



UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

MESTRADO EM GENÉTICA

Dissertação de Mestrado

**Avaliação clínica, histopatológica e imuno-
histoquímica de 48 casos de queilite actínica**

Hilton Rinaldo Salles Piccelli

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Vera Aparecida Saddi

Goiânia-GO

2008

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

MESTRADO EM GENÉTICA

**Avaliação clínica, histopatológica e imuno-
histoquímica de 48 casos de queilite actínica**

Hilton Rinaldo Salles Piccelli

Dissertação de Mestrado apresentada
como requisito parcial para a
integralização do Programa de Mestrado
em Genética da Universidade Católica de
Goiás.

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. Vera Aparecida Saddi

Goiânia-GO

2008

Ficha Catalográfica

P587a

Piccelli, Hilton Rinaldo Salles

Avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica de 48 casos de queilite actínica / Hilton Rinaldo Salles Piccelli. - Goiânia, Maio de 2008.

86f., 20 figs 7 tabs.,.

Orientadora: Vera Aparecida Saddi

Dissertação (Mestrado em Genética)

Universidade de Católica de Goiás, 2008.

Referências.

Inclui lista de abreviaturas, siglas e símbolos.

Anexo.

1. Queilite actínica 2. Proteína p53 . 3 imunodeteccção

I. Saddi, Vera Aparecida II. Universidade Católica de Goiás III. Título.

CDU: 616-317

**BANCA EXAMINADORA DA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Aluno: Hilton Rinaldo Salles Piccelli

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Vera Aparecida Saddi

Membros Externos:

Titular: Professora Dra. Aline Carvalho Batista

Suplente: Professor Dr. Elismauro Francisco de Mendonça

Membros Internos:

Titular: Professor Dr. Wagner Gouvêa dos Santos

Suplente: Professor Dr. Aparecido Divino da Cruz

Curso de Mestrado em Genética

Universidade Católica de Goiás

Data: 19/05/2008

Dedico este trabalho

A Deus.

Agradecimentos

À Prof^ª. Dr^ª. Vera Aparecida Saddi, pelo incentivo e por ter acreditado que eu pudesse concretizar este sonho aqui realizado, sempre contando com sua disponibilidade, paciência, competência e dedicação ao ensino.

À Prof^ª Dr^ª. Glória Jabour Oton, pela prontidão em nos auxiliar dispendo seu precioso tempo nas revisões de lâminas e análises intermináveis dos cortes histológicos

Ao Dr. Marcos Sérgio Carilli primeiro incentivador e continuo amigo no transcorrer desta jornada, com seus conselhos sábios e orientais.

Ao biólogo Edésio Martins, pela grandiosa colaboração na análise estatística; pelo constante desejo de aprimoramento, por sua destreza, rapidez e disponibilidade, que foram fundamentais na realização deste trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Genética da Universidade Católica de Goiás, por dividir seus conhecimentos, pela disponibilidade e pelo incentivo, constantemente presentes.

Aos amigos e colegas pós-graduandos do Programa Pós-Graduação em Genética da Universidade Católica pela amizade e incentivo fornecidos nessa longa jornada.

Sumário

	Página
Figuras, Tabelas e anexos	viii
Siglas, Símbolos e Abreviaturas	xi
Resumo	xii
Abstract	xiii
1 - Introdução	1
1.1 Queilite Actínica	1
1.1.1 Histórico	1
1.1.2 Epidemiologia	2
1.1.3 Aspectos clínicos e diagnósticos	4
1.1.4 Histopatologia da queilite actínica	7
1.1.5 Câncer de lábio e queilite actínica	8
1.1.6 Fatores prognósticos	10
1.2 Ciclo celular e carcinogenese	11
1.3 A proteína p53	14
1.4 A queilite actínica e a proteína p53	18
2 - Justificativa	20
3 – Objetivo	21
3.1 Objetivo geral	21
3.2 Objetivos específicos	21

4 - Metodologia	22
4.1 Tipo de estudo	22
4.2 Seleção da amostra	22
4.3 Procedimento de biópsia	23
4.4 Análise morfológica	23
4.5 Análise imunohistoquímica	24
4.6 Métodos estatísticos	25
4.7 Aspectos éticos	25
5 - Resultados	26
6 - Discussão	47
7 - Conclusões	57
8 - Recomendações futuras	59
9 - Referências Bibliográficas	60
10- Anexos	68
10.1 Anexo 1 – ficha de coleta de dados clinicopatológicos	68
10.2 - Anexo 2 : Termo de consentimento livre e esclarecido	70
10.3 Anexo 3: Ficha de avaliação histopatologica e imuno-histoquimica dos espécimens de biópsia de queilite actínica	72
10.4 Anexo 3: Protocolo do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da ACCG	73

Figuras, Tabelas e Anexos

Figuras		Página
Figura 1	Fotografia digital de lábio normal feminino (Banco de Imagens fotosearch; http://www.fotosearch.com.br/)	5
Figura 2	Fotografia digital de lábio normal masculino (Banco de Imagens fotosearch; http://www.fotosearch.com.br/)	5
Figura 3	Desenho esquemático da proteína p53, mostrando a localização de regiões distintas com diferentes funções. Cada domínio é responsável por uma determinada função da proteína p53 (fonte: http://p53.free.fr/p53_info/p73_p63.html).	15
Figura 4	Fotografia digital de paciente apresentando o sinal clínico de Descamação	28
Figura 5	Fotografia digital de paciente apresentando o sinal clínico de atrofia	29
Figura 6	Fotografia digital de paciente apresentando o sinal clínico de eritema	30
Figura 7	Fotografia digital de paciente apresentando o sinal clínico de ulceração	31
Figura 8	Fotografia digital de paciente apresentando o sinal clínico de leucoplasia	32
Figura 9	Fotografia digital de paciente apresentando o sinal clínico de perda da definição do vermelhão do lábio	33
Figura 10	distribuição de sinais clínicos nos pacientes com diagnóstico de QA	34
Figura 11	Distribuição dos sinais clínicos mais frequentes entre pacientes sintomáticos (n = 7) e assintomáticos (n = 41) com diagnóstico de QA (p > 0,05)	35

Figura 12	Apresentação de sinais clínicos em pacientes tabagistas e não tabagistas portadores de QA ($p > 0,05$)	35
Figura 13	Fotografia de espécimen de biópsia de lábio em coloração pela hematoxilina e eosina (H&E) evidenciando os núcleos hipercromáticos e hiperplasia do epitélio	36
Figura 14	Fotografia de espécimen de biópsia de lábio em coloração pela hematoxilina e eosina (H&E) evidenciando a presença de disceratose e intensa elastose solar associada	36
Figura 15	Fotografia de espécimen de biópsia de lábio apresentando marcação positiva para a proteína p53 no núcleo de células nas camadas basal e supra-basal	39
Figura 16	Fotografia de espécimen de biópsia de lábio com imunodeteção positiva e difusa de p53 na camada basal e na supra-basal	40
Figura 17	Fotografia de espécimen de biópsia de lábio com imunodeteção positiva e focal de p53 na camada basal e na supra-basal	40
Figura 18	Comparação da imunodeteção qualitativa de p53 nas camadas basal e supra-basal em 48 pacientes comQA.	41
Figura 19	Imunodeteção positiva de p53 no núcleo de células das camadas basal e supra-basal de 40 pacientes comQA	43
Figura 20	Percentual de marcação positiva de p53 em > 70 das células nas camadas basal e supra-basal em 48 casos de QA.	44
Tabelas		Página
Tabela 1	Dados demográficos e de história pregressa em 48 pacientes com queilite actínica	27
Tabela 2	Distribuição de 48 pacientes portadores de QA segundo aspectos histopatológicos.	37
Tabela 3	Possíveis associações entre os aspectos clínicos e histopatologia das QA em 48 pacientes ($p > 0,05$).	38
Tabela 4	Possíveis associações entre a imunodeteção qualitativa na forma difusa de p53 nas camadas basal e supra-basal e os sinais clínicos em 48 pacientes com QA ($p > 0,05$).	42

Tabela 5	Possíveis associações entre a imunodeteção qualitativa na forma difusa de p53 nas camadas basal e supra-basal e as alterações histopatológicas em 48 pacientes com QA ($p < 0,05$).	43
Tabela 6	Possíveis associações entre os aspectos clínicos e a imunodeteção positiva de p53 em mais de 70% das células nas camadas basal e supra-basal em 48 casos de QA ($p > 0,05$)	45
Tabela 7	Possíveis associações entre os aspectos histopatológicos e a imunodeteção positiva de p53 em mais de 70% das células nas camadas basal e supra-basal em 48 casos de QA ($p > 0,05$)	46

Anexos

Página

Anexo 1	Ficha de coleta de dados clinicopatológicos de queilites actínicas – Sistema de Prevenção - ACCG	68
Anexo 2	Termo de consentimento livre e esclarecido	70
Anexo 3	Ficha de avaliação histopatológica e imunohistoquímica dos espécimens de biópsia de queilite actínica	72
Anexo 4	Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa da ACCG (CEPACCG)	73

Siglas, Símbolos e Abreviaturas.

INCA	Instituto Nacional do Câncer
ACCG	Associação de Combate ao Câncer em Goiás
TP53	<i>P53 supressor gene</i>
p53	Proteína p53
DNA	<i>Ácido desóxiribonucleico</i>
RNA-m	<i>Ácido ribonucléico mensageiro</i>
CDK	quinase dependente de ciclinas
%	Porcentagem
n	Número de pacientes
A°	ângstroms
kDA	Kilodaltons
kb	Kilobase
HDM2	<i>Humam double minute 2 gene</i>
MDM2	<i>Murine double minute 2 gene</i>
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
CEPACCG	Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás
>	Maior
<	Menor
≥	Maior ou igual
≤	Menor ou igual
H AJ	<i>Hospital Araújo Jorge</i>
CEC	Carcinoma espinocelular
CBC	Carcinoma basocelular
QA	<i>Queilite Actínica</i>
RUV	<i>Raios Ultra Violeta</i>
RUVA	<i>Raios Ultra Violeta A</i>
RUVB	<i>Raios Ultra Violeta B</i>
RUVC	<i>Raios Ultra Violeta C</i>

RESUMO

A queilite actínica (QA) é uma lesão pré-maligna do lábio. Em geral, os pacientes são assintomáticos e os sinais clínicos não refletem a gravidade histopatológica da lesão, permitindo sua evolução para o câncer invasor. Marcadores prognósticos para esta evolução têm sido investigados, incluindo a detecção de alterações no gene TP53. Uma série de 48 pacientes com QA é avaliada neste estudo. Sinais clínicos, aspectos histopatológicos e a imunodeteccção da proteína p53 foram avaliados no grupo. Todos os pacientes eram brancos e 44% apresentaram história prévia de câncer de pele tipo não-melanoma em outro sítio corporal. Os sinais clínicos mais freqüentes incluíram perda do vermelhão do lábio (75%), descamação (71%) e atrofia (67%). À primeira consulta, 85% dos pacientes não apresentavam queixas específicas relacionadas à QA. No exame histopatológico, verificou-se disceratose em 95% dos casos, hiperplasia epitelial em 85% e displasia em 57% dos casos. A imunodeteccção de p53 foi difusa e mais intensa na camada suprabasal em 8 pacientes. Dentre eles, 12% apresentavam disceratose, 87% hiperplasia e 100% apresentavam displasia do epitélio ($p < 0,005$). A imunodeteccção difusa da proteína p53 na camada suprabasal correlacionou-se positivamente com a presença de displasia epitelial. De acordo com a literatura, a displasia representa o fator prognóstico mais significativo para a evolução da QA para carcinoma do lábio. Assim, sugerimos que a imunodeteccção de p53 na camada suprabasal represente também um fator prognóstico para a queilite actínica.

Palavras Chave: Queilite actínica, lesão pré-maligna, p53, imunodeteccção

ABSTRACT

Actinic cheilitis (AC) is a premalignant lesion of the lip. In general, patients with actinic cheilitis present with no symptoms and clinical signs do not reflect the histopathological severity of the lesion, allowing its evolution to invasive cancer. Prognostic indicators for evolution of such lesions have been investigated by different groups, including the detection of alterations in the TP53 gene. A series of 48 patients with actinic cheilitis is evaluated in this study. Clinical signs, histopathological features and immunohistochemistry detection of the p53 protein were evaluated in this group. All the patients were caucasian and 44% had a previous history of non-melanoma skin cancer in another site of the body. The most frequent clinical signs observed in the patients included loss of lip vermilion (75%), peeling of the lip (71%) and atrophy (67%). Eighty-five per cent of the patients did not present, on the first consultation, specific complaints related to actinic cheilitis. Histopathological analysis described dyskeratosis in 95% of the samples, epithelial hyperplasia in 85% and dysplasia in 57% of the cases. Immunodetection of p53 on the suprabasal layer was diffuse in 8 patients. Among them, 12% of the samples showed dyskeratosis, 87% hyperplasia and 100% presented epithelium dysplasia. The diffuse immunodetection of the p53 protein on the suprabasal layer correlated positively with the presence of epithelial dysplasia ($p < 0,005$). According to different reports, dysplasia is the most significant prognostic factor to the evolution of actinic cheilitis to squamous cell carcinoma of the lip. We here suggest that the immunodetection of p53 on the suprabasal layer of actinic cheilitis samples might also represent an important prognostic factor to such premalignant lesions.

Key Words : actinic cheilitis, pre-malignant lesions, p53, immunodetection.

1- Introdução

1.1- QUEILITE ACTÍNICA (QA)

1.1.1 - Histórico

Do grego “Keilos”, que significa lábios, deriva a palavra queilite, ou processo inflamatório dos lábios. A queilite actínica (QA) é uma lesão inflamatória que acomete principalmente o lábio inferior de indivíduos de pele clara expostos às radiações solares (radiações ultravioleta - RUV) (Cataldo & Doku, 1981). As RUV são subdivididas de acordo com o comprimento de onda em radiações ultravioleta A (RUVA), ultravioleta B (RUVB) e ultravioleta C (RUVC). As RUVC são basicamente germicidas, pelo fato de serem absorvidas principalmente por aminoácidos e proteínas constituintes das membranas e paredes celulares de microorganismos. As RUVA têm como principal característica a capacidade de promover o bronzeamento pigmentar imediato pela foto oxidação da melanina pré-formada e a transferência de melanina dos melanócitos para os queratinócitos. As RUVB são responsáveis pelo bronzeamento pigmentar tardio decorrente do aumento na atividade dos melanócitos, tanto no que diz respeito ao seu número como no tamanho celular, ocasionando assim a produção de melanina. Este tipo de radiação possui um comprimento de onda que oscila entre 2.900 e 3.200 ângstrons (A°) e causa alterações patológicas no epitélio (Agar *et al.*, 2004; Huber & Terezhalmly, 2006). Os danos causados pela exposição da pele aos RUVA, RUVB e RUVC também foram observados por Campbell *et al.*(1993).

A QA é considerada uma lesão pré-maligna, sendo assim classificada primeiramente em 1886, por Dubrevilh, durante o III Congresso Internacional de Dermatologia (Ayers Jr, 1923). Posteriormente, a etiologia da QA foi relacionada com a exposição solar, em um estudo que descreveu cinco

casos caracterizados por alteração inflamatória crônica dos lábios em indivíduos que desenvolviam atividades expostos ao sol intenso (Ayers Jr,1923). A partir de então, vários estudos relevantes foram acrescentados à literatura. O primeiro deles relacionou os aspectos clínicos da QA com o quadro histopatológico em uma série de 542 pacientes com QA e 76 com câncer de lábio (Nicolau & Balus,1964). Outro estudo importante descreveu as características clínicas das QA crônicas responsáveis por 2% das consultas de um serviço de dermatologia no Quênia (África) (Koten *et al.*, 1967). De grande importância, tem-se também o estudo de Payne (1976) que primeiramente descreveu o papel dos protetores solares nos lábios, além de sua utilização na pele.

Apesar de ser uma lesão relativamente comum e cancerizável, estudos epidemiológicos ainda são necessários para avaliar a real incidência da QA na população e o seu prognóstico. O termo lesão cancerizável foi inicialmente introduzido por Shafer, em 1975, sendo revisado por Pindborg, em 1978. Esta classificação utilizava como parâmetros histopatológicos as diferenças celulares, a atipia nuclear, a perda da polaridade celular, o polimorfismo nuclear, o hiperchromatismo e as mitoses atípicas. Com base nestes aspectos, as lesões cancerizáveis foram graduadas em displasia leve, moderada ou severa. Estes parâmetros descrevem a biologia da célula propriamente dita, mas não refletem a interação com o hospedeiro e nem a heterogeneidade de uma lesão.

1.1.2 - Epidemiologia

A QA afeta predominantemente homens, de pele branca e a partir da sexta década de vida, variando na incidência entre os 40 e 80 anos (Main & Pavone, 1994). Este é também o grupo que apresenta maior risco para desenvolvimento do carcinoma de lábio. Um estudo avaliando as doenças que mais frequentemente acometem a mucosa bucal de pacientes acima dos 54 anos de idade analisou 350 indivíduos nesta faixa etária e observou que a QA estava presente em 2,6% dos casos (Jorge *et al.*,1991). Outra investigação analisou uma série de 164 pacientes albinos, relatando que

91% daqueles com idades acima de 20 anos apresentavam QA, e que as lesões estavam presentes em 100% dos indivíduos com mais de 30 anos (Lookingbill *et al.*, 1995). No Brasil, um estudo descritivo avaliou uma série de 69 pacientes com QA crônica, sendo que todos apresentavam pele branca, as idades variaram de 23 a 77 anos e maioria era do sexo masculino (Aguiar, 1995). A maior prevalência nos indivíduos do sexo masculino é justificada, de modo geral, porque os homens trabalham em atividades ao ar livre por períodos mais longos do que as mulheres (Main & Pavone, 1994). A QA crônica é bastante rara em negros, pela maior quantidade de melanina que proporciona maior proteção da pele à exposição solar (Main & Pavone, 1994).

