CAMILA FÁTIMA BIANCARDI GAVIOLI

**Perfil clínico-patológico e estudo de antígenos leucocitários humanos (HLA)
nos doentes com síndrome de Melkersson-Rosenthal**

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

São Paulo

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Gavioli, Camila Fatima Biancardi

Perfil clínico-patológico e estudo de antígenos leucocitários humanos (HLA) nos doentes com síndrome de Melkersson-Rosenthal / Camila Fatima Biancardi Gavioli. -- São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Dermatologia.

Orientador: Marcello Menta Simonsen Nico.

Descritores: 1.Síndrome de Melkersson-Rosenthal
2.Granulomatose orofacial 3.Perfil de saúde
4.Antígenos HLA 5.Genes MHC Classe I 6.Genes MHC
Classe II 7.Cadeias HLA- DRB1 8.Reação em cadeia da
Polimerase 9.Doença de Crohn

USP/FM/DBD-370/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, **Ivam** e **Janeta** e à minha amada irmã, **Ivana Carolina**, pelo amor incondicional, zelo e carinho, por sempre aplaudirem de pé as minhas conquistas e me darem colo nas derrotas e, principalmente, por suportarem a distância física que habita a nossa vivência. Vocês são o meu porto seguro e os meus maiores incentivadores da vida acadêmica.

Ao meu marido e companheiro da jornada da vida, **Filipe**, pelo amor que me dedica diariamente, por me ajudar com as dificuldades que aparecem no caminho, por entender os momentos que eu precisei estar ausente, pela grande ajuda nessa tese, por ser o meu alicerce e por tornar o meu dia a dia muito mais leve.

Essa obra também é resultado do esforço de vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me concedeu a graça da vida, por iluminar os meus caminhos, me dar a honra de ser médica e a oportunidade de realizar a pós-graduação.

Ao Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por ser minha segunda casa, por me dar a oportunidade de realizar a minha pesquisa, com todas as ferramentas que necessitei.

Ao Fundo de Apoio à Dermatologia de São Paulo - Sebastião Sampaio (FUNADERSP) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro e apoio na realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcello Menta Simonsen Nico, orientador dessa tese e responsável pela minha formação em Dermatologia desde a residência até o doutorado, por me aceitar como sua aluna e por me abrir as portas da vida acadêmica. Agradeço pelos inúmeros ensinamentos não só na vida profissional, mas também na vida pessoal, e por todos os anos de amizade, que tenho certeza que não acabaram aqui. Pelo seu comprometimento e disponibilidade em me ajudar, sempre que solicitei. Você traduz o verdadeiro significado das palavras orientador e professor. Tenho uma imensa gratidão por toda a ajuda que me deu e uma grande admiração pelo médico e professor que você é.

À Profa. Dra. Silvia Vanessa Lourenço, pela enorme ajuda no desenvolvimento dessa tese, por tantas vezes disponibilizar seu tempo para corrigir com tanto carinho a minha pesquisa, por me ensinar histopatologia com tanta dedicação, pela grande amiga que se tornou, que fez com que esses anos de pós-graduação fossem muito mais prazerosos e divertidos, por todos os conselhos e ensinamentos, por ser o maior exemplo de pesquisadora que eu desejo seguir.

Ao Hércio Rodrigues, que me acolheu com muito carinho, por me abrir as portas do Laboratório de Imunologia do Incor, pela disponibilidade para me ajudar, ler e corrigir meu trabalho, por todos os ensinamentos de imunologia e genética. Sem você essa tese jamais teria ocorrido.

À Cláudia Borba Rosales, por todo o auxílio que se dispôs a dar, por me ajudar na execução da tipificação do HLA, por todos os ensinamentos de imunologia.

Ao Prof. Dr. Nicolas Panajatopoulos, pela oportunidade de realizar essa pesquisa, pela ajuda no entendimento da imunologia, pela disponibilidade para ler e corrigir o meu trabalho e por todos os ensinamentos.

Ao Marcelo Alves e Ruth Eugênio Meneses, por sempre me ajudarem prontamente e me orientarem de forma eficiente na trajetória da pós-graduação.

À Giovanna Florezi, uma grande amiga que o doutorado me trouxe. Agradeço imensamente por toda a ajuda na execução desse trabalho e por sempre estar disposta a me ouvir e aconselhar. Você será uma grande pesquisadora e professora.

À Ale Anzai, Carolina Fechine e Andréia Munck, por surgirem na minha vida, se tornarem grandes amigas, participarem de momentos de angústia e de muita alegria, pelas inúmeras conversas no café do hospital, pelos inúmeros conselhos, pela certeza de uma amizade eterna e por serem minhas eternas professoras.

Ao Fábio Andriolo, pela ajuda e paciência na execução dos testes estatísticos, pelo brilhantismo na realização das representações gráficas e da normalização do texto.

Aos Professores da banca examinadora, pela participação nessa etapa de conclusão do doutorado, tão importante na minha trajetória.

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

CAPPesq	Comitê de Ética e Pesquisa
DC	Doença de Crohn
Ed.	Edição
et al.	E outros
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GOF	Granulomatose orofacial
HE	Hematoxilina eosina
HLA	<i>Human Leucocyte Antigen</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
ml	Mililitro
nm	Nanômetro
p.	Página
PCR- SSO	<i>Polymerase Chain Reaction- Sequence Specific Oligonucleotides</i>
QG	Queilite granulomatosa
rpm	Rotações por minuto
SAPE	Estreptavidina conjugada com ficoeritina
SMR	Síndrome de Melkersson-Rosenthal
v.	Volume
%	Por cento
°C	Graus celsius
μL	Microlitro
λ	Comprimento de onda

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Doentes relatados por Rosenthal, em 1931, mostrando edema orofacial e língua plicada	25
Figura 2 -	Relação entre a granulomatose orofacial, SMR, queilite granulomatosa e outras doenças sistêmicas. Tradução do autor.....	26
Figura 3 -	Mapa do cromossomo 6 humano. Tradução do autor	35
Figura 4 -	Reconhecimento do complexo peptídeo-MHC pela célula T. Adaptado do autor.....	36
Figura 5 -	Estrutura da molécula de HLA de classe I. Adaptado do autor.....	37
Figura 6 -	Estrutura da molécula de HLA de classe II. Adaptado do autor	37
Figura 7 -	Nomenclatura dos genes do complexo HLA. Tradução do autor.....	38
Figura 8 -	Delineamento do estudo	42
Figura 9 -	Exemplo do kit LABTypes® SSO para realização do PCR-SSO do HLA-A.....	44
Figura 10 -	Doentes apresentando acometimento predominante do lábio superior...	49
Figura 11 -	Doentes apresentando acometimento predominante do lábio inferior	49
Figura 12 -	Doente apresentando acometimento do lábio superior, inferior e regiões malares	49
Figura 13 -	Doentes apresentando edema, eritema e hiperplasia gengival	50
Figura 14 -	Doentes apresentando edema, eritema e focos de hemorragia no palato	50
Figura 15 -	Doentes apresentando acometimento da língua. A e B: língua geográfica; C e D: língua plicada	51
Figura 16 -	Doente apresentando paralisia facial periférica	51
Figura 17 -	Doente apresentando paralisia facial periférica	52
Figura 18 -	Doentes infantis com 12 anos, 12 anos e 10 anos, respectivamente.....	53
Figura 19 -	Exemplos dos aspectos epiteliais gerais encontrados nas biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal: A e B: Paraqueratose, acantose, espongiose intensa e exocitose de linfócitos (HE, aumento original x100 e x200)	54
Figura 20 -	Exemplos dos aspectos epiteliais gerais encontrados nas biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal: C e D: Paraqueratose, acantose, espongiose leve e exocitose de linfócitos (HE, aumento original x200 e x200)	55
Figura 21 -	Exemplos dos aspectos gerais encontrados na lâmina própria das biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal: A: Edema, vasodilatação, congestão vascular e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular moderado (HE, aumento original x100); B: Exuberante edema, vasodilatação e congestão vascular (HE, aumento original x400); C: Depósitos de mucina e edema intersticial (HE, aumento original x400)...	55
Figura 22 -	Exemplos dos aspectos do infiltrado inflamatório das biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal: A: Infiltrado inflamatório linfomononuclear moderado e difuso na lâmina própria (HE, aumento original x 100); B, C e D: Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular (HE, aumento original x 200, x 400 e x 400, respectivamente); E: Infiltrado inflamatório perineural (HE, aumento original x 100); F: Infiltrado inflamatório linfohistiocitário em esboço granulomatoso (HE, aumento original x 200).....	56
Figura 23 -	Exemplos dos aspectos do infiltrado inflamatório das biopsias labiais de	

	casos de síndrome de Melkersson Rosenthal. A: Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário de arquitetura nodular, permeado por capilares (HE, aumento original x 200); B: Infiltrado inflamatório linfocitário de arquitetura nodular (esboço granulomatoso), na profundidade do espécime (HE, aumento original x 100); C: Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário de arquitetura nodular, ao redor da musculatura esquelética estriada (HE, aumento original x 200).....	57
Figura 24 -	Exemplos dos aspectos do infiltrado inflamatório das biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal. A1 e A2: Infiltrado inflamatório predominantemente linfocitário de arquitetura nodular, permeado por capilares (HE, aumento original x 200 e x 400, respectivamente); B e C: Infiltrado inflamatório linfocitário de arquitetura nodular com presença de células gigantes multinucleadas granuloma malformado) (HE, aumento original x 200 e x 400, respectivamente); D: esboço granulomatoso que exhibe, em área central, exuberante depósito de mucina (HE, aumento original x 200).....	58
Figura 25 -	Exemplos dos aspectos de infiltrado inflamatório granulomatoso nos espécimes de biopsia labial dos casos de síndrome de Melkersson Rosenthal. A-F: notar a arquitetura nodular do infiltrado inflamatório, formado por linfócitos, plasmócitos, histiócitos e gigantócitos. Não se evidencia a presença de necrose ou microorganismos. Notar em E a distribuição perivascular do infiltrado granulomatoso e em F a presença de granuloma perineural. (HE, aumento original x40, x100, x200, x400, x400, x200).....	59
Figura 26 -	Exemplos dos aspectos fibróticos nos espécimes de biopsia labial dos casos de síndrome de Melkersson Rosenthal. A Mucosa labial exibindo fibrose intersticial (HE, aumento original x100); B e C: Lâmina própria apresentando fibrose, edema intersticial leve, infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular (B) e congestão (C) (HE, aumento original x 200, X200, respectivamente).....	60
Figura 27 -	A: doente apresentando edema e eritema no lábio inferior e mento. B: após tratamento com dapsona 100 mg/dia	67
Figura 28 -	A: Doente apresentando edema e eritema no lábio superior. B: Após tratamento com infiltração de triancinolona 20 mg/ml.....	67
Figura 29 -	A: Doente apresentando edema e eritema no lábio superior e inferior. B: Após tratamento com talidomida 200 mg/dia.....	67
Figura 30 -	A: Doente apresentando edema e eritema no lábio superior e inferior. B: Após tratamento com talidomida 200 mg/dia.....	68
Figura 31 -	A e D: Doente apresentando edema e eritema no lábio superior e inferior. B e E: Após tratamento com talidomida 200 mg/dia por 6 meses. C e F: Após cirurgia de queiloplastia	68
Figura 32 -	Dendograma e análise de cluster	77
Figura 33 -	Esquema demonstrando a evolução e a mudança da histopatologia com o tempo de evolução da síndrome: a primeira imagem, à esquerda, demonstra um infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular, seguido da formação de um granuloma e, em estádios mais tardios, a fibrose	86
Figura 29 -	Dendograma demonstrando a clusterização hierárquica	109
Figura 30 -	Dendograma demonstrando a clusterização hierárquica. A linha horizontal define os clusters atuais	110
Figura 31 -	Heatmap criado pela função heatmap.2.....	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Idade no início dos sintomas e ao diagnóstico	47
Tabela 2 -	Manifestações clínicas das crianças com SMR.....	53
Tabela 3 -	Alterações morfológicas encontradas nos espécimes dos doentes com SMR	63
Tabela 4 -	Correlação entre tempo de doença e achados histopatológicos	65
Tabela 5 -	Correlação entre tempo de doença e achados histopatológicos	66
Tabela 6 -	Resultado do teste do qui-quadrado dos genes HLA A do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle.....	69
Tabela 7 -	Resultado do teste do qui-quadrado dos genes HLA B do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle.....	70
Tabela 8 -	Resultado do teste do qui-quadrado dos genes HLA C do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle.....	72
Tabela 9 -	Resultado do teste do qui-quadrado dos genes DRB1 do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle.....	73
Tabela 10 -	Resultado do teste do qui-quadrado dos genes DQB do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle.....	74
Tabela 11 -	Perfil clínico dos doentes com SMR e doença de Crohn	75
Tabela 12 -	Perfil de HLA dos cinco doentes portadores de doença de Crohn	76
Tabela 13 -	Identificação dos grupos de clusters.....	78

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Idade no início dos sintomas	47
Gráfico 2 -	Idade ao diagnóstico	48
Gráfico 3 -	Características clínicas dos doentes	52
Gráfico 4 -	Localização do infiltrado inflamatório nos exames histopatológicos dos doentes com SMR	61
Gráfico 5 -	Intensidade do infiltrado inflamatório nos exames histopatológicos dos doentes com SMR	61
Gráfico 6 -	Células inflamatórias do infiltrado nos exames histopatológicos dos doentes com SMR	62
Gráfico 7 -	Alterações epiteliais nos exames histopatológicos dos doentes com SMR	62
Gráfico 8 -	Alterações na lâmina própria nos exames histopatológicos dos doentes com SMR.....	63
Gráfico 9 -	Tratamentos realizados pelos doentes com SMR.....	66

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Genes do HLA identificados em associação com a SMR e GOF na população escocesa e alemã	33
Quadro 2 -	Número de alelos reconhecidos pela WHO.	39

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

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. Divisão 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 Documentação; 2011.

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

RESUMO

Gavioli CFB. *Perfil clínico-patológico e estudo de antígenos leucocitários humanos (HLA) nos doentes com síndrome de Melkersson-Rosenthal* [tese]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

A Síndrome de Melkersson-Rosenthal é doença rara, de causa desconhecida, caracterizada pela tríade de edema persistente ou recorrente nos lábios e/ou facial, paralisia facial recorrente e língua plicada (fissurada). A fisiopatologia da síndrome permanece desconhecida, porém especula-se que possam estar envolvidos mecanismos genéticos, alergia alimentar, alergia a materiais dentários, infecções e relação com doença inflamatória intestinal, nenhum adequadamente comprovado. O objetivo desse estudo foi verificar as características clínico-epidemiológicas da síndrome de Melkersson-Rosenthal observadas nos doentes examinados no ambulatório de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, além de investigar possíveis fatores genéticos envolvidos por meio da determinação dos tipos de antígenos leucocitários humanos (HLA) apresentados pelos doentes. O estudo foi conduzido em duas etapas: na primeira etapa, foi realizado um estudo retrospectivo, com análise de prontuários e revisão dos exames histopatológicos realizados. Em seguida, foi executado um estudo caso-controle para comparação da frequência dos alelos da região HLA classe I e II em doentes portadores de síndrome de Melkersson-Rosenthal com um grupo controle saudável. A tipificação do HLA foi realizada com a metodologia de PCR-SSO (reação de polimerização em cadeia utilizando oligonucleotídeos de sequência específica). Foi utilizado o teste de qui-quadrado e realizada a “clusterização” dos resultados com o software R versão 3.4.3, com auxílio da função heatmap.2. Como resultados, foram encontrados 51 doentes com síndrome de Melkersson-Rosenthal, 26 mulheres (51%) e 25 homens (49%). A idade média na apresentação clínica foi de 35,69 anos. Edema orofacial estava presente em todos os casos, sendo o lábio superior a localização mais frequente (40/51, 78,4%). Paralisia facial e língua plicada ocorreram em 14/51 (27,45%) e 26/51 (50,98%) dos casos, respectivamente. A tríade completa de edema orofacial, paralisia facial e língua plicada foi encontrada em 10/51 (19,6%) dos casos. Os aspectos histopatológicos das lesões da cavidade oral biopsiadas variaram desde infiltrado linfocítico perivascular (16/47, 34%), esboços granulomatosos (24/47, 51%), até a presença de granulomas bem formados (7/47, 15%). Os tratamentos mais utilizados foram: infiltração intralesional de triancinolona, talidomida e dapsona. Os testes genéticos mostraram associação significativa com o HLA DRB1 * 11, ($p < 0,0001$, *odds ratio* [OR]: 4,009, 95% [IC]: 2,224-7,277); HLA A * 02 ($p = 0,0269$, OR: 1,79 [1,045-2,973]) e HLA DQB1 * 03 ($p = 0,0177$; OR: 1,829 [1,122-2,978]). Além disso, encontramos alguns HLAs com papel protetor contra a síndrome: HLA A*01 ($p = 0,0046$, OR: 0,097 [0,009-0,538]); HLA DRB1*04 ($p = 0,0274$, OR: 0,228 [0,053-0,844]); HLA DRB1*07 ($p = 0,0091$, OR: 0,183 [0,043-0,670]) e HLA DQB1*02 ($p = 0,0051$, OR: 0,312 [0,143-0,721]). Cinco doentes com síndrome de Melkersson-Rosenthal apresentaram associação com doença de Crohn. Esses doentes apresentaram perfil de HLA semelhante ao grupo total, sendo que em três desses cinco encontrou-se a presença do HLA DQB1 * 05, alelo associado à suscetibilidade à doença de Crohn em doentes caucasianos americanos. Logo, baseado nos estudos genéticos e considerando as duas doenças, sugerimos que se tratam de entidades distintas, mas que podem coexistir. Esse é o primeiro estudo genético da síndrome de Melkersson-Rosenthal realizado na América Latina.

Descritores: Síndrome de Melkersson-Rosenthal; Granulomatose Orofacial; Perfil de saúde; Antígenos HLA; Genes MHC Classe I; Genes MHC Classe II; Cadeias HLA-DRB1; Reação em cadeia da Polimerase; Doença de Crohn.

SUMMARY

Gavioli CFB. *Clinical-pathological profile and study of human leukocyte antigens (HLA) in patients with Melkersson-Rosenthal syndrome* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

Melkersson-Rosenthal syndrome is a rare disease characterized by a triad of persistent or recurrent edema on the lips and/or face, recurrent facial paralysis and plicated (fissured) tongue. Causes proposed include genetic mechanisms, food allergy, allergies to dental materials, infections and a relationship with inflammatory bowel disease, nonetheless, none of them has been adequately proven. The objective of this study was to verify the clinical and epidemiological characteristics of Melkersson-Rosenthal syndrome observed in the patients examined at the oral diseases clinic of the Dermatology Department, Medical School - University of São Paulo, and to investigate possible genetic factors involved by determining the types of human leukocyte antigens (HLA) presented by patients. We conducted the study in two stages: in the first stage, we performed a retrospective study, with analysis of medical records and review of histopathological exams. Then, we proceeded with a case-control study to compare the frequency of class I and II HLA alleles in patients with Melkersson-Rosenthal syndrome with a healthy control group. The HLA typing was performed using the PCR-SSO methodology (polymerase chain reaction using specific sequence oligonucleotides). The chi-square test was used and the results were clustered with software version 3.4.3, using the heatmap.2 function. Fifty-one patients with Melkersson-Rosenthal syndrome were included, 26 women (51%) and 25 men (49%). The mean age at clinical presentation was 35.69 years. Orofacial edema was present in all cases, with the upper lip being the most frequent location (40/51, 78.4%). Facial paralysis and plicated tongue occurred in 14/51 (27.45%) and 26/51 (50.98%) of the cases, respectively. The complete triad of orofacial edema, facial paralysis and plicated tongue was present in 10/51 (19.6%) of the cases. Histopathological aspects of biopsied oral lesions varied from perivascular lymphocytic infiltrates (16/47, 34%), incipient granulomas (24/47, 51%) to the presence of well-formed granulomas (7/47, 15%). Treatments performed included intralesional triamcinolone, thalidomide and dapsone. Genetic tests showed a significant association with HLA DRB1 * 11, ($p < 0.0001$, odds ratio [OR]: 4.009, 95% [CI]: 2.224-7.277); HLA A * 02 ($p = 0.0269$, OR: 1.79 [1.045-2.973]) and HLA DQB1 * 03 ($p = 0.0177$, OR: 1.829 [1.122-2.978]). In addition, we found some HLAs with protective role against the syndrome: HLA A * 01 ($p = 0.0046$, OR: 0.097 [0.009-0.538]); HLA DRB1 * 04 ($p = 0.0274$, OR: 0.228 [0.053-0.844]); HLA DRB1 * 07 ($p = 0.0091$, OR: 0.183 [0.043-0.670]) and HLA DQB1 * 02 ($p = 0.0051$, OR: 0.312 [0.143-0.721]). Five patients with Melkersson-Rosenthal syndrome presented with associated Crohn's disease. These patients presented an HLA profile similar to the total group, and in three of these five was found the presence of HLA DQB1 * 05, an allele associated with susceptibility to Crohn's disease in American Caucasian patients. Therefore, based on the genetic studies, we suggest that the two diseases are distinct entities, but may be associated. This is the first genetic study of Melkersson-Rosenthal syndrome in Latin America.

