

CLAUDIA FABIANA JOCA DE ARRUDA

**Avaliação das variações de espessura de epitélio em queilite actínica
comparadas ao grau de displasia epitelial e à expressão imuno-histoquímica
da proteína p53 mutada**

São Paulo

2013

CLAUDIA FABIANA JOCA DE ARRUDA

**Avaliação das variações de espessura de epitélio em queilite actínica
comparadas ao grau de displasia epitelial e à expressão imuno-histoquímica
da proteína p53 mutada**

Versão Corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Patologia Bucal.

Orientadora: Profa. Dra. Marília Trierveiler Martins

São Paulo

2013

Arruda CFJ. Avaliação das variações de espessura de epitélio em queilite actínica comparadas ao grau de displasia epitelial e à expressão imuno-histoquímica da proteína p53 mutada. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Patologia Bucal.

Aprovado em: / /2013

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

*Dedico este trabalho às 5 pessoas mais importantes da minha vida: Pedro,
Terezinha, Kátia, Darwin e Alexandre.*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Marília Trierveiler Martins por ter me aceitado como orientada, pela paciência de me ensinar algo novo a cada dia e por ser uma excelente orientadora, sempre com muita dedicação e profissionalismo, o que me ajudou a desenvolver este trabalho.

À Profa Dra Karem López Ortega, pelos conhecimentos transmitidos e pela importante ajuda prestada com relação à análise estatística.

A todos os professores da disciplina de Patologia Bucal da FOU SP, pelos ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Celso Augusto Lemos Jr., pelos conhecimentos transmitidos e pelas belas imagens clínicas cedidas.

A todos os professores da disciplina de Estomatologia Clínica da FOU SP, pelos ensinamentos.

À colega Gabriela Sanchez Nagata pela ajuda com desenvolvimento da minha dissertação, especialmente na parte laboratorial, contribuindo com auxílio na técnica de imuno-histoquímica e com o micrótomo.

À colega Renata Caraméz que também me auxiliou com a técnica de imuno-histoquímica.

Aos técnicos do laboratório Juvani, Elisa e Adriana pela ajuda.

Às funcionárias da Patologia Bucal, Zilda, Néia e Nair, pela boa vontade em sempre ajudar.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos de mestrado.

Às minhas amigas da pós-graduação, Daniela Assis do Vale, Lara Gimenez e Juliana Seo, pela amizade.

A todos os meus colegas de pós-graduação, especialmente Fernanda, Nelise e Bruno, pelo companheirismo.

A meu pai Pedro, mãe Terezinha, irmã Kátia e irmão Darwin pelo incentivo, suporte, amizade e pelo amor.

Ao meu marido Alexandre pela paciência, amizade e pelo amor.

Ao meu Deus por me dar forças e coragem a cada dia.

*“Nunca se afaste de seus sonhos, pois se eles se forem, você
continuará vivendo, mas terá deixado de existir”*

(Charles Chaplin)

RESUMO

Arruda CFJ. Avaliação das variações de espessura de epitélio em queilite actínica comparadas ao grau de displasia epitelial e à expressão imuno-histoquímica da proteína p53 mutada [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão corrigida.

O carcinoma epidermoide de lábio é precedido por uma desordem potencialmente maligna, a queilite actínica. Histologicamente o epitélio da lesão é caracterizado pela presença de hiperqueratose ou hiperparaqueratose, presença de displasia epitelial e, muitas vezes, pela presença de variações de espessura de epitélio, sendo estas a acantose e a atrofia. O desenvolvimento da queilite actínica está ligado a exposição excessiva a luz solar que contém radiação UV, esta pode produzir mutações com assinatura UV no DNA através de um fenômeno conhecido como fotocarcinogênese. As mutações com assinatura UV estão presentes no gene supressor de tumor *TP53*, quando este gene se encontra mutado, muitas vezes, ele codifica uma proteína que sofre um dobramento e exibe uma conformação específica. Esta pesquisa pretendeu determinar, à partir de 458 casos de queilite actínica, a porcentagem de casos que apresentaram espessura normal de epitélio, acantose ou atrofia, relacionando os graus de displasia epitelial, segundo o sistema da OMS e o sistema binário e também relacionar estas variações de espessura com a presença de proteína p53 mutada através de análise imuno-histoquímica. O que se observou foi que 20,31% dos casos apresentavam espessura normal de epitélio, 38,65% apresentavam acantose e 41,05% apresentavam atrofia. Não houve relevância estatística quando a variação de espessura foi comparada com a proteína p53 mutada. Concluiu-se que há uma dificuldade real em determinar quais queilites actínicas evoluirão para uma lesão maligna, por tanto, o acompanhamento clínico desses pacientes tem caráter essencial.

Palavras-chave: Queilite actínica, p53 mutada, fotocarcinogênese, prevenção

ABSTRACT

Arruda CFJ. Evaluation of epithelial thickness variations in actinic cheilitis compared to the degree of epithelial dysplasia and immunohistochemical expression of mutated p53 protein [dissertation]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão corrigida.

Squamous cell carcinoma of the lip is preceded by a potentially malignant disorder, the actinic cheilitis. Histologically the lesion is characterized by the presence of hyperkeratosis or hyperparakeratosis, the presence of dysplasia, and often, the presence of variations in thickness of the epithelium, which is acanthosis or atrophy. The development of actinic cheilitis is linked to the excessive exposure to sunlight containing UV radiation, this can produce UV signature mutations through the photocarcinogenesis. UV signature mutations are present in the tumor suppressor gene *TP53*, when this gene is mutated, often it encodes a protein that undergoes bending and displays a specific conformation. This research intended to determine, from 458 cases of actinic cheilitis, the percentage of the cases which had normal thickness of the epithelium, acanthosis or atrophy and relate to the degree of dysplasia, and relates them to the presence of mutated p53 protein through immunohistochemical analysis. There was noted that 20.31% of cases showed normal thickness of the epithelium, 38.65% had acanthosis and 41.05% had atrophy. There was no statistical significance when the thickness variation was compared to the mutated p53, it was concluded that there is a real difficulty to determining which actinic cheilitis evolve to a malignant lesion, and therefore, clinical monitoring of these patients is of essential nature.

Keywords: actinic cheilitis, mutated p53, photocarcinogenesis, prevention

LISTA DE FIGURAS

- Figura 4.1 - Medição feita no epitélio da região do vermelhão de lábio apresentando espessura normal.....28
- Figura 5.1 - Aspecto histológico das variações de espessura de epitélio de queilite actínica. A) Fragmento exibindo espessura normal de epitélio; B) Neste corte é observada uma lesão apresentando acantose; C) Neste espécime observa-se a ocorrência de atrofia epitelial; D) Por último, pode-se observar um fragmento exibindo atrofia epitelial extrema. Hematoxilina e eosina. Aumento de 10x no original.....34
- Figura 5.2 - Marcação imuno-histoquímica para a proteína p53 mutada. A) Marcação para p53 mutada em queilite actínica exibindo células positivas, principalmente na camada basal (aumento de 10x no original); B) Marcação positiva da proteína p53 mutada observada em maior aumento (40x no original).....38

LISTA DE TABELAS

- Tabela 4.1 - Caracterização da amostra de cortes histológicos contendo apenas epitélio de vermelhão de lábio apresentando espessura normal.....27
- Tabela 4.2 - Apresentação das lâminas contendo áreas de vermelhão de lábio normal que apresentam espessura de epitélio normal e que foram utilizadas para a obtenção do valor da medida desse epitélio. Média das medidas individuais, média das médias obtidas e desvio padrão.....29
- Tabela 5.1 - Distribuição dos casos do estudo de acordo com as variações de espessura de epitélio e os dois sistemas de graduação de displasia epitelial. Nesta análise foram consideradas as espessuras: normal, acantose e atrofia apenas.....35
- Tabela 5.2 - Distribuição dos casos do estudo de acordo com as variações de espessura de epitélio e os dois sistemas de graduação de displasia epitelial. Nesta análise foram consideradas as espessuras: normal, acantose, atrofia e atrofia extrema.....36

LISTA DE GRÁFICOS

Grafico 5.1 - Porcentagem de casos de variações de espessura de epitélio positivos e negativos para a proteína p53 mutada.....	37
--	----

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

UV	ultravioleta
DNA	ácido desoxirribonucleico
TP53	gene proteína tumoral p53
p53	proteína p53
cm	centímetro
nm	nanômetro
C	citosina
T	timina
kDa	quilodalton
OMS	Organização mundial da saúde
G1	gap 1
S	síntese
µm	micrometro
NaCl	cloreto de sódio
mM	micromolar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 Carcinoma epidermoide de lábio	15
2.2 Queilite actínica	17
2.3 Fotocarcinogênese	21
2.4 Gene TP53	22
3 PROPOSIÇÃO	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Casos e amostras teciduais	26
4.2 Análise morfológica	26
4.2.1 Determinação da espessura normal do epitélio do vermelhão do lábio....	27
4.2.2 Variações da espessura	29
4.3 Imuno-histoquímica	30
4.4 Forma de análise dos resultados	31
4.5 Análise estatística	32
5 RESULTADOS	33
5.1 Casuística.....	33
5.2 Variação de espessura de epitélio e displasia epitelial	33
5.3 Imuno-histoquímica	37
6 DISCUSSÃO	39
7 CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	46
ANEXO	52

1 INTRODUÇÃO

A luz solar é essencial para a vida humana na Terra, entretanto, sabemos que ela contém radiação ultravioleta (UV) e que essa radiação pode ser nociva aos seres vivos, -- dentre eles o ser humano --, pois ela é capaz de provocar alterações no DNA¹.

Muitas dessas alterações causadas pela radiação UV podem levar ao surgimento de neoplasias malignas nos tecidos atingidos. A pele e os olhos são os órgãos que mais recebem essa radiação, mas, existe uma área de transição entre a pele e a mucosa oral que também costuma ser lesada, essa região é conhecida como vermelhão do lábio².

As neoplasias malignas causadas pela radiação UV que acometem a pele e o vermelhão de lábio costumam ser precedidas por desordens potencialmente malignas, no caso do vermelhão de lábio, essa desordem é denominada queilite actínica, que também é causada pela luz solar³.