O potencial de transformação maligna da QA é um aspecto relevante relacionado a essas lesões e vem sendo investigado por diferentes grupos. Um deles demonstrou que a proporção de casos de QA que evolui para carcinoma compreende 12% a 20% dos casos (Koten *et al.*, 1967). Entretanto, outras séries apresentaram proporções discretamente diferentes, incluindo 5% a 14% (Wurmann *et al.*, 1975); 12% (Warnok *et al.*, 1981) e 18% a 20% (Koopmann Jr. & Coulhard, 1982; Stanley & Roenigk, 1988). A presença da QA também foi relacionada ao desenvolvimento de um segundo carcinoma de lábio em 5% a 14% dos indivíduos (Koopmann Jr. & Coulhard, 1982; Stanley & Roenigk, 1988). Segundo Anderson (1971), a presença de QA junto a áreas de carcinoma espinocelular (CEC) do lábio indica uma forte associação entre as duas lesões.

A QA está inquestionavelmente relacionada ao CEC do lábio, e ambos estão relacionados à exposição solar (Main & Pavone, 1994). A probabilidade de malignização pode ser mais elevada quando associada a outros fatores carcinogênicos, entre os quais o álcool e o fumo, nas suas mais variadas formas, acentuando-se nos fumantes de cigarros sem filtro (Hecht, 2003). A importância do tabagismo como fator agravante ou predisponente da QA e do carcinoma espinocelular do lábio já foi descrita (Campisi & Margiotta, 2002). As estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2003, mostram que o câncer da cavidade oral ocupa a sexta

posição em incidência na população masculina e a sétima na população feminina (Ministério da Saúde, 2003). Em Goiânia, o Registro de Câncer de Base Populacional reportou uma incidência de câncer do lábio de 2,2 casos em 100.000 habitantes (Registro de Câncer de Base Populacional - RCBP. Associação de Combate ao Câncer em Goiás, 2003).

1.1.3 - Aspectos clínicos e diagnósticos

Anatomicamente, os lábios são formados pelas paredes superiores e inferiores dos tecidos que circundam a cavidade bucal. Considerando o revestimento epitelial, o lábio se organiza anatomicamente em três zonas específicas (Figuras 1 e 2), incluindo: a) porção externa, com pele apresentando todas as características de queratinização de outras regiões da face; b) vermelhão do lábio ou zona de transição, que representa a área entre a pele e a mucosa do lábio e que só existe em seres humanos ([Picascia & Robinson, 1997](#)), sendo que nesta região, o revestimento epitelial exibe extrato lúcido bem desenvolvido e extrato córneo muito fino, com lâmina própria que mostra numerosas papilas e elevado número de capilares; e c) membrana mucosa, com revestimento epitelial pavimentoso estratificado, não apresentando camada córnea (Di Fiore, 1991).



Figura 1 – Lábio normal feminino (Banco de Imagens fotosearch; <http://www.fotosearch.com.br/>)



Figura 2 – Lábio normal masculino (Banco de Imagens fotosearch; <http://www.fotosearch.com.br/>)

Classicamente, duas formas de QA são descritas, incluindo a aguda e a crônica. A forma aguda é a mais comum, e frequentemente verificada nos meses de verão, em indivíduos jovens, após exposição solar prolongada.

Caracteriza-se clinicamente por edema e vermelhidão na forma mais moderada, evoluindo para vesículas que se rompem e causam erosão superficial, bem como fissuração, na forma mais severa. Após alguns episódios, esta situação tende a cronificar (Kaugars *et al.*, 1999).

A forma crônica geralmente manifesta-se como discreta elevação, envolvendo toda a extensão do lábio inferior até a comissura, podendo ocorrer em todas as estações do ano e ser agravada pela ação da baixa umidade e ação dos ventos. Usualmente, observam-se as seguintes alterações clínicas: edema, eritema, descamação, ulceração, sangramento, áreas leucoplásicas, crostas, áreas eritoplásicas, adelgaçamento do vermelhão, falta de delimitação entre o vermelhão e a pele e perda da elasticidade labial (atrofia) ([Picascia & Robinson](#), 1997). Com relação aos estágios da QA crônica, o eritema e o edema são descritos como as primeiras manifestações clínicas, enquanto nos estágios finais são observadas placas branco-acinzentadas classificadas como áreas leucoplásicas (Dufresne & Curlin, 1997).

A descamação persistente é um dos sinais capitais da QA crônica, sendo que o grau de descamação não é uniforme em todo o vermelhão, bem como a formação de crostas e edema labial. O aspecto mosqueado vermelho e branco do lábio inferior é salientado, podendo o lábio apresentar ainda uma aparência esbranquiçada, enrugada, com estriações e com ocasionais ulcerações, apresentando períodos espontâneos de melhora e piora (Padilla, 1975). As perdas da consistência e da elasticidade labial lembram o aspecto de “papel de seda” (Robinson, 1989). A perda da definição do vermelhão do lábio com a pele é também de marcada importância para a QA e a ulceração aparece em 67% dos casos descritos (Koten *et al.*, 1967).

Na maioria das vezes, os casos de QA são assintomáticos, sendo que os pacientes consideram as alterações no lábio como próprias do envelhecimento, não procurando assistência ou tratamento especializado (Kutcher *et al.*, 2004; Kornevs *et al.*, 2005). Uma correlação clara entre a aparência clínica da QA crônica e a sua agressividade histológica ainda não foi estabelecida. Classicamente, todos os casos de diagnóstico clínico de

QA devem, para maior segurança, ser confirmados pelo exame histológico (Kaugars *et al.*, 1999; Bentley *et al.*, 2003; Kornevs *et al.*, 2005). O aspecto clínico de aparente inocência da QA crônica pode encobrir achados histopatológicos importantes (Maino *et al.*, 1973). Clinicamente, os lábios que apresentam erosão, ulceração, eritema ou leucoplasia devem ser biopsiados. De acordo com um estudo realizado no Brasil, a biópsia é recomendada para os casos de QA que apresentem perda da nitidez da linha de transição do vermelhão do lábio para a pele, alteração da consistência do lábio à palpação e alteração da espessura da semimucosa (Aguiar, 1995).

1.1.4 – Histopatologia da queilite actinica

Do ponto de vista histopatológico, a QA apresenta características marcantes (Bentley *et al.*, 2003; Cavalcante *et al.*, 2008). A disceratose, que pode aparecer como área de hiper ou ortoqueratinização, representa um dos aspectos universais da QA crônica. Extensa degeneração basofílica amorfa das fibras elásticas e colágenas (elastose solar) é descrita na QA crônica (Girard & Hoffman, 1980). Esta alteração é uma das mais comuns (Cataldo & Doku, 1981) e aparentemente é irreversível. Na lâmina própria, é verificada a presença de vasos sanguíneos, frequentemente dilatados, e com proeminência vascular decorrente do aumento de volume das células endoteliais e não de sua proliferação (Cataldo & Doku, 1981).

A displasia epitelial e a atipia já foram bastante estudadas na QA (Shklar, 1981), sendo observadas as seguintes alterações: estratificação epitelial irregular, hiperplasia e/ou hipoplasia da camada basal, aumento do número de mitoses, aumento do índice núcleo-citoplasma, pleomorfismo nuclear, hiper cromatismo nuclear, nucléolo aumentado, aumento da queratinização celular e diminuição da aderência celular.

Outra característica importante que pode ser visualizada histologicamente é a atrofia epitelial com eventual desaparecimento da camada basal. No tecido conjuntivo subjacente, observa-se normalmente, um infiltrado inflamatório crônico com grande quantidade de linfócitos. A

intensidade deste infiltrado inflamatório pode estar associada ao grau de hiperplasia e atipia epitelial (Shklar, 1981).

1.1.5 - Câncer de lábio e queilíte actínica

De forma geral, 95% dos cânceres do lábio inferior são do tipo carcinoma espinocelular (CEC), 3% carcinoma basocelular (CBC) e 2% são classificados como outros tipos de cânceres (Ochsenius *et al.*, 2003). A grande maioria dos CEC do lábio inferior é precedida de QA, daí a proposição de Nicolau e Ballus (1964) acerca desta lesão ser cancerizável. Alguns autores consideram que todos os casos de carcinomas do lábio desenvolvem-se a partir de QA pré-existentes, não havendo aspectos clínicos que permitam distinguir um carcinoma em estágio inicial da QA (Main e Pavone, 1994).

O câncer de lábio esta inserido no grupo de neoplasias malignas da cavidade oral, sendo o mais freqüente neste sítio. No Brasil, o câncer de lábio representa 3,3% de todos os tumores malignos, e o seu aparecimento no lábio inferior é dezenove vezes mais freqüente do que no lábio superior. Sua freqüência é dez vezes maior em homens do que em mulheres (Brasil, Ministério da Saúde, 2003), sendo que a exposição prolongada à luz solar parece representar o fator de risco mais importante para o desenvolvimento deste tumor (Suárez *et al.*, 2007). Vários fatores ambientais e ligados ao hospedeiro têm sido identificados a fim de explicar a etiopatogênese do CEC do lábio. Entretanto, a via patogênica definitiva permanece obscura. Além disso, a carcinogênese não parece estar limitada a um único agente, mas sim, a um complexo processo de múltiplos passos, envolvendo interações entre prováveis fatores de risco (Visscher & van der Waal, 1998).

Dentre vários fatores etiopatológicos já analisados para o CEC de lábio, as radiações solares são consideradas bastante relevantes. Os danos induzidos pelas RUV são devidos à intensa absorção pelos ácidos nucléicos. A maior parte dos danos é causada por alterações que impedem a transcrição da informação genética para o ácido ribonucléico mensageiro

(RNA-m), ou que bloqueiam o mecanismo de duplicação do ácido desoxirribonucléico (DNA) (Agar *et al.*, 2004). De forma bastante simplificada, as reações fotoquímicas que alteram o DNA podem ocorrer na estrutura primária dos nucleotídeos por modificações nas bases nitrogenadas, no rompimento das cadeias polinucleotídicas e nas pontes de hidrogênio que mantêm tais cadeias. Estas alterações comumente provocam a geração de produtos que podem bloquear as enzimas de replicação e transcrição dos ácidos nucleicos (Martinez *et al.*, 2005; Suárez *et al.*, 2007).

Outros agentes desencadeantes do câncer de lábio inferior são descritos na literatura, dentre eles o tabagismo e o etilismo. Em 72% dos casos de CEC do lábio inferior, os pacientes são tabagistas e/ou etilistas (Hecht, 2003; [Campisi & Margiotta, 2004](#)). O fumo apresenta cerca de 4.700 substâncias tóxicas, dentre elas, 60 com ação carcinogênica conhecida. Além das substâncias cancerígenas, a exposição contínua ao calor despreendido pela combustão do fumo potencializa as agressões sobre a mucosa e semimucosa (Hecht SS, 2003, [Campisi & Margiotta, 2004](#)). O álcool é conhecidamente um agente promotor do câncer, aumentando a permeabilidade das células da mucosa aos carcinógenos verdadeiros, como o tabaco e as radiações UVB e diminuindo os mecanismos locais de defesa pela formação de metabólitos do etanol (aldeídeos). Este processo, associado à deficiência nutricional secundária ao consumo crônico de álcool, interfere na velocidade e na quantidade de reparação dos defeitos causados no DNA celular (Satorres *et al.*, 2001).

O CEC do lábio inferior é considerado uma doença de baixa agressividade e prognóstico favorável pela sua tendência de crescimento lento e expansão para as laterais, em detrimento de aprofundar-se nos tecidos subjacentes. Diversos autores estudaram o potencial metastático do CEC do lábio, chegando a valores bastante semelhantes, que variam de 11% a 13% (Manganaro *et al.*, 1997; Kaugars *et al.*, 1999; Campisi & Margiotta, 2001; Satorres *et al.*, 2001; Bentley *et al.*, 2003, Huber & Terezhalmay, 2006; Menta *et al.*, 2007).

A sobrevida média em cinco anos para os pacientes com CEC de lábio submetidos à cirurgia varia de 80% a 90%. As metástases, quando ocorrem, geralmente são ganglionares, localizadas na região cervical e submandibular, e nesses casos, a sobrevida média em cinco anos é reduzida para 25% (Abreu *et al.*, 2006).

1.1.6 - Fatores prognósticos

Ao exame microscópico, com base na análise do grau de displasia, é possível avaliar a severidade de uma QA, porém, com elevado grau de subjetividade intrínseco ao observador. Esta subjetividade influi diretamente no estabelecimento da terapia e no prognóstico. A avaliação da displasia nas lesões cancerizáveis associada à história clínica do paciente não é fidedigna. Lesões cancerizáveis com focos displásicos são rodeadas por tecido vizinho normal, que por meio de interações celulares, podem alterar o fenótipo neoplásico de um epitélio potencialmente transformado (Pimentel *et al.*, 2006; Menta *et al.*, 2007; Cavalcante *et al.*, 2008).

A busca dos fundamentos da transformação neoplásica fomenta o interesse em fatores prognósticos, alimentando a necessidade de minimizar o grau de subjetividade na interpretação da severidade das alterações epiteliais e permitindo prever com maior acuidade o comportamento biológico de uma lesão cancerizável. Entretanto, este fator ainda não foi encontrado (Kornevs *et al.*, 2007).

Fatores prognósticos são elementos que permitem prever a evolução de uma doença, independente do tratamento administrado. Os fatores prognósticos mais usados em lesões cancerizáveis incluem a avaliação microscópica e o estabelecimento de gradação para as alterações morfológicas. O critério microscópico é usado há muito tempo como indicador de prognóstico (Shafer, 1975; [Sciubba, 2001](#)), entretanto, cabem a esse critério algumas ressalvas. Em primeiro lugar, o grau de diferenciação pode variar em diferentes sítios do tumor; em segundo lugar, o fragmento de biópsia pode não ser representativo o suficiente; e em terceiro lugar,

normalmente, esse tipo de análise apresenta uma significativa parcela de subjetividade inerente ao observador (Menta *et al.*, 2007).

O comportamento de uma lesão diagnosticada em um paciente é extremamente variável e dependente de uma complexa inter-relação entre a lesão e o hospedeiro. Um segundo complicador adicional, advém do próprio paciente, que diante do diagnóstico de lesões cancerizáveis, alia fatores psíquicos e sociais, tornando-se reticente às mudanças comportamentais e conseqüentes mudanças de hábitos (Bentley *et al.*, 2003, Abreu *et al.*, 2005; Menta *et al.*, 2007).

O conhecimento das alterações genéticas e moleculares que afetam o ciclo celular pode nos permitir, com maior acuidade, conhecer as etapas do desenvolvimento de um tumor e com isto, predizer seu comportamento biológico. Os estudos na área da biologia molecular têm contribuído para elucidar os mecanismos reguladores do ciclo celular, sua inter-relação com fatores de crescimento, oncogenes e genes supressores. Estudos nesta área permitem a detecção e quantificação de células proliferantes, indicadoras de transformação maligna precoce, com importante repercussão no diagnóstico, no prognóstico e na terapêutica de diversos tipos de patologias (Silva, 2004).

1.2 – Ciclo celular e carcinogênese

O ciclo celular envolve uma série de eventos processados ordenadamente, os quais asseguram a duplicação fiel dos componentes celulares em uma sequência lógica, e a divisão igualitária dos mesmos em duas células filhas. O aumento do número de células, resultantes deste ciclo, refere-se à proliferação celular. A proliferação celular é um processo biológico fundamental em função de seu papel na manutenção da homeostase, sendo seu estudo de importância para o conhecimento da biologia celular na oncogênese (Silva, 2004).

O ciclo celular está organizado nas fases G1, fase pré-síntese de DNA; S, fase de síntese de DNA; G2, fase pós-replicação do DNA, compondo o período interfásico. A duração destas fases varia conforme o

tipo celular e são também dependentes da idade, da presença de fatores de crescimento e de hormônios. Quando as células estão fora do ciclo celular, elas estão na fase G0 e apresentam a mesma quantidade de DNA observada nas células em G1, entretanto, não possuem macromoléculas necessárias para duplicação do DNA.

Um aspecto importante quando se estuda o ciclo celular é a sua regulação, desempenhada por um grupo de proteínas da família das quinases dependentes de ciclinas (CDKs), que atuam adicionando grupamentos fosfatos à outras proteínas. A regulação das CDKs é desempenhada por outro grupo de proteínas, denominadas ciclinas, que são ativadas e degradadas ao longo do ciclo celular. Deste modo, a regulação do ciclo celular ocorre principalmente em duas fases: no período G2 tardio, antes da entrada da célula em mitose, e na interfase, ao final de G1 (Rossi, 1999).

A contínua movimentação do ciclo celular é controlada por hormônios, nutrientes e fatores de crescimento que estimulam a célula a expressar receptores específicos. Estes receptores, quando ativados, enviam um sinal de transdução, via segundos mensageiros, do citoplasma para o núcleo, resultando finalmente na ativação de fatores de transcrição. Ao passar pela fase inicial, a célula entra na fase S, quando então proteínas envolvidas na replicação do DNA tornam-se ativas, iniciando a mitose (Rossi, 1999).

Métodos de detecção e quantificação de células proliferativas, tais como a citometria de fluxo, a incorporação de timidina tritiada e de bromodeoxiuridina, são complicados e muitas vezes necessitam de materiais ou instrumentos especiais, que limitam seu uso na rotina laboratorial. Os métodos imuno-histoquímicos, que utilizam anticorpos dirigidos às proteínas do ciclo celular são mais úteis porque permitem o exame tanto da cinética celular tumoral como da arquitetura tecidual (Rossi, 1999).

Dentre os anticorpos monoclonais utilizados para estudar proteínas implicadas no controle do ciclo celular, destacam-se aqueles que detectam as proteínas Ki-67 e p53. A aplicabilidade destes anticorpos torna possível a

investigação de numerosas lesões, de modo simples, não dispendioso e reproduzível (Li *et al.*, 2006).

Os 30 trilhões de células componentes de um corpo saudável vivem em um modelo de organização interdependente, onde um regula a proliferação do outro. Esta colaboração assegura a manutenção do tamanho e da arquitetura próprios do corpo (Rossi, 1999). As células cancerosas violam este esquema, tornando-se autônomas e seguindo sua própria agenda de reprodução. Em adição, elas adquirem uma insidiosa capacidade de migrar, invadir tecidos vizinhos e formar metástases. Várias evidências enfatizam a importância da hereditariedade no risco de câncer, o papel das mutações na formação de tumores em homens e animais e a monoclonalidade dos tumores. Em síntese, a célula cancerosa descende de uma célula ancestral, que num dado momento, muitos anos antes do tumor tornar-se palpável, iniciou seu próprio programa de reprodução, em função do acúmulo de mutações em genes específicos (Rossi, 1999).