Descriptors: Melkersson-Rosenthal Syndrome; Granulomatosis, Orofacial; Health Profile; HLA antigens; Genes, MHC Class I; Genes, MHC Class II; HLA-DRB1 Chains; Polymerase Chain Reaction; Crohn Disease.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	23
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	25
3.1 Síndrome de Melkersson- Rosenthal	25
3.1.1 Histórico e conceito	25
3.1.2 Quadro clínico	27
3.1.3 Exame histopatológico	29
3.1.4 Etiopatogenia.....	29
3.1.4.1 Associação com doença inflamatória intestinal.....	29
3.1.4.2 Alergia alimentar	31
3.1.4.3 Alergia a materiais dentários.....	32
3.1.4.4 Imunológica.....	32
3.1.4.5 Infecção.....	32
3.1.4.6 Genética	33
3.1.5 Tratamento.....	34
3.2 O Complexo Principal de Histocompatibilidade	35
4 MÉTODOS	41
4.1 Delineamento do estudo	41
4.2 Metodologia laboratorial	43
4.3 Análise Estatística.....	45
5 RESULTADOS	47
5.1 Resultados clínicos.....	47
5.2 Resultados histopatológicos	54

5.3 Tratamento	66
5.4 Resultados genéticos.....	69
5.4.1 Prevalência dos alelos do HLA A em doentes com SMR e controles	69
5.4.2 Prevalência dos alelos do HLA B em doentes com SMR e controles.....	70
5.4.3 Prevalência dos alelos do HLA C em doentes com SMR e controles	71
5.4.4 Prevalência dos alelos do HLA DRB1 em doentes com SMR e controles.....	72
5.4.5 Prevalência dos alelos do HLA DQB1 em doentes com SMR e controles.....	73
5.4.6 Perfil clínico e padrão de HLA dos doentes com doença de Crohn comprovada	74
5.5 Análise de clusters.....	77
6 DISCUSSÃO	81
7 CONCLUSÕES.....	93
8 APOIO FINANCEIRO.....	95
ANEXOS	97
REFERÊNCIAS*	119

1 INTRODUÇÃO

A síndrome de Melkersson-Rosenthal (SMR) é doença rara, de causa desconhecida, caracterizada pela tríade de edema orofacial recorrente, paralisia facial intercorrente e/ou recidivante e língua plicada (fissurada)^{1,2}. O quadro clínico da SMR se inicia geralmente na infância ou em adultos jovens, com idade média de início dos sintomas de 25-40 anos, sem predisposição de sexo ou etnia^{3,4}. A doença apresenta-se com crises de edema orofacial recorrentes, eventualmente se tornando persistente, indolor, não pruriginoso, firme e assimétrico, podendo estar associado a alterações da cavidade oral^{2,4,5}. A localização mais acometida é o lábio, em 75% dos doentes, embora qualquer região da face possa ser acometida⁶. A SMR pode gerar graves deformidades cosméticas, podendo interferir funcionalmente na fala e na alimentação^{7,8}. A diagnose diferencial é ampla e engloba outras causas de edema facial e labial como angioedema, linfedema, dermatites de contato, rosácea, granulomas de corpo estranho, sarcoidose, tuberculose, doença de Crohn e doenças infecciosas como leishmaniose e hanseníase^{9,10}.

A presença da tríade completa é encontrada em 8% a 45% dos doentes acometidos e os achados clínicos podem não ocorrer concomitantemente; sendo assim, não é necessária a presença de todos os elementos para se firmar a diagnose, que às vezes demora anos^{6,11,12}.

O achado histopatológico característico nos tecidos afetados pela doença é a presença de infiltrado inflamatório granulomatoso não caseoso, indistinguível daquele encontrado na sarcoidose e na doença de Crohn¹⁰.

O mecanismo da enfermidade permanece desconhecido; especula-se que possam estar envolvidos mecanismos genéticos, alergia alimentar, alergia a materiais dentários, infecções e relação com doença inflamatória intestinal, não estando nenhum desses adequadamente comprovado^{13,14}. Em relação à influência genética, estudos prévios mostram relação do complexo HLA com a SMR. Porém, utilizam técnicas sorológicas atualmente em desuso, em um número pequeno de doentes. Gibson et al.¹⁵ observam que o HLA A3, o HLA B7 e o HLA DR2 estão aumentados em uma população de 16 doentes escoceses. Stosiek et al.¹⁶ relatam altos níveis de HLA B16 e HLA Cw3 em 27 doentes alemães avaliados, mas não houve significância estatística.

Não dispomos de dados clínicos do perfil de doentes latino-americanos com SMR, possivelmente pela raridade de ocorrência da doença, nem de dados genéticos da SMR obtidos com métodos modernos. Sendo assim, nos propusemos a estudar as características

clínico-epidemiológicas dos doentes portadores de SMR examinados no Hospital das Clínicas da FMUSP, os exames histopatológicos realizados e investigar possíveis fatores genéticos envolvidos por meio da determinação dos tipos de antígenos leucocitários humanos (HLA) apresentados pelos doentes, através da metodologia de PCR-SSO (reação de polimerização em cadeia utilizando oligonucleotídeos de sequência específica).

2 OBJETIVOS

1. Verificar as características clínico-epidemiológicas e evolutivas dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no ambulatório de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo;

2. Estudar os exames histopatológicos realizados;

3. Tipificar os alelos do HLA de classe I (locus A, B e C) e classe II (locus DR e DQ) em doentes com o diagnóstico de SMR e compará-los com controles saudáveis.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Síndrome de Melkersson- Rosenthal

3.1.1 Histórico e conceito

A síndrome de Melkersson-Rosenthal (SMR) é uma doença neuromucocutânea rara, composta pela tríade de edema orofacial recorrente, paralisia facial intercorrente e/ou recidivante e língua plicada (fissurada)^{1,2}. Essa entidade foi descrita por dois neurologistas europeus, Melkersson e Rosenthal: Melkersson, em 1928, inicialmente descreveu um caso de paralisia facial associado a edema orofacial e, três anos após, Rosenthal relatou algumas famílias apresentando edema orofacial, paralisia facial e língua plicada (Figura 1)^{1,2,17,18}. Luscher, em 1949, propôs o termo síndrome de Melkersson-Rosenthal para descrever a tríade¹⁹.

Após os relatos iniciais, entretanto, foram observados alguns doentes apresentando somente edema labial, na ausência de acometimento de outras regiões da face, de paralisia

Abb. 2.

Abb. 3.

FONTE: Rosenthal C, 1931

Figura 1 - Doentes relatados por Rosenthal, em 1931, mostrando edema orofacial e língua plicada

facial ou de língua plicada. Por isso, em 1945, o dermatologista Miescher relatou a entidade denominada “queilite granulomatosa” (queilite de Miescher), referindo-se aos doentes com edema crônico e recorrente com acometimento exclusivo do lábio, que, à histopatologia, apresentavam infiltrado inflamatório granulomatoso, obstrução linfática e congestão vascular^{11,20}. A queilite granulomatosa foi posteriormente reconhecida como uma variante monossintomática da SMR¹.

Em seguida, em 1985, foi introduzido o termo “granulomatose orofacial” (GOF) como forma de englobar todas as doenças granulomatosas que cursavam clinicamente com edema na região maxilofacial e cavidade oral. A nova expressão granulomatose orofacial englobava, por conseguinte, a síndrome de Melkersson-Rosenthal, a queilite granulomatosa, além de doenças granulomatosas como sarcoidose, doença de Crohn, hanseníase, leishmaniose, micobacteriose e granuloma de corpo estranho. Dessa forma, essas entidades particulares deveriam ser investigadas nos doentes que apresentassem edema orofacial antes de se estabelecer o diagnóstico de SMR e GOF, visto que podiam apresentar quadros clínicos semelhantes (Figura 2). O termo GOF, portanto, seria sindrômico, podendo representar uma variedade de doenças, sendo usado até que um diagnóstico definitivo fosse estabelecido^{2,9,10}.

FONTE: Bogenrieder T, 2003

Figura 2 - Relação entre a granulomatose orofacial, SMR, queilite granulomatosa e outras doenças sistêmicas. Tradução do autor.

Não existe uma padronização na literatura na nomenclatura do acometimento por edema e granulomas na região orofacial, algumas vezes com confusão e sobreposição nos termos utilizados, variando conforme o interesse e a preferência de cada autor. Alguns estudos preconizam, por exemplo, denominar como “queilite granulomatosa” aqueles doentes com edema e granulomas presentes exclusivamente na região labial, na ausência de paralisia facial e de língua plicada; outros utilizam o termo “granulomatose orofacial” para aqueles doentes com edema e granulomas em qualquer região da face, entre elas, lábio, cavidade oral, pálpebras, fronte, malar, mento e região zigomática ainda sem um diagnóstico etiológico definido; e como “síndrome de Melkersson-Rosenthal” aqueles doentes com a tríade completa de edema orofacial, língua plicada e paralisia facial. Além disso, outras referências usam o termo SMR forma incompleta ou monossintomática para os doentes que apresentem um ou dois sinais da tríade^{10,20}.

3.1.2 Quadro clínico

O quadro clínico da SMR se inicia geralmente na infância ou em adultos jovens, com idade média de início dos sintomas de 25-40 anos, sem predisposição étnica³. Alguns autores referem que a síndrome é mais comum em mulheres, enquanto outros relatam distribuição igual entre os sexos⁴. O tempo entre o início dos sintomas até o correto diagnóstico da síndrome varia de poucos meses até 55 anos^{4,12}.

A doença apresenta-se com crises de edema orofacial recorrentes, eventualmente se tornando persistente, indolor, não pruriginoso, firme e assimétrico, podendo estar associado a ulcerações orais, queilite angular, fissuras nos lábios e língua plicada^{2,4,5}. A localização mais acometida é o lábio, em 75% dos doentes⁶. Além disso, outros locais da face também podem ser acometidos pelo edema, como as regiões periorbitárias, zigomáticas, malaras e mento. O primeiro episódio geralmente se desenvolve sem sinais prodrômicos, levantando-se a suspeita de angioedema em muitos doentes⁶. Após recorrentes ataques, o edema se torna endurecido e permanente, com aparecimento de fibrose local, resultando em significativa preocupação cosmética, podendo interferir na fala e na alimentação^{2,8}. A gengiva também pode ser acometida na SMR, podendo anteceder ou ocorrer simultaneamente ao quadro labial. Clinicamente, observam-se hipertrofia gengival incluindo as papilas interdentais, edema, eritema, ulcerações,

sangramento, abscessos e fístulas. As manifestações gengivais ocorrem particularmente na parte anterior da boca e podem se estender da margem gengival até a mucosa alveolar não queratinizada. Histologicamente, observam-se granulomas epitelióides não caseosos (gengivite granulomatosa)^{21,22}. Do mesmo modo, intumescimento, eritema, ulcerações e sangramentos são vistos no palato, principalmente na região posterior e lateral no palato duro (palatite), sem referência na literatura dos aspectos histopatológicos dessa localização²².

A paralisia facial pode ocorrer em um único episódio ou ser recorrente; unilateral ou bilateral, parcial ou completa²³. A principal hipótese é que ela seja resultante da infiltração direta do nervo pelo infiltrado granulomatoso ou da compressão do nervo pelo edema dentro do canal ósseo no osso temporal¹¹. Ela ocorre em 30-50% dos casos da síndrome e pode estar presente na apresentação inicial, precedendo ou sucedendo o diagnóstico. O quadro é recorrente em mais de 70% dos casos^{6,11,12,24,25}. Embora a tríade descrita inicialmente contemple a paralisia facial como única manifestação neurológica, ela não é exclusiva. Os doentes também podem apresentar acometimento dos demais nervos cranianos (como o II, III, IV, V, VI, VIII, IX, X e XII) além de diversas outras manifestações neurológicas independentes do edema orofacial e, portanto, não relacionadas com compressão de nervos pelo edema. Entre elas, podemos citar: sintomas como cefaleia enxaqueca-símile, neuralgia do trigêmeo, parestesias, paralisia ocular, blefaroespasma, epífora, ceratite, uveíte, hiper ou hipossalivação, hiperacusia e episódios psicóticos^{1,4,26}.

A língua plicada é o achado menos importante da síndrome, encontrada em 20 a 50% dos doentes; porém, esse achado é visto em até 5% da população saudável, e essa porcentagem é maior em indivíduos mais velhos^{9,11,27}.

A presença da tríade completa é encontrada em 8% a 45% dos doentes acometidos e os achados clínicos podem não ocorrer concomitantemente, por isso, alguns doentes podem ter o diagnóstico após anos de seguimento. O edema orofacial é o achado mais comum. A ausência da tríade completa não invalida o diagnóstico, uma vez que ela não é encontrada em todos os doentes^{6,11,12}.

O diagnóstico da SMR é clínico, corroborado pelo exame histopatológico.

Os diagnósticos diferenciais clínicos são: tuberculose, infecções fúngicas profundas, leishmaniose, rosácea, doença de Morbihan, granuloma de corpo estranho, hanseníase, sarcoidose, doença de Crohn, angioedema, linfedema e dermatites de contato^{9,10}. Essas doenças devem ser excluídas, através de exames como biopsia e cultura da lesão oral, radiografia de tórax, PPD, colonoscopia com biopsia e endoscopia^{2,13}.

3.1.3 Exame histopatológico

O exame histopatológico dos tecidos afetados pela síndrome demonstra, na maioria dos casos, infiltrado inflamatório granulomatoso não caseoso ou esboços granulomatosos, constituídos por células epitelióides e células gigantes multinucleadas, indistinguíveis daquelas encontrados na sarcoidose ou na doença de Crohn. Estudos anteriores demonstram granulomas em 46% a 82% dos casos^{10,25,28}. Em fases iniciais ou em doença de longa duração podemos encontrar apenas edema, congestão vascular e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular. Portanto, a ausência de granulomas ao exame histopatológico não invalida o diagnóstico da SMR, uma vez que as características do infiltrado inflamatório variam de acordo com o tempo de evolução da doença^{25,29}. O infiltrado inflamatório é predominantemente do tipo Th1, composto principalmente por linfócitos TCD4+, embora outros tipos de linfócitos T e B possam ser encontrados^{13,30}. As colorações para fungos e micobactérias são negativas^{6,29}.

3.1.4 Etiopatogenia

A etiologia e patogênese da SMR permanecem desconhecidas. Algumas teorias foram propostas para explicar a doença, sugerindo uma origem multifatorial: associação com doença inflamatória intestinal, alergia alimentar, alergia a materiais dentários, imunológica, infecciosa e genética^{2,15}.

3.1.4.1 Associação com doença inflamatória intestinal

Embora a SMR e a doença de Crohn apresentem várias semelhanças, a relação exata entre a SMR e a doença de Crohn permanece desconhecida e motivo de debates

na literatura, ainda sem uma conclusão definitiva. A associação entre edema orofacial e alterações no trato gastrointestinal foi relatada pela primeira vez em 1703 por Archibald Pitcairne, quando o autor descreve que Lady Anne, filha do lord Traquair, sofre de “*little of a blood flux*” e “*old swelling on her lip*”³¹. Desde então, várias séries de casos mostram essa associação, sugerindo até mesmo que a SMR e a doença de Crohn possam fazer parte de um mesmo espectro clínico-patológico^{11,32}. Algumas observações de similaridade entre a SMR e a DC que falam a favor dessa teoria são: a histopatologia granulomatosa indistinguível das duas doenças, o curso recorrente e tratamentos semelhantes de ambas as entidades e manifestações orais da doença de Crohn poderem ser semelhante à SMR³³.

A cavidade oral é acometida em 0,5-20% dos doentes com DC intestinal, entretanto, na maioria dos casos, encontramos as lesões não específicas (não granulomatosas), como aftas, pioestomatite vegetante e pústulas difusas^{6,11,34}. Alterações clínicas específicas (granulomatosas) do tipo granulomatose orofacial e úlcera linear de bordas elevadas, localizada principalmente no sulco vestibular, também podem ocorrer, porém, são raras³³. Harty et al.³⁵ realizam um estudo no qual os doentes portadores de DC são avaliados por dentistas e encontram 41,7% de acometimento oral, mostrando que possivelmente os clínicos não estão habilitados para investigar e reconhecer lesões orais, apontando a necessidade de submeter os portadores de DC a uma avaliação oral especializada.

A maioria dos estudos que se concentram em avaliar a associação do edema orofacial com a doença de Crohn, entretanto, utilizam doentes com o diagnóstico sintromico de granulomatose orofacial, muitas vezes não nos relatando qual a proporção de doentes avaliados que apresentavam a SMR completa. Em relação a esses estudos, encontramos resultados variados: alguns autores não demonstram qualquer associação com DC em seus doentes com GOF relatados^{36,37}; enquanto outros relatam a presença de DC nas seguintes proporções: Elias et al.³⁸ observam 8% de associação com DC (total de 72 doentes); Wiesenfeld et al.¹⁰ relatam 10% (total de 60 doentes); Campbell et al.³⁹ observam 22% (total de 207 doentes) e Sciubba e Said-Al-Naief¹¹ relatam 46% (total de 13 doentes). Estudos que se propõem a estudar exclusivamente a faixa etária pediátrica encontram 40% de associação de GOF e DC, sugerindo que o início da GOF em criança é um fator preditivo para o surgimento de DC^{9,13,40,41}.

Sanderson et al.³³ se propõem a estudar o acometimento intestinal macro ou microscópico em doentes com GOF sem sintomas gastrointestinais. Foram avaliados 35 doentes com granulomatose orofacial, sem qualquer sintoma gastrointestinal, que foram submetidos a ileocolonoscopia e biopsia de intestino. Anormalidades macroscópicas no intestino como ulcerações aftóides ou úlceras extensas foram detectadas em 19/35 (54%) dos casos. Esses 19 doentes com alterações foram submetidos a biopsia das lesões, e granulomas estavam presentes em 13/19 (64%) dos casos. Não é possível afirmar, entretanto, que esses doentes com acometimento assintomático do trato gastrointestinal são portadores de doença de Crohn propriamente dita, particularmente porque a maioria dos doentes permaneceram livres de sintomas intestinais durante vários anos de seguimento^{33,39}. Esse achado fez o autor sugerir a existência de três entidades distintas: DC oral clássica (quando o paciente apresenta o diagnóstico de DC gastrointestinal estabelecido, com envolvimento oral), granulomatose orofacial com envolvimento gastrointestinal (paciente com GOF com alterações endoscópicas subclínicas ou assintomáticas), e GOF sem envolvimento intestinal^{13,33}.

3.1.4.2 Alergia alimentar

A teoria relacionada à alergia alimentar não é clara. Algumas substâncias ou aditivos foram relacionados à SMR. Fortalecendo essa teoria, Patel et al.⁴² demonstram uma alta associação com atopia (asma, dermatite atópica e rinite) nos doentes com GOF quando comparados com a população geral (82% versus 22%, $p = 0.0005$). Acredita-se que certos antígenos são capazes de evocar uma reação de hipersensibilidade tardia (tipo IV) ou imediata (tipo I), como por exemplo, produtos lácteos, chocolate, cacau, ovos, amendoim, aspartatos e glutamato monossódico, sendo os mais comuns o benzoato e a canela, que foram confirmados com a realização de testes de contato padrão e testes de contato urticariformes com as substâncias suspeitas. Em alguns casos, dietas eliminatórias resultaram em uma melhora clínica^{5,43,44}. Patel et al.⁴⁵ mostram, na submucosa, um aumento de células B dendríticas que expressam IgE em sua superfície em doentes com GOF comparado com controles saudáveis, sugerindo um *link* entre alergia alimentar e GOF.

Alguns autores, entretanto, relatam que esses alimentos são muito pequenos e não seriam capazes de atuar como haptenos evocando a resposta inflamatória. Além disso,

uma reação de hipersensibilidade do tipo I não seria capaz de explicar a inflamação granulomatosa presente na síndrome⁴³.

3.1.4.3 Alergia a materiais dentários

Na teoria relacionada à alergia a materiais dentários, sugere-se, por relato de casos clínicos, quadros de SMR relacionadas com cobalto, amálgama e pasta de dente. Os doentes que removeram as amálgamas dentárias tiveram resolução do quadro clínico^{2,46}.

3.1.4.4 Imunológica

A mucosa oral é um portal de antígenos efetivo e um tecido imunologicamente ativo⁴⁵. Por isso, alguns autores se concentram no estudo de possíveis fatores locais como antígenos e alérgenos desencadeando uma resposta imunológica alterada que poderia suscitar a síndrome. Nesse raciocínio, Facchetti et al.⁴⁷ avaliam a diversidade dos receptores de células T no local das lesões orais da GOF e do sangue periférico do mesmo doente e não encontram diferenças significativas, concluindo as células T não tem especificidade para um antígeno singular e que o acúmulo de linfócitos no tecido é resultado de um fluxo aleatório de células sanguíneas ao sítio da doença. Em contrapartida, De Quatrebarbes et al.⁴⁸ relatam um doente com expansão clonal de linfócitos T em uma lesão labial.