Na clínica, a queilite actínica se apresenta, inicialmente, como um lábio ressecado e tem progressão lenta^{3, 21}. As principais características histológicas do epitélio dessa lesão são a presença de hiperqueratose ou hiperparaqueratose, a presença de displasia epitelial e, muitas vezes, a presença de variação de espessura de epitélio que podem ser a acantose ou a atrofia²².

Já foram notadas alterações causadas pela radiação UV no gene humano *TP53*⁴⁰, que é um gene supressor de tumor que codifica a proteína p53 responsável pela manutenção da estabilidade genômica^{42, 47}. Quando esse gene se encontra mutado, na maior parte dos casos, ele codifica uma proteína que sofre uma torção e expõe uma região de 5 aminoácidos, ou seja, a proteína mutada, quase sempre, apresenta uma conformação específica⁵⁵.

Existe um anticorpo anti-proteína p53 do clone PAb240 cujo epítopo é esta região de cinco aminoácidos que fica exposta na proteína mutada, por isso, esse clone é específico para a proteína p53 mutada⁵¹.

Como nosso país é tropical, sabe-se que a incidência de luz solar recebida todos os anos é bem alta e por isso, é de grande importância o estudo e o conhecimento das lesões por ela causadas⁴. Além disso, a determinação de quais pacientes portadores dessas desordens potencialmente malignas têm uma probabilidade real de desenvolverem lesões malignas, é essencial para uma intervenção precoce e eficaz, pois o carcinoma epidermoide de lábio, apesar de apresentar um prognóstico melhor que o carcinoma epidermoide intraoral⁵, pode causar uma grande mutilação em face e com isso causar graves consequências à vida do paciente que apresenta perda estética e dificuldades funcionais, levando o paciente a uma diminuição de qualidade de vida⁶.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Carcinoma epidermoide de lábio

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), câncer é um crescimento incontrolado de células que pode afetar qualquer parte do corpo. Esse crescimento invade tecidos vizinhos e pode promover metástases em locais distantes⁷. Do ponto de vista genético, o câncer é a finalização de um processo evolutivo no qual células normais se tornam células malignas através de alterações genéticas ou epigenéticas cumulativas⁸.

As neoplasias malignas localizadas no vermelhão do lábio correspondem a 15% de todas as neoplasias malignas da região de cabeça e pescoço, somando 25% de todos os cânceres que acometem a cavidade oral. O tipo histológico mais comum de neoplasia maligna que acomete tanto o vermelhão de lábio quanto a região de cabeça e pescoço como um todo é o carcinoma epidermoide⁹. Essa neoplasia está relacionada à exposição crônica e excessiva à radiação ultravioleta (UV) do sol e sendo o Brasil um país tropical, acaba recebendo uma grande quantidade de insolação, o que faz com que esta neoplasia assuma uma grande importância, sendo relativamente comum em nosso país^{4,10}.

O carcinoma epidermoide de lábio ocorre mais frequentemente em indivíduos de pele clara, do sexo masculino, acima de 50 anos de idade e que costumam ficar expostos à luz solar por um longo período de tempo^{11,12}.

Já foi observado que, no Brasil, a proporção de pessoas que desenvolvem a lesão levando em conta o sexo do indivíduo é de cinco homens para cada mulher, sendo que, para esses homens, a média de idade para diagnóstico da lesão é de 58,8 anos⁴.

A lesão é rara em negros, em indivíduos abaixo de 40 anos e também é rara em crianças, exceto quando portadoras de xerodermia pigmentosa⁹.

O aspecto clínico do carcinoma epidermoide de lábio é variado, podendo apresentar-se como lesão exofítica ou endofítica. Entretanto, sua apresentação mais comum consiste em uma lesão ulcerada de bordas elevadas e endurecidas¹². A lesão acomete mais comumente o lábio inferior, mas pode ocorrer no lábio superior, situação na qual costuma ser mais agressiva¹². Metástases linfáticas cervicais são relatadas nessa neoplasia maligna, podendo ocorrer em aproximadamente 6 a 12% dos casos⁹.

Histologicamente, o carcinoma epidermoide é caracterizado por apresentar ilhas e cordões de células epiteliais atípicas que invadem o tecido conjuntivo da lâmina própria, podendo, ainda, ocorrer formação de áreas de queratinização individual ou pérolas de queratina no interior dessas ilhas. As células neoplásicas apresentam alterações morfológicas como hiper cromatismo nuclear, alteração na proporção núcleo/citoplasma, pleomorfismo celular e nuclear, entre outras, além de apresentar aumento no número de figuras de mitose e mitoses atípicas. Também é possível se observar a presença de degeneração basofílica das fibras colágenas no tecido conjuntivo da lesão¹³. Mais que dois terços desses carcinomas epidermoides que acometem o vermelhão de lábio apresentam-se bem diferenciados⁹.

O diagnóstico da lesão é obtido facilmente por meio do exame clínico regional e da realização de biópsia, pois por localizar-se na região de vermelhão de lábio, a lesão é facilmente visualizada tanto pelo paciente quanto pelo profissional de saúde. O tratamento de escolha da lesão é o cirúrgico, com remoção completa da lesão com margem de segurança¹², sendo que as técnicas utilizadas podem ser a simples excisão tridimensional em cunha ou em “W”, ou a excisão tridimensional com reconstrução plástica imediata com rotação de retalho pediculado uni ou bilateral, no caso de lesões maiores que dois centímetros⁹.

Sabe-se que o diagnóstico precoce resulta em um prognóstico favorável, com índice de sobrevida maior que 90% em cinco anos,¹² e que comparados aos carcinomas epidermoides intraorais, o carcinoma epidermoide de lábio apresenta um melhor prognóstico, um índice baixo de metástase em linfonodos regionais e menor taxa de mortalidade¹⁴. Entretanto, quando ocorrem metástases ou recidivas, o prognóstico costuma ser desfavorável¹⁵. A invasão local do tumor pode contribuir

para um procedimento cirúrgico extenso, resultando em perda de estética e perda de qualidade de vida⁶.

Diversos cânceres são precedidos por desordens potencialmente malignas, e o carcinoma epidermoide de lábio é um deles, sendo precedido pela queilite actínica³, que é uma lesão cujo desenvolvimento também está intimamente associado à exposição crônica e excessiva à radiação UV do sol².

2.2 Queilite actínica

O termo “desordem potencialmente maligna” sugere que uma determinada lesão apresenta potencial de evoluir para uma neoplasia maligna, embora não seja uma certeza de que evoluirá¹⁶.

Algumas das desordens potencialmente malignas que mais comumente acometem a cavidade oral são a leucoplasia, a eritroplasia e a queilite actínica¹⁶.

Acredita-se que a queilite actínica anteceda, virtualmente, todos os casos de carcinoma epidermoide de lábio³ e é considerada a correspondente em lábio da queratose actínica, lesão que acomete a pele e atua como um marcador prognóstico do aumento de risco de ocorrência de câncer de pele não melanoma¹⁷. Sabe-se também que, assim como nas lesões em pele, os carcinomas epidermóides de lábio derivados de lesões de queilite actínica apresentam um melhor prognóstico, entretanto, esta lesão apresenta um pior prognóstico que o carcinoma epidermoide de pele¹⁸.

A queilite actínica costuma ocorrer, mais frequentemente, em pacientes do sexo masculino¹⁹ com idades entre 40 e 80 anos, afetando quase que exclusivamente o vermelhão do lábio inferior²⁰ de indivíduos que trabalham sob o sol, ou que apresentam o hábito de passar bastante tempo expostos à luz solar. A maioria dos pacientes possui pele clara, com efélides e apresentam queimaduras solares com facilidade^{19,20}.

Inicialmente, a queilite actínica se apresenta, como um lábio com aparência seca, discretamente rachado e indolor. A lesão apresenta um desenvolvimento lento e, por conta disso, muitas vezes ela é vista como característica comum do avanço da idade, o que pode dificultar o seu processo de diagnóstico^{3,21}.

Conforme o processo avança, o vermelhão do lábio inferior pode se apresentar com um aspecto bastante ressecado, mostrando áreas com fendas profundas e um aspecto descamativo². A coloração do lábio pode se tornar esbranquiçada ou apresentar manchas e pode ocorrer a formação de placas queratóticas, perda da distinção entre vermelhão de lábio e pele e, em alguns casos, podem ocorrer áreas ulceradas^{2,21}, sendo relatada, por vezes, a sensação de queimação³. Quando se realiza palpação da lesão, tem-se descrito que a sensação percebida é a da luva sendo esfregada em uma lixa fina²¹.

As características histopatológicas mais comuns da queilite actínica são a hiperqueratose ou hiperparaqueratose, a displasia epitelial e as variações de espessura de epitélio, sendo estas, a acantose e a atrofia²². A acantose é caracterizada pelo espessamento da camada espinhosa do epitélio, já a atrofia epitelial apresenta-se como uma diminuição no número de camadas do epitélio, com a conseqüente diminuição da espessura desse epitélio²³. Tanto acantose, quanto atrofia são achados frequentes em lesões de queilite actínica^{3,24,25}. Em um estudo realizado em uma população brasileira, notou-se que em um grupo de 29 espécimes observados, mais que a metade apresentava variação de espessura de epitélio²⁵.

A displasia epitelial é caracterizada pelo somatório das várias atipias encontradas, como o aumento do número de figuras de mitose, a perda de polaridade das células da camada basal, o aumento da proporção núcleo/citoplasma, presença de mais de uma camada de células com aparência de células basais, estratificação epitelial irregular, projeções epiteliais em forma de gota, figuras de mitose atípicas, hiperchromatismo nuclear, pleomorfismo celular e nuclear, núcleos aumentados, perda de aderência entre as células e áreas de queratinização individual²².

No tecido conjuntivo, próximo ao epitélio, pode-se observar a degeneração basofílica das fibras elásticas e colágenas (elastose solar), além de infiltrado inflamatório crônico e vasodilatação²².

A análise das alterações arquiteturais e citológicas leva à graduação da displasia epitelial na queilite actínica, que pode apresentar desde graus mais leves até graus mais intensos²¹. Esses graus de displasia epitelial têm sido utilizados para calcular o prognóstico dos pacientes e definir o tratamento. Existem vários sistemas de classificação dos graus de displasia epitelial, entretanto, não são considerados sistemas precisos^{26,27}.