Duas classes de genes desempenham um preponderante papel no desenvolvimento do câncer, os proto-oncogenes e os genes supressores de tumor. Os proto-oncogenes codificam proteínas que regulam, entre outras funções, o controle da divisão celular, produção de enzimas e moléculas de adesão. Quando proto-oncogenes são alterados, um gene modificado, chamado oncogene, é formado. (Franco *et al.*, 2008).

Os genes supressores de tumor regulam negativamente o crescimento e diferenciação celular. Este balanço entre indutores e supressores controla a taxa de divisão nas células normais. A função dos genes supressores de tumor, em células normais, é restringir o crescimento. Ambas as cópias dos genes supressores devem estar alteradas para que haja perda da função supressora. No câncer, em geral, há mutação de uma cópia, seguida pela perda da outra. As alterações nesta classe de genes são fundamentais para o desenvolvimento de todas as formas de câncer. Dentre os genes supressores de tumor mais estudados está o TP53 (Han *et al.*, 2006).

O desenvolvimento do tumor inicia quando uma célula, dentro de uma população normal, apresenta uma mutação genética que aumenta sua

propensão a proliferar, enquanto as outras permanecem sob controle. A célula alterada e suas descendentes continuam a parecer normais, mas elas se reproduzem muito mais, gerando uma condição denominada de hiperplasia (Rajaraman *et al.*, 2005). Algumas mutações posteriores, em adição à excessiva proliferação e às anormalidades morfológicas começam a aparecer. Mediante anormalidades no aspecto e na orientação celular, o tecido passa a exibir uma displasia. Posteriormente, ocorrem mutações que alteram o comportamento celular.

Alguns indivíduos podem herdar genes defeituosos, o que os torna mais propensos ao câncer. Outros adquirem mutações genéticas ao longo da vida a partir da exposição a agentes carcinogênicos, como as radiações solares, o álcool e o fumo (Hirota *et al.*, 2008). Quando as células tornam-se anormais no crescimento e na aparência, mas estão ainda localizadas, são chamadas de carcinoma *in situ*. Um carcinoma *in situ* pode assim permanecer indefinidamente. Entretanto, se outras mutações ocorrem de forma a permitir a invasão tumoral, o tumor maligno e suas células podem se estabelecer em outros sítios do corpo. A letalidade, inerente às neoplasias malignas, varia nos múltiplos tipos de tumor (Franco *et al.*, 2008). Com base no modelo de múltiplas etapas da carcinogênese, busca-se localizar as lesões precursoras nos diferentes estágios. A identificação de elementos presentes no processo de transformação maligna, como oncogenes ou genes supressores de tumor, fatores de crescimento ou outros, tornou-se um grande desafio para os biólogos moleculares. Com base nas características moleculares da tumorigênese procura-se identificar alterações associadas aos diferentes estágios específicos da transformação neoplásica. A detecção e o padrão de um biomarcador devem se correlacionar com o risco de transformação nas lesões cancerizáveis.

1.3 – A proteína p53

A proteína p53 foi descrita inicialmente em 1979 e desde então mais de 35.000 trabalhos foram publicados sobre este tema (Lane, 2005). A proteína p53 é uma fosfoproteína nuclear constituída de 393 aminoácidos na

sua extensão. Ela apresenta quatro domínios com funções distintas (Figura 3). A extremidade amino-terminal (N-terminal: resíduos 1 ao 83) constitui o domínio de transativação; a porção central (resíduos 102 ao 292) constitui a porção ligante ao DNA, e por fim, na extremidade carboxi-terminal ou C-terminal estão os domínios de tetramerização (resíduos 319 ao 360) e domínio regulatório (resíduo 364 ao 393) (Rossi, 1999; Lane, 2004).

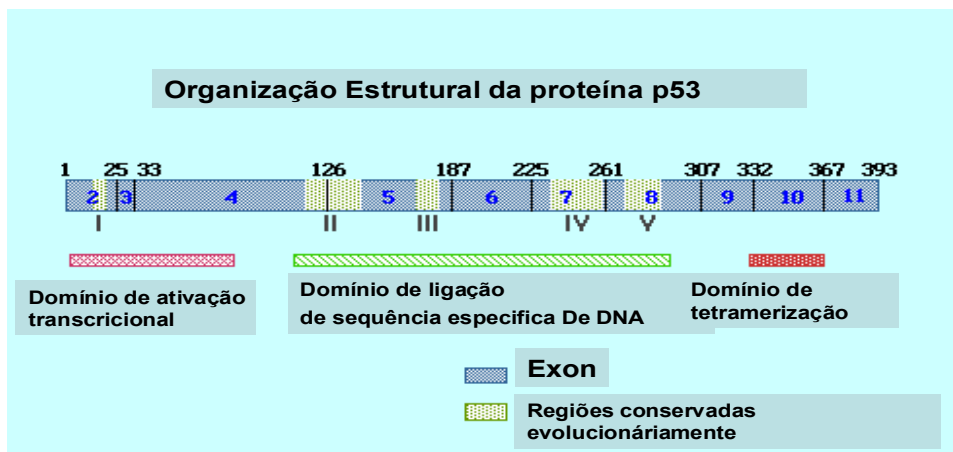


Figura 3. Desenho esquemático da proteína p53, mostrando a localização de regiões distintas com diferentes funções. Cada domínio é responsável por uma determinada função da proteína p53 (fonte: http://p53.free.fr/p53_info/p73_p63.html).

Após a identificação da proteína p53 e a subsequente clonagem do seu gene (TP53), observações iniciais sugeriram que TP53 funcionasse como um oncogene, já que sua superexpressão nas células parecia induzir uma transformação oncogênica. Nos meados da década de 80, várias descobertas importantes definiram que a função normal de TP53 seria a de um gene supressor de tumor (anti-oncogênica), pois quando o tipo selvagem do gene TP53 era introduzido em células cancerosas, era observada a supressão de crescimento. Um rastreamento do DNA de pacientes portadores de câncer de cólon demonstrou que mutações do TP53 ocorrem

com alta frequência nos tecidos tumorais, observação esta que se estende hoje na maioria dos cânceres humanos (Levine *et al.*, 2006). Membros de famílias portadoras da síndrome de Li-Fraumeni também demonstraram mutações de TP53 nas células germinativas. Experimentalmente observou-se que camundongos homocigóticos para o TP53 mutado são altamente predispostos ao aparecimento de tumores (Jack, 2006).

A função característica da proteína p53 foi determinada por experimentos que identificaram um forte domínio de ativação transcricional dentro de sua porção aminoterminal. Assim, p53 é uma proteína tetramérica de ligação em um sítio específico do DNA. Apesar de p53 agir como um fator ativador transcricional de genes contendo estes sítios específicos de ligação, ela também é capaz de inibir fortemente a transcrição de vários genes. Por desempenhar diferentes funções, cada domínio da proteína atua em momentos específicos da atividade da p53. O domínio de transativação é importante para a ativação específica da transcrição de determinados genes, além de ser o sítio de ligação de sua principal antagonista, a oncoproteína HDM2 – a forma humana do gene *murine double minute 2 protein* (MDM2). O domínio de ligação ao DNA permite a adesão da molécula proteica a motivos de DNA, incluindo os de regiões promotoras ou de regiões intrônicas de determinados genes-alvo. O domínio de tetramerização é responsável pela formação dos tetrâmeros de p53, que representam a forma mais ativa da molécula. Finalmente, o domínio regulatório é responsável pela regulação negativa do domínio central de ligação ao DNA, inibindo assim a ligação específica da proteína aos diferentes promotores (Sutcliffe & Brehm, 2004) (Figura 3).

As vias de ativação da proteína p53 são amplamente estudadas e iniciam com a presença de fatores sinalizadores extra celulares que desencadeiam o processo de ativação do gene TP53, ativando também um “pool” de proteínas, incluindo a própria p53, que irá regular sua atividade e função. Os efeitos celulares que podemos observar da ativação desta cadeia

são a saída da célula do ciclo celular (senescência); a apoptose e/ou o reparo do DNA e recombinação.

A função do fator de transcrição p53 envolve sua ligação com o DNA e interação com a maquinaria transcricional, sendo esta mediada, em parte, por modificações pós-traducionais. Duas regiões específicas na proteína p53 são marcadas por modificações pós-traducionais. Uma na porção N-terminal, onde ocorre fosforilação e outra na porção C-terminal, que pode ser acetilada, fosforilada ou glicosilada, todas elas afetando a função de p53. A fosforilação da porção N-terminal de p53, além de relacionar-se com várias funções, também estimula sua atividade de transativação. A fosforilação de p53 na porção N-terminal intensifica sua ligação com as histona-acetiltransferases (HAT) e outras proteínas que funcionam como co-fatores da transcrição. Além da fosforilação N-terminal, a porção C-terminal é alvo de várias modificações pós-traducionais. Reações de acetilação de aminoácidos específicos resultam em modificações que afetam as interações de p53 com outras proteínas que funcionam como co-fatores da transcrição, potencializando ou inibindo sua função transcricional (Lane & Fischer , 2004).

A proteína p53 age de várias formas nas células. A expressão de altos níveis da forma selvagem tem dois caminhos: saída do ciclo celular ou apoptose. A observação de que agentes que provocam danos no DNA induzem níveis elevados de p53 nas células levam à definição de p53 como fator no ponto de checagem do ciclo celular. Enquanto dispensável para a viabilidade de células normais, a proteína p53, em resposta à genotoxicidade e estresse celular, age como um freio de emergência, induzindo a saída do ciclo celular ou a apoptose, protegendo o genoma de acumular mutações em excesso. Consistente com estas noções, células com p53 danificado ou mutante demonstram ser mais instáveis e mais propensas à tumorigenese ([Sutcliffe](#) & [Brehm](#), 2004; Lane & Fischer, 2004; Lane, 2005).

1.4 – A queilite actínica e a proteína p53

Um expressivo número de tumores malignos se origina de lesões pré-malignas bem definidas que se desenvolvem no decorrer de vários anos. Este conhecimento proporciona uma oportunidade ímpar para redução destas doenças através de sua detecção precoce e tratamento. As modificações celulares que levam ao desenvolvimento de câncer do lábio ainda não são completamente compreendidas. De Rosa et al (1999) avaliando 44 lesões malignas e potencialmente malignas do lábio inferior observaram que a porcentagem de células PCNA positivas é um parâmetro sensível para diferenciação entre lesões potencialmente malignas e cânceres invasivos. A positividade de p53 foi encontrada mais frequentemente em carcinomas de alto grau e também em lesões pré-malignas como a queilite actínica. Estas lesões p53 positivas podem ser consideradas de maior risco para progressão do CEC de lábio que as p53 negativas.

A queilite actínica apresenta expressiva marcação imuno-histoquímica da proteína p53, com índice de marcação maior do que o encontrado nas lesões de leucoplasia. Esta marcação sugere a presença de alterações genéticas precoces do gene TP53, com produção de uma forma de proteína p53 mutante mais estável no núcleo celular, permitindo sua detecção por métodos imuno-histoquímicos e sua utilização como fator prognóstico ([Fitzgerald](#), 1998).

A imunodeteção de p53 foi descrita em 62,5% dos carcinomas epidermóides da cavidade oral, mostrando que a imunodeteção desta proteína apresentou correlação com o grau histológico de malignidade, grau de queratinização, polimorfismo nuclear e número de mitoses (Dos Santos *et al.*, 2003). Resultados sugestivos de que mutações na proteína p53 podem significar um evento precoce da transformação maligna antes do fenótipo maligno se expressar nas células da cavidade oral também tem sido descritos (Warnakulasuriya & Jonhson, 1994). Utilizando técnicas de imuno-

histoquímica, p53 foi considerada um marcador de grande utilidade na detecção precoce de lesões com alto potencial de malignização.

Cruz *et al.*, (1998) investigaram a imunodeteção de p53 em 35 lesões pré-malignas e 11 CEC de cavidade oral derivados daquelas lesões. Sete lesões pré-malignas mostraram positividade para p53 e seis destas desenvolveram carcinomas, os quais também mostraram forte imunodeteção da proteína p53. Os resultados sugerem que a imunodeteção de p53 é um evento precoce na carcinogênese oral e um indicador de carcinoma em desenvolvimento, mesmo antes do aparecimento de alterações morfológicas. A importância prognóstica da imunodeteção de p53 em lesões pré-malignas de cavidade oral foi ainda mais ressaltada quando a localização da imunodeteção nas camadas do epitélio foi considerada. Ou seja, um estudo subsequente desenvolvido pelo mesmo grupo (Cruz *et al.*, 2002) demonstrou que a imunodeteção de p53 acima da camada basal do epitélio apresenta um valor preditivo positivo para malignização ainda maior do que quando somente a imunodeteção era considerada. O estudo concluiu que a imunodeteção de p53 acima da camada basal da mucosa representa um evento inicial da transformação maligna, além de apresentar forte valor preditivo e alta especificidade para transformação maligna e consequente desenvolvimento do CEC de cavidade oral. Concluiu ainda, que a imunodeteção de p53 somente na camada basal do epitélio da cavidade oral não apresenta significado para avaliações prognósticas (Cruz *et al.*, 2002).

Uma revisão atualizada do PUBMED resultou em apenas seis referências abordando o tema queilite actínica e p53. Tendo em vista a paucidade de trabalhos a respeito da queilite actínica na literatura, e sabendo que estas lesões podem sofrer transformação maligna, propomos estudar os aspectos clínicos, histopatológicos e a detecção imuno-histoquímica da proteína p53 nestas lesões.

2 - Justificativa

O presente estudo se justifica pelas seguintes observações:

- (1) A QA é considerada uma lesão sub-diagnosticada e reconhecidamente precursora do câncer de lábio (cancerizável) (Ayers Jr, 1923; Nicolau & Balus, 1964; Koteen *et al.*, 1967; Shafer, 1975; Pindborg, 1978).
- (2) Existem poucos trabalhos na literatura avaliando os aspectos clínicos e histopatológicos da QA (Koteen *et al.*, 1967; Cataldo & Doku, 1981; Aguiar, 1995; Huber & Terezhalmay 2006; Cavalcante *et al.*, 2008).
- (3) Possíveis associações entre o prognóstico da queilíte actínica e a imunodeteccção de p53 tem sido descritas em alguns estudos, porém, os achados ainda são conflitantes e limitados (Fitzgerald, 1998; De Rosa *et al.*, 1999; Pimentel *et al.*, 2006; Martinez, 2008).
- (4) A deteccção precoce e o diagnóstico mais acurado da QA podem trazer impacto positivo no prognóstico destas lesões (Maino *et al.*, 1973; Campisi & Margiotta, 2002; Kutcher & Rubenstein, 2004).
- (5) A imunodeteccção de p53 tem sido avaliada em várias lesões precursoras do câncer, entretanto, sua importância no diagnóstico da QA ainda não foi totalmente estabelecida (Pimentel *et al.*, 2006).

3 - Objetivo

3.1- Objetivo geral:

Investigar os aspectos clínicos, histopatológicos e suas possíveis associações com a imunodeteção da proteína p53 em uma série de 48 pacientes adultos, apresentando queilite actínica, atendidos no Sistema de Prevenção da Associação de Combate ao Câncer em Goiás.

3.2- Obetivos específicos:

- (1) Investigar os parâmetros demográficos de um grupo de 48 pacientes com QA atendidos no Sistema de Prevenção da A.C.C.G.
- (2) Investigar os principais sinais clínicos da QA observados nesta série.
- (3) Investigar os principais aspectos histopatológicos da QA observados nesta série.
- (4) Investigar o perfil de imunodeteção de p53 (focal ou difuso) na camada basal e suprabasal dos espécimes histopatológicos de QA.
- (5) Investigar o perfil quantitativo de imunodeteção de p53 na camada basal e suprabasal dos espécimes histopatológicos de QA.
- (6) Determinar as possíveis associações entre a imunodeteção de p53 e os aspectos clínicos das lesões: sinais e sintomas.
- (7) Determinar as possíveis associações entre a imunodeteção de p53 e os aspectos histopatológicos das lesões: disceratose (hiperceratose e ortoceratose), hiperplasia e grau de displasia.

4 - Metodologia

4.1 – Tipo de estudo

Tratou-se de um estudo prospectivo de uma série de 48 casos de queilite actínica, atendidos no período de janeiro a dezembro de 2007, por um único cirurgião oncologista, no Sistema de Prevenção do Câncer da ACCG.

4.2 - Seleção da amostra

Durante o estudo, foram selecionados 48 pacientes ambulatoriais. Os dados referentes às lesões foram coletados sistematicamente, conforme ficha de anamnese e de seguimento desenhada especialmente para este estudo (anexo 1). Os critérios avaliados para inclusão dos pacientes nesta série incluíram:

- Presença ou ausência de sintomatologia referente à QA, definida como queixa específica a doença no lábio feita pelo paciente no momento da primeira consulta com o clínico.

- Presença de sinais clínicos de QA, definidos como alterações características da doença observadas objetivamente pelo clínico durante exame físico da consulta inicial.

- Ausência de outras moléstias crônico-degenerativas que comprometessem o estado geral do paciente no momento da primeira consulta.

- Assinatura do Formulário de Consentimento Informado (anexo 2) concordando em aderir ao estudo.

- Submissão do paciente a uma biópsia incisional do lábio inferior nos parâmetros estabelecidos pelo protocolo do trabalho, para análise histopatológica e imuno-histoquímica.

4.3 - Procedimento de biópsia

Todos os pacientes da série foram submetidos a biópsia incisional do lábio inferior. Este procedimento foi realizado em nível ambulatorial, no Sistema de Prevenção ao Câncer da ACCG. Inicialmente, procedia-se a limpeza do lábio com solução de povidine e colocação de campo fenestrado estéril. A seguir, uma área pré-determinada do lábio, já selecionada no exame clínico inicial, era anestesiada com aproximadamente 1 ml de solução de xilocaina 2% e incisada em uma extensão de 0,5cm, em fuso. Qualquer sangramento era prontamente hemostasiado e aplicada sutura em pontos simples de fio absorvível (catgut 4X0 simples). Após a finalização do procedimento, um curativo com gaze era realizado. O espécimen era acondicionado imediatamente em solução de formol tamponado e enviado ao Setor de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge, no mesmo dia, para processamento, análise histopatológica e análise imuno-histoquímica.