3.1.4.5 Infecção

Em relação aos agentes infecciosos, estudos avaliaram a participação de *Mycobacterium tuberculosis*, *M. paratuberculosis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *herpes simples* e *Borrelia burgdorferi* na fisiopatologia da SMR, porém obtiveram resultados conflitantes e controversos^{2,49}. Apaydin et al.⁵⁰ demonstram positividade para *M. tuberculosis* em três de seis espécimes labiais de GOF, usando técnicas moleculares. Ivanyi et al.⁵¹ relatam a presença de anticorpos IgG contra a proteína micobacteriana de 65kd em sete de 10 doentes com GOF avaliados. Savage et al.⁵² identificam um aumento no IgA salivar anti-*S. cerevisiae* em doentes com GOF e mostram que o anticorpo contra *S. cerevisiae* sérico pode ser um marcador para o desenvolvimento de doença intestinal.

Em relação ao *M. paratuberculosis* e *B. burgdorferi*, não foram detectados nos espécimes avaliados^{49,53}.

3.1.4.6 Genética

Na teoria genética, encontramos relatos de predisposição familiar, com característica de padrão autossômico dominante⁵⁴. Autores referem que até 6% dos doentes com SMR apresentam história familiar positiva¹¹. Goto et al.⁵⁴ relatam um doente com a tríade completa da SMR, que apresentava quatro familiares com edema orofacial e três com língua plicada. Miesel-Stosiek et al.⁵⁵ descrevem 42 doentes com GOF e 171 familiares, demonstrando 10 parentes com língua plicada e seis com outras características da doença. Considerando-se a alta prevalência de língua plicada na população saudável, é difícil interpretar esses achados. Xu et al.⁵⁶ identificam uma mutação no gene FATP1 (c.68C>G, p.Pro23Arg) como um possível gene causador da SMR numa família chinesa. Smeets et al.⁵⁷ relatam uma doente feminina portadora de SMR apresentando uma translocação t(9;21)(p11;p11).

Dois estudos anteriores demonstram uma possível participação do complexo HLA (antígenos leucocitários humanos) na GOF e SMR (sem doença de Crohn comprovada). Gibson et al.¹⁵ observam um aumento na frequência de HLA A3, HLA B7 e HLA DR2 em 16 doentes escoceses com GOF. Stosiek et al.¹⁶ (1987) observam aumento na expressão de HLA B16 e HLA Cw3 em 27 doentes alemães com SMR avaliados, mas não houve significância estatística (Quadro 1).

Quadro 1 - Genes do HLA identificados em associação com a SMR e GOF na população escocesa e alemã

País	Quantidade de indivíduos		Técnica utilizada	Resultados	Ref.
	Doentes	Controles			
Escócia	16	512	Sorologia	HLA A3, HLA B7 e HLA DR2	15
Alemanha	27	223	Sorologia	HLA B16 e HLA Cw3	16

FONTE: Gibson et al. e Stosiek et al.

Em relação à doença de Crohn intestinal, estudos demonstram associação com o HLA-DR1, DRB3* 0301, DR4, DR7, DR13 DQ4, DQ5 e C* 01 e A2, embora esses resultados variem muito de acordo com a etnia avaliada⁵⁸⁻⁶⁵.

3.1.5 Tratamento

O manejo dos doentes com SMR é difícil e muitas vezes frustrante e a probabilidade de remissão completa é baixa. Existem diversas opções de terapêutica, porém com resultados diversos e imprevisíveis. Entre elas, podemos citar os corticosteroides, que podem ser utilizados de forma intralesional ou via sistêmica, isolados ou associados a outras terapias^{2,66,67}. Múltiplas injeções de corticosteroides são geralmente necessárias, em doses variando de 10 a 20 mg por aplicação, em intervalos semanais ou mensais^{2,66}.

A talidomida tem mostrado bons resultados no tratamento da SMR. Entretanto, devido ao seu potencial teratogênico, essa medicação não pode ser prescrita para mulheres em idade fértil e deve ser rigorosamente monitorizada nos doentes que estão fazendo uso devido ao possível efeito colateral de neuropatia periférica². A dapsona é uma medicação antibacteriana e anti-inflamatória que suprime o recrutamento de neutrófilos e tem se mostrado um bom tratamento para alguns doentes, com respostas variáveis⁶⁸. Clofazimina é uma opção de tratamento, em doses variando de 100 a 300mg por dia, porém, seu exato mecanismo de ação na SMR não está elucidado^{2,66}. Outros tratamentos citados são a hidroxicloroquina, antibióticos como a tetraciclina, minociclina, isoniazida e metronidazol, danazol, metotrexato e anti-histamínicos^{11,66}. O infliximabe e adalimumabe, anticorpos monoclonais contra o TNF- α , já utilizados no tratamento da doença de Crohn, têm sido apontados como agentes promissores para o tratamento da SMR^{66,69}.

Tratamento cirúrgico com queiloplastia e gengivoplastia pode ser realizado em casos de queilite e gengivite desfigurante e/ou com deficiências funcionais, em doentes que apresentem a doença em fase inativa há alguns anos. Porém, existe um risco de recorrência do quadro^{70,71}. Descompressão cirúrgica do nervo facial total ou subtotal pode ser necessária em casos de paralisia facial persistente, procedimento que é capaz de prevenir recorrências²⁴.

Entre as opções de tratamento, é muito importante que o paciente receba tratamento odontológico periodontal, pois já existem relatos na literatura de melhora importante somente com acompanhamento odontológico⁷².

3.2 O Complexo Principal de Histocompatibilidade

O complexo principal de histocompatibilidade tem um papel fundamental na resposta imune de codificar proteínas que atuam no reconhecimento e apresentação de antígenos para as células TCD4+ e TCD8+. Foi inicialmente denominado como MHC (Complexo Principal de Histocompatibilidade, do inglês, *Major Histocompatibility Complex*), pois, quando descoberto, foi relacionado à rejeição de tecidos transplantados em camundongos. Na espécie humana, os genes do complexo MHC recebem o nome de HLA (*Human Leucocyte Antigen*)⁷³. Os genes do HLA são divididos em classes I, II e III e estão localizados no braço curto do cromossomo 6 (região 6p21.3) (Figura 3). São os genes mais polimórficos presentes em qualquer genoma de mamífero, apresentando uma extensa variedade de alelos entre os indivíduos, uma consequência de sua função,

FONTE: Klein J, 2010.

Figura 3 - Mapa do cromossomo 6 humano. Tradução do autor

que é apresentar uma imensa quantidade de peptídeos derivados de agentes infecciosos ou proteínas alteradas ao sistema imune⁷³. Os genes de classe I codificam as moléculas clássicas de histocompatibilidade HLA-A, B e C e os genes de classe II codificam as moléculas clássicas de histocompatibilidade HLA-DR, DQ e DP. O HLA de classe III não codifica moléculas de apresentação de antígenos^{73,75}.

As moléculas de classe I são expressas por todas as células nucleadas, enquanto as moléculas de classe II são encontradas nas células dendríticas, macrófagos, linfócitos B e células endoteliais (embora outros tipos celulares possam expressar quando estimuladas por citocinas). As moléculas do HLA da classe I apresentam peptídeos aos linfócitos TCD8+, enquanto as moléculas do HLA da classe II aos linfócitos T CD4+ (Figura 4)^{74,75}.

FONTE: Abbas AK, 2015

Figura 4 - Reconhecimento do complexo peptídeo-MHC pela célula T. Adaptado do autor

Os genes do HLA de classe I codificam uma molécula formada por duas cadeias diferentes (heterodímeros): uma cadeia pesada α (subdividida em $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$) e uma cadeia leve $\beta 2$ -microglobulina (codificada fora do complexo HLA, no cromossomo 15). A fenda de ligação do peptídeo é formada pela união da cadeia $\alpha 1$ e $\alpha 2$ (Figura 5). A maioria das pessoas são heterozigóticas para os genes do HLA⁷⁵.

FONTE: Abbas AK, 2015

Figura 5 - Estrutura da molécula de HLA de classe I. Adaptado do autor

Os genes do HLA de classe II codificam uma molécula formada por uma cadeia α (subdividida em $\alpha1$ e $\alpha2$) e uma cadeia β (subdividida em $\beta1$ e $\beta2$). A fenda de ligação do peptídeo é formada pela união das cadeias $\alpha1$ e $\beta1$ ⁷⁵ (Figura 6).

FONTE: Abbas AK, 2015

Figura 6 - Estrutura da molécula de HLA de classe II. Adaptado do autor

Os resíduos de aminoácidos polimórficos de moléculas do HLA (que gera uma ampla variedade de alelos) estão localizados no interior e nas adjacências da fenda de ligação do peptídeo⁷⁵.

A nomenclatura dos genes de HLA consiste em letras e números, que se referem ao sistema, ao gene, à cadeia codificada e ao alelo estudado⁷⁶ (Figura 7).

FONTE: Nunes E, 2011

Figura 7 - Nomenclatura dos genes do complexo HLA. Tradução do autor.

Desde a descoberta do HLA, é crescente o número de novos alelos que são descobertos anualmente e de doenças relacionadas a alterações genéticas e polimorfismos relacionados ao HLA⁷⁷. Porém, até o momento, encontramos poucos estudos relacionando os genes do HLA com a SMR.

Com a introdução da biologia molecular na tipificação dos antígenos leucocitários humanos, houve uma enorme contribuição para o entendimento e identificação do extenso polimorfismo do sistema. Segundo o *WHO Nomenclature Committee for Factors of the HLA System* existem atualmente mais de 18.000 alelos descritos pela nomenclatura HLA (última atualização em junho de 2019)⁷⁸.

Quadro 2 - Número de alelos reconhecidos pela WHO.

HLA DE CLASSE I			HLA DE CLASSE II						
A	B	C	DRA	DRB1	DRB3	DRB4	DRB5	DQA	DQB
5.266	6.537	5.140	7	2.581	304	152	121	183	1.718

Fonte: Marsh SGE, 2019

4 MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Em sua primeira fase, tratou-se de um estudo retrospectivo, no qual foram avaliados todos os registros de atendimentos realizados no Ambulatório de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, nos períodos de 2003 a 2017. Desses registros, foram selecionados todos os doentes com os diagnósticos de SMR, granulomatose orofacial e queilite granulomatosa.

Posteriormente, foram avaliados os prontuários desses doentes, dos quais foram retirados os registros de: anamnese, idade, sexo, idade do início dos sintomas, idade ao diagnóstico, busca de história pregressa de infecções, exame dermatológico e oral, comorbidades, sintomas neurológicos, sintomas gastrointestinais e tratamentos realizados. Todas as lâminas das biopsias das lesões de SMR previamente realizadas foram revisadas por dois examinadores. Para a análise histopatológica foi utilizado o protocolo criado pelo grupo da Estomatologia (Anexo A).

Em seguida, realizamos um estudo de caso-controle para comparação da frequência dos alelos da região HLA classes I e II em doentes portadores de SMR com a frequência em um grupo controle, sem doença conhecida, cujas amostras de material genético estavam armazenadas no banco de doadores de órgãos sólidos do Laboratório de Imunologia do Incor/HCFMUSP.

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, CAPPesq 1.310.600 e 1.735.277; registro *online* 14229 (Anexo B). Todos os doentes foram informados sobre a natureza da pesquisa. Aqueles que concordaram em participar assinalaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo C).

Foram utilizados como critérios de inclusão para que o paciente pudesse participar do estudo: doentes de todas as idades, de ambos os sexos, com diagnóstico de SMR,

granulomatose orofacial e queilite granulomatosa confirmados por exame físico e/ou histopatológico de lesão compatível da região orofacial. Foram utilizados como critérios de exclusão para a participação da fase laboratorial do estudo: os doentes que se recusaram a participar do estudo e os que não compareceram ao ambulatório, mesmo após serem convocados.

Foram coletados 5 ml de sangue venoso periférico por flebotomia em um tubo com anticoagulante (EDTA). Posteriormente, esses doentes foram submetidos à tipificação do

FONTE: a autora

Figura 8 - Delineamento do estudo

HLA classe I (locus A, B e C) e classe II (locus DR e DQ) através da técnica de amplificação de genes HLA específicos do DNA genômico usando a técnica de PCR-SSO, reação de polimerização em cadeia utilizando oligonucleotídeos de sequência específica (do inglês, *Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Oligonucleotides*), com colaboração do Laboratório de Imunologia do Instituto do Coração (Incor), onde esse exame é realizado, de acordo com o protocolo descrito a seguir. O resumo do delineamento do estudo pode ser visto na figura 8.

4.2 Metodologia laboratorial

Extração do DNA: O DNA genômico foi extraído a partir da amostra de sangue periférico colhida com EDTA. As extrações foram realizadas com auxílio do *kit* da marca QIAGEN (*QIAamp® DNA Mini Kit*, U.S.A.) de acordo com as recomendações do fabricante, mediante os seguintes passos: em um tubo de 1,5 ml foram adicionados 20 µl de proteinase K e 200 µl de *buffy coat* de sangue fresco ou congelado e, em seguida, agitados no vórtex por 5 segundos. Posteriormente, foi adicionado 200 µl de *Buffer AL* e realizada homogeneização. Após, o tubo foi colocado em banho-maria a 56°C durante 10 minutos para promover a digestão das proteínas. Depois, ao lisado, foram adicionados 200 µl de etanol a 96-100%, misturado bem por pipetagem para produzir uma solução homogênea, transferido 640 µl do lisado para uma coluna e centrifugado por 1 minuto a 8.000 rpm. Em seguida, foram adicionados 500 µl de *Buffer AW1* e a mistura centrifugada novamente durante 1 minuto a 8.000 rpm à temperatura ambiente. A seguir, foram adicionados 500 µl de *Buffer AW2* e a mistura centrifugada, em temperatura ambiente, a 13.000 rpm durante 4 minutos. À solução centrifugada foram adicionados 200 µl de *Buffer AE* ou água destilada e esta mistura foi incubada, à temperatura ambiente, por 5 minutos. Após, centrifugada a 8.000 rpm durante 1 minuto. Esse tubo final, então, contém o DNA purificado. A qualidade do DNA é checada quanto a razão e concentração pelo espectrofotômetro NanoDrop™ (ND- 1000 UV-VIS, Thermo Fisher Scientific, DE, U.S.A.) em comprimento de onda de 260 e 280 nm e estocado em freezers para posterior tipificação.

Tipificação do HLA: A tipificação HLA dos pacientes com SMR e do grupo controle foi realizada por PCR-SSO, reação de polimerização em cadeia utilizando

oligonucleotídeos de sequência específica (do inglês, *Polymerase Chain Reaction-Sequence Specific Oligonucleotides*), utilizado a tecnologia Luminex®. Para a tipificação dos genes HLA A, B, C, DRB1, DQB1 foram utilizados os *kits* LABTypes® SSO (One Lambda, INC- Canoga Park, California, U.S.A.), segundo orientação do fabricante. Inicialmente foi realizada a amplificação gênica utilizando-se *primers* biotinilados específicos para a região gênica de interesse e *primers* específicos para amplificação de alelos (Figura 9). O produto de PCR amplificado foi então desnaturado e colocado frente a sondas marcadas (hibridização) conjugadas a microesferas (*beads*) codificadas por fluorescência, que fazem parte do sistema multianalítico Luminex®. Cada *bead* é marcada com uma determinada fluorescência e possui uma sonda de oligonucleotídeo correspondente a um alelo HLA ou a um grupo de alelos HLA. Após esta etapa de hibridização, as sondas que hibridizaram com o DNA foram marcadas com uma solução estreptavidina conjugada com ficoeritrina (SAPE) e foi realizada a leitura da reação. As reações foram lidas no citômetro de fluxo LABScan™ 200 (tecnologia Luminex®), que é capaz de reconhecer a fluorescência da *bead* e da SAPE ligada à sonda. Um laser para a cor vermelha ($\lambda 633$ nm) reconhece a cor da microesfera e outro laser reconhece a marcação com SAPE, verde ($\lambda 532$ nm), determinando a positividade da reação. Os dados gerados pelo aparelho foram analisados no software HLA Fusion™ Analysis Software for Windows versão 30 para a determinação da tipificação HLA.

FONTE: a autora

Figura 9 - Exemplo do *kit* LABTypes® SSO para realização do PCR-SSO do HLA-A

4.3 Análise Estatística

Os dados encontrados foram tabulados no GraphPad Prism 7.03 e no SPSS para Windows versão 23. As variáveis encontradas neste estudo são qualitativas e nenhuma delas segue o padrão de distribuição normal. Para os dados clínicos foi considerada cada pergunta como variável dicotômica (sim/não); a combinação de cada alelo com o respectivo gene também foi considerada como variável dicotômica (sim/não).

Foram calculadas as frequências e as porcentagens para os dados clínicos e para o estudo do HLA. Utilizou-se o teste de qui-quadrado para comparação dos alelos do grupo síndrome com o grupo controle e a razão de chances (OR) em favor da SMR foi calculada para os alelos estudados. Todas as análises consideraram o nível de significância de 5%.

Para a análise de *cluster* foi utilizado o software R versão 3.4.3, com auxílio da função heatmap.2, disponíveis no pacote gplots (versão 3.0.1). O procedimento utilizado para cada etapa da análise seguiu a seguinte sequência: primeiro, “clusterização” hierárquica com finalização de dendograma. Após tomada de decisão sobre o número “k”, foi realizada a “poda da árvore” do dendograma e obtenção dos grupos de amostras. Em seguida, “clusterização” com a função k-mode para identificação dos grupos de amostras e, por último, a apresentação do heatmap (Anexo D).

5 RESULTADOS

5.1 Resultados clínicos

No total, foram realizados 9.084 atendimentos no ambulatório de Estomatologia do ano de 2003 até 2017. Selecionamos 51 doentes com SMR, incluindo 26 mulheres (51%) e 25 homens (49%). Os detalhes individuais dos casos são mostrados no Anexo E.

A idade média do início dos sintomas foi de 32,35 anos (variando de 5-57). A idade média ao diagnóstico foi de 35,69 anos (variando de 8-59) (Tabela 1, Gráficos 1 e 2). Quatro doentes (três homens e uma mulher) apresentavam menos de 18 anos no momento do diagnóstico (um com 10 anos, dois com 12 anos e um com 17 anos). O intervalo médio do início dos sintomas até o diagnóstico foi de 3,34 anos, variando de poucos meses até 25 anos.

Tabela 1 - Idade no início dos sintomas e ao diagnóstico

	N	Valor Mínimo (anos)	Valor Máximo (anos)	Média (anos)	Desvio Padrão
Idade no início dos sintomas	43	5	57	32,35	14,625
Idade ao diagnóstico	48	10	59	35,69	13,979

FONTE: a autora

Gráfico 1 - Idade no início dos sintomas

FONTE: a autora

Gráfico 2 - Idade ao diagnóstico

FONTE: a autora

Edema orofacial estava presente em todos os casos, sendo o lábio superior a localização mais encontrada (40/51, 78,4%), seguido do lábio inferior (24/51, 47%), gengiva (21/51, 41,1%), região malar (bochechas) (13/51, 25,4%) e palato (6/51, 11,7%) (Gráfico 3). O envolvimento somente do lábio foi encontrado em 20/51 (39,21%). A maior parte dos doentes apresentou acometimento de mais de uma localização: lábio e região malar em 11/51 (21,56%), lábio e mento em 4/51 (7,8%), lábio e acometimento de gengivas em 19/51 (37,25%) e lábio e palato em 3/51 (5,8%) (Figuras 10, 11, 12, 13 e 14). Em dois doentes, a gengiva foi a única manifestação clínica, sendo observados hipertrofia gengival, eritema, ulcerações e fístulas. Seis doentes apresentaram edema, eritema e focos de hemorragia no palato, porém o acometimento do palato não foi visto como única manifestação clínica da síndrome. A presença de língua plicada foi encontrada em 26/51 (50,98%) (Figura 15). Em vários doentes verificamos a língua geográfica como manifestação clínica, dado esse não quantificado. Paralisia facial ocorreu em 14/51 (27,45%) (Figura 16 e 17). Em sete dos 14 casos, a paralisia facial era apenas referida pelo doente, não sendo observada no momento do exame. A tríade completa de edema orofacial, paralisia facial e língua plicada foi encontrada em 10/51 (19,6%) dos casos (cinco casos da tríade completa presenciados por nós).

FONTE: a autora

Figura 10 - Doentes apresentando acometimento predominante do lábio superior

FONTE: a autora

Figura 11 - Doentes apresentando acometimento predominante do lábio inferior

FONTE: a autora

Figura 12 - Doente apresentando acometimento do lábio superior, inferior e regiões malares

FONTE: a autora

Figura 13 - Doentes apresentando edema, eritema e hiperplasia gengival

FONTE: a autora

Figura 14 - Doentes apresentando edema, eritema e focos de hemorragia no palato

FONTE: a autora

Figura 15 - Doentes apresentando acometimento da língua. A e B: língua geográfica; C e D: língua plicada

FONTE: a autora

Figura 16 - Doente apresentando paralisia facial periférica

FONTE: a autora
Figura 17 - Doente apresentando paralisia facial periférica

Gráfico 3 - Características clínicas dos doentes

FONTE: a autora

As manifestações clínicas dos quatro doentes com menos de 18 anos da nossa casuística foram semelhantes às apresentadas pelos adultos, apenas com um maior acometimento do sexo masculino (Tabela 2, Figura 18).

