

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS**

BRENDA LAMÔNICA RODRIGUES DE AZEVEDO

**EPIDERMÓLISE BOLHOSA NA SAÚDE ORAL: MANIFESTAÇÕES
CLÍNICAS E ALTERAÇÕES SALIVARES**

**VITÓRIA ES
2022**

BRENDA LAMÔNICA RODRIGUES DE AZEVEDO

**EPIDERMÓLISE BOLHOSA NA SAÚDE ORAL: MANIFESTAÇÕES
CLÍNICAS E ALTERAÇÕES SALIVARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como pré requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, sob orientação da Prof^a. Dra. Letícia Nogueira da Gama de Souza

**Vitória/ES
2022**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

A994e Azevedo, Brenda Lamônica Rodrigues de, 1992-
Epidermólise bolhosa na saúde oral: manifestações clínicas e alterações salivares / Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo. - .
65 f. : il.

Orientadora: Letícia Nogueira da Gama de Souza.
Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) -
Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Saliva. 2. Mucosa bucal. I. Souza, Letícia Nogueira da Gama de. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 616.314

BRENDA LAMÔNICA RODRIGUES DE AZEVEDO

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ODONTOLÓGICAS

**EPIDERMÓLISE BOLHOSA NA SAÚDE ORAL: MANIFESTAÇÕES
CLÍNICAS E ALTERAÇÕES SALIVARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como pré-requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, sob orientação da Prof^a. Dra. Leticia Nogueira da Gama de Souza

Aprovada em 16 de setembro de 2022

COMISSÃO EXAMINADORA:

Profa. Dra. Leticia Nogueira da Gama de Souza
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora

Profa. Dra. Adriane Sousa de Siqueira
Universidade Positivo

Prof. Dra. Danielle Resende Camisasca Barroso
Universidade Federal do Espírito Santo



Documento assinado digitalmente
ADRIANE SOUSA DE SIQUEIRA
Data: 19/09/2022 21:07:49-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por DANIELLE RESENDE CAMISASCA BARROSO - SIAPE 2769554 Departamento de Clínica Odontológica - DCO/CCS Em 22/09/2022 às 15:23

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/566618?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por
LETICIA NOGUEIRA DA GAMA DE SOUZA - SIAPE 1703425
Departamento de Morfologia - DM/CCS
Em 28/09/2022 às 07:49

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/570365?tipoArquivo=O>

RESUMO

A epidermólise bolhosa (EB) é uma doença hereditária mucocutânea caracterizada por fragilidade da pele e mucosas com formação recorrente de bolhas. Os quatro tipos principais de EB são simples; juncional; distrófica e Síndrome de Kindler. Todos os pacientes EB podem experimentar lesões na mucosa oral, como eritema, úlcera, atrofia e bolhas. Contudo, a frequência, extensão e gravidade variam de leve a grave dependendo do tipo de EB. Foi realizado levantamento sociodemográfico, avaliação clínica da cavidade da boca e análise de aspectos relacionados à saliva de indivíduos que vivem com EB e que são acompanhados no Projeto Borboleta Azul da Faculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA) e no Hospital Nossa Senhora da Glória. Um total de 11 pacientes (adultos e crianças) diagnosticados com EB fizeram parte da amostra, desses 27,27% eram EB simples, 63,64% EB distrófica recessiva e 9,09% EB juncional. Uma frequência de 90,90% dos pacientes com EB distrófica recessiva apresentaram lesões, enquanto no grupo EB juncional foi de 9,10%. Nenhum paciente com EB simples manifestou lesões na mucosa oral. As lesões distribuíram-se de forma semelhante entre os sexos e, os sítios mais acometidos foram os lábios (54%), palato duro (36%) e mucosa jugal (27%). Foram diagnosticadas com maior frequência a anquiloglossia, úlceras, bolhas e língua despapilada. No fluxo salivar, a comparação intragrupo revelou aumento na coleta estimulada em relação à passiva nos indivíduos controle ($p = 0,0064$). No grupo EB não houve diferença ($p = 0,6086$). Também não observamos diferenças no volume salivar entre os grupos controle e EB ($p = 0,7117$ e $p = 0,5557$, fluxos passivo e estimulado respectivamente). Pacientes que vivem com EB podem apresentar lesões orais, porém o subtipo distrófico recessivo apresentou quadro clínico grave, com alto índice de lesões na mucosa. Quanto ao fluxo salivar, não está claro se indivíduos EB estão predispostos a manifestar hipossalivação. Os achados reforçam a necessidade de acompanhamento odontológico como rotina nos cuidados multiprofissionais dos indivíduos que vivem com EB.

Palavras-chave: Epidermólise bolhosa, saliva, mucosa oral, bolhas.

ABSTRACT

Epidermolysis bullosa (EB) is an inherited mucocutaneous disease characterized by fragility of the skin and mucous membranes with recurrent blistering. The four main types of EB are simple; junctional; dystrophy and Kindler syndrome. All EB patients can experience oral mucosal lesions such as erythema, ulcer, atrophy and blisters. However, the frequency, extent and severity vary from mild to severe depending on the type of EB. A sociodemographic survey, clinical assessment of the mouth cavity and analysis of aspects related to the saliva of individuals living with EB were carried out and who are followed up at the Blue Butterfly Project of Faculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA) and at Hospital Nossa Senhora da Glória. A total of 11 patients (adults and children) diagnosed with EB were part of the sample, of which 27.27% were simple EB, 63.64% recessive dystrophic EB and 9.09% junctional EB. A frequency of 90.90% of patients with recessive dystrophic EB had lesions, while in the junctional EB group it was 9.10%. No patient with simple EB manifested lesions in the oral mucosa. The lesions were similarly distributed between the sexes and the most affected sites were the lips (54%), hard palate (36%) and buccal mucosa (27%). Ankyloglossia, ulcers, blisters and depapilated tongue were more frequently diagnosed. In salivary flow, the intragroup comparison revealed an increase in stimulated collection in relation to passive collection in control subjects ($p = 0.0064$). In the EB group there was no difference ($p = 0.6086$). We also did not observe differences in salivary volume between the control and EB groups ($p = 0.7117$ and $p = 0.5557$, passive and stimulated flows respectively). Patients living with EB may have oral lesions, but the recessive dystrophic subtype had a severe clinical picture, with a high rate of mucosal lesions. Regarding salivary flow, it is not clear whether EB individuals are predisposed to manifest hyposalivation. The findings reinforce the need for routine dental follow-up in the multidisciplinary care of individuals living with EB.

Keywords: Epidermolysis bullosa, saliva, oral mucosa, blisters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da epiderme que descreve os níveis de clivagem e proteínas mutantes para cada tipo de epidermólise bolhosa.....6

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	11
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 ARTIGO	17
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	28
5 REFERÊNCIAS.....	29
APÊNDICE A - FICHA DE AVALIAÇÃO DO FLUXO SALIVAR.....	32
APÊNDICE B - FICHA DE EXAME FÍSICO.....	33
APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO ...	34
APÊNDICE D - TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	40
APÊNDICE E - TERMO DE SIGILO E CONFIDENCIALIDADE.....	44
APÊNDICE F - TERMO DE ANUÊNCIA.....	45
APÊNDICE G - ARTIGO VERSÃO INGLÊS.....	46
ANEXO A - NORMAS DA REVISTA	57
ANEXO B - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	60

1 INTRODUÇÃO GERAL

A epidermólise bolhosa (EB) é considerada uma doença hereditária mucocutânea caracterizada por fragilidade da pele e das membranas mucosas após trauma mecânico leve, resultando no desenvolvimento contínuo de bolhas. Quatro tipos principais de EB foram descritos com base no nível de clivagem da pele: Epidermólise bolhosa simples (EBS); Epidermólise bolhosa juncional (EBJ); Epidermólise bolhosa distrófica (EBD) Síndrome de Kindler (SK). Para cada um desses, existem vários subtipos distintos (FORTUNA et al., 2015).

Embora a etiologia exata para cada subtipo permaneça obscura, a fragilidade da pele e a formação de bolhas foi associada a uma variedade de defeitos enzimáticos e da membrana basal (WRIGHT; FINE; JOHNSON, 1991). As bolhas são quase sempre encontradas entre a epiderme e a derme. Elas podem, entretanto, ser observadas na região intraepidérmica ou subcórnea. Normalmente, todas as formas de EB exibem as bolhas subepidérmicas, mas, devido à capacidade da epiderme se regenerar rapidamente, a clivagem será encontrada intraepidermicamente em bolhas presentes há vários dias (HAAS; BRONX, 1968). A representação esquemática das variantes responsáveis pelo desenvolvimento da EB está ilustrada na Figura 1.

A EB possui ocorrência mundial e acomete ambos os sexos, raças e regiões geográficas de forma igualitária (FINE et al., 2009). Não há dados epidemiológicos consistentes sobre sua frequência no Brasil. De acordo com a literatura, existem aproximadamente 500.000 pacientes EB em todo mundo, sendo que a maioria são crianças. A prevalência de EB fica em torno de 11 casos por um milhão de habitantes e a incidência de aproximadamente 20 casos por um milhão de nascidos vivos. A taxa de incidência de EB, por subtipo, é aproximadamente 8 por milhão de nascidos vivos para EBS, 3 por milhão de nascidos vivos para EBJ, 2 por milhão de nascidos vivos para EBD dominante e 3 por milhão de nascidos vivos para EBD recessiva (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019; WU; SUN; LEE, 2020).

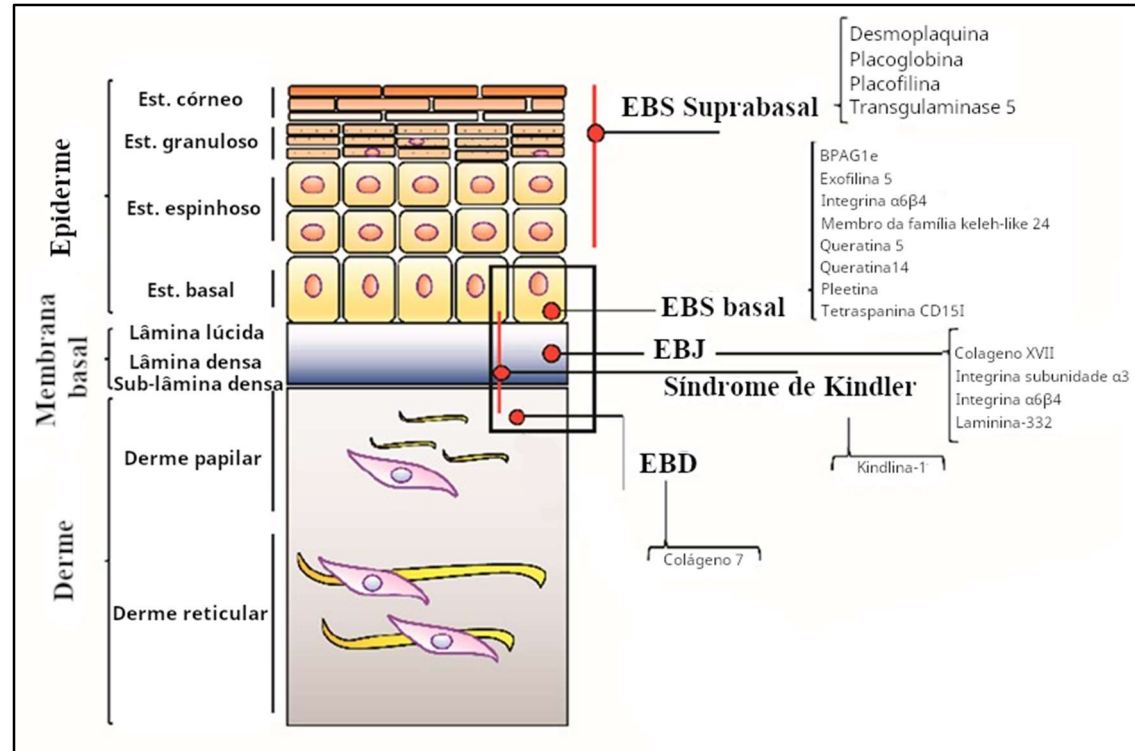


Figura 1: Representação esquemática da epiderme que descreve os níveis e locais de clivagem e proteínas mutantes para cada tipo de epidermólise bolhosa (EB). Camadas de células epidérmicas, do estrato basal ao córneo, e a derme papilar e reticular subjacente são retratadas. O nível da pele onde surgem bolhas em cada tipo de EB (linhas vermelhas e pontos), e as proteínas mutadas correspondentes são indicadas. A ampliação de inserção mostra proteínas mutadas na síndrome de Kindler, EB juncional (EBJ) e EB distrófica (EBD) em vermelho.

Fonte: Modificado de Condorelli et al., 2019, p.02.

Muitas das diferentes formas de EB são causas de grande morbidade física, e atividades do dia a dia representam desafios e fatores limitadores, como o simples ato de escovar os dentes. Inúmeros tipos de alimentos podem causar injúrias nos lábios, na mucosa orofaríngea e no esôfago desses pacientes. Até mesmo o mínimo envolvimento em brincadeiras de crianças e em esportes de contato podem causar lesões na pele. Qualquer bolha que se forma deve ser tratada com intuito de minimizar os riscos de infecções e complicações. Contudo, a cicatrização imperfeita invariavelmente leva a contraturas da pele e reabsorção óssea, produzindo deformidades permanentes, incluindo perda de dentes e unhas, pseudosindactilia e sinéquia. Além disso, anemia e desnutrição podem ser consequências secundárias às perdas de líquidos através da pele ou estenoses esofágicas. Com o tempo, os pacientes podem desenvolver comprometimentos físicos permanentes, resultando em grandes impactos negativos na qualidade de vida. Portanto, crianças com EB requerem cuidados especializados contínuos, que seus pais e outros cuidadores devem ser adequadamente treinados para fornecer (CESTARI et al, 2016).

No contexto específico da mucosa oral, todos os pacientes com qualquer subtipo de EB podem apresentar todas as quatro lesões típicas da mucosa oral (eritema, úlceras, atrofia e bolhas), embora com frequência, extensão e gravidade diferentes, variando de leve a extremamente grave (FORTUNA et al., 2013). Em geral, as lesões da mucosa oral compreendem lesões vesiculobolhosas que variam de pequenas e discretas vesículas a grandes bolhas. Os tecidos afetados e os fenótipos exibidos em indivíduos acometidos estão intimamente relacionados às proteínas específicas anormais ou ausentes resultantes de mutações genéticas causais para esse distúrbio. Existem diferenças com relação à prevalência e gravidade do envolvimento oral entre os diferentes tipos de EB, sendo os pacientes com a forma distrófica recessiva generalizada os mais gravemente afetados (WRIGHT; FINE; JOHNSON, 1991).

