



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS EDVALDO DE SOUZA DO Ó
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

SALOMÃO CURY-RAD OKA

**ESTUDO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO E
AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA
Ki67 EM QUEILITES ACTÍNICAS**

**CAMPINA GRANDE – PB
2011**

SALOMÃO CURY-RAD OKA

**ESTUDO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO E
AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA
Ki67 EM QUEILITES ACTÍNICAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Odontologia com área de concentração em Clínicas Odontológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy

CAMPINA GRANDE – PB
2011

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

O41e Oka, Salomão Cury-Rad.
Estudo clínico e histopatológico e avaliação imunohistoquímica da proteína ki67 em queilites actínicas [manuscrito] / Salomão Cury-Rad Oka. – 2011.
56 f. : il. color.

Digitado
Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2011.

“Orientação: Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy, Departamento de Odontologia”.

1. Queilite actínica. 2. Imunohistoquímica. 3. Patologia bucal. I. Título.

21. ed. CDD 616.31

SALOMÃO CURY-RAD OKA

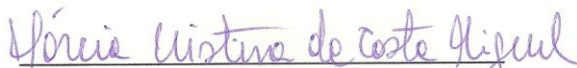
**ESTUDO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO E
AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA
Ki67 EM QUEILITES ACTÍNICAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Odontologia com área de concentração em Clínicas Odontológicas da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

Aprovada em 21/07/2011.



Prof. Dr. Gustavo Pina Godoy / UEPB
Orientador



Prof^ª. Dr^ª. Márcia Cristina da Costa Miguel / UFRN
Examinadora



Prof^ª. Dr^ª. Ruthinéia Diógenes Alves Uchôa Lins / UEPB
Examinadora

DEDICATÓRIA

A Deus, o Allah de meus ancestrais, e o maior que tudo, que fez a luz do Sol para o dia e a luz da Lua para a noite e muitas outras coisas, para o nosso deleite;

A meus pais, Sara Cury-Rad Oka e João Elias Oka (IM) e minha tia Alda Oka Kreit, que desde há muito, ainda na conturbada Síria, sabiam que o Sol excessivo e sem proteção era prejudicial;

A meus irmãos, João Elias Oka Jr. e David Cury-Rad Oka, que são os meus heróis;

A minha irmã Sara Cury-Rad Oka, minha “habiba”;

A vovó Salomé Cury-Rad;

Aos tios do lado Oka: Michel, Mifleh, Tamina e Amira (IM);

Às tias do lado Cury-Rad: Jeane, Ariádene, Salomé e Loide.

AGRADECIMENTOS

Sem dúvida devo vários agradecimentos a muitas pessoas. Não foram poucas as contribuições recebidas durante este curso de Mestrado e durante a realização dessa pesquisa. Agradeço, pois, primeiramente a Deus, por manter abertos os meus caminhos e me apontar oportunidades.

Ao Professor Doutor Gustavo Pina Godoy, coordenador do curso de Mestrado em Odontologia e meu orientador, por todas as lições que pacientemente me passou (inclusive lições de moral e de vida!); por ser uma pessoa presente mesmo quando ocupadíssimo com tantos afazeres, por sua dedicação e amizade e por ser um grande exemplo na formação de novos professores.

Às professoras Dras. Patrícia Meira Bento, Pollianna Muniz Alves, Robéria Lúcia Guedes de Queiroz Figueiredo, Daliana Queiroga de Castro Gomes, Ana Flávia Granville Garcia, Edja Maria Melo de Brito Costa, Maria Helena Chaves de Vasconcelos Catão, Rilva Suely de Castro Cardoso Lucas, Ruthinéia Diógenes Alves Uchôa Lins e Jozinete Vieira Pereira, pelas influências benéficas, pelo apoio, pelas palavras amigas e votos de incentivo.

Aos professores Drs. Sérgio D'Avilla Lins B. Cavalcanti, Alessandro Leite Cavalcante e Josuel Raimundo Cavalcante (De um modo engraçado, os três Cavalcantes!), por me mostrarem que a pesquisa e a evidência científica devem estar sempre presentes na vida de um homem que almeja a verdade e a certeza. Eles mesmos são exemplo vivo disso!

Aos meus colegas também alunos do Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba.

A todos que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), pela contribuição imprescindível com a realização de muitos exames histopatológicos e dos exames imunohistoquímicos utilizados nesta pesquisa, especialmente às professoras Dras. Marcia Cristina da Costa Miguel, Éricka Janine Dantas da Silveira, Lélia Maria Guedes de Queiroz e Lélia Batista de Souza; aos técnicos Hévio Freitas de Lucena e Ricardo Kleiber de Lima Silva e ao aluno Dmitry José de Santana Sarmiento. Também devo um agradecimento especial ao prof. Dr. Kenio Costa de Lima, do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pela inestimável contribuição com a estatística. Muitíssimo obrigado a todos, por suas mãos amigas nestes primeiros passos!

Aos funcionários da UEPB, pela presteza e atendimento quando nos foi necessário.

Aos alunos que participaram das clínicas da Liga Interdisciplinar de Combate ao Câncer Oral (LINCCO) da Universidade Estadual da Paraíba e aos pacientes atendidos lá.

E, finalmente, ao Propesq e ao CAPES pelo fomento.

“Feliz daquele que passa o que sabe
E aprende o que ensina” (Cora Coralina).

“Floriano, dias claros, céu azul,
Por cognome a ‘Princesa do Sul’
Tendo de cumprir no mundo alta missão
Jamais descuidou da instrução
Com seus filhos estudando e trabalhando
Um sonho intenso sempre acalentando
De vê-la, afinal, em promoção triunfal
Do Piauí definitiva Capital.” (Eleutério Rezende).

RESUMO

A queilite actínica é a principal lesão com potencial de malignidade do lábio inferior, sendo considerada precursora do carcinoma de células escamosas nessa região. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica da expressão da proteína ki67 em queilites actínicas, com intuito de compreender melhor o seu comportamento biológico. A presente pesquisa se caracterizou como um estudo transversal, descritivo-analítico, observacional, quantitativo, cego, de cunho clínico, histopatológico e imunohistoquímico dos casos diagnosticados como queilite actínica na clínica da LINCCO (Liga Interdisciplinar de Combate ao Câncer Oral) do Departamento de Odontologia, da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Assim, trinta casos de queilites actínicas foram avaliados clínica e histologicamente, usando parâmetros pré-estabelecidos, e submetidos à análise imunohistoquímica pelo método da estreptoavidina-biotina, a fim de se avaliar a expressão da proteína ki67. Os dados obtidos foram submetidos aos testes Mann-Whitney e de Kruskal-Wallis, tendo como base os níveis de significância de 5% ($p < 0,05$). Foi verificado que o gênero mais acometido foi o masculino (86,7%), a idade média foi de 52,5 anos com desvio padrão de $\pm 15,75$, a ocupação profissional mais presente foi a de agricultor (43,3%) e a cor da pele mais acometida foi a leucoderma (76,7%). Da amostra, 90% se expunha ao sol, embora 53,3% usasse algum tipo de proteção. As principais formas de apresentação clínica destas lesões foram leucoplasias não ulceradas (43,3%), seguidas de eritroplasias não ulceradas (33,3%). Com relação às principais características histomorfológicas, pôde-se observar que as hiperkeratoses se fizeram mais presentes (43,3%) e que não houve nenhum caso de carcinoma *in situ*. Embora a proteína Ki67 tenha se expressado em todos os casos analisados, não houve uma correlação estatisticamente significativa do índice de expressão imunohistoquímica desta proteína com nenhuma outra variável analisada. Foi possível concluir que existia atividade proliferativa celular em diversos graus nas referidas lesões.

PALAVRAS-CHAVE: Queilite Actínica. Imunohistoquímica. Ki67

ABSTRACT

Actinic cheilitis is the main lesion with malignant potential of the lower lip, and it is considered a precursor of squamous cell carcinoma in this region. The objective of this study was to evaluate clinical, histopathological and immunohistochemical expression of Ki67 protein in actinic cheilitis aiming better understanding its biological behavior. This research was of transversal, descriptive, analytical, observational, blinded, quantitative, clinical, histopathological and immunohistochemical kind. Thirty cases of actinic cheilitis were clinically and histologically evaluated using pre-established parameters and subjected to immunohistochemistry by streptavidin-biotin method in order to evaluate the expression of protein Ki67. Data were submitted to Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests. It was verified that the most affected gender was male (86.7%), median age was 52,5 years with standard deviation of ± 15.75 , the most prevalent occupation was farmer (43.3%) and the most affected skin color was white (76.7%). Almost the entire sample was exposed to the sun (90%), although 53.3% used to wear some kind of protection. The main forms of clinical presentation of these lesions were not ulcerated leukoplakia (43.3%), followed by not ulcerated erythroplakia (33.3%). Regarding the main histomorphological characteristics, it was observed that the hyperkeratosis became more present (43.3%) and there were no cases of carcinoma *in situ*. Although Ki67 protein has been expressed in all cases analyzed, there was not correlation between this protein immunohistochemical expression index and any other analyzed variable. However, it can be concluded that there were cell proliferative activity in varying degrees in these lesions.

KEYWORDS: Actinic cheilitis. Immunohistochemistry. Ki67.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Distribuição da amostra quanto as suas características individuais, Campina Grande, PB, 2011.....	32
TABELA 2.	Distribuição da amostra quanto as características clínicas e patológicas, Campina Grande, PB, 2011.....	34
TABELA 3.	Mediana, Quartis 25 e 75 e significância estatística do Índice de células imunomarcadas pela proteína Ki67 de acordo com as características individuais, Campina Grande, PB, 2011.....	40
TABELA 4.	Correlação da imunexpressão da proteína Ki67 com as características clínicas e patológicas de queilites actínicas, Campina Grande, PB, 2011...	40

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Aspecto clínico de queilite actínica no lábio inferior mostrando lesão mista, atrofia, erosão, crostas, fissuras e margens mal definidas do vermelhão do lábio em paciente feminino.....	34
FIGURA 2.	Aspecto clínico de queilite actínica no lábio inferior mostrando lesão mista, atrofia, erosão, crostas, fissuras e margens mal definidas do vermelhão do lábio em paciente masculino.....	35
FIGURA 3.	Queilite actínica: Epitélio pavimentoso estratificado exibindo hiperortoceratose (H/E, x100). Natal, RN, 2011.....	35
FIGURA 4.	Queilite actínica: Epitélio pavimentoso estratificado exibindo displasia leve (H/E, x100). Natal, RN, 2011.....	36
FIGURA 5.	Queilite actínica: Epitélio pavimentoso estratificado exibindo displasia moderada (H/E, x100). Natal, RN, 2011.....	36
FIGURA 6.	Queilite actínica: Fraca expressão do ki67 em espécime de hiperkeratose. (Estreptoavidina-Biotina, x120) Natal, RN, 2011.....	38
FIGURA 7.	Queilite actínica: Forte imunorreatividade da proteína ki67 na camada basal de espécime de displasia epitelial leve. (Estreptoavidina-biotina, x200) Natal, RN, 2011.....	38
FIGURA 8.	Queilite actínica: Forte imunorreatividade da proteína ki67 na camada basal de espécime de displasia epitelial moderada. (Estreptoavidina-biotina, x200) Natal, RN, 2011.....	39

LISTA DE SIGLAS

UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
LINCCO	Liga Interdisciplinar de Combate ao Câncer Oral
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
H/E	Hematoxilina e Eosina

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 QUEILITE ACTÍNICA: CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	16
2.2 MARCADORES BIOLÓGICOS DE PROLIFERAÇÃO CELULAR E PROTEÍNA KI67	20
2.3 ESTUDOS MOLECULARES EM QUEILITES ACTÍNICAS.....	21
3.1 OBJETIVO GERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO	26
4.2 POPULAÇÃO	26
4.3 AMOSTRA.....	26
4.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	27
4.3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	27
4.4 ESTUDO CLÍNICO	27
4.5 ESTUDO MORFOLÓGICO	28
4.6 ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO.....	28
4.7 ANÁLISE DO PADRÃO DE MARCAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA E ANÁLISE QUANTITATIVA.....	30
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
4.9 IMPLICAÇÕES ÉTICAS	31
5 RESULTADOS	32
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	32
5.2 RESULTADOS DA ANÁLISE CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA.....	33
5.3 RESULTADOS DA ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA.....	37
6 DISCUSSÃO	41
7 CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO I.....	54
ANEXO II	55
ANEXO III.....	56

1 INTRODUÇÃO

A exposição crônica e prolongada a raios solares pode provocar, muitas vezes, danos irreparáveis, principalmente se ocorrer sem a devida proteção, de forma constante e nos horários de maior incidência dos raios solares (BALASSIANO, 2004; MARKOPOULOS, ALBANIDOU-FARMAKI, KAYAVIS, 2004).

