.

Moura AKA, Guedes F, Rivitti-Machado MC, Sotto MN. Inate immunity in rosacea. Langerhans cells, plasmacytoid dendritic cells, Toll-like receptors and inducible oxide nitric synthase (iNOS) expression in skin specimens: case-control study. *Arch Dermatol Res.* 2018;310(2):139-46.

Moura Filho JP, Peixoto RL, Martins LG, Melo SD, Carvalho LL, Pereira AKF, Freire EAM. Lupus erythematosus: considerations about clinical, cutaneous and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol.* 2014;89(1):118-25.

Müller S. Oral lichenoid lesions: distinguishing the benign from the deadly. *Mod Pathol.* 2017;30(s1):S54-S67.

Muylaert BPB, Braga BB, Esteves EB, Garbelini LEB, Michalany AO, Oliveira Filho J. Lupus Tumido: a report of two cases. *An Bras Dermatol.* 2016;91(5 supl 1):S87-9.

Nagao K, Kobayashi T, Moro K, Ohyama M, Adachi T, Kitashima DY, Ueha S, Horiuchi K, Tanizaki H, Kabashima K, Kubo A, Cho Y, Clausen BE, Matsushima K, Suematsu M, Furtado GC, Lira SA, FarberJM, Udey MC, Amagai M. Stress-induced production of chemokines by hair follicles regulates the trafficking of dendritic cells in skin. *Nat Immunol.*2012;13(8):744-52.

Nasiri S, Bidari Zerehpooch F, Abdollahimajd F, Younespour S, Esmaili Azad M. A comparative immunohistochemical study of epidermal and dermal/perifollicular Langerhans cell concentration in discoid lupus erythematosus and lichen planopilaris: a cross-sectional study. *Lupus.* 2018;27(14):2000-5.

Navas-Alfaro SL; Fonseca EC; Guzmán-Silva MA; Rochael MC. Análise histopatológica comparativa entre líquen plano oral e cutâneo. *J Bras Patol Med Lab.*2003;39(4):351-60.

Neubert E, Bach KM, Busse J, Bogeski I, Schön MP, Kruss S, Erpenbeck L. Blue and long-wave ultraviolet light induce in vitro neutrophil extracellular trap (NET) formation. *Front Immunol.* 2019;10:2428.

Nico MM, Lourenço SV. Hypertrophic (verrucous) cutaneous lupus erythematosus of the lip and oral cavity: a series of 4 cases. *Acta Derm Venereol.* 2012a; 93(1):108-9.

Nico MM, Lourenço SV. Multiple blisters along the lip vermilion are a clue to bullous lupus erythematosus. *Acta Derm Venereol.* 2012b;92(4):404-5.

Nico MM, Romiti R, Lourenço SV. Oral lesions in four cases of subacute cutaneous lupus erythematosus. *Acta Derm Venereol.* 2011;91(4):436-9.

Nico MM, Vilela MA, Rivitti EA, Lourenço SV. Oral lesions in lupus erythematosus: correlation with cutaneous lesions. *Eur J Dermatol.* 2008;18(4):376-81.

Nico MMS, Bologna SB, Lourenco SV. The lip in lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol.* 2014;39(5):563-9.

Novak GV, Molinari BC, Ferreira JC, Sakamoto AP, Terreri MT, Pereira RMR, Saad-Magalhães C, Aikawa NE, Campos LM, Len CA, Appenzeller S, Ferriani VP, Silva MF, Oliveira SK, Islabão AG, Sztajnbok FR, Paim LB, Barbosa CM, Santos MC, Bica BE, Sena EG, Moraes AJ, Rolim AM, Spelling PF, Scheibel IM, Cavalcanti AS, Matos EN, Robazzi TC, Guimarães LJ, Santos FP, Silva CT, Bonfá E, Silva CA; Brazilian Childhood-onset Systemic Lupus Erythematosus Group. Characteristics of 1555 childhood-onset lupus in three groups based on distinct time intervals to disease diagnosis: a Brazilian multicenter study. *Lupus.* 2018;27(10):1712-7.

Novak N, Gros E, Bieber T., Allam J.P. Human skin and oral mucosal dendritic cells as good guys and bad guys in allergic immune responses. *Clin Exp Immunol.* 2010;161(1):28-33.

Obermoser G, Sontheimer RD, Zelger B. Overview of common, rare and 'atypical' manifestations of cutaneous lupus erythematosus and histopathological correlates. *Lupus.* 2010;19(9):1050-70.

