

NIVEA CRISTINA SENA COSTA

**EXPRESSÃO DE MASTÓCITOS EM QUEILITE ACTÍNICA E
CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LÁBIO INFERIOR**



2009

NIVEA CRISTINA SENA COSTA

**EXPRESSÃO DE MASTÓCITOS EM QUEILITE ACTÍNICA E
CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LÁBIO INFERIOR**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL, área Patologia.

Orientador: Profa. Adjunta Ana Sueli Rodrigues Cavalcante

São José dos Campos

2009

BANCA EXAMINADORA

Profa. Adj. Ana Sueli Rodrigues Cavalcante (ORIENTADOR)

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista -UNESP

Profa. Dra. Marília Trierveiler Martins

Faculdade de Odontologia
Universidade de São Paulo - USP

Profa. Adj. Janete Dias Almeida

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
Universidade Estadual Paulista -UNESP

São José dos Campos, 03 de julho de 2009.

DEDICATÓRIA

À Deus, por sempre iluminar meus caminhos.

Aos meus pais, Bia e Renato, por todo amor, carinho e incentivo que recebi ao longo de toda a minha vida. Muito obrigada por tudo que fizeram por mim e ainda fazem, mesmo distantes vocês estarão sempre no meu coração.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

*À Profa. Adjunta **Ana Sueli Rodrigues Cavalcante**, pela orientação deste trabalho, mas acima de tudo, agradeço profundamente a acolhida, compreensão, carinho e amizade, que levarei para sempre comigo.*

*Ao meu amado **Saulo**, pelo carinho, amor e compreensão, mesmo nos momentos mais difíceis sempre pude contar com a sua presença e tê-lo ao meu lado me deu forças para chegar até aqui.*

*Ao meu irmão **Fábio**, por seu carinho, amizade e alegria.*

*Aos meus tios **Manoel e Lia**, pelo carinho e apoio que foram fundamentais para que eu chegasse até aqui. Serei sempre grata a vocês.*

AGRADECIMENTOS

*À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” na pessoa do diretor da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, **Prof. Adjunto José Roberto Rodrigues**, pela oportunidade de realização desta pesquisa.*

*Ao programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora, **Profa. Adjunta Cristiane Yumi Koga Ito**, pela oportunidade concedida e pelo apoio à minha formação científica.*

*Aos professores da disciplina de Propedêutica Estomatológica, **Profa. Adjunta Janete Dias Almeida**, **Prof. Adjunto Luis Antônio Guimarães Cabral**, **Prof. Titular Walter D. Niccoli Filho**, pelo convívio e ensinamentos.*

*À **Profa. Adjunta Mônica Fernandes Gomes**, exemplo de dedicação e amor ao que faz. Agradeço a ajuda, amizade e incentivo.*

*Aos demais professores da disciplina de Patologia Bucal, **Profa. Dra. Adriana Aigotti Haberbeck Brandão**, **Profa. Titular Yasmin Rodarte Carvalho**, pela disponibilidade e ensinamentos transmitidos.*

*À **Profa. Suzana Orsini** da Universidade de São Paulo-USP, exemplo de competência e seriedade.*

*Ao **Prof. Ivan Balducci**, pela análise estatística deste trabalho.*

*Aos técnicos **Ana Lourdes**, **Salete** e **Valter**, pelo preparo do material utilizado neste trabalho.*

À técnica **Elisa dos Santos** da Universidade de São Paulo-USP, pela ajuda, paciência e cordialidade.

Às funcionárias da biblioteca, em especial a **Silvana Alvarez** pela revisão cuidadosa deste trabalho.

Às Funcionárias da pós-graduação **Rose, Erena, Cidinha e Lillian**.

Aos amigos do curso de pós-graduação, **Márcia, Ana Paula, Mary, Cristiane, Ana Celina, Luís Felipe**, pelos momentos de descontração e companheirismo que tornaram nossos dias mais agradáveis.

Aos demais **colegas da pós-graduação**, por todos os momentos compartilhados.

À **Capes**, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos **pacientes**, fundamentais para realização desta pesquisa.

*A inteligência é o único meio que possuímos
para dominar os nossos instintos.*

Sigmund Freud

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	12
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	13
RESUMO	15
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1 Radiação Ultravioleta	18
2.2 Fotocarcinogênese.....	20
2.3 Imunossupressão induzida por UVB.....	21
2.4 Mastócitos.....	24
2.4.1 Mastócitos e Neoplasias.....	27
2.5 Queilite actínica.....	31
2.5.1 Características clínicas e histopatológicas da QA.....	32
2.6 Carcinoma Epidermóide de lábio.....	37
2.6.1 Características Clínicas e Histopatológicas do CE.....	39
3 PROPOSIÇÃO.....	42
4 MATERIAL E MÉTODO.....	43
4.1 Amostra.....	43
4.2 Avaliação clínica.....	43
4.3 Procedimento cirúrgico.....	43
4.4 Procedimento laboratorial.....	44
4.5 Análise histológica.....	46
4.6 Análise histomorfométrica.....	48
4.7 Análise estatística.....	51
5 RESULTADOS.....	52
5.1 Perfil das amostras.....	52
5.2 Expressão de mastócitos.....	54
5.3 Expressão de mastócitos e atipia epitelial.....	57
6 DISCUSSÃO.....	61
7 CONCLUSÃO.....	68
8 REFERÊNCIAS.....	69
APÊNDICE.....	86
ANEXOS.....	88
ABSTRACT.....	90

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Fotomicrografia de lesão de QA corada imunoistoquimicamente pela Triptase, exemplificando as áreas de contagem dos MCs.....	49
Figura 2-	Fotomicrografia de lesão de CE corada imunoistoquimicamente pela Triptase, exemplificando as áreas de contagem dos MCs.....	50
Figura 3-	Individualização dos MCs pelo software <i>Axiovision</i> 4.7.....	50
Figura 4-	Esquema dos cinco números (<i>box-plot</i>) e gráfico de colunas (média±dp) da densidade dos MCs corados pela Triptase segundo os grupos.....	54
Figura 5-	Esquema dos cinco números (<i>box-plot</i>) e gráfico de colunas (média±dp) da densidade dos MCs corados pelo Azul de Toluidina (AT) segundo os grupos.....	55
Figura 6-	Gráfico de colunas (média±dp) da densidade de MCs nos três grupos analisados quanto a identificação pela Triptase e pelo Azul de Toluidina (AT).....	57
Figura 7-	Gráfico de colunas (média±dp) da densidade de MCs na QA, em relação aos graus de atipia epitelial.....	58

Figura 8-	Marcação imunoistoquímica de MCs triptase ⁺ em espécimes de CE, QA e mucosa labial normal (grupo controle).....	59
Figura 9-	Marcação dos MCs pelo azul de toluidina em espécimes de CE, QA e mucosa labial normal (grupo controle).....	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Classificação das lesões de QA quanto aos graus de atipia epitelial.....	52
Tabela 2-	Características Histopatológicas presentes nos casos de QA.....	53
Tabela 3-	Distribuição de valores referentes a densidade de MCs corados pela Triptase nos três grupos.....	55
Tabela 4-	Distribuição de valores referentes a densidade de MCs corados pelo Azul de Toluidina nos três grupos.....	56
Tabela 5-	Valores correspondentes a densidade de MCs corados pela Triptase e Azul de toluidina no grupo QA, em relação a atipia epitelial.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNORs	= Regiões Organizadoras Nucleolares Coradas pela Prata
ANOVA	= Análise de Variância
CE	= Carcinoma Epidermóide
c-kit	= Receptor Tirosina-kinase
<i>Cis</i> UCA	= Ácido <i>cis</i> -Urocânico
DNA	= Ácido Desoxirribonucléico
FGF	= Fator de Crescimento de Fibroblastos
FOSJC	= Faculdade de Odontologia de São José dos Campos
HPV	= Papilomavírus
HSV	= Vírus Herpes Simples
H ₂ O ₂	= Peróxido de Hidrogênio
KDa	= Kilodalton
IL	= Interleucina
LSAB	= Labeled Streptavidin-Biotin
MCs	= Mastócitos
MCs/ mm ²	= Mastócitos por milímetro quadrado
MEC	= Matriz Extra-Celular
ml	= mililitro
mm	= milímetro
MMPs	= Metaloproteinases
NGF	= Fator de Crescimento Neural
PDGF	= Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
(PG)E2	= Prostaglandina E-2

QA = Queilite Actínica
SCF = *Stem Cell Factor*- Fator de Célula Tronco
TA = Temperatura Ambiente
TGF = Fator de Crescimento Transformador
Th1 = Linfócito T-helper 1
TNF = Fator de Necrose Tumoral
Trans UCA = Ácido *trans*-Urocânico
UNESP = Universidade Estadual Paulista
UV = Ultravioleta
UVA = Ultravioleta A
UVB = Ultravioleta B
UVC = Ultravioleta C
VEGF = Fator de Crescimento Vascular Endotelial

COSTA NCS. Expressão de Mastócitos em Queilite actínica e Carcinoma Epidermóide de lábio inferior [dissertação]. São José dos Campos: Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista; 2009.

RESUMO

A queilite actínica (QA) é uma lesão multifocal do vermelhão do lábio com potencial de malignização para carcinoma epidermóide (CE). O principal fator etiológico envolvido nestas doenças é a exposição excessiva ou em longo prazo à radiação ultravioleta (UV) do sol. Além dos danos diretos aos tecidos do lábio, a radiação UV induz mastócitos (MCs) a liberarem substâncias que participam do processo de imunossupressão permitindo o desenvolvimento neoplásico. Estas células também são associadas a um pior prognóstico e favorecimento a metástase de diversas neoplasias. O objetivo deste trabalho foi analisar a densidade de MCs a fim de melhorar o entendimento da patogenia da QA e o possível mecanismo de sua progressão para o CE. Estudou-se 66 casos de QA, com diferentes graus de atipia epitelial, 57 de CE e 28 casos de mucosa de lábio com lesão benigna não relacionada à exposição solar (grupo controle), diagnosticados clínica e histologicamente, no Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal da FOSJC-UNESP. A amostra foi corada histoquimicamente com hematoxilina-eosina e azul de toluidina e imunoistoquimicamente com anticorpo anti-triptase. Em todos os casos a contagem de MCs foi realizada em microscópio de luz, com aumento final de 400x, em três campos com área de 0,04 mm² cada. A densidade de MCs no CE, QA e grupo controle foi de 36,91 ± 17,43; 22,17 ± 11,49; 8,86 ± 3,98 (triptase) e 22,71 ± 11,48; 13,30 ± 6,08; 7,29 ± 3,22 (azul de toluidina) cells/mm² , respectivamente. Os dados foram analisados estatisticamente pelos testes de Kruskal-wallis, Wilcoxon e Dunn, adotando-se nível de significância de 5%. Houve diferença estatisticamente significativa na densidade de MCs entre os três grupos estudados (p=0,0001). Concluiu-se que os MCs participam das alterações que ocorrem na matriz extra-celular da QA, o que pode ser um indício do favorecimento à malignização da QA para CE.

Palavras-chave: Radiação solar, Queilite, Carcinoma epidermóide, Mastócito

1 INTRODUÇÃO

A Queilite Actínica (QA) e o Carcinoma Epidermoide (CE) de lábio inferior são lesões relacionadas à um mesmo agente etiológico principal que é a exposição do lábio inferior à radiação ultravioleta (UV). A QA clínica e histologicamente têm aspecto multifocal e é considerada cancerizável porque pode evoluir para o CE. O CE de lábio inferior clinicamente se apresenta como uma úlcera que não cicatriza, tem evolução relativamente lenta e geralmente se desenvolve à partir de lesões de QA crônica e não tratada (Ayres, 1923; Nicolau; Balus, 1964; Baker, 1980; Cataldo; Doku, 1991; Main; Pavone, 1994; Santos et al., 2003, Casino et al., 2006).

Hoje sabe-se que a radiação UV possui inúmeras propriedades imunomodulatórias e danosas à pele humana. Particularmente a radiação UVB, porque altera diversas propriedades do sistema imune, tanto no local da exposição, quanto de maneira sistêmica. Esses efeitos imunomodulatórios tem sido implicados na patogênese dos cânceres de pele do tipo melanoma e não-melanoma (C'hang et al., 2006).

Algumas evidências sugerem que o microambiente tumoral é capaz de influenciar numerosos processos celulares tais como: crescimento, diferenciação, expressão gênica, invasão e morte celular, e o infiltrado inflamatório associado ao tumor pode contribuir fortemente para a tumorigênese (Balkwill; Montovani, 2001; O'Byrne; Dalglish, 2001; Coussens; Werb, 2002; Balkwill, 2004).

Os Mastócitos (MCs) são células do sistema imune que estão presentes próximas a vasos, nervos, áreas de inflamação e locais de desenvolvimento neoplásico, onde desempenham papel chave em

múltiplos processos fisiológicos, imunológicos e patológicos (Crivelatto, 2008).

A radiação UV é capaz de induzir os MCs a sintetizar e liberar substâncias capazes de modular, direta ou indiretamente, a produção e degradação de matriz extracelular, além de participarem diretamente da angiogênese, eventos importantes no processo de progressão do CE (Lees et al., 1994; Kaarsen et al., 1995; Nishikori et al., 1998; Crivelatto et al., 2008).

A participação dos MCs no desenvolvimento do câncer é complexa e as informações encontradas na literatura são conflitantes quando descrevem efeitos pró e anti-tumorais dessas células em diversos tipos de neoplasias humanas.

Estudos sobre a expressão de MCs em condições cancerizáveis como a QA e em neoplasias como o CE, pode auxiliar no entendimento da patogenia e possível progressão da QA para o CE de lábio, visto que na literatura ainda não está clara a verdadeira participação dos MCs nessas doenças.

Este trabalho teve por objetivo estudar a expressão dos MCs na QA e CE de lábio inferior por se tratar de doenças relacionadas à exposição a radiação UV.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Radiação Ultravioleta (UV)

A radiação UV solar e a radiação UV de fontes artificiais podem ter efeitos benéficos ou tóxicos à pele humana, dependendo de como as utilizamos e nos expomos a elas. A radiação solar é imprescindível à vida humana, assim como a água e o ar. É importante para o nosso bem estar psíquico, para a síntese de vitamina D e geração de uma saudável proteção de melanina na pele (Juchem et al., 1998).

A exposição crônica e excessiva a radiação solar representa o principal fator responsável pelo desenvolvimento de pré-malignidades e malignidades na pele e nos lábios. Algumas evidências incluem maior prevalência dessas afecções em áreas do corpo expostas ao sol; aumento da incidência de lesões em pessoas de pele clara que se queimam com facilidade, mas nunca bronzeiam; maior prevalência de câncer em áreas do mundo com maior insolação e maior ocorrência em pessoas que trabalham ao ar livre (Pathak, 1985).

O sol emite radiação UV através de um amplo espectro, dividido em faixas de acordo com o comprimento de onda e quantidade de energia, da seguinte forma: UVA que corresponde a faixa de 315-400nm, UVB de 280-315nm e UVC com comprimento de onda menor que 280nm (De Gruijl, 1999). Quanto menor o comprimento de onda, maior e mais penetrante é a energia da radiação.

A radiação UVA tem o maior comprimento de onda e baixa quantidade de energia UV, correspondendo a mais de 90% da radiação solar (Quinn, 1997). Seus principais efeitos danosos sobre a pele são

ressecamento, envelhecimento precoce e desenvolvimento de câncer de pele. A radiação UVB tem menor comprimento de onda e uma quantidade de energia maior que a radiação UVA. Penetra mais efetivamente na pele causando pigmentação profunda. Desencadeia os mesmos danos da radiação UVA, porém, seus efeitos são mais marcantes. A radiação UVC é a mais penetrante de todas, com maior potencial de dano à pele, mas a maior parte é filtrada pela camada de ozônio (Thornhil, 1993).

Os efeitos deletérios da radiação UV dependem da duração e frequência da exposição, da intensidade da radiação, latitude e das características genéticas do indivíduo, como cor e fototipo de pele, principalmente. (Juchem, et al., 1998). Dependendo do comprimento de onda e da quantidade de energia, a radiação UV irá exercer efeitos importantes sobre a pele humana, principalmente através da estimulação de reações fotoquímicas e de mutações no DNA de células da pele expostas à radiação (Thornil, 1993; De Gruijl, 1999).

O envelhecimento da pele ocorre basicamente através de dois processos independentes, mas que ocorrem simultaneamente. No envelhecimento cronológico ou intrínseco a pele é afetada por lentas e irreversíveis alterações. O envelhecimento extrínseco ou fotoenvelhecimento é resultante da exposição a fatores ambientais, principalmente a radiação UV, que causa as alterações cutâneas mais visíveis. Os dois processos de envelhecimento ocorrem lentamente ao longo de décadas, como resultado de um dano cumulativo (Seité et al., 2004).

A pele comprometida pela radiação UV caracteriza-se clinicamente por rugas, aspereza, aspecto amarelado, despigmentação, telangiectasia e poderá desenvolver uma série de neoplasmas benignos e malignos (Griffthis, 1992). O ultimo estágio desse processo acontece no tecido conjuntivo dermal (Smith et al., 1962; Warren et al., 1991). Este dano é caracterizado pela rarefação e desorganização das fibras colágenas e depósitos de material elastótico (Seité et al., 2004).

2.2 Fotocarcinogênese

Fotocarcinogênese é o conceito dado a uma série de eventos que ocorrem após exposição à luz ultravioleta e que levam à formação de DNA alterado, com subsequente mutação celular (Rünger, 2003).