Dentre as lesões causadas pela radiação solar, destaca-se a queilite actínica, que corresponde a uma lesão cancerizável, a mais comum, que afeta o vermelhão dos lábios (principalmente o lábio inferior), levando a uma alteração no padrão de normalidade epitelial na área afetada. É uma enfermidade análoga à ceratose actínica na pele, podendo sofrer transformação maligna para o carcinoma de células escamosas em aproximadamente 10 a 20% dos casos (BALASSIANO, 2004; MARKOPOULOS, ALBANIDOU-FARMAKI, KAYAVIS, 2004).

O diagnóstico da queilite actínica é baseado nos achados clínicos e principalmente histopatológicos. Nos aspectos clínicos, na quase totalidade dos casos, o lábio inferior é o mais afetado. A queilite actínica apresenta-se no vermelhão dos lábios como áreas leucoplásicas associadas a áreas eritematosas, eventualmente apresentando erosões, úlceras ou crostas, nas quais pode ocorrer sangramento (DUFRESNE JR et al., 2008). Inicialmente, os lábios apresentam-se ásperos e ressecados, depois aparecem estrias ou fissuras perpendiculares ao limite pele-vermelhão. Nos casos mais avançados é comum o edema difuso do lábio e perda do limite pele-vermelhão. Na maioria das vezes, não se apresenta sintomatologia dolorosa, mas caso a descamação seja persistente, pode haver sensação de secura, dor e prurido (ROJAS et al., 2009; PIÑERA-MARQUES et al., 2010).

Os aspectos histopatológicos apresentam-se variáveis, mostrando aumento da camada de queratina com paraqueratose ou ortoqueratose, atrofia das células da camada espinhosa, infiltrado inflamatório presente no tecido conjuntivo e uma degeneração basofílica das fibras

colágenas conjuntivas, fenômeno chamado de elastose solar. Pode-se observar desde uma hiperkeratose até alterações epiteliais que inspiram mais cuidados como displasia epitelial leve, moderada ou grave até carcinoma *in situ*. (MARKOPOULOS, ALBANIDOU-FARMAKI, KAYAVIS, 2004).

Não há consenso na literatura correlacionando as manifestações clínicas com o padrão morfológico identificado nos casos de queilite actínica, de modo que o exame histopatológico deve sempre ser usado para confirmar essa condição. De modo semelhante, os eventos moleculares indispensáveis para que ocorra a progressão da queilite actínica para o carcinoma de células escamosas ainda não foram bem avaliados, de modo que se fazem necessários estudos complementares para ajudar a mapear tais eventos (PONTES et al., 2005; FREITAS et al., 2008).

Assim, diante do exposto, o propósito do presente estudo foi identificar as características clínicas e histopatológicas inerentes aos casos diagnosticados como queilite actínica na clínica da LINCCO (Liga Interdisciplinar de Combate ao Câncer Oral) do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), bem como realizar uma avaliação imunohistoquímica da proteína de proliferação celular Ki67 nos espécimes enviados para diagnóstico histomorfológico, correlacionando achados clínicos, histopatológicos e imunohistoquímicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 QUEILITE ACTÍNICA: CONSIDERAÇÕES GERAIS

A queilite actínica é a principal lesão com potencial de malignização do lábio, pois se deixada ao acaso ou tratada de maneira inadequada, pode evoluir para o carcinoma de células escamosas de lábio. Seu principal agente etiológico é a exposição crônica à radiação solar (PONTES et al., 2005; SILVEIRA et al., 2009).

A raça branca apresenta-se como a mais acometida pela queilite actínica, em virtude da menor concentração do pigmento endógeno melanina, que confere a proteção da pele e dos lábios contra os efeitos deletérios da radiação solar. A associação com o fumo também tem sido ressaltada. Observa-se ainda que a faixa etária acima dos 50 anos de idade é a mais acometida, reforçando a constatação dos danos cumulativos da radiação solar (NEVILLE et al., 2009). Adicionalmente, verifica-se que a questão ocupacional apresenta íntima relação com a lesão. Observa-se, por exemplo, que trabalhadores que se expõem cronicamente ao sol são mais acometidos, destacando-se dentre estes os agricultores, pescadores, motoboys e guardas de trânsito (BALASSIANO, 2004; CAVALCANTE, ANBINDER, CARVALHO, 2008).

As alterações clínicas da queilite actínica incluem eritema, ceratose, atrofia, erosão, crostas e fissuras. Infiltração e margens mal definidas do vermelhão do lábio são sinais clínicos mais avançados, que podem, muitas vezes, já ser associados com o desenvolvimento de neoplasia maligna do lábio inferior. Não há consenso na literatura correlacionando as manifestações clínicas com o padrão morfológico identificado nos casos de queilite actínica, de modo que o exame histopatológico deve sempre ser usado para confirmar essa condição. A citologia exfoliativa, apesar de estar sendo muito utilizada para avaliação de lesões cancerizáveis e mesmo de neoplasias já instaladas, não é segura para avaliação da severidade da queilite actínica (PIÑERA MARQUES et al., 2010).

Assim, a melhor maneira de se definir o diagnóstico da queilite actínica consiste na correlação entre os aspectos clínicos e histopatológicos. Clinicamente pode apresentar-se como uma lesão localizada ou difusa, geralmente assintomática, cujo aspecto pode variar desde uma placa esbranquiçada, de espessura variável e áspera à palpação, até uma lesão eritematosa, com áreas de ulceração, podendo inclusive, em algumas situações, apresentar um aspecto misto, o qual exhibe uma combinação de ambas as características (CAVALCANTE, ANBINDER, CARVALHO, 2008; NEVILLE et al., 2009).

A queilite actínica pode ser enquadrada entre as lesões pré-malignas, uma vez que, se não for tratada a tempo hábil, pode evoluir para um carcinoma de células escamosas (PERES et al., 2009). Vários recursos clínicos podem ser importantes para a distinção entre as duas lesões. Um deles seria a palpação, pois, no caso da lesão maligna, a sua consistência apresenta-se mais endurecida (MARKOPOULOS, ALBANIDOU-FARMAKI, KAYAVIS, 2004).

O aspecto histopatológico da queilite actínica é variável, podendo ser observado desde uma hiperqueratose até alterações epiteliais que inspiram um cuidado maior como a displasia epitelial, que pode ser leve, moderada ou grave, ou até um carcinoma *in situ* (CURY et al., 2007; NEVILLE et al., 2009). O diagnóstico da gradação da displasia epitelial é baseado numa combinação de mudanças citológicas de avaliação subjetiva (BARNES et al., 2005). Porém, mais recentemente, tem existido um maior cuidado em definir os critérios de gradação da displasia epitelial. Assim, a displasia epitelial leve é aquela onde há proliferação ou hiperplasia de células da camada basal e parabasal que não se estendem para além do terço inferior do epitélio. A atipia celular é geralmente leve com apenas moderado pleomorfismo das células ou núcleos. Mitoses não são tão frequentes e, quando presentes, são normais e estão localizadas basalmente. A displasia epitelial moderada mostra uma proliferação de células atípicas se estendendo para o terço médio do epitélio. As mudanças celulares são mais

severas que na displasia leve e mudanças como hipercromatismo e pleomorfismo nuclear podem ser vistos. Contudo, estratificação e maturação são relativamente normais, frequentemente com hiperkeratose. Na displasia epitelial severa ou grave, há proliferação anormal da camada basal até o terço superior do epitélio. Mudanças citológicas e arquiteturais podem ser muito proeminentes. Todas as alterações presentes nas displasias leve e moderada estão presentes, mas acrescidas de pleomorfismo marcante frequentemente com ampla anormalidade nuclear com nucléolos proeminentes ou até mesmo múltiplos. Corpos apoptóticos podem estar presentes. As mudanças estruturais são severas, frequentemente com perda completa da estratificação e com ceratinização anormal profunda, inclusive com a possibilidade de formação de pérolas de ceratina. Embora o epitélio possa estar espessado, a displasia severa é frequentemente acompanhada de atrofia epitelial marcante. Finalmente, existe o carcinoma *in situ*, a forma de displasia epitelial de maior gravidade. Caracteriza-se pelo aparecimento de alterações celulares por toda espessura epitelial. Na boca, tal alteração é rara e, frequentemente, mesmo na presença das atípias mais severas, ainda existe uma camada superficial de ceratina intacta. Não há invasão do conjuntivo (ABBEY et al., 1995; KARABULUT et al., 1995; BROTHWELL et al., 2003; BARNES et al., 2005; BOUQUOT et al., 2006).

Observa-se ainda no tecido conjuntivo algumas alterações importantes como a degeneração basofílica das fibras colágenas, que é reconhecida como elastose solar. Nessa alteração, verifica-se a substituição das fibras colágenas e elásticas por um material granular basofílico, amorfo e acelular, que contém usualmente vasos sanguíneos dilatados. Um infiltrado inflamatório que varia de moderado a intenso e predominantemente mononuclear pode ser observado associado a esta lesão (BALASSIANO, 2004; MARKOPOULOS, ALBANIDOU-FARMAKI, KAYAVIS, 2004; NEVILLE et al., 2009).

Nico, Rivitti e Lourenço (2007) realizaram um estudo histopatológico em 20 casos diagnosticados clinicamente como queilite actínica, com aspecto clínico variável por toda a extensão da lesão, e que foram submetidos à remoção total da mesma através da vermelhonectomia. Os autores observaram que vários espécimes eram, na verdade, carcinomas de células escamosas microinvasivos, mostrando que as lesões não se apresentam homogêneas por todo o espécime, reforçando, portanto, a necessidade de avaliação cuidadosa do exame histopatológico em todo o espécime de uma queilite actínica.

Rojas et al (2004) fizeram um estudo imunohistoquímico para triptase e enzimo-histoquímico para quimase, a fim de determinarem a densidade dos mastócitos e o conteúdo de proteases dessas células. Os referidos autores ressaltaram que os mastócitos podem ter participação nos efeitos deletérios da radiação ultravioleta. Tal fato se daria através da degranulação destas células em áreas de elastose solar, liberando as proteases, triptases e quimases, sugerindo um papel dos mastócitos nas alterações das proteínas da matriz extracelular nestas lesões.

O tratamento da queilite actínica pode ser realizado através de conduta cirúrgica ou não-cirúrgica. A terapêutica cirúrgica inclui a excisão, crioterapia, curetagem (com ou sem eletrocauterização) e laserterapia (laser de CO₂), enquanto a não-cirúrgica pode variar desde aplicação tópica de medicamentos (5-fluoracil ou masoprocol), dermoabrasão até o uso tópico ou sistêmico de retinóides, bem como injeções intralesionais de interferon- α (DUFRESNE JR et al., 2008; PERES et al., 2009).