O sistema de classificação proposto pela OMS divide os graus de displasia epitelial em discreta, moderada e intensa a partir da observação de 16 critérios que envolvem alterações arquiteturais e citológicas. As alterações arquiteturais são: estruturação epitelial irregular, perda de polaridade das células do estrato basal, projeções epiteliais em forma de gota, aumento do número de figuras de mitose, mitoses altas, queratinização individual e presença de pérolas de queratina. As alterações citológicas são: variação anormal do tamanho do núcleo, pleomorfismo nuclear, variação anormal do tamanho da célula, pleomorfismo celular, proporção núcleo/citoplasma aumentada, aumento do tamanho do núcleo, mitoses atípicas, número e tamanho de núcleos aumentados e hiperchromatismo²⁸.

Na displasia epitelial discreta, as alterações arquiteturais e atípicas celulares limitam-se ao terço inferior do epitélio; na displasia moderada essas alterações se estendem pelos dois terços inferiores do epitélio; e na displasia intensa são notadas alterações arquiteturais e citológicas em mais que dois terços do epitélio. Entretanto, se ocorrem muitas atípicas celulares, considera-se que a displasia é intensa mesmo não atingindo mais que os dois terços inferiores do epitélio²⁸.

Um sistema de classificação dos graus de displasia epitelial mais recentemente proposto é o sistema binário, que foi proposto por Kujan et al.. Este sistema divide as lesões em lesões de baixo ou alto risco, utilizando-se da avaliação das alterações arquiteturais e citológicas propostas pela OMS. Segundo esse sistema, são consideradas lesões de alto risco aquelas que apresentam mais que 4 alterações arquiteturais e 5 alterações citológicas e lesões de baixo risco aquelas que apresentam menos de 4 alterações arquiteturais e menos de 5 alterações citológicas. É importante salientar que esses sistemas foram propostos para as desordens potencialmente malignas intraorais e que sua validade ainda não foi testada para a queilite actínica²⁹.

Existem diversos tipos de tratamentos para a queilite actínica, sendo que alguns podem ser mais agressivos que outros^{30,31,32}. A vermelhectomia é o método terapêutico mais agressivo empregado para o tratamento da lesão, consistindo na remoção total do lábio acometido, podendo variar na espessura do tecido que deve ser removido. Esta técnica é muito eficaz para o tratamento da queilite actínica, no entanto, este procedimento costuma levar a um grande comprometimento estético, além de poder causar parestesia permanente no local, cicatrizes e perda de contorno dos lábios, entre outras várias complicações^{30,33}.

A cirurgia com laser de dióxido de carbono também pode ser utilizada para tratar a queilite actínica. A técnica consiste em aumentar a temperatura da água contida no interior das células pela aplicação do laser na região, o que causa o rompimento dessas células³³.

O uso tópico de quimioterápicos como o 5-fluororacil³¹ e o imiquimod³² também pode ser utilizado para o tratamento da queilite actínica, no entanto, são mais comumente utilizados no tratamento de queratose actínica de pele. Estes agentes podem causar grande desconforto aos pacientes tornando a terapia muito pouco utilizada³³.

A crioterapia consiste na aplicação tópica de um agente congelante, normalmente o nitrogênio líquido, que é mais utilizado para lesões pequenas³³.

Um tratamento que surgiu mais recentemente é a terapia fotodinâmica. Esta técnica consiste na utilização de uma fonte de luz e um agente fotossensibilizante que é ativado e produz radicais livres de oxigênio que desestabilizam as membranas celulares e as organelas, induzindo a morte celular. Entretanto, o tratamento não tem se mostrado um método muito eficaz. Existem, ainda, outros métodos para o tratamento de queilite actínica que não serão discutidos³³.

Apesar das diversas possibilidades de tratamentos, como citado acima, a prevenção é a melhor forma de evitar os danos causados pela exposição excessiva à luz solar. Deve-se controlar o tempo de exposição solar e fazer-se uso de protetores solares e de barreiras físicas quando se fica exposto a luz solar para evitar os efeitos dela agindo diretamente nos tecidos biológicos³⁴.

2.3 Fotocarcinogênese

Conforme já foi dito, o principal fator para o desenvolvimento da queilite actínica e do carcinoma epidermoide de lábio é a exposição excessiva à luz solar, pois esta possui radiação UV, que pode causar alterações genéticas nos tecidos vivos². Esse processo de transformação maligna que o tecido sofre é conhecido como fotocarcinogênese e representa a soma de eventos bioquímicos simultâneos e sequenciais que, em última instância, resultam no surgimento de uma neoplasia maligna¹.

A radiação UV é considerada um carcinógeno completo, pois ela altera, permanentemente, genes responsáveis pela iniciação, promoção e progressão neoplásica¹. A dose de radiação, o tempo de exposição e o comprimento de onda (UVA ou UVB) estão intimamente ligados a esse desenvolvimento³⁵. Sabe-se que a radiação UVA é o tipo de radiação solar de maior incidência em nosso planeta, sendo que seu comprimento de onda está compreendido entre 320 e 400 nm³⁶. Já a radiação UVB, das que atingem a superfície terrestre, é a mais nociva para os tecidos biológicos, e apresenta comprimento de onda entre 280 a 320 nm^{37,36}. A UVB pode ser absorvida por proteínas e ácidos nucleicos, o que pode levar a sérios danos em tecidos biológicos¹. Mas, apesar disso, sabe-se que a radiação UVA também contribui para o desenvolvimento de neoplasias malignas³⁸.

Para poder ter ação nos tecidos biológicos, a radiação UVB necessita ser absorvida por um cromóforo celular, que pode traduzir a radiação solar em um sinal bioquímico. O DNA genômico é o melhor cromóforo para a radiação UVB³⁹.

Quando a radiação é absorvida pelo DNA de queratinócitos, ocorre a formação de uma ligação covalente entre duas bases pirimidinas consecutivas (citosina-timina – C-T, ou citosina-citosina – C-C) , constituindo os fotoprodutos dímero de pirimidina ciclobutano e pirimidina (6-4) pirimidona. Caso esses dímeros não sejam reparados na molécula de DNA do queratinócito, no momento de sua replicação, a enzima DNA polimerase não reconhece a ligação covalente e insere duas bases adenina no pareamento com essas bases nitrogenadas que possuem

essa ligação covalente. Com isso, na próxima replicação, as bases adeninas serão pareadas com as bases timinas e, com isso, T passa a ocupar o lugar de C, ou seja, ocorre a substituição dos locais da base pirimidina C para T ou CC para TT. Esse tipo de mutação é conhecido como mutação com assinatura UV, pois a radiação UV é a única fonte conhecida como causadora desse tipo específico de mutação⁴⁰.

2.4 Gene *TP53*

O gene humano *TP53* tem sido associado à fotocarcinogênese¹ e já foi observado, em carcinoma epidermoide de pele, que mutações com a assinatura UV estão presentes nesse gene⁴⁰. Os genes supressores de tumor, como o *TP53*, codificam proteínas que têm a importante função de controlar o ciclo celular, a replicação do DNA e a divisão celular. Com esta função suprimem o crescimento celular descontrolado, inibindo a formação de neoplasias, por exemplo⁴¹.

O *TP53* é o gene supressor de tumor mais amplamente estudado até hoje^{42,43,44}. Ele está localizado no braço curto do cromossomo 17⁴⁵ e é conhecido como o guardião do genoma humano⁴⁶, e foi observado pela primeira vez em 1979^{42,43,44}. Este gene codifica uma fosfoproteína nuclear com peso molecular de 53 kDa⁴⁵ que atua na regulação do ciclo celular, na regulação da apoptose e na reparação do DNA, garantindo a manutenção da estabilidade genômica^{42,47}.

A proteína p53 está presente como um tetrâmero que se acumula no citoplasma celular durante a fase G1 do ciclo celular e migra para o núcleo da célula no começo da fase S⁴⁵. O aumento da quantidade da proteína p53 está relacionado à interrupção do ciclo celular e este evento pode levar à morte programada da célula (apoptose)⁴⁸.

Existem algumas vias pelas quais o gene *TP53* pode ser ativado. São elas: a ativação por danos ao DNA, a via desencadeada por sinais aberrantes de crescimento e a induzida por medicamentos quimioterápicos, inibidores de proteína quinase e radiação UV. Todas essas vias levam à inibição do processo de

degradação da proteína p53, o que causa o aumento na concentração celular dessa proteína⁴¹.

Esse aumento permite que a proteína exerça a função de fator de transcrição, ligando-se a determinadas cadeias de DNA e ativando a expressão gênica⁴¹, impedindo a divisão da célula danificada por meio da estimulação da expressão de CDKN1A (p21/WAF1), que inibe as CDKs (quinases ciclina-dependentes) que são importantes reguladoras do ciclo celular, promovendo, assim, uma parada na progressão do ciclo celular na fase G1. Desta forma, ela permite a conclusão do processo de reparação genômica, fazendo com que as vias de reparação celular removam possíveis lesões no DNA antes do início de sua síntese e da mitose da célula^{41,42,47}. Quando não é possível reparar o dano causado ao DNA da célula, a proteína induz eventos que levam à morte programada da célula (apoptose)^{48,49}.

Já foi demonstrado que, em muitos cânceres humanos, a proteína p53 não funciona corretamente, o que, em geral, ocorre porque o gene *TP53* se encontra mutado⁴¹. As mutações com troca de sentido que acometem o *TP53* alteram a função normal da proteína resultando, na sua maioria, em uma proteína com função alterada, que claramente contribui no processo de formação de neoplasias malignas⁴⁹. A inativação desse gene pode ser causada por mutações pontuais, deleções ou por mutações insersionais⁴⁵.

Segundo estudos, mutações em *TP53* podem ser notadas em 19% das desordens potencialmente malignas de boca (incluem-se lesões com displasia epitelial discreta e epitélio adjacente a neoplasias malignas de cabeça e pescoço), o que sugere que a mutação no *TP53* pode ser um evento inicial na carcinogênese oral. Já está bem estabelecido que a maioria dos carcinomas epidermóides de boca apresentam mutação no gene *TP53*^{50,51}.