Orteu CH, Buchanan JA, Hutchison I, Leigh IM, Bull RH. Systemic lupus erythematosus presenting with oral mucosal lesions: easily missed? *Br J Dermatol.* 2001;144(6):1219-23.

Oukka M. Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(3):iii26-iii29.

Palamara F, Meindl S, Holcman M, Lühns P, Stingl G, Sibilio M. Identification and characterization of pDC-like cells in normal mouse skin and melanomas treated with imiquimod. *J Immunol.* 2004;173(5):3051-61.

Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR et al. Derivation and Validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677-86.

Plemons JM, Gonzales TS, Burkhart NW. Vesiculobullous diseases of the oral cavity. *Periodontology.* 2000. 1999;21:158-75.

Polak EP, Thirdborough SM, Ung CY, Elliott T, Healy E, Freeman TC, Ardern-Jones MR. Distinct Molecular Signature of Human Skin Langerhans Cells Denotes Critical Differences in Cutaneous Dendritic Cell Immune Regulation. *J Invest Dermatol.* 2014;134(3):695-703.

Raaby L, Rosada C, Langkilde A, Lauridsen KL, Vinter H, Ommen P, Kjellerup RB, Johansen C, Iversen L. Langerhans cell markers CD1a and CD207 are the most rapidly responding genes in lesional psoriatic skin following adalimumab treatment. *Exp Dermatol.* 2017;26(9):804-10.

Rakhshan A, Toossi P, Amani M, Dadkhahfar S, Ham AB. Different distribution patterns of plasmacytoid dendritic cells in discoid lupus erythematosus and lichen planopilaris demonstrated by CD123 immunostaining. *An Bras Dermatol.* 2020;95(3):307-13.

Ranginwala AM, Chalishazar MM, Panja P, Buddhdev KP, Kale HM. Oral discoid lupus erythematosus: a study of twenty-one cases. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2012;16(3):368-73.

Rees F, Doherty M, Grainge MJ, Lanyon P, Zhang W. The worldwide incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: a systematic review of epidemiological studies. *Rheumatology (Oxford).* 2017;56(11):1945-1961.

Reich A; Mędrek K. Effects of narrow band UVB (311 nm) irradiation on epidermal cells. *Int J Mol Sci.* 2013;14(4):8456-66.

Roda A, Travassos AR, Almeida LS, Kutzner H. Lupus erythematosus mimicking mycosis fungoides: CD123+ plasmacytoid dendritic cells as a useful diagnostic clue. *J Cutan Pathol*. 2019;46(2):167-70.

Rodsaward P, Prueksrisakul T, Deekajorndech T, Edwards SW, Beresford MW, Chiewchengchol D. Oral Ulcers in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: a review of the literature. *Am J Clin Dermatol*. 2017;18(6):755-62.

Romani N, Clausen BE, Stoitzner P. Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin. *Immunos Rev*. 2010;234(1):120-41.

Romiti R, Anzai A, Nico MM. Genital discoid lupus: a rare manifestation of cutaneous lupus erythematosus. *Lupus*. 2014;23(7):707-10.

Rosenbaum M, Werth VP. Pathogenesis of Cutaneous Lupus Erythematosus: The Role of Ultraviolet Light. In: kuhn A, Lehmann P, Ruzicka T, eds. *Cutaneous lupus erythematosus*. Berlin: Springer-Verlag; 2005. p.251-266.

Rossi MT, Arisi M, Lonardi S, Lorenzi L, Ungari M, Serana F, Fusano M, Moggio E, Calzavara-Pinton PG, Venturini M. Cutaneous infiltration of plasmacytoid dendritic cells and T regulatory cells in skin lesions of polymorphic light eruption. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(6):985-991.



Rotsztein H, Chomiczewska D, Trznadel-Grodzka E, Jesionek-Kupnicka D. Density of Langerhans cells in chronic plaque psoriatic lesions before and after phototherapy. *Cent Eur J Immunol.* 2012;37(3):258-63.

Rowland SL, Riggs JM, Gilfillan S, Bugatti, Vermi W, Kolbeck R, Unanue ER, Sanjuan MA, Colonna M. Early, transient depletion of plasmacytoid dendritic cells ameliorates autoimmunity in a lupus model. *J Exp Med.* 2014;211(10):1977-91.

Saadeh D; Kurban M; Abbas O. Update on the role of plasmacytoid dendritic cells in inflammatory/autoimmune skin diseases. *Exp Dermatol.* 2016;25(6):415-21.

Sakata K, Nakayamada S, Miyazaki Y, Kubo S, Ishii A, Nakano K, Tanaka Y. Up-regulation of TLR7-mediated ifn- $\alpha$  production by plasmacytoid dendritic cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Front Immunol.* 2018;9:1957.

Salle R, Chasset F, Kottler D, Pichard-Dahan C, Jannic A, Mekki N, Risi-Pugliese Td, Monfort JB, Barbaud A, Francès C, Descamps V. Belimumab for refractory manifestations of cutaneous lupus: a multicenter, retrospective observational study of 16 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2020;83(6):1816-9.

Samy E, Wax S, Huard B, Hess H, Schneider P. Targeting BAFF and APRIL in systemic lupus erythematosus and other antibody-associated diseases. *Int Rev Immunol.* 2017;36(1):3-19.

Santoro A, Majorana A, Roversi L, Gentili F, Marrelli S, Vermi W, Bardellini E, Sapelli P, Facchetti F. Recruitment of dendritic cells in oral lichen planus. *J Pathol.* 2005;205(4):426-34.

Sarkar MK, Hile GA, Tsoi LC, Xing X, Liu J, Liang Y, Berthier CC, Swindell WR, Patrick MT, Shao S, Tsou PS, Uppala R, Beamer MA, Srivastava A, Bielas SL, Harms PW, Getsios S, Elder JT, Voorhees JJ, Gudjonsson JE, Kahlenberg JM. Photosensitivity and type I IFN responses in cutaneous lupus are driven by epidermal-derived interferon kappa. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(11):1653-64.

Schiødt M, Halberg P, Hentzer B. Aclinical study of 32 patients with Oral Discoid Lupus Erythematosus. *Int J Oral Surg.*1978;7(2):85-94.

Schiødt M, Holmstrup P, Dabelsteene E, Ullman S. Deposits of immunoglobulins complement and fibrinogen in oral lupus erythematosus, lichen planus and leukoplakia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1981;51:603-8.

Schiødt M. Oral discoid lupus erythematosus. III. A histopathologic study of sixty-six patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1984;57(3):281-93.

Schraml BU, Reis e Sousa C. Defining dendritic cells. *Curr Opin Immunol.* 2015;32:13-20.

Seité S, Zucchi H, Moyal D, Tison S, Compan D, Christiaens F, Gueniche A, Fourtanier A. Alterations in human epidermal Langerhans cells by ultraviolet radiation: quantitative and morphological study. *Br J Dermatol.* 2003;148(2):291-9.

Seitz HM, Matsushima GK. Dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *Int Ver Immunol.* 2010;29(2):184-209.

Séré K, Baek JH, Ober-Blöbaum J, Müller-Newen G, Tacke F, Yokota Y, Zenke M, Hieronymus T. Two distinct types of Langerhans cells populate the skin during steady state and inflammation. *Immunity.* 2012;37(5):905-16.

Shipman WD, Chyou S, Ramanathan A, Izmirly PM, Sharma S, Pannellini T, Dasoveanu DC, Qing X, Magro CM, Granstein RD, Lowes MA, Pamer EG, Kaplan DH, Salmon JE, Mehrara BJ, Young JW, Clancy RM, Blobel CP, T. Lu TT. A protective Langerhans cell-keratinocyte axis that is dysfunctional in photosensitivity. *Sci Transl Med.*2018;10(454):eaap9527.

Shortman K, Naik SH. Steady-state and inflammatory dendritic-cell development. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7(1):19-30.

Silberberg I. Apposition of mononuclear cells to Langerhans cells in contact allergic reactions. *Acta Derm Venereol.*1973;53(1):1-12.

Silva L C, Fonseca FP, Almeida OP, Mariz BA, Lopes MA, Radhakrishnan R, Sharma M, Kowalski LP, Vargas PA. CD1a+ and CD207+ cells are reduced in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020;25(1):e49-e55.

Silva-Sanchez A, Randall TD, Meza-Perez S. Tertiary Lymphoid Structures Among the World of Noncanonical Ectopic Lymphoid Organizations. *Methods Mol Biol.* 2018;1845:1-15.

Sirobhushanam S, Parsa N, Reed TJ, Berthier CC, Sarkar MK, Hile GA, Tsoi LC, Banfield J, Dobry C, Horswill AR, Gudjonsson JE, Kahlenberg JM. Staphylococcus aureus Colonization Is Increased on Lupus Skin Lesions and Is Promoted by IFN-Mediated Barrier Disruption. *J Invest Dermatol.* 2020;140(5):1066-1074.e4.

Sirvent S, Vallejo AF, Davies J, Clayton K, Wu Z, Woo J, Riddell J, Chaudhri VK, Stumpf P, Nazlamova LA, Wheway G, Rose-Zerilli M, West J, Pujato M, Chen X, Woelk CH, MacArthur B, Ardern-Jones M, Friedmann PS, Weirauch MT, Singh H, Polak, ME. Genomic programming of IRF4-expressing human Langerhans cells. *Nat Commun.* 2020,11(1):313.

Sitthinamsuwan P, Pattanaprichakul P, Treetipsatit J, Pongpruttipan T, Sukpanichnant S, Pincus LB, MD, McCalmont TH. Subcutaneous Panniculitis-Like T-Cell Lymphoma Versus Lupus Erythematosus Panniculitis: Distinction by Means of the Periadipocytic Cell Proliferation Index. *Am J Dermatopathol.* 2018;40(8):567-74.

Sleiman R, Kurban M, Abbas O. Evaluation of the diagnostic value of plasmacytoid dendritic cells in differentiating the lymphocytic cicatricial alopecias. *Dermatology.* 2015;231(2):158-63.

Solhaug MB, Schreurs O, Schenck K, Blix IJ, Baekkevold ES. Origin of langerin (CD207)-expressing antigen presenting cells in the normal oral mucosa and in oral lichen planus lesions. *Eur J Oral Sci.* 2022;130(1):e12835.

Sontheimer RD, Bergstresser PR. Epidermal Langerhans Cell involvement in cutaneous Lupus Erythematosus. *J Invest Dermatol.* 1982;79(4):237-43.

Sontheimer RD, Provost TT. Lupus erythematosus. In: Wallace DJ, Hahn BH. *Dubois lupus erythematosus*. 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. p. 569-623.

Sontheimer RD, Thomas JR, Gilliam JN. Subacute cutaneous lupus erythematosus: a cutaneous marker for a distinct lupus erythematosus subset. *Arch Dermatol.* 1979;115(12):1409-15.

Sontheimer RD. Skin manifestations of systemic autoimmune connective tissue disease: diagnostics and therapeutics. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2004;18(3):429-62.

Souto GR, Nunes LF, Tanure BB, Gomez RS, Mesquita RA. CD1a+ dendritic cells in oral lichen planus and amalgam lichenoid reaction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2016;121(6):651-6.

Specker C, Schneider M. Relationship between cutaneous and systemic lupus erythematosus In: Kuhn A, Lehmann P, Ruzicka T. (eds). *Cutaneous lupus erythematosus*. Berlin: Springer-Verlag; 2005. p.177-186.

Stebut E. Research in practice: Different dendritic cell types in skin with various functions - Important implications for intradermal vaccines. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9(7):506-9.

Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med.* 1973;137(5):1142-62.

Sun S; Zhong B; Li W; Jin X; Yao Y; Wang J; Liu J; Dan H; Chen Q; Zeng X. Immunological methods for the diagnosis of oral mucosal diseases. *Br J Dermatol.* 2019;181(1):23-36.

Swiecki M, Colonna M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(8):471-85.

Teichmann LL, Ols ML, Kashgarian M, Reizis B, Kaplan DH, Shlomchik MJ. Dendritic cells in lupus are not required for activation of T and B cells but promote their expansion, resulting in tissue damage. *Immunity.* 2010;33(6):967-78.

Tokuyama M, Mabuchi T. New Treatment Addressing the Pathogenesis of Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):7488.

Tomasini D, Mentzel T, Hantschke M, Cerri A, Paredes B, Rütten A, Schärer L, Kutzner H. Plasmacytoid dendritic cells: an overview of their presence and distribution in different inflammatory skin diseases, with special emphasis on Jessner's lymphocytic infiltrate of the skin and cutaneous lupus erythematosus. *J Cutan Pathol.* 2010 Nov;37(11):1132-9.

Ullrich SE, Byrne SN. The Immunologic Revolution: photoimmunology. *J Invest Dermatol.* 2012;132(3 Pt 2):896-905.

Ullrich SE. Mechanisms underlying UV-induced immune suppression. *Mutat Res.* 2005;571:185-205.

Urman JD, Lowenstein MB, Abeles M, Weinstein A. Oral mucosal ulceration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheuma.* 1978;21(1):58-61.

Valladeau J, Saeland S. Cutaneous dendritic cells. *Semin Immunol.* 2005(17):273-83.