O prognóstico das queilites actínicas é bom quando estas são diagnosticadas precocemente e quando a exposição solar é cessada. Apesar de algumas alterações vistas na queilite actínica serem irreversíveis, os pacientes devem ser orientados a usar protetores labiais contra os raios ultravioletas para prevenir futuros danos. Áreas endurecidas e ulceradas ou leucoplásicas devem ser submetidas à biópsia. Em casos clínicos severos, com ausência de

malignidade, a vermelhectomia deve ser executada, sendo recomendado o acompanhamento a longo prazo. Transformações malignas dificilmente acometem pessoas com menos de 60 anos de idade, apresentando desenvolvimento lento e metástases somente em estágios avançados (CORSO et al., 2006; NEVILLE et al., 2009).

2.2 MARCADORES BIOLÓGICOS DE PROLIFERAÇÃO CELULAR E PROTEÍNA KI67

A mensuração da proliferação celular pode fornecer dados úteis acerca do prognóstico de lesões e seu diagnóstico. Métodos direcionados para diferentes fases do ciclo celular têm sido avaliados, cada um destes apresentando suas vantagens e suas desvantagens. Assim, os marcadores biológicos são componentes celulares, estruturais e bioquímicos muito úteis para definir alterações celulares e moleculares tanto em células normais quanto naquelas associadas à transformação maligna. Eles podem se apresentar em dois tipos: os marcadores intermediários, que mensuram alterações celulares e moleculares antes do surgimento da neoplasia maligna e os marcadores diagnósticos, úteis na confirmação da lesão maligna já estabelecida (MOURA et al., 2006).

Bagashawek e Rustin, desde 1993 afirmaram que, com a evolução dos vários estudos realizados mundialmente, diversas proteínas e peptídeos foram identificados como produtos de secreção de uma variedade de neoplasias sólidas. Em 1848, Bence Jones descreveu a proteína do mieloma múltiplo, primeira substância empregada clinicamente como marcador tumoral.

Deste modo, os marcadores biológicos com fins de diagnóstico têm utilidade no manejo clínico dos indivíduos portadores de diversas lesões, incluindo neoplasias malignas, auxiliando nos processos de diagnóstico, estadiamento, avaliação da resposta terapêutica, detecção de recidivas e especialmente no prognóstico (MOURA et al., 2006).

A atuação da radiação ultravioleta no desenvolvimento de lesões malignas ocorre através da lesão direta nas células, levando ao dano no seu DNA. Estas podem ser prontamente reparadas pelo sistema de excisão-reparo. Caso isso não ocorra, como proteção, desencadeia-se o processo de apoptose ou morte celular programada. Mutações genéticas não reparadas frente à radiação ultravioleta permitem que as células com genes defeituosos prossigam no ciclo mitótico de divisão e, como consequência, acumulam-se mutações e crescimento celular indiscriminado (NETO, 2003).

O antígeno Ki-67 é uma proteína nuclear com aproximadamente 395kDa, codificada por gene localizado no cromossomo 10q25. Sua função é desconhecida, embora se acredite que ela exerça algum papel na manutenção da estrutura da cromatina, sendo considerada absolutamente necessária para a manutenção da proliferação celular (BROWN; GATTER, 2002; TUMULURI; THOMAS; FRASER, 2002).

O anticorpo monoclonal Ki-67 recebeu essa denominação porque foi primeiramente identificado na Universidade de Kiel, na Alemanha, em 1983, na 67ª placa de cultura tecidual, tratando-se de uma IgG1 de camudongo produzida contra uma porção nuclear da linhagem celular L428 da doença de Hodgkin (RABENHORST et al., 1993; SCHOLZEN; GERDES, 2000; TUMULURI; THOMAS; FRASER, 2002).

O fato da proteína Ki-67 ser expressa em todas as fases ativas do ciclo celular, mas ausente em G0, faz com que essa proteína seja um excelente marcador para determinação da fração da população celular proliferativa (SCHOLZEN; GERDES, 2000; BROWN; GATTER, 2002).

2.3 ESTUDOS MOLECULARES EM QUEILITES ACTÍNICAS

Martínez et al (2005) avaliaram a expressão das proteínas apoptóticas p53, bax e bcl-2, além do marcador de proliferação celular Ki-67 em treze casos de queilite actínica, sete

casos de biópsias de vermelhão de lábio normal (epitélio de transição) e seis casos de mucosa oral normal que não foi exposta à radiação ultravioleta. Os achados do estudo demonstraram uma marcação maior para a p53 nos casos de queilite actínica do que nos demais, sendo sugerida pelos autores uma atuação da p53 na indução à apoptose na lesão pré-maligna em decorrência do dano no DNA celular pela radiação ultravioleta.

Ainda de acordo com o estudo anteriormente descrito, observou-se uma menor expressão da proteína bcl-2 nos casos de queilite actínica, justificando uma atividade pró-apoptótica maior nesses casos. Nenhuma diferença significativa em relação à proteína bax foi identificada entre os grupos estudados, enquanto a expressão do Ki67 foi verificada igualmente no grupo da queilite actínica e no lábio normal e de forma mais significativa nestes do que no grupo de mucosa normal, sugerindo que a radiação ultravioleta por si só já estimula uma maior proliferação celular. Os autores concluíram diante dos resultados que os danos ao DNA celular pela radiação ultravioleta na queilite actínica podem ser eliminados através das proteínas que induzem a apoptose.

Pontes et al. (2005) relataram que a proteína hMSH2 do reparo de bases mal pareadas do DNA interage com algumas proteínas integrantes da principal via de reparo dos danos ocasionados pela radiação ultravioleta, o reparo de excisão de nucleotídeo. Portanto, esses autores julgaram importante avaliar esta proteína em queilites actínicas. Fizeram, pois, um estudo que teve como objetivo descrever e analisar a imunexpressão da proteína hMSH2 em amostras de queilites actínicas com várias gradações histológicas de displasias epiteliais (discretas, moderadas e acentuadas), assim como no epitélio do lábio inferior normal. Os resultados não mostraram diferenças estatísticas entre as várias gradações histológicas das queilites actínicas entre si, assim como não houve diferenças estatísticas significativas entre as amostras de queilite actínica e a mucosa labial normal. Esses resultados sugerem, segundo os autores, que a proteína hMSH2 não participa da progressão de queilite actínica para

carcinoma de células escamosas de lábio, no entanto, os autores concluíram que mais estudos são necessários para melhor compreensão da participação do reparo de bases mal pareadas neste processo.

Pimentel et al (2006) investigaram a histopatologia bem como a expressão imunohistoquímica da proteína p53 em 39 casos de queilite actínica isolada e em 31 casos de queilite actínica associada ao carcinoma de células escamosas. Observou-se que um maior infiltrado inflamatório esteve associado à presença de um tumor invasivo e de graus avançados de displasia, e que a expressão imunohistoquímica da p53 não apresentou diferenças estatisticamente significativas. Os autores concluíram, portanto que a referida proteína não é um bom preditor do processo de transformação maligna.

Rojas et al. (2009) avaliaram, através da técnica imunohistoquímica e do RT-PCR, a expressão da proteínas COX-2 (cicloxigenase-2), proteína que sabidamente encontra-se mais expressa em casos de neoplasias malignas e em condições pré-malignas, PAR-2 (receptor de proteinase ativado-2) e a triptase derivada de mastócitos em 24 espécimes de lábio normal e em 45 casos de queilite actínica. Uma co-expressão aumentada da COX-2 e da PAR-2, bem como um aumento na expressão da triptase derivada de mastócitos, especialmente em posição justaepitelial, foi encontrada nos casos de queilite actínica. Os autores sugeriram que a superexpressão da COX-2 tem um papel significativo na queilite actínica, e que este aumento esteve associado com uma maior expressão também da PAR-2 e da triptase derivada de mastócitos, levando a crer que a triptase contribui com a regulação da COX-2 através da ativação da PAR-2 durante os primórdios da carcinogênese labial.

Martínez et al (2008) avaliaram a expressão imunohistoquímica das proteínas p53, p21 e mdm-2 em 16 casos de mucosa oral normal e em 26 casos de queilite actínica. Foi observada uma expressão significativamente maior das proteínas p53 e mdm-2 nos casos de queilite actínica, enquanto não foi verificada uma diferença estatisticamente significativa para

a p21 entre os grupos. Os autores sugeriram que a p53 pode ser preditora de malignidade nas queilites actínicas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar as características clínicas e histopatológicas inerentes aos casos diagnosticados como queilite actínica na clínica da LINCCO (Liga Interdisciplinar de Combate ao Câncer Oral) do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), bem como realizar uma avaliação imunohistoquímica da proteína Ki67 nos espécimes enviados para diagnóstico histopatológico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar o gênero, a faixa etária, a ocupação profissional e a cor da pele mais acometidos pela queilite actínica, a fim de se levantarem dados epidemiológicos que caracterizem a amostra.
- Verificar a exposição dos pacientes acometidos pela lesão referida a agentes agressores externos, especificamente ao fumo e à radiação solar, bem como as medidas de proteção no que se refere a esta última.
- Reconhecer as principais formas de apresentação clínica da queilite actínica.
- Identificar as principais características histopatológicas da lesão anteriormente citada.
- Avaliar o padrão de expressão imunohistoquímica para a proteína Ki67, contribuindo para identificar o potencial de proliferação celular da referida lesão.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO

A presente pesquisa se caracterizou como um estudo transversal, descritivo-analítico, observacional, quantitativo, cego, de cunho clínico e histopatológico dos casos diagnosticados como queilite actínica na clínica da LINCCO (Liga Interdisciplinar de Combate ao Câncer Oral) do Departamento de Odontologia, o qual está locado na Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), bem como posterior avaliação imunohistoquímica para a proteína Ki67 nos espécimes enviados para comprovação diagnóstica. Os estudos histopatológicos e imunohistoquímicos foram realizados nos laboratórios do Programa de Pós-Graduação em Patologia Oral da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), parceira do Departamento de Odontologia da UEPB.

4.2 POPULAÇÃO

A população alvo do presente estudo foi composta por todos os casos diagnosticados como queilite actínica na clínica da LINCCO no período compreendido entre outubro de 2009 a março de 2011.

4.3 AMOSTRA

Para o cálculo amostral foi utilizado o programa Epi Info versão 3.5.2. Considerando uma prevalência de 20% do problema (ZANETTI et al., 2009), com margem de erro de 5% e nível de confiança de 95%, o cálculo amostral resultou em 27 sujeitos. A amostra utilizada na presente pesquisa foi composta por 30 casos devido à possibilidade de 10% de perda. Todos os casos tiveram diagnóstico de queilite actínica e se enquadraram nos critérios de inclusão listados a seguir:

4.3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Para o presente estudo foram incluídos os casos com diagnóstico clínico de queilite actínica e que ao exame histopatológico apresentaram características compatíveis com tal diagnóstico, quais sejam: hiperqueratose, displasia epitelial leve, moderada ou severa, ou carcinoma *in situ*. Adicionalmente, foram incluídos os casos cujos espécimes, removidos por biópsia incisional ou excisional, apresentaram uma boa representatividade do material, de forma a proporcionar uma avaliação histopatológica e imunohistoquímica adequada. Ressalta-se que somente fizeram parte da amostra aqueles pacientes que, uma vez cientes dos objetivos da presente pesquisa, assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo I).