Não houve intercorrências trans ou pós-operatórias relatadas na atual casuística. Os pacientes retornaram ao ambulatório para revisão cirúrgica em média duas semanas após o procedimento, quando eram examinados pelo médico assistente e liberados com orientações.

4.4 - Análise morfológica

Os espécimens foram encaminhados a um único patologista treinado do Setor de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge da ACCG. Inicialmente, o material fixado em formol foi emblocado em parafina e então submetido a cortes de 5µm de espessura para exame histológico, utilizando microscopia de luz com aumento em objetivas em aumentos de até 340 vezes, e coloração pelo método da hematoxilina e eosina (H&E). As principais características histopatológicas de cada lesão foram relacionadas também em um formulário especialmente desenhado para este estudo (Anexo 3), sendo assim relacionadas:

- Disceratoses (alterações de queratinização): espessamento da camada córnea (hiperceratose) com queratinócitos normais (ortoceratose) alternando com a presença de núcleos nas células dessa camada.

- Hiperplasia definida como aumento global de queratinócitos com espessamento do epitélio

- A displasia (leve, moderada ou severa) representada pela presença de núcleos celulares aumentados de tamanho, irregulares e hipercromáticos, com eventual presença de mitoses atípicas e perda da polaridade celular.

4.5 - Análise imuno-histoquímica

A análise imuno-histoquímica empregou o método da estreptoavidina-biotina-imunoperoxidase (Super ABCkit, Erviegas) e a imunodeteção da proteína p53 foi feita com o anticorpo monoclonal DO7 (DAKO). Os cortes, montados em lâminas sinalizadas, foram desparafinizados e desidratados, em temperatura controlada. Em seguida, foram submetidos à recuperação antigênica pelo calor, em panela de pressão, durante 20 minutos, utilizando-se o citrato 0,01M, pH 6,0. Após a recuperação antigênica, as lâminas foram mantidas à temperatura ambiente, para resfriamento, por cerca de 1 hora. O bloqueio da peroxidase endógena foi feito em peróxido de hidrogênio 3%, durante 10 minutos, e em seguida, as lâminas foram lavadas com tampão fosfato (PBS) por 5 minutos. Após o bloqueio, as lâminas foram incubadas a 4°C, durante a noite, com o anticorpo monoclonal anti-p53, diluído (1:100) em solução de PBS contendo 1% de albumina bovina. Após a incubação com o anticorpo primário, as lâminas foram lavadas 3 vezes em PBS, por 5 minutos, e incubadas durante 1 hora com o anticorpo secundário conjugado com a biotina-avidina peroxidase. Depois de uma nova lavagem com PBS, por 5 minutos, a reação foi revelada com tetra-hidroclorato de 3-3'diaminobenzidina, por 5 minutos, e as lâminas levemente contracoradas com hematoxilina. Em seguida, as lâminas foram desidratadas e montadas com lamínula.

A análise da reação foi feita utilizando o índice de marcação da

proteína p53 do núcleo das células em duas formas:

- primeiramente, classificando a marcação da proteína p53 qualitativamente nas camadas basal e supra basal da mucosa em aumentos de até 340 vezes. A análise levou em consideração o padrão e a concentração da coloração da p53 no núcleo das células nas formas difusa e/ou localizada em uma análise de campo aberto no aumento de 850 vezes.

- Posteriormente avaliou-se o número de células coradas positivamente no núcleo pela contagem de 100 células em campo aberto de 850 vezes de aumento, sendo esta avaliação considerada por nós como quantitativa e expressa em percentuais. A esta última forma de avaliação acrescentamos uma extratificação no intuito de melhor avaliar a distribuição das células marcadas positivamente nas camadas basal e supra-basal. Assim dividimos as amostras quantitativamente em 4 categorias definidas como: 1) - negativa; 2) - positiva em até 29% das células 3) - positiva em 30% a 69% das células, e 4) - positiva em 70% ou mais das células.

4.6 - Métodos estatísticos

O teste exato de Fischer foi utilizado para avaliar as associações entre os sinais clínicos (raça, sexo, idade, história de câncer de pele não melanoma), características histopatológicas (disceratose, hiperplasia e displasia) e a imunodeteção do p53. A significância estatística foi avaliada pelo teste X^2 com $p < 0,05$. Para análise estatística foi empregado o programa SPSS (SPSS Inc.).

4.7 - Aspectos éticos

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisas da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (CEPACCG) sob o registro N° 032/07, sendo aprovado sem restrições no dia 09 de outubro de 2007 pela CEPACCG.

5 - Resultados

Todos os 48 pacientes deste estudo apresentavam o tipo cutâneo branco (fototipo II ou III de Fitzpatrick) (Irwin *et al.*, 2003). 31 pacientes (65%) eram do sexo masculino e 17 (35%) do sexo feminino, com idades variando entre 32 e 79 anos, com mediana de 59,2 anos. Houve discreto predomínio de pacientes com idades acima de 60 anos nesta amostra.

Vinte e um pacientes (44%) apresentavam história pregressa de câncer de pele do tipo não melanoma, em algum outro sítio corporal. 25 pacientes eram tabagistas (52%) e apenas três pacientes (6%) eram etilistas.

Quarenta e um pacientes (85%) não apresentavam, no momento da primeira consulta, queixas específicas (sintomas) relacionadas à QA, o que aconteceu em apenas sete casos (14%). Os dados demográficos e de história pregressa dos 48 pacientes estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Dados demográficos e de história progressa em 48 pacientes com queilite actínica

	n	%
Fototipo Cutâneo (Irwin M <i>et al.</i> , 2003)		
Tipo I (muito branco)	0	0
Tipo II / III (branco)	48	100
Fitzpatric IV/V (Moreno)	0	0
Fitzpatric VI (negro)	0	0
Faixa Etária		
< 60 anos	23	48
≥ 60 anos	25	52
Sexo		
Masculino	31	65
Feminino	17	35
História anterior de câncer de pele		
não	27	56
sim	21	44
Tabagismo		
não	23	48
sim	25	52
Etilismo		
não	45	94
sim	3	6
Pacientes com queixas relacionadas à QA (Sintomáticos)		
Sim	41	85
Não	7	15

Seis características clínicas (sinais) foram analisadas nos pacientes:

1. Descamação - esfoliação espontânea, difusa ou localizada, constante do lábio inferior (figura 4)
2. Atrofia – aspecto apergaminhado e sem brilho do vermelhão do lábio inferior (papel de seda) (figura 5).
3. Eritema – vermelhidão localizada ou difusa, fixa, que se apresenta de forma constante no lábio inferior (figura 6).

4. Ulceração – área de úlcera ou fissura profunda, com ou sem sangramento ou crostas, presente no lábio inferior (figura 7).
5. Leucoplasia – área esbranquiçada em placa bem delimitada e aderida no lábio inferior (figura 8).
6. Perda de definição do vermelhão – ausência parcial ou completa de delimitação entre a contiguidade da pele e o vermelhão do lábio inferior (figura 9).



Figura 4 – Fotografia do lábio, mostrando sinais clínicos de descamação.



Figura 5 – Fotografia do lábio, mostrando sinais clínicos de Atrofia



Figura 6 - Fotografia do lábio, mostrando sinais clínicos de Eritema



Figura 7 – Fotografia do lábio, mostrando sinais clínicos de Ulceração



Figura 8 - Fotografia do lábio, mostrando sinais clínicos de Leucoplakia



Figura 9 – Fotografia do lábio, mostrando sinais clínicos de perda de definição do vermelhão do lábio

Cada paciente poderia apresentar um ou mais dos sinais descritos simultaneamente. Os sinais clínicos mais freqüentes desta amostra foram a perda do vermelhão do lábio, em 36 pacientes (75%), seguidos pela descamação, em 34 pacientes (71%) e a atrofia, em 32 pacientes (67%). Os dados da distribuição dos sinais clínicos dos 48 pacientes da amostra são apresentados na figura 10.

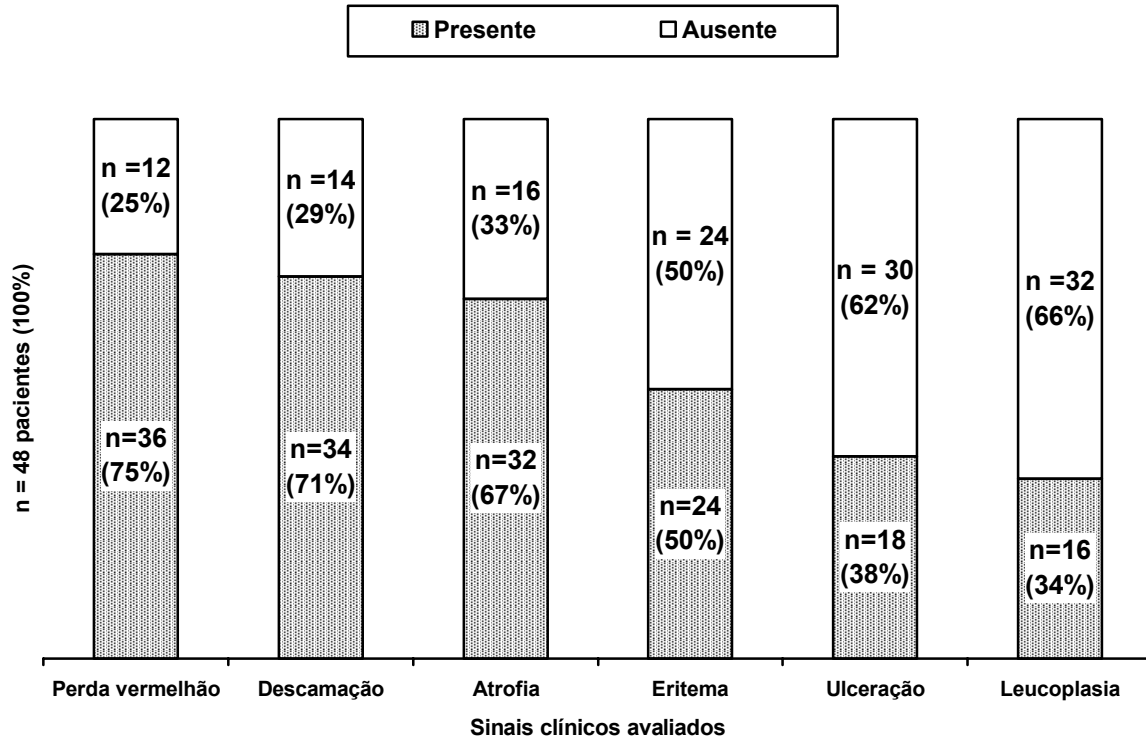


figura 10 - distribuição de sinais clínicos nos pacientes com diagnóstico de QA

Quarenta e um pacientes (85%) não apresentavam queixas (sintomas) à consulta inicial (assintomáticos). Entretanto, observamos que a maioria destes pacientes apresentava sinais clínicos compatíveis com QA, como perda do vermelhão em 31 casos (75%), descamação em 28 casos (68%) e atrofia em 27 casos (66%). Nos sete casos que apresentavam sintomatologia (sintomáticos), cinco (71%) apresentavam perda da definição do vermelhão do lábio, seis (85%) descamação e cinco (71%) apresentavam atrofia. Não observamos diferença estatística com relação aos sinais clínicos entre estes dois grupos (figura 11).

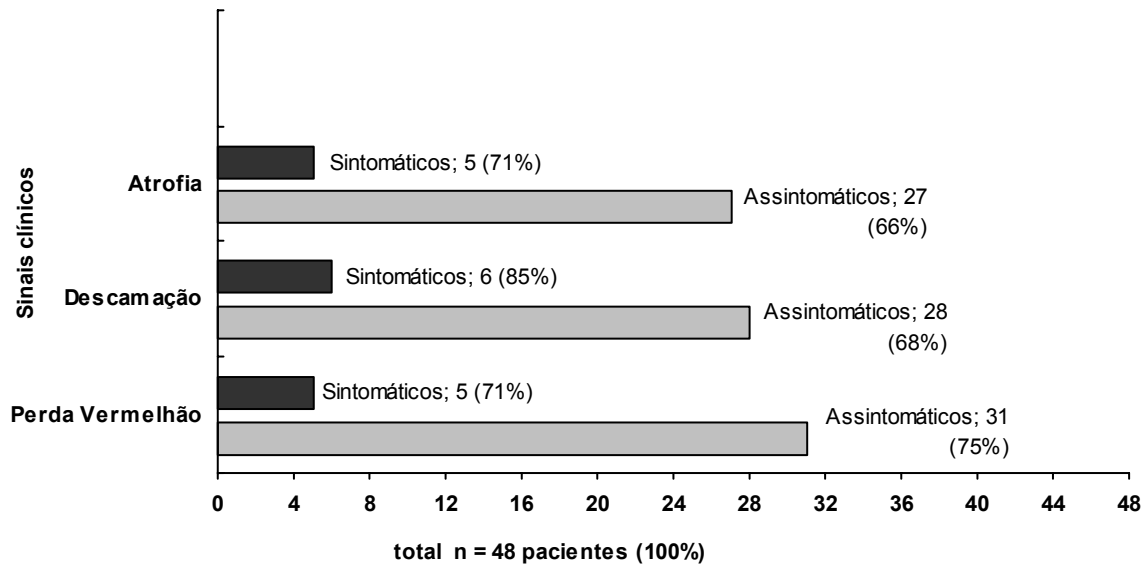


Figura 11 - Distribuição dos sinais clínicos mais frequentes entre pacientes sintomáticos (n = 7) e assintomáticos (n = 41) com diagnóstico de QA (p > 0,05)

Os sinais clínicos foram avaliados no grupo de pacientes tabagistas, observando-se a perda da definição do vermelhão em 18 casos (72%), a descamação em 18 casos (72%); e a atrofia em 16 casos (64%). Não houve diferença estatística significativa entre os pacientes tabagistas e os não-tabagistas quanto aos sinais clínicos apresentados (figura 12).

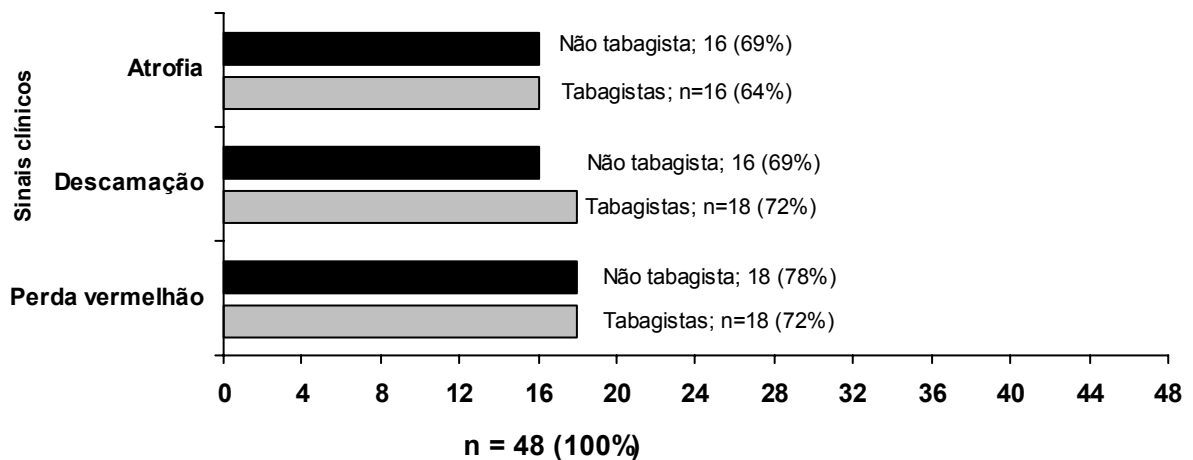


Figura 12 - Apresentação de sinais clínicos em pacientes tabagistas e não tabagistas portadores de QA (p > 0,05)

O exame histopatológico dos casos foi realizado utilizando a coloração de hematoxilina e eosina (H&E) (figura 13 e 14).

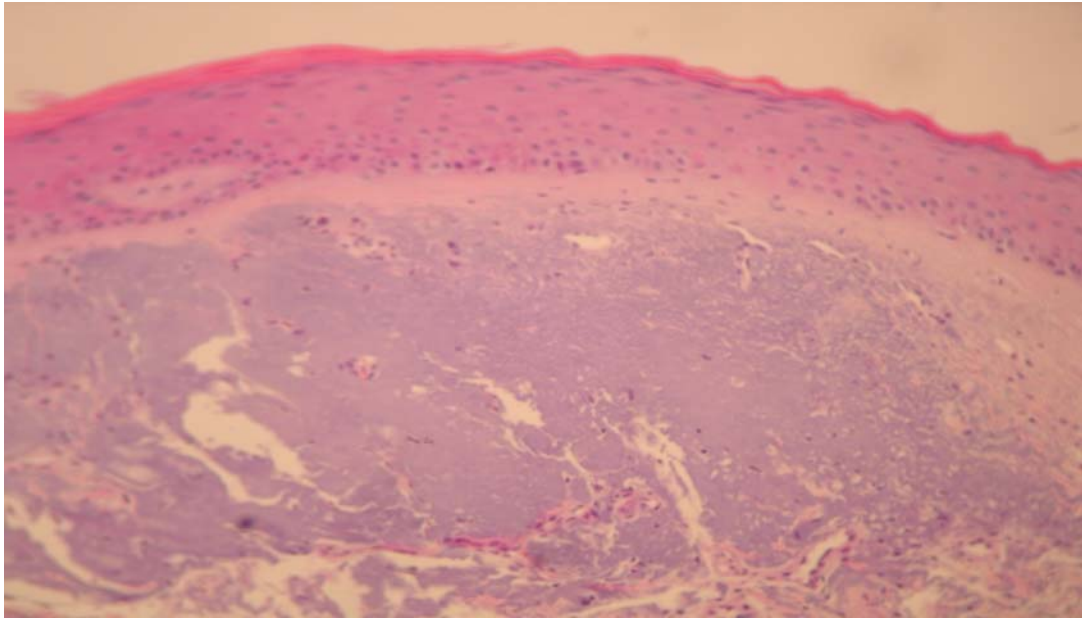


Figura 13 – Fotografia de espécimen de biópsia de lábio em coloração pela hematoxilina e eosina (H&E) evidenciando os núcleos hiper cromáticos e hiperplasia do epitélio – Aumento de 170 X

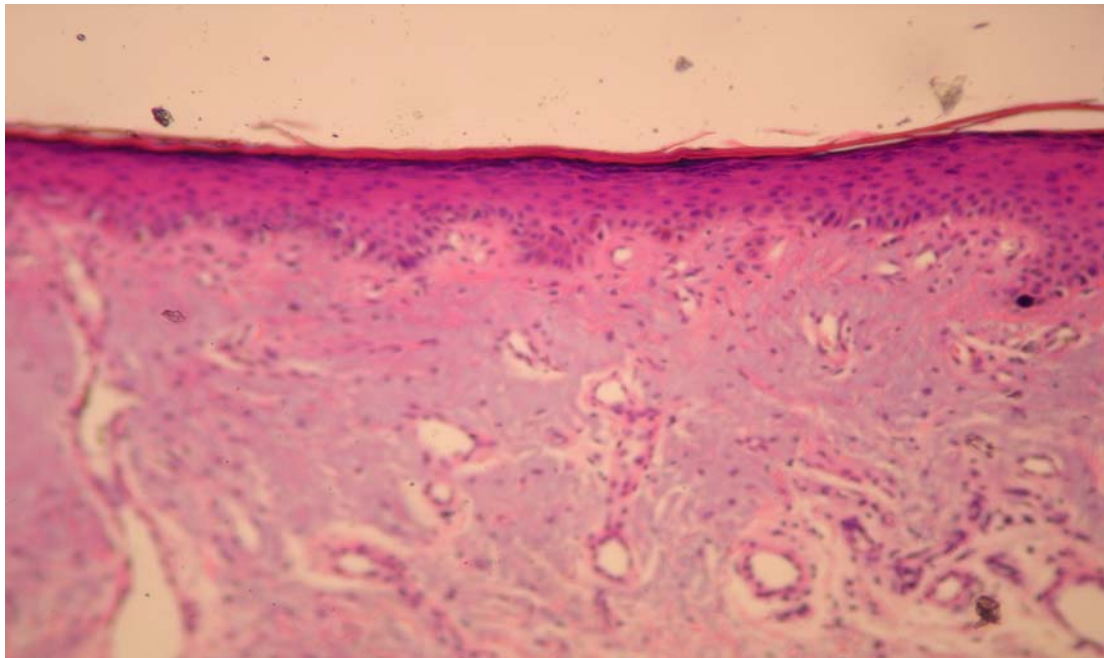


Figura 14 - Fotografia de espécimen de biópsia de lábio em coloração pela hematoxilina e eosina (H&E) evidenciando a presença de disceratoze e intensa elastose solar associada – aumento de 170 X

Dentre os 48 espécimens examinados, 46 (96%) apresentavam disceratose. Em apenas dois pacientes, o exame histopatológico da mucosa foi considerado normal. A hiperplasia epitelial foi observada em 41 casos (85%) e vinte e sete casos (57%) apresentavam algum grau de displasia ao exame histopatológico, com predomínio de displasia leve (40%). A distribuição dos pacientes por critérios histopatológicos esta descrita na tabela 2.

Tabela 2 - Distribuição de 48 pacientes portadores de QA segundo aspectos histopatológicos.

		n	%
Disceratose	Sim	46	96
	Não	2	4
Epitelio	Normal	2	4
	Atrófico	5	11
	Hiperplásico	41	85
	Ulcerado	0	0
Displasia	Ausente	21	43
	Leve	19	40
	Moderado	7	15
	Intensa	1	2

Possíveis associações entre os aspectos clínicos e histopatológicos foram investigadas para o grupo de estudo, revelando que:

- Dentre os 36 pacientes que apresentavam perda da definição do vermelhão do lábio, 34 (94%) apresentavam disceratose; 31(86%) apresentavam hiperplasia e 20 (55%) apresentavam displasia ($p > 0,05$).
- Dentre os 34 pacientes que apresentavam descamação, 32 (94%) apresentavam disceratose; 29 (85%) apresentavam hiperplasia e 17 (50%) apresentavam displasia ($p > 0,05$).

- Dentre os 32 pacientes que apresentavam atrofia, todos apresentavam disceratose; 28 (87%) apresentavam hiperplasia e 18 (56%) apresentavam displasia ($p > 0,05$).

As possíveis associações entre os sinais clínicos e aspectos histopatológicos estão representadas na tabela 3.

Tabela 3 – Possíveis associações entre os aspectos clínicos e histopatologia das QA em 48 pacientes ($p > 0,05$).

Sinais clínicos	Histopatologia					
	disceratose		Hiperplasia		Displasia	
	n = 46	%	n = 41	%	n = 27	%
Perda definição vermelhão(N = 36)	34	94	31	86	20	55
Descamação(N=34)	32	94	29	85	17	50
Atrofia(N = 32)	32	100	28	87	18	56

A análise imuno-histoquímica dos espécimens de QA utilizando o anticorpo monoclonal D07 foi empregada avaliando a coloração dos núcleos celulares corados na camada basal e suprabasal da mucosa do lábio. Em todos os 48 casos (100%) de QA avaliados, foi possível identificar alguma positividade para a imunodeteção da proteína p53 (figura 15).

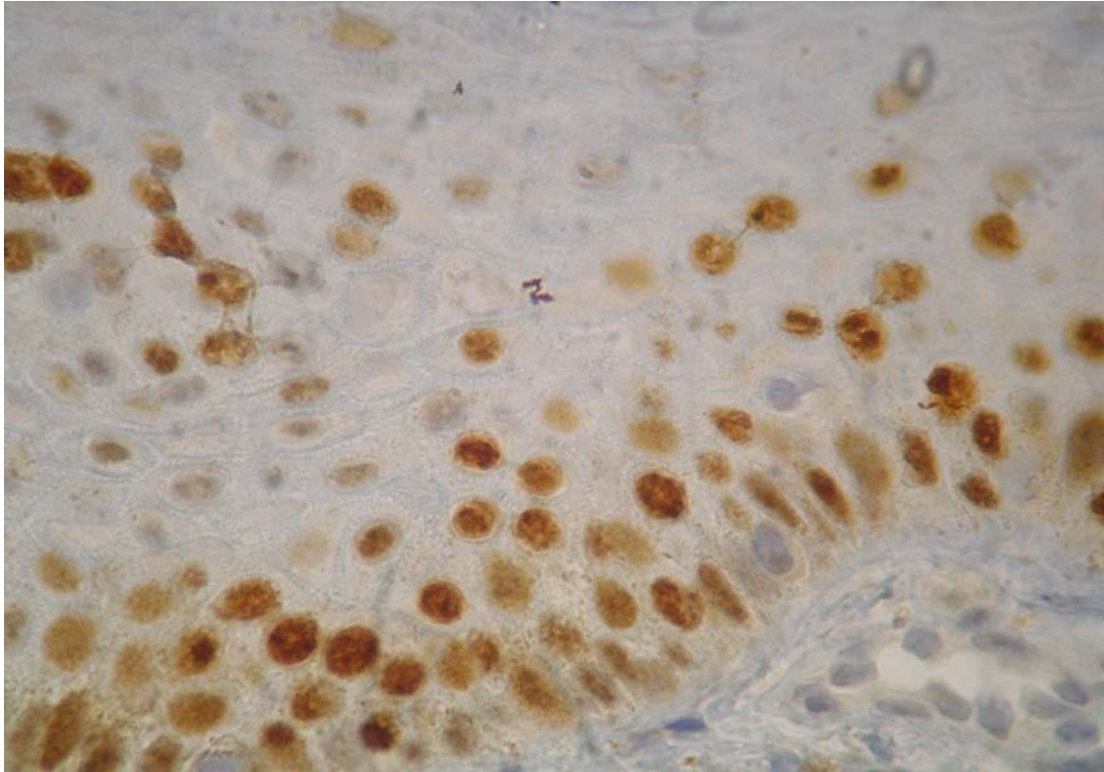


Figura 15 – Fotografia de espécimen de biópsia de lábio apresentando marcação positiva para a proteína p53 no núcleo de células nas camadas basal e supra-basal – aumento de 850 X

Inicialmente, a imunodeteção qualitativa de p53 foi realizada em células da camada basal e suprabasal da mucosa, diferenciando a marcação focal ou difusa (figuras 16 e 17).

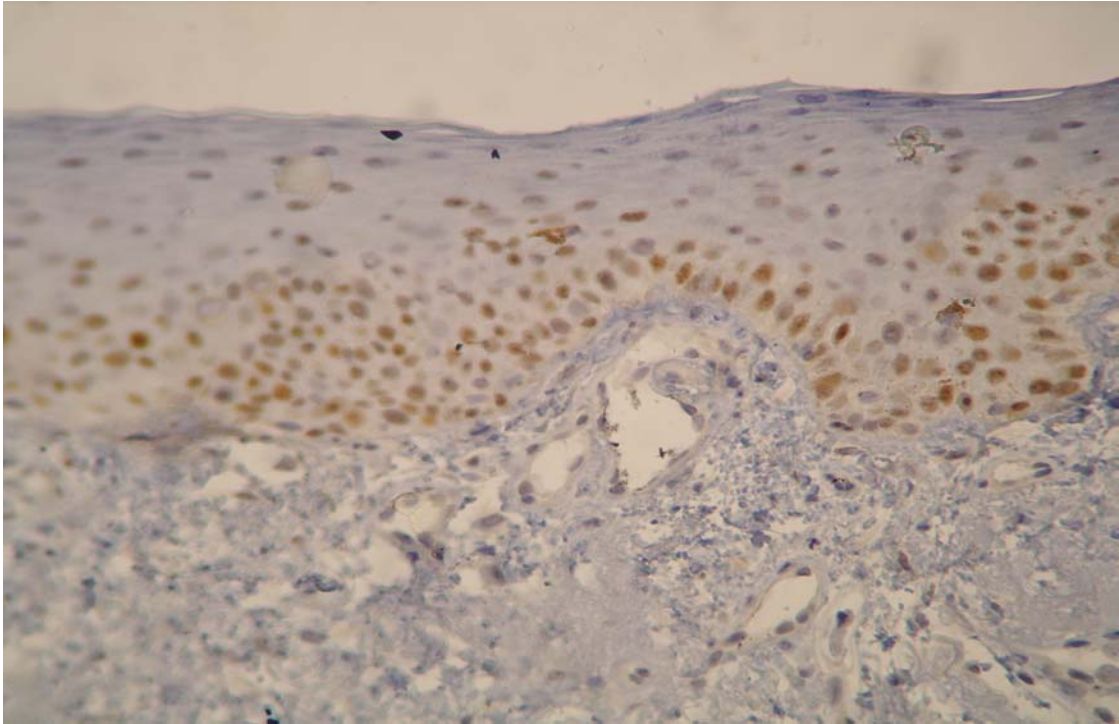


Figura 16 – Fotografia de espécimen de biópisa de lábio com imunodeteccção positiva e difusa de p53 na camada basal e na supra-basal – aumento de 340 X

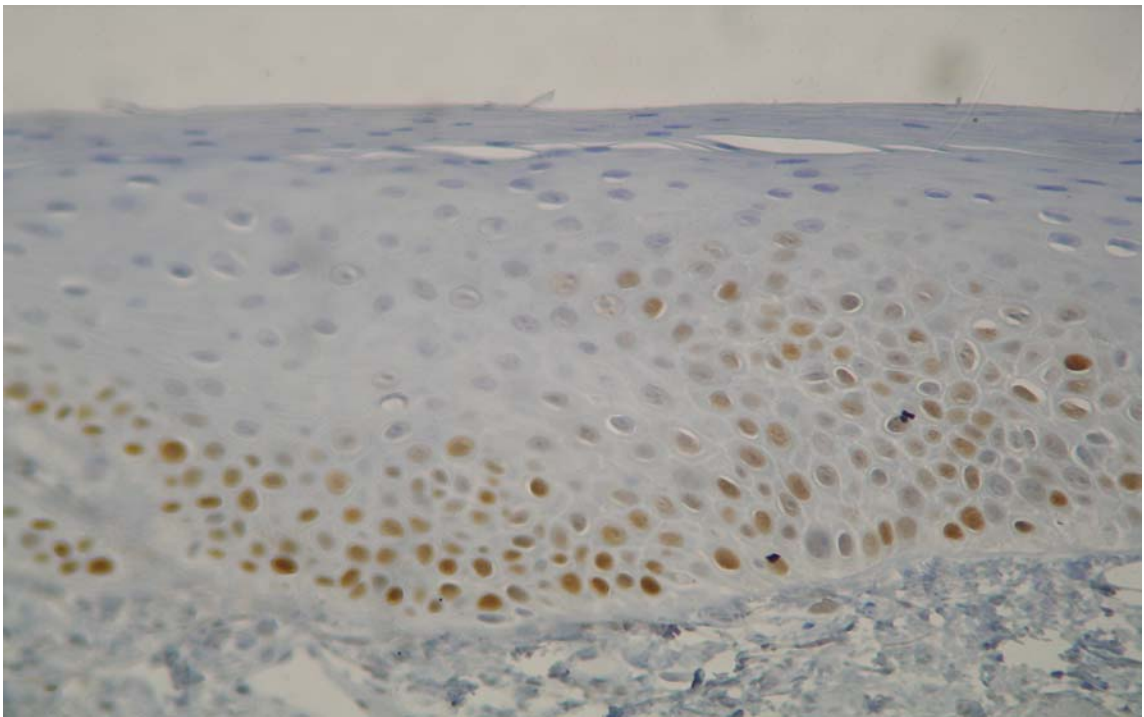


Figura 17 – Fotografia de espécimen de biópisa de lábio com imunodeteccção positiva e focal de p53 na camada basal e na supra-basal – aumento de 340 X

Nas células da camada basal, a imunodeteção da proteína p53 na forma difusa foi verificada em 35 casos (73%) e focalmente em doze (25%). Por outro lado, na camada suprabasal, estes números praticamente foram invertidos, resultando em oito casos (17%) com marcação difusa e 35 casos (73%) com marcação focal (figura 18).

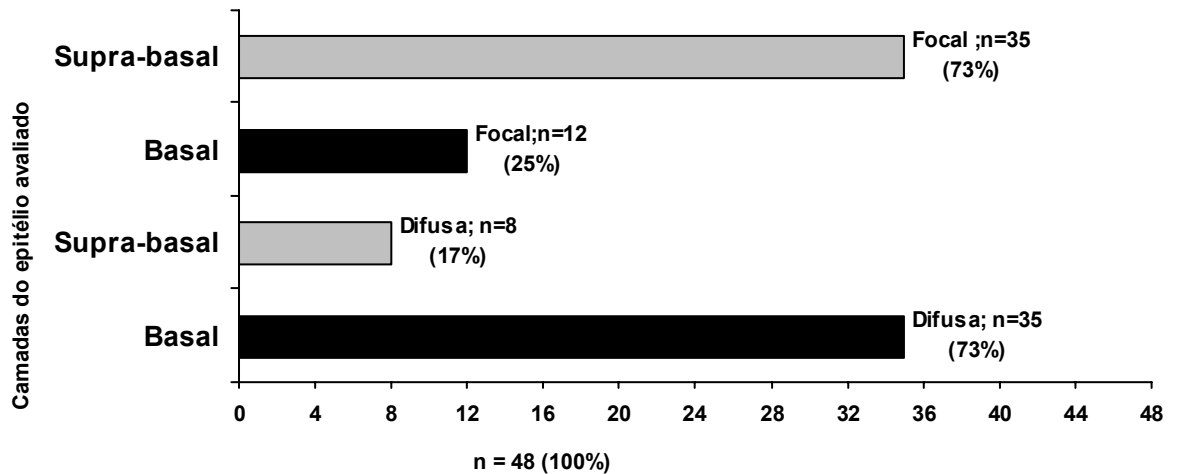


Figura 18 - Comparação da imunodeteção qualitativa de p53 nas camadas basal e supra-basal em 48 pacientes comQA.

Possíveis associações entre os sinais clínicos mais freqüentes desta amostra e a imunodeteção qualitativa na forma difusa da proteína p53 foram investigadas nos espécimens. Na camada basal, verificou-se a imunodeteção positiva e difusa da proteína p53 em 25 (69%) dos 36 pacientes que apresentavam o sinal clínico de perda da definição do vermelhão do lábio; em 25 (73%) dos 34 que apresentavam descamação e em 25 (78%) dos 32 que apresentavam atrofia. Já na camada suprabasal, a imunodeteção positiva e de forma difusa da proteína p53 ocorreu em cinco (13%) dos 36 pacientes que apresentavam o sinal clínico de perda da definição do vermelhão do lábio; em seis (18%) dos 34 que apresentavam descamação e em cinco (16%) dos 32 que apresentavam atrofia. Em nenhum destes casos observou-se significância estatística nas associações ($p > 0,05$) (tabela 4).

Tabela 4 – Possíveis associações entre a imunodeteção qualitativa na forma difusa de p53 nas camadas basal e supra-basal e os sinais clínicos em 48 pacientes com QA ($p > 0,05$).

Sinais clínicos	Imunodeteção qualitativa na forma difusa do p53			
	Camada basal		Camada supra-basal	
	n = 35	%	n = 8	%
Perda definição vermelhão(N = 36)	25	69	5	13
Descamação(N=34)	25	73	6	18
Atrofia(N = 32)	25	78	5	16

Possíveis associações entre os aspectos histopatológicos observados nesta série e a imunodeteção qualitativa da proteína p53 também foram investigadas. Nos 35 pacientes que apresentaram imunodeteção positiva e difusa para p53 na camada basal, 34 (97%) apresentavam disceratose, 29 (82%) apresentavam hiperplasia e 19 (54%) apresentavam displasia em algum grau. Na camada suprabasal, apenas oito pacientes tiveram a imunodeteção positiva e difusa de p53, sendo que um destes casos (12%) apresentava alteração disceratótica da mucosa, sete (87%) apresentavam hiperplasia e os oito casos (100%) apresentavam displasia do epitélio em algum grau, sendo esta última associação estatisticamente significativa ($p < 0,005$) (tabela 5).

Tabela 5 – Possíveis associações entre a imunodeteção qualitativa na forma difusa de p53 nas camadas basal e supra-basal e as alterações histopatológicas em 48 pacientes com QA ($p < 0,05$).