Uma alta expressão da proteína p53 foi observada em queratose actínica de pele, o que pode indicar que esteja ligada à exposição à radiação solar e que pode ser um evento inicial na evolução dessa lesão para um carcinoma epidermoide de pele⁵².

Quando o gene *TP53* está mutado, ele codifica uma proteína que, na maior parte das vezes, sofre uma torção e expõe uma região de cinco aminoácidos, dessa

forma, a proteína mutante apresenta uma conformação distinta da sua forma nativa⁵⁵. É grande o número de estudos envolvendo a técnica de imuno-histoquímica para detecção da proteína p53 em diferentes lesões e existe um número elevado de anticorpos anti-proteína p53 comercialmente disponíveis. Entretanto, muitos não apresentam especificidade para a proteína p53 mutada, reconhecendo tanto a forma nativa quanto a mutada⁵¹. A forma nativa da proteína p53 apresenta uma duração muito curta, sua meia-vida dura entre 5 e 6 minutos, porém a proteína na forma mutada se apresenta estável, com meia-vida de várias horas e os trabalhos usam desta informação para sugerir que apositividade para estes anticorpos revelem a presença da proteína mutada⁵⁶.

O anticorpo anti-proteína p53 do clone PAb240 identifica apenas proteína na sua forma mutada⁵¹, pois é específico para um epítipo de cinco aminoácidos que surge na alteração conformacional sofrida pela molécula⁵⁵.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi analisar a variação de espessura epitelial em casos de queilite actínica e determinar se há relação entre a espessura do epitélio e o grau de displasia epitelial. Também foi objetivo deste trabalho analisar se há relação entre a espessura do epitélio e a presença de proteína p53 mutada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Casos e amostras teciduais

Antes do seu início, este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da USP, sob parecer 179717 (Anexo A).

Os casos deste estudo foram selecionados de uma amostra de 458 queilites actínicas utilizada em estudo prévio de nosso grupo. Todos os casos foram diagnosticados no Serviço de Patologia Cirúrgica da Faculdade de Odontologia da USP e as amostras teciduais encontravam-se fixadas em formol e emblocadas em parafina. Para a análise morfológica foram utilizadas lâminas histológicas coradas por hematoxilina e eosina que foram recuperadas dos arquivos do Serviço.

Foram também utilizados 12 cortes histológicos contendo epitélio do vermelhão do lábio de aspecto normal, considerados como controle do trabalho.

A graduação histológica das displasias epiteliais já havia sido feita para o estudo anterior, tendo sido utilizadas duas graduações diferentes: a proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e a binária²².

4.2 Análise morfológica

Para a análise morfológica dos casos de queilite actínica estudados, foram utilizados cortes de 5 µm estendidos sobre lâminas de vidro e corados pelo método da hematoxilina e eosina que foram examinados ao microscópio de luz.

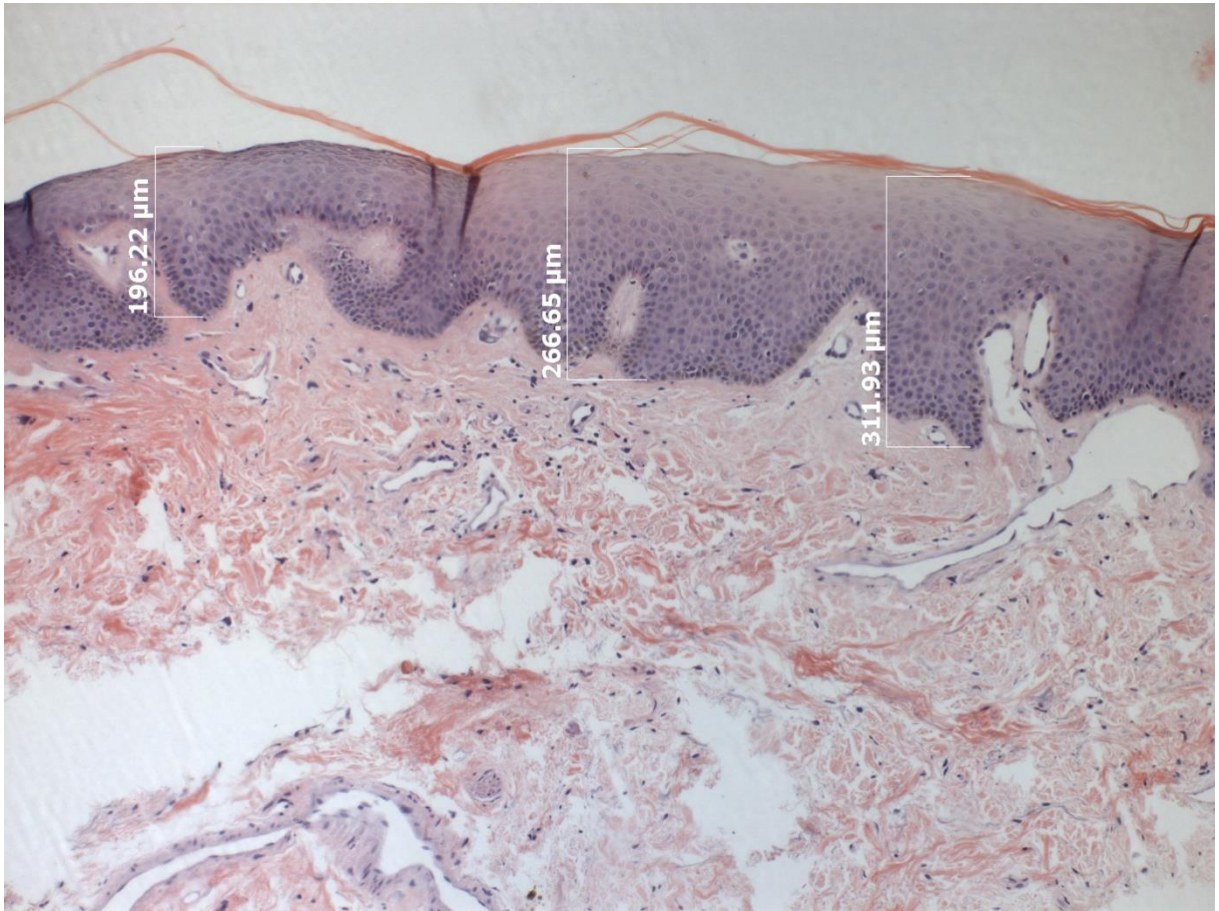
4.2.1 Determinação da espessura normal do epitélio do vermelhão do lábio

Para a classificação da variação de espessura de epitélio nos casos de queilite actínica, foi necessária a determinação de um valor considerado como espessura normal do epitélio da região. Para tanto, 12 cortes histológicos contendo fragmento de epitélio do vermelhão do lábio e sem outras alterações que sugerissem a incidência crônica de radiação solar, foram analisados com o auxílio do fotomicroscópio Axio Imager A1 (Carl Zeiss, Thornwood, NY, EUA) e do software AxioVision V4.8 (Carl Zeiss), as informações clínicas com relação a cada amostra tecidual utilizada como controle se encontram na tabela 4.1. Após a aquisição de uma imagem digital de cada um dos cortes histológicos com o uso da objetiva de 10 aumentos, foram feitas medições da espessura em três áreas do epitélio. Iniciou-se com a escolha da região central e, a seguir duas áreas equidistantes. A figura 4.1 ilustra o método de aquisição das medidas. Neste trabalho a camada córnea não foi considerada no cálculo da espessura do epitélio, tanto nesta medição para determinação de uma espessura normal do epitélio do vermelhão do lábio, quanto na avaliação dos casos de queilite actínica. Isto deveu-se à grande variação que esta camada apresenta já observada em trabalhos anteriores^{22,25}.

Tabela 4.1 - Caracterização da amostra de cortes histológicos contendo apenas epitélio de vermelhão de lábio apresentando espessura normal

Casos	Sexo	Cor da pele	Idade	Localização
1	Masculino	Negra	55	Lábio superior
2	Masculino	Negra	58	Lábio inferior
3	Feminino	Branca	75	
4	Feminino	Outra	51	Lábio inferior
5	Feminino	Branca	58	Lábio inferior
6	Feminino	Amarela	32	Lábio inferior
7	Feminino	Branca	86	Lábio inferior
8	Masculino	Branca	42	Lábio inferior
9	Feminino	Branca	10	Lábio inferior
10	Feminino	Branca	09	Lábio inferior
11	Masculino	Branca	43	Lábio inferior
12	Feminino	Branca	55	Lábio inferior

Figura 4.1 - Medição feita no epitélio da região do vermelhão de lábio apresentando espessura normal



Após a obtenção dos valores foi calculada a média para cada um dos cortes e a média entre todos os cortes avaliados. A tabela 4.2 mostra os valores obtidos.

Tabela 4.2 - Apresentação das lâminas contendo áreas de vermelhão de lábio sem lesão que apresentam espessura de epitélio normal e que foram utilizadas para a obtenção do valor da medida desse epitélio. Média das medidas individuais, média das médias obtidas e desvio padrão

Casos	1ª medida	2ª medida	3ª medida	médias	Desv. Padrão Medidas
1	196,2	266,7	311,9	258,3	58,31
2	250,6	253,6	227,4	243,8	14,31
3	321,0	410,5	318,0	349,8	52,59
4	321,0	338,1	315,0	324,7	11,99
5	248,5	254,6	328,0	277,1	44,25
6	358,2	404,5	387,4	383,4	23,41
7	219,4	243,5	264,6	242,5	22,66
8	368,3	333,1	336,1	345,8	19,50
9	376,3	375,3	315,0	355,5	35,15
10	339,1	361,2	344,1	348,2	11,61
11	408,5	404,5	387,4	400,1	11,22
12	376,3	327,0	310,9	338,1	34,07
Media Total				322,27	
Desvio Padrão Total				53,77	

4.2.2 Variações da espessura

Para este trabalho, os 458 casos do estudo foram classificados como exibindo: epitélio de espessura normal, acantose ou atrofia. Foi considerada como acantose uma espessura epitelial de pelo menos uma vez e meia a espessura do epitélio normal da região do vermelhão do lábio. Atrofia foi considerada quando o epitélio exibia espessura igual ou menor que a metade da espessura normal do epitélio do vermelhão do lábio. A definição da espessura do epitélio para cada um dos casos foi realizada apenas com avaliação visual, sem que fosse necessária a medição para cada um isoladamente. Isso se deveu a características das alterações em si, que normalmente são bastante evidentes. Entretanto, sempre que houve dúvida, realizou-se a medição no mesmo sistema explicado no item anterior. Dos 458 casos do estudo, 15 (3,27%) foram avaliados desta maneira.

Em uma segunda análise, foi observado que dentre os casos de atrofia, existiam alguns que exibiam epitélio constituído por poucas camadas de células, tipicamente quatro a seis camadas, estes casos foram separados da atrofia e considerados como um outro grupo denominado atrofia extrema²². Em cortes não homogêneos considerou-se a característica predominante para o epitélio nas zonas identificadas como tipicamente de queilite actínica (displasia epitelial associada à elastose solar na lâmina própria).

4.3 Imuno-histoquímica

Após a etapa anterior, foram selecionados 20 casos de cada um dos grupos (espessura normal de epitélio, acantose, atrofia epitelial e atrofia epitelial extrema), para que fossem submetidos à técnica de imuno-histoquímica para evidenciação da proteína p53 mutada.

Os blocos de parafina contendo as lesões que foram selecionadas foram recuperados dos arquivos do Serviço e novos cortes histológicos, com a espessura de 3 µm, foram obtidos com o auxílio de um micrótomo e estendidos em lâminas previamente tratadas pelo organossilano (3-aminopropyltriethoxysilane, DAKO) que foi utilizado com o intuito de aumentar a adesividade dos cortes nas lâminas.

Em seguida, os cortes passaram por um processo de desparafinização que consistiu em um banho de xilol por 30 minutos, seguido por um segundo banho de xilol por 20 minutos, ambos em temperatura ambiente. O processo seguinte foi a reidratação em cadeia descendente de etanóis (absoluto, 95%, 90%, 85%, 80%) em banhos de 5 minutos cada e um banho em hidróxido de amônio 10% em solução de etanol 95 °C para remoção do pigmento formólico. As lâminas foram lavadas em água destilada por 5 minutos e foi realizado o tratamento de recuperação antigênica, utilizando-se solução de EDTA (1mM), pH 9,0, em banho úmido aquecido a 95°C, durante 30 minutos. Após nova lavagem das lâminas em água destilada por 10 minutos foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena tecidual em solução na proporção 1:1 de peróxido de hidrogênio a 6% e metanol, que foi realizado em 2

banhos de 15 minutos cada. Após lavagem em água destilada por mais 5 minutos, as lâminas passaram por 3 banhos de 5 minutos com a solução tampão da reação TRIS (TRIS 50mM, NaCl 150mM), pH7,6.

A seguir os cortes passaram pela incubação do anticorpo primário anti-p53 (clone PAb 240, Abcam, Cambridge, MA, EUA) que foi diluído em solução de TRIS (TRIS 50mM, NaCl 150mM), pH7,6, acrescida de albumina bovina a 1% na proporção de 1:500. O anticorpo foi incubado por 18 horas a 4°C.

Após essa etapa, foi realizada a incubação do anticorpo de ligação biotinilado e do complexo terciário por meio do uso do sistema LSAB plus (DAKO, Carpinteria, CA, USA). Ambos foram incubados por 30 minutos a temperatura ambiente. Entre as etapas, os cortes foram lavados na solução tampão em três banhos de 5 minutos cada.

A diaminobenzidina (Liquid DAB plus, DAKO) foi o cromógeno da reação e foi incubado por 10 minutos e, após nova lavagem em solução tampão, os cortes foram contracorados com hematoxilina de Mayer, desidratados em cadeia ascendentes de etanol, diafanizados em xilol e as lâminas montadas em resina Permount (Fischer Scientific, Waltham, MA, EUA) e protegidas por lamínulas para observação ao microscópio de luz.

Foram consideradas positivas as células que exibiram coloração acastanhada nuclear. Devido ao significado biológico da mutação do gene *TP53*, a presença de qualquer número de células com marcação nuclear determinou aquele caso como positivo para presença da proteína p53 mutada.

4.4 Forma de análise dos resultados

Após obtenção dos resultados, as variações de espessura do epitélio foram comparadas com os dois sistemas de graduação de displasia epitelial (OMS e binário). Foram feitas duas análises:

- a primeira que considerou as espessuras: normal, acantose e atrofia;
- a segunda que considerou as espessuras: normal, acantose, atrofia e atrofia extrema.

Os resultados da imuno-histoquímica para a presença da proteína p53 mutada também foram comparados à ocorrência das diferentes espessuras epiteliais na queilite actínica.

4.5 Análise estatística

Para a análise estatística da comparação das variações de espessura de epitélio com os graus de displasia, segundo o sistema da OMS e o sistema binário, foi utilizado o teste estatístico Z.

Para a obtenção da significância estatística entre as variações de espessura de epitélio e a expressão da proteína p53 mutada foi realizado o teste estatístico de Kruskal-Wallis, com auxílio do software Epi Info™ versão 3.5.4.

O nível de significância adotado foi de 0,05 para todas as análises estatísticas.

5 RESULTADOS

5.1 Casuística

Para este trabalho foram utilizados 458 casos de lesões diagnosticadas como queilite actínica que foram enviadas para o Serviço de Patologia Cirúrgica da Faculdade de Odontologia da USP e que foram utilizadas em um estudo anterior de nosso grupo²². As displasias epiteliais dos 458 casos já haviam sido graduadas utilizando o sistema da Organização Mundial da Saúde (OMS)²⁸ e o sistema binário²⁹. Dos casos estudados 173 (37,77%) foram considerados como displasia discreta, 210 (45,85%) como moderada e 75 (16,38%) como intensa, segundo o sistema da OMS²⁸ e 366 (79,91%) foram considerados como de baixo risco e 92 (20,09%) como de alto risco segundo o sistema binário²⁹ de graduação de displasias epiteliais.

5.2 Variação de espessura de epitélio e displasia epitelial

Conforme dito em Material e Métodos, a espessura foi avaliada de duas formas diferentes. Na primeira análise, os casos foram considerados como apresentando epitélio de espessura normal, acantose ou atrofia. Na segunda análise os casos com atrofia foram divididos em apresentando predominantemente atrofia ou atrofia extrema.

A figura 5.1 exemplifica cada uma das variações epiteliais consideradas para este estudo.

Dos 458 casos de queilite actínica estudados 93 (20,31%) apresentavam predominantemente espessura epitelial normal, 177 (38,65%) apresentavam acantose e 188 (41,04%) apresentavam atrofia. Dos 188 casos classificados com atrofia, 28 (14,89%) apresentavam atrofia extrema.

A tabela 5.1 apresenta os resultados para as variações de espessura de epitélio relacionando esses achados com os graus de displasia segundo o sistema da OMS e o sistema binário. Na tabela 5.2 são mostrados os resultados considerando a atrofia extrema.

Tabela 5.1 - Distribuição dos casos do estudo de acordo com as variações de espessura de epitélio e os dois sistemas de graduação de displasia epitelial. Nesta análise foram consideradas as espessuras: normal, acantose e atrofia apenas

Espessura epitelial	Sistema OMS				Sistema binário		
	Discreta	Moderada	Intensa	TOTAL	Baixo risco	Alto risco	TOTAL
Normal	54	33	6	93	87	6	93
	58,07%	35,48%	6,45%	100%	93,55%	6,45%	100%
	31,21%	15,71%	8,00%	20,31%	23,77%	6,52%	20,31
Acantose	64	64	49	177	119	58	177
	36,16%	36,16%	27,68%	100%	67,23%	32,77%	100%
	36,99%	30,48%	65,33%	38,65%	32,51%	63,04%	38,65%
Atrofia	55	113	20	188	160	28	188
	29,25%	60,11%	10,64%	100,00%	85,11%	14,89%	100,00%
	31,79%	53,81%	26,67%	41,04%	43,72%	30,43%	41,04%
TOTAL	173	210	75	458	366	92	458
	37,77%	45,85%	16,38%	100,00%	79,91%	20,09%	100,00%
	100,00%	100,00%	100,00%		100,00%	100,00%	

Tabela 5.2 - Distribuição dos casos do estudo de acordo com as variações de espessura de epitélio e os dois sistemas de graduação de displasia epitelial. Nesta análise foram consideradas as espessuras: normal, acantose e atrofia e atrofia extrema

Espessura epitelial	Sistema OMS				Sistema binário		
	Discreta	Moderada	Intensa	TOTAL	Baixo risco	Alto risco	TOTAL
Normal	54	33	6	93	87	6	93
	58,07%	35,48%	6,45%	100%	93,55%	6,45%	100%
	31,21%	15,71%	8,00%	20,31%	23,77%	6,52%	20,31%
Acantose	64	64	49	177	119	58	177
	36,16%	36,16%	27,68%	100%	67,23%	32,77%	100%
	36,99%	30,48%	65,33%	38,65%	32,51%	63,04%	38,65%
Atrofia	52	91	17	160	137	23	160
	32,50%	56,87%	10,63%	100,00%	85,62%	14,38%	100,00%
	30,06%	43,33%	22,67%	34,93%	37,43%	25,00%	34,93%
Atrofia extrema	3	22	3	28	23	5	28
	10,71%	78,58%	10,71%	100,00%	82,14%	17,86%	100,00%
	1,73%	10,48%	4,00%	6,11%	6,28%	5,43%	6,11%
TOTAL	173	210	75	458	366	92	458
	37,77%	45,85%	16,38%	100,00%	79,91%	20,09%	100,00%
	100,00%	100,00%	100,00%		100,00%	100,00%	

Na análise estatística comparando os graus de displasia epitelial segundo o sistema da OMS com as variações de espessura, notou-se uma relação positiva entre: espessura normal e displasia discreta, acantose e displasia intensa e atrofia e displasia moderada. Na análise considerando a atrofia extrema separada da atrofia, esta se relaciona positivamente com a displasia moderada.