4.3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos da amostra os casos com material insuficiente para avaliação histopatológica e imunohistoquímica, bem como as lesões que clinicamente foram diagnosticadas como queilite actínica, mas que histologicamente corresponderam a um carcinoma micro invasivo ou carcinoma de células escamosas. Ademais, os pacientes que se opuseram à participação no presente estudo após conhecimento dos riscos e benefícios do mesmo não fizeram parte dessa amostra.

4.4 ESTUDO CLÍNICO

Para a avaliação clínica, os dados inerentes aos casos utilizados na presente pesquisa foram catalogados em uma ficha clínica específica, que foi estruturada exclusivamente para realização do presente estudo. Nesta ficha constaram as informações referentes ao sexo, à idade (categorizada por tercís a fim de facilitar a análise estatística), à cor da pele, aos hábitos deletérios (fumo e exposição solar) bem como à forma de proteção dos pacientes à radiação

ultravioleta. No tocante à lesão propriamente dita, foram registradas informações quanto à presença ou não de sintomatologia dolorosa, ao aspecto clínico da lesão e ao diagnóstico histopatológico da mesma (Anexos I e II).

4.5 ESTUDO MORFOLÓGICO

Os espécimes com diagnóstico clínico compatível com a queilite actínica deveriam apresentar um dos seguintes diagnósticos histopatológicos: hiperqueratose, displasia leve, moderada ou grave, ou carcinoma *in situ*. Os critérios para diagnóstico das displasias foram descritos por Cavalcante, Anbinder e Carvalho (2008), onde foram observadas características como grau de comprometimento das camadas epiteliais divididas por terços, associadas a outras características compatíveis com atipia celular, destacando-se dentre elas o hiperchromatismo nuclear, perda de relação núcleo-citoplasma, mitoses atípicas, nucléolos proeminentes, hiperplasia da camada basal do epitélio, bem como perda de estratificação epitelial e disceratose na superfície epitelial. Quando foram observadas até duas dessas alterações, foi emitido o diagnóstico de displasia leve. Para a displasia moderada tiveram de estar presentes de três a quatro dessas alterações, e acima de cinco foi emitido o diagnóstico de displasia grave. Para o diagnóstico de carcinoma *in situ*, mais de cinco alterações tiveram que estar presentes e por toda extensão do epitélio, respeitando-se a observação de não rompimento da membrana basal epitelial, que caracterizaria o carcinoma micro invasivo. A avaliação histopatológica foi procedida por um único avaliador.

4.6 ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO

Os espécimes foram fixados em formol a 10% e emblocados em parafina. Foram, posteriormente, submetidos a cortes de 3 µm de espessura e montados em lâminas de vidro previamente preparadas com adesivo à base de organossilano (3-aminopropyltriethoxi-silano,

Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA). Os cortes foram submetidos ao anticorpo anti-Ki-67 e a técnica imunohistoquímica utilizada foi a da estreptoavidina-biotina (SABC-streptoavidin biotin complex), que consiste nos seguintes passos:

- Xilol 1 (30 minutos) - 59°C
- Xilol 2 (20 minutos) – Temperatura Ambiente (TA)
- Álcool absoluto I – 5 minutos – TA
- Álcool absoluto II – 5 minutos – TA
- Álcool absoluto III – 5 minutos – TA
- Álcool 95° GL – 5 minutos – TA
- Álcool 80° GL – 5 minutos – TA
- Hidróxido de amônia em etanol 95° GL (10 minutos) – TA
- Lavagem em água corrente - 10 minutos
- Água destilada (02 passagens) – 05 minutos cada
- Peróxido de hidrogênio a 10 volumes (02 passagens) – 15 minutos cada
- Água corrente – 10 minutos
- Água destilada (02 passagens) – 05 minutos cada
- Incubação em TRIS-HCL, pH 7,4 (tris-hidroximetil-aminometano, Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) (02 passagens) – 05 minutos cada
- Recuperação antigênica: Citrato de sódio (pH 6,0) em steamer – 30 minutos
- Incubação do anticorpo primário (Ki-67) conforme as instruções do fabricante (Clone MIB 1; Fonte Dako; Diluição 1:200).
- Lavagem em TRIS-HCL, pH 7,4.
- Incubação em TRIS-HCL, pH 7,4 (02 passagens – 05 minutos cada).
- Incubação do anticorpo secundário Biotinylated link (Kit Santa Cruz Cytomation LSAB+ System-HRP) durante 30 minutos

- Lavagem TRIS-HCL, pH 7,4
- Incubação TRIS-HCL, pH 7,4 (02 passagens – 05 minutos cada).
- Incubação do complexo estreptoavidina HRP (Kit DAKO Cytomation LSAB+ System-HRP) durante 30 minutos - TA
- Lavagem TRIS-HCL, pH 7,4.
- Incubação TRIS-HCL, pH 7,4 (02 passagens – 05 minutos cada).
- Incubação em solução cromógena preparada em 25 a 30 mg de diaminobenzidina (93,3-diaminobenzidina, Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) diluída em 100 ml de TRIS-HCL, acrescida de 1,2 ml de peróxido de hidrogênio a 10 volumes, durante 03 minutos em câmara escura.
- Água corrente – 10 minutos
- Água destilada (02 passagens) – 05 minutos cada
- Contracoloração com hematoxilina de Mayer – 10 minutos -TA
- Água corrente – 10 minutos
- Água destilada (02 passagens) – 05 minutos cada
- Desidratação
- Diafanização
- Montagem da lamínula em resina Permout® (Fischer Scientific, Fair Lawn, NJ, USA).

4.7 ANÁLISE DO PADRÃO DE MARCAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA E ANÁLISE QUANTITATIVA

Para análise da proliferação celular foram consideradas positivas todas as células que exibiram marcação nuclear para o anticorpo Ki-67, independente da intensidade da marcação, contadas em 10 campos em aumento de 400X em um campo com 1000 células (KRUSE-

LÖSLER et al., 2006). O procedimento de contagem foi feito uma única vez, por um observador, em dias diferentes, utilizando-se de um microscópio óptico OLYMPUS, com auxílio de um retículo de contagem WEIBEL NGW2 com área de 0,25 mm².

Após a análise quantitativa, os dados coletados foram submetidos à análise estatística, a fim de testar as hipóteses levantadas.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram utilizados para construção do banco de dados no software SPSS 17.0 para ambiente Windows, para serem submetidos a testes estatísticos adequados.

Todos os testes foram realizados tomando como base os níveis de significância de 5% ($p < 0,05$) para determinar se existia significância estatística.

Foi executada inicialmente a estatística descritiva e, em seguida, a analítica. Como as amostras são independentes (não pareadas) e as variáveis apresentaram distribuição normal, foram utilizados os testes não paramétricos. Nas variáveis categorizadas em dois grupos, utilizou-se o teste de Mann-Whitney e para as variáveis categorizadas em três grupos, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis.

4.9 IMPLICAÇÕES ÉTICAS

O projeto de pesquisa foi cadastrado no SISNEP sob o CAAE 0002.0.133.000-09 e submetido e aprovado à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB) seguindo os preceitos da Resolução 196/96/MS (Anexo III).

5 RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Os resultados da análise das características clínicas da amostra estão listados na tabela

1. Como pode se observar nesta, 86,7% eram do gênero masculino; 76,7% eram leucodermas; 43,3% eram agricultores e apenas 20% se declararam fumantes. A idade média foi de 52,5 anos com desvio padrão de $\pm 15,75$. Com relação à exposição solar, 90% da amostra se disse exposta ao sol, embora 53,3% relatou fazer uso de algum tipo de proteção, como chapéu, boné, protetor solar, protetor labial ou batom.

Tabela 1. Distribuição da amostra quanto as suas características individuais, Campina Grande, PB, 2011.

Característica Individual	n	%
Sexo		
Masculino	26	86,7
Feminino	4	13,3
Total	30	100
Cor da Pele		
Leucoderma	23	76,7
Feoderma	7	23,3
Total	30	100
Ocupação		
Agricultor	13	43,3
Motorista	4	13,3
Eletricista	2	6,7
Pedreiro	2	6,7
Pescador	1	3,3
Borracheiro	1	3,3
Estudante	1	3,3
Aposentado	3	10
Outro	3	10
Total	30	100
Tabagismo		
Sim	6	20
Não	24	80
Exposição Solar		
Sim	27	90
Não	3	10
Total	30	100
Proteção do Sol		
Sim	16	53,3
Não	14	46,7
Total	30	100

5.2 RESULTADOS DA ANÁLISE CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA

Ao exame clínico observaram-se características como sintomatologia dolorosa em 33,3% da amostra e aspecto clínico que variou de leucoplasias e eritroplasias não ulceradas a lesões de aspecto misto (Tabela 2). Todos os casos se apresentaram no lábio inferior. Observaram-se características como eritema, ceratose, atrofia, erosão, crostas, fissuras e margens mal definidas do vermelhão do lábio (Figuras 1 e 2).

Para o exame histopatológico, todos os espécimes foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina e observados em microscópio óptico. As queilites actínicas exibiram características inerentes a essa lesão, tais como atrofia ou hiperplasia da camada de epitélio do vermelhão do lábio, com variados graus de ceratinização, maturação desordenada, atipia celular e atividade mitótica em maior ou menor grau, a depender do diagnóstico, variando de hiperkeratose a displasia epitelial grave. Observou-se, ainda, degeneração basofílica das fibras colágenas no tecido conjuntivo (elastose solar) com infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, dentre outras alterações. As Figuras 3, 4 e 5 mostram características do perfil histopatológico desta lesão.

Tendo em vista o aspecto histopatológico variável das queilites actínicas, a amostra foi classificada em hiperkeratose, em displasias leve, moderada e severa e carcinoma *in situ*, de acordo com o grau de severidade, conforme pode ser visto ainda na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição da amostra quanto às características clínicas e patológicas, Campina Grande, PB, 2011.

Característica	n	%
Sintomatologia dolorosa		
Sim	10	33,3
Não	20	66,7
Total	30	100
Aspecto clínico da lesão		
Leucoplasia não ulcerada	13	43,3
Eritroplasia não ulcerada	10	33,3
Erosão/ulceração	1	3,3
Aspecto misto	6	20
Total	30	100
Diagnóstico histopatológico		
Hiperkeratose	13	43,3
Displasia leve	8	26,7
Displasia moderada	8	26,7
Displasia grave	1	3,3
Total	30	100

Figura 1. Aspecto clínico de queilite actínica no lábio inferior mostrando lesão mista, atrofia, erosão, fissuras e margens mal definidas do vermelhão do lábio em paciente feminino.



Figura 2. Aspecto clínico de queilite actínica no lábio inferior mostrando lesão mista, atrofia, erosão, crostas, fissuras e margens mal definidas do vermelhão do lábio em paciente masculino.



Figura 3. Queilite actínica: Epitélio pavimentoso estratificado exibindo hiperortoceratose (H/E, x100). Natal, RN, 2011.