Van Joost T, Stolz E, Van der Sluis JJ, Vuzevski VD, Van der Kwast TH. Oral lupus erythematosus: markers of immunologic injury. *J Cutan Pathol.* 1985;12(6):500-5.

Veasey JV, Campaner AB, Lellis RF. Aspectos das células de Langerhans e TNF- $\alpha$  na imunidade cutânea das verrugas anogenitais. *An Bras Dermatol.* 2020;95(2):144-9.

Vermi W, Lonardi S, Morassi M, Rossini C, Tardanico R, Venturini M, Sala R, Tincani A, Poliani PL, Calzavara-Pinton PG, Cerroni L, Santoro A, Facchetti F. Cutaneous distribution of plasmacytoid dendritic cells in lupus erythematosus. Selective tropism at the site of epithelial apoptotic damage. *Immunobiology.* 2009;214(9-10):877-86.

Vieira ML, Marques ERMC, Leda YLA, Noriega LF, Bet DL, Pereira GAAM. Chronic cutaneous lupus erythematosus presenting as atypical acneiform and comedonal plaque: case report and literature review. *Lupus.* 2018;27(5):853-7.

Villanueva E, Yalavarthi S, Berthier CC, Hodgins JB, Khandpur R, Lin AM, Rubin CJ, Zhao W, Olsen SH, Klinker M, Shealy D, Denny MF, Plumas J, Chaperot L, Kretzler M, Bruce AT, Kaplan MJ. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2011;187(1):538-52.

Vincent JG, Chan MP. Specificity of dermal mucin in the diagnosis of lupus erythematosus: comparison with other dermatitides and normal skin. *J Cutan Pathol.* 2015;42(10):722-9.

Vyas NS, Charifa A, Desman GT, McNiff JM. Distinguishing pustular psoriasis and acute generalized exanthematous pustulosis on the basis of plasmacytoid dendritic cells and MxA protein. *J Cutan Pathol.* 2019;46(5):317-26.

Waisman A, Lukas D, Clausen BE, Yogev N. Dendritic cells as gatekeepers of tolerance. *Semin Immunopathol.* 2017; 39(2):153-63.

Walsh NM, Lai J, Hanly JG, Green PJ, Bosisio F, Garcias-Ladaria J, Cerroni L. Plasmacytoid dendritic cells in hypertrophic discoid lupus erythematosus: an objective evaluation of their diagnostic value. *J Cutan Pathol.* 2015;42:32-38.

Wang ML, Chan MP. Comparative Analysis of Chilblain Lupus Erythematosus and Idiopathic Perniosis: Histopathologic Features and Immunohistochemistry for CD123 and CD30. *Am J Dermatopathol.* 2017;0:1-7.



Wenzel J, Landmann A, Vorwerk G, Kuhn A. High expression of B lymphocyte stimulator in lesional keratinocytes of patients with cutaneous lupus erythematosus. *Exp Dermatol*. 2018; 27:95-97.

Wenzel J, Zahn S, Mikus S, Wiechert A, Bieber T, Tüting T. The expression pattern of interferon-inducible proteins reflects the characteristic histological distribution of infiltrating immune cells in different cutaneous lupus erythematosus subsets. *Br J Dermatol*. 2007;157(4):752-7.

Werth VP, Zhang W, Dortzbach K, Sullivan K. Association of a Promoter Polymorphism of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  with Subacute Cutaneous Lupus Erythematosus and Distinct Photoregulation of Transcription. *J Invest Dermatol*. 2000;115(4):726-30.

Wolf SJ, Estadt SN, Gudjonsson JE, Kahlenberg JM. Human and murine evidence for mechanisms driving autoimmune photosensitivity. *Front Immunol*. 2018;9:2430

Worbs T, Hammerschmidt SI, Förster R. Dendritic cell migration in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2017;17(1):30-48.

Xie Y, Jinnin M, Zhang X, Wakasugi S, Makino T, Inoue Y, Fukushima S, Masuguchi S, Sakai K, Ihn H. Immunohistochemical characterization of the cellular infiltrate in discoid lupus erythematosus. *BioScience Trends*. 2011;5(2):83-8.

Yin Q, Xu X, Lin Y, Lv J, Zhao L, He R. Ultraviolet B irradiation induces skin accumulation of plasmacytoid dendritic cells: a possible role for chemerin. *Autoimmunity*. 2014;47(3):185-92.

Zhou X, Yan J, Lu Q, Zhou H, Fan L. The pathogenesis of cutaneous lupus erythematosus: The aberrant distribution and function of different cell types in skin lesions. *Scand J Immunol*. 2021;93(1):e12933.