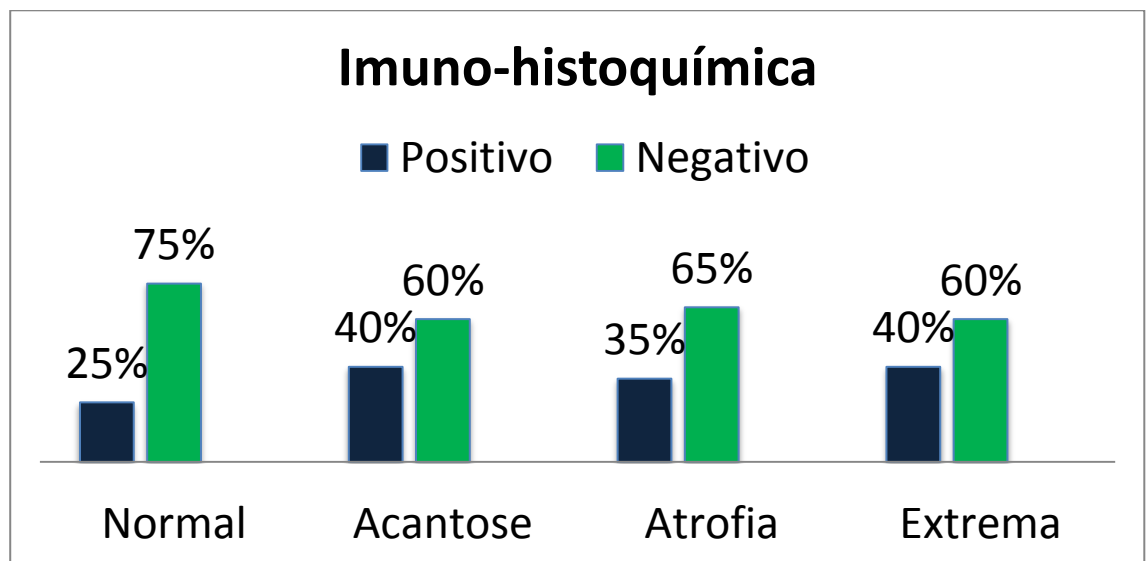
Na análise estatística comparando os graus de displasia epitelial segundo o sistema binário com as variações de espessura, notou-se uma relação positiva entre: acantose e lesões de alto risco e epitélio com espessura normal e atrofia com lesões de baixo risco. Na análise considerando a atrofia extrema separada da atrofia, esta se relaciona positivamente com as lesões de alto risco.

5.3 Imuno-histoquímica

Para o estudo imuno-histoquímico foram selecionados 20 casos de cada uma das variações de espessura epitelial e estes submetidos ao anticorpo anti-p53 clone PAb 240.

Dos 20 casos que apresentavam espessura normal de epitélio 5 (25%) foram positivos para o anticorpo e, dos casos com acantose, 8 (40%) foram positivos. Com relação aos casos que foram classificados como tendo atrofia epitelial, 7 (35%) foram positivos para o anti-proteína p53 mutada e, por fim, dos 20 casos com atrofia extrema, 8 (40%) foram positivos. O gráfico 5.1 apresenta estes resultados.

Grafico 5.1 - Porcentagem de casos de variações de espessura de epitélio positivos e negativos para a proteína p53 mutada



Não houve diferença estatisticamente significante na presença da proteína p53 mutada entre os tipos de espessura epitelial em nenhuma das duas análises ($p=0,4421$ e $p=0,4046$, quando atrofia extrema foi considerada).

A figura 5.2 exemplifica a marcação imuno-histoquímica positiva para a proteína p53 mutada.

6 DISCUSSÃO

A queilite actínica é uma desordem potencialmente maligna sabidamente causada pela radiação ultravioleta (UV) que atinge o nosso planeta através dos raios solares^{19,20}. Esta lesão antecede, virtualmente, todos os carcinomas epidermóides de lábio³.

A principal característica histopatológica da queilite actínica é apresentar displasia epitelial, que pode ser de qualquer grau¹⁹. A graduação das displasias epiteliais é feita pela avaliação das alterações arquiteturais e citológicas que o tecido sofreu²⁶, entretanto, esta graduação é de caráter subjetivo, pois a técnica depende do examinador que realiza a classificação das alterações que o tecido sofreu²⁷.

O objetivo de todos os sistemas de graduação de displasias já propostos é chegar a um diagnóstico mais preciso das desordens potencialmente malignas, para tentar estabelecer em que estágio de progressão a lesão se apresenta, e determinar, por meio dos achados morfológicos, o prognóstico da lesão e o tratamento mais indicado²⁶. Entretanto, como já foi dito, esta técnica depende do examinador²⁷ e é subjetiva. Mais recentemente, o sistema binário de graduação foi proposto. Esse sistema divide as lesões em baixo e alto risco após uma contagem do número de alterações citológicas e arquiteturais presentes. A tentativa é de reduzir a subjetividade da graduação²⁹.

É importante ressaltar que ainda não foram encontrados marcadores biológicos que permitam estabelecer como será a progressão dessas desordens potencialmente malignas²⁹.

Embora não seja considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um dos critérios a serem avaliados para graduação histológica das displasias, a variação de espessura epitelial é um achado frequente das desordens potencialmente malignas⁵⁷, incluindo a queilite actínica^{22,25}. As variações de espessura de epitélio na queilite actínica são a acantose e a atrofia. A acantose é caracterizada pelo espessamento da camada espinhosa do epitélio, conduzindo a uma hiperplasia do mesmo, enquanto a atrofia é a diminuição no número de camadas²³.

O objetivo deste trabalho foi determinar, em uma coleção de casos de queilite actínica, a frequência de aparecimento de epitélio com espessura normal, com acantose ou com atrofia epitelial. Além disso, em uma segunda análise, os casos com atrofia foram divididos em atrofia e atrofia extrema, achado que foi anteriormente observado por nosso grupo e que foi definido como epitélio constituído por poucas camadas de células, tipicamente quatro a seis camadas²².

Inicialmente, para que se pudesse definir a espessura que seria considerada como normal, acantose ou atrofia, foi necessário determinar o que seria a espessura normal do epitélio do vermelhão do lábio. Como não foi possível encontrar esse dado na literatura, optou-se por uma análise inicial de cortes histológicos que contivessem epitélio do vermelhão do lábio e que não demonstrassem alterações sugestivas da ação solar (displasia epitelial e elastose solar).

Após essa análise, para este trabalho, foram considerados como epitélio exibindo acantose, os que apresentaram espessura pelo menos uma vez e meia maior que a espessura considerada como normal. Os cortes considerados como tendo atrofia foram aqueles que apresentaram metade ou menos da espessura considerada como normal. Essas variações de espessura de epitélio foram relacionadas com o grau de displasia epitelial utilizando-se os sistemas de graduação de displasia epitelial proposto pela OMS²⁸ e o sistema binário²⁹.

Observou-se que, dos 458 casos de queilite actínica estudados, a maior parte apresentou alguma variação de espessura de epitélio, totalizando 79,69% da amostra. Apenas 20,31% dos casos revelaram espessura de epitélio considerada normal. A atrofia foi a alteração encontrada com maior frequência (41,04%), embora a quantidade de casos com acantose tenha sido semelhante, correspondendo a 38,65% da amostra. Quando os casos com atrofia extrema foram analisados separadamente, nota-se que 6,11% da amostra apresentaram esta alteração.

A ocorrência de alteração de espessura de epitélio em lesões de queilite actínica é comumente observada na literatura, pois a presença de acantose ou atrofia é achado frequente no epitélio dessa lesão^{3,24,25}, embora nenhum outro trabalho tenha analisado de forma sistemática estas alterações e nem em amostra tão ampla. Trabalhos anteriores que analisaram a variação de espessura do epitélio na queilite actínica encontraram a acantose como achado mais frequente^{19,24,25},

diferindo dos resultados deste trabalho. Deve-se ressaltar que, na queilite actínica, a área examinada tende a não ser uniforme, podendo compreender não apenas a região do vermelhão de lábio, mas também, a mucosa labial, que é caracterizada por um epitélio mais espesso²².

Este trabalho também comparou as variações de espessura de epitélio encontradas nos casos de queilite actínica com os graus de displasia epitelial obtidos segundo o sistema proposto pela OMS²⁸ e segundo o sistema binário proposto por Kujan et al²⁹.

O que se observa é que a maioria dos casos (58,07%) com espessura normal foi graduada como tendo displasia epitelial discreta, enquanto 60,11% dos casos com atrofia foram considerados como displasia moderada. Já os casos com acantose distribuíram-se mais igualmente entre os três graus de displasia.

Na avaliação que separou os casos com atrofia extrema, pode-se notar que 78,58% desses casos foram graduados como apresentando displasia epitelial moderada. O que se tem notado no Serviço de Patologia Cirúrgica da Faculdade de Odontologia da USP é que casos que apresentam atrofia extrema tendem a apresentar distúrbios que comprometem a estratificação epitelial²².

Os resultados mostram, também, que a maior parte dos casos de queilite actínica graduados como displasia epitelial intensa apresentou acantose do epitélio, seguido da atrofia. A presença de acantose já foi relacionada ao aumento do grau de displasia em outro estudo no qual ela foi observada e foi proposto que essa associação possa significar que o dano à camada basal foi um evento inicial e a exposição crônica ao sol pode ter causado o espessamento dessa camada^{19,24}.

Os casos que apresentavam displasia epitelial discreta segundo a classificação da OMS somaram 173 (37,77%) casos e a distribuição das variações de espessura do epitélio foi bastante semelhante nesse grupo. Apenas a atrofia extrema foi diferente, com uma incidência bastante baixa de 1,73% dos casos.

Quando as 458 lesões foram graduadas segundo o sistema binário, em baixo ou alto risco, a dificuldade em se interpretar os resultados está no fato da grande maioria dos casos ter sido considerada como baixo risco (79,91%), portanto, em todas as variações de espessura, a maior parte dos casos foi graduada como baixo

risco. Por outro lado, quando se analisa dentre os casos que foram considerados de baixo ou alto risco, qual a proporção de cada uma das variações epiteliais, nota-se que a atrofia foi considerada como a variação predominante em 43,72% dos casos graduados como de baixo risco e a acantose foi a mais frequente dentre as displasias de alto risco, correspondendo a 63,04% dos casos.

Tanto o sistema da OMS quanto o binário se baseiam em alterações morfológicas sofridas pelos tecidos²⁸, mas sabe-se que não são classificações precisas, pois dependem da interpretação subjetiva de achados morfológicos pelo examinador. É bem discutido na literatura que a graduação histológica não é suficiente para determinar quais casos de desordens potencialmente malignas realmente irão evoluir para um carcinoma invasivo²⁶. Por esse motivo, faz-se fundamental a busca por um marcador biológico que possa demonstrar precocemente essa predisposição, marcador este, que não foi determinado para lesões de boca^{58,59}.

Já foi observado que o gene *TP53* pode apresentar mutações associadas à exposição excessiva à radiação UV. Estas mutações são conhecidas como mutações com assinatura UV⁵³.

Já foram realizados outros trabalhos em que foi observada a expressão da proteína p53 em lesões de queilite actínica, entretanto, o clone utilizado na maioria desses estudos foi o DO-7 que não apresenta especificidade para a proteína mutada, ou seja, detecta tanto a proteína nativa, quanto a mutada^{58,60}. Para este estudo selecionou-se o anticorpo anti-p53 clone PAb240 que é específico para a proteína mutada, pois seu epítipo é uma sequência de cinco aminoácidos que só se manifesta na mutação mais comum do gene *TP53*⁵⁵.

Não foi objeto desse estudo comparar expressão da proteína p53 mutada com o grau de displasia epitelial presente nas lesões de queilite actínica visto que já foi objeto de estudo de nosso grupo em um outro trabalho onde ficou percebido que 87,5% dos casos estudados apresentou alguma positividade para a proteína mutada, o que mostra a importância da mutação no gene *TP53* na fotocarcinogênese em lábio⁶¹.

Os resultados mostraram que, dos casos considerados com espessura normal de epitélio, 25% revelaram presença da proteína p53 mutada, enquanto 40% dos casos de acantose, 35% dos casos de atrofia e 40% dos casos de atrofia extrema tiveram expressão da marcação.

Não há nenhum trabalho em que se compara a expressão da proteína p53 mutada com as variações de espessura do epitélio da queilite actínica. Trabalhos que utilizaram o clone DO-7 em lesões de QA apresentaram uma presença de 60% de positividade⁶² e de 85% de positividade⁶⁰, enquanto que neste trabalho foi observada 35% de positividade. Isso se deve ao fato de que o clone DO-7 não é específico para a proteína p53 mutada, enquanto que o PAb240, que foi utilizado neste trabalho, é específico para a proteína mutada⁵¹.

Em nosso caso, essa diferença não foi estatisticamente significativa, portanto, pode-se afirmar que a mutação do gene *TP53* não está relacionada às variações de espessura do epitélio na queilite actínica. Por outro lado, deve-se ressaltar que ocorrem mutações nesse gene mesmo em casos de queilite actínica em que não é observada a presença de alteração de espessura de epitélio. Esse achado aponta para o risco da ocorrência de uma progressão para uma lesão maligna mesmo em casos de queilite actínica em que as alterações epiteliais são poucas, visto que a mutação no gene *TP53* é sabidamente um evento inicial na fotocarcinogênese⁶³.

Outro achado interessante é que tanto na acantose, quanto na atrofia extrema, ocorreu uma maior positividade da proteína p53 mutada. Foi observado que na acantose também ocorreu o maior número de casos graduados como displasia epitelial intensa (49 casos = 27,68% da amostra), segundo a classificação da OMS. Já na atrofia extrema, apenas 3 casos (10,71%) foram observados como apresentando displasia epitelial intensa, segundo a classificação da OMS, tendo a maioria de seus casos graduados como displasia epitelial moderada, segundo esta mesma classificação. Entretanto, como já foi dito, em nosso serviço, tem se notado a presença de distúrbios que comprometem a estratificação epitelial em casos de atrofia epitelial extrema²², o que pode indicar um quadro displásico mais severo, condizente com a porcentagem de positividade para o anticorpo utilizado.

Por conta disso, o que se percebe é que, nem sempre a classificação do grau da displasia epitelial é suficiente para prever como evoluirá uma determinada lesão

com potencial de transformação maligna, pois lesões que apresentaram uma maior porcentagem de casos classificados como displasia epitelial moderada, segundo a classificação da OMS foram tão positivas para a proteína p53 mutada quanto àquelas que apresentaram uma maior quantidade de casos que mostraram displasia epitelial intensa.

Por fim, o que se pode dizer é que, tanto o epitélio com espessura normal, como todas as variações de espessura de epitélio apresentaram a presença de proteína p53 mutada, o que indica que todas elas podem evoluir para uma lesão maligna e que isso independe do grau de displasia epitelial.

Tomando como base os achados dessa pesquisa, pode-se pensar que a busca por marcadores prognósticos é fundamental, pois os sistemas de graduação de displasias epiteliais não refletem as alterações moleculares e já mostraram que nem sempre podem prever quais lesões evoluirão para uma lesão maligna²⁷.

7 CONCLUSÃO

Neste trabalho concluiu-se que:

- A variação de espessura de epitélio ocorre na maioria dos casos de queilite actínica;
- A acantose é a variação de espessura de epitélio mais relacionada a distúrbios arquiteturais e citológicos, pois tanto na comparação com o sistema de graduação da OMS, quanto na comparação com o sistema binário, foi notada uma maior ocorrência de acantose nos graus de displasia epiteliais mais altos;
- Não foi observada relevância estatística quando as variações de espessura de epitélio foram comparadas à proteína p53 mutada;
- A presença de proteína p53 mutada foi notada em todas as variações de espessura de epitélio, incluindo aquela considerada normal, portanto, não há uma relação entre esta alteração genética e as alterações morfológicas estudadas.

Em conclusão, o acompanhamento clínico dos pacientes de queilite actínica é de carácter essencial, já que ainda não há como determinar, com clareza, qual destas lesões evoluirá para uma neoplasia maligna.

REFERÊNCIAS*

1. Hussein MR. Ultraviolet radiation and skin cancer: molecular mechanisms. *J Cutan Pathol.* 2005 Mar; 32(3): 191-205.
2. Rogers RS 3rd, Bekic M. Diseases of the lips. *Semin Cutan Med Surg.* 1997 Dec; 16(4): 328-36.
3. Main JH, Pavone M. Actinic cheilitis and carcinoma of the lip. *J Can Dent Assoc.* 1994 Feb; 60(2):113-6.
4. Souza RL, Fonseca-Fonseca T, Oliveira-Santos CC, Correa GT, Santos FB, Cardoso CM, Sant' Ana-Haikal D, Guimarães AL, Batista-De Paula AM. Lip squamous cell carcinoma in a Brazilian population: epidemiological study and clinicopathological associations. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2011 Sep; 16(6): e757-62.
5. Batista AC, Costa NL, Oton-Leite AF, Mendonça EF, Alencar RCG, Silva TA. Distinctive clinical and microscopic features of squamous cell carcinoma of oral cavity and lip. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Oct;109(3):74-9.
6. Luna-Ortiz K, Güemes-Meza A, Villavicencio-Valencia V, Mosqueda-Taylor A. Lip cancer experience in Mexico. An 11-year retrospective study. *Oral Oncol.* 2004 Nov; 40(10): 992-9.
7. World Health Organization. [cited 2013 02 20]. Available from: <http://www.who.int/topics/cancer/en>
8. Lambert WC, Kuo H, Lambert MW. Xeroderma pigmentosum. *Dermatol Clin.* 1995 Jan; 13(1): 169-209.
9. Antunes AA, Antunes AP. Estudo retrospectivo e revisão de literatura dos tumores dos lábios: experiência de 28 anos. *Rev Bras Cancerol.* 2004 Aug; 50(4): 295-300.
10. Sena MF, Costa AP, Nobrega AGS, Costa ALL, Ferreira MAF. Avaliação dos fatores prognósticos relacionados ao câncer de lábio: revisão sistemática. *Rev Bras Cancerol.* 2010 Aug; 56(1): 93-102.

*De acordo com Estilo Vancouver.

11. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Patologia oral e maxilofacial. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. 347 p.
12. Hasson O. Squamous cell carcinoma of the lower lip. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Jun;66(6):1259-62.
13. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Patologia oral e maxilofacial. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. 352 p.
14. Antunes JLF, Biazevic MGH, Araujo ME, Tomita NE, Chinellato LEM, Narvai PC. Trends and spatial distribution of oral cancer mortality in São Paulo, Brazil, 1980-1998. *Oral Oncol.* 2001 Jun; 37(4): 345-350.
15. Santos LRM, Cernea CR, Kowalski LP, Carneiro PC, Sotto MN, Nishio S, et al. Fatores prognósticos em carcinoma espinocelular de lábio inferior: estudo retrospectivo. *Rev Bras Cir Cab Pesc.* 1993 ;17(1):58-68.
16. Warnakulasuriya S, Johnson NW, van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med.* 2007 Nov; 36(10): 575-80.
17. Sober AJ, Burstein JM. Precursors to skin cancer. *CANCER.* 1995 Jan; 75(2 Suppl): 645-50.
18. Abreu MAMM, Silva OMP, Pimentel DRN, Hirata CHW, Weckx LLM, Alchorne MMA, Michalany NS. Actinic cheilitis adjacent to squamous carcinoma of the lips as an indicator of prognosis. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006 Nov/Dec; 72(6): 767-71.
19. 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 Aug; 88(2): 181-6.
20. Girard KR, Hoffman BL. Actinic cheilitis: Report of a case. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980 Jul; 50(1):21-4.
21. Kaugars GE, Abbey LM, Page DG, Svirsky JA, Burns JC, Pillion T. Prevention and detection of lip cancer—the dentist's role. *J Calif Dent Assoc.* 1999 Apr; 27(4): 318-23.

22. Martins MT. Queilite actínica: avaliação das alterações teciduais e graduação histological em 458 casos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2011.
23. Brasileiro-Filho G. Bogliolo Patologia. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. 1202p.
24. Markopoulos A, Albanidou-Farmaki E, Kayavis I. Actinic cheilitis: clinical and pathologic characteristics in 65 cases. *Oral Dis.* 2004 Jul; 10(4): 212-6.
25. Cavalcante AS, Anbinder AL, Carvalho YR. Actinic cheilitis: clinical and histological features. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Mar;66(3):498-503.
26. Kujan O, Khattab A, Oliver RJ, Roberts AS, Thakker N, Sloan P. Why oral histopathology suffers inter-observer variability on grading oral epithelial dysplasia: An attempt to understand the sources of variation. *Oral Oncol.* 2007 Mar; 43(3): 224-31.
27. Warnakulasuriya S. Histological grading of oral epithelial dysplasia: revisited. *J Pathol.* 2001 Jul; 194(3):294-7.
28. Barnes L, Evenson JW, Reichart P, Sindransky D. World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. 1ª ed. Lyon: IARC Press; 2005. 430 p.
29. Kujan O, Oliver RJ, Khattab A, Roberts SA, Thakker N, Sloan P. Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. *Oral Oncol.* 2006 Nov; 42(10):987-93.
30. Holmkvist KA, Roenigk RK. Squamous cell carcinoma of the lip treated with Mohs micrographic surgery: outcome at 5 years. *J Am Acad Dermatol.* 1998 Jun; 38(6 Pt 1):960–6.
31. Epstein E. Treatment of lip keratoses (actinic cheilitis) with topical fluorouracil. *Arch Dermatol* 1977 Jul; 113(7): 906–8.
32. Chakrabarty AK, Mraz S, Geisse JK, Anderson NJ. Aphthous ulcers associated with imiquimod and the treatment of actinic cheilitis. *J Am Acad Dermatol* 2005 Feb; 52(2 Suppl 1): 35–7.

33. Shah AY, Doherty SD, Rosen T. Actinic cheilitis: a treatment review. *Int J Dermatol.* 2010 Nov; 49(11): 1225-34.
34. IARC Working Group on Risk of Skin Cancer and Exposure to Artificial Ultraviolet Light. *Solar and ultraviolet radiation.* Lyon: IARC Press; 1992. 316 p.
35. Black HS, deGrujil FR, Forbes PD, Cleaver JE, Ananthaswamy HN, deFabo EC, Ullrich SE, Tyrrell RM. Photocarcinogenesis: an overview. *J Photoc Photob.* 1997 Feb; 40: 29-47.
36. de Laat A, van Tilburg M, van der Leun JC, van Vloten WA, de Grujil FR. Cell cycle effects and concomitant p53 expression in hairless murine skin after longwaveUVA (365 nm) irradiation: a comparison with UVB irradiation. *Photochem Photobiol.* 1997 Apr; 65(4): 730-5.
37. Rojas IG, Martínez A, Pineda A, Spencer ML, Jiménez M, Rudolph MI. Increased mast cell density and protease content in actinic cheilitis. *J Oral Pathol Med.* 2004 Oct; 33(9): 567-73.
38. Miyamura Y, Coelho SG, Schlenz K, Batzer J, Smuda C, Choi W, Brenner M, Passeron T, Zhang G, Kolbe L, Wolber R, Hearing VJ. The deceptive nature of UVA tanning versus the modest protective effects of UVB tanning on human skin. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011 Feb; 24(1): 136-47.
39. Brash DE, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor promotion. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 1996 ; 1: 136-142.
40. Brash DE, Rudolph JA, Simon JA, Lin A, McKenna GJ, Baden HP, Halprin AJ, Potén J. A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991 Nov 15; 88(22): 10124-8.
41. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature.* 2000 Nov 16; 408(6810): 307-10.
42. Lim LY, Vidnovic N, Ellosen LW, Leong C-O. Mutant p53 mediates survival of breast cancer cells. *British J Cancer* 2009;101:1606-12.

43. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer res.* 1994 Sep 15; 54(18): 4855-78.
44. Bircan A, Bircan S, Kapucuoglu N, Songur N, Ozturk O, Akkaya A. Maspin, VEGF and p53 expression in small biopsies of primary advanced lung cancer and relationship with clinicopathologic parameters. *Pathol Oncol Res.* 2010 Dec; 16(4): 553-61.
45. Hussein MR, Haemel AK, Wood GS. Apoptosis and melanoma: molecular mechanisms. *J Pathol.* 2003 Mar; 199(3): 275-88.
46. Marrot L, Meunier JR. Skin DNA photodamage and its biological Consequences. *J Am Acad Dermatol.* 2008 May; 58(5 Suppl 2): s139-48.
47. Spiesbach K, Tannapfel A, Mössner J, Engeland K. Tap63_ can substitute for p53 in inducing expression of the maspin tumor suppressor. *Int J Cancer.* 2005 Apr 20; 114(4): 555-62.
48. Harris CC, Hollstein M. Clinical implication of the p53 tumor suppressor gene. *N Engl J Med.* 1993 Oct 28; 329(18): 318-27.
49. Hernandez-Boussard T, Rodriguez-Tome P, Montesano R, Hainaut P. IARC p53 mutation database: A relational database to compile and analyze p53 mutations in human tumors and cell lines. *Hum Mutat.* 1999; 14(1): 1-8.
50. Cruz IB, Snijders PJF, 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 Apr; 184(4): 360-8.
51. Warnakulasuriya KA, Johnson NW. Expression of p53 mutant nuclear phosphoprotein in oral carcinoma and potentially malignant oral lesions. *J Oral Pathol Med,* 1992 Oct; 21(9): 404-8.
52. Berhane T, Halliday GM, Cooke B, Barnetson RS. Inflammation is associated with progression of actinic keratoses to squamous cell carcinomas in humans. *Br J Dermatol.* 2002 May; 146(5): 810-5.
53. Nishigori C. Cellular aspects of photocarcinogenesis. *Photochem Photobiol Sci.* 2006 Feb; 5(2): 208-14.

54. Brash DE, Rudolph JA, Simon JA, Lin A, McKenna GJ, Baden HP, Halprin AJ, Potén J. A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991 Nov 15; 88(22): 10124-8.
55. Stephen CW, Lane DP. Mutant conformation of p53. Precise epitope mapping using a filamentous phage epitope library. *J Mol Biol*. 1992 Jun 5; 225(3): 577-83.
56. Milner J. The role of p53 in the normal control of cell proliferation. *Curr Opin Cell Biol*. 1991 Apr; 3(2): 282-6.
57. van der Waal I, Schepman KP, van der Meij EH, Smeele LE. Oral leukoplakia: a clinicopathological review. *Oral Oncol*. 1997 Sep; 33(5): 291-301.
58. Martínez A, Brthauer U, Rojas IG, Spencer M, Mucienes F, Borlando J, Rudolph MI. Expression of apoptotic and cell proliferation regulatory proteins in actinic cheilitis. *J Oral Pathol Med*. 2005 May; 34(5): 257-62.
59. Smith ML, Fornace Jr. AJ. The two faces of tumor suppressor p53. *Am J Pathol* 1996 Apr; 148(4): 1019-22.
60. Neto Pimentel DR, Michalany N, Alchorne M, Abreu M, Borra RC, Weckx L. Actinic cheilitis - histopathology and p53. *J Cutan Pathol*. 2006 Aug; 33(8): 539-44.
61. Nagata GS. Avaliação das atipias epiteliais, graduação das displasias e presença de proteína p53 mutada no epitélio adjacente a carcinomas epidermóides de lábio [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2011.
62. Souza LR, Fonseca-Silva T, Pereira CS, Santos EP, Lima LC, Carvalho HA, Gomez RS, Guimarães ALS, De Paula AMB. Immunohistochemical analysis of p53, APE1, hMSH2 and ERCC1 proteins in actinic cheilitis and lip squamous cell carcinoma. *Histopathol*. 2011 Jun; 58: 352-60.
63. Park WS, Lee HK, Lee JY, Yoo NJ, Kim CS, Kim SH. p53 mutations in solar keratoses. *Human Pathol*. 1996 Nov; 27(11): 1180-4.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Alterações de espessura de epitélio na queilite actínica e proteína p53 mutada

Pesquisador: Marília Trierveiler Martins

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 09549212.6.0000.0075

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 179.717

Data da Relatoria: 20/12/2012

Apresentação do Projeto:

Esta pesquisa pretende determinar se há relação entre a variação de espessura do epitélio de queilites actínicas e a presença de proteína p53 mutada. A partir de 458 casos que receberam o diagnóstico histopatológico de queilite actínica e que já foram utilizados em um trabalho anterior do nosso grupo, será feita análise morfológica do epitélio e classificação dos casos de acordo com o que predomina na maior extensão em: 1) espessura normal; 2) acantose; 3) atrofia; 4) atrofia extrema. Após esta etapa, 20 casos de cada um dos grupos serão avaliados por imunohistoquímica para determinação da presença ou não de proteína p53 mutada no epitélio. Após análise dos resultados por microscopia de luz, a presença da proteína p53 mutada será relacionada a cada uma das variações de espessura epitelial consideradas.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste trabalho é determinar as porcentagens de ocorrência de acantose e atrofia no epitélio de lesões diagnosticadas como queilite actínica. Para tanto, serão analisados cortes histológicos de 458 casos de queilite actínica já utilizados em estudo anterior de nosso grupo. Após esta etapa, a presença de proteína p53 mutada será avaliada pela técnica de imuno-histoquímica e relacionada a essas alterações de espessura do epitélio.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

A pesquisa não representa nenhum risco a pacientes, pois não há participação direta destes, o material a ser utilizado é de arquivo. O risco de identificação dos pacientes que deram origem ao material biológico está salvaguardado na Carta de Autorização para uso do arquivo. Não há

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-900
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 **Fax:** (11)3091-7814 **E-mail:** oepfo@usp.br

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO



benefícios diretos aos pacientes dos casos a serem estudados, entretanto, os resultados podem representar avanço na compreensão do processo de fotocarcinogênese em lábio.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto de pesquisa é bem estruturado, com objetivo, metodologia consistente e as conclusões deverão agregar conhecimento sobre o processo de fotocarcinogênese, trazendo possíveis benefícios à abordagem clínica da queilite actínica.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória são suficientes para a aprovação do projeto.

Recomendações:

Foi realizada a alteração sugerida: inserir o número de casos estudados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto está de acordo com as recomendações do Comitê de Ética em Pesquisa.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-FOUSP relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto de pesquisa adequado para aprovação do CEP-FOUSP.

SAO PAULO, 20 de Dezembro de 2012

Assinador por:
Marcia Turolla Wanderley
(Coordenador)

Endereço: Av Prof Lineu Prestes 2227
Bairro: Cidade Universitária CEP: 05.508-900
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7960 Fax: (11)3091-7814 E-mail: cepfo@usp.br