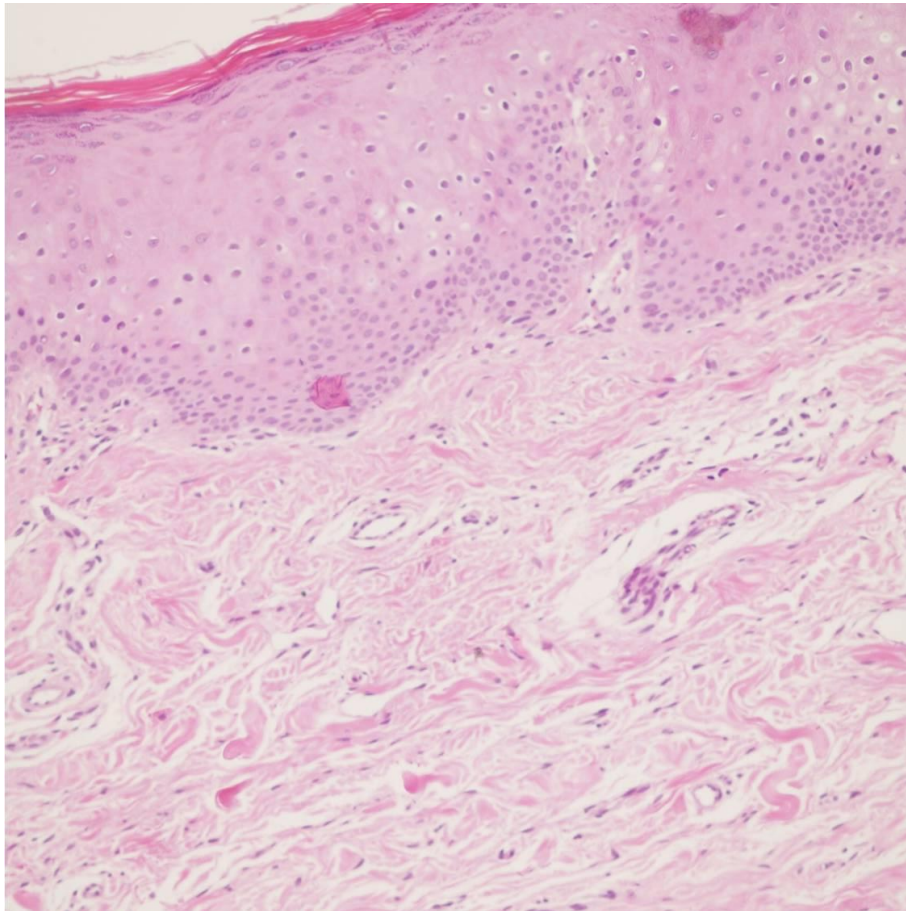


Figura 4. Queilite actínica: Epitélio pavimentoso estratificado exibindo displasia leve (H/E, x100). Natal, RN, 2011.

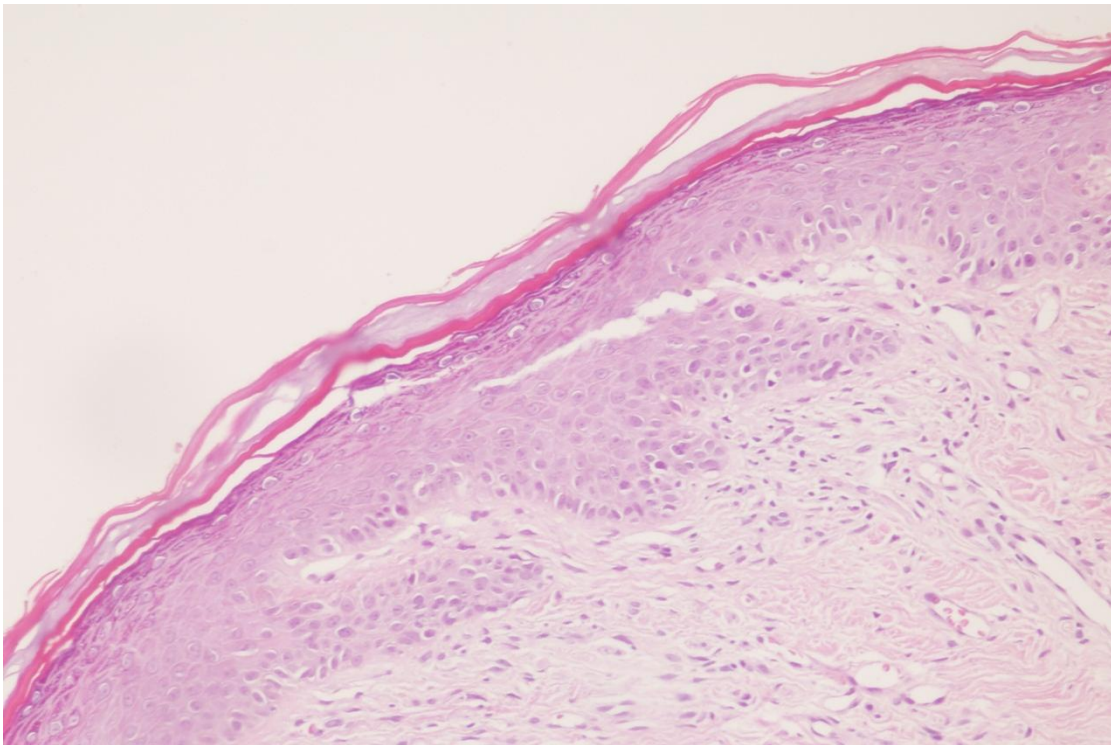
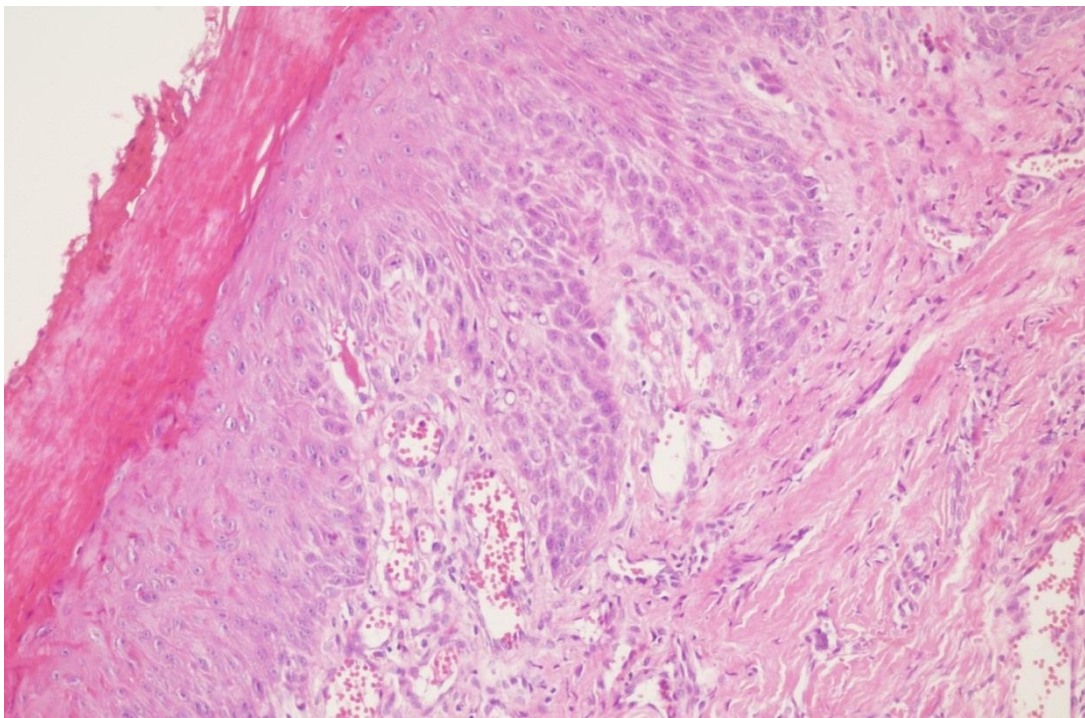


Figura 5. Queilite actínica. Epitélio pavimentoso estratificado exibindo displasia moderada (H/E, x100). Natal, RN, 2011.



5.3 RESULTADOS DA ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA

Realizou-se a análise da expressão imunohistoquímica da proteína Ki67 em microscopia óptica, onde se verificou a presença de marcação em todos os casos analisados. De forma geral, observou-se marcação nuclear para a proteína analisada com intensidades variáveis e padrão de distribuição difuso nos espécimes estudados.

O perfil de imunomarcação pode ser visto nas Figuras 6, 7 e 8.

Figura 6. Queilite actínica: Fraca expressão do ki67 em espécime de hiperkeratose. (Estreptoavidina-Biotina, x200) Natal, RN, 2011.

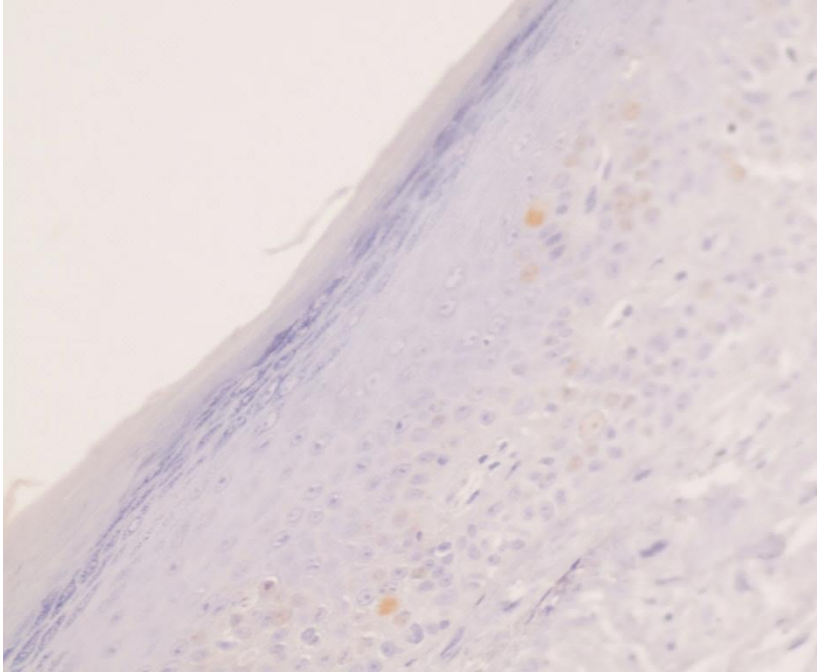


Figura 7. Queilite actínica: Forte imunorreatividade da proteína ki67 na camada basal de espécime de displasia epitelial leve. (Estreptoavidina-biotina, x200) Natal, RN, 2011.