A radiação UVB e UVC são largamente responsáveis por mutações induzidas pela luz do sol e conseqüentemente pela carcinogênese UV-induzida. Para o desenvolvimento do câncer de pele, a radiação UV deve ser capaz de iniciar dois eventos fundamentais: a transformação neoplásica de células da pele e uma desregulação sistêmica da função imune mediada por células (Kripke, 1981; McKenzie et al., 1999).

Diversos mecanismos de defesa celular reduzem a probabilidade de que o dano celular resulte em mutação. Muitas destas respostas protetoras podem ser induzidas pela radiação UV, por meio de proteção adicional contra exposições subseqüentes. Todas essas respostas são mediadas por uma rede de moléculas sinalizadoras, muitas das quais envolvem o gene supressor tumoral p53 (Rünger, 2007). Mutações no gene p53 induzidas por radiação UV, com subseqüentes respostas de dano celular, são a porta de entrada para o desenvolvimento da maioria dos carcinomas de células escamosas cutâneos (Brash et al., 1996).

A melanina que cobre o núcleo dos queratinócitos basais reduz a formação de dano ao DNA após exposição da pele à radiação UV. Na maioria dos indivíduos, quando o DNA é alterado, este dano é reparado e não leva à formação de mutações. Isto é bem exemplificado se levarmos em consideração uma doença genética conhecida como xeroderma pigmentoso, em que há uma relativa inabilidade no reparo do DNA danificado pela radiação UV o que resulta no aumento da frequência

de câncer de pele em áreas expostas a radiação nos indivíduos afetados pela doença (Rünger, 2007).

O controle do ciclo celular também é um mecanismo que inibe a formação de mutações em locais com DNA alterado, principalmente na transição da fase G1/S, que captura as células com DNA alterado e impede sua replicação (Decraene et al., 2001).

A ativação de vias de sinalização após dano ao DNA resulta em apoptose das células irradiadas por UV. Isto previne a sobrevivência de células com DNA alterado e posterior mutação. Ainda que uma mutação se estabeleça, a maioria das células mutadas é destruída por células do sistema imune. Esta vigilância imunológica desempenha um papel extremamente importante na prevenção do câncer, mas é inibida na pele exposta cronicamente a radiação UV (Rünger, 2007).

2.3 Imunossupressão induzida por UVB

A pele é um órgão capaz de iniciar a resposta do sistema imune contra antígenos externos e um grande número de células dermais e epidermais participam das reações imunes da pele. Células de Langerhans e queratinócitos são responsáveis por iniciar a atividade imune, enquanto fibroblastos dermais, células dendríticas, MCs e células endoteliais mantêm e medeiam a resposta imune. A exposição à radiação UV pode diretamente alterar a função destas células, resultando em supressão da resposta imune (Ch'ng et al., 2006).

Os cânceres de pele induzidos por radiação UV são altamente imunogênicos e serão rejeitados por um sistema imunológico competente e não comprometido pela radiação. A imunossupressão induzida por radiação, principalmente UVB, impede a destruição

imunológica desses tumores (Hart et al., 2001). Kripke, em 1981, foi o primeiro autor a demonstrar através de modelo animal que tumores induzidos por UVB se desenvolveram em camundongos irradiados, mas foram rejeitados quando transplantados para um receptor não-irradiado.

Estudos realizados em humanos e em animais demonstraram que certas funções imunes declinam com a idade, em especial a função dos linfócitos T. O declínio das funções imunológicas acarreta perda da capacidade do sistema imune em destruir células afetadas pela radiação UV e substituí-las por novas células. A ocorrência, freqüentemente observada no desenvolvimento de ceratoacantomas, ceratoses e epiteliomas em pacientes imunodeprimidos, sugerem que para o controle das malignidades cutâneas é importante que o sistema imune esteja intacto e seja capaz de reconhecer e destruir células alteradas pela radiação UV (Pagnano, 1990).

A epiderme humana apresenta várias camadas de espessura e impede que mais de 90% da radiação UVB seja transmitida para a derme vascularizada. Para que a radiação UV exerça seus efeitos danosos, é necessário a existência de um fotorreceptor epidermal para UVB (Hart et al., 2001). Tanto o DNA quanto o ácido *trans*-Urocânico- (*Trans*-UCA) têm sido implicados como sendo fotorreceptores para sinais imunossupressivos iniciados por UVB (Applegate et al., 1989; Noonan; DeFabo, 1992).

A evidência de que o DNA age como fotorreceptor provém de estudos utilizando enzimas T4N5 lipossomo-encapsuladas que podem reparar quebras na cadeia de DNA. O uso dessas enzimas em locais irradiados tem resultado em síntese reduzida de Fator de Necrose Tumoral- α (TNF α) e Interleucina-10 (IL-10) por queratinócitos irradiados e reversão das propriedades imunossupressivas da radiação UVB *in vivo* e *in vitro* (Applegate et al., 1989; Kripke et al., 1992).

Trans-UCA é uma espécie molecular localizada superficialmente no extrato córneo (Hart et al., 2001). Quando irradiado é

convertido no isômero mais solúvel *cis* (Noonan; DeFabo, 1992). Modelos experimentais indicaram que um anticorpo contra *cis*-UCA neutralizou os efeitos imunossupressivos da radiação UVB sugerindo ser este o fotorreceptor para UVB presente na epiderme (El-Ghorr et al., 1995; Kondo et al., 1995; Moodycliffe et al., 1996).

Alguns indivíduos parecem ser mais susceptíveis que outros em relação às propriedades imunossupressoras da radiação UV. Na população em geral, cerca de 50% das pessoas são susceptíveis a radiação UVB, como foi demonstrado por Tie et al. (1995), em um estudo sobre resposta de hipersensibilidade por contato. Em outro estudo, demonstrou-se que mais de 90% dos pacientes com câncer de pele não-melanoma são susceptíveis a radiação UVB (Streilein et al., 1994).

Kahn et al. (1998), demonstraram que pacientes com câncer de pele não-melanoma têm um risco de 20 a 30% maior de morte por outros cânceres, um fenômeno consistente com imunomodulação sistêmica induzida por UVB.

Damian et al. (1999), demonstraram através de modelo animal, que várias infecções experimentais bacterianas, virais e parasitárias foram desenvolvidas em hospedeiros irradiados por UVB, mas não em hospedeiros não-irradiados.

Além destes fatores, a prevalência de mastócitos (MCs) dermais está implicada como um fator essencial na susceptibilidade individual à imunossupressão induzida por UV. A radiação UVB ativa os MCs através da estimulação da isomerização de *trans*-UCA para *cis*-UCA, o que por sua vez estimula a degranulação de MCs (Hart et al., 1998). Uma das substâncias liberadas pelos MCs, a histamina, exerce um papel fundamental nos mecanismos de imunossupressão, como por exemplo, na estimulação da produção de prostanóides, principalmente Prostaglandina E₂ (PG)E₂ por queratinócitos. Além disso, apesar de *cis*-UCA sozinha ser capaz de estimular a produção de prostanóides, ela pode atuar em sinergia com a histamina gerando uma síntese aumentada de (PG)E₂, que

está envolvida principalmente nos processos inflamatórios que ocorrem na pele após exposição à radiação UV (Jaksic et al., 1995).

A histamina também pode influenciar a migração de células imunes no local irradiado com UVB ou para linfonodos próximos. (Laberge et al., 1995). Esse mediador químico pode regular a proliferação de linfócitos, suprimindo a expansão de linfócitos T helper 1 (Th1) e alterando perfis de citocinas, suprimindo a produção de IL-12 e estimulando a produção de IL-10 através de receptores de histamina H₂ (Lagier et al., 1997; Elenkov et al., 1998). Os efeitos da histamina sobre células apresentadoras de antígenos ainda não são totalmente conhecidos (Hart et al., 2001).

2.4 Mastócitos

Os mastócitos (MCs) foram descobertos no final do século XIX por Paul Ehrlich, na época um estudante de medicina, que os caracterizou pela presença de grânulos em seu citoplasma que se coravam metacromaticamente com corantes básicos. (Ehrlich citado por Crivellato, 2008). Diversas pesquisas vem sendo realizadas ao longo dos anos principalmente pela diversidade biológica e funcional apresentada por essas células, que desempenham um papel central na imunidade inata e adquirida, sendo fundamentais para a defesa do organismo (Metcalf et al., 1997; Kirshenbaum, 2000).

Os MCs são células derivadas de precursores pluripotenciais da medula óssea que expressam o antígeno CD34 e iniciam sua diferenciação sob influência do fator de células tronco (*stem cell factor*- SCF) e da IL-3. Pertencem a uma linhagem distinta de monócitos e macrófagos e precursores de granulócitos (Golgar; Bernhard, 1997; Katsambas et al., 1999; Robbie-Ryan; Brown, 2002).

Em MCs murines e humanos, ocorre um processo gradual de aquisição de receptores de superfície e componentes intracelulares que caracterizam essas células como maduras ou diferenciadas. Este processo é realizado principalmente pelo SCF que se liga ao receptor tirosina-quinase *c-kit*, expresso na membrana dos MCs (Galli, 2000). O SCF é produzido pelas células endoteliais, fibroblastos e células epiteliais e atua em conjunto com diversas citocinas, que incluem IL-3, IL-4, IL-9, IL-10 e fator de crescimento neural (NGF) (Metcalf et al., 1997; Ashman, 1999), sendo os MCs expostos continuamente e em seqüência a estes fatores de crescimento (Galli, 2000).

Os precursores dos MCs migram da circulação para os tecidos periféricos onde, sob a influência de fatores do microambiente local, completam sua maturação e se diferenciam em MCs maduros (Galli, 2000; Ch'ng et al., 2006). Nesses locais, sob a influência do SCF e outras citocinas localmente produzidas (IL-3, IL-4, IL-9, IL-10), expressam seu fenótipo final (Metcalf et al., 1997).

O MC maduro é uma célula relativamente grande, de 15 a 20µm, com formato fusiforme, poligonal ou oval e com citoplasma levemente eosinofílico contendo grânulos em seu interior. O núcleo é basofílico, levemente excêntrico e também relativamente grande, com cerca de 4 a 7 µm de diâmetro, podendo estar presentes um ou mais nucléolos. É caracterizado pela presença de grânulos que ocupam de 50 a 55% do citoplasma (Katsambas, 1999; Jolly et al., 2000).

Classicamente os MCs são divididos em duas subpopulações, baseados em suas propriedades bioquímicas e distribuição anatômica: MCs de tecido conjuntivo e MCs de mucosa (Hallgren, et al., 2007). Além de sua distribuição anatômica os MCs também diferem quanto a expressão de proteases neutras como triptase ou a combinação de triptase, quimase, carboxipeptidase e catepsina G. MCs de tecido conjuntivo expressando triptase e quimase são o maior subtipo encontrado na derme da pele. Eles estão geralmente localizados

na derme papilar, adjacentes a vasos sanguíneos e linfáticos e em proximidade com nervos periféricos (Metcalf et al., 1997).

Os MCs armazenam e liberam inúmeros mediadores que exercem diferentes funções e atividades biológicas. Os mediadores pré-formados incluem histamina, proteoglicanas e enzimas (triptase, quimase, carboxipeptidase, catepsina G, hidrolases ácidas, fosfolipase, aminopeptidase e exoaminodase), mediadores sintetizados, que incluem IL1 a IL-8, TNF- α , IL-12, IL-13, IL-15, quimiocinas, fatores de crescimento e de angiogênese (VEGF, PDGF), além de outros mediadores fisiológicos como leucotrienos e prostaglandinas (McNeil, 1996; Church; Levi-Schaffer, 1997).

A triptase é a enzima predominante e está presente em todos os MCs humanos. É a protease primária dos MCs do pulmão, pele e trato gastrointestinal. É uma enzima composta de um tetrâmero de 134 kDa, com duas subunidades, de 31-34 kDa e cada uma possui um sítio de ativação simples (Metcalf et al., 1997).

A triptase é capaz de clivar fibrinogênio e ativar collagenases latentes, hidrolisar alguns neuropeptídeos e também é tida como potente fator angiogênico (Gruber et al., 1986; Ruoss et al., 1991; Crivellato et al., 2008).

Os MCs desempenham uma variedade de funções, sendo uma parte importante do sistema imune inato, participando de diversos processos, incluindo defesa contra infecções bacterianas, angiogênese (Crivellato; Ribatti, 2005), processos alérgicos e doenças auto-imunes, como artrite reumatóide (Lee et al., 2002; Eklund, 2007).

Estas células também expressam moléculas de adesão, receptores e moléculas de superfície que permitem que possam reagir a múltiplos estímulos específicos ou não-específicos (Metcalf et al., 1997). Essas características biológicas somadas a sua localização estratégica próxima a vasos, nervos, áreas de inflamação e locais de desenvolvimento neoplásico, desempenham um papel chave em múltiplos processos

fisiológicos, imunológicos e patológicos (Church; Levi-Schaffer, 1997; Tan et al., 2004).

Os métodos histoquímicos mais eficientes para identificação dos MCs são: azul de toluidina em pH baixo e técnicas enzimo-histoquímicas para detectar especificamente triptase ou quimase, sendo estas proteases os melhores marcadores específicos para MCs (Metcalf et al., 1997; Jolly et al., 2000).

2.4.1 Mastócitos e Neoplasias

Os MCs têm sido associados à resistência ou susceptibilidade a tumores. Essas células são vistas acumulando-se ao redor de certos tumores e participando das reações inflamatórias que ocorrem nas margens de neoplasias (Crivellato et al., 2008).

Outro ponto que liga os MCs ao câncer é a reconhecida capacidade dessas células de sintetizar e liberar potentes substâncias angiogênicas, como Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF), Fator de Crescimento de Fibroblastos (FGF), IL-8, Fator de Crescimento Transformador- β (TGF- β), Fator de crescimento neural (NGF), proteases séricas como Quimase e Triptase, entre outras (Theoharides et al., 2007).

Os MCs secretam moléculas que facilitam a vascularização do tumor, não somente pelo efeito angiogênico direto, mas também pela estimulação de outras estruturas e células inflamatórias no “microambiente” tumoral que liberam fatores angiogênicos e citocinas, bem como proteases que degradam a matriz extracelular. Além disso, metaloproteinases (MMPs) derivadas de MCs podem degradar o estroma intersticial do tumor e liberar fatores angiogênicos ligados a matriz extracelular (Crivellato et al., 2008).

Dabbous et al. (1986), demonstraram que MCs degranulados estão comumente associados com a degradação e lise da matriz de tecido conjuntivo favorecendo a infiltração do tumor. Essas células têm sido implicadas nesse processo de maneira direta, através da ação de suas enzimas, ou indiretamente, pela modulação da atividade colagenolítica de fibroblastos, macrófagos e células tumorais (Baram et al., 2001; Stack; Johnson, 1994).

Flynn et al. (1991) em um estudo em que CE foi induzido em hamsters por repetidas aplicações tópicas de dimetilbenzantraceno demonstraram migração sequencial de MCs, com progressão para displasia e subsequente desenvolvimento de carcinoma. Os MCs migraram da profundidade do tecido conjuntivo para o epitélio displásico. Os autores sugerem que os MCs são atraídos para áreas carcinomatosas onde são estimulados a degranular.

Kankkunen et al. (1997) analisaram a densidade de MCs triptase e quimase positivos em 30 lesões benignas e 98 malignas de mama. Nas lesões benignas o número de MCs triptase positivo foi similar aos MCs quimase positivo, entretanto, nas lesões malignas a quantidade de MCs triptase positivo foi 2 a 3 vezes maior e se concentravam principalmente na zona de invasão tumoral.

É aceito que a maioria dos cânceres de cólon se desenvolvem a partir de pólipos adenomatosos. Em uma recente investigação experimental em camundongos, demonstrou-se que esses pólipos estavam infiltrados por MCs e seus precursores (Gounaris et al., 2007).

O mieloma múltiplo em humanos está freqüentemente associado com infiltração de MCs e neovascularização, que correlacionam-se diretamente com a severidade da doença. Evidências experimentais indicaram que a Angiopoetina-1 secretada por MCs de camundongos promoveram marcada neovascularização nessas lesões.(Nakayama et al., 2004).

Um estudo realizado em lesões de câncer endometrial investigou a atividade de MCs triptase-positivos e demonstrou a correlação entre angiogênese, medida através da contagem microvascular e a quantidade de MCs triptase-positivos, demonstrando que esses parâmetros aumentaram com a progressão do tumor (Ribatti et al., 2005).

Iamaroon et al. (2003) correlacionaram a densidade de MCs e angiogênese em biópsias de 26 casos de carcinoma de células escamosas oral de diferentes localizações, 6 casos de displasia oral, 10 casos de hiperqueratose, e 6 casos de mucosa oral normal por meio de imunoistoquímica utilizando os anticorpos anti-triptase e anti-fator de Von Willebrant para MCs e células endoteliais, respectivamente. A densidade de MCs e microvasos aumentou nos estágios de progressão da mucosa normal para carcinoma, sugerindo que os MCs atuam aumentando a angiogênese e conseqüentemente, auxiliando no processo de carcinogênese.

Malignidades cutâneas são o tipo mais comum de câncer no mundo. De acordo com a American Cancer Society, elas correspondem a mais da metade de todos os cânceres dos EUA. Na Austrália e Nova Zelândia, onde a incidência de câncer de pele é uma das mais altas do mundo, o número total de malignidades cutâneas excede todos os outros tipos de câncer somados (Ch'ng et al., 2006).