Na EB distrófica recessiva generalizada, a manifestação oral é relatada como extremamente friável e descamativa, com recorrentes bolhas por toda mucosa oral contendo líquido ou sangue, principalmente na região da língua (BUDUNELI et al., 2003). Outro aspecto é a ausência de papilas linguais (WRIGHT; FINE; JOHNSON, 1991). A anquiloglossia secundária à ulceração é

comum e pode afetar todos os pacientes, bem como, a obliteração do vestíbulo bucal. A microstomia pode estar presente, mas sua causa não é conhecida, embora a hipótese mais provável seja decorrente à cicatriz da mucosa nas áreas bucais, labiais e comissuras (STAVROPOULOS; ABRAMOWICZ, 2008).

Um aspecto relevante nos pacientes que vivem com EB é a possibilidade aumentada para desenvolvimento precoce do carcinoma de células escamosas (CCE). Sabe-se que as mutações nos genes envolvidos na patogênese da EB não alteram apenas a expressão de uma molécula específica da zona da membrana basal, mas também provocam modificações em todo microambiente da matriz extracelular (MEC). Essas modificações apresentam consequências nos mecanismos de inflamação, cicatrização e fibrose, que favorecem o aumento de feridas e cronificação dessas, bem como possuem papel crucial, no desenvolvimento de neoplasias como o CCE (CONDORELLI et al., 2019).

O CCE tem sido descrito como a principal causa de óbito em pacientes EB, sendo que a maioria se desenvolve na superfície cutânea. Até o momento, alguns poucos casos do CCE na cavidade da boca foram relatados associados a EB. A língua foi o sítio mais comumente descrito, embora tumores no lábio e no palato duro também tenham sido relatados na literatura (MARTINEZ; GOODMAN; CROW, 1992).

Além de todos os aspectos descritos para a mucosa oral, a EB também foi relacionada com alterações nas glândulas salivares. Pacientes que vivem com EB e tem como causa defeitos na organização das fibrilas de ancoragem de colágeno VII, também podem desenvolver anormalidades estruturais em diversas glândulas, incluindo as salivares, sebáceas e mamárias (SWEET et al., 1990). A saliva é um fluido liberado de forma contínua, sendo composto por 99,5% de água e 0,5% de íons inorgânicos, além de componentes orgânicos (MALAMUD, 2011). Atua lubrificando e umedecendo os tecidos o que é relevante para a deglutição, mastigação, fala e paladar (MANDEL, 1989). Ela pode ser classificada como não estimulada e estimulada. A saliva não estimulada reflete a taxa de fluxo basal destinada a proteger a mucosa oral enquanto a saliva estimulada auxilia a mastigação e a digestão (NIKLANDER, 2017).

A hipossalivação refere-se a uma taxa de fluxo salivar estimulado < 0,7 ml/min, e uma taxa de fluxo salivar não estimulado < 0,1 ml/min (MILLSOP; WANG; FAZEL, 2017). Há uma série de fatores etiológicos relacionados à

hipossalivação, como medicamentos com atividade anticolinérgica e quimioterápicos, radioterapia na cabeça e pescoço e a síndrome de Sjögren (GUPTA; EPSTEIN; SROUSSI, 2006). Quando presente, o paciente pode apresentar uma alta incidência de cárie dentária, sensação de queimação ou formigamento bucal, bem como, perda de ações antimicrobianas da saliva que propiciam a instalação de infecções fúngicas como a candidíase (HAHNEL et al., 2009)

Nesse contexto, Primo e colaboradores (2013) relataram caso de paciente EBD que apresentou sialolitíase da glândula submandibular. O achado pode ser associado às alterações no assoalho da cavidade da boca provocadas por anquiloglossia e conseqüente obliteração do ducto submandibular, criando um ambiente favorável para o desenvolvimento de cálculos. Já Leal e colaboradores (2016) analisaram parâmetros salivares, como taxa de fluxo salivar, pH e capacidade tampão, em indivíduos que vivem com EB, e os resultados se mostraram ligeiramente alterados em relação a indivíduos não EB. Contudo, os autores concluíram que as diferenças não foram significativas entre os grupos avaliados.

Ainda hoje a literatura é escassa quanto às descrições dos aspectos orais, tanto relativo à mucosa quanto à atividade das glândulas salivares, em indivíduos que vivem com EB. Portanto, novos estudos são fundamentais para ampliar o conhecimento sobre a influência da EB no estado de saúde oral desses indivíduos. Uma melhor compreensão da frequência populacional, da gravidade das lesões orais e de aspectos relacionados à saliva certamente irá favorecer o aprimoramento dos tratamentos odontológicos preventivos e curativos das pessoas que vivem com EB.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudo de aspectos sociodemográficos, das alterações na mucosa oral e na saliva em indivíduos que vivem com EB no Espírito Santo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Coletar dados sociodemográficos como idade, sexo, tipo/subtipo de EB, escolaridade e outras doenças associadas;
- b) Coletar dados clínicos da mucosa oral a partir de exame físico da cavidade da boca em indivíduos EB;
- c) Identificar as principais lesões orais e suas características macroscópicas independentemente do tipo/subtipo de EB;
- d) Avaliar aspectos qualitativos de coloração e turbidez da saliva de pacientes EB e não EB (grupo controle);
- e) Avaliar aspectos quantitativos do volume do fluxo salivar em coleta passiva e estimulada de pacientes EB e não EB (grupo controle);
- f) Comparar os aspectos salivares qualitativos e quantitativos entre pacientes EB e não EB (grupo controle).

3 ARTIGO

Epidermólise bolhosa na saúde oral: manifestações clínicas e alterações salivares

Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo^a, Gabriel Marim Roni^b, Raquel Spinassé Dettogni^c, Rosalie Matuk Fuentes Torrelío^d, Lucas Fernandes Leal^e, Letícia Nogueira da Gama-de-Souza^f

^aUniversidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Vitória, ES, Brasil

^bUniversidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Morfologia, Vitória, ES, Brasil

^cUniversidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Morfologia, Vitória, ES, Brasil

^dHospital Infantil Nossa Senhora da Glória, Debra, Vitória, ES, Brasil

^eFaculdades Integradas Espírito Santenses, Vitória, ES, Brasil

^fUniversidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Morfologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológica, Vitória, ES, Brasil

Correspondência

Professora Letícia Nogueira da Gama de Souza

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Morfologia. Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP: 29.040-090, Vitória, ES, Brasil. +552733357358. E-mail: leticia.souza@ufes.br

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer ao Projeto Borboleta Azul da Faculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA), ao Hospital Nossa Senhora da Glória e à Clínica Odontológica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) pelo suporte na realização das etapas clínicas do projeto.

Financiamento

Este estudo foi financiado por bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior processo de número 88887.647670/2021-00 e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico processo de número 151441/2021-9.

Contribuições dos autores

Todos os autores contribuíram para a concepção e desenho do estudo. A elaboração do projeto, coleta e análise dos dados foram realizadas por Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo, Gabriel Marim Roni, Matuk Fuentes Torrelío, Lucas Fernandes Leal e Letícia Nogueira da Gama-de-Souza. A primeira versão do manuscrito foi escrita por Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo e todos os autores comentaram as versões posteriores. A revisão crítica do manuscrito foi realizada por Raquel Spinassé Dettogni e Letícia Nogueira da Gama-de-Souza. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Resumo

Epidermólise bolhosa (EB) é uma doença hereditária mucocutânea caracterizada por fragilidade da pele e mucosas. Todos os tipos/subtipos de EB podem levar a alterações na boca e glândulas.

Objetivos: Avaliar manifestações clínicas da EB na mucosa oral e alterações no fluxo salivar.

Materiais e métodos: Foram realizadas coletas de dados sociodemográficos, clínicos e análise do fluxo salivar nos indivíduos EB e no grupo controle. Para as variáveis qualitativas foi aplicado o teste exato de Fischer e para a quantitativa o teste de Mann-Whitney. **Resultados:** Um total de 11 casos de EB foi avaliado, sendo a EB distrófica recessiva (EBDR) a mais frequente. As lesões orais distribuíram-se de forma semelhante entre os sexos e os sítios mais acometidos foram lábios (54%), palato duro (36%) e mucosa jugal (27%). Úlcera e anquiloglossia foram diagnosticadas nos 7 casos EBDR. No fluxo salivar, a comparação intragrupo revelou aumento na coleta estimulada em relação à passiva nos indivíduos controle ($p = 0,0064$). No grupo EB não houve diferença ($p = 0,6086$). Também não observamos diferenças no volume salivar entre os grupos controle e EB ($p = 0,7117$ e $p = 0,5557$, fluxos passivo e estimulado respectivamente).

Conclusões: Embora todos os tipos/subtipos de EB possam apresentar manifestação oral da doença, isso não foi observado nos pacientes com EB simples. Quanto ao fluxo salivar, não está claro se indivíduos EB estão predispostos a manifestar hipossalivação. **Relevância clínica:** Os casos graves de EB apresentam alterações na mucosa oral de forma ampla, enquanto a saliva precisa ser melhor avaliada.

Palavras-chave: Epidermólise bolhosa, saliva, mucosa oral, bolhas.

Introdução

A epidermólise bolhosa (EB) é uma doença rara, hereditária e mucocutânea, caracterizada por fragilidade da pele e das mucosas após traumas mecânicos leves, resultando na formação contínua de bolhas. Quatro tipos principais de EB foram descritos com base no nível de clivagem da pele: EB simples (EBS); EB juncional (EBJ); EB distrófica (EBD) e Síndrome de Kindler (SK). Para cada tipo existem subtipos distintos [1,2]. Esta doença apresenta ocorrência mundial, com distribuição igualitária entre os sexos, raças e distribuição geográfica [3]. Existem aproximadamente 500.000 indivíduos que vivem com a doença em todo mundo, sendo a maioria crianças. A prevalência fica em torno de 11 casos por um milhão de habitantes e a incidência é de aproximadamente 20 casos por um milhão de nascidos vivos [4].

A EB pode resultar no aparecimento de lesões vesiculobolhosas na mucosa oral que variam de pequenas e discretas vesículas ao aparecimento de grandes bolhas. As diferenças na prevalência e gravidade das lesões orais estão intimamente relacionadas às proteínas específicas anormais ou ausentes em cada tipo/subtipo de EB, sendo os pacientes com a forma distrófica recessiva generalizada os mais gravemente afetados [1,5]. Além das bolhas na mucosa oral, os pacientes podem apresentar anquiloglossia, ausência de papilas na língua, obliteração parcial do vestibulo, microstomia secundária à cicatrização e mília da mucosa [1,2,6].

Indivíduos que vivem com EB também podem apresentar alterações em glândulas. Na EBD já foram relatadas anormalidades estruturais nas glândulas salivares, sebáceas e mamárias. Neste contexto, a ausência do colágeno VII, durante o desenvolvimento embrionário, provavelmente prejudica a formação glandular [7].

Observamos que ainda existe uma escassez na literatura sobre as alterações na mucosa oral e em glândulas salivares em indivíduos que vivem com EB. Assim, o objetivo do trabalho foi identificar as principais lesões orais e suas características, independentemente do tipo/subtipo de EB, bem como avaliar as alterações de fluxo salivar nessa população.

Materiais e métodos

Considerações éticas

O estudo foi desenvolvido junto ao Projeto Borboleta Azul da Faculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA), no Hospital Nossa Senhora da Glória e na Clínica de Interdisciplinaridade em Paciente Infantil do Instituto de Odontologia do Centro de Ciências da

Saúde na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição (parecer número 4.569.791).

Seleção da amostra

A amostra foi composta por adultos e crianças diagnosticados com EB, independentemente do tipo/subtipo, residentes no estado do Espírito Santo e atendidos na FAESA e no Hospital Nossa Senhora Glória em Vitória/ES.

O diagnóstico para cada tipo/subtipo de EB ocorreu baseado nas manifestações clínicas para os pacientes EBS e através do sequenciamento genético para os pacientes EBDR e EBJ. O DNA analisado foi extraído através do SWAB bucal e o método utilizado foi por meio da captura de regiões alvo utilizando sondas. O sequenciamento de nova geração foi realizado com tecnologia Illumina. Para o alinhamento e a identificação de variantes foram utilizados protocolos de bioinformática, tendo como referência a versão GRCh38 do genoma humano e utilização do gnomAD para referência de frequência alélica das variantes, método desenvolvido e validado pelo laboratório Mendelics Análise Genômica (São Paulo, SP, Brasil).

Foram selecionados 11 indivíduos para coleta de dados sociodemográficos e 10 indivíduos para a coleta de saliva (houve uma recusa em função do estado de saúde do paciente). O grupo controle para a coleta salivar compreendeu 10 indivíduos não EB, adultos e crianças, pareados em relação ao sexo e idade, selecionados na Clínica de Interdisciplinaridade em Paciente Infantil do Instituto de Odontologia da UFES. Os critérios de inclusão adotados foram: Grupo EB- pacientes com diagnóstico de EB independentemente do tipo/subtipo; Grupo Controle- pacientes saudáveis; ausência de relato de doenças prévias e de uso contínuo de medicações. Todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido. Os critérios de exclusão foram: pessoas com alguma doença de base e em uso contínuo de medicamentos e pessoas que se alimentaram ou ingeriram água menos de duas horas antes do procedimento de coleta salivar.

Dados sociodemográficos

Os dados sociodemográficos foram obtidos com uso de questionário online via plataforma Google Forms e incluiu as seguintes informações: sexo, idade, tipo/subtipo de EB, escolaridade e outras doenças envolvidas. As respostas foram tabuladas em planilhas no Excel.

Exame físico

Foi realizado exame físico na cavidade da boca dos pacientes EB para identificação da presença e localização de lesões como bolhas, manchas, distúrbios com potencial de malignização ou qualquer outro tipo de alteração na mucosa. Os dados obtidos foram registrados em fichas elaboradas para esta finalidade.

Coleta e análise da saliva

Os participantes foram orientados a ingerir 300 ml de água duas horas antes do procedimento de forma que não houvesse variabilidade na hidratação do organismo. Também foram orientados a não comer, ingerir outros líquidos ou realizar quaisquer procedimentos de higiene oral nas duas horas que antecediam as medições. Foi realizada a coleta do fluxo salivar em duas condições, passiva e estimulada. O procedimento ocorreu da seguinte forma:

Coleta de saliva passiva: foi solicitado ao paciente despejar de forma contínua por 5 minutos toda saliva em um único recipiente graduado.

Coleta de saliva estimulada: foi solicitado ao paciente mascar um sialogogo descartável mecânico de silicone (Halitus Comércio de Produtos de Higiene Pessoal Ltda ME) por 5 minutos, e durante todo o período foi orientado que ele despejasse a saliva produzida dentro de um único recipiente graduado.

Os aspectos qualitativos avaliados foram coloração e turbidez da saliva. Na análise quantitativa, foram avaliados os volumes de saliva e de espuma em ml produzidos durante o período de 5 minutos. Para a espuma precipitar e converter-se em saliva, foram utilizadas gotas de dimeticona conforme segue: 3 gotas para até um volume de 4 ml de espuma; 4 gotas para um volume de até 8 ml de espuma e 5 gotas para um volume acima de 8 ml de espuma. Tal processo permite que a espuma se converta rapidamente em saliva, obtendo-se um resultado imediato e preciso da quantidade de saliva produzida. Cada gota de dimeticona corresponde a 0,02 ml, assim, a quantidade máxima de 5 gotas correspondeu a apenas 0,1 ml. O valor correspondente a gota de

dimeticona utilizada foi subtraído do resultado [8]. Em seguida o volume encontrado foi dividido por cinco para obter a quantidade em ml/minuto de saliva produzida.

O volume salivar foi classificado em hipossalivação e normal. Para o fluxo passivo foram considerados normais valores iguais ou superiores a 0,1 ml/min e para o fluxo estimulado, valores iguais ou superiores a 0,7 ml/min. Valores inferiores a 0,1 ml/min no fluxo passivo e inferiores a 0,7 ml/min no fluxo estimulado foram classificados como hipossalivação [9].

Análise estatística

No estudo das variáveis qualitativas foi aplicado o teste exato de Fischer para os dados sociodemográficos e clínicos. Para a análise quantitativa do volume salivar foi aplicado o teste Mann-Whitney. Foi adotado 5% de significância, com $p < 0,05$ indicando associação significativa entre as variáveis.

Resultados

Os dados sociodemográficos demonstraram distribuição semelhante da EB entre mulheres 45,45% (n=5) e homens 54,55% (n=6), e indivíduos com idade ≤ 18 anos representaram a maioria da amostra (9 casos). A EBD recessiva (EBDR) foi a mais comum 63,64% (n=7) e 81,81% (n=9) da amostra não apresentaram outras doenças associadas. A tabela 1 resume esses achados.

Tabela 1. Perfil da amostra.

Dados sociodemográficos	EB (n=11)
Sexo	
Feminino	5 (45,45%)
Masculino	6 (54,54%)
Faixa etária	
Crianças e Adolescentes (≤ 18 anos)	9 (81,81%)
Jovens e Adultos (≥ 19 anos)	2 (18,19%)
Tipo de EB	
EBDR	7 (63,64%)
EBJ	1 (9,09%)
EBS	3 (27,27%)
Escolaridade	
Ensino Fundamental	6 (54,54%)
Ensino Médio	4 (36,36%)
Ensino Superior	1 (9,09%)
Outras doenças	
Sim	2 (18,19%)
Não	9 (81,81%)

EB= Epidermólise Bolhosa

EBDR= Epidermólise Bolhosa Distrófica Recessiva

EBJ= Epidermólise Bolhosa Juncional

EBS= Epidermólise Bolhosa Simples

O exame físico revelou que diferentes regiões da cavidade da boca estavam acometidas por algum tipo de lesão. O sítio mais frequente foi o palato duro 36% (n=4), seguido da mucosa jugal 27% (n=3). Dentre os 3 tipos de EB diagnosticados nos pacientes avaliados (EBDR, EBJ e EBS) apenas indivíduos com EBDR ou EBJ apresentaram a manifestação oral da doença (Figura 1). As lesões tiveram distribuição semelhante entre os sexos. A tabela 2 apresenta esses dados.



Fig 1 (A) Paciente EBDR com limitação de abertura da boca (microscotomia); bolha em mucosa oral (seta). (B) Paciente EBDR com língua sem papilas (seta vermelha); úlceras no dorso da língua (seta preta) e aquiloglossia (seta azul). (C) Paciente EBJ com lesão de mancha branca no lábio inferior e alterações nas unhas. (D) Paciente EBDR com bolha em mucosa jugal (círculo), mancha branca (seta amarela) e vermelha (seta verde). (E) Lesões branca e vermelha na mucosa do lábio inferior de paciente EBDR e áreas de cicatrização recorrente nos dedos. EBDR: epidermólise bolhosa distrófica recessiva. EBJ: epidermólise bolhosa juncional.

Tabela 2. Distribuição dos sítios das lesões conforme tipo de EB, sexo e idade.

	EBDR (n=7)	EBJ (n=1)
Sítio		
Palato Duro	4 (57,14%)	0 (0%)
Mucosa Jugal	3 (42,86%)	0 (0%)
Lábios	5 (71,43%)	1 (100%)
Comissura labial	2 (28,57%)	0 (0%)
Língua	2 (28,57%)	0 (0%)
Gengiva	3 (42,86%)	0 (0%)
Sexo		
Masculino	4 (57,14%)	0 (0%)
Feminino	3 (42,86%)	1 (100%)
Idade		
≤ 18 anos	6 (85,71%)	0 (0%)
≥ 19 anos	1 (14,29%)	1 (100%)

Apenas os pacientes com EBDR e EBJ apresentam lesões na cavidade da boca.

Na análise do tipo de lesão presente em cada sítio anatômico, houve destaque para a úlcera e anquiloglossia que foram diagnosticadas nos 7 casos de EBDR. Dentre os pacientes com lesões ulceradas, a maioria apresentava idade ≥ 19 anos (71,43%). Já nos pacientes com anquiloglossia, a maioria apresentava idade ≤ 18 anos (66,67%). Esses dados estão na tabela 3.

Tabela 3. Classificação das lesões conforme o tipo de EB.

Classificação da lesão	EBDR (n=7)	EBJ (n=1)
Úlcera	7 (100%)	0 (0%)
Bolha	4 (57,14%)	0 (0%)
Mancha branca	2 (28,57%)	1 (100%)
Mancha vermelha	2 (28,57%)	0 (0%)
Gengivite	3 (42,86%)	0 (0%)
Língua despapilada	4 (57,14%)	0 (0%)
Anquiloglossia	6 (85,71%)	0 (0%)
Microstomia	2 (28,57%)	0 (0%)

Apenas os pacientes com EBDR e EBJ apresentam lesões na cavidade da boca.

Em relação às análises qualitativas da saliva, não houve diferença na coloração entre o grupo controle e o grupo EB. Em ambas as coletas (passiva e estimulada), 20% apresentaram saliva amarelada ($p > 0,4737$ e $> 0,9999$, respectivamente). O mesmo para a avaliação da turbidez no fluxo passivo ($p > 0,9999$) e estimulado ($p > 0,9999$). Dados presentes na tabela 4.

Tabela 4. Coloração, turbidez e classificação do fluxo de saliva extraída de forma passiva e estimulada em indivíduos EB e grupo controle.

	Controle (n=10)	EB (n=10)	P-valor
Fluxo passivo			
Coloração			$> 0,4737$
Amarelada	0 (0%)	2 (20%)	
Normal	10 (100%)	8 (80%)	
Turbidez			$> 0,9999$
Normal	6 (60%)	5 (50%)	
Turva	4 (40%)	5 (50%)	
Fluxo salivar			$> 0,9999$
Hipossalivação	0 (0%)	0 (0%)	
Normal	10 (100%)	10 (100%)	
Fluxo estimulado			
Coloração			$> 0,9999$
Amarelada	0 (0%)	0 (0%)	
Normal	10 (100%)	10 (100%)	
Turbidez			$> 0,9999$
Normal	9 (90%)	8 (80%)	
Turva	1 (10%)	2 (20%)	
Fluxo salivar			$> 0,5820$
Hipossalivação	1 (10%)	3 (30%)	
Normal	9 (90%)	7 (70%)	

Teste Exato de Fisher

Por fim, as análises de volume salivar no fluxo passivo demonstraram que o grupo EB apresentou uma variação de volume de 0,1 ml/min a 2,4 ml/min, enquanto no fluxo estimulado essa variação esteve entre 0,3 ml/min e 2,4 ml/min. Todas as amostras obtidas por fluxo passivo foram classificadas como normal. Já no fluxo estimulado, 30% do grupo EB apresentou hipossalivação. O fluxo passivo dos pacientes EB apresentou uma média geral de 0,95 ml/min. Ao compararmos os pacientes com e sem lesões orais, observou-se um fluxo salivar médio de 1,1 ml/min e 0,6 ml/min respectivamente. O volume salivar do grupo controle no fluxo passivo estiveram entre 0,2ml/min e 1 ml/min; e no fluxo estimulado entre 0,4ml/min e 3,0 ml/min (tabela 4). Todos os indivíduos do grupo controle no fluxo passivo foram classificados como normal, enquanto no estimulado, apenas 10% foram classificados como hipossalivação. Na análise quantitativa, a comparação intragrupo revelou aumento do fluxo salivar na coleta estimulada em relação à passiva para o grupo controle ($p = 0,0064$), entretanto para o grupo EB não houve diferença ($p = 0,6086$). Na comparação entre os grupos controle e EB, não observamos diferenças no volume salivar nas duas metodologias aplicadas ($p = 0,7117$ e $p = 0,5557$ fluxos passivo e estimulado respectivamente). A figura 2 apresenta o gráfico dessa análise.

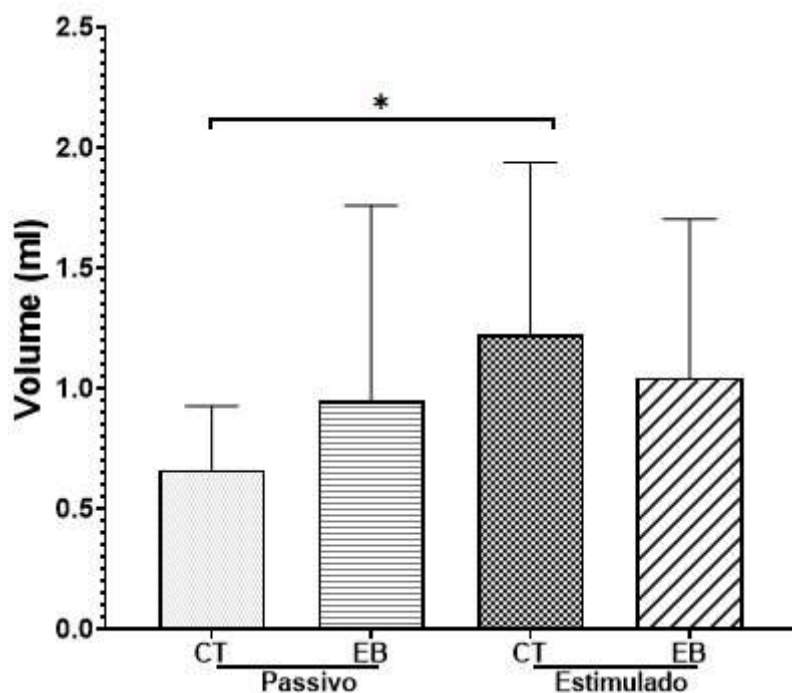


Fig 2 Gráfico da relação volume x fluxo salivar nas coletas passiva e estimulada nos grupos controle e EB. A comparação intragrupo revelou aumento do fluxo salivar na coleta estimulada em relação à passiva para o grupo controle ($p = 0,0064$). No grupo EB não houve diferença ($p = 0,6086$). Na comparação entre os grupos controle e EB, não observamos diferenças no volume salivar nas duas metodologias ($p = 0,7117$ e $p = 0,5557$ fluxos passivo e estimulado respectivamente). Teste Mann-Whitney.

Estatísticas descritivas: CT passivo: Mínimo 0.2000 e máximo 1.000, média 0.6600 e desvio padrão 0.2675; CT estimulado: Mínimo 0.4000 e máximo 3.000, média 1.222 e desvio padrão 0.7172; EB passivo: Mínimo 0.1000 e máximo 2.400, média 0.9500 e desvio padrão 0.8100; EB estimulado: Mínimo 0.3000 e máximo 2.400, média 1.044 e desvio padrão 0.6598.

CT: controle. EB: epidermólise bolhosa.

Discussão

A EB é uma doença rara de ocorrência mundial que causa grande morbidade física e limitações aos indivíduos. A literatura ainda é escassa quanto às descrições e estudos das características clínicas, histopatológicas e moleculares das lesões que afetam a mucosa oral nesse grupo de pacientes, assim como, em relação às alterações nas glândulas salivares. Embora o tipo EBS seja o mais comum, o nosso estudo observou uma maior frequência de pacientes EBDR. Em nossa análise encontramos presença de lesões orais em 100% da amostra EBDR e EBJ, com destaque para úlcera e anquiloglossia. Já na análise salivar, não observamos alterações qualitativas ou quantitativas entre os grupos controle e EB.

No contexto da mucosa oral, todos os pacientes com qualquer tipo/subtipo de EB podem experimentar virtualmente todas as quatro lesões típicas, como eritema, úlceras, atrofia e bolhas, embora a frequência, extensão e gravidade podem variar de leve a extremamente grave [10,11]. Os indivíduos EBDR são os mais gravemente afetados [12] e embora as manifestações de partes não mineralizadas intraorais possam ser encontradas, o achado oral mais comum é a formação de bolhas [13]. Nossos resultados corroboram com esses dados, já que o grupo EBDR foi o que apresentou a manifestação oral da doença em sua maior magnitude, com a presença de todas as lesões típicas. No paciente EBJ o envolvimento oral foi representado por uma única lesão no lábio inferior, contudo, observamos outras manifestações na pele e anexos. A maioria dos indivíduos EBJ de fato não apresentam cicatrizes orais significativas, com exceção do subtipo Herlitz, caracterizado por tecido de granulação perioral exuberante [14].

Tem sido relatado que a mucosa oral, seguida pela língua e lábios, são os locais mais frequentes de formação de bolhas na boca de indivíduos com EB. O processo contínuo de formação de lesões, seguido de cicatrização recorrente, resulta em mudanças marcantes na arquitetura oral. Com o tempo, os sulcos vestibulares são obliterados pelas cicatrizes e a adesão dos tecidos, além de prejuízo nos movimentos da língua. A anquiloglossia e microstomia, secundária à cicatrização das comissuras, são frequentemente observadas. Outro aspecto é a superfície da língua tornar-se lisa, com papilas atrofiadas [14,15]. Em nossa amostra, a totalidade dos achados de anquiloglossia e língua despapilada ocorreu no grupo EBDR e em idade jovem, inferior a 20 anos.

Um aspecto relevante nos pacientes que vivem com EB é o risco aumentado para o desenvolvimento precoce do carcinoma de células escamosas (CCE). Sabe-se que as mutações nos genes envolvidos na patogênese da EB não alteram apenas a expressão de uma molécula específica da zona da membrana basal, mas também provocam modificações em todo microambiente. Essas modificações apresentam consequências nos mecanismos de inflamação, cicatrização e fibrose, que favorecem o aumento de feridas e cronificação dessas, bem como, possuem papel crucial no desenvolvimento de neoplasias [16]. O diagnóstico precoce das lesões é fundamental para se evitar o desenvolvimento do CCE. Na amostra avaliada não encontramos lesão suspeita de carcinoma ou com aspecto de desordem com potencial de malignização. Embora o CCE tenha sido descrito como principal causa de morte em pacientes EB, a maioria se desenvolve na superfície cutânea, com alguns poucos casos na cavidade da boca [17].

Em relação à análise da saliva, sabemos que essa secreção é um fluido liberado de forma contínua, sendo composto por 99,5% de água e 0,5% de íons inorgânicos, além de componentes orgânicos [18]. A saliva atua lubrificando e umedecendo os tecidos para auxiliar na deglutição, mastigação, fala e paladar [19]. É responsável também por iniciar e facilitar a digestão, e possui propriedades antipatogênicas intrínsecas relevantes para a manutenção da saúde oral [20]. Sabe-se que um maior número de células descamadas da mucosa oral em suspensão pode tornar a saliva turva, e, portanto, deve ser um aspecto a ser investigado pois pode representar onicofagia, bruxismo, respiração bucal, mordiscato da mucosa jugal e lábios, alterações hormonais e deficiência de vitamina A e D [21]. No contexto da EB, a presença contínua de lesões orais nos casos graves pode ser um fator causal para alteração da coloração por provocar perdas das células epiteliais, exposição do tecido conjuntivo e consequente sangramentos. Contudo, nossos dados demonstraram que o padrão de coloração e turbidez da saliva do grupo EB foi semelhante ao controle, mesmo nos pacientes que apresentavam lesões na mucosa.

A produção e secreção de saliva pelas diversas glândulas salivares, maiores e menores, alcança um volume entre 500 ml e 1500 ml de saliva por dia [22]. A hipossalivação é considerado um achado objetivo para identificar produção salivar diminuída [23]. Outro aspecto é que a saliva

pode ser classificada como não estimulada e estimulada. A saliva não estimulada reflete a taxa de fluxo basal destinada a proteger a mucosa oral enquanto a saliva estimulada auxilia a mastigação e a digestão [24]. A hipossalivação refere-se a uma taxa de fluxo salivar estimulado $< 0,7$ ml/min, e uma taxa de fluxo salivar não estimulado $< 0,1$ ml/min [9]. Há uma série de fatores etiológicos relacionados à hipossalivação, como medicamentos com atividade anticolinérgica e quimioterápicos, radioterapia na cabeça e pescoço e a síndrome de Sjögren [25]. Quando presente, o paciente pode apresentar uma alta incidência de cárie dentária, sensação de queimação ou formigamento bucal, bem como, perda de ações antimicrobianas da saliva que propiciam a instalação de infecções fúngicas como candidíase [26]. Ainda, contribui para dificuldade na fala, mastigação e deglutição [27].

Nossos resultados mostraram não haver diferenças qualitativas na saliva entre indivíduos EB e não EB. Identificamos que 30% dos valores encontrados no fluxo estimulado foram de hipossalivação no grupo EB e 10% no controle. Já no fluxo passivo, ambos os grupos apresentaram fluxo salivar normal. Na análise quantitativa, foi possível confirmar que indivíduos saudáveis apresentam aumento de fluxo salivar frente a um estímulo. Contudo, o mesmo resultado não foi observado quando comparamos fluxo passivo e estimulado no grupo EB, o que sugere inicialmente que as glândulas salivares não alteraram sua atividade secretora diante do estímulo com sialogogo. No paciente EB, a função salivar anormal pode se justificar por obstrução dos ductos das glândulas salivares maiores e displasia das glândulas salivares menores devido à formação de bolhas crônicas e subsequente formação de cicatrizes [5].

Ao compararmos a variação do fluxo salivar entre indivíduos EB no fluxo passivo entre aqueles com e sem lesões orais, observou-se um aumento de 83% no fluxo salivar naqueles com a presença de lesões orais, entretanto, a literatura é escassa quanto a dados relacionados ao aumento do fluxo salivar em pacientes EB portadores de lesões orais.

Quando realizada a comparação entre os grupos EB e não EB, nenhuma diferença foi detectada nas duas metodologias de coleta salivar utilizadas. Nesse contexto, o resultado indica comportamento semelhante na fisiologia das glândulas entre os grupos avaliados. Estudos anteriores chegaram a resultados semelhantes [14,28], porém cabe a ressalva que as nossas análises de fluxo foram realizadas em duas condições diferentes, passiva e estimulada.

Vale salientar que os dados apresentados não envolveram todos os tipos e subtipos de EB pois a amostra se refere a uma população limitada, o que justifica o pequeno número amostral. No entanto, consideramos este relato importante por trazer informações sobre as manifestações orais e aspectos relacionados ao fluxo salivar em pacientes EB. Devemos lembrar que essa doença é rara com múltiplas manifestações orais, o que exige uma abordagem especial do ponto de vista odontológico. Porém, por apresentar uma baixa prevalência de casos, a literatura científica ainda é escassa sobre a temática do envolvimento oral.

Portanto, acreditamos que os resultados obtidos ampliam o conhecimento sobre a influência da EB no estado de saúde oral dos indivíduos que vivem com a doença. Uma melhor compreensão da frequência populacional, da gravidade das lesões orais e de aspectos relacionados à saliva pode ser alcançada através de investigações adicionais em coortes maiores incluindo todos os tipos/subtipos. No entanto, este parece um desafio contínuo, pois sabemos que se trata de uma condição com taxas significativas de mortalidade e morbidade, além do risco de fadiga do participante.

Conclusão

As lesões na mucosa oral associadas à EB foram frequentes em pacientes diagnosticados com EBDR e EBJ, o que reforça a gravidade da doença nesses grupos. Quanto ao fluxo salivar, não está claro se indivíduos com EB estão predispostos a manifestar quadros de hipossalivação. Mesmo assim, esse aspecto não deve ser descartado de estudos posteriores, uma vez que, o fluxo salivar reduzido pode ser um fator a mais para agravar uma condição clínica bastante desafiadora.

Conflito de interesses

Nenhum declarado.

Aprovação ética

Este estudo foi realizado de acordo com os princípios da Declaração de Helsinque. A aprovação foi concedida pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Espírito Santo (03/02/2021/Nº 4.569.791).

Consentimento para participar

O consentimento informado foi aprovado e obtido de todos os participantes do presente estudo.

Referências

1. Fortuna G, Aria M, Cepeda-Valdes R, Pollio A, Moreno-Trevino MG, Salas-Alan JC (2015) Clinical features of gingival lesions in patients with dystrophic epidermolysis bullosa: a cross-sectional study. *Australian Dental Journal* 60: 18–23. <https://doi.org/10.1111/adj.12264>
2. Osipowicz K, Wychowanski P, Nieckula P, Shamsa S, Wertheim-Tysarowska K, Wozniak K, Kowalewski C (2021) Efficacy of gentamicin 0.3% solution of oral erosions healing in patients with severe generalized recessive dystrophic epidermolysis bullosa and its impact on the expression of type VII collagen. *Adv Dermatol Allergol* 6: 979–984 <https://doi.org/10.5114/ada.2020.97072>
3. Fine JD (2016) Epidemiology of Inherited Epidermolysis Bullosa Based on Incidence and Prevalence Estimates From the National Epidermolysis Bullosa Registry. *JAMA Dermatology* 152(11):1231-1238. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2016.2473>
4. Wu YH; Sun FK; Lee PY (2020) Family caregiver's lived experiences of caring for epidermolysis bullosa patients: A phenomenological study. *Journal of Clinical Nursing* 29 (9-10):1552-1560. <https://doi.org/10.1111/jocn.15209>
5. Wright JT, Fine JD, Johnson LB (1991) Oral soft tissues in hereditary epidermolysis bullosa. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 71:440-446. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(91\)90426-D](https://doi.org/10.1016/0030-4220(91)90426-D)
6. Wright JT, Fine JD, Johnson LB, Steinmetz TT (1993) Oral Involvement of Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa Inversa. *American Journal of Medical Genetics* 421 184-1188. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320470811>
7. Sweet SP, Ballsdon AE, Harris JC, Roberts GJ, Challacombe SJ (1999). Impaired secretory immunity in dystrophic epidermolysis bullosa. *Oral Microbiol Immunol* 14: 316–320. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302x.1999.140508.x>
8. Paim ED, Macagnan FE, Martins VB, Zanella VG, Guimarães B, Berbert MCB (2018) Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation (TENS) on hyposalivation induced by radiotherapy in the head and neck region: a preliminary study. *Codas* 30(3):1-7. <https://doi.org/10.1590/2317-1782/20182017143>
9. Millsop JW, Wang EA, Fazel N (2017) Etiology, Evaluation, and Management of Xerostomia. *Clinics in Dermatology* 35(5):468-476. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2017.06.010>
10. Louloudiadis AK, Louloudiadis KA (2009) Case Report: Dystrophic Epidermolysis Bullosa: dental management and oral health promotion. *European Archives of Paediatric Dentistry* 10(1): 42-45. <https://doi.org/10.1007/BF03262667>

11. Fortuna G, Lozada-Nur F, Pollio A, Aria M, Cepeda-Valdes R, Marinkovich MP, Bruckner AL, Salas-Alanís JC (2013) Patterns of oral mucosa lesions in patients with epidermolysis bullosa: comparison and agreement between oral medicine and dermatology. *J Oral Pathol Med* 42: 733–740. <https://doi.org/10.1111/jop.12094>
12. Krämer SM, Serrano MC, Zillmann G, Gálvez P, Araya I, Yanine N, Carrasco-Labra A, Oliveira P, Brignardello-Petersen R, Villanueva J (2012) Oral Health Care for Patients with Epidermolysis Bullosa - Best Clinical Practice Guidelines. *Int J Pediatr Dent* 1:1-35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2012.01247.x>.
13. Feijoo JF, Bugallo J, Limeres J, Peñarrocha D, Peñarrocha M, Diz P (2011) Inherited epidermolysis bullosa An update and suggested dental care considerations. *J Am Dent Assoc* 142(9):1017-1025. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2011.0321>
14. Wright JT (2010) Oral Manifestations in the Epidermolysis Bullosa Spectrum. *Dermatol Clin* 28:159–164. <https://doi.org/10.1016/j.det.2009.10.022>
15. Nowak AJ (1988) Oropharyngeal Lesions and Their Management in Epidermolysis Bullosa. *Arco Dermatol* 124(5):742-5. <https://doi.org/10.1001/archderm.1988.01670050086028>
16. Condorelli AG, Dellambra E, Logli E, Zambruno G, Castiglia D (2019) Epidermolysis bullosa-associated squamous cell carcinoma: From pathogenesis to therapeutic perspectives. *International Journal of Molecular Sciences* 20(22):5707. <https://doi.org/10.3390/ijms20225707>
17. Martinez L, Goodman P, Crow, WN (1992) Squamous Cell Carcinoma of the Maxillary Sinus and Palate in Epidermolysis Bullosa: CT demonstration. *J Comput Assist Tomogr* 16(2): 317-319.
18. Malamud D (2011) Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dent Clin N Am* 55: 159–178. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.08.004>
19. Mandel ID (1989) The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* 119(2):298-304. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1989.0211>.
20. Amerongen AVN, Veerman ECI (2002) Saliva the defender of the oral cavity. *Oral Diseases* 8:12-22. <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2002.1o816.x>
21. Wolff A, Herscovici D, Rosenberg M (2002) A simple technique for the determination of salivary gland hypofunction. *Oral Medicine* 94(2):175-178. <https://doi.org/10.1067/moe.2002.126023>
22. Katasiogiannis S, Wong DTW (2016) The Proteomics of Saliva in Sjogren's Syndrome. *Rheum Dis Clin N Am* 42:449–456. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rdc.2016.03.004>
23. Turner MD (2016) Hyposalivation and Xerostomia: Etiology, Complications, and Medical Management. *Dent Clin North Am* 60(2):435-43. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2015.11.003>.
24. Niklander S, Veas L, Barrera C, Fuentes F, Chiappini G, Marchall M (2017) Risk factors, hyposalivation and impact of xerostomia on oral health-related quality of life. *Braz. Oral Res* 31:1-9. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0014>
25. Gupta A, Epstein JB, Sroussi H (2006) Hyposalivation in Elderly Patients. *Can Dent Assoc* 72(9):841–846.

26. Hahnel S, Behr M, Handel G, Bürgers R (2009) Saliva substitutes for the treatment of radiation-induced xerostomia—a review. *Support Care Cancer* 17:1331–1343. <https://doi.org/10.1007/s00520-009-0671-x>
27. Vinke J, Elberink OM, Stokman MA, Kroese FGM, Nazmi K, Bikker FJ, Mei HC, Vissin A, Sharma PK (2021) Lubricating properties of chewing stimulated whole saliva from patients suffering from xerostomia. *Clinical Oral Investigations* 25:4459–4469. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03758-8>
28. Leal SC, Lia EM, Amorim R, Santos MV, Araujo MC, Medeiros RA, Fonseca CA (2016) Higher Dental Caries Prevalence and Its Association with Dietary Habits and Physical Limitation in Epidermolysis Bullosa Patients: A Case Control Study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*,17(3):211-216. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1829>

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A EB é uma doença rara, sem cura e de ocorrência mundial. Causa grande morbidade física, limitações aos indivíduos e afeta principalmente as crianças. A literatura ainda é escassa quanto às descrições das características clínicas, histopatológicas e moleculares das lesões que afetam a mucosa oral nesse grupo de pacientes, assim como, em relação às alterações nas glândulas salivares. Tudo isso reforça a necessidade de pesquisas que buscam avaliar a saúde oral dos indivíduos que vivem com EB. Acreditamos que ao ampliar o conhecimento sobre os efeitos da doença na cavidade da boca, considerando as variações de tipo/subtipo, será possível oferecer aos pacientes procedimentos mais adequados além de propagar conhecimento sobre as diversas manifestações orais da EB para profissionais da classe odontológica.

Nossas análises demonstraram que as lesões na mucosa oral associadas à EB foram frequentes em pacientes diagnosticados com EBDR e EBJ. Foram encontradas anquiloglossia, úlceras, bolhas e língua despapilada. Quanto ao fluxo salivar, não está claro se indivíduos com EB estão predispostos a manifestar quadros de hipossalivação. Mesmo assim, consideramos que esse aspecto não deva ser descartado de estudos futuros, uma vez que, o fluxo salivar reduzido pode representar um fator a mais para agravar uma condição clínica já bastante desafiadora.

5 REFERÊNCIAS

BUDUNELI, E., ILGENLI, T., BUDUNELI, N., OZDEMIR, F. Aloenxerto de matriz dérmica acelular usado para obter gengiva inserida em um caso de epidermólise bolhosa. *J Clin Periodontol*, v.30, p. 1011-1015, 2003.

CONDORELLI, A. G. et al. Epidermolysis bullosa-associated squamous cell carcinoma: From pathogenesis to therapeutic perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 22, p. 1–28, 2019.

CESTARI, T. et al. Translation, cross-cultural adaptation and validation of the Quality of Life Evaluation in Epidermolysis Bullosa instrument in Brazilian Portuguese. *Int J Dermatol*, v.55, n.2, p.94-99, 2016.

FINE, J. D. et al. Epidermolysis bullosa and the risk of life-threatening cancers: The National EB Registry experience, 1986-2006. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 60, n. 2, p. 203–211, 2009.

FORTUNA, G., LOZADA-NUR, F., POLLIO, A., ARIA, M., CEPEDA-VALDES, R., MARINKOVICH, M.P., BRUCKNER, A. L., SALAS-ALANÍS, J.C. Patterns of oral mucosa lesions in patients with epidermolysis bullosa: comparison and agreement between oral medicine and dermatology. *J Oral Pathol Med*, v.42, p.733–740, 2013.

FORTUNA, G. et al. Clinical features of gingival lesions in patients with dystrophic epidermolysis bullosa: A cross-sectional study. *Australian Dental Journal*, v. 60, n.1, p. 18–23, 2015.

GUPTA, A.; EPSTEIN, J.B.; SROUSSI, H. Hyposalivation in Elderly Patients. *Can Dent Assoc* v.72, n.9, p.841–846, 2006.

HAAS, C.D., BRONX, N.Y. Epidermolysis bullosa dystrophica report of a case. *Oral medicine*, v.26, n.3, p. 291-295, 1968.

HAHNEL, S.; BEHR, M.; HANDEL, G.; BÜRGERS, R. Saliva substitutes for the treatment of radiation-induced xerostomia—a review. *Support Care Cancer* v.17, p.1331–1343, 2009.

LEAL, S.C., LIA, E.N., AMORIM, R., SANTOS, M.V., ARAÚJO, C.M., MEDEIROS, R.A., FONSECA, C.A. Higher dental caries prevalence and its association with dietary habits and physical limitation in epidermolysis bullosa

patients: a case control study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, v.17, n.3, p.211-216, 2016.

MALAMUD, D. Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dent Clin N Am* v.55, p.159–178, 2011.

MANDEL, I.D. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* n. 119, v.2, p.298-304, 1989.

MARTINEZ, L., GOODMAN, P., CROW, W.N. Carcinoma espinocelular de seio maxilar e palato na epidermólise bolhosa: demonstração por TC. *J Comput Assist Tomogr*, v.16, p. 317 – 319, 1992.

MILLSOP, J.W; WANG, E.A; FAZEL, N. Etiology, Evaluation, and Management of Xerostomia. *Clinics in Dermatology* v.35, n.5, p.468-476, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Epidermólise Bolhosa Hereditária e Adquirida. CONITEC, 2019, (http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2019/Relatrio_Epidermolisebolhosa_-CP_60_2019_verso-10-10-19.pdf).

NIKLANDER, S.; VEAS, L.; BARRERA, C.; FUENTES, F.; CHIAPPINI, G.; MARCHALL, M. Risk factors, hyposalivation and impact of xerostomia on oral health-related quality of life. *Braz. Oral Res* v.31, p.1-9, 2017.

PRIMO, B.T, COSTA, D.J., STRINGHINI, D.J, REBELLATO, N.L.B., MORAES, R. S., MÜLLER, P.R., CARNEIRO, V. L. Sialolithiasis in the duct of submandibular gland: a case report in patient with epidermolysis bullosa. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, v.14, n.2, p.339-344, 2013.

STAVROPOULOS, F., ABRAMOWICZ, S. Manejo de paciente de cirurgia oral com diagnóstico de epidermólise bolhosa: relato de 3 casos e revisão da literatura. *J Oral Maxillofac Surg*, v.66 p.554 – 559, 2008.

SWEET, S.P., BALLSDON, A. E. HARRIS, J. C., ROBERTS, G. J., CHALLACOMBE, S. J. Impaired secretory immunity in dystrophic epidermolysis bullosa. *Oral Microbiol Immunol*, v.14, p.316–320, 1999.

WRIGHT, J.T, FINE, J.D., JOHNSON, L.B. Tecidos moles orais na epidermólise bolhosa hereditária. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; v. 71, p. 440– 446, 1991.

WU, YH; SUN FK; LEE, PY. Family caregiver's lived experiences of caring for epidermolysis bullosa patients: A phenomenological study. *Journal of Clinical Nursing*, v.29, n.9-10, p. 1552-1560, 2020.

APÊNDICE A

Ficha de avaliação do fluxo salivar



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA



FICHA DE AVALIAÇÃO DO FLUXO SALIVAR

Nome: _____

Idade: _____ Tipo EB: _____

Data da coleta: _____ Horário: _____

Coleta Passiva

1. Volume encontrado _____ ml/min.

Quantidade de gotas de dimeticona utilizada: _____

() Normal () Hipossalivação () Sialorréia

2. Coloração

() Normal () Amarelada () Avermelhada () Outro pigmento _____

3. Turbidez

() Normal () Turva

Coleta estimulada

1. Volume encontrado _____ ml/min.

Quantidade de gotas de dimeticona utilizada: _____

() Normal () Hipossalivação () Sialorréia

2. Coloração

() Normal () Amarelada () Avermelhada () Outro pigmento _____

3. Turbidez

() Normal () Turva

APÊNDICE B

Ficha de exame físico



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA



FICHA DE EXAME FÍSICO

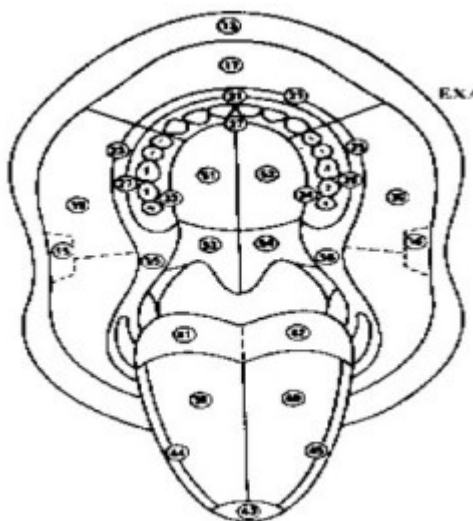
Nome: _____

Idade: _____ Tipo EB: _____

Data: ____/____/____

Lesões de mucosas:

() Úlceras () Bolhas () Nódulos () Manchas () Outras _____



Microstomia:

() Ausente () Presente

Anquiloglossia:

() Ausente () Presente

Necessidade de tratamento odontológico:

APÊNDICE C

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(a) Sr(a) _____, (ou seu responsável legal) _____, está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa chamada “LEVANTAMENTO DE DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM PACIENTES COM ALTERAÇÕES NA MUCOSA ORAL E SALIVA ASSOCIADAS A EPIDERMÓLISE BOLHOSA RESIDENTES NO ESPÍRITO SANTO”, sob a responsabilidade da pesquisadora Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo e sob a coordenação professora Letícia Nogueira da Gama de Souza.

JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

A Epidermólise Bolhosa é uma doença que faz com que apareçam bolhas na pele causadas por qualquer contato e que dependendo do tipo pode causar muitos problemas de saúde, prejudicando muito o bem-estar das pessoas com essa doença. Esta pesquisa é importante porque irá trazer informações sobre a Epidermólise Bolhosa no estado em que você mora, porque ainda não temos essas informações e ela poderá ajudar os governantes a tomarem decisões que poderão auxiliar no tratamento. Ela também ajudará a entender como divulgar as informações sobre os cuidados com higiene oral, bolhas e feridas para poder melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Esse estudo vai ajudar os pesquisadores a entender melhor como surgem os diversos problemas na boca causados pela Epidermólise Bolhosa. A pesquisa terá pessoas que vivem com Epidermólise Bolhosa e pessoas que não tem. Isso é importante, pois nos ajudará a entender como a de Epidermólise Bolhosa pode influenciar nas mudanças que acontecem na boca.

OBJETIVO DA PESQUISA

Realizar um grande estudo da Epidermólise Bolhosa com os pacientes e seus parentes sobre suas condições de vida e sobre sua saúde oral. Iremos também melhorar as formas como agir com os pacientes, e estudar as feridas que surgem na boca e, se necessário, realizaremos biopsias nessas feridas, e avaliaremos a saliva quanto a quantidade e as possíveis mudanças que possam surgir.

Também utilizaremos equipamentos para avaliar a relação de estruturas da mucosa e o desenvolvimento de bolhas, feridas e até problemas mais sérios, como o câncer.

PROCEDIMENTO

Para os participantes que vivem com Epidermólise Bolhosa, será feita uma entrevista com você e seu responsável (quem cuida de você) no ambulatório em que você se consulta e serão feitas algumas perguntas sobre sua vida e a Epidermólise Bolhosa.

Os encontros acontecerão sempre nos mesmos dias em que você vai se consultar. É bom lembrar que não serão feitos procedimentos adicionais aos quais já se farão necessários para seu tratamento. Toda a amostra analisada será aquela obtida pelo profissional responsável pelo tratamento, sem intervenção de outros dentistas. Essa parte da pesquisa será realizada em amostras de pacientes com e sem Epidermólise Bolhosa.

Serão feitas análises das amostras de tecido coletadas por meio da técnica de laboratório chamada imuno-histoquímica. Essa técnica permite que o pesquisador encontre diferentes moléculas associadas ao desenvolvimento da Epidermólise Bolhosa e suas manifestações na mucosa da boca. As análises serão realizadas no Laboratório de Biologia Celular e do Desenvolvimento e Tumorigênese e; no Laboratório Multiusuário de Histotécnicas, que são coordenados pela Profa. Dra. Letícia Nogueira da Gama de Souza. As amostras de tecido coletas irão compor o Biorrepositório e poderão ser utilizadas em outras pesquisas, se necessário. É importante lembrar que não ocorrerão procedimentos cirúrgicos ou qualquer tipo de intervenção com objetivo exclusivo de obter amostras para o projeto.

DURAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa será desenvolvida junto ao Projeto Borboleta Azul da Faculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA) sob a coordenação do Prof. Dr. Lucas Fernandes Leal, e os procedimentos realizados terão a duração de aproximadamente 01h30min. Os laboratórios de pesquisa serão o Laboratório de Biologia do Desenvolvimento e Tumorigênese e o Laboratório Multiusuário de

Histotécnicas, localizados no Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

RISCO E DESCONFORTOS

Esta pesquisa apresenta risco mínimo aos participantes, uma vez que os mesmos podem se sentir cansados ao longo da aplicação dos instrumentos da pesquisa que tentaremos minimizá-los ao máximo conforme desejo e sugestão do participante. Durante a realização do exame clínico e coleta de saliva você poderá sentir dor, que será minimizada através da utilização de um spray anestésico de lidocaína a 10% previamente ao exame e poderá desenvolver bolhas, que será prevenida com uma manipulação cuidadosa. Nos procedimentos cirúrgicos, caso haja necessidade, há o risco de formação de bolhas que serão minimizados com a realização de cortes firmes e seguros como forma de prevenção e com aplicação do anestésico de forma lenta e profunda. Você poderá sentir dor após o procedimento que será minimizada com a prescrição de medicação pós operatória. Há um risco de quebra de sigilo por parte dos pesquisadores da pesquisa, que serão minimizados através da assinatura do termo de sigilo e confidencialidade por parte dos mesmos.

BENEFÍCIOS

Um grande benefício será a possibilidade de saber o real número de casos de Epidermólise Bolhosa e fornecer informações para os pacientes e familiares para que todos possam entender, prevenir ou aliviar os diversos problemas que afetam o bem-estar das pessoas envolvidas com a Epidermólise Bolhosa. Buscaremos também treinar os pacientes e responsáveis, nos cuidados corretos com as lesões e a higiene oral.

Ainda, esperamos conseguir informações que poderão ajudar a entender o processo de formação do câncer em pacientes com Epidermólise Bolhosa, e poderemos propor a criação de terapias mais eficazes voltadas para prevenção e tratamento nesse grupo.

ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA

Você participará deste estudo, por sua própria vontade, sem receber qualquer incentivo financeiro e com a finalidade exclusiva de colaborar para o sucesso da

pesquisa, que não envolve remuneração. Você será acompanhado durante toda a duração da pesquisa pela equipe que compõe o projeto e será assistido pela equipe médica/odontológica que o acompanha nas consultas caso ocorra alguma intercorrência durante os atendimentos.

GARANTIA DE RECUSA EM PARTICIPAR DA PESQUISA E/OU RETIRADA DE CONSENTIMENTO

Você não é obrigado (a) a participar da pesquisa, podendo deixar de participar dela em qualquer momento que desejar, sem que haja penalidades ou prejuízos por causa disso. Caso decida retirar seu consentimento, você não será mais contatado (a) pelos pesquisadores.

GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE

Os pesquisadores se comprometem a preservar sua identidade durante todas as fases da pesquisa, inclusive após publicação, mediante a assinatura do termo de sigilo e confidencialidade.

GARANTIA DE RESSARCIMENTO FINANCEIRO

A princípio, a realização dos procedimentos da pesquisa não promoverá despesas financeiras aos participantes, tendo em vista que os encontros presenciais acontecerão nos mesmos dias em que os pacientes já vão se consultar com o médico que o acompanha, mas a você será garantido o ressarcimento com eventual despesa para participação na pesquisa.

GARANTIA DE INDENIZAÇÃO

O participante tem direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa por parte do pesquisador responsável.

ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou para relatar algum problema, o(a) Sr.(a) pode contatar as pesquisadoras Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo no telefone (27) 997474869, no endereço Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe. Centro de Ciências da Saúde, Vitória, ES. Brasil. CEP 29.040-090 e Letícia Nogueira da Gama de Souza no telefone (27) 988482454, no endereço Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe. Centro de Ciências da Saúde -

Departamento de Morfologia. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, ES. Brasil. CEP 29.040-090. O(A) Sr.(a) também pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP/CCS/UFES) através do telefone (27) 3335-7211, email cep.ufes@hotmail.com ou correio: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Prédio Administrativo do CCS, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29.040-090,

Vitória - ES, Brasil. O CEP/CCS/UFES tem a função de analisar projetos de pesquisa visando à proteção dos participantes dentro de padrões éticos nacionais e internacionais. Seu horário de funcionamento é de segunda a sexta-feira, das 8h às 17h.

Declaro que fui verbalmente informado e esclarecido sobre o presente documento, entendendo todos os termos acima expostos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Também declaro ter recebido uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de igual teor, assinada pelo(a) pesquisador(a) principal ou seu representante, rubricada em todas as páginas.

Vitória, __/__/__

Participante da pesquisa/Responsável legal

Na qualidade de pesquisadora da pesquisa “LEVANTAMENTO DE DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM PACIENTES COM ALTERAÇÕES NA MUCOSA ORAL E SALIVA ASSOCIADAS A EPIDERMÓLISE BOLHOSA RESIDENTES NO ESPÍRITO SANTO”, eu, Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo, declaro ter cumprido as exigências do(s) item(s) IV.3 e IV.4 (se pertinente), da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo

Na qualidade de pesquisador responsável pela pesquisa “LEVANTAMENTO DE DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E

HISTOPATOLÓGICOS EM PACIENTES COM ALTERAÇÕES NA MUCOSA ORAL E SALIVA ASSOCIADAS A EPIDERMÓLISE BOLHOSA RESIDENTES NO ESPÍRITO SANTO”, eu, Letícia Nogueira da Gama de Souza, declaro ter cumprido as exigências do(s) item(s) IV.3 e IV.4 (se pertinente), da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

Letícia Nogueira da Gama de Souza

APÊNDICE D

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa chamada “LEVANTAMENTO DE DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM PACIENTES COM ALTERAÇÕES NA MUCOSA ORAL E SALIVA ASSOCIADAS A EPIDERMÓLISE BOLHOSA RESIDENTES NO ESPÍRITO SANTO”, sob a responsabilidade da pesquisadora Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo e sob a coordenação professora Letícia Nogueira da Gama de Souza.

JUSTIFICATIVA DA PESQUISA

A Epidermólise Bolhosa é uma doença que faz com que apareçam bolhas na pele causadas por qualquer contato e que dependendo do tipo pode causar muitos problemas de saúde, prejudicando muito o bem-estar das pessoas com essa doença. Esta pesquisa é importante porque irá trazer informações sobre a Epidermólise Bolhosa no estado em que você mora, porque ainda não temos essas informações e ela poderá ajudar os governantes a tomarem decisões que poderão auxiliar no tratamento. Ela também ajudará a entender como divulgar as informações sobre os cuidados com higiene oral, bolhas e feridas para poder melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Esse estudo vai ajudar os pesquisadores a entender melhor como surgem os diversos problemas na boca causados pela Epidermólise Bolhosa. A pesquisa terá pessoas que vivem com Epidermólise Bolhosa e pessoas que não tem. Isso é importante, pois nos ajudará a entender como a de Epidermólise Bolhosa pode influenciar nas mudanças que acontecem na boca.

OBJETIVO DA PESQUISA

Realizar um grande estudo da Epidermólise Bolhosa com os pacientes e seus parentes sobre suas condições de vida e sobre sua saúde oral. Iremos também melhorar as formas como agir com os pacientes, e estudar as feridas que surgem na boca e as mudanças na saliva, utilizando equipamentos para avaliar a relação de estruturas da mucosa e o desenvolvimento de bolhas, feridas e até problemas mais sérios, como o câncer.

PROCEDIMENTO

Para os participantes que vivem com Epidermólise Bolhosa, será feita uma entrevista com você e seu responsável (quem cuida de você) no ambulatório em que você se consulta e serão feitas algumas perguntas sobre sua vida e a EB. Os encontros acontecerão sempre nos mesmos dias em que você vai se consultar. É bom lembrar que não serão feitos procedimentos adicionais aos quais já se farão necessários para seu tratamento. Toda a amostra analisada será aquela obtida pelo profissional responsável pelo tratamento, sem intervenção de outros dentistas e serão armazenadas e poderão ser utilizadas em outras pesquisas, se necessário.

DURAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa será desenvolvida junto ao Projeto Borboleta Azul da Faculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA) sob a coordenação do Prof. Dr. Lucas Fernandes Leal, e os procedimentos realizados terão a duração de aproximadamente 01h30min. Os laboratórios de pesquisa serão o Laboratório de Biologia do Desenvolvimento e Tumorigênese e o Laboratório Multiusuário de Histotécnicas, localizados no Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

RISCO E DESCONFORTOS

Esta pesquisa apresenta um risco pequeno aos participantes, uma vez que você pode se sentir cansado ao longo da pesquisa, o que tentaremos diminuir ao máximo conforme o seu desejo e sugestão. Durante a realização da consulta e coleta de saliva você poderá sentir dor, que será minimizada através da utilização de um spray anestésico antes da realização do exame e poderá desenvolver bolhas, que será prevenida com um tratamento cuidadoso. Nos procedimentos cirúrgicos, caso haja necessidade, há o risco de formação de bolhas que serão minimizados com a realização de cortes firmes e seguros como forma de prevenção e com aplicação do anestésico de forma lenta e profunda. Você poderá sentir dor após o procedimento, mas será prescrito um remédio para amenizar a dor. Há um risco de quebra de sigilo por parte dos pesquisadores da pesquisa, que serão minimizados através da assinatura do termo de sigilo e confidencialidade por parte dos mesmos.

BENEFÍCIOS

Um grande benefício será a possibilidade de saber o real número de casos de Epidermólise Bolhosa e fornecer informações para os pacientes e familiares para que todos possam entender, prevenir ou aliviar os diversos problemas que afetam o bem-estar das pessoas envolvidas com a Epidermólise Bolhosa. Buscaremos também treinar os pacientes e responsáveis, nos cuidados corretos com as lesões e a higiene oral.

Ainda, esperamos conseguir informações que poderão ajudar a entender como ocorre o processo de formação do câncer em pacientes com Epidermólise Bolhosa, e poderemos propor a criação de terapias mais eficazes voltadas para prevenção e tratamento nesse grupo.

ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA

Você participará deste estudo, por sua própria vontade, sem receber qualquer incentivo financeiro e com a finalidade exclusiva de colaborar para o sucesso da pesquisa, que não envolve remuneração. Você será acompanhado durante toda a duração da pesquisa pela equipe que compõe o projeto e será assistido pela equipe médica/odontológica que o acompanha nas consultas caso ocorra alguma intercorrência durante os atendimentos.

GARANTIA DE RECUSA EM PARTICIPAR DA PESQUISA E/OU RETIRADA DE CONSENTIMENTO

Você é quem decide se quer ou não participar da pesquisa, e caso em algum momento não queira mais participar, você poderá deixá-la, sem nenhum problema.

GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE

Os pesquisadores se comprometem a preservar seu nome durante toda a pesquisa.

GARANTIA DE INDENIZAÇÃO

O participante tem direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa por parte do pesquisador responsável.

ESCLARECIMENTO DE DÚVIDAS

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou para relatar algum problema, o(a) Sr.(a) pode contatar as pesquisadoras as pesquisadoras Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo no telefone (27) 997474869, no endereço Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe. Centro de Ciências da Saúde, Vitória, ES. Brasil. CEP 29.040-090 e Letícia Nogueira da Gama de Souza no telefone (27) 988482454, no endereço Av. Marechal Campos, 1468 – Maruípe. Centro de Ciências da Saúde - Departamento de Morfologia. Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória, ES. Brasil. CEP 29.040-090. O(A) Sr.(a) também pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP/CCS/UFES) através do telefone (27) 3335-7211, e-mail cep.ufes@hotmail.com ou correio: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Prédio Administrativo do CCS, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29.040-090, Vitória - ES, Brasil. O CEP/CCS/UFES tem a função de analisar projetos de pesquisa visando à proteção dos participantes dentro de padrões éticos nacionais e internacionais. Seu horário de funcionamento é de segunda a sexta-feira, das 8h às 17h.

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Aceito participar deste estudo de forma voluntária e recebi uma via deste Termo de Assentimento Livre e Esclarecido assinado pela pesquisadora.

Assinatura do (a) menor

Pesquisador

Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo

Pesquisador Responsável

Letícia Nogueira da Gama de Souza

APENDICE E

TERMO DE SIGILO E CONFIDENCIALIDADE

No presente Termo, os pesquisadores envolvidos no Projeto "LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO, SOCIODEMOGRÁFICO, HISTOPATOLÓGICO E ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO KI-67 EM LESÕES DA MUCOSA ORAL EM PACIENTES QUE VIVEM COM EPIDERMÓLISE BOLHOSA NO ESPÍRITO SANTO" se comprometem a manter sigilo em relação às informações consideradas confidenciais a que poderão ter acesso no decorrer da pesquisa. Os pesquisadores, abaixo assinados, assumem total responsabilidade pelas consequências legais advindas da utilização inadequada dos dados obtidos e pelo desvirtuamento da finalidade prevista no seu Protocolo de Pesquisa, conforme disposto nos documentos internacionais e na Resolução nº 466 de 12/12/2012, do Ministério da Saúde.

Pesquisadores	CPF	ASSINATURA
Letícia Nogueira da Gama de Souza		
Rosalie Matuk Fuentes Torrelio		
Willian Grassi Bautz		
Lucas Fernandes Leal		
Gabriel Marim Roni		
Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo		

Vitória, ____ de _____ de 2020

APÊNDICE F

Termo de anuência

FACULDADES INTEGRADAS ESPÍRITO-SANTENSES

Clínica odontológica da FAESA - Centro Universitário

TERMO DE ANUÊNCIA

Autorizo a Dra. Letícia Nogueira da Gama de Souza, professora associada do Departamento de Morfologia e professora permanente do Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo, a desenvolver todas as atividades previstas no Projeto de Pesquisa intitulado “LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO, SOCIODEMOGRÁFICO, HISTOPATOLÓGICO E ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO KI-67 EM LESÕES DA MUCOSA ORAL EM PACIENTES QUE VIVEM COM EPIDERMÓLISE BOLHOSA NO ESPÍRITO SANTO”, as quais incluem a utilização de laudos histopatológicos e amostras teciduais de lesões bucais de pacientes com Epidermólise Bolhosa, pertencentes à Clínica odontológica da FAESA – Centro Universitário.

Vitória, ___ de _____ de 2020.

Ms. Lucas Fernandes Leal

Estomatologista pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro, e professor da
Clínica odontológica da FAESA – Centro Universitário

APÊNDICE G

Versão do artigo em língua inglesa

Epidermolysis bullosa in oral health: clinical manifestations and salivary alterations

Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo^a, Gabriel Marim Roni^b, Raquel Spinassé Dettogni^c,
Rosalia Matuk Fuentes Torrelío^d, Lucas Fernandes Leal^e, Leticia Nogueira da Gama-de-Souza^f

^aFederal University of Espírito Santo, Health Science Center, Graduate Program in Dental Science, Vitória, ES, Brazil

^bFederal University of Espírito Santo, Health Science Center, Morphology Department, Medical School, Vitória, ES, Brazil

^cFederal University of Espírito Santo, Health Science Center, Morphology Department, Vitória, ES, Brazil

^dPlastic Surgery, Our Lady of Glory Children's Hospital, Debra, Vitória, ES, Brazil

^eFaculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA), Vitória, ES, Brazil

^fFederal University of Espírito Santo, Health Science Center, Morphology Department, Graduate Program in Dental Science, Vitória, ES, Brazil

Correspondence

Leticia Nogueira da Gama de Souza

Federal University of Espírito Santo, Health Science Center, Morphology Department. Avenue Marechal Campos, 1468, Maruípe, Zip Code: 29.040-090, Vitória, ES, Brazil.

+552733357358. E-mail: leticia.souza@ufes.br

Acknowledgments

We would like to thank the Borboleta Azul Project of Faculdades Integradas Espírito Santenses (FAESA), the Our Lady of Glory Children's Hospital, and the Clinic of Interdisciplinarity in Child Patients of the Dental Institute of Federal University of Espírito Santo for their support during clinical stages of the project.

Funding

This study was funded by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel, process number 88887.647670/2021-00, and by the National Council for Scientific and Technological Development, process number 151441/2021-9.

Abstract

Epidermolysis bullosa (EB) is an inherited disease characterized by the fragility of the skin and mucous membranes. All types/subtypes of EB can lead to alterations in the mouth and glands.

Objective: To evaluate clinical manifestations of EB on the oral mucosa and alterations in salivary flow. **Materials and methods:** Sociodemographic and clinical data were obtained from EB individuals. The salivary flow analysis was performed in EB and in non-EB patients. Fischer's exact test was applied to the qualitative variables, and the Mann-Whitney test was applied to the quantitative data. **Results:** A total of 11 cases of EB were evaluated, and 3 types of EB were diagnosed (recessive dystrophic/RDEB, junctional/JEB, and simplex/EBS). Only individuals with RDEB or JEB showed the oral manifestation of the disease. The most affected sites were the lips (54%), hard palate (36%), and jugal mucosa (27%). Ulcer and ankyloglossia were diagnosed in all RDEB cases. In salivary flow, an intragroup comparison revealed an increase in stimulated versus passive collection in the control sample ($p= 0.0064$). In the EB group, there was no difference ($p= 0.6086$). We also observed no differences in salivary volume between the control and EB groups ($p = 0.7117$ and $p = 0.5557$, passive and stimulated flows respectively). **Conclusions:** No oral manifestations were observed in EBS subjects. It is unclear whether individuals with EB are predisposed to manifest hyposalivation. **Clinical relevance:** Severe cases of EB show alterations in the oral mucosa in a broad way, while the saliva needs to be better evaluated.

Keywords: Epidermolysis bullosa, saliva, oral mucosa, blisters.

Introduction

Epidermolysis bullosa (EB) is a rare, inherited, mucocutaneous disease characterized by the fragility of the skin and mucous membranes following mild mechanical trauma, resulting in continuous blisters formation. Four main types of EB have been described based on the level of skin cleavage: simplex EB (SEB); junctional EB (JEB); dystrophic EB (DEB) and Kindler syndrome (KS). For each type, there are distinct subtypes [1,2]. EB has a worldwide occurrence, with equal distribution among genders, races, and geographical regions [3]. There are approximately 500,000 individuals living with the disease worldwide, the majority being children. The prevalence is around 11 cases per million population and the incidence is approximately 20 cases per million on live births [4].

EB can result in the appearance of vesiculobullous lesions on the oral mucosa that can range from small and discrete vesicles to the appearance of large blisters. Differences in the prevalence and severity of oral lesions are closely related to the specific proteins that are abnormal or absent in each type/subtype of EB. Patients with the generalized recessive dystrophic form are the most severely affected [1,5]. In addition to blisters on the oral mucosa, the patients may present ankyloglossia, absence of papillae on the tongue, partial obliteration of the vestibule, secondary microstomia due to the healing process, and milia in the oral mucosa [1,2,6].

Individuals living with EB may also have alterations in glands. Structural abnormalities in the salivary, sebaceous, and mammary glands have been reported in DEB. In this context, the absence of collagen VII during embryonic development probably impairs glandular formation [7].

We note that there is still a lack of information in the literature regarding the alterations in the oral mucosa and salivary glands in individuals living with EB. Thus, the aim of this study was to identify the main oral lesions and their characteristics, regardless of the type/subtype of EB, as well as to evaluate salivary flow alterations in an EB population in a Brazilian state.

Materials and Methods

Ethical considerations

The study was approved by the Research Ethics Committee of UFES (report number 4.569.791) and developed at Project Borboleta Azul from FAESA; at the Our Lady of Glory Hospital and the dental clinic of UFES. The study followed the CNS 466/12 norms, respecting the principles of secrecy and confidentiality. Personal data remained confidential and only participants who signed the informed consent form were included in the sample.

Sample selection

The sample was composed of adults and children diagnosed with EB, regardless of type/subtype. They reside in the state of Espírito Santo and are treated at FAESA and the Our Lady of Glory Hospital in Vitória/ES.

The diagnosis for each type/subtype of EB was based on clinical manifestations for EBS patients and through genetic sequencing for EBDR and EBJ patients. The analyzed DNA was extracted through the buccal SWAB and the method used was the capture of target regions using probes. Next-generation sequencing was performed with Illumina technology. Bioinformatics protocols were used for the alignment and identification of variants, having as reference the GRCh38 version of the human genome and using gnomAD to reference the allelic frequency of the variants, a method developed and validated by the Mendelics Genomic Analysis laboratory, São Paulo-Brazil.

Eleven individuals were selected for sociodemographic data collection and ten individuals for saliva collection (the patient's health condition was a criterion used for their refusal or acceptance). The control group for a salivary collection comprised 10 non-EB adults and children matched in terms of sex and age, from the Clinic of Interdisciplinarity in Child Patients of the Dental Institute UFES.

The inclusion criteria adopted for the control group were healthy patients, no report of previous diseases, and no continuous use of medications. The exclusion criteria were people with any comorbidity and people who had eaten or drunk water less than two hours before the salivary collection procedure.

Sociodemographic data

Sociodemographic data were obtained using an online questionnaire via the Google Forms platform which included the following information: sex, age, education level, type/subtype of EB, and other diseases involved. The answers were tabulated in Excel spreadsheets.

Physical examination of the mouth

Physical examination was performed in the mouth cavity of the EB patients to identify the presence and sites of lesions such as blisters, spots, oral potentially malignant disorders, or any other type of alteration in the mucosa. The data collected were recorded in forms prepared for this purpose.

Saliva collection and analysis

The participants were instructed to drink 300 ml of water two hours before the procedure so that there was no variability in the body's hydration. They were also instructed not to eat, drink other liquids, or perform any oral hygiene procedures for two hours before the measurements. The salivary flow was collected in two conditions: passive and stimulated. The procedure happens as the following statements:

Passive saliva collection: the patient was asked to continuously spit all saliva into a single graduated container for 5 minutes.

Stimulated saliva collection: the patient was asked to chew a mechanical disposable silicone sialogogue (Halitus Comércio de Produtos de Higiene Pessoal Ltda ME) for 5 minutes and, during the whole period, he was instructed to spit the saliva produced into a single measuring container.

The qualitative aspects evaluated were saliva turbidity and color. The saliva and foam volumes in each ml produced during five minutes were evaluated in the quantitative analysis. Drops of dimethicone were used to precipitate and convert the foam into saliva as follows: 3 drops for a foam size up to 4 ml; 4 drops for a foam size between 4 ml and 8 ml; and 5 drops for a foam size above 8 ml. This process allows the foam to be quickly converted into saliva, which results in an immediate and accurate result of the amount of saliva produced. Each drop of dimethicone corresponds to 0.02 ml, so the maximum amount of 5 drops corresponds to only 0.1 ml. The value corresponding to the drop of dimethicone used was subtracted from the result [8]. Then the volume found was divided by five to get the amount in ml/minute of saliva produced.

Salivary volume was classified as hyposalivation and normal. Values equal to or greater than 0.1 ml/min were considered normal for passive flow and values equal to or greater than 0.7 ml/min were considered normal for stimulated flow. Values less than 0.1 ml/min in passive flow and less than 0.7 ml/min in stimulated flow were classified as hyposalivation [9].

Statistical Analysis

Fischer's exact test was applied to the sociodemographic and clinical data. For the quantitative analysis of salivary volume, the Mann-Whitney test was applied. A 5% significance level was adopted, with $p < 0.05$ indicating a significant association between the variables.

Results

Sociodemographic data showed a similar distribution between women (45.45%) and men (54.55%), and individuals aged ≤ 18 years represented most of the sample (9 cases). Recessive EB (RDEB) was the most found type (63.64%) and 81.81% of the sample had no other associated diseases. One RDEB patient had Down syndrome and bone marrow aplasia; and one JEB patient had an overactive bladder. Table 1 summarizes these findings.

Table 1. Sample profile.

Sociodemographic data	EB (n=11)
Sex	
Female	5 (45.45%)
Male	6 (54.54%)
Age	
Children and Adolescents (≤ 18 years)	9 (81.81%)
Youth and Adults (≥ 19 years)	2 (18.19%)
Type of EB	
RDEB	7 (63.64%)
JEB	1 (9.09%)
EBS	3 (27.27%)
Education	
Elementary school	6 (54.54%)
High school	4 (36.36%)
University education	1 (9.09%)
Other diseases	
Yes	2 (18.19%)
No	9 (81.81%)

EB = Epidermolysis Bullosa

RDEB= Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa

JEB = Junctional Epidermolysis Bullosa

EBS = Epidermolysis Bullosa Simplex

The physical examination of the mouth revealed that different sites were affected by some type of lesion. The most frequent was the hard palate (36%), followed by the jugal mucosa (27%). Among the 3 types of EB diagnosed in the evaluated patients (RDEB, JEB, and EBS) only individuals with RDEB or JEB showed the oral manifestation of the disease (Figure 1). The lesions had a similar distribution between the sexes. Table 2 presents this data.

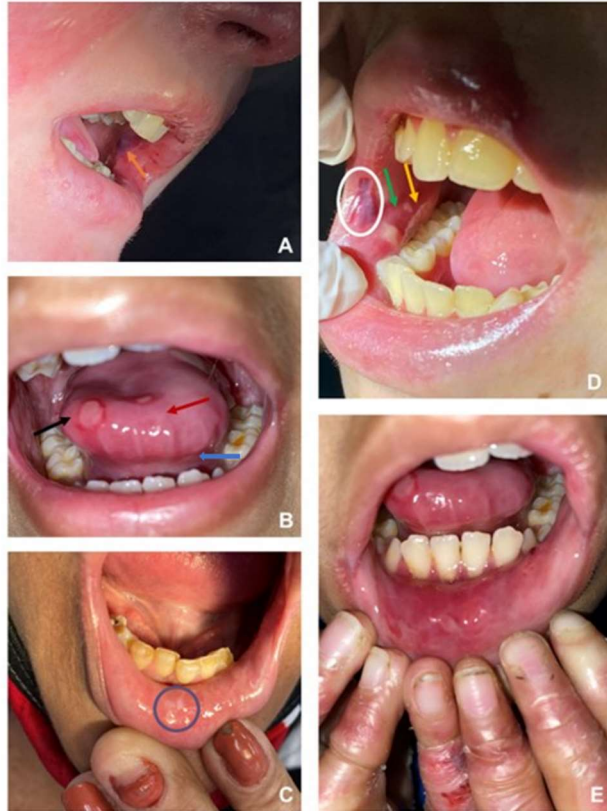


Fig. 1 (A) RDEB patient with limited mouth opening (microstomia) blister on the oral mucosa (arrow). (B) EBDR patient with a tongue without papillae (red arrow); ulcers on the dorsum of the tongue (black arrow) and ankyloglossia (blue arrow). (C) JEB patient with white spot lesion on the lower lip and nail changes. (D) EBDR patient with a blister on jugal mucosa (circle), white spot (yellow arrow), and red spot (green arrow). (E) White and red lesions on the lower lip mucosa of RDEB patient and areas of recurrent scarring on the fingers.

RDEB: recessive dystrophic epidermolysis bullosa. JEB: junctional epidermolysis bullosa.

Table 2. Distribution of lesion site, sex and age according to the type of EB.

	RDEB (n=7)	JEB (n=1)
Site		
Hard palate	4 (57.14%)	0 (0%)
Jugal mucosa	3 (42.86%)	0 (0%)
Lips	5 (71.43%)	1 (100%)
Labial commissure	2 (28.57%)	0 (0%)
Tongue	2 (28.57%)	0 (0%)
Gingiva	3 (42,86%)	0 (0%)
Sex		
Male	4 (57.14%)	0 (0%)
Female	3 (42.86%)	1 (100%)
Age		
≤ 18 years	6 (85.71%)	0 (0%)
≥ 19 years	1 (14.29%)	1 (100%)

Only patients with RDEB and JEB showed lesions in the mouth cavity.

In the analysis of the type of lesion present in each anatomical site, ulcer and ankyloglossia were the most noteworthy and were diagnosed in all 7 cases of RDEB. Among the

patients with ulcerative lesions, the majority were aged ≥ 19 years (71.43%). As for the patients with ankyloglossia, the majority were aged ≤ 18 years (66.67%). These data are in Table 3.

Table 3. Classification of lesions according to the type of EB.

Classification	RDEB (n=7)	JEB (n=1)
Ulcer	7 (100%)	0 (0%)
Bubble	4 (57.14%)	0 (0%)
White spot	2 (28.57%)	1 (100%)
Red stain	2 (28.57%)	0 (0%)
Gingivitis	3 (42.86%)	0 (0%)
Depapilated tongue	4 (57.14%)	0 (0%)
Ankyloglossia	6 (85.71%)	0 (0%)
Microstomy	2 (28.57%)	0 (0%)

Only patients with RDEB and JEB showed lesions in the mouth cavity.

Regarding the qualitative analyses of the saliva, there was no color difference between the control group (non-EB) and the EB group. In both collections (passive and stimulated), 20% had yellowish saliva ($p > 0.4737$ and > 0.9999 , respectively). The same for the turbidity assessment in passive ($p > 0.9999$) and stimulated ($p > 0.9999$) flow. Data is presented in table 4.

Table 4. Staining, turbidity and classification of the flow of saliva extracted passively and stimulated in EB and control groups.

	Control (n=10)	EB (n=10)	P-value
Passive flow			
Staining			> 0.4737
Yellowish	0 (0%)	2 (20%)	
Normal	10 (100%)	8 (80%)	
Turbidity			> 0.9999
Normal	6 (60%)	5 (50%)	
Blurred	4 (40%)	5 (50%)	
Salivary flow			> 0.9999
Hyposalivation	0 (0%)	0 (0%)	
Normal	10 (100%)	10 (100%)	
Stimulated flow			
Staining			> 0.9999
Yellowish	0 (0%)	0 (0%)	
Normal	10 (100%)	10 (100%)	
Turbidity			> 0.9999
Normal	9 (90%)	8 (80%)	
Blurred	1 (10%)	2 (20%)	
Salivary flow			> 0.5820
Hyposalivation	1 (10%)	3 (30%)	
Normal	9 (90%)	7 (70%)	

Fisher's Exact Test

EB: Epidermolysis Bullosa

Finally, the salivary volume analyses in the passive flow showed that the EB group had a volume variation of 0.1 ml/min to 2.4 ml/min, while in the stimulated flow this variation was between 0.3 ml/min and 2.4 ml/min. All samples obtained by passive flow were classified as normal. In stimulated flow, 30% of the EB group had hyposalivation. The passive flow of EB patients presented an overall mean of 0.95 ml/min. When comparing patients with and without oral lesions, a mean salivary flow of 1.1 ml/min and 0.6 ml/min was observed respectively.

When we evaluated the salivary volume of the control group in the passive flow, the values were between 0.2ml/min and 1 ml/min; and in the stimulated flow between 0.4 ml/min and 3.0 ml/min (Table 4). All subjects from the control group in the passive flow were classified with normal salivary flow, while only 10% were classified with hyposalivation in the stimulated flow. In the quantitative analysis, the intra-group comparison revealed increased salivary flow in stimulated versus passive collection for the control group ($p = 0.0064$), however, for the EB group there was no difference between the flows ($p = 0.6086$). In the comparison between the control and EB groups, we observed no differences in salivary volume in the two collection methodologies applied ($p = 0.7117$ and $p = 0.5557$ for the passive and stimulated flow, respectively). Figure 2 represents this analysis.

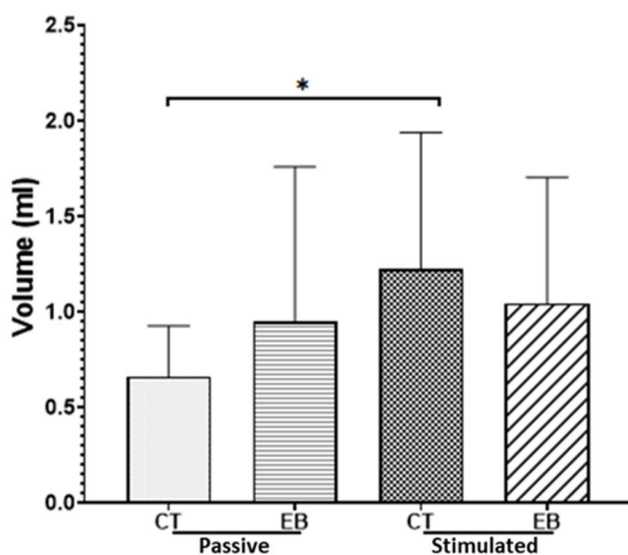


Fig. 2 Graph of the salivary volume x flow ratio in the passive and stimulated collections in the control and EB groups. The intragroup comparison revealed increased salivary flow in stimulated versus passive collection for the control group ($p = 0.0064, *$). In the EB group, there was no difference between passive and stimulated flow ($p = 0.6086$). In the comparison between the control and EB groups, we observed no differences in salivary volume in the two collection methodologies applied ($p = 0.7117$ and $p = 0.5557$ for the passive and stimulated flow, respectively). Mann-Whitney test.

Descriptive statistics: Passive CT: minimum 0.2000 and maximum 1.000, mean 0.6600, and standard deviation 0.2675. Stimulated CT: minimum 0.4000 and maximum 3.000, medial 1.222, and standard deviation 0.7172. Passive EB: minimum 0.1000 and maximum 2.400, mean 0.9500 and standard deviation 0.8100. Stimulated EB: minimum 0.3000 and maximum 2.400, medial 1.044, and standard deviation 0.6598.

CT: control. EB: epidermolysis bullosa.

Discussion

EB is a rare disease that occurs worldwide, causing great physical morbidity and limitations to individuals. Descriptions and studies of the clinical, histopathological, and molecular characteristics of the lesions that affect the oral mucosa in this group of patients are still scarce in the literature, as well as the descriptions and studies related to the salivary gland alterations. In our analysis, we demonstrated the presence of oral lesions in 100% of the RDEB

and JEB samples, with emphasis on ulcer and ankyloglossia. In the salivary analysis, we did not observe any qualitative or quantitative difference between the control and EB groups.

In the context of the oral mucosa, all patients with any type/subtype of EB may have virtually all four typical lesions, such as erythema, ulcers, atrophy, and blisters, although the frequency, extent, and severity can range from mild to extremely severe [10,11]. RDEB individuals are the most severely affected [12] and although pathognomonic manifestations of intraoral non-mineralized parts can be found, the most common oral finding is blister formation [13]. Our results corroborate these data since the RDEB group was the one that presented the oral manifestation of the disease in its greatest magnitude, with the presence of all typical lesions. The oral involvement was represented by a single lesion on the lower lip of the JEB patient, however, we observed other manifestations on the skin and nails. Most JEB individuals do not have significant oral scarring, except for the Herlitz subtype, characterized by exuberant perioral granulation tissue [14].

It has been reported that the oral mucosa, followed by the tongue and lips, are the most frequent sites of blister formation in the mouth of EB individuals. The ongoing process of lesion formation, followed by recurrent healing, results in significant changes in the oral architecture. Over time, the oral vestibule is obliterated by scarring, tissue adhesion, and impaired tongue movements. Ankyloglossia and microstomia, secondary to the healing of the commissures, are frequently observed. Another aspect observed is the surface of the tongue becoming smooth and the papillae atrophied [14,15]. In our sample, the RDEB group showed all of the findings of ankyloglossia and a depapillated tongue, at a young age (less than 20 years).

A relevant aspect in patients living with EB is the increased risk for the early development of squamous cell carcinoma (SCC). It is known that mutations in genes involved in the pathogenesis of EB not only alter the expression of a specific molecule in the basement membrane zone but also cause modifications in the entire microenvironment. These modifications have consequences on the mechanisms of inflammation, healing, and fibrosis, which may increase wounds and their chronification. They also have a crucial role in the development of neoplasms [16]. Early diagnosis of lesions is crucial to avoid the development of SCC. In the sample evaluated, we found no suspicious lesion indicating carcinoma or presenting the appearance of a disorder with the potential for malignancy. Although SCC has been described as a leading cause of death in EB patients, most of them develop on the skin surface, with only a few cases in the mouth cavity [17].

Saliva is a continuously released fluid composed of 99.5% water and 0.5% inorganic ions, in addition to organic components. [18]. Saliva acts lubricating and moistening the tissues to aid in swallowing, chewing, speaking, and tasting [19]. It is also responsible for initiating and facilitating digestion and has intrinsic antipathogenic properties relevant to maintaining oral health [20]. Regarding saliva coloration, it is known that a greater number of peeling cells of the oral mucosa in suspension can make it turbid. Therefore, it should be an aspect to be investigated because it may represent onicofagy, bruxism, mouth breathing, lips nibbling of the jugal mucosa, hormonal alterations, and vitamin A and D deficiency [21]. In the context of EB, the continuous presence of oral lesions in severe cases may be a causal factor for color alteration by a decrease of epithelial cells, exposure to connective tissue, and consequent bleeding. However, our data showed that the saliva color and turbidity pattern of the EB group was similar to the control, even in patients who had mucosal lesions.

The production and secretion of saliva by the varied salivary glands reach a volume between 500 ml and 1500 ml per day [22]. Hyposalivation is considered an objective factor to identify decreased salivary production [23]. Another aspect is that saliva can be classified as unstimulated and stimulated. The unstimulated saliva reflects the basal flow rate intended to protect the oral mucosa while the stimulated saliva aids chewing and digestion [24]. Hyposalivation refers to a stimulated salivary flow rate < 0.7 ml/min, and an unstimulated salivary flow rate < 0.1 ml/min [9]. There are several etiological factors related to hyposalivation, such as medications with anticholinergic activity and chemotherapy, radiation therapy on the head and neck, and Sjögren's syndrome [25]. When involved by these factors, the patient may present a high incidence of dental caries, burning sensation, or oral tingling, as well as antimicrobial

salivary actions that favor the installation of fungal infections such as candidiasis [26]. That can also contribute to difficulties in speech, chewing, and swallowing [27].

Our results showed no qualitative differences in saliva between EB and non-EB individuals. We identified that 30% of the values found in the stimulated flow were hyposalivation in the EB group and 10% in the control group. As for the passive flow, both groups showed normal salivary flow. In the quantitative analysis, it was possible to confirm that healthy individuals show increased salivary flow when induced by a stimulus. However, the same result was not observed when we compared passive and stimulated flow in the EB group. This may initially suggest that the salivary glands did not alter their secretory activity in the face of stimulation with sialogogue. In the EB patient, the abnormal salivary function may be explained by obstruction of the ducts of the major salivary glands and dysplasia of the minor salivary glands due to the formation of chronic blisters and subsequent scarring [5].

When comparing the variation in salivary flow between EB individuals in passive flow between those with and without oral lesions, an increase of 83% in salivary flow was observed in those with the presence of lesions. However, the literature is scarce regarding data related to the increase in salivary flow due to oral lesions in the context of EB.

By comparing the EB and non-EB groups, no differences were detected in the two salivary collection methodologies used. This result indicates similar behavior in the physiology of the glands for the groups evaluated. Previous studies have reported similar results to ours [14,29], but it should be noted that the flow analyses performed in our sample were under two different conditions, passive and stimulated.

The data presented here did not involve all types and subtypes of EB. The sample refers to a limited population of southeast Brazil, which justifies the small sample size. Even so, we consider this report important to contribute to the information about the oral manifestations and aspects related to salivary flow in EB. We must remember that it is a rare disease with multiple oral manifestations, which requires a special approach from a dental point of view. Therefore, we believe that the results obtained expand the knowledge about the influence of EB on the oral health status of individuals living with this disease. A better understanding of population frequency, severity of oral lesions, and saliva-related aspects can be achieved through further investigations in larger groups, including all types/subtypes of EB. However, this seems an ongoing challenge, as we know that it is a condition with significant mortality and morbidity rates, in addition to the risk of participant fatigue.

Conclusion

Oral mucosal lesions were an important finding in our sample of patients diagnosed with RDEB and JEB, reinforcing the severity of the disease in these groups. As for salivary flow, it is unclear whether individuals with EB are predisposed to manifest clinical conditions of hyposalivation. However, this aspect should not be dismissed from further studies, since reduced salivary flow may be one more factor to aggravate a challenging clinical condition.

Declarations

Authors' contributions

All authors contributed to the conception and design of this study. The project design, data collection, and data analysis were realized by Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo, Gabriel Marim Roni, Matuk Fuentes Torrelío, Lucas Fernandes Leal, and Letícia Nogueira da Gama-de-Souza. Brenda Lamônica Rodrigues de Azevedo and Letícia Nogueira da Gama-de-Souza wrote the first version of the manuscript and all the authors commented on the later versions. Raquel Spinassé Dettogni and Letícia Nogueira da Gama-de-Souza were responsible for the critical revision of the manuscript. All authors have read and approved the final manuscript.

Conflict of interest

None declared.

Ethical approval

This study was carried out in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. The approval was granted by the Ethics Committee of Federal University of Espírito Santo (03/02/2021/Nº 4.569.791).

Consent to participate

Inform consent was approved and obtained from all participants in the present study.

ANEXO A

Normas da Revista “Clinical Oral Investigations”

Resumo

Forneça um resumo estruturado de 150 a 250 palavras que deve ser dividido nas seguintes seções:

Objetivos, Materiais e Métodos, Resultados, Conclusões e Relevância clínica. Esses títulos devem aparecer no resumo.

Palavras-chave

Forneça de 4 a 6 palavras-chave que podem ser usadas para fins de indexação.

Texto

Formatação de texto

Os manuscritos devem ser submetidos em Word.

Use uma fonte normal e simples (por exemplo, Times Roman) para o texto.

Use itálico para dar ênfase.

Use a função de numeração automática de páginas para numerar as páginas.

Não use funções de campo.

Use paradas de tabulação ou outros comandos para recuos, não a barra de espaço.

Use a função de tabela, não planilhas, para fazer tabelas.

Use o editor de equações ou MathType para equações.

Salve seu arquivo em formato docx (Word 2007 ou superior) ou formato doc (versões mais antigas do Word).

Títulos

Não use mais de três níveis de títulos exibidos.

Abreviaturas

As abreviaturas devem ser definidas na primeira menção e usadas consistentemente depois.

Agradecimentos

Agradecimentos de pessoas, subsídios, fundos etc. devem ser colocados em uma seção separada na página de rosto. Os nomes das organizações financiadoras devem ser escritos por extenso.

Referências

Citação

As citações de referência no texto devem ser identificadas por números entre colchetes. Alguns exemplos:

1. A pesquisa em negociação abrange muitas disciplinas [3].
2. Este resultado foi posteriormente contrariado por Becker e Seligman [5].
3. Este efeito tem sido amplamente estudado [1-3, 7].

Lista de referência

A lista de referências deve incluir apenas trabalhos citados no texto e que tenham sido publicados ou aceitos para publicação. Comunicações pessoais e trabalhos inéditos devem ser mencionados apenas no texto. As entradas na lista devem ser numeradas consecutivamente.

Se disponível, inclua sempre DOIs como links completos de DOI em sua lista de referência.

Idealmente, os nomes de todos os autores devem ser fornecidos, mas o uso de “et al” em longas listas de autores também será aceito:

Artigo de jornal: Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Efeito do treinamento intermitente de alta intensidade na variabilidade da frequência cardíaca em crianças pré-púberes. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>

Tabelas

Todas as tabelas devem ser numeradas com algarismos arábicos.

As tabelas devem sempre ser citadas no texto em ordem numérica consecutiva. Para cada tabela, forneça uma legenda (título) explicando os componentes da tabela.

Identifique qualquer material publicado anteriormente, fornecendo a fonte original na forma de uma referência no final da legenda da tabela.

As notas de rodapé das tabelas devem ser indicadas por letras minúsculas sobrescritas (ou asteriscos para valores de significância e outros dados estatísticos) e incluídas abaixo do corpo da tabela.

Figuras

Cada figura deve ter uma legenda concisa descrevendo com precisão o que a figura representa. Incluir as legendas no arquivo de texto do manuscrito, não no arquivo de figura.

As legendas das figuras começam com o termo Fig. em negrito, seguido do número da figura, também em negrito.

Nenhuma pontuação deve ser incluída após o número, nem qualquer pontuação deve ser colocada no final da legenda.

Identifique todos os elementos encontrados na figura na legenda da figura; e use caixas, círculos etc., como pontos de coordenadas em gráficos.

As figuras devem ser enviadas separadamente do texto, se possível.

Ao preparar suas figuras, dimensione as figuras para caber na largura da coluna. Para periódicos de tamanho grande, as figuras devem ter 84 mm (para áreas de texto de coluna dupla) ou 174 mm (para áreas de texto de coluna única) de largura e não superior a 234 mm.

Para revistas de pequeno porte, as figuras devem ter 119 mm de largura e não mais que 195 mm.

Contribuições do autor

Na ausência de instruções específicas e em áreas de pesquisa onde seja possível descrever esforços discretos, a Editora recomenda aos autores que incluam declarações de contribuição no trabalho que especifiquem a contribuição de cada autor para promover a transparência. Essas contribuições devem ser listadas na página de título separada.

Afiliação

A afiliação principal de cada autor deve ser a instituição onde a maior parte de seu trabalho foi realizada. Se um autor se mudou posteriormente, o endereço atual pode ser indicado adicionalmente. Os endereços não serão atualizados ou alterados após a publicação do artigo.

ANEXO B

Parecer Consubstanciado do CEP

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Levantamento epidemiológico, aplicação e avaliação de metodologias de aprendizado, desenvolvimento psicológico e enfrentamento e análise de aspectos moleculares no contexto da Epidermólise Bolhosa

Pesquisador: Leticia Nogueira da Gama de Souza

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 33545320.1.0000.5060

Instituição Proponente: Centro de Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.483.107

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa que buscará realizar levantamento epidemiológico dos casos de EB nos Estados do ES, RJ e PB, promover difusão das práticas de cuidados por meio de infográficos e materiais audiovisuais, estabelecer a correlação entre aprendizagem dessas práticas com o nível de qualidade de vida dos indivíduos e a escala de dor e prurido e, avaliar o desenvolvimento psicológico. Por fim, o projeto realizará análise da expressão de moléculas em lesões suspeitas e de carcinoma de células escamosas para compreender os eventos que podem participar da transformação maligna.

Objetivo da Pesquisa:

Segundo os pesquisadores:

Objetivo principal:

Realizar amplo estudo da EB nos estados do ES, RJ e PB com levantamento de dados sociodemográficos, epidemiológicos, clínicos e laboratoriais, bem como, aplicação de metodologias de aprendizagem de condutas, de questionário sobre qualidade de vida, escala de dor e prurido e aspectos psicológicos em pacientes com EB. Também serão realizadas análises microscópicas da expressão de diferentes moléculas potencialmente envolvida na sua patogênese.

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

UF: ES

Município: VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

CEP: 29.040-091

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Quanto aos riscos:

Esta pesquisa apresenta risco mínimo aos participantes, uma vez que os mesmos podem se sentir cansados ao longo da aplicação dos instrumentos da pesquisa que tentaremos minimizá-los ao máximo conforme desejo e sugestão do participante.

Os riscos atendem a Res CNS 466/12.

Quanto aos benefícios:

Um grande benefício será a possibilidade de saber o real número de casos de Epidermólise Bolhosa e fornecer informações para os pacientes e familiares para que todos possam entender, prevenir ou aliviar os diversos problemas que afetam o bem-estar das pessoas envolvidas com a Epidermólise Bolhosa. Será também possível propor a criação de centros multiprofissionais voltados para o atendimento de pacientes com Epidermólise Bolhosa e apoio aos seus familiares, o que é algo que não temos de maneira eficiente no país. Buscaremos também treinar os pacientes e responsáveis, criar vídeos que ensinam os cuidados corretos a todas as pessoas envolvidas com os pacientes com Epidermólise Bolhosa. Ainda, esperamos conseguir informações que poderão ajudar a entender como ocorre o processo de formação do câncer em pacientes com Epidermólise Bolhosa, e poderemos propor a criação de terapias mais eficazes voltadas para prevenção e tratamento do câncer nesse grupo.

Os benefícios atendem a Res CNS 466/12

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

-

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

No projeto Levantamento epidemiológico, aplicação e avaliação de metodologias de aprendizado, desenvolvimento psicológico e enfrentamento e análise de aspectos moleculares no contexto da Epidermólise Bolhosa do pesquisador Letícia Nogueira da Gama de Souza constam os seguintes documentos:

Continuação do Parecer: 4.483.107

Folha de rosto: apresentada e adequada

Projeto detalhado: apresentado e adequado

TCLE: apresentado e adequado

Termo de Assentimento: apresentado e adequado

Termo de anuência da instituição onde a pesquisa será realizada: apresentada e adequada

Cronograma: apresentado e adequado.

Orçamento: apresentado e adequado

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1571729.pdf	18/12/2020 19:57:31		Aceito
Declaração de concordância	Termo_AnuenciaSESA.pdf	18/12/2020 19:57:04	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Carta_parecer_4392808.pdf	18/12/2020 19:55:25	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Email.pdf	03/11/2020 21:31:30	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Carta_parecer_4316939.pdf	03/11/2020 21:30:48	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_assentimento.pdf	03/11/2020 21:29:28	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	24/09/2020 22:00:15	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Documento_SESA.pdf	24/09/2020 21:55:01	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Nova_carta_resposta.pdf	24/09/2020 21:54:18	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	24/09/2020 21:50:53	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Protocolo_ICEPi.pdf	05/08/2020 15:30:44	Leticia Nogueira da Gama de Souza	Aceito

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES **Município:** VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com

Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Regulamento_biorrepositorio.pdf	04/08/2020 21:53:49	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Aprovacao_biorrepositorio.pdf	04/08/2020 21:51:45	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	PatologiaUFPB.jpg	04/08/2020 21:47:55	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	InstitutoRJ.pdf	04/08/2020 21:47:45	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Chefiadermatologia.pdf	04/08/2020 21:47:32	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Medconsulta.jpeg	04/08/2020 21:45:05	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Dermatologia.pdf	04/08/2020 21:44:34	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Carta_resposta.pdf	04/08/2020 21:19:17	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto.pdf	09/06/2020 19:29:17	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado.pdf	07/06/2020 16:37:04	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Caracteristicas_pessoais.pdf	06/06/2020 22:27:50	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	APES_EB.pdf	06/06/2020 22:26:57	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Qualidade_vida.pdf	06/06/2020 22:26:28	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Estresse.pdf	06/06/2020 22:26:00	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito
Outros	Sociodemografico.pdf	06/06/2020 22:25:10	Letícia Nogueira da Gama de Souza	Aceito

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Parecer: 4.483.107

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

VITORIA, 23 de Dezembro de 2020

Assinado por:
KARLA DE MELO BATISTA
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Marechal Campos 1468

Bairro: S/N

CEP: 29.040-091

UF: ES **Município:** VITORIA

Telefone: (27)3335-7211

E-mail: cep.ufes@hotmail.com