Tabela 2 - Manifestações clínicas das crianças com SMR

Caso	Sexo	Idade do início dos sintomas	Idade ao diagnóstico	Localização da lesão	Paralisia facial	Língua plicada	Lesões intra-orais
1	M	11	12	Lábio superior	Não	Sim	Gengiva superior
2	M	11	12	Lábio superior e inferior	Não	Não	Gengiva
3	M	9	10	Lábio superior	Não	Não	Gengiva
4	F	16	17	Lábio superior	Não	Sim	Gengiva e palato

FONTE: a autora

FONTE: a autora

Figura 18 - Doentes infantis com 12 anos, 12 anos e 10 anos, respectivamente

Três doentes (5,8%) apresentavam sintomas neurológicos concomitantes: um apresentava cefaleia e dois apresentavam convulsões. No entanto, não realizamos o exame neurológico em todos os doentes com a síndrome. Acreditamos que outros comprometimentos neurológicos mais sutis devam ser mais frequentes do que relatado, podendo essa avaliação neurológica especializada e completa constituir-se assunto para próximo estudo. Foram investigados 21 doentes com colonoscopia: cinco doentes (9,8%)

eram portadores de doença de Crohn, comprovada pela avaliação gastroenterológica e colonoscópica, seguidas pela biopsia de intestino. Desses, um apresentava a DC sintomática e quatro eram assintomáticos. Uma doente apresentava quadro de dor abdominal e diarreia crônica, porém seu exame de colonoscopia com biopsia foi normal na amostra analisada.

Somente um doente (1,9%) apresentava história familiar de SMR (tia - não examinada).

5.2 Resultados histopatológicos

Dos 51 doentes avaliados, quatro se recusaram a realizar biopsia da lesão orofacial. Estudamos 47 exames histopatológicos da cavidade oral (Tabela 3). A localização mais comum das biopsias foi o lábio superior (27/47, 57,4%), seguido do lábio inferior (11/47, 23,4%), gengiva (6/47, 12,8%) e palato (3/47, 6,4%). De forma geral, todos os casos avaliados tiveram alterações inflamatórias, desde edema, vasodilatação e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular até esboços granulomatosos e granulomas bem formados, variando na intensidade e grau de acometimento. Esse quadro inflamatório, em alguns casos, foi acompanhado de alterações epiteliais (Figura 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 e 26).

FONTE: a autora

Figura 19 - Exemplos dos aspectos epiteliais gerais encontrados nas biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal: A e B: Paraqueratose, acantose, espongiose intensa e exocitose de linfócitos (HE, aumento original x100 e x200)

FONTE: a autora

Figura 20 - Exemplos dos aspectos epiteliais gerais encontrados nas biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal: C e D: Paraqueratose, acantose, espongiose leve e exocitose de linfócitos (HE, aumento original x200 e x200)

FONTE: a autora

Figura 21 - Exemplos dos aspectos gerais encontrados na lâmina própria das biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal: A: Edema, vasodilatação, congestão vascular e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular moderado (HE, aumento original x100); B: Exuberante edema, vasodilatação e congestão vascular (HE, aumento original x400); C: Depósitos de mucina e edema intersticial (HE, aumento original x400)

FONTE: a autora

Figura 22 - Exemplos dos aspectos do infiltrado inflamatório das biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal: A: Infiltrado inflamatório linfomononuclear moderado e difuso na lâmina própria (HE, aumento original x 100); B, C e D: Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular (HE, aumento original x 200, x 400 e x 400, respectivamente); E: Infiltrado inflamatório perineural (HE, aumento original x 100); F: Infiltrado inflamatório linfohistiocitário em esboço granulomatoso (HE, aumento original x 200)

FONTE: a autora

Figura 23 - Exemplos dos aspectos do infiltrado inflamatório das biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal. A: Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário de arquitetura nodular, permeado por capilares (HE, aumento original x 200); B: Infiltrado inflamatório linfohistiocitário de arquitetura nodular (esboço granulomatoso), na profundidade do espécime (HE, aumento original x 100); C: Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário de arquitetura nodular, ao redor da musculatura esquelética estriada (HE, aumento original x 200)

FONTE: a autora

Figura 24 - Exemplos dos aspectos do infiltrado inflamatório das biopsias labiais de casos de síndrome de Melkersson Rosenthal. A1 e A2: Infiltrado inflamatório predominantemente linfocitário de arquitetura nodular, permeado por capilares (HE, aumento original x 200 e x 400, respectivamente); B e C: Infiltrado inflamatório linfohistiocitário de arquitetura nodular com presença de células gigantes multinucleadas (granuloma malformado) (HE, aumento original x 200 e x 400, respectivamente); D: esboço granulomatoso que exibe, em área central, exuberante depósito de mucina (HE, aumento original x 200)

FONTE: a autora

Figura 25 - Exemplos dos aspectos de infiltrado inflamatório granulomatoso nos espécimes de biópsia labial dos casos de síndrome de Melkersson Rosenthal. A-F: notar a arquitetura nodular do infiltrado inflamatório, formado por linfócitos, plasmócitos, histiócitos e gigantócitos. Não se evidencia a presença de necrose ou microorganismos. Notar em E a distribuição perivascular do infiltrado granulomatoso e em F a presença de granuloma perineural. (HE, aumento original x40, x100, x200, x400, x400, x200)

FONTE: a autora

Figura 26 - Exemplos dos aspectos fibróticos nos espécimes de biopsia labial dos casos de síndrome de Melkersson Rosenthal. A Mucosa labial exibindo fibrose intersticial (HE, aumento original x100); B e C: Lâmina própria apresentando fibrose, edema intersticial leve, infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular (B) e congestão (C) (HE, aumento original x 200, X200, respectivamente)

Em relação à arquitetura do infiltrado inflamatório, os achados mais encontrados foram granulomas bem formados (7/47, 15%) e esboços granulomatosos (24/47, 51%). Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (na ausência de granulomas) foi visto em 34% das lâminas avaliadas. A localização do infiltrado inflamatório foi, na maioria das vezes, perivascular e de intensidade moderada (Gráficos 4 e 5).

Gráfico 4 - Localização do infiltrado inflamatório nos exames histopatológicos dos doentes com SMR

FONTE: a autora

Gráfico 5 - Intensidade do infiltrado inflamatório nos exames histopatológicos dos doentes com SMR

FONTE: a autora

Em relação às células inflamatórias do infiltrado na lâmina própria, observamos: linfócitos (44/47, 93,6% dos casos), plasmócitos (34/47, 72,3%), histiócitos (17/47, 36,1%) e células gigantes (3/47, 6,3%). Não observamos polimorfonucleares nas lâminas avaliadas (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Células inflamatórias do infiltrado nos exames histopatológicos dos doentes com SMR

FONTE: a autora

Em relação às alterações epiteliais, os achados mais encontrados foram: acantose (36/47, 76,5%), exocitose de linfócitos (34/47, 72,3%), espongirose (33/47, 70,2%) e hiperparaqueratose (26/47, 55,31%) (Gráfico 7). Em relação às alterações na lâmina própria, verificamos: edema (39/47, 82,9%), fibrose (21/47, 44,68%), vasodilatação (21/47, 44,68%) e congestão (11/47, 23,4%) (Gráfico 8).

Gráfico 7 - Alterações epiteliais nos exames histopatológicos dos doentes com SMR

FONTE: a autora

Gráfico 8 - Alterações na lâmina própria nos exames histopatológicos dos doentes com SMR

FONTE: a autora

Revisamos seis exames histopatológicos da gengiva: em dois deles, os doentes apresentavam acometimento gengival exclusivo e nos outros quatro, os doentes também apresentavam acometimento labial (sendo também realizada a biopsia da lesão do lábio). Nas lâminas dos doentes com lesão exclusivamente na gengiva foram observados esboços granulomatosos. Nos outros quatro exames histopatológicos, vimos esboços granulomatosos em dois casos (com esboços granulomatosos também vistos na biopsia labial) e infiltrado inflamatório linfoplasmocitário em dois casos (mesmo achado visto na biopsia labial).

Revisamos três exames histopatológicos de lesão no palato, demonstrando granuloma bem formado em um caso e esboços granulomatosos em dois casos. Os mesmos achados foram vistos nas biopsias do lábio.

Tabela 3 - Alterações morfológicas encontradas nos espécimes dos doentes com SMR

Alterações morfológicas		Frequência (n)
Localização da biopsia	Lábio superior	57,4% (27)
	Lábio inferior	23,4% (11)
	Gengiva	12,8% (6)
	Palato	6,4% (3)

continua

Tabela 3 - Alterações morfológicas encontradas nos espécimes dos doentes com SMR

Alterações morfológicas		Frequência (n)
Arquitetura do infiltrado inflamatório	Granuloma bem formado	15% (7)
	Esboço granulomatoso	51% (24)
	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário	34% (16)
Localização do infiltrado inflamatório	Generalizado	21,2% (10)
	Focal	17% (8)
	Perivascular	55,3% (26)
	Perineural	4,2% (2)
	Ao redor do tecido adiposo	2,1% (1)
Intensidade do infiltrado inflamatório	Leve	32,4% (12)
	Moderado	37,8% (14)
	Intenso	29,7% (11)
Composição do infiltrado inflamatório	Linfócitos	93,6% (44)
	Plasmócitos	72,3% (34)
	Histiócitos	36,1% (17)
	Células gigantes multinucleadas	6,3% (3)
Alterações epiteliais	Hiperqueratose	4,2% (2)
	Hiperortoqueratose	29,7% (14)
	Hiperparaqueratose	55,3% (26)
	Granulose	17% (8)
	Acantose	76,5% (36)
	Espongiose	70,2% (33)
	Exocitose de linfócitos	72,3% (34)
	Grânulos de fordyce	2,1% (1)

Tabela 3 - Alterações morfológicas encontradas nos espécimes dos doentes com SMR

Alterações morfológicas	Frequência (n)
Edema	82,9% (39)
Vasodilatação	44,6% (21)
Lâmina própria	
Congestão	23,4% (11)
Fibrose	44,6% (21)
Mucina	2,1%(1)

FONTE: a autora

Em 40 exames histopatológicos pudemos correlacionar com o dado clínico de tempo de doença, como observado na Tabela 4 (maiores detalhes dos casos no Anexo F). Verificamos que a presença de infiltrado inflamatório linfoplasmocitário ocorreu, em maiores proporções nas fases iniciais (até 1 ano) e tardias (acima de 5 anos) da síndrome. Além disso, houve uma tendência de menor presença de granulomas bem formados em fases tardias e maior índice de fibrose nessas fases tardias.

Tabela 4 - Correlação entre tempo de doença e achados histopatológicos

Tempo de evolução da SMR	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário % (n)	Granuloma bem formado % (n)	Esboço granulomatoso % (n)	Fibrose % (n)	TOTAL
Até 1 ano	35,7% (5)	28,5% (4)	35,7% (5)	21,4% (3)	14
De 2 a 5 anos	20% (3)	20% (3)	46,6% (7)	46,6% (7)	15
Acima de 5 anos	36,3% (4)	9% (1)	45,4% (5)	36,3% (4)	11

FONTE: a autora

Em quatro doentes pudemos comparar as biopsias realizadas em dois momentos diferentes no curso da síndrome, sendo observada uma tendência à redução do infiltrado inflamatório e aumento da fibrose (Tabela 5).

Tabela 5 - Correlação entre tempo de doença e achados histopatológicos

Caso	Resultado da primeira biopsia (tempo de evolução da SMR)	Resultado da segunda biopsia (tempo de evolução da SMR)
1	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário (2 anos)	Fibrose (3 anos)
2	Fibrose (4 anos)	Fibrose (6 anos)
3	Granuloma bem formado (3 anos)	Fibrose (5 anos)
4	Granuloma bem formado (1 ano)	Granuloma bem formado + fibrose (5 anos)

FONTE: a autora

5.3 Tratamento

Em relação aos tratamentos realizados: 23/51 (45,1%) receberam tratamento com infiltração intralesional de corticosteroide, 23/51 (45,1%) talidomida, 21/51 (41,2%) dapsona, 11/51 (21,6%) corticosteroide oral, 8/51 (15,68%) necessitaram de imunossupressores sistêmicos, como a azatioprina e metotrexato, 2/51 (3,9%) clofazimina, sendo que a maioria necessitou de combinação de tratamentos (24/51, 47%) (Gráfico 9).

Gráfico 9 - Tratamentos realizados pelos doentes com SMR

FONTE: a autora

Foram submetidos a tratamento cirúrgico 6/51 (11,7%) dos doentes, após controle clínico da doença e ausência de crises, sendo que três realizaram queiloplastia e três realizaram gengivoplastia, com excelentes resultados. Em relação às respostas aos tratamentos propostos, observamos melhora em 72,7% dos doentes que receberam talidomida, 66% dos doentes que receberam infiltração intralesional de corticosteroide e 63,15% dos doentes que receberam dapsona (Figuras 22, 23, 24, 25 e 26). Os doentes da faixa etária pediátrica receberam tratamentos similares aos dos adultos, apresentando uma tendência à melhor resposta terapêutica com a talidomida.

FONTE: a autora

Figura 27 - A: doente apresentando edema e eritema no lábio inferior e mento. B: após tratamento com dapsona 100 mg/dia

FONTE: a autora

Figura 28 - A: Doente apresentando edema e eritema no lábio superior. B: Após tratamento com infiltração de triancinolona 20 mg/ml

FONTE: a autora

Figura 29 - A: Doente apresentando edema e eritema no lábio superior e inferior. B: Após tratamento com talidomida 200 mg/dia

FONTE: a autora

Figura 30 - A: Doente apresentando edema e eritema no lábio superior e inferior. B: Após tratamento com talidomida 200 mg/dia

FONTE: a autora

Figura 31 - A e D: Doente apresentando edema e eritema no lábio superior e inferior. B e E: Após tratamento com talidomida 200 mg/dia por 6 meses. C e F: Após cirurgia de queiloplastia

5.4 Resultados genéticos

Dos 51 doentes portadores de SMR, avaliamos, por tipificação de HLA classes I e II, 36 doentes (18 mulheres e 18 homens; idade 16-67 anos, média de 41,8 anos) e 297 controles (114 mulheres e 183 homens; idade 1-74 anos, média de 43,03 anos). Como cada paciente apresenta, para cada gene do HLA, um alelo do pai e um alelo da mãe, obtivemos, para a análise estatística dos alelos, dois grupos: $n = 72$ alelos do grupo SMR; $n = 594$ alelos do grupo controle.

5.4.1 Prevalência dos alelos do HLA A em doentes com SMR e controles

Na análise do HLA A, obtivemos 13 grupos. Encontraram-se uma maior expressão do HLA A*02 ($p=0,0269$; OR:1,79) e uma menor expressão do HLA A*01 ($p=0,0046$, OR:0,097) em doentes com SMR quando comparados ao grupo controle (Tabela 6).

Tabela 6 - Resultado do teste do qui-quadrado dos genes HLA A do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle

HLA A	Grupo Síndrome n=72 n (%)	Grupo Controle n=594 n (%)	OR (95% IC)	Significância (p)
A*01	1 (1,39)	75 (12,63)	0,097 (0,009 a 0,538)	0,0046*
A*02	25 (34,72)	136 (22,90)	1,791 (1,045 a 2,973)	0,0269*
A*03	10 (13,89)	50 (8,42)	1,755 (0,8633 a 3,549)	0,1257
A*11	1 (1,39)	35 (5,89)	0,224 (0,021 a 1,317)	0,1105
A*23	6 (8,33)	39 (6,57)	1,294 (0,5606 a 3,146)	0,5725
A*24	4 (5,56)	59 (9,93)	0,533 (0,201 a 1,415)	0,2307
A*25	1 (1,39)	12 (2,02)	0,683 (0,062 a 4,472)	0,7146
A*26	2 (2,78)	16 (2,69)	1,032 (0,2309 a 4,322)	0,9668
A*29	4 (5,56)	30 (5,05)	1,106 (0,4075 a 2,961)	0,8541

continua

Tabela 6 - Resultado do teste do qui-quadrado dos genes HLA A do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle

HLA A	Grupo Síndrome n=72 n (%)	Grupo Controle n=594 n (%)	OR (95% IC)	Significância (p)
A*30	6 (8,33)	38 (6,40)	1,33 (0,5752 a 3,247)	0,5322
A*32	3 (4,17)	15 (2,53)	1,678 (0,5042 a 5,639)	0,4173
A*33	1 (1,39)	27 (4,55)	0,2958 (0,028 a 1,598)	0,2075
A*68	7 (9,72)	33 (5,56)	1,831 (0,7401 a 4,286)	0,1599

FONTE: a autora

OR (95% IC), Odds Ratio (95% intervalo de confiança)

* Significância (p) para OR com a análise do qui-quadrado

5.4.2 Prevalência dos alelos do HLA B em doentes com SMR e controles

Na análise do HLA B, obtivemos 18 grupos. Não se observou aumento ou diminuição significativos das frequências alélicas do HLA B nos doentes com SMR em comparação aos controles (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultado do teste do qui-quadrado dos genes HLA B do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle

HLA B	Grupo Síndrome n=72 n (%)	Grupo Controle n=594 n (%)	OR (95% IC)	Significância (p)
B*07	6 (8,33)	32 (5,39)	1,597 (0,6799 a 3,758)	0,3088
B*08	2 (2,78)	26 (4,38)	0,624 (0,143 a 2,332)	0,5231
B*14	4 (5,56)	38 (6,40)	0,860 (0,320 a 2,397)	0,7814
B*15	9 (12,50)	63 (10,61)	1,204 (0,5742 a 2,464)	0,6250
B*18	2 (2,78)	32 (5,39)	0,501 (0,116 a 1,818)	0,3421
B*35	8 (11,11)	74 (12,46)	0,878 (0,416 a 1,855)	0,7426

continua

conclusão

Tabela 7 - Resultado do teste do qui-quadrado dos genes HLA B do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle

HLA B	Grupo Síndrome n=72 n (%)	Grupo Controle n=594 n (%)	OR (95% IC)	Significância (p)
B*38	2 (2,78)	9 (1,52)	1,857 (0,3951 a 7,262)	0,4273
B*39	4 (5,56)	19 (3,20)	1,78 (0,6382 a 5,285)	0,3010
B*40	4 (5,56)	31 (5,22)	1,068 (0,3943 a 2,845)	0,9038
B*41	2 (2,78)	8 (1,35)	2,093 (0,4391 a 8,736)	0,3457
B*42	2 (2,78)	5 (0,84)	3,366 (0,6575 a 16,01)	0,1282
B*44	7 (9,72)	57 (9,60)	1,015 (0,4292 a 2,322)	0,9726
B*49	2 (2,78)	16 (2,69)	1,032 (0,2309 a 4,322)	0,9668
B*50	2 (2,78)	15 (2,53)	1,103 (0,2456 a 4,15)	0,8979
B*51	9 (12,50)	48 (8,08)	1,625 (0,7596 a 3,432)	0,2056
B*53	3 (4,17)	15 (2,53)	1,678 (0,5042 a 5,639)	0,4173
B*57	1 (1,39)	20 (3,37)	0,404 (0,0382 a 2,292)	0,3644
B*58	3 (4,17)	16 (2,69)	1,571 (0,4743 a 5,162)	0,4783

FONTE: a autora

OR (95% IC), Odds Ratio (95% intervalo de confiança)

* Significância (p) para OR com a análise do qui-quadrado

5.4.3 Prevalência dos alelos do HLA C em doentes com SMR e controles

Na análise do HLA C, obtivemos 13 grupos. Não se observou aumento ou diminuição significativos das frequências alélicas do HLA C nos doentes com SMR em comparação aos controles (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultado do teste do qui-quadrado dos genes HLA C do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle

HLA C	Grupo Síndrome n=72 n (%)	Grupo Controle n=594 n (%)	OR (95% IC)	Significância (p)
C*01	2 (2,78)	14 (2,36)	1,182 (0,2619 a 4,54)	0,8274
C*02	5 (6,94)	33 (5,57)	1,264 (0,5187 a 3,216)	0,6365
C*03	8 (11,11)	70 (11,82)	0,932 (0,442 a 1,977)	0,8591
C*04	11 (15,28)	99 (16,72)	0,898 (0,461 a 1,726)	0,7555
C*05	6 (8,33)	31 (5,24)	1,645 (0,6984 a 3,895)	0,2794
C*06	4 (5,56)	60 (10,14)	0,521 (0,197 a 1,382)	0,2138
C*07	14 (19,44)	111 (18,75)	1,046 (0,5767 a 1,924)	0,8868
C*08	5 (6,94)	44 (7,43)	0,929 (0,386 a 2,270)	0,8811
C*12	5 (6,94)	37 (6,25)	1,119 (0,4618 a 2,797)	0,8192
C*14	3 (4,17)	20 (3,38)	1,243 (0,3814 a 3,841)	0,7298
C*15	4 (5,56)	26 (4,39)	1,281 (0,4684 a 3,518)	0,6535
C*16	3 (4,17)	29 (4,90)	0,844 (0,264 a 2,656)	0,7842
C*17	2 (2,78)	10 (1,69)	1,666 (0,3584 a 7,38)	0,5112

FONTE: a autora

OR (95% IC), Odds Ratio (95% intervalo de confiança)

* Significância (p) para OR com a análise do qui-quadrado

5.4.4 Prevalência dos alelos do HLA DRB1 em doentes com SMR e controles

Na análise do HLA DRB1, obtivemos 12 grupos. Os resultados demonstram que o HLA DRB1*11 teve expressão significativamente maior nos doentes com SMR, cerca de quatro vezes, quando comparados ao grupo controle ($p < 0,0001$; OR:4,009) (Tabela 9). Ademais, nós observamos uma maior frequência do HLA DRB1*13 no grupo SMR, porém sem significância estatística. Além disso, encontraram-se uma menor expressão do HLA DRB1*04 ($p = 0,02$; OR:0,228) e uma menor expressão do HLA DRB1*07 ($p = 0,009$; OR:0,183) no grupo síndrome quando comparado ao grupo controle.

Tabela 9 - Resultado do teste do qui-quadrado dos genes DRB1 do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle

DRB1	Grupo Síndrome n=72 n (%)	Grupo Controle n=594 n (%)	OR (95% IC)	Significância (p)
DRB1*01	7 (9,72)	61 (10,27)	0,941 (0,399 a 2,138)	0,8849
DRB1*03	6 (8,33)	66 (11,11)	0,727 (0,325 a 1,664)	0,4735
DRB1*04	2 (2,78)	66 (11,11)	0,228 (0,053 a 0,844)	0,0274*
DRB1*07	2 (2,78)	80 (13,47)	0,183 (0,043 a 0,670)	0,0091*
DRB1*08	6 (8,33)	40 (6,73)	1,259 (0,5467 a 3,049)	0,6133
DRB1*10	1 (1,39)	13 (2,19)	0,629 (0,058 a 3,997)	0,6551
DRB1*11	20 (27,78)	52 (8,75)	4,009 (2,214 a 7,277)	<0,0001*
DRB1*12	1 (1,39)	16 (2,69)	0,508 (0,047 a 3,033)	0,5074
DRB1*13	15 (20,83)	81 (13,64)	1,667 (0,8787 a 3,076)	0,1006
DRB1*14	4 (5,56)	30 (5,05)	1,106 (0,4075 a 2,961)	0,8541
DRB1*15	7 (9,72)	61 (10,27)	0,941 (0,399 a 2,138)	0,8849
DRB1*16	1 (1,39)	19 (3,20)	0,426 (0,040 a 2,441)	0,3955

FONTE: a autora

OR (95% IC), Odds Ratio (95% intervalo de confiança)

* Significância (p) para OR com a análise do qui-quadrado

5.4.5 Prevalência dos alelos do HLA DQB1 em doentes com SMR e controles

Na análise do HLA DQB1, obtivemos cinco grupos. Encontraram-se uma maior expressão do HLA DQB1*03 ($p=0,01$; OR:1,82) e uma menor expressão no HLA DQB1*02 ($p=0,005$; OR:0,312) em doentes com SMR quando comparados ao grupo controle (Tabela 10).

Tabela 10 - Resultado do teste do qui-quadrado dos genes DQB do grupo síndrome comparados com os genes do grupo controle

DQB	Grupo Síndrome n=72 n (%)	Grupo Controle n=594 n (%)	OR (95% IC)	Significância (p)
DQB1*02	6 (8,33)	134 (22,56)	0,312 (0,143 a 0,721)	0,0051*
DQB1*03	29 (40,28)	160 (26,94)	1,829 (1,122 a 2,978)	0,0177*
DQB1*04	4 (5,56)	46 (7,74)	0,700 (0,262 a 1,905)	0,5057
DQB1*05	13 (18,06)	123 (20,71)	0,843 (0,449 a 1,578)	0,5981
DQB1*06	20 (27,78)	113 (19,02)	1,637 (0,9593 a 2,851)	0,0793

FONTE: a autora

OR (95% IC), Odds Ratio (95% intervalo de confiança)

* Significância (p) para OR com a análise do qui-quadrado

5.4.6 Perfil clínico e padrão de HLA dos doentes com doença de Crohn comprovada

Nosso grupo de doentes apresentava cinco portadores de doença de Crohn (todos comprovados pela colonoscopia com biópsia de intestino), sendo três masculinos e dois femininos, com idade média de 32 anos. Observamos edema orofacial em todos os casos: lábio superior (4/5), lábio inferior (3/5), bochechas (2/5) e gengiva (3/5) (Tabela 11). A SMR foi confirmada com o exame histopatológico da lesão orofacial nos cinco doentes. Em um doente a DC antecedeu o quadro da SMR e esse foi o único caso que apresentou sintomas intestinais de diarreia e dor abdominal. Nos demais quatro doentes, o edema orofacial foi a primeira manifestação clínica, sendo a DC confirmada de 1 a 13 anos após o diagnóstico da SMR. Esses doentes se mantiveram assintomáticos da parte intestinal durante todo o período de acompanhamento.

Tabela 11 - Perfil clínico dos doentes com SMR e doença de Crohn

Caso	Sexo	Idade de início da SMR	Quadro clínico da SMR	Idade ao diagnóstico da doença de Crohn	Sintomas intestinais
1	M	27	Edema e eritema no lábio superior e inferior, bochechas e gengiva + úlceras genitais	29	Não
2	F	45	Edema e eritema gengival	42	Sim
3	F	41	Edema e eritema lábio superior	42	Não
4	M	11	Edema e eritema no lábio superior e inferior e gengiva	24	Não
5	M	25	Edema e eritema no lábio superior e inferior e bochechas	35	Não

FONTE: a autora

Como observamos na tabela abaixo, os doentes portadores de doença de Crohn apresentam perfil de HLA semelhante ao do grupo completo com SMR. Encontramos ainda a expressão do DQB1*05 em três dos cinco doentes avaliados (Tabela 12).

Tabela 12 - Perfil de HLA dos cinco doentes portadores de doença de Crohn

Caso	HLA A alelo 1	HLA A alelo 2	HLA B alelo 1	HLA B alelo 2	HLA C alelo 1	HLA C alelo 2	HLA DRB1 alelo 1	HLA DRB1 alelo 2	HLA DQB1 alelo 1	HLA DQB1 alelo 2
1	A*02 ¹	A*29	B*14	B*44	C*02	C*16	DRB1*11 ¹	DRB1*11 ¹	DQB1*03 ¹	DQB1*05 ²
2	A*02 ¹	A*80	B*38	B*50	C*06	C*12	DRB1*13 ¹	DRB1*14	DQB1*05 ²	DQB1*06
3	A*11	A*68	B*44	B*53	C*04	C*05	DRB1*01	DRB1*13 ¹	DQB1*05 ²	DQB1*06
4	A*30	A*32	B*42	B*51	C*15	C*17	DRB1*03	DRB1*11 ¹	DQB1*03 ¹	DQB1*04
5	A*03	A*03	B*40	B*40	C*03	C*03	DRB1*08	DRB1*08	DQB1*03 ¹	DQB1*03 ¹

FONTE: a autora

¹ Genes encontrados no grupo completo de SMR

² Gene já descrito em doentes com DC caucasianos

5.5 Análise de clusters

Para a análise de *clusters*, foram selecionados entre os doentes com a síndrome somente aqueles que apresentaram expressão dos alelos HLA DRB1*11 e HLA DRB1*13 em homozigose ou heterozigose (28 casos), uma vez que esses alelos foram expressos de forma significativa pelos doentes. Nós identificamos três grupos principais de doentes ($k=3$), como demonstrado pela linha horizontal no gráfico. Após aplicar o algoritmo de *k-modes*, identificamos os grupos de amostras abaixo (Figura 27).

FONTE: a autora

Figura 32 - Dendrograma e análise de *cluster*

Os doentes são plotados em fileiras e os alelos do HLA em colunas. Azul, verde escuro e verde claro indicam, respectivamente, números de alelos altos, intermediários e baixos. O heat map, portanto, propõe três *clusters* principais.

Aplicando a função *k-mode* com $k=3$, obtivemos a separação dos grupos conforme a tabela abaixo (Tabela 13), que indica na coluna “*cluster*” a identificação de cada grupo:

Tabela 13 - Identificação dos grupos de *clusters*

Caso	HLA DRB1 alelo 1	IHLA DRB1 alelo 2	Cluster
1	1	11	1
2	13	15	2
3	11	11	3
4	1	11	1
5	4	11	1
6	8	13	3
8	1	13	1
9	3	11	1
10	1	13	1
11	13	13	2
12	11	11	3
16	1	11	1
18	13	13	2
19	10	11	3
20	13	13	2
21	8	13	3
22	12	13	2
23	8	11	3
26	3	11	1
27	11	14	2
28	1	11	1
29	11	16	2
30	11	13	2
32	13	14	2
33	13	14	2

continua

Tabela 13 - Identificação dos grupos de *clusters*

Caso	HLA DRB1 alelo 1	IHLA DRB1 alelo 2	Cluster
34	11	11	3
35	7	11	3
36	3	11	1

FONTE: a autora

O *cluster* 1 incluiu os doentes que apresentavam um alelo HLA DRB1*11 ou um HLA DRB1*13 associado a um dos HLAs a seguir: HLA DRB1*01; HLA DRB1*03 ou HLA DRB1*04 (número baixos).

O *cluster* 2 incluiu os doentes que apresentavam um alelo HLA DRB1*11 ou um HLA DRB1*13 associado a um dos HLAs a seguir: HLA DRB1*7; HLA DRB1*8; HLA DRB1*10 ou HLA DRB1*11 (números intermediários).

O *cluster* 3 incluiu os doentes que apresentavam um alelo HLA DRB1*11 ou um HLA DRB1*13 associado a um dos HLAs a seguir: HLA DRB1*12; HLA DRB1*13; HLA DRB1*14; HLA DRB1*15 ou HLA DRB1*16 (números altos).

6 DISCUSSÃO

A SMR é doença rara, de causa ainda não conhecida, classificação confusa e incidência exata não estabelecida. Não há na literatura dados sobre a incidência da SMR, porém, em relação à granulomatose orofacial, Hornstein⁷⁹ estimou uma incidência de 80 casos em 100.000 indivíduos por ano.

Esse estudo destinou-se a descrever as características clínicas da SMR observadas no ambulatório de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, referência em doenças orais no país. Encontramos em nosso ambulatório 51 doentes com o diagnóstico de SMR, queilite granulomatosa e granulomatose orofacial. As maiores casuísticas encontradas na literatura são de estudos multicêntricos e revisão de casos da literatura que demonstraram, nos anos de 1962 e 1992, 250 e 220 casos de SMR, respectivamente^{25,80}. Grandes estudos realizados em um único centro acadêmico são reportados por McCartan et al.²⁸, na Irlanda, com 119 doentes, Elias et al.³⁸, na clínica Mayo, com 72 doentes, e por Feng et al.¹², na China, com 44 doentes. Quando utilizamos o termo granulomatose orofacial, entretanto, encontramos séries maiores, de até 215 casos (King's College, Londres)⁸¹.

No perfil clínico dos doentes, observamos características semelhantes a estudos prévios (o resumo dos principais estudos pode ser visto no Anexo G). Não encontramos predisposição de sexo, o que é compatível com a maioria dos relatos anteriores^{10-12,22,28,36,39}, embora alguns autores sugiram uma leve predisposição no sexo feminino^{25,38,82}. Encontramos maior acometimento de homens nos doentes com menos de 18 anos, assim como demonstra a revisão sistemática realizada por Lazzerinni et al.⁴¹. Apesar de poder acometer qualquer faixa etária, a idade média na apresentação clínica foi de 35,6 anos (variando de 10-59), demonstrando que a síndrome tem um perfil de acometimento de adultos jovens, como é visto na literatura, que mostra idade média variando de 14 a 48 anos de idade^{12,36}. Em nossos doentes, observamos uma média de 3,34 anos desde o sintoma inicial até o diagnóstico. Um de nossos doentes demorou 25 anos até o correto diagnóstico e, por isso, a suspeição clínica deve existir, principalmente nas formas monossintomáticas. A SMR pode levar vários anos para ser reconhecida, uma vez que é doença rara, muitas vezes desconhecida e/ou subestimada pelos médicos, e que tem uma

ampla variedade de diagnósticos diferenciais. Encontramos na literatura casos de doentes que demoraram desde poucos meses até 55 anos desde o início dos sintomas até o correto diagnóstico¹².

Em nossa casuística, encontramos três crianças e um adolescente: todos os casos crônicos e resistentes ao tratamento^{83,84}. A SMR na faixa etária pediátrica é rara e de difícil diagnose diferencial⁸⁵. O principal achado clínico nas crianças é o edema orofacial, presente em todos os nossos casos. O quadro clínico e histopatológico, de forma geral, é similar ao encontrado nos adultos, podendo ter diferenças em alguns aspectos: existe um maior acometimento do sexo masculino nos doentes com menos de 18 anos; a paralisia facial como primeira manifestação da SMR é mais comum em crianças do que em adultos; a língua plicada é menos comumente encontrada em crianças; o arsenal terapêutico é limitado devido aos potenciais efeitos colaterais nessa faixa etária^{41,85}. Observamos no presente estudo um maior acometimento do sexo masculino, porém, nenhum dos casos infantis apresentou paralisia facial e a proporção de doentes pediátricos com língua plicada foi similar àquela dos adultos. O diagnóstico precoce é essencial para evitar distúrbios funcionais de longa duração e problemas psicológicos relacionados, principalmente em adolescentes.

O edema orofacial estava presente em todos os nossos 51 casos, assim como nos estudos de Greene e Rogers⁸², Marcoval et al.³⁶ e Elias et al.³⁸. Outros autores demonstraram a presença de edema orofacial variando de 68% até 96%^{10,22}. Em todos os estudos encontrados, o edema orofacial é a característica mais importante da síndrome. A principal região acometida é o lábio, podendo ser predominantemente o superior ou o inferior, dependendo da fonte. Em nosso estudo, o lábio superior foi o principal sítio envolvido, com 78,4% dos casos, seguido do lábio inferior (47%). O envolvimento somente do lábio foi visto em 39% dos casos, o que demonstra que a SMR tem preferência pelo acometimento de mais de uma região orofacial.

O acometimento da gengiva foi notado em 41,1% dos casos, maior do que relatado previamente por Worsaae et al.²², Wiesenfeld et al.¹⁰, Zimmer et al.²⁵, Sciubba et al.¹¹ e McCartan et al.²⁸, que mostram 21%, 22%, 26%, 38,4% e 33% de envolvimento gengival, respectivamente, refletindo um ganho no reconhecimento da síndrome e de

suas manifestações com o passar dos anos. Envolvimento da gengiva, na SMR, pode ser uma manifestação exuberante, apresentando edema, eritema, hipertrofia, ulcerações, sangramento e abscessos, com grande impacto na qualidade de vida^{21,22}. Em dois doentes observamos acometimento gengival exclusivo, com esboços granulomatosos à histopatologia, o que demonstra a importância do exame clínico e histopatológico dessa região, uma vez que essa manifestação pode anteceder o quadro labial e facial e por ser uma localização pouco examinada pelos médicos dermatologistas. Apenas um autor demonstrou acometimento maior que o nosso, com 64% dos doentes apresentando lesões na gengiva³⁹. Lesões no palato foram vistas em 11,7% dos doentes, o que está de acordo com a literatura, que demonstra envolvimento dessa localização em 1% a 33% dos casos da síndrome^{22,28}. Entretanto, nenhum estudo prévio demonstrou as características histopatológicas do palato na SMR, sendo, portanto, o nosso trabalho, o primeiro a demonstrar a presença da palatite granulomatosa.

Encontramos língua plicada e paralisia facial em 51% e 27% dos doentes, respectivamente, o que também é compatível com relatos prévios (língua plicada é relatada na literatura em 2% a 75% dos casos e paralisia facial em 8% a 36%)^{10,12,24,25,28,38}. Demonstramos alguns casos de língua geográfica na nossa casuística, dado não reportado previamente. A tríade completa foi demonstrada na minoria dos doentes (19,6% dos doentes), porém dentro da frequência relatada pela literatura, que varia de 8% a 45% dos casos^{11,12}. Portanto, a presença da tríade completa não é necessária para a confirmação do diagnóstico, uma vez que ela é vista na menor parte dos casos.

Cinco (9,8%) dos nossos doentes apresentavam doença de Crohn. Estudos em doentes espanhóis e holandeses não demonstraram casos de DC nos portadores de GOF^{36,37}; outros estudos mostraram a presença de DC nas seguintes proporções: Elias et al.³⁸ observam 8% de associação com DC em 72 doentes americanos com SMR avaliados; Wiesenfeld et al.¹⁰ relatam 10% em 60 doentes ingleses com GOF; Campbell et al.³⁹ observam 22% em 207 doentes ingleses com GOF e Sciubba et al.¹¹ relatam 46% em 13 doentes americanos com GOF. Podemos observar, portanto, que possivelmente as diferenças genéticas e ambientais entre as populações determinam uma maior ou menor presença da doença inflamatória intestinal, uma vez que esta doença classicamente acomete a população da América do Norte, noroeste da Europa, Austrália e Nova Zelândia^{86,87}. O Brasil é um país com baixa

incidência e prevalência de doença de Crohn⁸⁸, contudo apresentou associação com DC semelhantes a alguns estudos americanos e ingleses. Entre os quatro doentes com menos de 18 anos que encontramos em nossa casuística, um doente masculino desenvolveu DC confirmada por colonoscopia e biópsia de intestino, 13 anos após o diagnóstico inicial de GOF. Um dos doentes pediátricos perdeu o seguimento antes de realizar a colonoscopia e os outros dois doentes estão em seguimento no ambulatório de estomatologia há 5 e 12 anos, respectivamente, sem sinais clínicos de DC. A revisão sistemática realizada por Lazzerini et al.⁴¹ mostrou associação em 40% dos casos pediátricos de GOF com DC, sendo que em 51,4% desses casos a DC surgiu após o surgimento da GOF, dentro dos primeiros três anos do diagnóstico da doença oral^{9,13,40,41}. O surgimento da GOF na faixa etária pediátrica, principalmente quando associado à doença perianal, é considerado por alguns autores um fator preditivo para o surgimento de DC intestinal⁴¹. Possivelmente, o fato de termos em nossa amostra um pequeno número de crianças prejudicou a análise de associação nessa faixa etária. Além disso, a dificuldade de realizar a colonoscopia na faixa etária pediátrica pode ter atrasado o diagnóstico de DC do nosso doente.

Ainda se tratando de nossos doentes com DC (5, 9,8%): em um deles, o diagnóstico da DC antecedeu o quadro da SMR, nos demais, o edema orofacial foi a primeira manifestação clínica. Logo, sugerimos que os doentes portadores de SMR sejam investigados com colonoscopias regulares. A maior parte dos doentes, todavia, não evoluiu para o acometimento intestinal da DC. Isso pode ter ocorrido por alguns fatores: baixa incidência da DC no país; a introdução das medicações para tratamento da SMR pode ter bloqueado o desenvolvimento da DC; 40% dos nossos doentes apresentavam mais de 40 anos, sendo sabido que a probabilidade de desenvolvimento de doença de Crohn é maior nos doentes com início da GOF abaixo dos 40 anos, principalmente em crianças e adolescentes (possivelmente pela falta de regulação da inflamação relacionada com a idade)^{40,89}.

Diversas manifestações neurológicas já foram relatadas nos doentes com SMR, independentes do edema orofacial e, portanto, não relacionadas com compressão de nervos pelo edema. Entre elas, encontram-se a disestesia orofacial, disfagia, alterações na sudorese, blefaroespasma, alteração na produção lacrimal e distúrbios pupilomotores e até alterações no sistema nervoso central como encefalomielite¹. Portanto, em nossa

opinião, a tríade descrita na SMR (edema orofacial, língua plicada e paralisia facial) é incompleta e não engloba todos os possíveis acometimentos da doença. Encontramos em nossa casuística três doentes (5,8%) com sintomas neurológicos concomitantes: um com cefaleia e dois com convulsões. Possivelmente, a falta de uma avaliação neurológica especializada reduziu a percepção de outros acometimentos da doença, devendo esses doentes, portanto, prosseguir com essa avaliação.

Alguns autores demonstraram familiares de doentes com SMR com alguns sinais da doença, embora os estudos não forneçam dados detalhados do tipo de acometimento^{11,54,55}. História familiar foi relatada por apenas um doente, ainda assim, o familiar não foi por nós examinado. Por conseguinte, nossos dados não sugerem um padrão de herança familiar na SMR. Nenhum doente relatou história de alergia alimentar, alergia à prótese ou outro tipo de alergia. Por isso, em nossa opinião, testes alérgicos não devem ser realizados de rotina, a menos que a anamnese sugira associação.

Os doentes que apresentam o quadro de edema orofacial são sempre submetidos à biopsia da lesão. Foram revisados 47 exames histopatológicos por dois examinadores. Foram encontrados esboços granulomatosos ou granulomas bem formados em 66% dos casos, achado compatível com estudos anteriores que reportaram infiltrados granulomatosos em 46% a 82% dos casos^{10,25,28}. Nossos doentes apresentaram, em 34% dos casos, infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular; portanto, a ausência de infiltrado granulomatoso à histopatologia não exclui o diagnóstico de SMR.

Em relação ao momento em que se realiza a biopsia, observamos esboços granulomatosos já em doenças bem iniciais (7 meses), sendo que a maioria dos doentes apresenta esboço granulomatoso e granulomas bem formados no primeiro ano de doença. Além disso, em qualquer fase da doença, o infiltrado granulomatoso é o principal achado (exceto a partir de 15 anos de evolução). Infiltrados inflamatórios linfoplasmocitários puros (sem fibrose) foram observados nos primeiros 3 anos e após 15 anos de doença (ou seja, fases iniciais e tardias). Observamos, portanto, uma tendência de evolução e mudança nas características da doença conforme a duração dos sintomas, podendo-se dividir a doença em três estágios histopatológicos que avançam com o tempo: em fases iniciais ou de longa duração, verifica-se um infiltrado inflamatório linfoplasmocitário

perivascular, seguido de um infiltrado granulomatoso e, posteriormente, a instalação de fibrose em doenças tardias (Figura 28). A fibrose foi encontrada principalmente a partir do quarto ano de evolução da doença. Encontramos também diversas alterações epiteliais, possivelmente sendo um processo reacional ao componente inflamatório da doença.

FONTE: a autora

Figura 33 - Esquema demonstrando a evolução e a mudança da histopatologia com o tempo de evolução da síndrome: a primeira imagem, à esquerda, demonstra um infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular, seguido da formação de um granuloma e, em estádios mais tardios, a fibrose

Nossa primeira escolha para tratamento da SMR é a talidomida 100 mg/dia (para doentes do sexo masculino e mulheres na pós-menopausa) ou a dapsona 100 mg/dia (para mulheres em idade fértil). Nas crises agudas, realizamos a infiltração com triancinolona hexacetonida na diluição de 20 mg/ml, realizando pontos de aplicação de 0,1 ml na região acometida. Para aqueles doentes com associação com DC, nossa preferência é o metronidazol oral 400 mg de 8/8 horas. Nos casos não respondedores, o próximo passo é a introdução de prednisona ou imunossuppressores orais. Os doentes com bom controle da doença, porém mantendo aumento de volume do lábio e da gengiva, na ausência de crises há pelo menos um ano, podem ser encaminhados ao tratamento cirúrgico de queiloplastia ou gengivoplastia. A análise das respostas terapêuticas observadas mostra que a SMR é doença de resposta muito variada aos tratamentos utilizados, havendo doentes que respondem aos

tratamentos mais simples (dapsona, infiltração de corticosteroides), havendo outros nos quais são necessárias drogas cuja ministração é mais complexa (talidomida, azatioprina), havendo também casos em que a resposta terapêutica a todas as tentativas utilizadas é insuficiente ou mesmo inexistente. Não conseguimos, pela observação clínica de nossos pacientes, perceber ou estabelecer nenhum elemento que pudesse se relacionar com melhor ou pior resposta aos tratamentos, sendo esses escalonados conforme houvesse ou não resposta aos tratamentos instituídos.

Em relação à causa da SMR, postula-se a hipótese de origem genética e imunológica da síndrome¹³. Tendo em vista que o sistema de genes do complexo HLA afeta as respostas inflamatórias e imunológicas, principalmente na apresentação de antígenos ao sistema imune dos indivíduos, eles são alvos de estudos e fortes candidatos na determinação da suscetibilidade a diversas doenças⁹⁰. Por isso, nos propusemos a estudar o papel do HLA na SMR. Nosso estudo é o primeiro do mundo a avaliar uma possível associação do perfil de HLA na SMR por metodologia de PCR-SSO e apresenta o maior número de doentes com SMR examinados quanto ao HLA. Realizamos um estudo de caso-controle, visto que a doença é rara e é forma mais acessível para realizar estudos genéticos. Estudamos 36 doentes e 297 controles. O cromossomo 6, onde se localizam os genes do HLA, não está no cromossomo sexual, portanto, não é necessário o pareamento por sexo.

Observamos uma expressão significativamente maior nos doentes com SMR do HLA de classe II, HLA DRB1 * 11, demonstrada pelo *odds ratio* de 4,009 ($p < 0,0001$) em comparação ao grupo controle. Além disso, relatamos outros HLAs que podem indicar suscetibilidade à SMR, como HLAA * 02 ($p = 0,0269$); HLADQB1 * 03 ($p = 0,0177$), assim como uma maior prevalência de HLA DRB1 * 13 no grupo com síndrome, esse último sem significância estatística. O mesmo padrão de HLA encontrado no grupo completo de doentes estudados também foi verificado nos grupos de doentes monossintomáticos ou com a tríade completa, não havendo, portanto, associação entre manifestações clínicas mais ou menos graves com um tipo específico de HLA. Além disso, não observamos diferença no padrão de HLA no grupo de doentes respondedores e não respondedores ao tratamento clínico, nas diversas modalidades propostas.

A importância desses achados genéticos permanece em discussão. As primeiras

associações do complexo HLA com doenças foram descritas no ano de 1967 (doença de Hodgkin e HLA*B), 1970 (leucemia linfocítica aguda e HLA*A02) e 1973 (espondilite anquilosante e HLA B*27)⁹¹⁻⁹³. Desde então, diversas doenças tiveram relatada sua ocorrência mais frequente em indivíduos com HLAs particulares, como: doenças autoimunes (doença celíaca, esclerose múltipla e miastenia), doenças geneticamente herdadas (hiperplasia adrenal e hemocromatose), doenças inflamatórias (artrite reumatóide e psoríase), doenças infecciosas (hepatites e micobacterioses), neoplasias malignas, diabetes insulino dependente e hipersensibilidade a drogas^{91,94-97}. Porém, ainda que se tenha avançado no conhecimento na área de imunogenética, a participação clara dos polimorfismos de HLA nos mecanismos causadores de doenças não é conhecida em todas as patologias. A única doença na qual a participação do complexo HLA é completamente elucidada é a doença celíaca. No estudo da fisiopatologia da doença celíaca, constatou-se que, no intestino humano saudável, as frações normalmente derivadas da gliadina (sem carga elétrica) não se ligam aos HLAs DQ2 e DQ8. Já na doença celíaca, a transglutaminase tecidual 2 (liberada no intestino por algum gatilho desconhecido) converte essas frações sem carga em peptídeos carregados negativamente e, com isso, esses peptídeos alterados conseguem se ligar aos HLAs DQ2 e DQ8 e são apresentados ao sistema imune. Como resultado, ocorre a expansão de linfócitos T CD4+ glúten-específicos, desencadeando a inflamação e o desenvolvimento da doença. A tipagem do HLA DQ2 e do HLA DQ8 é realizada nos doentes em investigação para doença celíaca, apresentando alto valor preditivo negativo, o que mostra a grande importância da tipificação do HLA na propedêutica da doença celíaca^{91,98}.

Com base no conhecimento da doença celíaca, a principal teoria da participação do complexo HLA na gênese de doenças é que os polimorfismos do HLA apresentem peptídeos microbianos, auto-peptídeos desencadeantes de doença ou peptídeos não-próprios alterados no local da doença. Alternativamente, o HLA pode desempenhar um papel causador de patologias através da influência no repertório de células T, incluindo as células T regulatórias, resultando em autorreatividade potencial. Finalmente, o polimorfismo de HLA associado pode não ter um papel direto, mas sim estar em desequilíbrio de ligação com outros genes, atuando simplesmente como um marcador⁹¹. Desequilíbrio de ligação (*linkage disequilibrium*) é a associação não-aleatória de dois ou mais alelos, não necessariamente no mesmo cromossomo, que são herdados juntos⁷³.

Um exemplo clássico dessa situação ocorre na hemocromatose hereditária. Os primeiros estudos genéticos ligaram a doença ao HLA A*03. Estudos posteriores mostraram que o principal gene relacionado com o desenvolvimento da hemocromatose era o gene HFE, e não o HLA A*03. O HLA A*03, na realidade, estava em desequilíbrio de ligação com o gene HFE. O HLA, nesse caso, atua como marcador e não na fisiopatologia da doença propriamente dita⁹⁹.

Nossa pesquisa relatou alguns HLAs que podem atuar como genes de proteção contra SMR, uma vez que tiveram uma expressão menor no grupo com síndrome: HLA A * 01 ($p = 0,0046$); HLA DRB1 * 04 ($p = 0,0274$); HLA DRB1 * 07 ($p = 0,0091$) e HLA DQB1 * 02 ($p = 0,0051$). Acreditamos que esses genes possam agir diminuindo a apresentação de peptídeos alterados (causadores de doenças), com consequente propriedade anti-inflamatória.

Estudos anteriores sugeriram que a suscetibilidade à doença de Crohn (DC) está associada aos alelos do complexo de histocompatibilidade (HLA) classe II DR1, DR3, DR13 e DQ5 na população caucasiana americana^{61,62}, DR7 nas populações francesa e alemã^{63,64} e DR4 e DQ4 na população japonesa⁶⁵. Não encontramos estudos de associação de HLA com a doença de Crohn na população brasileira. Relatamos cinco doentes com SMR associada à doença de Crohn em nosso estudo. Esses cinco doentes com DC e SMR apresentam os genes do HLA semelhantes ao grupo completo com SMR, isto é, apresentam o perfil genético da SMR. Além disso, em três desses cinco doentes (60%) com DC e SMR, observamos a presença do HLA DQB1 * 05, alelo associado à suscetibilidade à doença de Crohn nos doentes caucasianos americanos, isto é, esses três pacientes com DC e SMR apresentam um gene já descrito no perfil genético da DC. O alelo HLA DQB1 * 05 foi expresso no grupo síndrome e no grupo controle em frequência similar (18% x 20%, respectivamente), só sendo observada maior expressão nos doentes com a SMR e a DC associadas (embora não se tenha avaliado a significância estatística desse achado). Logo, embora tenhamos um número pequeno de doentes com DC em nosso estudo e tomando como referência um gene que teve maior expressão em portadores de DC apenas em estudos com caucasianos, sugerimos que as duas doenças podem ser entidades distintas, mas que podem coexistir, demandando um novo estudo específico dos doentes com DC brasileiros.

Os vieses encontrados no nosso estudo foram o tamanho da amostra, uma vez que a SMR é doença rara, e dados clínicos revisados retrospectivamente, o que pode gerar menor qualidade na informação coletada pelo mal preenchimento e pela falta de dados de alguns prontuários. Além disso, é possível que alguns doentes monossintomáticos tenham sido diagnosticados erroneamente e não incluídos em nosso estudo.

A SMR é uma doença complexa e sistêmica, apresentando desde sintomas orofaciais localizados, até quadros mais graves de lesões em toda a face e no sistema nervoso periférico e central. Acreditamos que, por predisposição genética e imunológica, algum fator desencadeador desconhecido, apresentado por polimorfismos de HLAs específicos, provoque o aparecimento desse distúrbio, cuja tríade definidora clássica não cobre adequadamente o espectro da doença.

Devido à presença da variabilidade na nomenclatura (síndrome de Melkersson-Rosenthal, granulomatose orofacial e queilite granulomatosa), faz-se necessária a padronização dos termos para permitir a colaboração útil entre os diversos serviços de Estomatologia/Dermatologia a fim de permitir uma melhor comparação de estudos publicados. Isso também facilitaria os estudos prospectivos longitudinais necessários para esclarecer a história natural da doença e os resultados dos tratamentos.

7 CONCLUSÕES

1. A SMR acomete preferencialmente adultos jovens, sem predileção por sexo. O edema orofacial foi a característica clínica mais comum, visto em todos os doentes. A localização mais comum de acometimento foi o lábio superior (78,4%), com grande proporção de doentes com envolvimento intraoral (principalmente a gengiva). A tríade completa da síndrome foi vista em 19,6% dos casos. Dos doentes do estudo, 9,8% e 5,8% apresentaram doença de Crohn e alterações neurológicas associadas, respectivamente. Não observamos história familiar de SMR. Os tratamentos mais utilizados pelos doentes foram talidomida, dapsona e infiltração intralesional de corticosteroide.

2. A presença de granulomas não caseosos não foi observada em todos os casos: 66% dos exames histopatológicos analisados demonstraram esboços granulomatosos ou granulomas bem formados e 34% infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular. Em estágios tardios da síndrome, as alterações inflamatórias evoluem com fibrose.

3. Houve expressão significativamente maior na SMR de HLA A * 02, HLA DRB1 * 11, HLA DQB1 * 03, assim como uma tendência de maior prevalência de HLA DRB1 * 13. Além disso, nossa pesquisa relatou alguns HLAs que podem atuar como genes de proteção contra SMR: HLA A * 01, HLA DRB1 * 04, HLA DRB1 * 07 e HLA DQB1 * 02. A principal teoria é que os polimorfismos do HLA possam apresentar peptídeos alterados ou peptídeos microbianos no local da doença, além de influenciar no repertório de células T, resultando em potencial autorreatividade. Além disso, essas alterações genéticas podem estar em desequilíbrio de ligação com outros genes, atuando apenas como um marcador da doença. Este é o primeiro estudo genético sobre SMR realizado na América Latina.

- Inferência: os dados genéticos mostram que a Síndrome de Melkersson-Rosenthal e a doença de Crohn são entidades distintas, mas que podem se associar.

8 APOIO FINANCEIRO

Os *kits* LABTypes® SSO utilizados e que fizeram esse trabalho possível foram financiados pela **FUNADERSP** (Fundo de Apoio à Dermatologia de São Paulo - Sebastião Sampaio) processo 2013/23678-2 e **FAPESP** (Fundo de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) processo número 2017/26990-8.

ANEXOS

Anexo A - Protocolo para análise histopatológica

Alterações morfológicas	Frequência (n)
<i>Localização da biopsia</i>	
Lábio superior	
Lábio inferior	
Gengiva	
Palato	
<i>Arquitetura do infiltrado inflamatório</i>	
Granuloma bem formado	
Esboço granulomatoso	
Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário	
<i>Localização do infiltrado inflamatório</i>	
Generalizado	
Focal	
Perivascular	
Perineural	
Ao redor do tecido adiposo	
<i>Intensidade do infiltrado inflamatório</i>	
Leve	
Moderado	
Intenso	
<i>Composição do infiltrado inflamatório</i>	
Linfócitos	
Plasmócitos	
Histiócitos	
Células gigantes multinucleadas	
<i>Alterações epiteliais</i>	
Hiperqueratose	
Hiperortoqueratose	
Hiperparaqueratose	
Granulose	
Acantose	
Espongiose	
Exocitose de linfócitos	
Grânulos de Fordyce	
<i>Lâmina própria</i>	
Edema	
Vasodilatação	
Congestão	
Fibrose	
Mucina	

ANEXO B - Pareceres do comitê de ética em pesquisa (CaPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP)

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil epidemiológico dos pacientes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Pesquisador: Marcelo Menta Simonsen Nico

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50126015.9.0000.0068

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.310.000

Apresentação do Projeto:

A Síndrome de Melkersson-Rosenthal é uma doença rara, composta pela tríade de edema persistente ou recorrente nos lábios ou facial, paralisia facial recorrente e língua fissurada. O quadro clínico da SMR se inicia geralmente na infância ou adultos jovens, com idade média de início dos sintomas de 25-40 anos, sem predisposição racial, e apresenta-se com edema labial recorrente, eventualmente se tornando persistente, resultando em significativa preocupação cosmética e funcional. Podem estar presentes alterações intra-orais. Além disso, outras locais da face também são acometidas, como as regiões periorbital, zigomática, malar e mento.

Entre os diagnósticos diferenciais, encontra-se a hanseníase, sífilis, tuberculose, doença de Crohn e sarcoidose. Alguns autores acreditam que a GOF e a doença de Crohn são a mesma entidade, com manifestações clínicas diferentes.

A etiologia e patogênese da SMR permanecem desconhecidas. Algumas teorias foram propostas para explicar a doença: genética, alergia alimentar, alergia a materiais dentários, infecção e imunológica. Porém, estas não encontram apoio de evidência na literatura.

O manejo dos pacientes com SMR é difícil e muitas vezes frustrante e a probabilidade de remissão é baixa. Existem diversas opções de terapêutica, porém com resultados diversos e imprevisíveis, entre elas podemos citar os corticoides orais e injetáveis, talidomida, dapsona, clofazimina.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira César **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 - Pareceres do comitê de ética em pesquisa (CaPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP)

Continuação do Parecer: 1.310.600

hidroxicloroquina, antibióticos como a tetraciclina, minociclina, isoniazida e metronidazol, entre outros. O objetivo desse estudo será verificar a prevalência da Síndrome de Melkersson-Rosenthal entre os atendimentos realizados no ambulatório de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, as características clínicas da síndrome, fatores etiológicos associados e contribuir com protocolos de tratamento.

Objetivo da Pesquisa:

A Síndrome de Melkersson-Rosenthal é uma doença rara, ainda sem causa definida, cuja prevalência na população e prevalência de cada um dos sintomas da tríade são poucos conhecidos. Além disso, os protocolos de tratamentos atuais são baseados em pequenos estudos.

O estudo será realizado para verificar a prevalência da Síndrome de Melkersson-Rosenthal, granulomatose orofacial e queilite granulomatosa entre os atendimentos realizados no ambulatório de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Além disso, verificar as características clínicas da SMR, possíveis fatores etiológicos associados e contribuir com protocolos de tratamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não apresenta

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Avaliação de protocolos retrospectivos

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados

Recomendações:

Trabalho muito simples, com revisão de prontuários de 2003 a 2015

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não apresenta objeções que mereçam destaque

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)

Endereço: Rua Ovidio 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: cappelq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO B - Pareceres do comitê de ética em pesquisa (CaPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP)

Continuação do Parecer: 1.310.600

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_BASICAS_DO_PROJETO_504721.pdf	16/10/2015 10:15:12		Aceito
Brochura Pesquisa	Cadastroonline5.pdf	16/10/2015 10:14:02	Marcello MEnta Simonsen Nioo	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadastroonline4.pdf	16/10/2015 10:13:52	Marcello MEnta Simonsen Nioo	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadastroonline3.pdf	16/10/2015 10:13:34	Marcello MEnta Simonsen Nioo	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadastroonline2.pdf	16/10/2015 10:13:20	Marcello MEnta Simonsen Nioo	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadastroonline.pdf	16/10/2015 10:13:05	Marcello MEnta Simonsen Nioo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Autorizacao.docx	16/10/2015 10:09:17	Marcello MEnta Simonsen Nioo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	16/10/2015 09:50:46	Marcello MEnta Simonsen Nioo	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	16/10/2015 09:50:10	Marcello MEnta Simonsen Nioo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 05 de Novembro de 2015

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: cappelq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO B - Pareceres do comitê de ética em pesquisa (CaPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP)

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Perfil epidemiológico dos pacientes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Pesquisador: Marcello MEnta Simonsen Nico

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 50126015.9.0000.0068

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

Patrocinador Principal: SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.735.277

Apresentação do Projeto:

A Síndrome de Melkersson-Rosenthal é uma doença rara, composta pela tríade de edema persistente ou recorrente nos lábios ou facial, paralisia facial recorrente e língua fissurada. O quadro clínico da SMR se inicia geralmente na infância ou adultos jovens, com idade média de início dos sintomas de 25-40 anos, sem predisposição racial, e apresenta-se com edema labial recorrente, eventualmente se tornando persistente, resultando em significante preocupação cosmética e funcional. Podem estar presentes alterações intra-orais. Além disso, outras locais da face também são acometidas, como as regiões periorbital, zigomática, malar e mento. Entre os diagnósticos diferenciais, encontra-se a hanseníase, sífilis, tuberculose, doença de Crohn e sarcoidose. Alguns autores acreditam que a GOF e a doença de Crohn são a mesma entidade, com manifestações clínicas diferentes. A etiologia e patogênese da SMR permanecem desconhecidas. Algumas teorias foram propostas para explicar a doença: genética, alergia alimentar, alergia a materiais dentários, infecção e imunológica. Porém, estas não encontram apoio de evidência na literatura. O manejo dos pacientes com SMR é difícil e muitas vezes frustrante e a probabilidade de remissão é baixa. Existem diversas opções de terapêutica, porém com resultados diversos e imprevisíveis, entre elas podemos citar os corticoides orais e injetáveis, talidomida, dapsona, clofazimina, hidroxiclороquina, antibióticos como a tetraciclina, minociclina, isoniazida e

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 - Pareceres do comitê de ética em pesquisa (CaPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP)

Continuação do Parecer: 1.735.277

metronidazol, entre outros. O objetivo desse estudo será verificar a prevalência da Síndrome de Melkersson-Rosenthal entre os atendimentos realizados no ambulatório de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, as características clínicas da síndrome, fatores etiológicos associados e contribuir com protocolos de tratamento. Além disso, como emenda ao projeto inicial, determinaremos os tipos de antígenos leucocitários humanos (HLA) apresentados pelos pacientes, por métodos moleculares atuais.