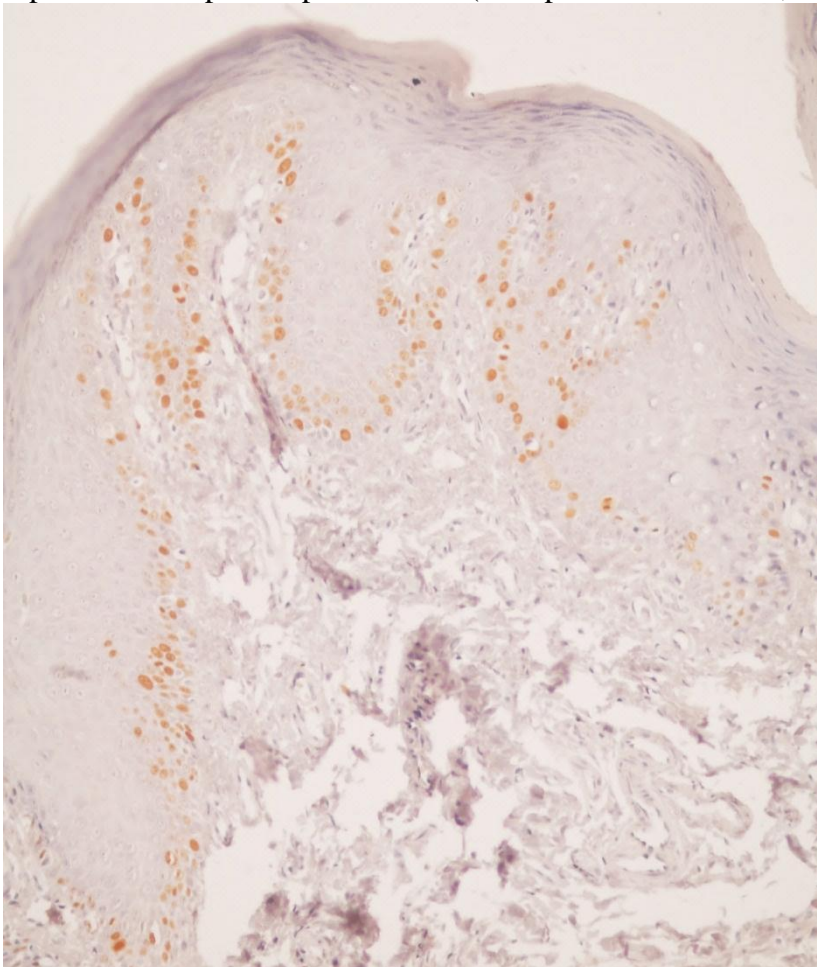
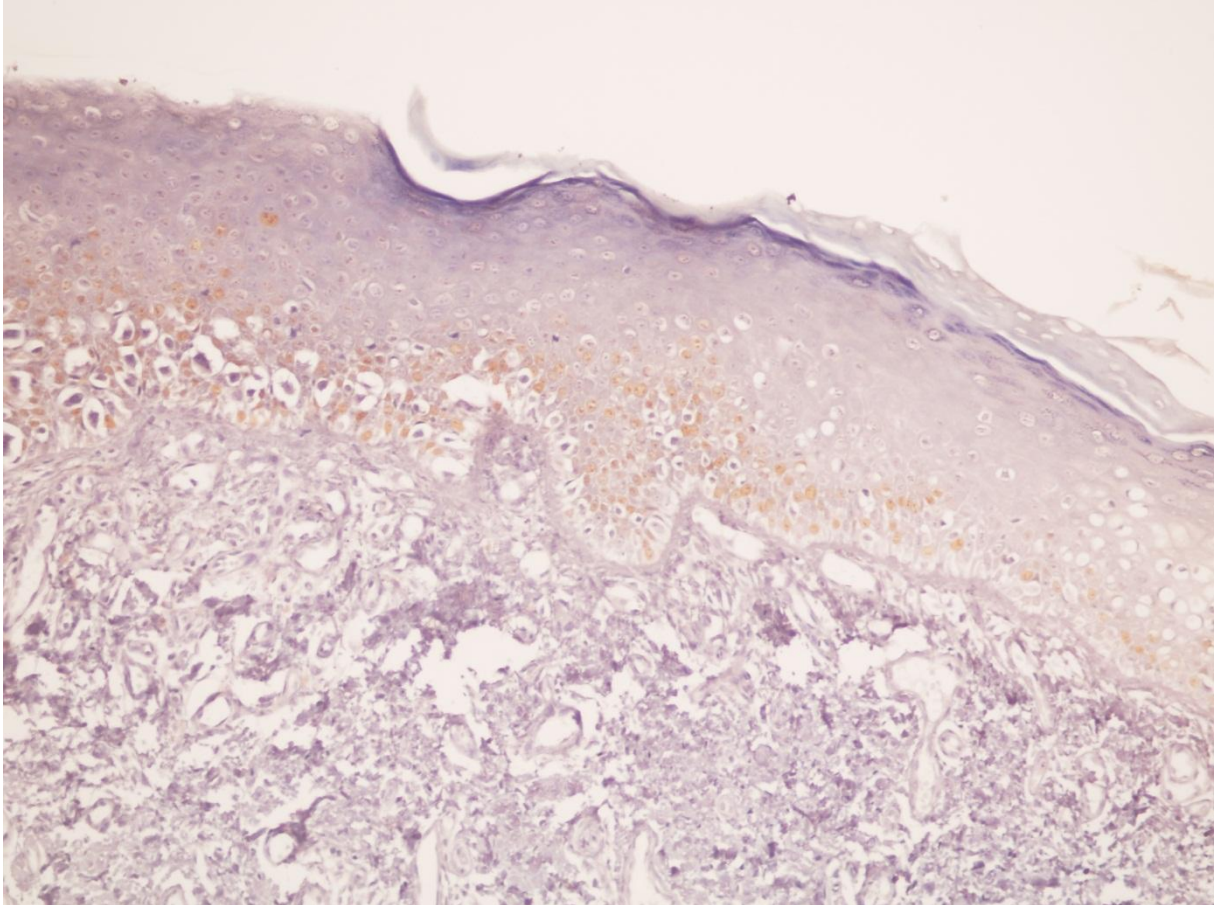


Figura 8. Queilite actínica: Forte imunorreatividade da proteína ki67 na camada basal de espécime de displasia epitelial moderada. (Estreptoavidina-biotina, x200) Natal, RN, 2011.



Para cada caso foi obtido o valor da mediana de acordo com a contagem da imunomarcção em cada campo histológico para o anticorpo utilizado, que foi de 12,4% com desvio padrão de $\pm 11,30$. A partir do valor desta mediana, foram realizados os testes estatísticos referidos na metodologia para as demais variáveis. A Tabela 3 mostra a associação entre as características clínicas e o anticorpo estudado.

Tabela 3. Mediana, Quartis 25 e 75 e significância estatística do Índice de células imunomarcadas pela proteína Ki67 de acordo com as características individuais, Campina Grande, PB, 2011.

Característica Individual	Mediana	Q ₂₅₋₇₅	<i>p</i>
Sexo			
Masculino	13,05	7,05-19,03	0,647
Feminino	9,65	4,62-18,80	
Idade (Categorizada por tercís)			
60 anos ou mais	11,20	7,35-15,50	0,789
Entre 48 e 59 anos	12,90	4,25-22,98	
Até 47 anos	11,90	7,30-27,10	
Cor da Pele			
Leucoderma	9,39	6,60-17,30	0,155
Feoderma	20,80	7,40-27-10	
Ocupação (categorizada por exposição ao sol)			
Expostos ao sol (n=14)	14,05	7,27-25,42	0,244
Não expostos ao sol (n=16)	10,64	5,55-17,22	
Tabagismo			
Sim	7,79	5,50-16,67	0,324
Não	13,75	7,32-20,21	
Proteção do Sol			
Sim	13,05	7,32-18,15	0,739
Não	10,44	6,25-22,37	

Como se pode observar, não houve associação estatisticamente significativa entre nenhuma das variáveis.

De modo semelhante, quando se procurou correlação entre a imunoeexpressão da proteína ki67 e as características clínicas e histopatológicas da queilite actínica, não se obtiveram resultados estatisticamente significativos, conforme pode ser observado na Tabela 4 a seguir:

Tabela 4. Correlação da imunoeexpressão da proteína Ki67 com as características clínicas e histopatológicas da queilite actínica, Campina Grande, PB, 2011.

Característica	Mediana	Q ₂₅₋₇₅	<i>P</i>
Sintomatologia dolorosa			
Sim	9,30	6,87-22,04	0,741
Não	13,90	6,75-18,15	
Aspecto clínico da lesão			
Leucoplasia não ulcerada	11,90	6,40-22,05	0,576
Eritroplasia não ulcerada	8,39	5,87-17,58	
Aspecto misto	17,70	10,65-25,30	
Diagnóstico histopatológico			
Hiperkeratose	12,90	6,50-17,15	0,757
Displasia leve	9,19	6,80-19,47	
Displasia moderada e grave	17,30	6,20-32,50	

6 DISCUSSÃO

As queilites actínicas são lesões que afetam principalmente o lábio inferior em pessoas brancas expostas crônica e excessivamente ao sol. Possui potencial de malignidade, embora sua evolução para carcinoma de células escamosas ainda não esteja bem elucidada. Assim, estudos que busquem mapear os eventos que ativam os mecanismos da carcinogênese nesta lesão são muito importantes. A visão corrente é de que os ceratinócitos sofrem degeneração, apresentando grande potencial de malignização. A etiologia da queilite actínica também foi relacionada com a cor da pele branca (menor quantidade de melanina e, portanto, menor proteção), com a exposição crônica ao sol e, conseqüentemente, com as ocupações que demandam longos períodos de exposição como as atividades exercidas pelos agricultores, pescadores e trabalhadores da construção civil (MARKOPOULOS; ALBANIDOU-FARMAKIS; KAYAVIS, 2004; CORSO et al., 2006; PIÑERA-MARQUES et al., 2010; WOOD et al., 2011). Neste estudo, os dados concordam com a literatura consultada, pois 76,7% da amostra eram leucodermas, 46,6% eram agricultores e pescadores, e 90% relataram estar expostos cronicamente ao sol.

A idade média encontrada nesta amostra se concentrou especialmente na 6ª década de vida, o que corrobora com os achados de Martínez et al. (2004); Markopoulos, Albanidou-Farmakis e Kayavis, (2004); Rojas et al. (2008) e Piñera-Marques et al. (2010), embora as amostras de Corso et al. (2006) e Martínez et al. (2007) tenham apresentado média de idade em torno de 48 anos.

Com relação à localização, estudos mostram que o lábio inferior é muito mais acometido quando comparado com o lábio superior, pois está mais exposto à incidência direta dos raios solares e, conseqüentemente, da radiação ultravioleta (MARKOPOULOS; ALBANIDOU-FARMAKIS; KAYAVIS, 2004; MARTÍNEZ et al., 2004; MARTÍNEZ et al.,

2007; ROJAS et al., 2008; PIÑERA-MARQUES et al., 2010). Nesta pesquisa, todos os sujeitos tiveram os espécimes biopsiados do lábio inferior.

Com relação aos hábitos deletérios, como o tabagismo, a literatura consultada mostrou controvérsia. Corso et al. (2006) encontraram 54,5% de fumantes em uma amostra de pacientes com queilites actínicas, concordando com Markopoulos, Albanidou-Farmakis e Kayavis (2004), que encontraram resultados em torno de 60%. Piñera-Marques et al. (2010) encontraram 38,4% de fumantes dentre portadores de queilites actínicas. De forma semelhante, destaca-se que a amostra estudada na presente pesquisa mostrou uma parcela ainda menor de fumantes, pois apenas 20% faziam uso de tabaco. O hábito de tabagismo, no entanto, pode ser é uma variável de confusão, uma vez que ele pode causar leucoplasias que fazem diagnóstico diferencial com a queilite actínica.

No que se refere à apresentação clínica das queilites actínicas, a maioria dos estudos pesquisados não abordou esta variável, pois suas amostras eram compostas de prontuários buscados em arquivos de pacientes ou em bancos de blocos de parafina contendo espécimes biopsiados para fins diagnósticos, onde esta informação poderia não estar disponível. Outra peculiaridade encontrada foi a falta de uniformidade na maneira como esta variável foi categorizada nos estudos já desenvolvidos. Piñera-Marques et al. (2010) classificaram as alterações clínicas em eritema, descamação, fissura, infiltração, atrofia, ulceração, leucoceratose, margens do vermelhão borradas, aspecto labial variando de vermelho a branco, atribuindo escores de 0 a 4, dependendo se a alteração estava ausente, se era pequena ou discreta, moderada, alta ou intensa, muito alta ou muito intensa, respectivamente. Tais autores encontraram médias de escore baixas para todas as alterações, exceto para a “aspecto labial variando de vermelho a branco”, onde a média foi discretamente maior. Já Markopoulos, Albanidou-Farmakis e Kayavis, (2004) categorizaram os aspectos clínicos de 65 queilites actínicas em erosões/úlceras, leucoplasias não ulceradas, e em lesões mistas (erosões e úlceras

com leucoplasias), sendo que a primeira situação foi mais representativa, pois figurou em quase metade da amostra. No presente estudo, foram obtidos resultados diferentes, especialmente pelo fato de uma minoria ter apresentado erosão/ulceração, embora as categorias “Leucoplasia não ulcerada” e “Aspecto misto de leucoplasia e ulceração” tenham figurado de maneira semelhante àquela mostrada no estudo de Markopoulos, Albanidou-Farmakis e Kayavis, (2004). Nesta pesquisa, 1/3 da amostra exibiu eritroplasias não ulceradas, categoria que não figurou no estudo dos autores anteriormente citados.