Histopatologia	Imunodeteção qualitativa na forma difusa do p53			
	Camada basal		Camada supra-basal	
	n = 35	%	n = 8	%
Disceratose (n=46)	34	97	1	12
Hiperplasia (n=41)	29	82	7	87
Displasia (n=27)	19	54	8	100

A imunodeteção positiva da proteína p53 foi observada numa média de 74% das células na camada basal e de 26% das células na camada suprabasal (figura 19).

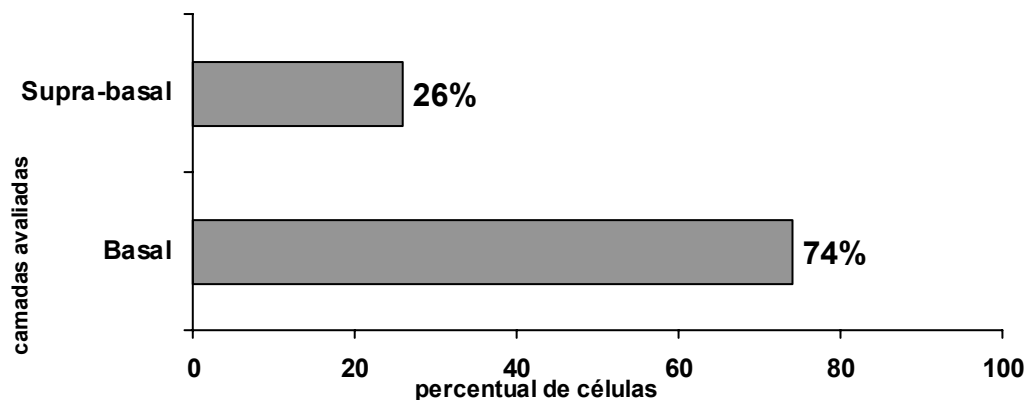


Figura 19 - Imunodeteção positiva de p53 no núcleo de células das camadas basal e supra-basal de 40 pacientes com QA

Após análise imuno-histoquímica e microscópica, as amostras foram extratificadas em três grupos, incluindo:

- Grupo 1, com imunodeteção de p53 em até 29% das células
- Grupo 2, com imunodeteção de p53 em 30% a 70% das células
- Grupo 3, com imunodeteção em mais de 70% das células.

Observou-se que 33 casos (68%) apresentavam imunodeteção de p53 em mais de 70% das células da camada basal, enquanto que somente cinco casos (10%) apresentavam imunodeteção de p53 em mais de 70% das células da camada suprabasal (figura 20).

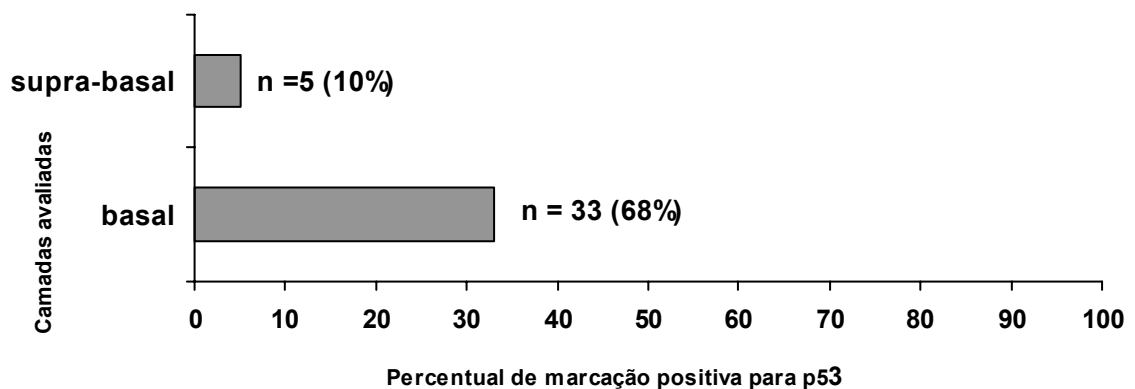


Figura 20 - Percentual de marcação positiva de p53 em > 70 das células nas camadas basal e supra-basal em 48 casos de QA.

Quando os 33 casos com imunodeteção positiva para p53 em mais de 69% das células na camada basal foram analisados, verificou-se que 24 deles (72%) apresentavam perda da definição do vermelhão do lábio; 21 apresentavam descamação (63%) e 25 apresentavam atrofia (75%). Quando a mesma comparação foi feita com os cinco casos marcados positivamente na camada suprabasal, verificou-se que os cinco (100%) apresentavam perda da definição do vermelhão do lábio; cinco (100%) apresentavam

descamação e três (60%) apresentavam atrofia como sinal clínico (tabela 6). Estas associações não foram estatisticamente significantes ($p>0,05$)

Tabela 6 – Possíveis associações entre os aspectos clínicos e a imunodeteção positiva de p53 em mais de 70% das células nas camadas basal e supra-basal em 48 casos de QA ($p>0,05$)

Sinais Clínicos	Camada Basal		Camada suprabasal	
	p53 + > 70%		p53 + > 70%	
	n = 33	%	n = 5	%
Perda definição do vermelhão (n = 36)	24	72	5	100
Descamação (n = 34)	21	63	5	100
Atrofia (n = 32)	25	75	3	60

Quando as características histopatológicas das lesões biopsiadas (disceratose, hiperplasia e displasia) foram associadas com os achados da imunodeteção de p53, verificou-se que dos 33 casos com imunodeteção positiva de p53 em mais de 69% das células da camada basal, 32 (97%) apresentavam disceratose; 26 casos (79%) apresentavam hiperplasia do epitélio e 21 (63%) apresentavam displasia. Dentre os cinco casos com imunodeteção positiva para p53 em mais de 69% das células na camada suprabasal, quatro (80%) apresentavam disceratose, todos (100%) apresentavam hiperplasia do epitélio e dois (40%) apresentavam displasia (tabela 7). Estas associações também não foram estatisticamente significantes ($p>0,05$)

Tabela 7 – Possíveis associações entre os aspectos histopatológicos e a imunodeteção positiva de p53 em mais de 70% das células nas camadas basal e supra-basal em 48 casos de QA (p>0,05)

Aspectos Histopatológicos	Camada Basal		Camada suprabasal	
	p53 + > 70%		p53 + > 70%	
	n = 33	%	n = 5	%
Disceratose (n = 46)	32	97	4	80
Hiperplasia do Epitélio (n = 41)	26	79	5	100
Displasia (n = 57)	21	63	2	40

6 - Discussão

A QA representa uma lesão pré-maligna, especialmente do lábio inferior, na qual é comum observar alterações histomorfológicas indicativas de desvio da diferenciação normal. Sabe-se hoje que existe uma forte associação entre o carcinoma epidermóide labial e a QA e mesmo diante da possibilidade de evolução para neoplasia maligna, a QA é usualmente negligenciada ou sub-diagnosticada nas consultas ambulatoriais, tanto pela paucidade das queixas apresentadas pelos pacientes, como pelo pouco conhecimento da gravidade da doença pelos médicos (Neto *et al.*, 2006; Abreu *et al.*, 2006; Menta *et al.*, 2007).

A QA apresenta uma estreita relação etiopatogênica com a exposição solar prolongada (Jinlian *et al.*, 2007; Dardalhon *et al.*, 2008) e tem grande importância diante dos aspectos climáticos e socioeconômicos de nosso país (Jorge Jr *et al.*, 1991; [Silva & Gabrich](#), 2007). Os primeiros relatos relacionando o câncer de lábio com a exposição solar foram feitos por Ayers em 1923, particularmente em indivíduos de pele clara. Em nosso estudo, a totalidade dos pacientes se enquadrava no fototipo cutâneo II ou III de Fitzpatrick (brancos) (Irwin *et al.*, 2003). Trabalhos prévios alegam que o principal fator etiológico associado ao desenvolvimento da QA é o mesmo das ceratoses actínicas e dos carcinomas escamosos e basocelulares da pele, ou seja, a exposição solar prolongada (radiação ultravioleta) e cumulativa sem fotoproteção (Satorres *et al.*, 2001; Kaskel *et al.*, 2001; Walther *et al.*, 2004; Placzek *et al.*, 2007). A elevada incidência de câncer de pele tipo não melanoma em outros sítios corporais (44%) encontrada em nossa amostragem também sugere a presença deste fator entre os nossos pacientes.

No presente estudo, incluímos 48 casos de pacientes com QA que se apresentaram ao ambulatório para consultas de rotina. A maioria era do sexo masculino (65%), com uma relação homem: mulher de 1,8:1. Outras séries

estudadas na literatura chegam a relatar uma proporção homem: mulher bem mais elevada, de até 12:1, sugerindo que os homens, por se exporem mais e por tempo maior ao sol, durante as atividades laborais ou recreativas, representam um grupo de maior risco para desenvolvimento de QA e de carcinoma de lábio (Walther *et al.*, 2004; Abreu *et al.*, 2006). Estes estudos também sugerem que, por se tratar de fator cumulativo, a exposição solar exercerá seus efeitos deletérios de forma mais incidente após os 60 anos de idade, coincidindo com os achados da nossa série, onde predominaram pacientes com idades acima desta faixa etária.

A literatura também descreve outros fatores de risco para o desenvolvimento da QA, como o etilismo e o tabagismo. As causas do tabagismo na etiopatogenia da QA e do CEC do lábio e cavidade oral são bem conhecidas. O trauma local, as altas temperaturas do cigarro, os agentes carcinógenos da fumaça são nominados (Baker, 1980; [Campisi & Margiotta](#), 2001; Satorres *et al.*, 2001; Markopoulos *et al.*, 2004). Em nossa série, uma porcentagem maior dos indivíduos era tabagista (52%), porém, não encontramos diferença estatística entre os sinais clínicos ou a incidência da QA no grupo de fumantes comparado ao de não fumantes. Este dado pode corroborar a afirmação de que a etiologia da QA difere das outras formas de CEC da cavidade oral, sendo a mesma do CEC da pele, ou seja, a exposição solar (Kaskel *et al.*, 2001; Walther *et al.*, 2004; Abreu *et al.*, 2006). Um número maior de pacientes sintomáticos era tabagista, porém, na avaliação estatística não foi possível identificar uma associação entre o tabagismo e a sintomatologia dos pacientes.

Como citado anteriormente, a paucidade de sintomas dos pacientes portadores de QA parece ser uma das causas do subdiagnóstico destas lesões. A QA é uma lesão tipicamente assintomática, especialmente nos seus estágios iniciais e estes pacientes consideram as alterações da QA no lábio como sendo “naturais do envelhecimento”, negligenciando os sintomas e não buscando assistência médica adequada em tempo. Ao buscar assistência, as lesões já se encontram em estágio avançado, sendo a possibilidade de transformação neoplásica maior ([Makrantonaki & Zouboulis](#),

2007; [Baumann](#), 2007). No nosso estudo, apenas 15% dos pacientes apresentava alguma queixa relacionada à QA na primeira consulta, o que deve propiciar uma piora no prognóstico para evolução do carcinoma do lábio.

Vários trabalhos na literatura descrevem as características clínicas das QA, que incluem desde descamações do lábio até edema labial difuso, placas esbranquiçadas (leucoplásicas) ou acastanhadas no lábio inferior, ressecamento labial, ulcerações que variam de rasas a profundas e sangrantes, eritemas e a perda da definição entre a pele e o vermelhão do lábio (Satorres *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 2002; Ochsenius *et al.*, 2003; dos Santos *et al.*, 2003; Bentley *et al.*, 2003; Markopoulos *et al.*, 2004; Kornevs *et al.*, 2005; Huber & Terezhalmay, 2006; Pimentel Neto *et al.*, 2006; Martínez *et al.*, 2008). Mesmo não se tratando de sinais patognomônicos, pois a intensidade e a presença de um ou mais destes não diagnostica por si só a QA, tais sinais deveriam ser observados pelo médico no exame clínico inicial de todos os pacientes suspeitos. Alguns autores como Dufresne e Curlin (1997) afirmam que as características clínicas mais ominiosas para o paciente com QA são a presença de ulceração, áreas nodulares, perda da definição do vermelhão do lábio e o seu aspecto atrófico. Eles indicam biópsias para estes casos específicos. Markopoulos *et al.*, (2004) relatam em sua casuística que as QA podem se apresentar como lesões esbranquiçadas e/ou avermelhadas, difusas ou localizadas, geralmente assintomáticas e que a palpação define como aspecto de “papel com areia”.

Para objetivar nossos resultados selecionamos apenas seis sinais clínicos característicos das QA para serem avaliados neste estudo. São eles: perda da definição do vermelhão do lábio; descamação labial persistente; aspecto atrófico do vermelhão do lábio; presença de placas de leucoplasia; eritemas localizados e ulcerações labiais. Os principais sinais clínicos encontrados nos pacientes de nossa casuística foram: perda da definição do vermelhão do lábio (75%), descamação (71%) e aspecto atrófico do lábio (67%).

No grupo de quarenta e um pacientes assintomáticos, a freqüência de apresentação dos sinais clínicos coincidiu com a descrita acima, porém, nos sete pacientes com queixas (sintomáticos), o sinal clínico mais freqüente foi a descamação (85% dos casos), provavelmente por ser o mais incômodo ao paciente, e que, na maioria das vezes, o leva a procurar o auxílio médico.

Mais uma vez salientamos que apesar de apresentar uma incidência elevada de sinais clínicos como os aqui descritos, a QA não é diagnosticada rotineiramente nos consultórios clínicos e odontológicos (Kutcher *et al.*, 2004). A verdadeira incidência de QA é desconhecida, porém, o seu análogo na pele, a ceratose actínica, foi diagnosticada em mais de 5 milhões de americanos em 2002, e este número tem a tendência de crescer devido a um aumento dos índices de exposição às radiações ultravioleta no planeta e da migração da população para regiões de maior exposição solar (Suárez *et al.*, 2007).

Infelizmente, a intensidade das manifestações clínicas ou a presença de sintomas nem sempre se correlacionam diretamente com a severidade histopatológica da lesão, e áreas suspeitas ao exame clínico podem se mostrar benignas, ao passo que lesões pouco suspeitas podem de fato representar áreas de displasia severa e até de carcinoma (Menta *et al.*, 2007; Cavalcante *et al.*, 2008). Markopoulos *et al.*, (2004) concluíram que o médico deve tratar a QA baseada não apenas na avaliação clínica, mas também nas características histopatológicas da lesão. A necessidade de biópsia no diagnóstico da QA também foi conclusão de outros autores variando apenas na forma de indicação. Sober e Burrnstein (1995) indicam a biópsia quando a lesão desenvolveu espessura aumentada, induração na base ou ulceração. Main e Pavone (1994) afirmam não ser necessária biópsia nos estágios iniciais da doença, porém é mandatória nos casos onde se encontra área endurecida localizada, ulceração, eritema persistente e hiperkeratose. Vale lembrar que a QA é uma doença multicêntrica no lábio, e apesar de áreas focais serem clinicamente mais significativas, a natureza disseminada da lesão deve sempre ser considerada para fins de biópsia e tratamento (Abreu *et al.*, 2006; Menta *et al.*, 2007; Ulrich *et al.*, 2007; Orenstein *et al.*, 2007) .

Todos os pacientes de nosso estudo foram submetidos à biópsia incisional no lábio inferior dirigida a área de maior acometimento ao exame clínico. O método se mostrou bastante eficaz na obtenção de material biológico (100% das amostras foram significativas) para estudo histopatológico e imunohistoquímico, com baixíssima morbidade (0% de complicações).

Com a intenção de objetivar nossos resultados, selecionamos na literatura algumas características histopatológicas para serem avaliadas: - Disceratoses (alterações de queratinização): espessamento da camada córnea (hiperceratose) com queratinócitos normais (ortoceratose) alternando com a presença de núcleos nas células dessa camada. Estas alterações foram observadas em 46 pacientes (96%) no presente estudo. A hiperplasia definida como aumento global de queratinócitos com espessamento do epitélio, ocorreu em 85% dos casos analisados. A displasia (leve, moderada ou severa) representada pela presença de núcleos celulares aumentados de tamanho, irregulares e hiper cromáticos, com eventual presença de mitoses atípicas e perda da polaridade celular foi observada em 27 pacientes (57%) do nosso estudo.

A intensidade das alterações histopatológicas nas QA parece determinar uma associação direta com a severidade da doença e seu potencial de malignização, já que estes achados histopatológicos também são comuns aos carcinomas invasores do lábio (Kutcher, 2004; Kornevs *et al.*, 2007). A presença de disceratose pode significar um dano inicial na camada basal e a continuidade da exposição solar causa as alterações nas outras camadas do epitélio. No presente estudo, a maioria dos casos apresentou alterações disceratóticas, hiperplásicas e com algum grau de displasia, condizente com o modelo proposto.

Confrontamos os dados obtidos pela histopatologia com os três sinais clínicos mais freqüentes neste estudo. Observamos que nos casos de perda da definição do vermelhão do lábio, de descamação e de atrofia, houve uma maior incidência de alterações disceratóticas e hiperplasia epitelial, bem como maior incidência de displasia. Apesar de não serem estatisticamente

significantes, os dados demonstram uma tendência das lesões que apresentam os três sinais clínicos mais frequentes apresentarem também alterações histopatológicas características da QA.

Segundo [Sciubba](#) (2001), o fator preditivo histopatológico mais importante para transformação maligna de lesões labiais é a severidade da displasia epitelial. Então quais são as alterações moleculares que acontecem nas lesões pré-malignas que ainda não podem ser visualizadas morfológicamente, mas que provocam a lenta e gradual evolução destas para o CEC do lábio? Um importante marcador da transformação neoplásica investigado em várias lesões é a imunodeteccão da proteína p53, que se encontra alterada em grande parcela dos tumores humanos, numa taxa que varia de 34% a 100% dos casos (Leung *et al.*, 1996), refletindo a presença de mutações no gene TP53. O gene TP53 encontra-se mutado e o seu produto protéico, uma vez alterado, apresenta maior estabilidade, possibilitando sua detecção por métodos de imunohistoquímica. A imunodeteccão de p53 em células tumorais varia muito, devido às diferenças no processamento dos espécimes tumorais e das variações nos métodos utilizados, tornando difícil a comparação entre os diferentes estudos (Strimpakos *et al.*, 2008). Nesta série, todas as peças sofreram o mesmo processamento padronizado pelo Laboratório de Imunohistoquímica do Departamento de Patologia do Hospital Araújo Jorge da ACCG, conforme protocolo descrito anteriormente.

O gene TP53 é um gene supressor de tumor localizado no braço curto do cromossoma 17. Ele codifica uma fosfoproteína de 53-kDa com vida média de 15 minutos, que bloqueia a progressão do ciclo celular para permitir o reparo de DNA danificado e/ou induzir a apoptose. Muitas mutações da região codificante do gene TP53 produzem uma proteína funcionalmente inativa com uma vida média significativamente mais prolongada, podendo ser mais facilmente detectada por métodos de imunohistoquímica ([Sutcliffe & Brehm](#), 2004). Desta forma, a imunodeteccão positiva para a proteína p53 pode ser um indicativo de mutação deste gene, e estas anormalidades representam os eventos iniciais no processo de carcinogênese. Crosthwaite

et al., (1996) estudaram a imunodeteccção de p53 em lesões malignas (carcinomas), pré malignas (QA) e benignas do lábio e concluíram que a imunodeteccção aberrante da proteína p53 é um evento inicial na patogênese do câncer labial.

Radiações ultravioleta (RUV) são conhecidas por suas propriedades imunossupressoras e têm um papel central no dano cutâneo e na fotocarcinogênese (Beissert *et al.*, 2008). As RUV induzem o aparecimento de células danificadas (*sunburn cells*) que são células apoptóticas, com imunodeteccção aumentada de proteínas pró-apoptóticas, como p53 e bax, e diminuição da imunodeteccção das proteínas anti-apoptóticas como bcl-2. A imunodeteccção de p53 está aumentada significativamente na QA quando comparada ao lábio normal e à mucosa oral normal. Isto pode ser devido à intensidade do dano causado ao DNA pela exposição solar (D'Errico *et al.*, 2007; Jinlian *et al.*, 2007; Beissert *et al.*, 2008).

As células expressando a proteína p53 alterada não sofrem bloqueio no ponto de checagem G1/S do ciclo celular, são deficientes no reparo e resistentes à apoptose (Sigal & Rotter, 2000). Este mecanismo parece permitir que fatores oncogênicos atuem favorecendo a transformação neoplásica. A imunodeteccção da proteína p53 em lesões cancerizáveis sugere sua participação nos eventos precoces da tumorigênese e sua relação com o aumento do grau de displasia e a perda de diferenciação em lesões precursoras. Estes achados indicam que a imunodeteccção da proteína p53 pode servir como indicador de desenvolvimento de malignidade (Rossi, 1999; Joerger & Fersht, 2008).

Neste estudo, observamos a imunodeteccção da proteína p53 de forma difusa e mais intensa no núcleo das células da camada basal em 35 casos (73%) e na camada suprabasal de 8 casos (17%). Martinez *et al.*, (2005) observaram dados similares, com uma marcação positiva para p53 em 100% dos núcleos de células da camada basal e em 30% da camada suprabasal.

Ao compararmos os resultados obtidos na imunodeteccção de p53 nas camadas basal com os dados clínicos obtidos, não observamos associações significativas. Porém, quando comparamos a positividade difusa e intensa de

p53 na camada suprabasal com os dados da histopatologia, encontramos uma associação estatisticamente significativa entre a imunodeteção e a presença de displasia no epitélio ($p < 0,05$). Esta relação já foi observada por Cruz *et al.*, (1998), que propuseram uma maior atenção à área do epitélio em que se concentra a imunodeteção de p53, ao invés de se focar apenas na positividade da marcação. Cruz *et al.* (2002) atestam que a combinação do grau de displasia com o padrão da imunodeteção de p53 na camada suprabasal mostrou o maior grau de sensibilidade (91%) e o maior valor preditivo negativo (92%) para desenvolvimento do carcinoma do lábio.

A camada basal é composta por uma única camada de queratinócitos justapostos, a maioria deles com capacidade de multiplicação (células germinativas). A divisão destas células, também denominadas de células de amplificação transitória, dará origem a duas novas células com características diferentes: uma nova célula de amplificação transitória que permanecerá na camada basal e outra, denominada de célula pós-mitótica ou diferenciada que perde a capacidade de mitose e inicia o processo de diferenciação ceratinocítica e migração para a superfície (Di Fiore, 1991; Irwin *et al.*, 2003). Assumindo que o papel protetor de p53 é exercido somente durante o ciclo celular, como descrito anteriormente, e que o compartimento proliferativo do epitélio é a camada basal, podemos concluir que a imunodeteção de p53 concentrada nesta camada traduza efeitos de reparo e proteção celular contra os danos causados pelas radiações ultravioleta. Com base nestes dados, analisamos quantitativamente as células da camada basal e suprabasal e encontramos que, em média, 74% das células da camada basal apresentaram imunodeteção positiva de p53 e que apenas 26% das células da camada suprabasal tiveram o mesmo padrão de imunodeteção. Desta forma, a imunodeteção da proteína p53 nas camadas acima da basal (suprabasal) parece refletir o processo irreversível de carcinogênese e indicar um maior risco de malignização nestes casos. Por outro lado, o fato de p53 ser imunodetectada nas células basais em maior quantidade e intensidade do que nas células mais

diferenciadas da camada suprabasal sugere que p53 esteja agindo na prevenção da carcinogênese inicial. Em células normais não submetidas ao estresse, a meia vida da proteína p53 é curta, de maneira que suas concentrações sejam mantidas baixas, frequentemente em níveis indetectáveis na célula. A regulação da concentração da proteína p53 é necessária para o crescimento e desenvolvimento celular. Na ausência de sinais indutores de estresse, os baixos níveis de p53 são mantidos por meio da interação com a proteína MDM2, uma ubiquitina-ligase. MDM2 atua ligando-se à porção N-terminal de p53, mas transfere unidades de ubiquitina para sítios específicos localizados na porção C-terminal da proteína p53. A proteína p53 ubiquitinada é subsequentemente exportada do núcleo e degradada via proteossoma. Entretanto, a imunodeteção do MDM2 está sob o controle da p53, assim, esta alça de feedback negativo funciona como um meio de manter os níveis de p53 baixos em células não submetidas ao estresse e reduzir os níveis de p53 em células com estresse, quando o dano for reparado (Rosa *et al.*, 1999; Sigal, 2000; Santos, 2003; Rojas *et al.*, 2004, Martinez *et al.*, 2008). Uma via de degradação independente de proteossoma também foi descrita em células humanas, envolvendo calpaínas, uma família de ubiquitina-cisteína-proteases que também degradam p53 e esta via pode induzir a apoptose em algumas circunstâncias (Batinac, 2006).

Em resposta aos sinais de estresse celular, p53 é ativada e o aumento da atividade é acompanhado de aumento da estabilidade da proteína. Como a interação p53/MDM2 é importante para a manutenção de baixas concentrações de p53, os níveis de MDM2 são também críticos para os níveis de p53. Assim, diversas vias que ativam p53 influenciam a interação p53/MDM2. Por exemplo, sob estresse celular, várias cinases intranucleares são ativadas. Tais cinases fosforilam tanto p53 quanto MDM2 e esta fosforilação diminui a afinidade entre ambas, impedindo a ubiquitinação e resultando em aumento da estabilidade de p53. Além da fosforilação, existem outros mecanismos que resultam na estabilização da proteína p53. Por

exemplo, em resposta ao dano causado ao DNA, c-Abl pode ligar e estabilizar p53. Essa associação não impede que MDM2 se ligue à p53, mas previne a ubiquitinação de p53 por MDM2 (Lane & Fischer, 2004; [Lane](#), 2005; Levine *et al.*, 2006).

A observação de que mutações no gene podem produzir uma proteína mais estável estimularam vários grupos a utilizar a imuno-histoquímica para detectar a proteína p53 mutada (Rosa *et al.*, 1999). Outras técnicas são usadas para detectar perdas alélicas no locus TP53 e alterações citogenéticas no cromossoma 17p ([Lane](#), 2005). Neste estudo, utilizando a técnica da imuno-histoquímica com o anticorpo monoclonal DO-7, pudemos extratificar o grupo com mais de 70% das células coradas positivamente para p53 nas camadas basal e suprabasal. Mais uma vez, os resultados demonstraram uma maior imunodeteção de p53 na camada basal (68% dos casos marcados em mais de 70% das células), e apenas cinco casos (10%) marcados na camada suprabasal. Nestes casos, observamos a presença de dois dos sinais clínicos mais freqüentes, a perda da definição do vermelhão do lábio e a descamação, em todos os cinco casos. Este dado reforça a necessidade de uma observação mais cautelosa pelos médicos dos sinais clínicos de QA, já que 72% dos pacientes com estes sinais eram assintomáticos, e a indicação de biópsia para avaliação dos casos de QA, pois estes dois sinais clínicos também se apresentavam em 75% de todos os casos.

7 - Conclusões

- (1) Todos os 48 pacientes deste estudo apresentavam o tipo cutâneo branco, sendo 31 pacientes (65%) do sexo masculino e 17 (35%) do sexo feminino.
- (2) A idade dos pacientes variou entre 32 e 79 anos, com mediana de 59,2 anos e houve discreto predomínio de pacientes com idades acima de 60 anos.
- (3) 21 pacientes (44%) apresentavam história pregressa de câncer de pele do tipo não melanoma, em algum outro sítio corporal.
- (4) 25 pacientes eram tabagistas (52%) e apenas três pacientes (6%) eram etilistas.
- (5) 41 pacientes (85%) não apresentavam queixas específicas relacionadas à QA.
- (6) Os sinais clínicos mais freqüentes foram perda do vermelhão do lábio, em 36 pacientes (75%), seguida pela descamação em 34 pacientes (71%) e a atrofia em 32 pacientes (67%).
- (7) A hiperplasia epitelial foi observada em 41 casos (85%) e 27 casos (57%) apresentavam algum grau de displasia ao exame histopatológico, com predomínio de displasia leve (40%).
- (8) Em todos os 48 casos (100%) de QA, foi possível identificar alguma positividade para a imunodeteção da proteína p53.
- (9) Nas células da camada basal, a imunodeteção da proteína p53 de forma difusa foi verificada em 35 casos (73%) e focal em 12 casos (25%). Na camada suprabasal, oito casos (17%) apresentaram marcação difusa de p53 e 35 casos (73%) apresentaram marcação focal.
- (10) Na camada suprabasal, oito pacientes tiveram a imunodeteção positiva e difusa de p53, sendo que os oito casos (100%) apresentavam displasia do epitélio em algum grau ($p < 0,005$).

- (11) Na camada basal, a imunodeteccção de p53 foi positiva em 25 (71%) dos 35 pacientes que apresentavam o sinal clínico de perda da definição do vermelhão do lábio; em 25 (76%) dos 33 que apresentavam descamação e em 25 (81%) dos 31 que apresentavam atrofia.
- (12) Na camada suprabasal, a imunodeteccção de p53 foi positiva em cinco (16%) dos 31 pacientes que apresentavam o sinal clínico de perda da definição do vermelhão do lábio; em seis (21%) dos 29 que apresentavam descamação e em cinco (17%) dos 29 que apresentavam atrofia.
- (13) A imunodeteccção positiva da proteína p53 foi observada numa média de 74% das células na camada basal e de 26% das células na camada suprabasal.

8 – Recomendações futuras

- 1- Enfatizar a necessidade de melhor observação dos clínicos para os sinais mais freqüentes da QA, incluindo a perda de definição do vermelhão do lábio, descamação crônica labial e aspecto de “papel de seda” do vermelhão (atrofia).
- 2- Destacar a indicação de biópsia para o diagnóstico acurado das QA, visto ser procedimento com morbidade nula e que traz valiosas informações para a conduta clínica do caso.
- 3- Sugerir uma maior atenção à área do epitélio em que se concentra a imunodeteção de p53, ao invés de se focar apenas na positividade da marcação.
- 4- Uma vez que a marcação positiva e difusa de p53 na camada suprabasal correlaciona-se positivamente com a presença de displasia epitelial, enfatizar este tipo de marcação, visto que a displasia é o fator prognóstico mais importante para a QA.
- 5- Novas séries com maior número de sujeitos são necessárias para melhor elucidação de fatores prognósticos da QA.
- 6- O seguimento dos pacientes por um período mais longo é essencial para a validação dos fatores prognósticos da QA.

9 – Referências bibliográficas

1. Cataldo E, Doku HC, Solar cheilitis. *J Dermatol Surg Oncol*, 1981;7(12):989-95.
2. Huber MA, Terezhalmay GT. The patient with actinic cheilosis. *Gen Dent*, 2006; 12: 274-282.
3. Agar NS, Halliday GM, Barnetson RS, Ananthaswamy HN, Wheeler M, Jones AM. The basal layer in human squamous tumors harbors more UVA than UVB fingerprint mutations: A role for UVA in human skin carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004; April 6; 101(14): 4954–4959.
4. Campbell C, Quinn AG, Ro YS, Angus B, Rees JL. P53 mutations are common and esaly events that precede tumor invasion in squamous cell neoplasia of the skin. *J Invest Dermatol*, 1993,100(6)746-748.
5. Ayers Jr S, Crhonic actinic cheilitis. *JAMA*, 1923; 81(14):1183-1186.
6. Nicolau SG, Balus L, Chronic cheilitis and cancer of the lower lip. *Br J Dermatol*, 1964; 76(2): 278-289.
7. Koten JW, Verhagen ARHB, Frank GL. Histopathology of actinic cheilitis. *Dermatológica*, 1967; 135 (6): 465-471.
8. [Payne TF](#). The lip--protect or neglect? *Mil Med*, 1976;141(10):713-5
9. [Shafer WG](#). Oral carcinoma in situ. *Oral Surg Oral Méd Oral Pathol*, 1975;39(2) : 227-238.
10. Pindborg J. Oral cancer and precancer as diseases of the aged. *Community Dent Oral Epidemiol*, 1978; 6(6):300-307.
11. Main JHP, Pavone M. Actinic cheilitis and carcinoma of the lip. *Journal* 1994; 60(2):113-116.
12. Jorge Jr. J, Almeida OP, Bozzo L, Scully C, Graner E. Oral mucosal health and disease in institutionalized elderly in brazil. *Community Dent Oral Epidemiol*, 1991; 19(3): 173-175.

13. Lookingbill DP, Lookingbill GL. Actinic damage and skin cancer in albinos in northern Tanzania: Findings in 164 patients enrolled in a outreach skin care program. *J Am Acad Dermatol*, 1995; 32:653-658.
14. Aguiar SM. Contribuição ao estudo da queilite actínica: Correlação anátomo-clínica. São Paulo, 1995; 132p. Tese (doutorado em dermatologia) FMUSP.
15. Wurman LH, Adams GL, Meyerhoff WL. Carcinoma of the lip. *Am J Surg*, 1975; 130(4):470-474.
16. Warnock GR, Fuller Jr. RP, Pelleu Jr. GB. Evaluation of 5-fluoracil in the treatment of the actinic keratosis of the lip. *Oral Surg*, 1981;7(6):501-505.
17. Koopmann Jr. CF, Coulthard SW. The oral cavity and aging. *Otolaryngol Clin North Am*, 1982; 210(13):2377-2380.
18. Stanley RJ, Roenigk RK. Actinic cheilitis: treatment with the carbon dioxide laser. *Mayo Clin Proc*, 1988; 63(3):230-235.
19. Anderson DL. Cause and prevention of lip cancer. *J Canad Dent Assoc*, 1971; 37(4):138-142.
20. Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nature*, 2003; 3: 733 - 744.
21. [Campisi G](#), [Margiotta V](#). Oral mucosal lesions and risk habits among men in an Italian study population. *J Oral Pathol Méd*, 2002 ;31(8):22-28.
22. Brasil. Ministério da Saúde. Registro Nacional de Patologia Tumoral. Diagnóstico do cancer. Rio de Janeiro: INCa. 2003
23. Registro de Câncer de Base Populacional. Associação de Combate ao Câncer em Goiás. Hospital Araújo Jorge. Goiânia. Goiás. 2003.
24. Di Fiore, MSH; *Atals de histologia*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 230p.
25. [Picascia DD](#), [Robinson JK](#). Actinic cheilitis: a review of the etiology, differential diagnosis, and treatment. *J Am Acad Dermatol*, 1987 ;17(2 Pt 1):255-64.

26. Kaugars GE, Pillion T, Svirsky JA, Page DG, Burns JC, Abbey LM. Actinic cheilitis: A review of 152 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1999; 88: 181-186.
27. Dufresne RG, Curlin UM, Actinic cheilitis: A treatment review. *Dermatol Surg*, 1997; 23:15-21.
28. Padilla HC. Queilitis por fotosensibilidad. *Med Cutan Ibero Lat Am*, 1975; 2(3): 93-102.
29. Robinson JK. Actinic cheilitis: a prospective study comparing four treatment methods. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1989; 115(7) 848-852.
30. [Kutcher MJ, Rubenstein D](#), Fifteen inches from cancer: early recognition of facial lesions by the dentist. *Compend Contin Educ Dent*, 2004 ;25(12):939-42.
31. [Kornevs E, Skagers A, Tars J, Bigestans A, Lauskis G, Libermanis O](#). 5 year experience with lower lip cancer. *Stomatologija*, 2005;7(3):95-8.
32. Maino FOR, Ramseyer RM, Marmol JJ. Importancia del tratamiento precoz de las queilitis cronicas. *Rev Assoc Odontol Argent*, 1973; 61(6) : 223-226.
33. Bentley JM, Barankin B, Lauzon GJ, Paying more than lip service to lip lesions. *Can Fam Physician*, 2003 ; 49: 1111–1116.
34. Cavalcante AS, Anbinder AL, Carvalho YR. Actinic cheilitis: clinical and histological features. *J Oral Maxillofac Surg*, 2008;66(3):498-503.
35. Girard KR, Hoffman BL. Actinic cheilitis: a report of a case. *Oral Surg*, 1980; 50(1):21-24.
36. Shklar G. Modern studies and concepts of leukoplakia in the mouth. *J Dermatol Surg Oncol*, 1981; 7(12):996-1003.
37. Suárez B, López-Abente G, Martínez C, Navarro C, Tormo MJ, Rosso S, Schraub S, Gafà L, Garnier S, Wechsler J, Zanetti R. Occupation and skin cancer: the results of the HELIOS-I multicenter case-control study. *BMC Public Health*, 2007; 7: 180. Published online 2007 July 26.

38. Martinez A, Brethauer U, Rojas G, Spencer M, Mucientes F, Borlando J, Rudolph MI. Expression of apoptotic and cell proliferation regulatory proteins in actinic cheilitis. *J Oral Pathol Med*, 2005; 34: 257-62.
39. Satorres M, Gargallo J, Gay C. Surgical management of actinic cheilitis. *Medicina Oral*, 2001; 6:205-17.
40. Pimentel DRN, Michalany N, Alchorne M, Abreu M, Borra RC, Weckx L. Actinic cheilitis: Histopathology and p53 *J Cut Pathol*, 2006; 33:539-544.
41. [Menta S](#); [Nico M](#); [Rivitti EA](#); [Lourenço SV](#); Actinic cheilitis: histologic study of the entire vermilion and comparison with previous biopsy. *J Cutan Pathol*. 2007; 34(4):309-14.
42. [Sciubba JJ](#). Oral cancer. The importance of early diagnosis and treatment. *Am J Clin Dermatol*, 2001; 2: 239-51.
43. Silva RLA. Oncogenes e Genes Supressores Tumorais. In: *Oncologia Molecular*. São Paulo: Atheneu 2004; p. 29 - 42.
44. Rossi, BM. *Genética e biologia molecular para o cirurgião*. São Paulo: Lemar, 1999.
45. [Li W](#), [Sanki A](#), [Karim RZ](#), [Thompson JF](#), [Soon Lee C](#), [Zhuang L](#), [McCarthy SW](#), [Scolyer RA](#). The role of cell cycle regulatory proteins in the pathogenesis of melanoma. *Pathology*, 2006 ;38(4):287-301.
46. [Armitage P](#), [Doll R](#). A two-stage theory of carcinogenesis in relation to the age distribution of human cancer. *Br J Cancer*, 1957 ;11(2):161-9.
47. [Foulds L](#), Tumor progression. *Cancer Res*. 1957;17(5):355-6.
48. [Franco R](#); [Schoneveld O](#); [Georgakilas AG](#); [Panayiotidis MI](#); Oxidative stress, DNA methylation and carcinogenesis. *Cancer Lett*. 2008 25.
49. [Han J](#); [Cox DG](#); [Colditz GA](#); [Hunter DJ](#); The p53 codon 72 polymorphism, sunburns, and risk of skin cancer in US Caucasian women. *Mol Carcinog*. 2006 Sep;45(9):694-700.

50. [Rajaraman R; Guernsey DL; Rajaraman MM; Rajaraman SR](#); Stem cells, senescence, neosis and self-renewal in cancer. *Cancer Cell Int.* 2006 8;6:25.
51. [Hirota SK; Braga FP; Penha SS; Sugaya NN; Migliari DA](#); Risk factors for oral squamous cell carcinoma in young and older Brazilian patients: a comparative analysis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2008 Apr 1;13(4):E227-31.
52. [Bilodeau MT](#); Angiogenesis inhibitors--a review of the recent patent literature. *IDrugs.* 2001 May;4(5):561-72.
53. [Lane DP](#); Exploiting the p53 pathway for the diagnosis and therapy of human cancer. [Cold Spring Harb Symp Quant Biol.](#) 2005;70:489-97.
54. Lane DP; Fischer PM; Turning the key on p53. *Nature* 2004;427, 789-790.
55. Levine AJ ; Hu W ; Feng Z ; The p53 pathway : What questions remain to be explored ? *Cell Death and Differentiation.* 2006 ;13 : 1027-1036.
56. [Jacks T](#); Modeling cancer in the mouse. *Harvey Lect.* 2005-2006;101:1-19.
57. [Sutcliffe JE](#); [Brehm A](#); Of flies and men; p53, a tumour suppressor. [FEBS Lett.](#) 2004; 1;567(1):86-91.
58. [Fitzgerald DA](#); Cancer precursors. *Semin Cutan Med Surg.* 1998 ;17(2):108-13.
59. [dos Santos JN; de Sousa SO; Nunes FD; Sotto MN; de Araújo VC](#); Altered cytokeratin expression in actinic cheilitis. *J Cutan Pathol.* 2003 ;30(4):237-41.
60. Warnakulasuriya KAASS; Jhonson NW; Association of overexpression of p53 oncoprotein with state of cell proliferation in oral carcinoma. *J Oral Pathol Méd.* 1994; 23(3):246-250.
61. [Cruz IB; Snijders PJ; Meijer CJ; Braakhuis BJ; Snow GB; Walboomers JM; van der Waal I](#); p53 expression above the basal cell layer in oral mucosa is an early event of malignant transformation and has predictive value for developing oral squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 1998 ;184(4):360-8.

62. [Cruz I](#) ; [Napier SS](#) ; [van der Waal I](#) ; [Snijders PJ](#) ; [Walboomers JM](#) , [Lamey PJ](#) , [Cowan CG](#) , [Gregg TA](#) , [Maxwell P](#) , [Meijer CJ](#) .
Suprabasal p53 immunoexpression is strongly associated with high grade dysplasia and risk for malignant transformation in potentially malignant oral lesions from Northern Ireland. [J Clin Pathol](#), 2002; 55(2):98-104.
63. [Jinlian L](#), [Yingbin Z](#), [Chunbo W](#). p38 MAPK in regulating cellular responses to ultraviolet radiation. [J Biomed Sci](#), 2007 ;14(3):303-12.
64. [Dardalhon D](#), [Angelin AR](#), [Baldacci G](#), [Sage E](#), [Francesconi S](#).
Unconventional effects of UVA radiation on cell cycle progression in *S. pombe*. [Cell Cycle](#), 2008 ;7(5):611-22.
65. [Silva AA](#), [Gabrich LL](#). Seasonal erythemal UV doses in Belo Horizonte, Brazil. [Photochem Photobiol](#), 2007;83(5):1197-204.
66. Irwin M et al (eds.). Fitzpatrick's Dermatology in general medicine. *McGraw-Hill*. 6^a ed. 2003, pag. 1573.
67. [Placzek M](#), [Przybilla B](#), [Kerkmann U](#), [Gaube S](#), [Gilbertz KP](#). Effect of ultraviolet (UV) A, UVB or ionizing radiation on the cell cycle of human melanoma cells. [Br J Dermatol](#), 2007;156(5):843-7.
68. [Kaskel P](#), [Sander S](#), [Kron M](#), [Kind P](#), [Peter RU](#), [Krähn G](#). Outdoor activities in childhood: a protective factor for cutaneous melanoma? Results of a case-control study in 271 matched pairs. [Br J Dermatol](#), 2001 ;145(4):602-9.
69. [Walther U](#), [Kron M](#), [Sander S](#), [Sebastian G](#), [Sander R](#), [Peter RU](#), [Meurer M](#), [Krähn G](#), [Kaskel P](#). Risk and protective factors for sporadic basal cell carcinoma: results of a two-centre case-control study in southern Germany. Clinical actinic elastosis may be a protective factor. [Br J Dermatol](#), 2004 ;151(1):170-8.
70. [Baker SR](#). Risk factors in multiple carcinomas of the lip. [Otolaryngol Head Neck Surg](#), 1980 ;88(3):248-51.
71. [Makrantonaki E](#), [Zouboulis CC](#). Molecular mechanisms of skin aging: state of the art. [Ann N Y Acad Sci](#), 2007 ;1119:40-50.

72. [Baumann L](#). Skin ageing and its treatment. *J Pathol*, 2007; 211(2):241-51.
73. [Smith KJ, Germain M, Yeager J, Skelton H](#). Topical 5% imiquimod for the therapy of actinic cheilitis. *J Am Acad Dermatol*, 2002 ;47(4):497-501.
74. Ochsenius G, Ormeno A, Godoy L, Rojas R. Estudio retrospectivo de 232 casos de cáncer y pré-cáncer de labio en pacientes chilenos. Correlación clínico-histopatológica. *Rev Med Chile*, 2003; 131:60-66.
75. [Markopoulos A, Albanidou-Farmaki E, Kayavis I](#). Actinic cheilitis: clinical and pathologic characteristics in 65 cases. *Oral Dis*, 2004 ;10(4):212-6.
76. [Martínez A, Brethauer U, Borlando J, Spencer ML, Rojas IG](#). Epithelial expression of p53, mdm-2 and p21 in normal lip and actinic cheilitis. *Oral Oncol*, 2008 ;28.
77. [Sober AJ, Burstein JM](#). Precursors to skin cancer. *Cancer*. 1995 15;75(2 Suppl):645-50.
78. [Ulrich C, Forschner T, Ulrich M, Stockfleth E, Sterry W, Termeer C](#). Management of actinic cheilitis using diclofenac 3% gel: a report of six cases. *Br J Dermatol*, 2007 ;156 Suppl 3:43-6.
79. [Orenstein A, Goldan O, Weissman O, Winkler E, Haik J](#). A new modality in the treatment of actinic cheilitis using the Er:YAG laser. *J Cosmet Laser Ther*, 2007 ;9(1):23-5.
80. [Leung KW, Pedlar J, High AS](#). Decreasing p53 overexpression in sequential, recurrent, oral squamous cell carcinomas. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 1996 ;34(3):225-9.
81. [Strimpakos AS, Sharma RA](#). Curcumin: preventive and therapeutic properties in laboratory studies and clinical trials. *Antioxid Redox Signal*, 2008 ;10(3):511-45.
82. Crosthwaite N, Taele D, Franklin C, Foster GA, Stringer BMJ. P53 protein expression in malignant, pre-malignant and non-malignant lesions of the lip. *J Clin Pathol*, 1996; 49:648-653.

83. [Beissert S, Loser K](#). Molecular and cellular mechanisms of photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol*, 2008; 84(1):29-34.
84. [D'Errico M, Lemma T, Calcagnile A, Proietti De Santis L, Dogliotti E](#). Cell type and DNA damage specific response of human skin cells to environmental agents. *Mutat Res*, 2007 3; 614(1-2):37-47.
85. [Joerger AC, Fersht AR](#). Structural Biology of the Tumor Suppressor p53. *Annu Rev Biochem*, 2008; 14.
86. Rosa I, Staibano S, Lo Muzio L, Delfino M, Lucariello A, Coppola A, de Rosa G, Scully C. Potentially malignant and malignant lesions of the lip. Role of Staining of silver nucleolar organizer regions, proliferation cell nuclear antigen, p53 and c-myc in differentiation and prognosis. *J Oral Pathol Méd*, 1999; 28 (6):252-258.
87. Sigal A, Rotter V. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. *Cancer Research*, 2000; 60:6788 - 6793 .
88. Rojas IG Martinez A, Pineda A, Spencer ML, Jimenez M, Rudolph MI. Increased mast cell density and protease content in actinic cheilitis. *J Oral Pathol Med*, 2004;33:567-73.
89. [Batinac T, Zamolo G, Coklo M, Hadzisejdic I, Stemberger C, Zauhar G](#). Expression of cell cycle and apoptosis regulatory proteins in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. *Pathol Res Pract*, 2006; 202(8):599-607.

10 - Anexos

10.1 - Anexo 1 : Ficha de coleta de dados clinicopatológicos de queilites actínicas – Sistema de Prevenção - ACCG

Tipo> 1 2
Convênio: Particular SUS UPREV EXT
Nome _____

Registro (prontuário): _____ sexo: M
F

Nascimento: ___/___/___ Idade: _____ Naturalidade: _____

Endereço
residencial: _____ Estado: _____

Raça/cor: B (I) (II) (III) (IV) (V) N

Telefone: _____

Nome Mãe: _____

HDA:

Moléstias pré-existent: sim não

Qual: _____

TTO atual: sim não

Qual: _____

CA pele: sim não CBC CEC MEL

Outro

Localização: MMSS MMII TX ant TX post

Face

Quantidade lesões: _____

CA pele família: sim não

Qual: _____

Tabagista: sim não _____ cigarros ;dia há _____ anos

Etilista: sim não _____ doses;dia há _____ anos

Uso de FPS: sim regularmente sim irregularmente

não

Uso de FPS labial: sim regularmente sim irregularmente

não

Uso de: Chapéu Boné manga comprida outros

Sintomas

Início: ____ dias ____ meses ____ anos

Tipo: _____

Já fez TTO: sim não Qual: _____ resposta: sim total sim parcial não

BX prévia: sim não Quando: _____ AP: _____

Exame Físico

Lesão: _____

Linfonodos Cervicais: sem linfonodos linfonodos Nível ____ dir
esq

Mucosa Oral: sem lesões lesão

dentes: preservados total preservados parcial não preservados
prótese

Biópsia:

(1ª.) Data : ____ / ____ / ____

Procedimento:

Bx incisional em cunha do lábio sem intercorrencias
outros _____

local 1.3 medio esq 1.3 medio dir centro outro

material: xilocaina 2% local catgut 4X0 cromado

AP no. _____ Queilite actínica _____

IHQ no. _____

Retornos:

1º retorno ____ PO data _____ Início TTO sim
não

Evolução: sem intercorrencias intercorrencias

FO: ptos sim não

Local: _____

Sintomas: _____

Linfonodos cervicais:

2º retorno ____ PO data _____ Início TTO sim
não

Evolução: sem intercorrencias intercorrencias

FO: ptos sim não

Local: _____

Sintomas: _____

Linfonodos cervicais:

10.2 - Anexo 2 : Termo de consentimento livre e esclarecido

Você esta sendo convidado(a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa médica científica que tem como título **Avaliação clínica, histopatológica e imuno-histoquímica da queilite actínica**. Após ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir e no caso de aceitar fazer parte deste estudo, você deverá assinar o termo de consentimento informado, no final deste documento. Você assinará em duas vias, sendo uma para você e outra para o pesquisador responsável por este estudo, Dr. Hilton Rinaldo Salles Piccelli, médico cirurgião oncologista do Sistema de Prevenção da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (ACCG). Em caso de dúvida sobre a pesquisa você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável pelos telefones (62) 3281 81 21, 3269 33 00 e 9292 27 39, e em caso de duvida sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o comitê de ética em pesquisa no telefone (62) 3243 70 50.

A queilite actínica é uma lesão que pode desenvolver um tipo de câncer do lábio inferior (carcinoma espinocelular), causando assim grande incomodo e risco para você. O tratamento desta lesão pode impedir esta progressão, e é com base nestes dados que propomos o presente estudo. Programas similares já foram realizados em outros centros especializados na avaliação e tratamento de alguns tipos de câncer de pele e lesões pré-cancerosas como as ceratoses e queilites actínicas.

Após uma consulta de triagem com o Dr. Hilton Piccelli, no ambulatório do Sistema de Prevenção ao Câncer, e em caso de aceitação de sua parte, você será submetido a uma biópsia do lábio inferior, quando será retirado um pequeno pedaço da lesão para análise no laboratório de patologia da Associação de Combate ao Câncer em Goiás. Esta cirurgia será realizada em nível ambulatorial (não precisa de internação) com anestesia local, é praticamente indolor e com riscos mínimos para seu caso.

Após o resultado da biópsia você será convocado para um retorno em consulta.

Você será acompanhado trimestralmente por dois (02) anos, estando o Dr. Hilton Piccelli a sua disposição para esclarecimentos durante todo o tempo. Todas as despesas decorrentes de seu tratamento, desde deslocamentos até consultas e exames, serão cobertas pela verba de pesquisa, sob responsabilidade do pesquisador.

Esclareço que a qualquer momento você poderá se retirar do grupo de pesquisa, sem prejuízo para seu acompanhamento, e que pela legislação brasileira você não pode receber nenhuma forma de gratificação financeira pela sua participação neste estudo, porém lhe fica assegurado o direito de requerer indenização caso se sinta prejudicado de alguma forma pelo tratamento recebido. Alerto ainda que a sua identidade e os dados referentes a esta pesquisa permanecerão em absoluto sigilo, sob guarda do

pesquisador, para uso exclusivo nesta pesquisa, e para qualquer outro uso você deverá ser consultado por escrito.

_____ Dr. Hilton Rinaldo Salles Piccelli

Eu, _____,
RG _____, cadastrado no prontuário No. _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo **Avaliação clínica, histopatológica e imuno-histoquímica da queilite actínica**, sob responsabilidade do Dr. Hilton Rinaldo Salles Piccelli, como sujeito voluntário. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador sobre os procedimentos nela envolvidos, bem como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu tratamento e acompanhamento.

Goiânia, ____ de _____ de 2007

Nome:

Assinatura: _____

Hilton Rinaldo Salles Piccelli: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento e esclarecimento sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar.

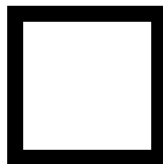
Nome:

Assinatura: _____

Nome:

Assinatura: _____

Assinatura Dactiloscópica:



10.3 - Anexo 3: Ficha de avaliação histopatológica e imuno-histoquímica dos espécimens de biópsia de queilite actínica

Paciente: _____

AP número: _____ Data: ___/___/___

IHQ número: _____ Data: ___/___/___

A - Avaliação da mucosa:

1 – Queratose

() – Normal () – Hiperkeratose () – Ortokeratose () – Parakeratose () – Ausente

2 – Tipo de epitélio

() – Normal () – Atrófico () – Hiperplásico () – Ulcerado

3 – Tipo de crescimento

() – Cristas afiladas () – Cristas rombóides () – Difuso (sem cristas)

4 – Displasia

() – Ausente () – Leve () – Moderada () – Intensa

B – Avaliação da sub-mucosa:

1 – Elastose

() – Presente () – Ausente

2 – Infiltrado

() – Mononuclear () – PMN

() – Localizado () – Difuso

() – Leve () – Moderado () – Intenso

C- Análise descritiva da marcação de p53:

() – Camada Basal () – Focal () – Difusa

() – Camada Suprabasal () – Focal () – Difusa

D – Análise quantitativa da marcação de p53

() – Camada Basal células marcadas: _____ células avaliadas: _____

() – Camada Suprabasal células marcadas: _____ células avaliadas: _____

**10.4 – Anexo 4 – Protocolo do Comitê de Ética em Pesquisa da
Associação de Combate ao Câncer em Goiás – CEP – ACCG**