Objetivo da Pesquisa:

A Síndrome de Melkersson-Rosenthal é uma doença rara, ainda sem causa definida, cuja prevalência na população e porcentagem de cada um dos sintomas da tríade são poucos conhecidos. Além disso, os protocolos de tratamentos atuais são baseados em pequenos estudos.

O estudo será realizado para verificar a prevalência da Síndrome de Melkersson-Rosenthal, granulomatose orofacial e queilite granulomatosa entre os atendimentos realizados no ambulatório de Estomatologia do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Além disso, verificar as características clínicas da SMR, possíveis fatores etiológicos associados, entre eles o perfil de HLA dos pacientes e contribuir com protocolos de tratamento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS:

A picada da agulha pode levar a um leve desconforto que passará em poucos minutos. Um dia após pode se sentir em torno da picada uma mancha roxa que desaparece em poucos dias sem maiores problemas.

BENEFÍCIOS:

1. Para a pesquisa: a elucidação do perfil epidemiológico de uma doença tão rara e de possíveis correlações entre a GOF e a Doença de Crohn. Além disso, desvendar possíveis formas de transmissão genética e formas de aconselhamento genético.
2. Para os pacientes: ajuda no manejo terapêutico dessa doença, formas de prevenção e aconselhamento genético. Esse estudo poderá ser a base para futuros projetos em busca de tratamentos com alvo genético.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão avaliados os prontuários dos pacientes com SMR, dos quais serão retirados os registros de:

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

ANEXO B - Pareceres do comitê de ética em pesquisa (CaPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP

Continuação do Parecer: 1.735.277

anamnese, com busca à história pregressa de infecções, medicações, cirurgias e alergias, idade do paciente, sexo, idade do início dos sintomas, idade ao diagnóstico, o exame físico da cavidade oral e extra-oral, presença de língua fissurada e paralisia facial, comorbidades, sintomas neurológicos, sintomas gastrointestinais, exames anatomopatológicos progressos, colonoscopias já realizadas, tratamentos recebidos e história familiar.

Indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa:

40

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foi apresentado emenda propondo as seguintes alterações tipificar os HLAs dos pacientes acometidos e, com isso, desvendar possíveis formas de transmissão genética e formas de aconselhamento genético das famílias acometidas, associação dos padrões de HLA com o perfil de gravidade da síndrome, resposta e refratariedade ao tratamento. O estudo poderá ser a base para futuros projetos em busca de tratamentos com alvo genético. O projeto envolve a coleta, nos voluntários da pesquisa, de 5mL de sangue venoso por flebotomia, procedimento que apresenta risco considerado MÍNIMO. Um único estudo inglês prévio tipificou o HLA por metodologia antiga de reação sorológica antígeno-anticorpo de uma população pequena (16 pacientes) portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal e revelou associação com alguns tipos de HLA's, particularmente o HLA A3, HLA B7 e HLA DR2 (Gibson e Wray, 2000). Porém, não existe na literatura até o momento, estudo de tipificação de HLA com populações maiores do que a previamente relatada, ou estudos realizados por métodos moleculares atualmente disponíveis, como por exemplo o PCR-SSO.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não apresenta óbices que impeçam sua aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_659074	05/08/2016		Aceito

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 - Pareceres do comitê de ética em pesquisa (CaPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP)

Continuação do Parecer: 1.735.277

Básicas do Projeto	E1.pdf	08:36:53		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	03/08/2016 22:05:23	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Outros	formularioparasubmissaodeemenda.pdf	02/08/2016 22:05:46	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Orçamento	orcamento.pdf	02/08/2016 22:00:23	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Outros	Cartaacappesq.pdf	02/08/2016 21:55:21	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Brochura Pesquisa	Emenda.docx	09/07/2016 20:09:34	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadaastroonline5.pdf	16/10/2015 10:14:02	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadaastroonline4.pdf	16/10/2015 10:13:52	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadaastroonline3.pdf	16/10/2015 10:13:34	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadaastroonline2.pdf	16/10/2015 10:13:20	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Brochura Pesquisa	Cadaastroonline.pdf	16/10/2015 10:13:05	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Autorizacao.docx	16/10/2015 10:09:17	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	16/10/2015 09:50:46	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	16/10/2015 09:50:10	Marcello MEnta Simonsen Nico	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Avaliação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 20 de Setembro de 2016

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 C - TCLE – Protocolo de Pesquisa “Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP”

TCLE – Protocolo de Pesquisa
 “Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP”

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

Assinale: **Sujeito da Pesquisa () ou Responsável Legal* ()**

Nome: _____
 Data de Nascimento: _____ Idade: _____ Sexo: M() F()
 Profissão: _____ Estado civil: _____
 RG: _____ CPF: _____
 Endereço: _____
 Complemento: _____ Bairro: _____
 CEP: _____ Cidade: _____ Estado: _____
 Tel: _____ Cel: _____
 E-mail: _____
 *Caso seja o **Responsável Legal**, diga o grau de parentesco: _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. Título do protocolo de pesquisa: “Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP”

Pesquisadores: Marcello Menta Simonsen Nico/ Camila Fátima Biancardi Gavioli
 Cargo/Função: Professor Doutor/ Médica dermatologista aluna da Pós-Graduação
 Unidade do HCFMUSP: Departamento de Dermatologia

3. Avaliação do risco da pesquisa:

RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO ☐
 RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4. Duração da pesquisa : 3 anos.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável legal: _____

Rubrica da pesquisadora: _____

Anexo C - TCLE – Protocolo de Pesquisa “Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP”

TCLE – Protocolo de Pesquisa
“Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no
Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de
Medicina da USP”

1. **Desenho do estudo e objetivos:** O estudo tem como objetivo estudar e entender melhor a sua doença (Síndrome de Melkersson-Rosenthal). A Síndrome de Melkersson-Rosenthal é uma doença rara, composta pela tríade de edema persistente ou recorrente nos lábios e/ou facial, paralisia facial recorrente e língua plicada (fissurada). Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa analisar o padrão genético em doentes com Síndrome de Melkersson-Rosenthal.
2. **Descrição dos procedimentos que serão realizados:** com seus propósitos e identificação dos que forem experimentais e não rotineiros: serão realizados exames laboratoriais, raio X de tórax e colonoscopia. Os exames serão feitos no próprio Hospital das Clínicas sem nenhum custo para o paciente, que pode aproveitar o dia da consulta para realizar a coleta das amostras de sangue. Os doentes continuarão a ser acompanhados como sempre no ambulatório da Estomatologia. Se houver a necessidade de mais algum exame, você poderá ser ainda convocado via telefone ou carta para vir a uma consulta, mesmo antes do seu retorno e terá todos os esclarecimentos e assistência que precisar. Todos os doentes terão acesso aos resultados de seus exames no momento em que quiserem e com as explicações necessárias para seu entendimento. O paciente pode em qualquer momento não concordar em fazer os exames que serão pedidos.
3. **Data e local para realização da pesquisa:** A pesquisa será realizada às terças-feiras, no horário das 8:00 às 12:00 horas, no Ambulatório de Estomatologia, sala 9, Bloco 2B - Divisão de Dermatologia, no 5º Andar do Prédio dos Ambulatórios (PAMB) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, localizado na Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 - São Paulo - SP - CEP: 05403-900.
4. **Realização dos procedimentos rotineiros e como serão realizados:** Serão coletados 5 ml (uma colher de sopa) de sangue venoso periférico por punção periférica da veia do antebraço. As amostras serão enviadas para o laboratório para serem analisadas.
5. **Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos dos itens 2 e 3:** A picada da agulha pode levar a um leve desconforto que passará em poucos minutos. Um dia após pode se sentir em torno da picada uma mancha roxa que desaparece em poucos dias sem maiores problemas.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável legal _____

Rubrica da pesquisadora: _____

Anexo C - TCLE – Protocolo de Pesquisa “Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP”

TCLE – Protocolo de Pesquisa
 “Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no
 Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de
 Medicina da USP”

6. **Benefícios para o participante:** Sua colaboração é de extrema importância para o avanço do conhecimento científico. Com esse projeto, tentaremos desvendar possíveis formas de transmissão genética e formas de aconselhamento genético da sua família. Além disso, faremos a associação dos padrões genéticos encontrados com o perfil de gravidade da síndrome, resposta e refratariedade ao tratamento. Esse estudo poderá ser a base para futuros projetos em busca de tratamentos com alvo genético.
7. **Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar:** Você não é obrigado a realizar estes procedimentos específicos se não quiser, o que não implica que sofrerá alguma penalidade. Mesmo que não concorde em participar do estudo, terá todos os benefícios de atendimento e de informações sobre novas descobertas com relação a doença.
8. **Garantia de acesso:** A qualquer tempo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas e para dar sua opinião. O principal pesquisador é o Prof. Dr. Marcello Menta Simonsen Nico (CRMSP 63357) e a pesquisadora executante é a aluna de mestrado Camila Fátima Biancardi Gavioli (CRMSP 152441). Ambos poderão ser encontrados no Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, localizado na Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, Cerqueira César- São Paulo- SP- CEP 05403-000. Você também poderá entrar em contato pelo e-mail dracamilagavioli@gmail.com ou pelo telefone (011) 26613346. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5o andar – tel.: 3069-6442. FAX: 3069-6442. E-mail: cappesq@hcnet.usp.br
9. **É garantida a liberdade de retirada** deste consentimento e de abandono do estudo a qualquer momento, sem prejuízo à continuidade do seu tratamento na Instituição. Você tem direito de confidencialidade e as informações obtidas serão analisadas em conjunto, não sendo divulgada a identificação de nenhuma paciente. É seu direito ser informado sobre os resultados parciais e finais que sejam do conhecimento dos pesquisadores.
10. **Direito de confidencialidade:** As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros doentes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente.
11. **Direito de ser mantido atualizado** sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável legal: _____

Rubrica da pesquisadora: _____

Anexo C - TCLE – Protocolo de Pesquisa “Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP”

TCLE – Protocolo de Pesquisa

“Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP”

- 12. Despesas e compensações:** não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada a sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa;
- 13. Compromisso do pesquisador** de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Perfil epidemiológico dos doentes portadores de Síndrome de Melkersson-Rosenthal atendidos no Ambulatório de Estomatologia da Divisão de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP”. Eu discuti com o Dr. Marcello Menta Simonsen Nico/ Camila Fátima Biancardi Gavioli sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

São Paulo, Data: / /

Assinatura do paciente/representante legal

Assinatura da testemunha

Para casos de doentes menores de 18 anos, analfabetos, semianalfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntaria o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo. Data: / /

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável legal: _____

Rubrica da pesquisadora: _____

Anexo D - Clusterização e algoritmo *K-modes*

A clusterização é uma ferramenta valiosa para explorar dados e reconhecer padrões. Permite olhar para as informações e resultados obtidos, perceber semelhanças e organizar os dados em subgrupos (ou *clusters*). O objetivo da clusterização, portanto, é colocar em um mesmo grupo objetos semelhantes.

Para a análise de *cluster* nesse estudo foi utilizado o software R versão 3.4.3, com auxílio da função `heatmap.2`, disponíveis no pacote `gplots` (versão 3.0.1). Foram seguidas as seguintes etapas:

- 1) Computação das distâncias entre cada amostra;
- 2) Utilização de algoritmos de agrupamento: clusterização hierárquica, na qual cada amostra é atribuída a seu próprio grupo e, sem seguida, o algoritmo continua iterativamente em cada etapa, juntando as amostras aos clusters mais semelhantes até que sobre apenas um grupo maior principal;
- 3) Finalização do algoritmo com a formação do dendograma, como o do exemplo (Figura 29):

FONTE: Irizarry RA, Love MI. *Data Analysis for the Life Sciences*. Leanpub book; 2015

Figura 29 - Dendograma demonstrando a clusterização hierárquica

- 4) A clusterização hierárquica demonstrada acima decifra a distância entre quaisquer dois grupos, olhando para a altura na qual os dois grupos são divididos em dois. Porém, ainda não definiu os clusters específicos. Para isso, o programa define o

número de clusters principais (número k). Tendo o número K , é possível “cortar a árvore” e obter os grupos de amostras, como demonstrado no exemplo abaixo (Figura 30):

FONTE: Irizarry RA, Love MI. *Data Analysis for the Life Sciences*. Leanpub book; 2015

Figura 30 - Dendrograma demonstrando a clusterização hierárquica. A linha horizontal define os *clusters* atuais

- 5) Com o uso da função *K-mode* obtém-se a separação dos grupos finais;
- 6) Apresentação do heatmap, que são gráficos úteis para a visualização dos dados contidos nos *clusters*. O dendrograma sempre é adicionado ao topo, e para cada possibilidade de resposta, é dada uma cor diferente, conforme o exemplo (Figura 31):

FONTE: Irizarry RA, Love MI. *Data Analysis for the Life Sciences*. Leanpub book; 2015

Figura 31 - Heatmap criado pela função heatmap.2

Anexo E - Tabela com as características clínicas dos 51 doentes com SMR

Caso	Sexo	Idade do início dos sintomas	Idade ao diagnóstico	Localização da lesão	Paralisia facial	Língua plicada	Lesões intra-orais
1	F	39	53	Lábio superior, malar, mento, supralabial	não	sim	não
2	F	35	38	Lábio inferior	sim ¹	sim	sim: gengiva
3	F	52	58	Lábio superior	não	não	não
4	M	25	27	Lábio superior e inferior	não	não	sim: gengiva
5	M	11	12	Lábio superior	não	sim	sim: gengiva superior
6	M	NI	37	Lábio superior e malar	não	não	palato
7	M	30	31	Lábio superior e malar bilateral	não	sim	sim: gengiva
8	F	18	24	Lábio superior e inferior	sim ²	sim	não
9	F	42	42	Lábio superior	não	não	periodontite
10	M	12	12	Lábio superior e inferior	não	não	sim: gengiva
11	M	19	21	Lábio superior e malar bilateral	não	sim	não
12	F	NI	27	Lábio superior e inferior	não	não	sim: gengiva
13	M	27	31	Lábio inferior	sim ²	sim	não
14	F	30	43	Lábios	sim ¹	sim	não
15	F	52	52	Gengiva	não	não	sim: gengiva
16	M	32	36	Lábio superior	não	não	não
17	M	NI	NI	Lábio superior e inferior, malar bilateral	não	não	não
18	M	49	50	Lábio inferior e mento	não	não	não
19	M	8	19	Pálpebras, fronte e malar	sim ¹	não	não
20	M	28	36	Lábio superior, nasogeniano e gengiva e palato	não	não	sim: gengiva e palato
21	M	9	10	Lábio superior e gengiva	não	sim	sim: gengiva

Anexo E - Tabela com as características clínicas dos 51 doentes com SMR

Caso	Sexo	Idade do início dos sintomas	Idade ao diagnóstico	Localização da lesão	Paralisia facial	Língua plicada	Lesões intra-orais
22	F	57	59	Lábio inferior, mento e gengiva	não	não	sim: gengiva inferior
23	M	NI	NI	Lábio superior, malar D e gengiva	sim ¹	não	sim: gengiva e palato duro
24	F	5	25	labio superior e inferior, face e gengiva	sim ²	não	sim: gengiva e palato
25	F	36	36	Lábio inferior	sim ²	sim	não
26	M	47	49	Lábio superior e inferior e gengiva	não	sim	sim: gengiva e palato
27	F	NI	29	Lábio superior	sim ²	não	não
28	M	49	50	Lábio superior e hemiface D	não	não	não
29	F	55	58	Lábio inferior e malar bilateralmente	não	não	não
30	F	38	49	labio superior e palpebra bilateral	sim ²	sim	não
31	M	28	34	Lábio superior	sim ²	sim	não
32	F	23	25	labio superior e inferior, face	não	não	não
33	F	26	27	Lábio superior, hemiface E e gengiva	não	sim	sim: gengiva
34	F	55	56	Lábio superior e inferior	sim ¹	sim	não
35	F	47	52	Lábio superior, malar, dorso nasal, supralabial e gengiva	não	não	sim: gengiva superior
36	F	22	23	Lábio superior e inferior e gengiva	não	sim	sim: gengiva
37	M	24	27	Lábio superior e inferior e gengiva	sim ¹	sim	sim: gengiva
38	M	18	19	Lábio inferior e gengiva	não	não	sim: gengiva
39	F	10	25	Lábio superior	não	sim	não
40	F	21	22	Lábio superior e inferior	não	sim	não
41	M	32	43	Lábio superior	não	sim	não
42	M	NI	NI	Lábio superior e inferior e gengiva	não	não	sim: gengiva
43	f	NI	28	Lábio superior	não	sim	não

continua

conclusão

Anexo E - Tabela com as características clínicas dos 51 doentes com SMR

Caso	Sexo	Idade do início dos sintomas	Idade ao diagnóstico	Localização da lesão	Paralisia facial	Língua plicada	Lesões intra-orais
44	F	42	44	Lábio superior	não	não	não
45	F	16	17	Lábio superior	não	sim	sim: gengiva e palato
46	F	45	45	Gengiva	não	não	sim: gengiva
47	F	57	58	Lábio superior	não	sim	não
48	M	NI	39	Lábios	não	sim	não
49	M	27	38	Lábio superior e inferior	não	sim	não
50	M	40	43	Lábio superior e supralabial	não	não	não
51	M	44	45	Lábio inferior	sim ¹	sim	não

Anexo F - Tabela de correlação entre tempo de doença e achados histopatológicos

Caso	Tempo de doença	Resultado
<i>Até 1 ano</i>		
1	6 meses	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário
2	7 meses	Esboço granulomatoso
3	1 ano	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário
4	1 ano	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário
5	1 ano	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário + fibrose
6	1 ano	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário + fibrose
7	1 ano	Esboço granulomatoso
8	1 ano	Esboço granulomatoso
9	1 ano	Esboço granulomatoso
10	1 ano	Esboço granulomatoso+ fibrose
11	1 ano	Granuloma bem formado
12	1 ano	Granuloma bem formado
13	1 ano	Granuloma bem formado
14	1 ano	Granuloma bem formado
<i>De 2 a 5 anos</i>		
15	2 anos	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário + fibrose
16	2 anos	Esboço granulomatoso
17	2 anos	Esboço granulomatoso +fibrose
18	2 anos	Granuloma bem formado
19	2 anos	Esboço granulomatoso
20	3 anos	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário
21	3 anos	Esboço granulomatoso +fibrose
22	3 anos	Granuloma bem formado
23	3 anos	Esboço granulomatoso
24	4 anos	Fibrose
25	4 anos	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário + fibrose
26	4 anos	Esboço granulomatoso
27	4 anos	Fibrose

continua

conclusão

Anexo F - Tabela de correlação entre tempo de doença e achados histopatológicos

Caso	Tempo de doença	Resultado
28	5 anos	Granuloma bem formado + fibrose
29	5 anos	Esboço granulomatoso
	<i>Acima de 5 anos</i>	
30	6 anos	Fibrose
		Infiltrado inflamatório
31	6 anos	linfoplasmocitário + fibrose
32	6 anos	Esboço granulomatoso
33	8 anos	Granuloma bem formado
34	9 anos	Esboço granulomatoso
35	9 anos	Esboço granulomatoso +fibrose
36	11 anos	Esboço granulomatoso
37	14 anos	Esboço granulomatoso+ fibrose
38	15 anos	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário
39	18 anos	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário
40	20 anos	Infiltrado inflamatório linfoplasmocitário

Anexo G - Tabela com resumo dos dados clínicos da SMR dos principais artigos. NI: não informado

Estudo	Número de casos	Sexo	Idade (média)	Tempo de sintomas até o diagnóstico (média)	Acometimento principal	Acometimento labial	Gengiva	Palato	Língua plicada	Paralisia facial	Triade completa
Worsaae et al.22	33	F=M	2-81 anos (25)	6 meses -31 anos (6 anos e 1/2)	Lábio (96%)	NI	21%	33%	40%	20%	18%
Wisensfeld et al.10	60	F=M	3-61 anos (20)	1 mês -8 anos (2 anos)	Lábio (68%) Face (47%)	Inferior (50%) Superior (45%) Ambos (68%)	22%	0%	2%	13%	NI
Greene et al.82	36	2F:1M	NI	NI	Edema orofacial (100%)	NI	NI	NI	50%	47%	25%
Zimmer et al.25	42	2F:1M	6-73 anos (33.8)	NI	Lábio (74%) Face (50%)	Superior (60%) Inferior (36%)	26%	10%	50%	36.0%	NI
Campbell et al.39	207	F=M	2-73 anos (23)	NI	Lábio (91%)	Inferior (68%) Superior (61%) Ambos (42%)	64%	23%	NI	NI	2%

continua

Anexo G - Tabela com resumo dos dados clínicos da SMR dos principais artigos. NI: não informado

Estudo	Número de casos	Sexo	Idade (média)	Tempo de sintomas até o diagnóstico (média)	Acometimento principal	Acometimento labial	Gengiva	Palato	Língua plicada	Paralisia facial	Triade completa
Sciubba et al.11	13	F=M	25-89 anos (47)	NI	Lábio (76,9%) Face (15,38%)	Inferior (53,84%) Superior (30,76%) Ambos (7,6%)	38.46%	15.38%	38.46%	0%	0%
McCartan et al.28	119	F=M	5-84 anos (28)	1-360 semanas (12 semanas)	Edema orofacial (96%): Lábio (77%) Face (24%)	Inferior (63%) Superior (63%) Ambos (35%)	33%	1%	17%	8.00%	NI
Marcoval et al.36	20	F=M	24-75 anos (48)	2-24 meses (8 meses)	Lábio (100%)	Superior(65%) Inferior (35%)	NI	NI	45%	10.00%	10%
Elia et al.38	72	2F:1M	8-79 anos (39)	1-35 anos (4 anos)	Edema orofacial (100%): Lábio (74%) Face (26%)	NI	NI	NI	47.00%	19.4%	13%
Feng et al.12	44	F=M	1-50 anos (14.1)	1 mês-55 anos (8.6 anos)	Edema orofacial (70.5%)	NI	NI	NI	75%	100%	45.5%

REFERÊNCIAS*

- 1 Hornstein OP. Melkersson-rosenthal syndrome--a challenge for dermatologists to participate in the field of oral medicine. *J Dermatol.* 1997;24 5:281-96.
- 2 Grave B, McCullough M, Wiesenfeld D. Orofacial granulomatosis--a 20-year review. *Oral Dis.* 2009;15 1:46-51.
- 3 Critchlow WA, Chang D. Cheilitis granulomatosa: A review. *Head Neck Pathol.* 2014;8 2:209-13.
- 4 Liu R, Yu S. Melkersson-rosenthal syndrome: A review of seven patients. *J Clin Neurosci.* 2013;20 7:993-5.
- 5 Fitzpatrick L, Healy CM, McCartan BE, Flint SR, McCreary CE, Rogers S. Patch testing for food-associated allergies in orofacial granulomatosis. *J Oral Pathol Med.* 2011;40 1:10-3.
- 6 van der Waal RI, Schulten EA, van de Scheur MR, Wauters IM, Starink TM, van der Waal I. Cheilitis granulomatosa. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2001;15 6:519-23.
- 7 Grave B, McCullough M, Wiesenfeld D. Orofacial granulomatosis - a 20-year review [Article]. *Oral Diseases.* 2009;15 1:46-51.
- 8 Archibald CW, Punja KG, Oryschak AF. Orofacial granulomatosis presenting as bilateral eyelid swelling. *Saudi J Ophthalmol.* 2012;26 2:177-9.
- 9 Bogenrieder T, Rogler G, Vogt T, Landthaler M, Stolz W. Orofacial granulomatosis as the initial presentation of crohn's disease in an adolescent. *Dermatology.* 2003;206 3:273-8.
- 10 Wiesenfeld D, Ferguson MM, Mitchell DN, MacDonald DG, Scully C, Cochran K, et al. Oro-facial granulomatosis--a clinical and pathological analysis. *Q J Med.* 1985;54 213:101-13.
- 11 Sciubba JJ, Said-Al-Naief N. Orofacial granulomatosis: Presentation, pathology and management of 13 cases. *J Oral Pathol Med.* 2003;32 10:576-85.
- 12 Feng S, Yin J, Li J, Song Z, Zhao G. Melkersson-rosenthal syndrome: A retrospective study of 44 patients. *Acta Otolaryngol.* 2014;134 9:977-81.

* De acordo com: 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 da FMUSP*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely C. Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011. Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

- 13 Miest R, Bruce A, Rogers RS. Orofacial granulomatosis [Article]. *Clinics in Dermatology*. 2016;34 4:505-13.
- 14 Liu RZ, Yu SY. Melkersson-rosenthal syndrome: A review of seven patients [Review]. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2013;20 7:993-5.
- 15 Gibson J, Wray D. Human leucocyte antigen typing in orofacial granulomatosis. *Br J Dermatol*. 2000;143 5:1119-21.
- 16 Stosiek N, Simon M, Meisel-Stosiek M, Hornstein OP. [hla typing in patients with melkersson-rosenthal syndrome]. *Z Hautkr*. 1987;62 20:1476, 9-82.
- 17 E M. Ett fall recidiverande facialispares i samband med angioneurotiskt odem. *Hygiea, Stockh*; 1928, 90, pp 737-41.
- 18 C R. Klinisch-erbblologischer beitrage zur konstitutionspathologie. Gemeinsames auftreten von (rezidivierender familiarer). FacialisHihmung, angioneurotischem GesichtsSdem und Lingua plicata in Arthritismus-Familien *Z Ges Neurol Psychiat*; 1931, pp 475-501.
- 19 Luscher E. Syndrom von melkersson-rosenthal. *Schweiz Med Wschenschr*; 1949, 79, pp 1-3.
- 20 G M. Über essentielle granulomatöse makrocheilie (cheilitis granulomatosa). *Dermatologica*; 1945, 91, pp 57-85.
- 21 Lourenço SV, Lobo AZ, Boggio P, Fezzi F, Sebastião A, Nico MM. Gingival manifestations of orofacial granulomatosis. *Arch Dermatol*. 2008;144 12:1627-30.
- 22 Worsaae N, Christensen KC, Schiødt M, Reibel J. Melkersson-rosenthal syndrome and cheilitis granulomatosa. A clinicopathological study of thirty-three patients with special reference to their oral lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982;54 4:404-13.
- 23 Zeng W, Geng S, Niu X, Yuan J. Complete melkersson-rosenthal syndrome with multiple cranial nerve palsies. *Clin Exp Dermatol*. 2010;35 3:272-4.
- 24 Tan Z, Zhang Y, Chen W, Gong W, Zhao J, Xu X. Recurrent facial palsy in melkersson rosenthal syndrome: Total facial nerve decompression is effective to prevent further recurrence. *Am J Otolaryngol*. 2015;36 3:334-7.
- 25 Zimmer WM, Rogers RS, Reeve CM, Sheridan PJ. Orofacial manifestations of melkersson-rosenthal syndrome. A study of 42 patients and review of 220 cases from the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1992;74 5:610-9.
- 26 Rozen TD. Melkersson-rosenthal syndrome presenting as a new daily persistent headache: Relief with dapsone. *Cephalalgia*. 2001;21 9:924-5.
- 27 Narbutt P, Dziki A. Re: Melkersson-rosenthal syndrome as an early manifestation of crohn's disease. *Colorectal Dis*. 2005;7 4:420-1.

- 28 McCartan BE, Healy CM, McCreary CE, Flint SR, Rogers S, Toner ME. Characteristics of patients with orofacial granulomatosis. *Oral Dis.* 2011;17 7:696-704.
- 29 Kaminagakura E, Jorge J. Melkersson rosenthal syndrome: A histopathologic mystery and dermatologic challenge. *J Cutan Pathol.* 2011;38 2:241-5.
- 30 Freysdottir J, Zhang S, Tilakaratne WM, Fortune F. Oral biopsies from patients with orofacial granulomatosis with histology resembling crohn's disease have a prominent th1 environment. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13 4:439-45.
- 31 MacFadyen EE, Ferguson MM. Pitcairne's disease: An historical presentation of oro-facial granulomatosis. *J R Soc Med.* 1996;89 2:77-8.
- 32 Ratzinger G, Sepp N, Voetseder W, Tilg H. Cheilitis granulomatosa and melkersson-rosenthal syndrome: Evaluation of gastrointestinal involvement and therapeutic regimens in a series of 14 patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2007;21 8:1065-70.
- 33 Sanderson J, Nunes C, Escudier M, Barnard K, Shirlaw P, Odell E, et al. Oro-facial granulomatosis: Crohn's disease or a new inflammatory bowel disease? *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11 9:840-6.
- 34 Lourenço SV, Hussein TP, Bologna SB, Sipahi AM, Nico MM. Oral manifestations of inflammatory bowel disease: A review based on the observation of six cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2010;24 2:204-7.
- 35 Harty S, Fleming P, Rowland M, Crushell E, McDermott M, Drumm B, et al. A prospective study of the oral manifestations of crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3 9:886-91.
- 36 Marcoval J, Viñas M, Bordas X, Jucglà A, Servitje O. Orofacial granulomatosis: Clinical study of 20 patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2012;113 4:e12-7.
- 37 van der Waal RI, Schulten EA, van der Meij EH, van de Scheur MR, Starink TM, van der Waal I. Cheilitis granulomatosa: Overview of 13 patients with long-term follow-up--results of management. *Int J Dermatol.* 2002;41 4:225-9.
- 38 Elias MK, Mateen FJ, Weiler CR. The melkersson-rosenthal syndrome: A retrospective study of biopsied cases. *J Neurol.* 2013;260 1:138-43.
- 39 Campbell H, Escudier M, Patel P, Nunes C, Elliott TR, Barnard K, et al. Distinguishing orofacial granulomatosis from crohn's disease: Two separate disease entities? *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17 10:2109-15.
- 40 Lazzerini M, Martellosi S, Cont G, Bersanini C, Ventura G, Fontana M, et al. Orofacial granulomatosis in children: Think about crohn's disease. *Dig Liver Dis.* 2015;47 4:338-41.

- 41 Lazzerini M, Bramuzzo M, Ventura A. Association between orofacial granulomatosis and crohn's disease in children: Systematic review. *World J Gastroenterol*. 2014;20 23:7497-504.
- 42 Patel P, Brostoff J, Campbell H, Goel RM, Taylor K, Ray S, et al. Clinical evidence for allergy in orofacial granulomatosis and inflammatory bowel disease. *Clin Transl Allergy*. 2013;3 1:26.
- 43 Campbell HE, Escudier MP, Patel P, Challacombe SJ, Sanderson JD, Lomer MC. Review article: Cinnamon- and benzoate-free diet as a primary treatment for orofacial granulomatosis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;34 7:687-701.
- 44 Patton DW, Ferguson MM, Forsyth A, James J. Oro-facial granulomatosis: A possible allergic basis. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1985;23 4:235-42.
- 45 Patel P, Barone F, Nunes C, Boursier L, Odell E, Escudier M, et al. Subepithelial dendritic b cells in orofacial granulomatosis. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16 6:1051-60.
- 46 Guttman-Yassky E, Weltfriend S, Bergman R. Resolution of orofacial granulomatosis with amalgam removal. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2003;17 3:344-7.
- 47 Facchetti F, Signorini S, Majorana A, Manganoni MA, Sapelli P, Imberti L. Non-specific influx of t-cell receptor alpha/beta and gamma/delta lymphocytes in mucosal biopsies from a patient with orofacial granulomatosis. *J Oral Pathol Med*. 2000;29 10:519-22.
- 48 De Quatrebarbes J, Cordel N, Bravard P, Lenormand B, Joly P. [miescher's cheilitis and lymphocytic clonal expansion: 2 cases]. *Ann Dermatol Venereol*. 2004;131 1 Pt 1:55-7.
- 49 Muellegger RR, Weger W, Zöchling N, Kaddu S, Soyer HP, El Shabrawi-Caelen L, et al. Granulomatous cheilitis and borrelia burgdorferi: Polymerase chain reaction and serologic studies in a retrospective case series of 12 patients. *Arch Dermatol*. 2000;136 12:1502-6.
- 50 Apaydin R, Bahadir S, Kaklikkaya N, Kakklikkaya N, Bilen N, Bayramgürler D. Possible role of mycobacterium tuberculosis complex in melkersson-rosenthal syndrome demonstrated with gen-probe amplified mycobacterium tuberculosis direct test. *Australas J Dermatol*. 2004;45 2:94-9.
- 51 Ivanyi L, Kirby A, Zakrzewska JM. Antibodies to mycobacterial stress protein in patients with orofacial granulomatosis. *J Oral Pathol Med*. 1993;22 7:320-2.
- 52 Savage NW, Barnard K, Shirlaw PJ, Rahman D, Mistry M, Escudier MP, et al. Serum and salivary iga antibody responses to saccharomyces cerevisiae, candida albicans and streptococcus mutans in orofacial granulomatosis and crohn's disease. *Clin Exp Immunol*. 2004;135 3:483-9.

- 53 Riggio MP, Gibson J, Lennon A, Wray D, MacDonald DG. Search for mycobacterium paratuberculosis dna in orofacial granulomatosis and oral crohn's disease tissue by polymerase chain reaction. *Gut*. 1997;41 5:646-50.
- 54 Goto A, Kume A, Aiba I, Yasuda T, Murakami N. [a case of typical melkersson-rosenthal syndrome with possible autosomal dominant inheritance]. *Rinsho Shinkeigaku*. 1999;39 10:1020-4.
- 55 Meisel-Stosiek M, Hornstein OP, Stosiek N. Family study on melkersson-rosenthal syndrome. Some hereditary aspects of the disease and review of literature. *Acta Derm Venereol*. 1990;70 3:221-6.
- 56 Xu XG, Guan LP, Lv Y, Wan YS, Wu Y, Qi RQ, et al. Exome sequencing identifies fatp1 mutation in melkersson-rosenthal syndrome. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31 5:e230-e2.
- 57 Smeets E, Fryns JP, Van den Berghe H. Melkersson-rosenthal syndrome and de novo autosomal t(9;21)(p11;p11) translocation. *Clin Genet*. 1994;45 6:323-4.
- 58 Stokkers PC, Reitsma PH, Tytgat GN, van Deventer SJ. Hla-dr and -dq phenotypes in inflammatory bowel disease: A meta-analysis. *Gut*. 1999;45 3:395-401.
- 59 Jung ES, Cheon JH, Lee JH, Park SJ, Jang HW, Chung SH, et al. Hla-c*01 is a risk factor for crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22 4:796-806.
- 60 Biemond I, Burnham WR, D'Amaro J, Langman MJ. Hla-a and -b antigens in inflammatory bowel disease. *Gut*. 1986;27 8:934-41.
- 61 Forcione DG, Sands B, Isselbacher KJ, Rustgi A, Podolsky DK, Pillai S. An increased risk of crohn's disease in individuals who inherit the hla class ii drb3*0301 allele. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93 10:5094-8.
- 62 Toyoda H, Wang SJ, Yang HY, Redford A, Magalong D, Tyan D, et al. Distinct associations of hla class ii genes with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 1993;104 3:741-8.
- 63 Danzé PM, Colombel JF, Jacquot S, Loste MN, Heresbach D, Ategbo S, et al. Association of hla class ii genes with susceptibility to crohn's disease. *Gut*. 1996;39 1:69-72.
- 64 Reinshagen M, Loeliger C, Kuehn P, Weiss U, Manfras BJ, Adler G, et al. Hla class ii gene frequencies in crohn's disease: A population based analysis in germany. *Gut*. 1996;38 4:538-42.
- 65 Nakajima A, Matsushashi N, Kodama T, Yazaki Y, Takazoe M, Kimura A. Hla-linked susceptibility and resistance genes in crohn's disease. *Gastroenterology*. 1995;109 5:1462-7.
- 66 Banks T, Gada S. A comprehensive review of current treatments for

- granulomatous cheilitis. *Br J Dermatol*. 2012;166 5:934-7.
- 67 Bacci C, Valente ML. Successful treatment of cheilitis granulomatosa with intralesional injection of triamcinolone. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010;24 3:363-4.
 - 68 Sobjanek M, Włodarkiewicz A, Zelazny I, Nowicki R, Michajłowski I, Sokołowska-Wojdyło M. Successful treatment of melkersson-rosenthal syndrome with dapsone and triamcinolone injections. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;22 8:1028-9; author reply 7-8.
 - 69 Stein J, Paulke A, Schacher B, Noehte M. An extraordinary form of the melkersson-rosenthal syndrome successfully treated with the tumour necrosis factor- α blocker adalimumab. *BMJ Case Rep*. 2014;2014
 - 70 Kruse-Lösler B, Presser D, Metze D, Joos U. Surgical treatment of persistent macrocheilia in patients with melkersson-rosenthal syndrome and cheilitis granulomatosa. *Arch Dermatol*. 2005;141 9:1085-91.
 - 71 Oliver DW, Scott MJ. Lip reduction cheiloplasty for miescher's granulomatous macrocheilitis (cheilitis granulomatosa) in childhood. *Clin Exp Dermatol*. 2002;27 2:129-31.
 - 72 Sasaki R, Suzuki K, Hayashi T, Inasaka H, Matsunaga K. Improvement of cheilitis granulomatosa after dental treatment. *Case Rep Dermatol*. 2011;3 2:151-4.
 - 73 Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular*. 8ª Edição ed.; 2015.
 - 74 Hurley CK. Dna methods for hla typing. A workbook for beginners. en: *Ellis JM editor*; 1993.
 - 75 Klein J, Sato A. The hla system. First of two parts. *N Engl J Med*. 2000;343 10:702-9.
 - 76 Nunes E, Heslop H, Fernandez-Vina M, Taves C, Wagenknecht DR, Eisenbrey AB, et al. Definitions of histocompatibility typing terms. *Blood*. 2011;118 23:e180-3.
 - 77 Robinson J, Halliwell JA, Hayhurst JD, Flicek P, Parham P, Marsh SG. The ipd and imgt/hla database: Allele variant databases. *Nucleic Acids Res*. 2015;43 Database issue:D423-31.
 - 78 Marsh SGE, System WNCfFotH. Nomenclature for factors of the HLA system, update April, May and June 2019. *HLA* 2019;94:188-271.
 - 79 Hornstein OP. Melkersson-rosenthal syndrome. A neuro-muco-cutaneous disease of complex origin. *Curr Probl Dermatol*. 1973;5:117-56.

- 80 HORNSTEIN O, SCHUERMANN H. [so-called melkersson-rosenthal syndrome (including "Cheilitis granulomatosa" Miescher)]. *Ergeb Inn Med Kinderheilkd.* 1962;17:190-263.
- 81 Mentzer A, Goel R, Elliott T, Campbell H, Hullah E, Patel P, et al. Azathioprine is effective for oral involvement in crohn's disease but not for orofacial granulomatosis alone. *J Oral Pathol Med.* 2016;45 4:312-8.
- 82 Greene RM, Rogers RS. Melkersson-rosenthal syndrome: A review of 36 patients. *J Am Acad Dermatol.* 1989;21 6:1263-70.
- 83 Erthal A, Lourenço SV, Nico MM. Oral mucosal diseases in children - casuistics from the department of dermatology - university of são paulo - brazil. *An Bras Dermatol.* 2016;91 6:849-51.
- 84 Lourenço SV, Boggio P, Suguyama K, Nico MM. Severe and relapsing upper lip enlargement in a 10-year-old boy (case presentation). *Acta Paediatr.* 2010;99 12:1758, 906-7.
- 85 Ziem PE, Pfrommer C, Goerdts S, Orfanos CE, Blume-Peytavi U. Melkersson-rosenthal syndrome in childhood: A challenge in differential diagnosis and treatment. *Br J Dermatol.* 2000;143 4:860-3.
- 86 Kalla R, Ventham NT, Satsangi J, Arnott ID. Crohn's disease. *BMJ.* 2014;349:g6670.
- 87 Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet.* 2012;380 9853:1590-605.
- 88 Lima Martins A, Volpato RA, Zago-Gomes MDP. The prevalence and phenotype in brazilian patients with inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol.* 2018;18 1:87.
- 89 Freeman HJ. Natural history and long-term clinical course of crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20 1:31-6.
- 90 Caillat-Zucman S. Molecular mechanisms of hla association with autoimmune diseases. *Tissue Antigens.* 2009;73 1:1-8.
- 91 Howell WM. Hla and disease: Guilt by association. *Int J Immunogenet.* 2014;41 1:1-12.
- 92 Schlosstein L, Terasaki PI, Bluestone R, Pearson CM. High association of an hl-a antigen, w27, with ankylosing spondylitis. *N Engl J Med.* 1973;288 14:704-6.
- 93 Walford RL, Finkelstein S, Neerhout R, Konrad P, Shanbrom E. Acute childhood leukaemia in relation to the hl-a human transplantation genes. *Nature.* 1970;225 5231:461-2.
- 94 Bowes J, Barton A. Recent advances in the genetics of ra susceptibility. *Rheumatology (Oxford).* 2008;47 4:399-402.

- 95 Dib SA, Gomes MB. Etiopathogenesis of type 1 diabetes mellitus: Prognostic factors for the evolution of residual beta cell function. *Diabetol Metab Syndr*. 2009;1 1:25.
- 96 Pompeu YA, Stewart JD, Mallal S, Phillips E, Peters B, Ostrov DA. The structural basis of hla-associated drug hypersensitivity syndromes. *Immunol Rev*. 2012;250 1:158-66.
- 97 Dyer P, McGilvray R, Robertson V, Turner D. Status report from ‘double agent hla’: Health and disease. *Mol Immunol*. 2013;55 1:2-7.
- 98 Sollid LM, Lie BA. Celiac disease genetics: Current concepts and practical applications. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3 9:843-51.
- 99 Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, et al. A novel mhc class i-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature Genetics*. 1996;13:399.