Em contrapartida à escassa quantidade de dados sobre os aspectos clínicos, os trabalhos pesquisados mostraram riqueza de detalhes no que se refere aos aspectos histopatológicos das queilites actínicas. Freitas et al. (2008), analisando 58 casos de queilites actínicas, encontraram 12 casos de displasia epitelial moderada e 46 casos de displasia severa, de forma que a alteração histológica mais comumente encontrada a perda da polaridade das células basais e o hiperchromatismo nuclear, seguido de pleomorfismo nuclear e presença de projeções em gota no epitélio. Na presente pesquisa, embora as alterações celulares tenham se apresentado de maneira semelhante àquela verificada pelos autores citados anteriormente, o diagnóstico histopatológico mais identificado foi a hiperqueratose, seguido das displasias epiteliais leve e moderada, que figuraram na mesma quantidade e da displasia epitelial grave, diagnóstico este que foi verificado em apenas um caso. Diante desses dados, pode-se inferir que os casos estudados nesta amostra tiveram seu diagnóstico efetivado em estágios iniciais da lesão, especificamente quanto à identificação de atipias celulares.

Cavalcante, Anbinder e Carvalho (2008) avaliaram 29 casos de queilite actínica quanto aos seus aspectos clínicos e histopatológicos e ressaltaram que a idade, o gênero, a raça e o hábito de fumar não estiveram relacionados com o grau de displasia (leve, moderado ou grave) identificado nos espécimes da lesão.

Piñera-Marques et al. (2010), buscando correlacionar displasia ou malignidade e idade ou tempo de exposição ao sol, analisaram clinicamente 125 pescadores com história de exposição crônica ao sol e submeteram 16 sujeitos a biópsia de lábio inferior, tendo sido encontrados quatro casos de carcinoma de células escamosas; sete casos de displasia epitelial leve; e cinco casos de displasia epitelial moderada. Os autores referidos, todavia, não encontraram correlação entre displasia ou malignidade e idade ou tempo de exposição ao sol. No presente estudo, de modo semelhante, não foi possível correlacionar exposição solar ou uso de proteção com a apresentação histopatológica dos espécimes analisados.

Existem diversos estudos (ROJAS et al., 2004; MARTÍNEZ et al., 2005; PIMENTEL et al., 2006; MARTÍNEZ et al., 2007; FREITAS et al., 2008; ROJAS et al., 2009) avaliando marcadores imunohistoquímicos em queilites actínicas. O fenômeno carcinogênico está associado a diversos eventos pelos quais uma célula normal se transforma numa célula tumoral com elevada taxa proliferativa. Uma das mais importantes linhas de pesquisa nessa área é a caracterização dos mecanismos moleculares envolvidos na carcinogênese. Os oncogenes e genes supressores de tumor estão diretamente envolvidos no ciclo celular, na diferenciação e na apoptose. (FLORES; SOBREVIA, 2000).

Rodrigues et al. (2008) e Motta et al. (2009) buscaram correlacionar imunohistoquimicamente as proteínas ki67 e p53 em carcinomas de células escamosas da cabeça e do pescoço (laringe e cavidade oral, respectivamente). No primeiro estudo, foram avaliados imunohistoquimicamente trinta casos consecutivos de carcinomas de células escamosas de laringe para as referidas proteínas. Os autores chegaram a conclusão de que não houve diferenças significativas entre a imunexpressão do p53 e do ki67 em carcinomas de células escamosas de laringe, exceto no grupo de pacientes com mais de 50 anos, onde a expressão do ki67 foi significativamente maior. Já no estudo de Motta et al. (2009), buscou-se correlacionar a expressão do p53 e do ki67 em carcinomas de boca com o status linfonodal, o

gênero, a gradação histológica, o volume tumoral e o estadiamento patológico. Concluíram que nos carcinomas de células escamosas de língua e cavidade oral, p53 e ki67 estão relacionados com tumores maiores, metástase linfonodal e com piores prognósticos. Embora o presente estudo tenha se realizado exclusivamente em lesões que ainda não evoluíram para câncer, a comparação do comportamento do ki67 em tumores de cabeça e pescoço e em queilites actínicas pode oferecer subsídios ao entendimento da expressão desta proteína na carcinogênese do lábio inferior. Neste estudo o ki67 esteve presente em todas as formas de apresentação histopatológicas estudadas, mas não foi possível associar estatisticamente o nível de marcação com a evolução da lesão.

Pimentel et al. (2006) fizeram um estudo buscando avaliar as características histopatológicas que pudessem ajudar a identificar as queilites actínicas mais susceptíveis à transformação carcinomatosa; avaliar a imunexpressão da proteína p53 e ainda determinar o valor da expressão do p53 como marcador para transformação em carcinoma de células escamosas de lábio, concluindo que um intenso infiltrado inflamatório na queilite actínica foi predictivo de um carcinoma de células escamosas invasivo e que a proteína p53 não fora um marcador de transformação maligna naquele estudo. Na presente pesquisa, de modo semelhante, buscou-se verificar a imunexpressão da proteína ki67 e determinar o valor da expressão do ki67 como marcador para evolução da queilite actínica em carcinoma de células escamosas de lábio. Embora o presente estudo tenha utilizado um marcador diferente daquele estudado pelos referidos autores, as considerações foram semelhantes, pois a proteína ki67 não foi considerada um marcador de interpretação do comportamento biológico das queilites actínicas, à semelhança do que ocorreu com a proteína p53 estudada pelos autores supracitados.

Outro estudo, feito por Rojas et al. (2008), buscou investigar as possíveis contribuições da triptase para a superexpressão da ciclooxigenase-2 (COX-2) durante os

estágios precoces da carcinogênese de lábio. Os resultados sugeriram que a superexpressão epitelial da COX-2 pode ser um evento chave na queilite actínica. Além disso, esses autores concluíram que a triptase pode contribuir para a regulação aumentada do COX-2 pela ativação epitelial do receptor-2 proteinase-ativado (PAR-2) durante os estágios precoces da carcinogênese de lábio, diferentemente da expressão do ki67 avaliada no presente estudo.

A proteína ki67 é expressa em todas as fases do ciclo celular, exceto na fase G0. Sua expressão aumenta com a progressão do ciclo celular, principalmente durante a última metade da fase S, alcançando um pico em G2 e M, rapidamente degradando-se depois da mitose através de complexo proteassomo (SCHOLZEN; GERDES, 2000; WU et al., 2000).

Martínez et al. (2005), ao avaliar imunohistoquimicamente as proteínas apoptóticas p53, bax, bcl-2 e a proteína de proliferação celular ki67 em queilites actínicas, em lábios inferiores normais (com epitélio exposto à radiação UV) e em espécimes removidos de mucosas jugais normais (epitélio não exposto à radiação UV), observaram que, embora a expressão da proteína bcl-2 fosse maior nas queilites actínicas do que nos espécimes de mucosa jugal normal, sua expressão foi significativamente reduzida quando comparada com o lábio normal. Por outro lado, a expressão do bax permaneceu inalterada e a do ki67 esteve significativamente aumentada nas amostras de queilite actínica e lábio normal em comparação com a mucosa jugal normal. Isso quer dizer, portanto, que o ki67 responde bem à exposição aos raios solares. Os resultados sugeriram que as células com DNA danificado são eliminadas por apoptose. Quanto à expressão do ki67, o presente estudo corrobora com o anteriormente citado, pois embora todos os espécimes tenham sido imunorreativos em algum grau para o ki67, não foi possível sua associação estatisticamente significativa com o aspecto clínico e patológico das queilites atínicas, resultados estes que sugerem que a proteína ki67 não participa da progressão de queilite actínica para carcinoma de células escamosas no lábio, no

entanto, mais estudos são necessários para melhor compreensão da proliferação celular neste processo.

7 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos no presente estudo foi possível inferir que:

- A queilite actínica tem uma tendência de acometer mais o gênero masculino, a faixa etária entre 40 e 59 anos, a ocupação profissional de agricultor e a cor da pele leucoderma.
- A maior parte da amostra embora se expusesse ao sol, usava algum tipo de proteção, e não fazia uso de tabaco.
- No tocante às formas de apresentação clínica da queilite actínica, observou-se uma maior tendência para as leucoplasias não ulceradas, seguidas de eritroplasias não ulceradas.
- As hiperkeratoses corresponderam ao padrão histopatológico mais predominante, seguido das displasias leves e moderadas, não sendo identificado nenhum caso de carcinoma *in situ*.
- Embora a proteína Ki67 tenha se expressado em todos os casos analisados, não houve um índice de expressão imunohistoquímica estatisticamente significativo desta variável com nenhuma outra analisada, podendo-se concluir apenas que havia atividade proliferativa celular em diversos graus nas referidas lesões.
- A proteína ki67 parece não ser um bom marcador em comportamento biológico para identificação de queilites actínicas.

REFERÊNCIAS

- ABBEY, L. M. et al. Intraexaminer and interexaminer reliability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.** v.80, p.188-191, 1995.
- ABREU, M.A. et al. Actinic cheilitis adjacent to squamous carcinoma of the lips as an indicator of prognosis. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 72, n.6, p: 767-71, Nov-Dec. 2006.
- ALBERTS, B. et al. **Biologia Molecular da Célula**.4 ed. Porto Alegre: Ed Artmed, 2004. 1463p.
- ARISAWA, E.L.A. et al. Marcadores biológicos: PCNA e Ki-67- breve revisão. **Pós-Grad. Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos**, v.2, n.1, p. 54-60, jan./jun., 1999.
- BAGASHAWEK, D.; RUSTIN, GJS. Circulation tumor markers. In: PERKHAN, M.; VERONESI, U, Eds. **Oxford Textbook of Oncology**. 4. Ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1993. p.431-542.
- BALASSIANO, K.Z. **Estudo comparativo da expressão imuno-histoquímica das proteínas bcl-2, p53, caspase-3 e Ki67 em hiperplasias fibrosas inflamatórias, queilites actínicas e carcinomas de células escamosas no lábio inferior**. Niterói, Universidade Federal Fluminense, Mestrado em Patologia Buco-dental, 244p. 2004.
- BARNES, L. et al. **World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours**. Lyon: IARC Press, 2005.
- BOUQUOT, J. et al. Epithelial Dysplasia of the Oral Mucosa – diagnostic problems and prognostic features. **Current Diagnostic Pathology**. v.12, p.11-22, 2006.
- BROTHWELL, D. J. et al. Observer agreement in the grading of oral epithelial dysplasia. **Community Dent Oral Epidemiol**. v.31, p. 300-305, 2003.