Diversos estudos demonstraram a presença de MCs acumulados ao redor das margens de malignidades cutâneas (Aoki et al., 2003). Em outros, essas células aparecem acumuladas entre o infiltrado inflamatório peritumoral, sugerindo que contribuem para um microambiente permissivo favorecendo a carcinogênese e metástase (Coussens; Werb, 2001; Theoharides; Conti, 2004).

Estudos histopatológicos em carcinomas de células basais e carcinoma epidermóide demonstraram que a densidade de MCs é especialmente alta nas variantes mais agressivas (Cohen; Rogers, 1995; Humphreys et al., 2000; Aoki et al., 2003; Erkilic; Erbagci, 2001).

O aumento da densidade de MCs e pior prognóstico também foi demonstrado durante a progressão de lesões névicas para melanoma maligno. A transformação de lesões névicas comuns, penetração na derme, e subsequente formação de metástase foram associadas ao aumento do número de MCs. Correlação simultânea foi notada entre a porcentagem de microvasos, porcentagem de células tumorais positivas para FGF-2, e o número total de MCs e de MCs triptase-positivos (Ribatti et al., 2003).

Grimbaldeston et al. (2002), sugerem que a alta prevalência de MCs dermais, determinada geneticamente, é um fator que torna alguns indivíduos mais susceptíveis ao desenvolvimento de carcinoma de células basais e melanoma, porque predispõe a imunossupressão induzida por radiação UVB.

Em 2003, Grimbaldeston et al. analisaram a prevalência de MCs humanos em indivíduos saudáveis com idades entre 23 e 85 anos, através de biópsias de pele retiradas de áreas expostas e não-expostas a radiação solar, como nádegas, parte interna do braço, ombro e dorso das mãos. Os resultados mostraram que a prevalência de MCs dermais foi significativamente mais alta na pele do dorso das mãos, área freqüentemente exposta a radiação, quando comparada as outras três localizações.

Grimbaldeston et al. (2004) analisaram a prevalência de MCs dermais em 45 pacientes portadores de melanoma e 68 voluntários sem história de desenvolvimento de câncer de pele. Nesse estudo foram analisadas biópsias de pele da região das nádegas, por se tratar de área não exposta cronicamente a radiação UV. Os resultados demonstraram que a prevalência de MCs nos pacientes com melanoma foi significativamente maior quando comparada ao grupo controle e sugerem que a exposição intermitente e/ou intensa a radiação UV ainda durante a infância pode induzir imunomodulação sistêmica e estar diretamente relacionada ao desenvolvimento de melanoma.

2.5 Queilite Actínica

A Queilite Actínica (QA) é uma condição pré-maligna que acomete principalmente o lábio inferior, causada por exposição solar crônica e/ou excessiva. A QA é uma lesão de grande importância clínica, pois é reconhecidamente cancerizável ou pré-maligna, que se não for diagnosticada e tratada pode evoluir para um carcinoma epidermóide (CE) de lábio (Ayres, 1923; Nicolau; Balus, 1964; Baker, 1980; Cataldo; Doku, 1991; Main; Pavone, 1994; Santos et al., 2003).

A QA foi descrita pela primeira vez por Ayres em 1923, ao relatar 5 casos de lesões labiais caracterizadas por inflamação crônica com ulceração, localizada principalmente no lábio inferior de indivíduos que exerciam atividades ao ar livre e que recorria com frequência nos meses de verão. Esse autor foi o primeiro a estabelecer uma associação causal entre essa afecção e a exposição à luz solar. Outras denominações têm sido utilizadas para essa condição, como queilose actínica, ceratose actínica e ceratose solar, porém o termo queilite actínica parece ser o mais apropriado (Kaugars et al., 1999).

A radiação solar é o principal agente etiológico da QA. Mas outros fatores também têm sido relacionados ao surgimento dessa condição tais como trauma, infecções pelos vírus do herpes simples e papiloma vírus (HSV e HPV), infecções bacterianas, predisposição genética e hereditária, condição nutricional, imunológica e fatores adjuvantes como o uso de tabaco e etilismo (Lundeen et al., 1985; Manganaro et al., 1997; De Visscher; Van der Waal, 1998; Moore et al., 1999).

Acredita-se que de 10 a 20% das lesões de QA possam sofrer transformação maligna, mas o espaço de tempo para que a transformação em carcinoma ocorra é imprevisível (1-20 anos) (Krunik et al., 1998). Na literatura não encontramos trabalhos que demonstrem o

percentual de transformação maligna da QA, que pode ser mais elevado quando estão associados a outros fatores carcinogênicos, como o fumo nas suas mais variadas formas (Marcucci et al., 1997).

2.5.1 Características clínicas e histopatológicas da QA

A literatura aponta como indivíduos de alto risco para a QA homens brancos ou caucasianos, com mais de 50 anos de idade, fumantes (Cataldo; Doku, 1981; Markopoulos et al., 2004) e com história de exposição crônica a radiação solar (Nicolau; Balus, 1964; Lundeen et al., 1985; Main; Pavone, 1994; Kaugars et al., 1999; Markopoulos et al., 2004; Neville et al., 2004; Cavalcante et al., 2008).

O lábio inferior é cerca de 10 vezes mais afetado que o superior, devido principalmente a sua posição anatômica, estando mais diretamente exposto à radiação UV (Oliveira et al., 1985; Kaugars et al., 1999). Essa região apresenta menor proteção por ter epitélio fino e pouco queratinizado quando comparada à pele (Nicolau; Balus, 1964; Main; Pavone, 1994; Ibsen; Phelan, 1996).

Markopoulos et al. (2004), relatam que o uso de cigarro pode desempenhar um importante papel na preferência das lesões de QA pelo lábio inferior, porque a maioria dos pacientes utiliza o cigarro apoiado nos lábios quase sempre no mesmo local. Além disso, o calor desprendido por cabos de cachimbo em contato com o lábio inferior pode agravar a QA em alguns casos (Lundeen et al., 1985). O uso de batom pelas mulheres parece conferir proteção aos lábios, o que torna a ocorrência de QA baixa neste grupo (Lundeen et al., 1985).

Apesar da QA acometer com maior frequência homens brancos, não é uma doença exclusiva deste grupo. Na Somália existe uma alta incidência de QA, apesar da maioria da população deste país ser composta por indivíduos negros. Estes apresentam características

esqueléticas e dentais que contribuem para uma alta exposição dos lábios a radiação UV solar. Nesse país, as mulheres são expostas à radiação UV tanto quanto os homens, devido exercerem atividades similares (Goracci et al., 1981).

São descritas duas formas clínicas de QA: aguda e crônica (Nicolau; Balus, 1964; Gibson; Perry, 1980). A forma aguda é mais comum em jovens e ocorre após exposição intensa ao sol. Clinicamente, as formas mais severas são caracterizadas por edema, vermelhão, fissuras e ulceração. Podem também estar presentes vesículas que se rompem formando erosão superficial (Picascia; Robinson, 1987). A forma crônica geralmente se manifesta como resultado do dano cumulativo do sol ao longo dos anos, podendo também ser consequência da forma aguda. É usualmente encontrada em indivíduos acima dos 50 anos, com pico entre a 6ª e 7ª décadas de vida (Kaugars et al., 1999). O lábio geralmente apresenta-se ressecado, atrófico, recoberto por superfície mucosa fina, pálida, frequentemente observa-se manchas e/ou placas brancas e áreas eritematosas, fissuras, erosões ou ulcerações superficiais e perda de definição do limite entre o vermelhão do lábio e a pele. Em alguns casos o paciente não apresenta sintomatologia, em outros refere sensação de queimação ou formigamento (Ayres, 1923; Nicolau; Balus, 1964, Cataldo; Doku, 1981; Picascia; Robinson, 1984; Terezhalmay; Naylor, 1993; Main; Pavone, 1994, Awde et al., 1996; Cavalcante et al., 2008).

Markopoulos et al. (2004) avaliaram 65 pacientes com diagnóstico de QA. Destes, 47,7% apresentavam erosões ou ulcerações labiais, 29,2% apresentavam lesões esbranquiçadas e não ulceradas e em 23,1% dos casos havia erosões e úlceras juntamente com áreas esbranquiçadas ou atróficas. Além disso, em 11 pacientes (16,9%) foi diagnosticada a presença de CE, sendo 9 casos detectados durante o exame inicial e 2 casos sofreram transformação maligna.

Devido a possibilidade de transformação maligna da QA, alguns autores relacionam determinados aspectos clínicos que devem ser

considerados quando da análise dessas lesões: áreas elevadas, endurecidas, eritematosas, presença de placa branca e úlcera não cicatrizante (Main; Pavone, 1994), perda de nitidez entre o limite do lábio e a pele e aumento da consistência labial a palpação (Aguilar, 1995).

O diagnóstico diferencial da QA deve ser feito com lúpus eritematoso, líquen plano, outros tipos de queilite (glandular, esfoliativa e queilite de contato) dermatite de contato, eritema multiforme, pênfigo vulgar, leucoplasia e CE (Picascia; Robinson, 1987; Laskaris, 2004).

As alterações histológicas mais frequentemente encontradas na QA são aumento da camada córnea (hiperqueratose), podendo ser para ou ortoqueratose, queratinização prematura e individual de queratinócitos (disqueratose), aumento da espessura do epitélio (hiperplasia), ou diminuição do número de queratinócitos, com atrofia do epitélio. Pode ocorrer exulceração e graus variados de displasia. Sob a área ulcerada pode estar presente infiltrado inflamatório de intensidade variável, podendo estender-se até a região submucosa (Koten, 1967; Cataldo; Doku, 1991). O achado histológico mais consistente é a degeneração basofílica amorfa das fibras colágenas e elásticas, conhecida como elastose solar (Cataldo; Doku, 1981; Robinson, 1989; Kaugars et al., 1999, Markopoulos et al., 2004; Cavalcante et al., 2008).

A atipia epitelial também é uma alteração relativamente freqüente na histopatologia da QA. Pindborg et al., (1997) afirmam que a relação entre atipia epitelial e seus vários graus (leve, moderada, severa), e o desenvolvimento de câncer ainda não estão bem estabelecidos.

Reibel et al. (2003) afirmam que a presença de atipia epitelial é aceita como o mais importante fator para o desenvolvimento de malignidades e que as alterações nas lesões consideradas pré-malignas podem indicar quais destas tem maior potencial para transformação em carcinoma.

A presença de infiltrado inflamatório pode induzir atipias reativas, modificando a confiabilidade no diagnóstico de atipia, por isso, a

severidade das lesões que apresentam inflamação não é totalmente fidedigna (Fischer et al., 2004).

No trabalho de Cavalcante et al. (2008) foram analisados os aspectos clínicos e histopatológicos de 29 casos de QA, e as alterações histológicas mais evidenciadas foram atipia, do grau mais leve até o severo; elastose solar, infiltrado inflamatório e vasodilatação em 100% dos casos; hiperplasia e/ou acantose em 86,21% dos casos e em 58,62% dos casos havia hiperparaqueratose.

Diversos estudos tem sido realizados em lesões potencialmente malignas como a QA, no intuito de pesquisar marcadores de prognóstico que permitam a identificação das lesões com maior potencial de transformação maligna. O gene supressor tumoral p53 é um dos mais estudados por ser o que mais comumente sofre mutação causada por radiação UV (Leffell, 2000).

Segundo De Rosa et al. (1999) histopatologicamente a QA pode ser considerada semelhante ao carcinoma *in situ*, porém, biologicamente representa uma lesão benigna. Esses autores estudaram 44 biópsias de lesões malignas e potencialmente malignas de lábio inferior, que incluíam 30 CE, 7 QA, 3 casos de leucoplasia e 4 de nódulos de metástase de CE de lábio inferior. Analisaram a expressão imunoistoquímica de p53, antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), c-myc, (uma oncoproteína) e regiões organizadoras nucleolares coradas pela prata (AgNORs). Os resultados demonstraram positividade para p53 em carcinomas de alto grau de malignidade e em lesões potencialmente malignas; expressão da oncoproteína c-myc, que estaria relacionada aos estágios finais da carcinogênese; metástase estava associada com superexpressão de p53 e que o tamanho e número de AgNORs e a positividade do PCNA são parâmetros sensíveis para discriminar lesões malignas e potencialmente malignas.

Martinez et al. (2005) analisaram imunoistoquimicamente a expressão e padrão de distribuição das proteínas apoptóticas p53, bax,

bcl-2, e marcador de proliferação celular Ki-67, em 13 lesões de QA, 7 espécimes de lábios normais e 6 de mucosa oral normal. Os resultados mostraram que a proteína p53 estava superexpressa em lesões de QA quando comparada a lábios normais e mucosa oral normal; bcl-2 estava também mais expresso em lesões de QA quando comparado a mucosa normal, porém estava significativamente reduzido na QA quando comparado a lábios normais; expressão de bax permaneceu inalterada e a de Ki-67 estava aumentada em QA quando comparado à mucosa e lábios normais. Os autores sugeriram que as proteínas p53 e bcl-2 podem desempenhar um importante papel na regulação do potencial de transformação maligna da QA.

Pimentel et al. (2006) realizaram estudo no qual analisaram 70 casos de QA crônica, isolada e adjacente a CE avaliando a histopatologia das lesões e a expressão da proteína p53. Concluíram que não havia diferença significativa entre a proporção de células positivas para o p53 em amostras com e sem tumor adjacente e sugeriram que a proteína p53 não pode ser usada como marcador prognóstico de auxílio entre os tipos de QA mais susceptíveis à transformação maligna para CE.

Martinez et al. (2008) analisaram imunoistoquimicamente a expressão das proteínas reguladoras do ciclo celular p53, mdm-2 e p21 em lesões de QA e lábios normais. A expressão das proteínas p53 e mdm-2 estavam significativamente aumentadas em lesões de QA quando comparada aos lábios normais e não houve diferença na expressão da proteína p21 em lesões de QA e lábios normais. Os autores sugerem que alterações na expressão da proteína p53 em lesões de QA constituem-se num marcador potencial sugestivo de transformação maligna.

Rojas et al. (2004) avaliaram a densidade de MCs triptase e quimase positivos, em casos de QA e de lábios normais. O número destas células estava aumentado e apareciam degranuladas especialmente ao redor das áreas elastóticas nos casos de QA. Os MCs contendo triptase distribuíam-se na junção epitélio-conjuntivo e no tecido

conjuntivo nos casos de QA; nos lábios normais, eram encontrados no tecido conjuntivo e nas regiões submucosas. Esses dados mostraram que a densidade de MCs aumentada pode contribuir para a elastose na QA e que alterações na distribuição de MCs contendo triptase podem favorecer a malignização da lesão.

2.6 Carcinoma Epidermóide de lábio

O carcinoma de lábio é um câncer de cabeça e pescoço relativamente comum, representando aproximadamente 25% de todos os carcinomas da cavidade oral (Zitsch et al., 1995; Kyzas et al., 2004). Aproximadamente 90% dos cânceres de lábio são carcinomas epidermóides (CE) (Jovanovic, et al., 1993; De Visscher; Van der Wall, 1998; Vukadinovic et al., 2007). Outros casos podem incluir neoplasias de glândulas salivares, carcinomas basocelulares e neoplasias raras (Kubler et al., 2001).

O CE de lábio desenvolve-se geralmente de casos de QA pré-existente e não tratada, ou pode co-existir com esta (Main; Pavone, 1994). A exposição solar prolongada e repetida pode levar a uma eventual progressão ao CE invasivo (De Visscher; Van der Wall, 1998).

A etiopatogenia do CE de lábio é multifatorial, e está principalmente relacionada à exposição ao sol, fumo, predisposição genética (por exemplo: mutações no gene supressor tumoral p53), e com a evolução de lesões pré-cancerosas como, radiodermatites, xeroderma pigmentoso e QA (De Visscher; Van der Wall, 1998; Moretti, 2003).

O grupo mais acometido inclui indivíduos com pouca ou nenhuma capacidade de bronzeamento e que apresentam eritema após a exposição solar. É até 30 vezes mais comum em pessoas de pele clara quando comparados a pessoas negras (De Visscher; Van der Wall, 1998),

acometendo principalmente homens entre a 7ª e 8ª décadas de vida (De Visscher; Van der Wall, 1998; Salgarelli et al., 2005; Vukadinovic et al., 2007).

2.6.1 Características Clínicas e Histopatológicas do CE

Clinicamente o CE de lábio geralmente manifesta-se como uma lesão ulcerada, endurecida, de crescimento lento e que não cicatriza. A razão homem-mulher é de 2:1 e o pico de incidência ocorre entre os sessenta e setenta anos de idade. Está normalmente associado à QA e pode surgir no local onde o cigarro, charuto ou cachimbo são colocados pelo paciente devido a ação combinada da radiação UV, calor e substâncias químicas. Apresenta crescimento e invasão locais, mas pode atingir estruturas adjacentes. Metástases para linfonodos loco-regionais não são comuns, podendo ocorrer de 5% a 10% dos casos, dependendo do estágio e grau de diferenciação histopatológico da doença, com os tumores indiferenciados apresentando metástases em até 35% dos casos, e redução da sobrevida em até 50% (Neville et al., 2004; Casino et al., 2006).

Apesar do câncer de lábio ser classificado como carcinoma de cavidade oral, sua localização e histomorfologia epitelial diferenciada lhe conferem características próprias que o assemelham a neoplasias de pele não-melanoma (De Visscher; Van der Wall, 1998; Horta et al., 2007).

Mesmo sendo o câncer de lábio de fácil visualização, em muitos casos há demora do paciente em buscar ajuda profissional por se tratar de uma lesão indolor. Isso faz com que grande parte dos cânceres de lábio sejam diagnosticados com cerca de 1,5 cm (Kaugars, 1999), o que pode levar a uma diminuição na média de sobrevida dos pacientes (Rojas et al., 2005).

O CE pode ocorrer em qualquer região dos lábios, mas as porções lateral e central são as mais acometidas. O lábio superior é pouco acometido, porém, quando ocorre nesta região, o tumor tende a apresentar maior agressividade se comparado ao CE de lábio inferior (Hasson, 2008).

Embora a forma clínica ulcerada seja a mais frequente, outras apresentações da doença podem ser vistas, como lesões exofíticas, com margens aparentemente bem delimitadas. Em alguns casos, após biópsia da lesão, pode ocorrer rápida recorrência local envolvendo grandes porções do lábio (Hasson, 2008).

Nos últimos anos diversas pesquisas vem sendo realizadas com intuito de melhor conhecer os aspectos moleculares e as interações e modificações celulares que ocorrem nos mais diversos tipos de carcinomas. Por isso, a parte mais avançada dos tumores, chamada de *front* de invasão, tem sido estudada com objetivo de determinar o potencial biológico de agressividade dos cânceres orais (Bryne et al., 1998).

Acredita-se que alterações nos mecanismos que controlam a diferenciação, migração, renovação e morte celular e distúrbios nas interações epitélio-mesênquima da interface tumor-hospedeiro, são a base do comportamento maligno dos carcinomas (Bànkfalvi; Piffkò, 2000)

Está bem estabelecido que pacientes em estágios similares de câncer oral, podem apresentar diversos cursos clínicos e respostas a protocolos de tratamentos similares. Até o momento, nenhum fator prognóstico estabelecido, sozinho ou combinado, é capaz de prever o comportamento biológico de um tumor. Nas últimas décadas, patologistas têm observado que as células tumorais das partes mais avançadas são substancialmente diferentes das células da parte central ou superficial dos tumores, postulando que as células do *front* de invasão são mais agressivas, apresentam baixo grau de diferenciação e alto grau de dissociação, possuem a capacidade de invadir estruturas vizinhas

como vasos sanguíneos e linfáticos e desta forma metastizar (Bryne, 1998, Bàngfalvi; Piffkò, 2000).

Estudos observaram a presença de MCs em áreas de invasão tumoral. Em 2005, Rojas et al. avaliaram o conteúdo e as subpopulações de MCs em espécimes de CE de lábio e espécimes de lábios normais. Verificaram maior conteúdo de MCs com triptase e com quimase/triptase nos casos de câncer, comparados com lábios normais. MCs contendo triptase e quimase predominaram no estroma intratumoral, enquanto aqueles com apenas triptase predominavam no estroma peritumoral. Concluíram que as subpopulações de MCs podem contribuir para a progressão do carcinoma de lábio; os MCs com triptase podem estimular a angiogênese e os que contêm triptase e quimase podem promover a degradação da matriz extracelular e progressão da lesão na região peritumoral.

3 PROPOSIÇÃO

Este trabalho tem como proposição comparar a expressão de mastócitos em lesões de Queilite Actínica, Carcinoma Epidermóide de lábio inferior, e mucosa labial normal, através de histoquímica e imunoistoquímica.

Relacionar a densidade de mastócitos com os diferentes graus de atipia epitelial nas lesões de Queilite Actínica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra

Nesta pesquisa foram analisados 66 casos de QA, 57 de CE em lábio inferior e 28 casos de mucosa labial normal que representaram o grupo controle, com diagnóstico clínico e histopatológico. Os espécimes do grupo controle são resultantes de biópsia terapêutica de mucocèle localizadas em lábio inferior. A maior parte da amostra foi referente a pacientes atendidos no ambulatório da disciplina de Propedêutica Estomatológica da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP.

Parte da amostra utilizada encontrava-se incluído em blocos de parafina no Laboratório da Disciplina de Patologia desta faculdade e parte foram de novos casos biopsiados no decorrer deste trabalho.

4.2 Avaliação clínica

Os pacientes que participaram desta pesquisa foram avaliados clinicamente e foi realizado o preenchimento de uma ficha clínica individual, para obtenção de informações a respeito do estado de saúde geral e bucal dos pacientes, além da descrição detalhada da(s) lesão(ões).

Os pacientes que receberam diagnóstico clínico de QA e CE foram informados a respeito da doença e antes de procedermos a biópsia incisional para confirmação do diagnóstico, os pacientes foram esclarecidos a respeito da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) concordando em participar deste estudo.

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – Universidade Estadual Paulista (UNESP), protocolo número 094/2007- PH/ CEP (Anexo A).

O exame clínico de cada paciente foi realizado no ambulatório da disciplina de Propedêutica Estomatológica com luz direta e indireta.

4.3 Procedimento cirúrgico

Após o completo exame clínico e preenchimento da ficha, os pacientes com diagnóstico clínico de QA e CE foram submetidos a biópsia incisional para confirmação do diagnóstico.

Como a QA é uma lesão multifocal, a semimucosa labial pode ter pontos atróficos e/ou eritematosos, manchas ou placas brancas, palidez, ressecamento (com aspecto sulcado ou descamação), infiltração e/ou úlcera. A biópsia realizada envolveu a área de maior expressividade clínica da lesão segundo a seguinte prioridade:

- 1- área ulcerada;
- 2- área eritematosa;
- 3- mancha ou placa branca;

Os espécimes de biópsias foram enviados para o Laboratório da Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP para análise anátomo-patológica em microscópio de luz após coloração com hematoxilina-eosina e diagnóstico final.

Todos os pacientes com diagnóstico de QA receberam orientação adequada e estão sendo acompanhados periodicamente em nosso ambulatório.

Os pacientes que receberam diagnóstico de CE foram encaminhados para tratamento cirúrgico com médico especialista e estão sendo acompanhados periodicamente com retornos individualizados em nosso ambulatório.

4.4 Procedimento laboratorial

4.4.1 Histoquímica

Os espécimes de biópsia após fixação em formol a 10% e inclusão em blocos de parafina, sofreram cortes seriados de 5µm e foram estendidos em lâminas de vidro para coloração pela técnica de rotina pela hematoxilina-eosina. Também foram confeccionadas lâminas com cortes de 5 µm para coloração com azul de toluidina. Neste caso, o tecido foi desparafinizado, reidratado e imerso em solução com azul de toluidina 0,1% (Sigma, St Louis, MO, EUA) durante 2-3 minutos. Na sequência as lâminas foram lavadas em água destilada e montadas com lamínulas.

4.4.2 Imunoistoquímica

A reação imunoistoquímica foi realizado pela técnica estreptavidina-biotina, utilizando anticorpo monoclonal Mast Cell Tryptase, clone AA1 para MCs humanos, em diluição de 1:2000 (Dako Corporation)

Para a técnica de imunoistoquímica foram realizados cortes de 3 µm de espessura a partir do material emblocado em parafina. Os cortes foram estendidos em lâminas de vidro previamente silanizadas.

Os cortes foram desparafinados em dois banhos de xilol: primeiro em estufa a 60° C por 30 minutos e o segundo à temperatura ambiente (TA) por 20 minutos. Em seguida foram reidratados em série decrescente de etanol, a partir de 3 passagens em etanol absoluto, seguidos por etanol 95%, 85% e 70% durante 5 minutos cada. A fim de se remover os pigmentos formólicos os cortes foram imersos em solução de hidróxido de amônia a 10% em solução alcoólica a 95% durante 10 minutos.

Após lavagem em água corrente e dois banhos em água destilada as lâminas seguiram para o bloqueio da peroxidase endógena, na qual foram realizados dois banhos de 15 minutos cada em solução de H₂O₂ a 6% e metanol absoluto na proporção de 1:1v/v.

Repetida a lavagem em água corrente e água destilada as lâminas foram imersas em solução de TRIS- pH 7,4, sendo três banhos de 5 minutos cada. Seguiu-se a incubação do anticorpo monoclonal Mast Cell Tryptase, AA1 (Dako Corporation) para MCs humanos por 40 minutos em câmara úmida e TA.

Após a incubação do anticorpo primário, as lâminas foram lavadas 2 vezes em TRIS-pH 7.4 por 5 minutos cada. Executou-se a incubação do anticorpo secundário por 30 minutos em TA. Em seguida as lâminas foram lavadas em água corrente e 2 banhos em TRIS-pH 7,4 por

5 minutos cada. Posteriormente foi aplicado o complexo terciário por 30 minutos em câmara úmida e TA. Em seguida repetiu-se a mesma seqüência: lavagem em água corrente e 2 banhos em TRIS-pH 7,4 por 5 minutos cada.

Como soro secundário e complexo terciário utilizamos o kit LSAB (Dako Corporation).

Para revelação da reação foi empregada a 3,3 diaminobenzidina tetrahydroclorido (DAB; Sigma, St Louis, MO/USA) 30 mg/100 ml por 30 minutos em câmara escura.

Em seguida, após nova lavagem em água corrente e água destilada, os cortes foram contracorados com Hematoxilina de Mayer por 5 minutos e novamente lavados. Após reidratação em soluções alcoólicas de diluições crescentes: 80GL, 95GL e álcool absoluto durante 5 minutos cada, as lâminas foram montadas com Permount (Sigma, St Louis, MO/USA) e lamínulas. Omissão do anticorpo primário foi utilizada como controle negativo.

4.5 Análise Histológica

Em todos os casos de QA da amostra corados com hematoxilina-eosina foram avaliados histologicamente a presença das seguintes características:

- a) Atipia;
- b) Hiperplasia epitelial/ acantose;
- c) Paraqueratose;
- d) Ortoqueratose;
- e) Hiperparaqueratose;

- f) Hiperortoqueratose;
- g) Atrofia;
- h) Elastose;
- i) Inflamação;
- j) Vasodilatação;

Os espécimes com diagnóstico de QA e corados pela hematoxilina-eosina também foram utilizados para identificação dos achados histológicos de atipia epitelial através da classificação de Van der Wall (1986), onde foi avaliado:

- a) Perda de polaridade das células basais;
- b) Duplicação da camada basal;
- c) Projeção dos cones epiteliais em gota;
- d) Aumento da relação núcleo/citoplasma;
- e) Hiperchromatismo nuclear;
- f) Nucléolos aumentados;
- g) Aumento de figuras mitóticas;
- h) Mitoses atípicas;
- i) Figuras mitóticas na porção mediana do epitélio;
- J) Pleomorfismo celular e nuclear;
- k) Estratificação irregular ou perda de estratificação do epitélio;
- l) Perda de coesão celular;
- m) Queratinização individual ou de grupos de células na camada espinhosa ou em camadas mais profundas.

A gradação de atipia epitelial foi efetuada segundo a proposta de Banóczy e Csiba (1976) que estabelece:

- a) Sem atipia: menos de dois critérios presentes;
- b) Atipia leve: dois critérios presentes;
- c) Atipia moderada: três a cinco critérios presentes;
- d) Atipia grave: mais de cinco critérios presentes.

4.6 Análise histomorfométrica

A análise histomorfométrica foi realizada em todos os casos corados com Azul de Toluidina e Triptase, obedecendo aos seguintes critérios:

- a) Espécimes de QA e Controle: Todos os espécimes de QA e do grupo controle foram analisados histomorfologicamente em objetivas de 5X, 10X e 20X para a escolha do melhor corte a ser analisado. Após a escolha do corte realizou-se a contagem em três campos, na região do tecido conjuntivo logo abaixo do epitélio, com objetiva de 40X: um campo mais a esquerda do corte, um campo mais a direita do corte e outro na área central (Figura 1).
- b) Espécimes de CE: Todos os espécimes de CE foram analisados histomorfologicamente em microscópio ótico com objetivas de 5X, 10X e 20X para a escolha do melhor corte a ser analisado. Após a escolha do corte realizou-se a contagem em três campos, com objetiva de 40X, na área de tecido conjuntivo adjacente a zona de invasão tumoral (*front de invasão*) (Figura 2).

A análise quantitativa dos MCs identificados histoquimicamente pelo azul de toluidina e imunoistoquimicamente pela triptase foram realizadas por um único observador e as imagens obtidas a partir de um microscópio de luz no aumento final de 400x, sob um foco fixo com clareza de campo. Em seguida as imagens foram capturadas através da câmera fotográfica digital Axiocam modelo MRc-5 acoplada ao fotomicroscópio Axioshop 40 (Carl Zeiss, Oberkochen, Alemanha) e avaliadas em monitor Siemens Fujitsu, no qual foi realizada a contagem manual das células, após sua individualização pelo *software* Axiovision 4.7 (Figura 3). Cada campo apresentava área de 0,04mm².

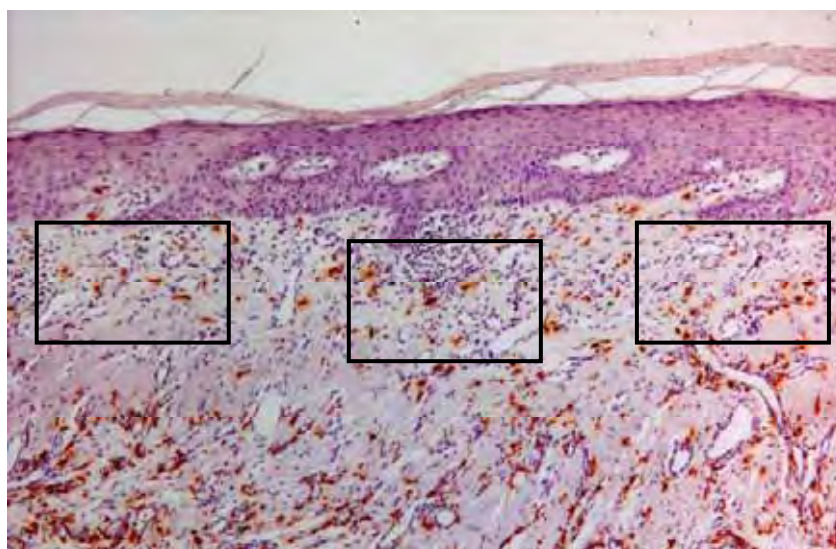


Figura 1- Fotomicrografia de lesão de QA com marcação imunoistoquímica dos MCs pela triptase, exemplificando as áreas de contagem dos MCs (Aumento original 50x).

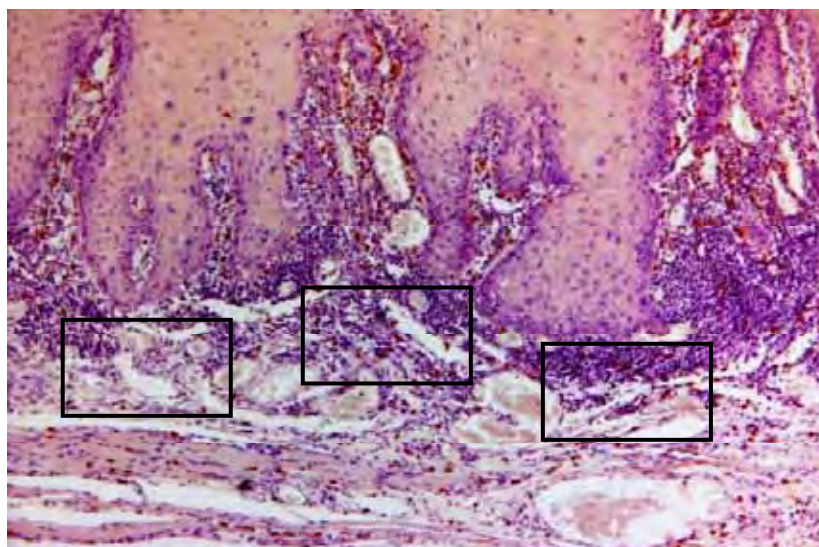


Figura 2- Fotomicrografia de lesão de CE com marcação imunoistoquímica dos MCs pela triptase, exemplificando as áreas de contagem dos MCs (Aumento original 50x).

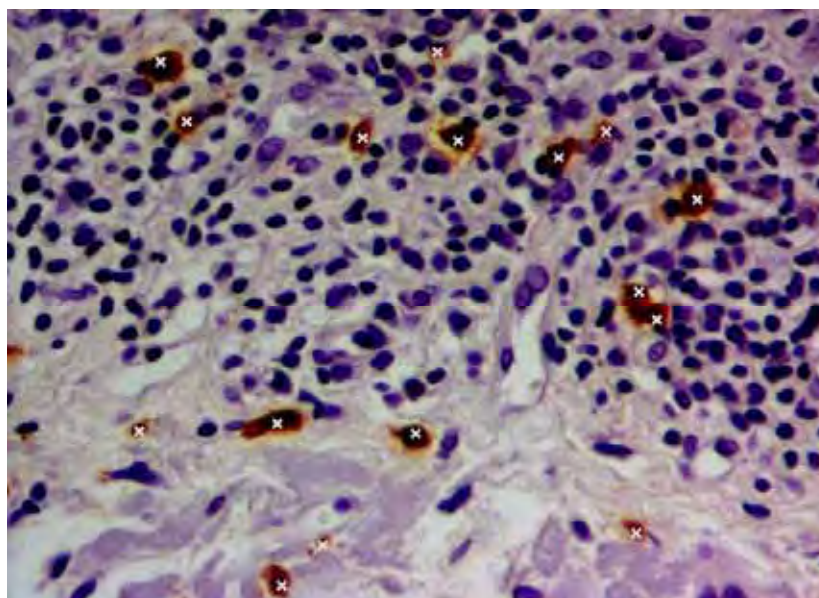


Figura 3- Individualização dos MCs pelo software *Axiovision* 4.7.

4.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a estatística descritiva e inferencial, mediante os programas computacionais Minitab 15 e Statix 8.0. Utilizou-se análises estatísticas através dos testes de Kruskal-Wallis, Wilcoxon e Dunn, adotando-se nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Perfil das amostras

Foram avaliados 66 casos de QA, 57 de CE e 28 de mucosa labial normal (grupo controle).

Na amostra referente aos casos de QA, 54 eram de pacientes do sexo masculino e 12 do sexo feminino. A idade média dos pacientes foi de 57,95 anos (variando de 11-80 anos). Em relação a etnia, 62 pacientes eram leucodermas, 3 melanodermas e 1 xantoderma.

Do total de 66 casos de QA avaliados, 39 (59%) apresentaram algum grau de atipia epitelial, enquanto 27 casos (41%) não apresentavam atipia.

Pela gradação de atipia epitelial, 15 casos de QA foram classificados com atipia leve (22,73%), 16 apresentaram atipia moderada (24,24%), e 8 casos apresentaram atipia grave (12,12%) (Tabela 1).

Tabela 1- Classificação das lesões de QA quanto aos graus de atipia epitelial

Classificação	Contagem	Porcentagem (%)
Sem Atipia	27	40,91
Leve	15	22,73
Moderada	16	24,24
Grave	8	12,12
Total	66	100

Os espécimes de QA também foram analisados quanto a presença de algumas características histopatológicas que estão sumarizadas na tabela 2.

Tabela 2- Características Histopatológicas presentes nos casos de QA

Característica	N	%
Atipia	39	59
Hiperplasia epitelial/ acantose	32	48
Paraqueratose	26	39
Ortoqueratose	5	7,5
Hiperparaqueratose	28	42
Hiperortoqueratose	7	10,6
Atrofia	40	60
Inflamação	55	83
Vasodilatação	55	83
Elastose	66	100

No grupo de CE do total de 57 casos, 53 eram do sexo masculino e apenas 4 do sexo feminino. A idade média dos pacientes deste grupo foi de 63,91 anos (variando de 42-90 anos). Todos os pacientes eram leucodermas.

O grupo controle apresentava total de 28 pacientes, com idades variando entre 5-30 anos e média de 15,54 anos. 20 pacientes eram leucodermas e 8 melanodermas. Este grupo foi constituído de pacientes jovens, sem histórico de exposição crônica a radiação ultravioleta.

5.2 Expressão de Mastócitos

A expressão dos MCs corados imunoistoquimicamente pela triptase e histoquimicamente pelo azul de toluidina foi avaliada nos três grupos (CE, QA e Controle).

A figura 4 ilustra a distribuição dos valores referentes a densidade de MCs identificados pela triptase em cada grupo. Verificamos superioridade na expressão de MCs nos casos de CE, quando comparados a QA e grupo Controle.

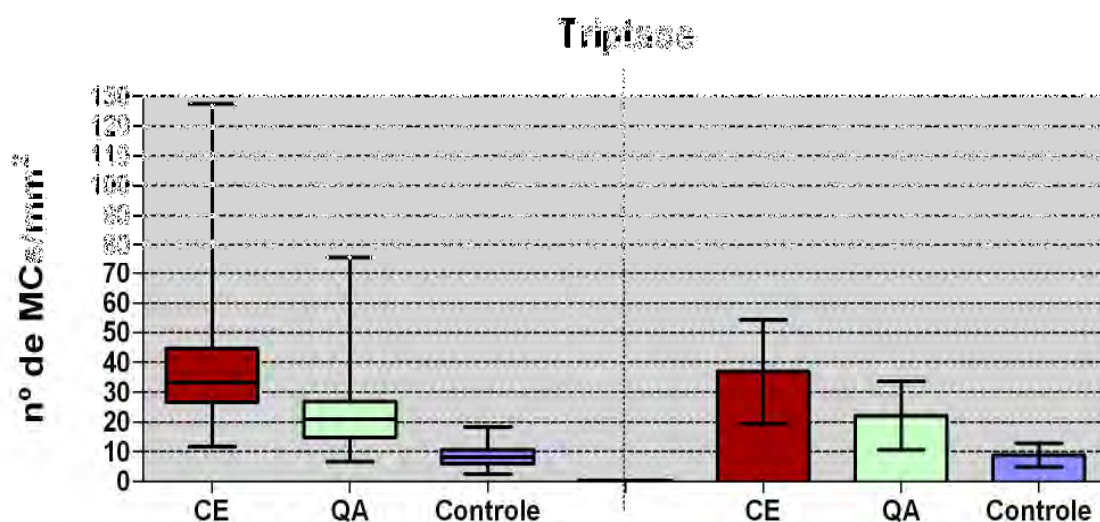


Figura 4- Esquema dos cinco números (*box-plot*) e gráfico de colunas (média±dp) da densidade dos MCs corados pela Triptase segundo os grupos. (CE= Carcinoma Epidermóide; QA= Queilite Actínica).

O teste de Kruskal-Wallis ($k = 85,0205$; $gl = 2$; $p\text{-valor} = 0,0001 < 0,05$) indicou que a distribuição dos valores diferiu estatisticamente. Através do teste de comparação múltipla de Dunn (nível de significância de 5%) verificou-se que os três grupos diferiram entre si. (Tabela 3)

Tabela 3- Distribuição de valores referentes a densidade de MCs corados pela Triptase nos três grupos

Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mediana
CE	57	36,915	17,430	33,333
QA	66	22,176	11,492	20,833
C	28	8,869	3,981	8,333

TeTeste de Dunn (5%), $p = 0,0001 < 0,05$. CE= Carcinoma Epidermóide; QA= Queilite Actínica; C= Contole

A mesma análise foi realizada nos casos corados pelo azul de toluidina. Também verificamos maior densidade de MCs no CE, quando comparado a QA e grupo controle, conforme figura 5.

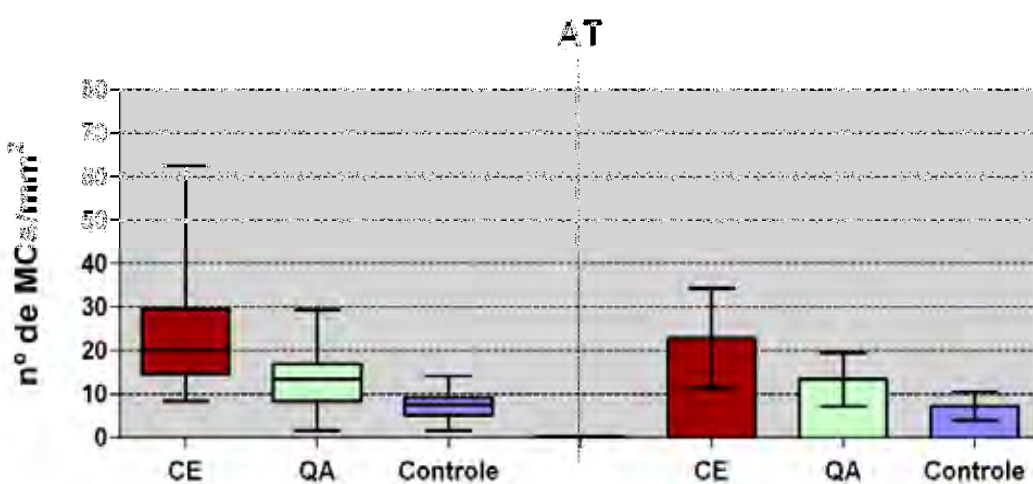


Figura 5 - Esquema dos cinco números (*box-plot*) e gráfico de colunas (média±dp) da densidade dos MCs corados pelo Azul de Toluidina (AT) segundo os grupos (CE= Carcinoma Epidermóide; QA= Queilite Actínica).

O teste de Kruskal-Wallis ($kw = 61,2727$; $gl = 2$; $p\text{-valor} = 0,0001 < 0,05$) indicou que a distribuição dos valores de densidade de MCs referentes aos casos corados pelo azul de toluidina diferiu estatisticamente. Através do teste de comparação múltipla de Dunn (nível de significância de 5%) verificou-se que os três grupos também diferiram entre si (Tabela 4).

Tabela 4- Distribuição de valores referentes a densidade de MCs corados pelo azul de toluidina nos três grupos

Grupo	N	Média	Desvio Padrão	Mediana
CE	57	22,719	11,481	20,00
QA	66	13,308	6,0869	13,33
C	28	7,2917	3,2285	7,50

Teste de Dunn (5%), $p=0,0001 < 0,05$. CE= Carcinoma Epidermóide; QA= Queilite Actínica; C= Contole

Como encontramos valores distintos quando analisamos a densidade dos MCs identificados através de histoquímica pela coloração com azul de toluidina e pela técnica imunoistoquímica para triptase, nos três grupos analisados, utilizamos o teste Sinais de Postos de Wilcoxon e verificamos que a técnica imunoistoquímica para triptase se mostrou superior ao azul de toluidina para identificação dos MCs. Nos três grupos analisados, houve diferença estatisticamente significativa no número de MCs identificados, sendo esta diferença mais expressiva nos grupos CE e QA em relação ao grupo controle. (CE $p= 0,00001 < 0,05$; QA $p=0,00001 < 0,05$; Controle $p=0,0076 < 0,05$). (Figura 6)

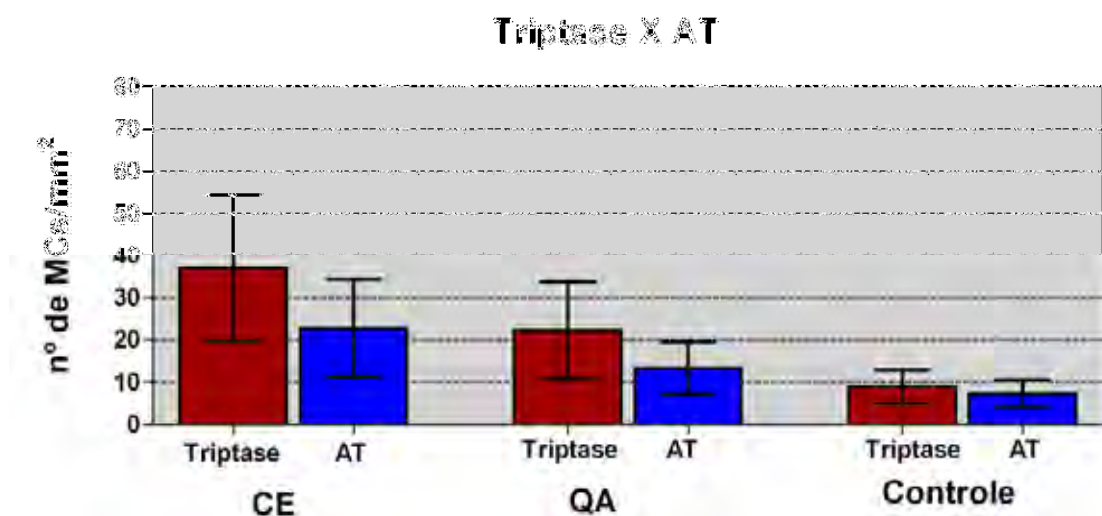


Figura 6- Gráfico de colunas (média±dp) da densidade de MCs nos três grupos analisados quanto à identificação pela Triptase e pelo Azul de Toluidina (AT).

5.3 Expressão de MCs e Atipia Epitelial

Nas lesões de QA analisamos a densidade de MCs em relação aos níveis de atipia epitelial. Através do teste não-paramétrico de Kruskal-wallis verificamos que não houve diferença estatisticamente significativa entre a densidade de MCs e os níveis de atipia ($p=0,2055>0,05$) (tabela 5 e figura 7).

Tabela 5- Valores correspondentes a densidade de MCs corados pela Triptase e Azul de toluidina no grupo QA, em relação a atipia epitelial.

Variável	Atipia	N	Média	DP	CV(%)
D-Trip	Grave	8	1,688	0,626	37,12
	Moderada	16	2,240	0,957	42,75
	Leve	15	1,961	0,882	45,00
	Sem AT	27	2,503	1,428	57,04
D-AT	Grave	8	1,198	0,737	61,54
	Moderada	16	1,448	0,548	37,82
	Leve	15	1,161	0,491	42,33
	Sem AT	27	1,395	0,665	47,66

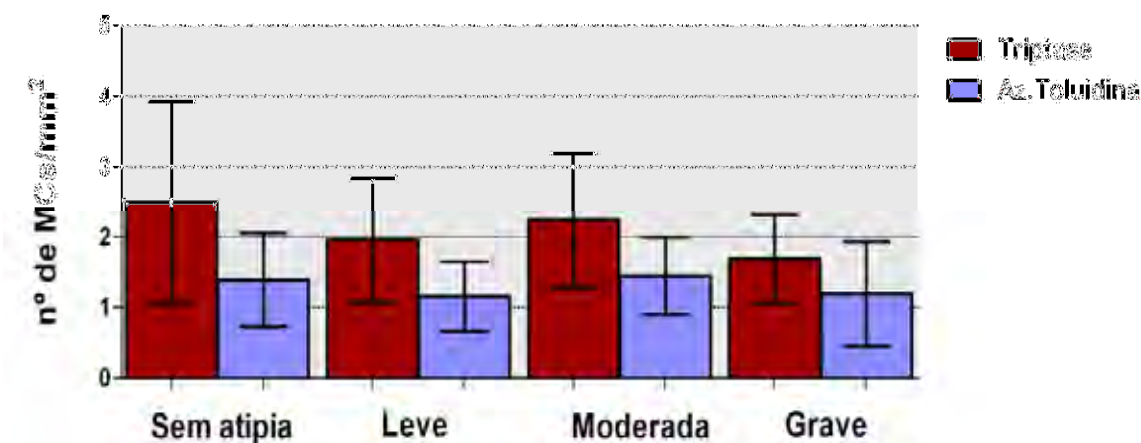


Figura 7- Gráfico de colunas (média±dp) da densidade de MCs na QA, em relação aos graus de atipia epitelial

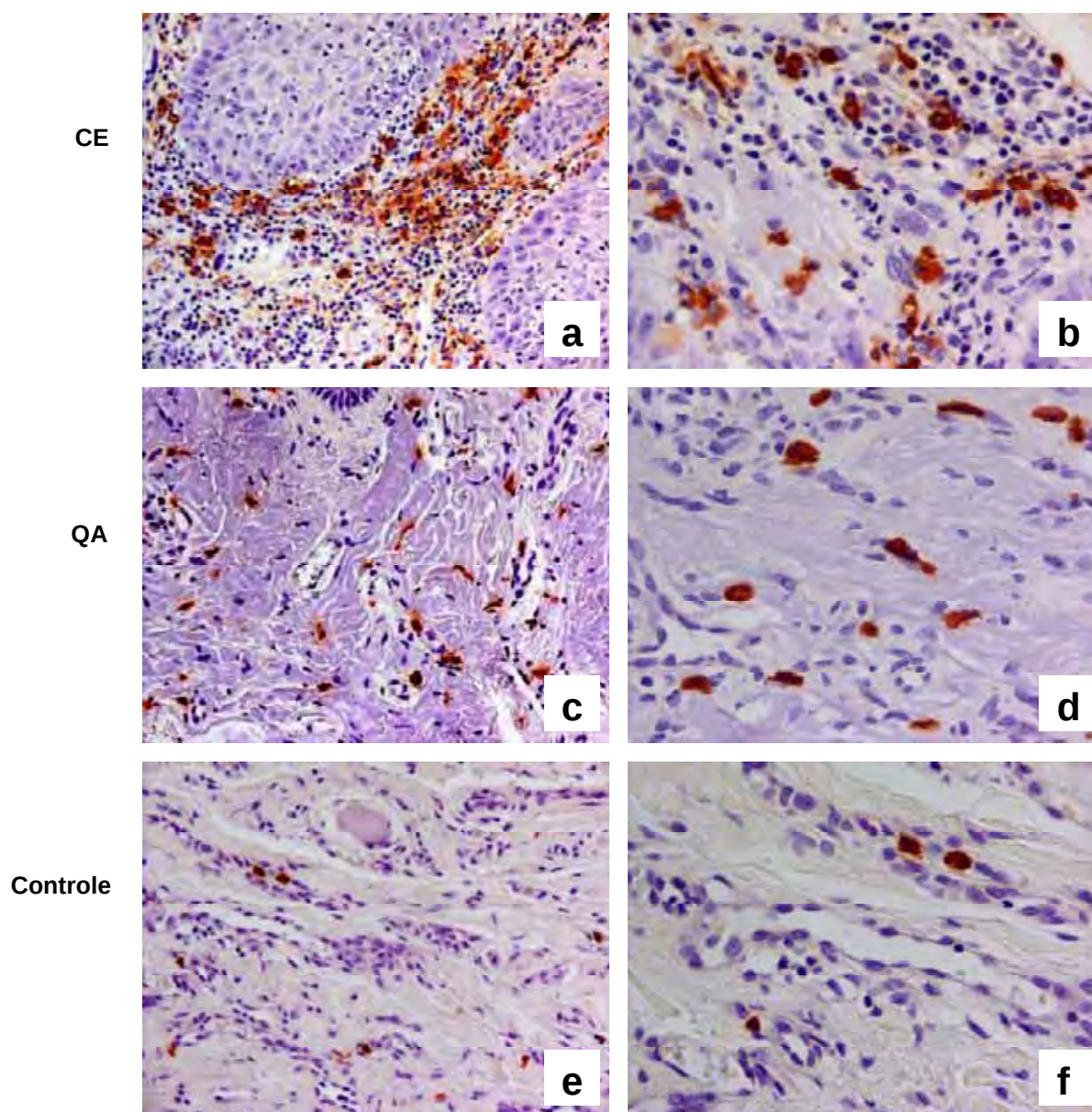


Figura 8: Marcação imunoistoquímica de MCs triptase⁺ em espécimes de CE, QA e mucosa labial normal (grupo controle)

a e b: Numerosos MCs em área de front de invasão de CE, com intenso infiltrado inflamatório associado

c e d: MCs em áreas de elastose na QA

e e f: Escassos MCs no tecido conjuntivo em mucosa labial normal

(Aumento Original: a, c, e = 200x; b, d, f = 400x)

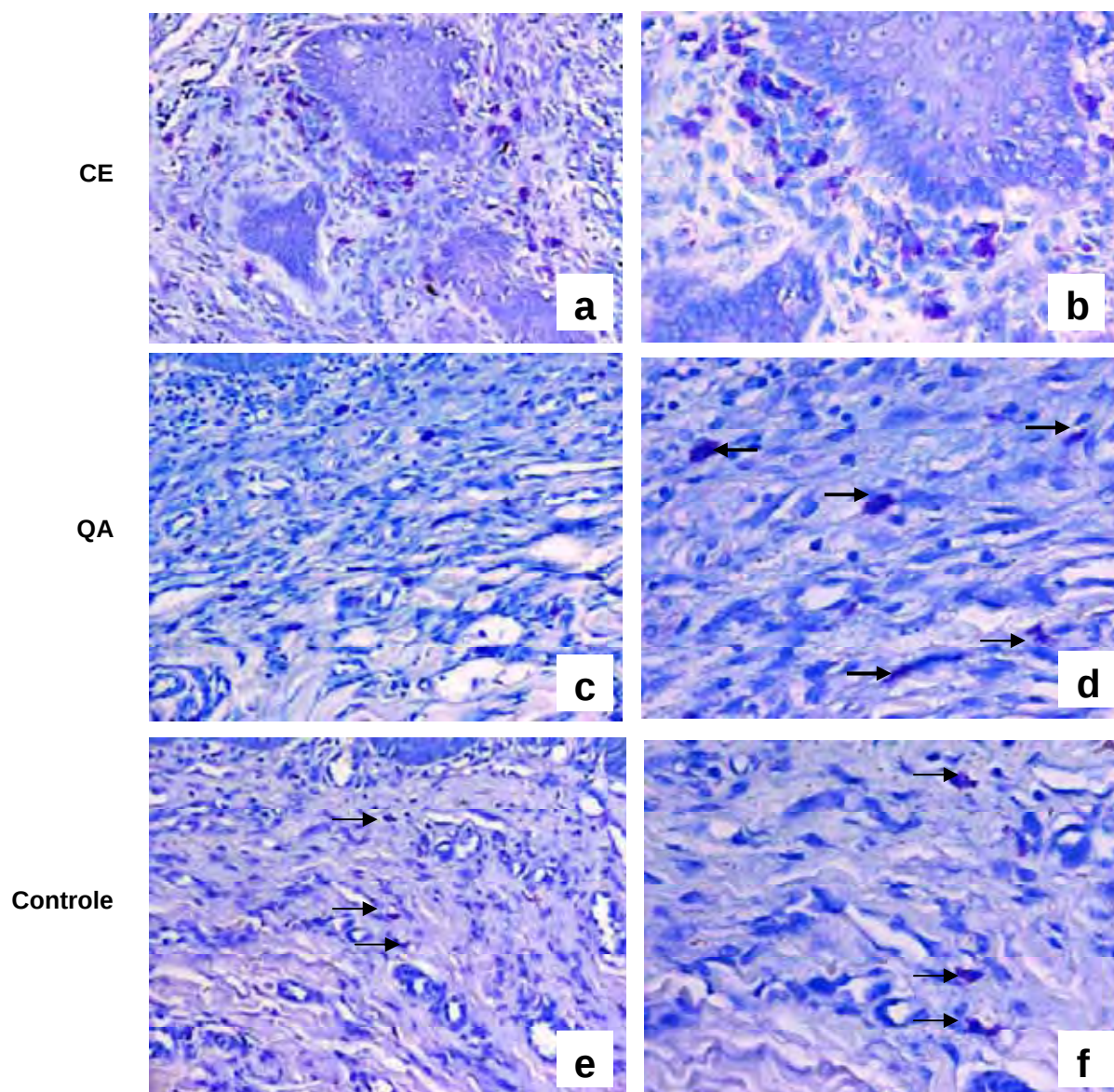


Figura 9: Marcação dos MCs pelo azul de toluidina em espécimes de CE, QA e mucosa labial normal (grupo controle)

a e b: Numerosos MCs no estroma peritumoral em lesão de CE.

c e d: MCs em áreas de intensa vascularização na QA (seta)

e e f: Escassos MCs no tecido conjuntivo em mucosa labial normal (seta)

(Aumento Original: a, c, e = 200x ; b, d, f = 400x)

6 DISCUSSÃO

A radiação UV, especialmente UVB, é responsável por diversas alterações que ocorrem na pele e nos lábios, especialmente em indivíduos de pele clara e que se expõe com frequência ao sol sem proteção adequada. Os lábios são extremamente susceptíveis aos efeitos deletérios dessa radiação porque possuem epitélio fino e pouco queratinizado, além de baixa quantidade de melanina e glândulas sebáceas e sudoríparas, quando comparados à pele (Kaugars et al., 1999).

Imayama et al. (1994) demonstrou que irradiação crônica com dose suberitemal de UVB (3 vezes por semana durante 12 semanas) produziu deformações tortuosas nas fibras elásticas superficiais da pele de ratos, o que pode corresponder ao desenvolvimento de elastose actínica.

Na QA, assim como na pele exposta cronicamente à radiação UV, o tecido conjuntivo apresenta uma alteração conhecida como degeneração basofílica ou elastose solar, caracterizada pela degradação e substituição de alguns componentes da matriz extra-celular (MEC), por uma rede de material elastótico alterado (Lundeen et al., 1985; Kligman, 1991; Imayama et al., 1994; Kaugars et al., 1999).

Além da degeneração basofílica do colágeno, são comuns achados de atipia epitelial na QA. Contudo, embora os parâmetros estabelecidos para gradação de atipia sejam detalhados, a interpretação final é altamente subjetiva. Além disso, segundo Fischer et al. (2004), atipias reativas induzidas por infiltrado inflamatório podem reduzir a confiabilidade no diagnóstico da mesma.

Atipia epitelial, hiperplasia, acantose, atrofia e hiperqueratinização foram as características histológicas mais frequentemente encontradas nos espécimes de QA avaliados neste

estudo. Outras alterações como hipercromatismo nuclear, raras figuras de mitose e células multinucleadas também foram observadas. No tecido conjuntivo, além da elastose solar, estavam presentes, infiltrado inflamatório, que variava do grau leve até o mais intenso e vasodilatação.

Uma condição cancerizável, como a QA, pode apresentar atipia celular e o potencial de transformação para CE, em tese, aumenta com a severidade da atipia. Por isso optamos por fazer uma análise da expressão de MCs em lesões de QA, relacionando a expressão destas células com os níveis de atipia.

Em nosso trabalho, a atipia epitelial estava presente em 39 dos 66 casos de QA, o que corresponde a 59% da amostra. Nos estudos de Kaugars et al. (1999), Markopoulos et al. (2004) e Cavalcante et al. (2008), todos os casos estudados apresentaram atipia. Apesar de 59% dos casos desta pesquisa apresentar algum grau de atipia epitelial, não encontramos associação entre a densidade de MCs e os níveis de atipia epitelial nas lesões de QA.

Desde que os MCs foram observados em tumores, especialmente carcinomas, pesquisas vem sendo realizadas com o intuito de esclarecer a verdadeira participação dessas células no desenvolvimento e progressão de neoplasias. Estas células também têm sido reconhecidas como células efetoras importantes, participando dos efeitos deletérios da radiação UV sobre a pele (Gonzalez et al., 1999; Hart et al., 2001).

Quando estudamos a expressão dos MCs na QA, os resultados demonstraram que a densidade de MCs estava significativamente mais alta nesta lesão, quando comparada com mucosa labial normal. Verificamos também uma grande concentração de MCs infiltrando ou circundando áreas de elastose na QA (Figura 8) e na maioria das vezes apareciam degranulados. Isto pode sugerir que essas células participam das alterações que ocorrem na MEC nas lesões de QA, alterando o microambiente em áreas que sofreram danos por UV,

contribuindo hipoteticamente para a transformação maligna da QA. Tais achados concordam com os de Rojas et al. (2004) que também verificaram aumento da expressão de MCs em lesões de QA quando comparada a lábios normais.

Gomes et al. (2008), também pesquisaram a relação entre a densidade de MCs em mucosa oral normal e em lesões de QA com diferentes graus de displasia epitelial (leve, moderada e grave). Os autores encontraram diferença estatisticamente significativa na densidade de MCs apenas entre as lesões com displasia moderada e mucosa oral normal. Neste mesmo estudo, também foi analisada a densidade de MCs em lesões de CE de lábio inferior. Os resultados demonstraram maior densidade de MCs em lesões de CE quando comparado a mucosa oral normal, levando os autores a sugerir participação dessas células no desenvolvimento dessas lesões.

Similarmente ao nosso estudo, Rojas et al. (2005) demonstraram aumento da densidade de MCs em CE de lábio quando comparado com lábios normais, sugerindo que estas células podem contribuir para progressão do tumor no *front* de invasão. Além disso, em lesões de CE de lábio houve mudança no predomínio das subpopulações de MCs, com maior número de MCs triptase e quimase positivos em relação aos MCs que continham somente triptase. Os autores sugerem que mudanças na proporção dos subtipos de MCs podem ser usados como indicativo de malignidade em biópsias de lábios.

A triptase é a enzima predominante na célula e está presente em todos os MCs. Por isso, os anticorpos monoclonais dirigidos contra essa enzima, são os mais utilizados em pesquisas que realizam técnica imunoistoquímica para identificação e quantificação de MCs (Iamaroon et al., 2003; Rojas et al., 2004; Rojas et al., 2005).

Neste estudo, realizamos a identificação dos MCs através de técnica imunoistoquímica para identificação de MCs triptase positivos e histoquimicamente, pela coloração com azul de toluidina, por ser este

último um método fácil, rápido, econômico e que pode ser usado de forma rotineira quando se deseja identificar MCs em diferentes tipos de tecidos.

Apesar da coloração com azul de toluidina ser útil para identificação dos MCs, a marcação imunoistoquímica para triptase se mostrou superior, com maior quantidade de MCs identificados. Isto se deve pelo fato de se tratar de técnica mais sensível e específica (Batista et al, 2005).

Nas lesões de CE optamos pela identificação dos MCs na área do *front* de invasão porque segundo Bryne (1998), esta região do tumor apresenta dados valiosos para análise histológica, uma vez que vários eventos moleculares importantes ocorrem, como secreção de enzimas proteolíticas, alterações em moléculas de adesão, aumento da proliferação celular e angiogênese. Estes eventos sugerem a participação dos MCs na área do *front* de invasão, especialmente no que se refere à angiogênese.

A angiogênese é um dos principais pontos que liga os MCs ao desenvolvimento e progressão de diversos tipos de câncer, devido a grande quantidade de substâncias angiogênicas produzidas e liberadas por estas células, como histamina, heparina, triptase, TGF- β , IL-8, FGF-2 e VEGF (Gordon et al., 1990; Ribatti et al., 2003).

MCs ao redor de melanoma cutâneo e de carcinoma de células basais são a maior fonte de VEGF (Toth et al., 2000; Aoki et al., 2003). Esta substância é um dos mais potentes fatores angiogênicos que contribui para a neovascularização, pois promove mitose de células endoteliais e induz a hiperpermeabilidade de microvasos, levando ao extravasamento de outros fatores pró-angiogênicos dentro da MEC (Dvorak et al., 1995; Sawatsubashi et al., 2000).

Coussens et al. (1999) demonstraram que a triptase e a quimase, duas proteases específicas dos MCs, contribuíram para neovascularização durante carcinogênese de células escamosas. Além de seu potencial angiogênico, a triptase também foi reconhecida como uma

enzima capaz de degradar componentes da MEC (Blair et al, 1997; Fajardo; Pejler, 2003). Blair et al. (1997) demonstraram que a adição de triptase em cultura de células endoteliais causou um pronunciado aumento do crescimento de capilares.

Neste estudo, apesar de não termos verificado a relação quantitativa entre a densidade de MCs e a vascularização, observamos estas células freqüentemente acumuladas em áreas de intensa vascularização, tanto na QA como no CE. (Figuras 8 e 9)

No trabalho de Iamarón et al. (2003) os autores encontraram uma significativa associação entre a densidade de MCs e microvasos em CE oral. Além disso, a densidade de MCs e microvasos aumentou com a progressão da doença, ou seja, do epitélio normal, passando pelos estágios de hiperqueratose, displasia até CE.

Toth et al. (2000) e Ribatti et al. (2003) analisaram lesões de melanoma e observaram uma forte correlação entre a densidade de MCs e microvasos no estroma peritumoral e a progressão e prognóstico da doença.

Em outros tumores malignos, como câncer de pulmão, esôfago e cérvix uterino, também foi demonstrada associação entre MCs e angiogênese (Elpek et al., 2001; Tomita et al., 2001; Benitez-Bribiesca et al., 2001).

Além das pesquisas sobre a função das diversas substâncias produzidas por MCs em neoplasias, também tem sido avaliada a relação entre a quantidade dessas células em diferentes locais da pele, e o desenvolvimento de neoplasias cutâneas. Os estudos demonstram efeitos diferentes dessas células nos subtipos de câncer de pele.

Grimbaldeston et al. (2002; 2004), desenvolveram estudos em pacientes com histórico de carcinoma de células basais e melanoma e encontraram uma alta densidade de MCs predeterminada geneticamente nesses indivíduos. Sugerem que isto é um fator que

favorece o desenvolvimento desses tipos de cânceres de pele, pois predispõe a supressão do sistema imune induzida por UVB. Entretanto, não foi encontrada correlação similar em pacientes com CE (Grimbaldeston et al. 2002).

A razão porquê isto acontece, ainda é desconhecida, mas os autores sugerem que o desenvolvimento de CE pode ser gerado por outros mecanismos imunomodulatórios, como mutações no gene p53, que tem sido encontrada em 90% dos pacientes com CE e apenas em 50% dos pacientes com carcinoma de células basais (Ananthaswamy et al., 1998).

Apesar de todos esses aspectos relacionando os MCs ao desenvolvimento e progressão de neoplasias, existem muitas opiniões e estudos com resultados divergentes a respeito do papel funcional dos MCs em neoplasias. Devido sua complexidade e diversidade de mediadores, estas células poderão exercer efeitos promotores e por vezes, inibidores sobre essas lesões (Theoharides; Conti, 2004). Além disso, sua expressão fenotípica não é estática e seu padrão secretor se altera de acordo com o microambiente (Ch`ng et al., 2006).

Oliveira-Neto et al. (2007) observaram um declínio no número de MCs triptase positivos em lesões de CE intra-orais de várias localizações comparado com lesões de hiperqueratose, diagnosticadas clinicamente como leucoplasias, e mucosa oral normal (controle). Os autores sugerem que um menor número de MCs em lesões orais pré-malignas e malignas, pode estar relacionado a uma falha na migração e/ou depleção local destas células. Sugerem ainda, que o verdadeiro impacto da deficiência de MCs em lesões de CE orais, pode refletir importantes modificações no microambiente durante a tumorigênese, tornando o ambiente mais permissivo para a proliferação celular neoplásica.

Alguns estudos indicam que uma alta concentração de MCs é considerada um fator prognóstico favorável em diversos tipos de

neoplasias (Tan et al. 2005; Aaltomaa et al. 1993; Ueda et al. 1988). Segundo Ösdemir (2005), isso se reforça pelo fato destas células produzirem moléculas inibidoras do crescimento tumoral, como granzimas e TNF- α . Além disso, o aumento da densidade de MCs nem sempre correlaciona-se com pior prognóstico, nem angiogênese, pois muitos resultados conflitantes encontrados na literatura podem ser devido a diferenças biológicas entre os diversos tipos de tumor, o momento em que foi realizado o estudo e variações de metodologias empregadas. O autor enfatiza, por exemplo, que não há um padrão de metodologia estabelecido para quantificação de angiogênese, em que são utilizados diversos marcadores.

Por todas essas contradições e complexidades devido sua diversidade funcional e pelos diversos mediadores secretados, os MCs atraem muitos interesses da comunidade científica em estudos nas mais variadas doenças, incluindo neoplasias cutâneas e cânceres orais. Entretanto, encontramos poucos trabalhos na literatura relacionando estas células à lesões cancerizáveis como a QA e também em relação ao CE de lábio. Este estudo e outros previamente realizados indicaram que estas células podem atuar de maneira efetiva na progressão da QA para CE, o que pode refletir importantes modificações no microambiente neoplásico durante a fotocarcinogênese.

Novas pesquisas relacionadas com MCs devem ser realizadas em doenças onde estas células são detectadas. Isto permitirá uma melhor compreensão da patogenia e mecanismos envolvidos, além de serem fontes adicionais para o desenvolvimento de novas terapêuticas.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pela análise da expressão de MCs em lesões de QA, CE de lábio inferior e mucosa labial normal, pôde-se concluir que:

- a) A densidade de MCs foi maior nos casos de CE comparado com QA e mucosa labial normal, sugerindo sua participação em estágios de progressão da doença;
- b) A densidade de MCs foi maior nos casos de QA comparado com mucosa labial normal;
- c) A densidade de MCs não correlacionou-se com os níveis de atipia nas lesões de QA;
- d) A identificação dos MCs corados imunoistoquimicamente pela triptase foi significativamente maior do que pelo azul de toluidina, em todos os grupos estudados.

REFERÊNCIAS *

Aaltomaa S, Lipponen P, Papinaho S, Kosma VM. Mast cells in breast cancer. *Anticancer Res.* 1993;13: 785-8.

Aguiar MCF. Estudo comparativo das proteínas p53, PCNA, Ki-67 e das regiões organizadoras nucleolares (NORs) no epitélio de revestimento da mucosa próximo ao carcinoma epidermóide de boca [Tese]. Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo;1996.

Aguiar SM. Contribuição ao estudo da queilite actínica: correlação anátomo-clínica [Tese]. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. 1995

Ananthaswamy HN, Loughlin SM, Ullrich SE, Kripke ML. Inhibition of UV-induced p53 mutations by sunscreens: implications for skin cancer prevention. *J Invest Dermatol Symp Proc.*1998;3:52-6.

Aoki M, Pawankar R, Niimi Y, Kawana S. Mast cells in basal cell carcinoma express VEGF, IL-8 and RANTES. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003;130:216-23.

Applegate LA, Ley RD, Alcalay J, Kripke ML. Identification of the molecular target for the suppression of contact hypersensitivity by ultraviolet radiation. *J Exp Med.* 1989; 170:1117-31.

Ashman LK. The biology of stem cell factor and its receptor C-kit. *Int J Biochem and Cell Biol.* 1999;31:1037-51.

* Baseado em:

International Comit  of Medical Journal Editors. Uniform Requirements for manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Sample References [homepage na Internet]. Bethesda: US NLM:c2003 [disponibilidade em 2008 ago; citado em 25 de ago.] Disponível em:http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html.

Awde JD, Kogon SL, Morin RJ. Lip cancer: a review. J Can Dent Assoc. 1996;62(8):634-6.

Ayres S. Chronic actinic cheilitis. J Am Med Assoc. 1923;81(14):483-6.
Baker SR. Risk factors in multiple carcinomas of the lip. Otolaryngol Head Neck Surg. 1980 ;88(3):248-51.

Balkwill F. Cancer and the chemokine network. Nat Rev Cancer. 2004;4(7):540–50.

Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? Lancet. 2001;357(9255):539–45.

Bankfalvi A, Piffkó. Prognostic and predictive factors in oral cancer: the role of the invasive tumour front. J Oral Pathol Med. 2000;29:291-8.

Banóczy J, Csiba A. Occurrence of epithelial dysplastic in oral mucosa. Oral Surg. 1976;42(6):766-74.

Batista AC, Rodini CO, Lara VS. Quantification of mast cells in different stages of human periodontal disease. Oral Dis. 2005;11(4):249–54.

Blair RJ, Meng H, Marchese MJ, Ren S, Schwartz LB, Tonnesen MG. Human mast cells stimulate vascular tube formation. Tryptase is a novel, potent angiogenic factor. J Clin Invest. 1997; 99:2691-700.

Benitez-Bribiesca L, Wong A, Utrera D, Castellanos E. The role of mast cell tryptase in neoangiogenesis of premalignant and malignant lesions of the uterine cervix. J Histochem Cytochem. 2001;49:1061-2.

Brash DE, Ziegler A, Jonason AS, Simon JA, Kunala S, Leffell DJ. Sunlight and sunburn in human skin cancer: p53, apoptosis, and tumor progression. J Invest Dermatol Symp Proc. 1996;1:136-42.

Bryne M. Is the invasive front of an oral carcinoma the most important área for prognostication? Oral Dis. 1998;4:70-7.

Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Stene T, Bang G, Dabelsten E. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broder's grading in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med*. 1989;18:432-7.

Casino AR, Toledano IP, Jorge F, Diez JMO, Llobet CC, Prat MA. Brachytherapy in lip cancer. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal*. 2006;11:E223-9.

Cataldo LE, Doku HC. Solar cheilitis. *J Dermatol Surg Oncol*. 1981;7(12):989-90.

Cavalcante AS, Anbinder AL, Carvalho YR. Actinic cheilitis: clinical and histological features. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008; 66: 498-503.

Ch'ng S, Wallis A R, Yuan L, Davis FP, Tan T S. Mast cell and cutaneous malignancies. *Modern Pathology*. 2006;19:149-59.

Church M, Levi-Schaffer F. The human mast cell. *J Allergy Clin Immunol*. 1997;99:155-60.

Cohen M, Rogers G. The significance of mast cells in basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 1995;33:514-17.

Coussens LM, Werb Z. Cancer and inflammation. *Nature*. 2002;420(6917):860–7.

Coussens LM, Werb Z. Inflammatory cells and cancer: think different! *J Exp Med*. 2001;193:F23-F26.

Crivellato E, Nico B, Ribatti D. Mast cells and tumor angiogenesis : new insight from experimental carcinogenesis. *Cancer Lett*. (2008), doi 10.1016/j.canlet.2008.03.031

Crivellato E, Ribatti D. Involvement of mast cells in angiogenesis and chronic inflammation . *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2005;4(1):9-11.

Dabbous M, Walker R, Haney L, Carter LM, Nicolson GL, Wooley DE. Mast cells and matrix degradation at sites of tumor invasion in rat mammary adenocarcinoma. *Br j cancer*. 1986; 54: 459-65.

Damian DL, Barnetson R, Haliday GM. Low-dose UVA and UVB have different time courses for suppression of contact hypersensitivity to a recall antigen in humans. *J Invest Dermatol*. 1999;112:939-44.

Decraene D, Agostinis P, Pupe A, de Haes P, Garmyn M. Acute responses of human skin to solar radiation: regulation and function of the p53 protein. *J Photochem Photobiol B*. 2001;63:78-83.

De Gruijl FR. Skin cancer and solar UV radiation. *Eur J Cancer*.1999;35(14):2003-09.

De Rosa I, Stalbino S, Lo Muzio L, Delfino M, Lucariello A, Coppola A, et al. Potentially malignant and malignant lesions of the lip. Role of the silver staining nucleolar organizer regions, proliferating cell nuclear antigen, p53, and c-myc in differentiation and prognosis. *J Oral Pathol Med*. 1999; 28(6):252-8.

De Visscher JG, Van der Wall I. Etiology of cancer of the lip. A review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1998;27(3):199-203.

Dvorak H, Brown L, Detmar M. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-39.

Eklund KK. Mast cells in the pathogenesis of rheumatic diseases and as potential targets for anti-rheumatic therapy. *Immunol Rev*. 2007;217:38-52.

Elenkov IJ, Webster E, Papanicolaou DA, Fleisher TA, Chrousos GP, Wilder RL. Histamine potently suppresses human IL-12 and stimulates IL-10 production via H₂ receptors. *J Immunol*. 1998;161:2586-93.

El-Ghorr AA, Norval M. A monoclonal antibody to cis-urocanic acid prevents the ultraviolet-induced changes in Langerhans cells and delayed hypersensitivity responses in mice, although not preventing dendritic cell accumulation in lymph nodes draining the site of irradiation and hypersensitivity responses. *J Invest Dermatol.* 1995;105:264-8.

Elpek G, Gelen T, Aksoy NH, Erdogan A, Dertsiz L, Demircan A. The prognostic relevance of angiogenesis and mast cells in squamous cell carcinoma of the oesophagus. *J Clin Pathol.* 2001;54(12):940-4.

Erkilic S, Erbagci Z. The significance of mast cells associated with basal cell carcinoma. *J Dermatol.* 2001; 28:312-15.

Fajardo I, Pejler G. Human mast cell beta-tryptase is a gelatinase. *J Immunol* 2003;171:1493-9.

Fischer DJ, Epstein JB, Morton TM, Schwartz SM. Interobserver reability in the histopathologic diagnosis of oral pre-malignant and malignant lesions. *J Oral Pathol Med.* 2004;33:65-70.

Flynn EA, Schwartz JL, Shklar G. Sequential mast cell infiltration and degranulation during experimental carcinogenesis. *J Cancer Res Clin. Oncol.* 1991;117:115-22.

Garssen J, Buckley T, van Loveren H,. A role for neuropeptides in UVB-induced systemic immunosuppression. *Photochem Photobiol.* 1998;68:205-10.

Galli SJ. Mast cells and basophils. *Curr Opin Hematol.* 2000;7(1):32-9.

Gibson LE, Perry HO. Skin lesions from exposure: a treatment guide. *Geriatrics.* 1985;40(5):87-89/91-92.

Golkar L, Bernhard JD. Mastocytosis. *Lancet* 1997;49:1379-85.

Gomes AP, Johann JE, Lovato GG, Ferreira AM. Comparative analysis of the mast cell density in normal oral mucosa, actinic cheilitis and lip squamous cell carcinoma. *Braz Dent J.* 2008; 19(3):186-9.

Gonzalez S, Moran M, Kochevar IE. Chronic photodamage in skin of mast cell-deficient mice. *Photochem Photobiol.* 1999;70:248-53.

Goracci G, Colangelo G, Nini G. incidenza delle cheiliti attiniche in Somalia. *Riv Ital Stomatol.* 1981;50(12): 1009-16.

Gordon J, Burd P, Galli S. Mast cells as source of multifunctional cytokines. *Immunol Today.* 1990;11:458-64.

Gounaris E, Erdman SE, Restaino C, Gurish MF, Friend DS, Gounari F. Mast cells are an essential hematologic component for polyp development. *Proc Natl Acad Sci.* 2007;19977-82.

Griffiths CEM. The clinical identification and quantification of photodamage. *Br J Dermatol.* 1992; 127: 37-42.

Grimbaldeston M, Skov L, Finlay-Jones J, Hart PH. Increased dermal mast cell prevalence and susceptibility to development of basal cell carcinomas in humans. *Methods.* 2002;28:90-6.

Grimbaldeston M, Simpson A, Finlay-Jones J, Hart P. The effect of ultraviolet radiation exposure on the prevalence of mast cells in human skin. *Br J Dermatol.* 2003;148:300-06.

Grimbaldeston M, Pearse AL, Robertson BO, Coventry BJ, Marshman G, Finlay-Jones JJ, et al. Association between melanoma and dermal mast cell Prevalence in sun-unexposed skin. *Br J Dermatol.* 2004;150:895-903.

Gruber B, Poznansky M, Boss E, Partin J, Gorevic P, Kaplan A. Characterization and functional studies of rheumatoid synovial mast cells. *Arthritis Rheum.* 1986;29:944-55.

Hallgren J, Gurish M. Pathways of murine mast cells development and trafficking: tracking the roots and routs of the mast cell. *Immunol Rev* 2007;217:8-18.

Hart PH, Jaksic A, Swift G, Norval M, El-Ghorr AA, Finlay-Jones JJ. Histamine involvement in UVB- and cis-urocanic acid-induced systemic suppression of contact hypersensitivity responses. *Immunology*. 1997;91: 601–8.

Hart PH, Grimbaldston MA, Swift GJ, Jaksic A, Noonan FP, Finlay-Jones JJ. Dermal mast cells determine susceptibility to ultraviolet B-induced systemic suppression of contact hypersensitivity responses in mice. *J Exp Med*. 1998;187:2045-53.

Hart PH, Grimbaldston MA, Swift GJ, Sedgwick JD, Korner H, Finlay-Jones JJ. TNF modulates susceptibility to UVB-induced systemic immunomodulation in mice by effects on dermal mast cell prevalence. *Eur J Immunol*. 1998; 28:2893-901.

Hart PH, Grimbaldston MA, Finlay-Jones JJ. Sunlight, immunosuppression and skin cancer: role of histamine and mast cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2001;28(1):1-8.

Hart PH, Townley S, Grimbaldston M, Khalil Z, Finlay-Jones JJ. Mast cells, neuropeptides, histamine and prostaglandins in UV-induced systemic immunosuppression. *Methods*. 2002;28:79-89.

Hasson O. Squamous Cell Carcinoma of the Lower Lip. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008; 66:1259-62.

Horta MC, de Assis LA, de Souza AF, de Araujo VC, Gomes RS, Aguiar MC. P53 and p21WAF1/ CIP1 overexpression at the invasive front of lower lip squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2007;36(2):88-92.

Humphreys T, Monteiro M, Murphy G. Mast cells and dendritic cells in basal cell carcinoma stroma. *Dermatol Surg*. 2000;26:200-4.

Iamaroon A, Pongsirivet S, Jitdecharaks S, Pattanaporn K, Prapayasatok S., Wanachantararak S. Increased of mast cells and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *J oral Pathol Med.* 2003;32:195-9.

Ibsen OAC, Phelan JA. *Oral Pathology for the dental higienist.* Philadelphia: W B Saundes; 1996.

Imayama S, Nakamura K, Takeuchi M. Ultraviolet-B irradiation deforms the configuration of elastic fibers during the induction of actinic elastosis in rats. *J Dermatol Sci.* 1994;7:32–8

Jaksic A, Finlay-Jones JJ, Watson CJ, Spencer LK, Santucci I, Hart PH. Cis-urocanic acid synergizes with histamine for increased PGE₂ production by human keratinocytes: link to indomethacin-inhibitable UVB-induced immunosuppression. *Photochem Photobiol.* 1995;61:303-9.

Jolly S, Detilleux J, Colgnoul F, Desmecht D. Enzyme-histochemical detection of a chymase-like proteinase within bovine mucosal and connective tissue mast cells. *J Comp Pathol.* 2000;122:155-62.

Jovanovic A, Schulten E, Kostense P, Snow G, Van der Wall I. Squamous cell carcinoma of the lip and oral cavity in the Netherlands; an epidemiologic study of 740 patients. *J oral Craniomaxillofac Surg.* 1993;21:149-52.

Juchem PP, Hochberg J, Winogron A, Ardenghy M, English R. Riscos à saúde da radiação ultravioleta. *Soc Bras Cir Plas.* 1998; 13: (2).

Kaarsen LL, Poulsen TD, de Fine Olivarius F, Wulf HC. Mast cells and elastosis in ultraviolet-irradiated hairless mice. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 1995;11:1-5.

Kahn HS, Tatham LM, Patel AV, Thun MJ, Heath CW. Increased cancer mortality following a history nonmelanoma skin cancer. *JAMA.* 1998;280:910-12.

Kankkunen JP, Harvima IT, Naukkrrinen A. Quantitative analysis of tryptase and chymase containing mast cells in benign and malignant breast lesions. *Int J Cancer*. 1997;72:385-8.

Katsambas AD, Karpouzis AJ, Koumantaki-Mathioudaki E, Jorizzo JL. Mastocytosis with skin manifestations: current status. *J Europ Acad Dermatol Venereology*. 1999;13:155-65.

Kaugars GE, Pillion T, Svirisky JA, Page DG, Burns JC, Abey LM. Actinic cheilitis: a review of 152 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999;88(2):81-6.

Kirshenbaum A. Regulation of mast cell number and function. *Hematol/Oncol Clin N Am*. 2000;14:497-516.

Kligman LH. The hairless mouse and photoaging. *Photochem Photobiol*. 1991;54:1109-18.

Kondo SN, Sauder DN, McKenzie RC, Fiysawa H, Shivji GM, EL-Ghorr A, et al. The role of cis-urocanic acid in UVB-induced suppression of contact hypersensitivity. *Immunol Lett*. 1995; 48:181-6.

Koten JW, Verhagen ARHB, Frank GL. Histopathology of actinic cheilitis. *Dermatologica*. 1967;135(6):465-71.

Kripke ML. Immunologic mechanisms in UV-radiation carcinogenesis. *Adv Cancer Res*. 1981;34:69-106.

Kripke ML, Cox PA, Alas LG, Yarosh DB. Pyrimidine dimers in DNA initiate systemic immunosuppression in UV-irradiated mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992; 89:7516-20.

Krunic AL, Garrod DR, Madani S, Buchanan MD, Clark RE. Immunohistochemical staining for desmogleins and 2 in keratinocytic neoplasms with squamous phenotype: actinic keratosis, keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the skin. *Br J Cancer*. 1998;77:1275.

Kubler AC, de Carpentier J, Hooper C, Leonard AG, Putnam G. Treatment of squamous cell carcinoma of the lip using Foscan-mediated photodynamic therapy . *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2001;30(6):504-9.

Kyzas PA, Stefanou D, Agnantis NJ. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor correlates with positive surgical margins and recurrence in T1 and T2 squamous cell carcinoma (SCC) of the lower lip. *Oral Oncol*. 2004;40:941-7.

Laberge S, Cruikshank WW, Kornfield H, Center DM. Histamine-induced secretion of lymphocyte chemoattractant factor from CD8+ T cells is independent of transcription and translation. Evidence for constitutive protein synthesis and storage. *J. Immunol* 1995;155:2902-10.

Lagier B, Lebel B, Bousquet J, Pene J. Different modulation by histamine of IL-4 and interferon-gamma (IFN-[gamma]) release according to the phenotype of human Th0,Th1 and Th2 clones. *Clin Exp Immunol*. 1997;108:545-51.

Laskaris G. Atlas colorido de doenças da boca. São Paulo: Artes Médicas; 2004.

Lee DM, Friend DS, Gurish MF, Benoist c, Mathis D, Brenner MB. Mast cells: a cellular link between autoantibodies and inflammatory arthritis. *Science*. 2002;297(5587):1689-92.

Lees M, Taylor DJ, Wooley DE. Mast cell proteinases activate precursor forms of collagenase and stromelysin, but not of gelatinases A and B. *Eur J Biochem*. 1994;223:171-7.

Leffell DJ. The scientific basis of skin cancer. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42:18-22.

Lundeen RC, Langlais RP, Terezhalmay GT. Sunscreen protection for lip mucosa: a review and update. *J Am Dent Assoc* 1985;111(4):617-21.

Main JH, Pavone M. Actinic cheilitis and carcinoma of the lip. J Can Dent Assoc 1994; 60(2):113-6.

Manganaro AM, Will MJ, Poulos E. Actinic cheilitis: a premalignant condition. Gen Dent. 1997; 45(5): 492-4.

Marcucci G. Lesões cancerizáveis na mucosa bucal. Rev Paul Odontol 1997;19:22-27.

Markopoulos A, Albanidou-Farmaki E, Kayavis I. Actinic cheilitis: clinical and pathologic characteristics in 65 cases. Oral Dis. 2004;10(4):212-16.

Martinez A, Brethauer U, Borlando J, Spencer M, Rojas IG. Epithelial expression of p53, mdm-2 and p21 in normal lip and actinic cheilitis. Oral Oncol (2008),doi:10.1016/j.oraloncology.2007.11.008

Martinez A, Brethauer U, Rojas IG, Spencer M, Mucientes F, Borlando J. et al. Expression of apoptotic and cell proliferation regulatory protein in actinic cheilitis. J Oral Pathol Med. 2005;34:257-62.

McKenzie R, Connor B, Bodeker G. Increased summertime UV radiation in New Zealand in response to ozone loss. Science. 1999;285:1709-11.

McMichael AJ, Hall AJ. Does immunosuppressive ultraviolet radiation explain the latitude gradient for multiple sclerosis? Epidemiology. 1997; 8:642-5.

McNeil, H.P. The mast cell and inflammation. Australian and New Zealand J Med. 1996; 26:216-25.

Metcalf DD, Baram D, Mekori YA. Mast cells. Physiol Rev. 1997; 77:1033-79.

Miller HR, Pemberton AD. Tissue-specific expression of mast cell granule serine proteinases and their role in inflammation in the lung and gut. Immunology. 2002;105:375-90.

Moodycliffe AM, Bucana CD, Kripke ML, Norval M, Ulrich SE. Differential effects of a monoclonal antibody to cis-urocanic acid on the suppression of delayed and contact hypersensitivity following ultraviolet radiation. *J Immunol.* 1996;157:2891-9.

Moore S, Johnson N, Pierce A, Wilson D. The epidemiology of lip cancer: a review of global incidence and a etiology. *Oral Dis.* 1999;5(3):185-95.

Moretti A, Zingariello P, Chiri ZM. Surgical treatment of malignant lip tumors: Personal experience. *G Chir.* 2003;24:341.

Nakayama T, Yao L, Tosato G. Mast cell-derived angiopoetin-1 plays a role in the growth of plasma cell tumors. *J Clin Invest.* 2004; 114:1317-25.

Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Patologia Oral e Maxilofacial.* 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

Nico MMS, Rivitti EA, Lourenço SV. Actinic cheilitis: histologic study of the entire vermillion and comparison with previous biopsy. *J Cutan Pathol.* 2007;34(4):309-14.

Nicolau SG, Balus L . Chronic actinic cheilitis and cancer of the lower lip. *Br J Dermatol.* 1964;76:278–89.

Nishikori Y, Kakizoe E, Kobayashi Y, Shimoura K, Okunishi H, Dekio S. Skin mast cell promotion of matrix remodeling in burn wound healing in mice: relevance of chymase. *Arch Dermatol Res.* 1998;290:553-60.

Noonan FP, DeFabo EC. Immunossupression by ultraviolet B radiation : initiation by urocanic acid. *Immunol Today.* 1992;13:250-4.

O'Byrne KJ, Dalglish AG. Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *Br J Cancer.* 2001;85(4):473–83.

Oliveira–Neto HH, Leite AF, Costa NL, Alencar RC, Lara VS, Silva TA, et al. Decrease in mast cells in oral squamous cell carcinoma: possible failure in the migration of these cells. *Oral Oncol.* 2007;43:484-90.

Oliveira MQ, Tabacof G, Vianna SN, Falcão AF. Alterações dos tecidos moles bucais em pescadores baianos. *Rev Fac Odont UFBA.* 1985;5:53-74.

Özdemir O. Immunosurveillance function of human mast cell? *World J Gastroenterol.* 2005;11(44):7054-56.

Pagnano PLG. Envelhecimento da pele e conseqüências *J Bras Psiq.* 1990;39(1):37-41.

Pathak MA. Activation of the melanocyte system by ultraviolet radiation and cell transformation. *Ann N Y Acad Sci.* 1985;453:328-39.

Picascia DD, Robinson JK. Actinic cheilitis: a review of the etiology, differential diagnosis and treatment. *J Am Acad Dermatol.* 1987;17:255-64.

Pimentel D, Michalany N, Alchorne M, Abreu M, Borra R, Weckx L. Actinic cheilitis: histopathology and p53. *J Cutan Pathol.* 2006;33:539-44.

Pindborg JJ. Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa. Berlin: Springer;1997.

Quinn AG. Ultraviolet radiation and skin carcinogenesis *Br J Hosp Med.* 1997;58(6):261-4.

Reibel J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological and molecular biological characteristics. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(1):47-62.

Ribatti D, Ennas M, Vacca A, Ferreli F, Nico B, Orru S. Tumor vascularity and tryptase-positive mast cells correlate with a poor prognosis in melanoma. *Eur J Clin Invest.* 2003;33:420-25.

Ribatti D, Finato N, Crivellato E. Neovascularization and mast cells with tryptase activity increase simultaneously with pathologic progression in human endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193(6):1961-5.

Robbie-Ryan M, Brown MA. The role of mast cells in allergy and autoimmunity. *Curr Opin Immunol*. 2002;14:728-33.

Robinson JK. Actinic cheilitis: a prospective study comparing four treatment methods. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989;115:848-52.

Rojas IG, Martinez A, Pineda A, Spencer ML, Jiménez M, Rudolph MI. Increased mast cell density and protease content in actinic cheilitis. *J Oral Pathol Med*. 2004;33(9):567-73.

Rojas IG, Spencer ML, Martinez A, Maurelia MA. Characterization of mast cell subpopulations in lip cancer. *J Oral Pathol Med*. 2005;34:268–73.

Rünger TM. How wavelengths of the ultraviolet spectrum contribute to skin carcinogenesis: the role of cellular damage responses. *J Invest Dermatol* 2007;127:2103-05.

Rünger TM. Ultraviolet light. In: (Bolognia JL, Jorizzo JL, Rapini RP, eds), *Dermatology*. Mosby: London;2003.

Ruoss SJ, Hartmann T, Caughey GH. Mast cell tryptase is a mitogen for cultured fibroblasts. *J Clin Invest*. 1991;88:493-99.

Salgarelli AC, Sartorelli F, Cangiano A, Collini M. Treatment of lower lip cancer: an experience of 48 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2005;34(1):27-32.

Santos JN, de Sousa SO, Nunes FD, Sotto MN, de Araújo VC. Altered cytokeratin expression in actinic cheilitis. *J Cutan Pathol*. 2003;30(4):237-42.

Sawatsubashi M, Yamada T, Fukushima N. Association of vascular endothelial growth factor and mast cells with angiogenesis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Virchows Arch.* 2002;436:243-8.

Seité S, Colige A, Deroane C, Lambert C, Piquemal-Vivenot P, Montastier C, et al. Changes in matrix gene and protein expression after single or repeated exposure to one minimal erythral dose of solar-simulated radiation in human skin in vivo. *Photochem Photobiol.* 2004;79(3):265-71.

Smith JG, Davidson EA, Sams WM, Clark RD. Alterations in human dermal connective tissue with age and chronic sun damage. *J Invest Dermatol.* 1962;39:347-50.

Streilein JW, Taylor JR, Vincek V. Relationship between ultraviolet radiation-induced immunosuppression and carcinogenesis. *J Invest Dermatol.* 1994;103:S107-11.

Tan SY, Fan Y, Luo HS, Shen ZX, Guo Y, Zhao LJ. Prognostic significance of cell infiltrations of immunosurveillance in colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2005;11:1210-14.

Tan ST, Wallis R, He Y, Davis PF. Mast cells and hemangioma. *Plast Reconstruct Surg.* 2004;113:999-1011.

Terezhalmay GT, Naylor GD. Actinic cheilitis. *J Indiana Dent Assoc.* 1993;72:12-15.

Theoharides T, Conti P. Mast cells: the Jekyll and Hyde of tumor growth. *Trends Immunol.* 2004;25:235-41.

Theoharides TC, Kempuraj D, Tagen M, Conti P, Kalogeromitros D. Differential release of mast cells mediators and the pathogenesis of inflammation. *Immunol. Rev* 2007;217:65-78.

Thornhill MH. The sun, the ozone layer and the skin: the role of ultraviolet light in lip and skin cancer. *Dental update.* 1993;20:236-40.

Tie C, Colomb C, Taylor JR, Streilein JW. Suppressive and enhancing effects of ultraviolet B radiation on expression of contact hypersensitivity in man. *J Invest Dermatol.* 1995;96:9317-21.

Tomita M, Matsuzaki y, Edagawa M. Association of mast cells with tumor angiogenesis in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus.* 2001;14:135-8.

Toth T, Toth-Jakatics R, Jimi S. Cutaneous malignant melanoma: correlation between neovascularization and peritumor accumulation of mast cell overexpressing vascular endothelial growth factor. *Hum Pathol.* 2000;31:955-60.

Ueda T, Aozasa K, Tsujimoto M, Yoshikawa H, Kato T, Ono K, et al. Prognostic significance of mast cells in soft tissue sarcoma. *Cancer.* 1988;62:2416-19.

Van der Wall I. Diagnostic and therapeutic problems of oral precancerous lesions. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1986;15:790-8.

Vukadinovic M, Jezdic Z, Petrovic M, Medenica L, Lens M. Surgical management of squamous cell carcinoma of the lip: analysis of a 10-year experience in 223 patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65:675-9.

Warren R, Garstein A, Kligman AM, Montagna W, Allendorf RA, Ridder GM. Age, sunlight and facial skin: a histologic and quantitative study. *J Am Acad Dermatol.* 1991; 25:751-60.

Wasiuk A, de Vries VC, Hartmann K, Roers A, Noelle RJ. Mast cells as regulators of adaptive immunity to tumours. *Clin Exp Immunol.* 2008 (IN PRESS) 2009;155(2):140-6 Epub 2008 dec 5.

Wille JJ, Kydonieus AF, Murphy GF. Cis-urocanic acid induces mast cell degranulation and release of preformed TNF-[alpha]: A possible mechanism linking UVB and cis-urocanic acid to immunosuppression of contact hypersensitivity. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 1999;12:18–27.

Zitsch RP 3rd, Park CW, Renner GJ. Outcome analysis for lip carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1995;113:589-96.

APÊNDICE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
DISCIPLINA DE PROPEDÊUTICA ESTOMATOLÓGICA

Caro(a) Senhor(a)

Eu, NIVEA CRISTINA SENA COSTA, Aluna de mestrado do Programa de pós-graduação em Biopatologia Bucal - Área de Biopatologia Bucal da Unesp-Campus de São José dos Campos-Faculdade de Odontologia, portadora do CPF 751467622-87, estabelecido à AV. Dos Tangarás, 30, na cidade de São José dos Campos-SP, telefone para contato nº 012-3947-9079, irei desenvolver uma pesquisa cujo título é : “EXPRESSÃO DE MASTÓCITOS EM QUEILITE ACTÍNICA E CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LÁBIO INFERIOR”.

O objetivo deste estudo é analisar o dano causado pela radiação ultravioleta no lábio inferior dos indivíduos portadores de queilite actínica (uma doença com potencial de malignização) e carcinoma epidermóide (uma doença maligna), através de exame microscópico. Para isso, será utilizado o material da biópsia (remoção de um pequeno fragmento do lábio sob anestesia local) realizada para confirmar o diagnóstico da doença. Necessitamos assim que o Sr.(a) permita a utilização do material de documentação (ficha clínica e fotografias) e biópsia, para fazerem parte da pesquisa.

Se tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contacto com o Comitê de Ética (CEP) da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos-UNESP, situada na Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – CEP 12245000, em São José dos Campos-SP, fone 012-3947-9076 e comunique-se com a Coordenadora Profa. Dra. Suely Carvalho Mutti Naressi. Informo que será garantida a liberdade da retirada do consentimento a qualquer momento e assim deixar de participar do estudo. Também não haverá custo nem pagamento pela Colaboração. Nos comprometemos a utilizar os dados coletados somente para a pesquisa e os resultados serão veiculados por meio de artigos científicos e congressos, sem sua identificação.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Acredito ter sido esclarecido(a) a respeito das informações que li ou leram para mim, descrevendo o estudo a ser realizado e concordo em participar, sabendo quais os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes, e que minha participação não implicará em nenhuma despesa. Concordo em participar voluntariamente deste estudo sabendo que poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidade, prejuízo ou perda de qualquer benefício que possa ter adquirido.

Assinatura do(a) entrevistado(a)

Assinatura do(a) pesquisador(a)

Data: ____/____/____.

ANEXO - Certificado do comitê de ética em pesquisa- São José dos Campos- UNESP

unesp  **UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
Av. Eng. Francisco José Longo, 777 – Jd. São Dimas
CEP 12201-970 – F. (12) 3947-9028
Fax (12) 3947-9010 / suchy@fosjo.unesp.br



CERTIFICADO
Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Seres Humanos

CERTIFICAMOS, que o protocolo nº **094/2007-PH/CEP**, sobre “ **Expressão de mastócitos na queilite actínica e carcinoma de células escamosas de lábio inferior**”, sob a responsabilidade de **NIVEA CRISTINA SENA COSTA** está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa, envolvendo seres humanos, conforme Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado por este Comitê de Ética em Pesquisa.

São José dos Campos, 29 de novembro de 2007.

Profa. Dra. Suely Carvalho Mutti Naressi
Coordenadora do CEP/HUMANOS/FOSJC

ANEXO A - Certificado do comitê de ética em pesquisa- São José dos Campos- UNESP



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE SÃO JOSÉ DOS CAMPOS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

Av. Eng. Francisco José Longo, 771 - São Diniz - CEP 13201-970 - F. (12) 3947-9000 - FAX (12) 3947-9028 -



Comitê de Ética em Pesquisa
Envolvendo Seres Humanos

São José dos Campos, 16 de março de 2008

Ofício nº 012/08-CEP

Prezado(a) Sr.(a)	NIVEA CRISTINA SENA COSTA
Projeto	Expressão de mastócitos na queilite actínica e carcinoma de células escamosas de lábio inferior
PARECER	
Por solicitação da Pesquisadora, foi alterado o título do Projeto acima mencionado, passando a denominar-se "Expressão de Mastócitos em Queilite Actínica e Carcinoma Epidermóide de Lábio Inferior", Convalidando dessa forma o Protocolo nº 094/2007/2006-PH/CEP de 29/11/2007.	

Atenciosamente,

Profa. Adjunto 
JANETE DIAS ALMEIDA
 Coordenadora

Costa NCS. Expression of mast cells in actinic cheilitis and squamous cells carcinoma of the lower lip [dissertation]. São José dos Campos: School of Dentistry of São José dos Campos, UNESP- São Paulo State University; 2009.

ABSTRACT

Actinic cheilitis (AC) is a multifocal lesion of lip vermillion with malignant potential to squamous cell carcinoma (SCC). The main etiology involved in this disease is excessive or long exposure to ultraviolet radiation (UV) of sunlight. UV radiation damages lip tissues, furthermore it is able to activate mast cells (MCs) that participate of immunosuppression process, contributing to tumour development. These cells are associated with a worst prognosis and contribute to tumour metastasis. The aim of this study was perform an assessment of MCs density which can improve the knowledge of AC pathogenesis and the possible mechanism of its progression to SCC. Sixty six cases of AC with different levels of epithelial atypia, fifty seven cases of SCC and twenty eight cases of lip mucosa with benign lesion non related to sunlight exposure (Control group) were studied in Department of Biosciences and Oral Diagnosis of São Paulo State University/UNESP. Samples were stained by histochemistry with hematoxylin/eosin, toluidine blue and, by immunohistochemistry with anti-trypase. Quantitative analysis was done in all cases by light microscopy (magnification x400), in three fields with 0,04 mm² each one. Mast cell density in SCC, AC and control group was 36,91 ± 17,43; 22,17 ± 11,49; 8,86 ± 3,98 cells/mm² (trypase) and 22,71 ± 11,48; 13,30 ± 6,08; 7,29 ± 3,22 cells/mm² (toluidine blue), respectively. Data was analyzed by Kruskal-wallis, Wilcoxon and Dunn's tests, p-values of < 0,05. There was statistically significant difference in mast cell density between the experimental and control groups (p=0,0001). This study concluded that mast cells contribute to changes in extracellular matrix in AC and may be used as indicators for disease progression in lip carcinogenesis.

Keywords: Sunlight. Cheilitis. Squamous Cells Carcinoma. Mast Cells.