- BROWN, D.C.; GATTER, K.C. Ki67 protein: the immaculate deception. **Histopathol**, v.40, p.2-11, 2002.
- CAVALCANTE, A.S.; ANBINDER, A.R.; CARVALHO, Y.R. Actinic cheilitis: clinical and histological features. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 66, n.3, p:498-503, Mar, 2008.
- CORSO, F.M. Queilite actínica: prevalência na clínica estomatológica da PUCPR, Curitiba, Brasil. **Clin. Pesq. Odontol.**, Curitiba, v.2, n.4, p.277-281, abr./jun. 2006.
- CURY, P.R. et al. Signal transducer and activator of transcription-3 expression and activation is dysregulated in actinic cheilitis. **J Cutan Pathol**, v. 34, n. 8, p.606-611, Aug, 2007.
- DUFRESNE JR, R.G. et al. Dermabrasion for actinic cheilitis. **Dermatol Surg**, v.34, n.6, p.848-850, Jun, 2008.
- FLORES P, Carlos; SOBREVIA L, Luis. Tumorogénesis y proteína mdm2. **Rev. méd. Chile**, Santiago, v. 128, n. 5, mayo 2000 . Disponible en <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872000000500014&lng=es&nrm=iso>. accedido en 21 jun. 2010. doi: 10.4067/S0034-98872000000500014.
- FREITAS, M.C.A. et al., p53 and MDM2 protein expression in actinic cheilitis. **J Appl Oral Sci**. v.16, n.6, p.414-419. Jun. 2008.
- KARABULUT, A. et al. Observer variability in the histologic assessment of oral premalignant lesions. **J Oral Pathol Med**. v.24, p.198-200, 1995.
- KRUSE-LÖSLER, B. et al. Central giant cell granuloma of the jaws: A clinical, radiologic, and histopathologic study of 26 cases. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**. v.101, n.3, p.346-354, Mar, 2006.
- MARKOPOULOS, A; ALBANIDOU-FARMAKI, E; KAYAVIS, I. Actinic cheilitis: clinical and pathologic characteristics in 65 cases. **Oral Dis**, v. 10, n.4, p:212-216, Jul, 2004.

- MARTÍNEZ, A. et al. Epithelial expression of p53, mdm-2 and p21 in normal lip and actinic cheilitis. **Oral Oncol** v.44. p. 878-883. 2008. doi:10.1016/j.oraloncology.2007.11.008.
- MARTÍNEZ, A. et al. Expression of apoptotic and cell proliferation regulatory proteins in actinic cheilitis. **J Oral Pathol Med**, v. 34, n.5, p: 257-262, May. 2005.
- MOTTA, R.D.R. Ki-67 and p53 correlation prognostic value in squamous cell carcinomas of the oral cavity and tongue. **Braz J Otorhinnolaryngol.** v.75, n.4, p.544-549, Jul/Aug, 2009.
- MOURA, S.A.B. et al. Marcadores biológicos no câncer de boca. **Int. Journ. of Dent.** v.1, n.2, p.58-62, Fev. 2006.
- NETO, C. F. Sol e melanoma. **Boletim informativo do GBM**, Ano V, número 2, p. 3, Jan/Fev/Mar. 2003.
- NEVILLE, B.W. et al. **Patologia Oral & Maxilofacial.** 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.
- NICO, M.M.S.; RIVITTI, E.A.; LOURENÇO, S.V. Actinic cheilitis: histologic study of the entire vermilion and comparison with previous biopsy. **J Cutan Pathol**, v. 34, n. 4, p.309-314, Apr, 2007.
- PARISE JUNIOR, Orlando; et al. Prognostic impact of p53, c-erbB-2 and epidermal growth factor receptor on head and neck carcinoma. **São Paulo Med. J.** [online]. 2004, vol.122, n.6, pp. 264-268. ISSN 1516-3180.
- PERES, F.F.G. et al. A study of actinic cheilitis treatment by two low-morbidity CO₂ laser vaporization one-pass protocols. **Lasers Med Sci.** v.24, p. 375-385. 2009. DOI 10.1007/s10103-008-0574-y
- PIMENTEL, D.R.N. et al. Actinic cheilitis: histopathology and p53. **J Cutan Pathol**, v.33, n.8, p:539-544, Aug. 2006.
- PIÑERA-MARQUES, K. et al. Actinic lesions in fishermen's lower lip: Clinical, cytopathological and histopathologic analysis. **Clinics.** v. 65, n.4, p.363-367. Apr. 2010.

- PONTES, H.A.R. Immunodetection of repair protein hMSH2 in actinic cheilitis and normal labial mucosa. **Rev. Bras. Cancerol.** v.51, n.1, p. 23-30, 2005
- RABENHORST, S.H. et al. Marcadores de proliferação celular. **Rev Bras Pat Clin**, v.29, n.1, p.24-29, 1993.
- RODRIGUES, R.B. Prognostic value of the immunohistochemistry correlation of Ki-67 and p53 in squamous cell carcinomas of the larynx. **Rev Bras Otorrinolaringol.** v.74, n.6, p.855-859, nov/dec, 2008.
- ROJAS, I.G. et al. Actinic cheilitis: Epithelial expression of COX-2 and its association with mast cell tryptase and PAR-2. **Oral Oncol.** v.45, p.284-290, 2009. doi:10.1016/j.oraloncology.2008.05.019.
- ROJAS, I.G. et al. Increased mast cell density and protease content in actinic cheilitis. **J Oral Pathol Med**, v.33, n.9, p.567-73, Oct, 2004.
- SCHOLZEN, T; GERDES, J. The Ki-67 protein: From the know and the unknow. **J Cell Physiol**, v.182, p.311-322, 2000.
- SILVEIRA, E.J.D. et al. Lesões orais com potencial de malignização: Análise clínica e morfológica de 205 casos. **J Bras Patol Med Lab.** v.45, n.3, p.233-238. Jun. 2009.
- TUMULURI, V; THOMAS, G.A.; FRASER, I.S. Analysis of the Ki-67 antigen at the invasive tumour front of human oral squamous cell carcinoma. **J Oral Pathol Med**, v.31, n.10, p.598-604, 2002.
- VAN DIEST, P.J.; BRUGAL, G.; BAAK, J.P.A. Proliferation markers in tumours: interpretation and clinic value. **J Clin Pathol**, v.51, p.716-24, 1998.
- WU, Y. et al. The proteasome controls the expression of a proliferation-associated nuclear antigen Ki-67. **J Cell Biochem**, v.76, p.596-604, 2000.

ZANETTI, R. et al. Prevalence of actinic cheilitis in an oral health campaign in the city of Campinas, SP. **J of Applied Oral Science**. 20° Academic Conference of Bauru School of Dentistry. 2009.

ANEXO I



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS EDVALDO SOUSA DO Ó
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

Aluno: Salomão Cury-Rad Oka

Pesquisa: Estudo clínico e histopatológico e avaliação imunohistoquímica da proteína ki67 em queilites actínicas

FICHA CLÍNICA

Idade: _____ <input type="checkbox"/> 0-29 anos ou menos <input type="checkbox"/> 1-30 a 39 anos <input type="checkbox"/> 2-40 a 49 anos <input type="checkbox"/> 3-50 a 59 anos <input type="checkbox"/> 4-60 a 69 anos <input type="checkbox"/> 5-70 anos ou mais	Ocupação <input type="checkbox"/> 0-Agricultor <input type="checkbox"/> 1-Motorista <input type="checkbox"/> 2-Eletricista <input type="checkbox"/> 3-Pedreiro <input type="checkbox"/> 4-Pescador <input type="checkbox"/> 5-Borracheiro <input type="checkbox"/> 6-Estudante <input type="checkbox"/> 7-Aposentado <input type="checkbox"/> 8-Outro	Sexo: <input type="checkbox"/> 0-Masculino <input type="checkbox"/> 1-Feminino
		Cor da pele: <input type="checkbox"/> 0-Leucoderma <input type="checkbox"/> 1-Feoderma <input type="checkbox"/> 2-Melanoderma <input type="checkbox"/> 3-Xantoderma
Localização: <input type="checkbox"/> 0-Lábio inferior <input type="checkbox"/> 1-Lábio superior	Fumante: <input type="checkbox"/> 0-Sim <input type="checkbox"/> 1-Não	Exposição à radiação solar: <input type="checkbox"/> 0-Sim <input type="checkbox"/> 1-Não
Proteção contra os raios ultravioletas: <input type="checkbox"/> 0-Sim <input type="checkbox"/> 1-Não	Tipo de Proteção: <input type="checkbox"/> 0-Boné/chapéu <input type="checkbox"/> 1-Protetor solar <input type="checkbox"/> 2-Outro _____ <input type="checkbox"/> 3- Não usa	Sintomatologia dolorosa: <input type="checkbox"/> 0-Sim <input type="checkbox"/> 1-Não
Aspecto clínico da lesão: <input type="checkbox"/> 0-Leucoplasia não ulcerada <input type="checkbox"/> 1-Eritroplasia não ulcerada <input type="checkbox"/> 2-Erosão/ulceração <input type="checkbox"/> 3-Aspecto misto (leucoplásico/ulceração)	Diagnóstico histopatológico: <input type="checkbox"/> 0-Hiperkeratose <input type="checkbox"/> 1-Displasia leve <input type="checkbox"/> 2-Displasia moderada <input type="checkbox"/> 3-Displasia grave <input type="checkbox"/> 4-Carcinoma <i>in situ</i> <input type="checkbox"/> 5-Outro _____	Número de Células Contadas
		Número de Células Marcadas
		IC

ANEXO II
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO-TCLE

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido eu, _____, em pleno exercício dos meus direitos me disponho a participar da Pesquisa “**ESTUDO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO E AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA Ki67 EM QUEILITES ACTÍNICAS**”.

Declaro ser esclarecido e estar de acordo com os seguintes pontos:

O trabalho **ESTUDO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO E AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA Ki67 EM QUEILITES ACTÍNICAS** terá como objetivo geral **identificar as características clínicas e histopatológicas inerentes aos casos diagnosticados como queilite actínica na clínica da LINCCO (Liga Interdisciplinar de Combate ao Câncer Oral) do Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), bem como realizar uma avaliação imunohistoquímica da proteína Ki67 nos espécimes enviados para diagnóstico histomorfológico.**

Não haverá nenhum risco ou desconforto ao voluntário.

- Ao pesquisador caberá o desenvolvimento da pesquisa de forma confidencial, revelando os resultados ao médico, indivíduo e/ou familiares, se assim o desejarem.
- Não haverá utilização de nenhum indivíduo como grupo placebo, visto não haver procedimento terapêutico neste trabalho científico.
- O voluntário poderá se recusar a participar, ou retirar seu consentimento a qualquer momento da realização do trabalho ora proposto, não havendo qualquer penalização ou prejuízo para o mesmo.
- Será garantido o sigilo dos resultados obtidos neste trabalho, assegurando assim a privacidade dos participantes em manter tais resultados em caráter confidencial.
- Não haverá qualquer despesa ou ônus financeiro aos participantes voluntários deste projeto científico e não haverá qualquer procedimento que possa incorrer em danos físicos ou financeiros ao voluntário e, portanto, não haveria necessidade de indenização por parte da equipe científica e/ou da Instituição responsável.
- Qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos, o participante poderá contatar a equipe científica no número (083) 8817-0005 com Salomão Cury-Rad Oka.
- Ao final da pesquisa, se for do meu interesse, terei livre acesso ao conteúdo da mesma, podendo discutir os dados, com o pesquisador, vale salientar que este documento será impresso em duas vias e uma delas ficará em minha posse.
- Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos e, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo, dato e assino este termo de consentimento livre e esclarecido.

Assinatura do pesquisador responsável

Assinatura do Participante

Assinatura Dactiloscópica
Participante da pesquisa

ANEXO III

Andamento do projeto - CAAE - 0002.0.133.000-09				
Título do Projeto de Pesquisa				
ESTUDO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO E AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA KI67 EM QUEILITES ACTÍNICAS				
Situação	Data Inicial no CEP	Data Final no CEP	Data Inicial na CONEP	Data Final na CONEP
Aprovado no CEP	09/02/2009 17:25:05	27/10/2009 13:09:06		
Descrição	Data	Documento	Nº do Doc	Origem
1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet	03/02/2009 23:55:33	Folha de Rosto	FR241453	Pesquisador
2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List)	09/02/2009 17:25:05	Folha de Rosto	0002.0.133.000-09	CEP
3 - Protocolo Aprovado no CEP	27/10/2009 13:09:06	Folha de Rosto	0002.0.133.000-09	CEP

Voltar

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRO-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Profª Dra. Doralúcia Pedrosa de Araújo
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa