

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

FELIPE HENRIQUE CORRÊA

**Caracterização imunoistoquímica de células dendríticas plasmocitoides na queilite
actínica e no carcinoma espinocelular de lábio inferior**

ORIENTADOR: PROF. DR. JORGE ESQUICHE LEÓN

RIBEIRÃO PRETO

2023

FELIPE HENRIQUE CORRÊA

Caracterização imunoistoquímica de células dendríticas plasmocitoides na queilite actínica e no carcinoma espinocelular de lábio inferior

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Cirurgião-Dentista.

ORIENTADOR: PROF. DR. JORGE ESQUICHE LEÓN

RIBEIRÃO PRETO

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – FORP/USP por ter sido minha segunda casa durante mais de 5 anos, por ter me proporcionado a conhecer pessoas, viver momentos incríveis e propiciar conhecimentos para meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Aos meus pais, Aline França e Tiago Corrêa, por terem me dado base, condições e apoio para realizar este sonho. Às minhas avós, Sônia Corrêa e Cleide Reis, por sempre estarem presente em minha vida, ao meu tio Rafael Corrêa, por toda amizade e ajuda. À Lívia Uehara, por toda determinação, companheirismo e incentivo.

Ao meu professor orientador, Prof. Dr. Jorge Esquiche León, obrigado pela orientação, toda ajuda, por ter me dado diversas oportunidades e, depositado em mim, a confiança deste trabalho.

Aos meus amigos de turma, que compartilharam comigo todos esses momentos e fizeram tudo ter ainda mais sentido em minha trajetória.

Agradecimento especial à Daniela Corrêa (in memoriam), por ter segurado em minha mão, sonhado comigo e torcer pelo meu sucesso.

RESUMO

FELIPE HENRIQUE CORRÊA, **Caracterização imunoistoquímica de células dendríticas plasmocitoides na Queilite Actínica e no Carcinoma Espinocelular de lábio inferior.** 2023. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

A queilite actínica (QA) é uma desordem potencialmente maligna que afeta o vermelhão do lábio inferior. Estudos indicam que entre 3% a 20% dos casos de QA podem evoluir para carcinoma espinocelular (CEC) do lábio inferior (CEC-LI). O fator de risco associado com a patogênese da QA é a exposição crônica à radiação solar. Na QA, a detecção de displasia epitelial pela microscopia, é um importante fator prognóstico; porém, o microambiente celular contendo infiltração de células imunes com perfil antitumoral ou pró-tumoral, em relação à carcinogênese labial, precisa ser mais bem esclarecido. Nesse contexto, o papel das CDs plasmocitoides (CDp) na carcinogênese labial, precisa ser melhor esclarecido. Alguns estudos indicam que as CDp, sem tipificar seu estágio de maturação, também são responsáveis por participar em mecanismos imunológicos no microambiente tumoral, favorecendo mecanismos pró-tumorais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a presença e distribuição de CDp em biópsias de QA (n=33) e CEC-LI (n=31), as quais foram submetidas à técnica imunoistoquímica para avaliar os anticorpos individuais CD123 e CD303, considerando o seguinte perfil: CDp maduras (CD123+) e imaturas (CD123+/CD303+), avaliando cortes sequenciais. Na QA, 33 e 25 casos apresentaram células CD123+ e CD303+, respectivamente. No CEC-LI, 31 e 20 casos apresentaram células CD123+ e CD303+, respectivamente. Ambos QA e CEC-LI apresentaram similar número de células CD123+, já a QA apresentou um maior número de células CD303+ do que o CEC-LI ($p>0,05$). Células CD123+ foram mais numerosas do que células CD303+ em ambos QA ($p>0,05$) e CEC-LI ($p<0,05$). Não houve diferenças quando comparando a frequência de CDp com variáveis clinicopatológicas. Nossos resultados sugerem participação de CDp nos mecanismos imunes envolvidos na patogênese da QA e CEC-LI. Nesses casos, células CD303+ (CDp imaturas) parecem ser prevalentes na QA, as quais seguem um processo de maturação no CEC-LI, possivelmente modulando mecanismos pró-tumorais.

Palavras-chave: Queilite actínica. Carcinoma espinocelular. Células dendríticas. Célula dendrítica plasmocitoides. Carcinogênese labial. Imunoistoquímica.

ABSTRACT

FELIPE HENRIQUE CORRÊA, **Immunohistochemical characterization of plasmacytoid dendritic cells in actinic cheilitis and squamous cell carcinoma of the lower lip**. 2023. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Actinic cheilitis (AC) is a potentially malignant disorder that affects the vermilion of the lower lip. Studies indicate that between 3% and 20% of AC cases may progress to squamous cell carcinoma (SCC) of the lower lip (LL-SCC). The risk factor associated with the pathogenesis of AC is chronic exposure to solar radiation. In AC, detection of epithelial dysplasia by microscopy is an important prognostic factor; however, the cellular microenvironment containing infiltration of immune cells with antitumor or protumor profile, in relation to lip carcinogenesis, needs to be better clarified. In this context, the role of plasmacytoid dendritic cells (pDC) in lip carcinogenesis, needs to be better clarified. Some studies indicate that pDCs, without typifying their maturation stage, are also responsible for participating in immunological mechanisms in the tumor microenvironment, favoring pro-tumor mechanisms. The objective of the present study was to evaluate the presence and distribution of pDCs in AC (n=33) and LL-SCC (n=31) biopsies, which were submitted to the immunohistochemical technique to evaluate the individual antibodies CD123 and CD303, considering the following profile: mature (CD123+) and immature (CD123+/CD303+) pDC, evaluating sequential cuts. In AC, 33 and 25 cases presented CD123+ and CD303+ cells, respectively. In LL-SCC, 31 and 20 cases presented CD123+ and CD303+ cells, respectively. Both AC and LL-SCC presented similar number of CD123+ cells, while AC presented a higher number of CD303+ cells than LL-SCC ($p>0.05$). CD123+ cells were more numerous than CD303+ cells in both AC ($p>0.05$) and LL-SCC ($p<0.05$). There were no differences when comparing the frequency of pDCs with clinicopathological variables. Our results suggest participation of pDCs in the immune mechanisms involved in the pathogenesis of AC and LL-SCC. In these cases, CD303+ cells (immature cells) seem to be prevalent in AC, which follow a maturation process in the LL-SCC, possibly modulating pro-tumor mechanisms.

Keywords: Actinic cheilitis. Squamous cell carcinoma. Dendritic cells. Plasmacytoid dendritic cells. Lip carcinogenesis. Immunohistochemical.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1 Queilite actínica	8
1.2 Carcinoma espinocelular de lábio inferior.....	9
1.3 Células dendríticas.....	9
1.3.1 Células dendríticas mieloides (CDmi) na carcinogênese oral e labial.....	10
1.3.2 Células dendríticas plasmocitoides (CDp) na carcinogênese labial.....	10
2. OBJETIVO.....	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
3.1 Seleção da amostra.....	12
3.2 Análise histopatológica.....	12
3.3 Estágio morfológico e classificação.....	12
3.4 Análise imunoistoquímica.....	12
3.5 Análise estatística.....	13
4. RESULTADOS.....	13
4.1 Queilite actínica.....	13
4.2 Carcinoma espinocelular de lábio inferior.....	13
4.3 Estágio morfológico e classificação.....	13
4.4 Achados imunoistoquímicos na QA.....	13
4.5 Achados imunoistoquímicos no CEC-LI.....	13
4.6 Análise imunoistoquímica comparativa entre QA e CEC-LI.....	13
4.7 Expressão de CD123 em casos de QA.....	14
4.8 Expressão de CD303 em casos de QA.....	15
4.9 Expressão de CD123 em casos de CEC-LI.....	16
4.10 Expressão de CD303 em casos de CEC-LI	17
5. DISCUSSÃO.....	18
6. CONCLUSÕES.....	19
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

1. INTRODUÇÃO

1.1 Queilite actínica

A queilite actínica (QA) é uma desordem potencialmente maligna, frequentemente afetando o vermelhão do lábio inferior, a qual pode evoluir para carcinoma espinocelular (CEC) do lábio inferior (CEC-LI).¹ A maioria dos estudos fortemente apoiam com o fator etiopatogênico à radiação ultravioleta (UV), componente carcinogênico da luz solar.² Frequentemente afeta indivíduos de pele clara, adultos e idosos, que trabalham ao ar livre por mais de 25 anos,³ tipos de cor de pele I e II na escala Fitzpatrick, histórico de câncer de pele não-melanoma⁴ ou anormalidades genéticas que afetam a pigmentação tecidual,⁵ havendo ainda evidências conflitantes em relação ao consumo de álcool e/ou tabagismo aumentarem as chances de desenvolvimento de CEC-LI de forma independente.^{3,4} A QA tem alta predileção por homens (81,3%),⁶ com estudos indicando que a taxa de transformação em CEC é observado entre 3% a 20% dos casos de QA.^{7,8}

Os aspectos clínicos de QA são variáveis, sendo possível, em estágios iniciais, detectar fissuras, erosões e crostas, enquanto em quadros mais avançados são evidentes perda da elasticidade tecidual, atrofia, úlceras e presença de placas queratóticas, além da perda da divisão nítida entre a semimucosa labial e pele.^{9, 10} A QA é assintomática, porém há casos em que o paciente pode queixar-se de queimação, dormência e/ou dor.³

No geral, para evitar a progressão clínica da QA, métodos preventivos são recomendados, tais como uso de boné, chapéu, protetor labial e evitar exposição prolongada ao sol. Quando na presença de alterações labiais, o tratamento é dependente das características da lesão, como tamanho, localização, gravidade, comorbidades associadas e apoia-se em reduzir o risco de malignização de modo que a função e estética permaneça. Existem métodos de tratamento cirúrgicos, como por exemplo avermilionectomia, e também, métodos não-cirúrgicos, como a utilização de 5-fluorouracil.²

Histologicamente, a QA apresenta diversas alterações teciduais. Pode-se detectar modificações no tecido epitelial como hiperqueratose, acantose, atrofia, displasia epitelial em diversos graus, bem como CEC. Enquanto no tecido conjuntivo subjacente há presença de elastose solar pela degeneração de fibras colágenas I e III, infiltrado inflamatório (linfócitos e eventualmente plasmócitos) e vasodilatação.^{2,10,11}

1.2 Carcinoma espinocelular de lábio inferior (CEC-LI)

O CEC-LI tem predileção por homens com mais de 40 anos, pele branca e trabalhadores expostos cronicamente à luz solar.^{12,13} Clinicamente, o CEC-LI é descrito em tipos verrucoso, exofítico e ulcerativo¹⁴ e acomete qualquer porção do lábio, sendo as regiões laterais as mais prevalentes.¹⁵

O tratamento de LI é cirúrgico, isto é, excisão completa da lesão com margens de segurança,¹⁴ entretanto, radioterapia¹⁵ e terapia fotodinâmica,¹⁶ têm também sido utilizadas.

Histologicamente, o CEC-LI apresenta diversos graus de diferenciação. No CEC bem diferenciado, é possível notar pérolas de queratina, células semelhantes ao epitélio escamoso normal e poucas mitoses. Já o CEC moderadamente diferenciado exibe pleomorfismo nuclear, maior número de mitoses e raras pérolas de queratina. Por fim, o CEC pouco diferenciado é caracterizado por ausência de diferenciação escamosa, alta taxa mitótica e ausência de queratina.^{17, 18}

Considerando a inter-relação do sistema imune e CEC-LI, há estudos avaliando a densidade e migração de mastócitos,¹⁹ atuação dos eosinófilos,²⁰ expressão de antígeno leucocitário humano G,²¹ quantificação de células FOXP3+,²² modulação por neutrófilos,²³ células de Langerhans (CLs),²⁴ em relação ao prognóstico.²⁵ Relevantemente, o presente projeto de pesquisa é o primeiro estudo que avalia a frequência de CDp no CEC-LI.

1.3 Células dendríticas

As células dendríticas (CDs) são importantes componentes do sistema imune inato, as quais modulam respostas imunes em condições fisiológicas e patológicas. Notavelmente, as CDs são mais conhecidas por sua iniciação na resposta imunológica adaptativa, possuem a capacidade de migrar de áreas não-linfoides para órgãos linfoides e superior capacidade de ativar linfócitos T,^{26,27} porém, uma vez que, as CDs fazem parte de uma família de células heterogêneas, há também as que suprimem a resposta imune ao invés de estimulá-la.²⁸

Estudos evidenciam que as CDs derivam de progenitores indiferenciados que são originados na medula óssea.^{29,30} Uma vez que, um progenitor tem a capacidade de se diferenciar em distintas linhagens, as CDs são classificadas em dois grandes grupos: CDs mieloides (CDmi) e CDs plasmacitoides (CDp), incluindo estágios de maturação ou ativação.^{31,32}

1.3.1 Células dendríticas mieloides (CDmi) na carcinogênese oral e labial

Dentro do grupo das CDmi, as células de Langerhans (CLs), derivadas da medula óssea, são as mais representativas, com localização preferencial em pele e mucosas. Representam entre 2%-3% de toda a população epitelial em pele e mucosas, desempenhando a função de levar antígenos encontrados no epitélio escamoso para os linfonodos regionais, para que possam apresentar esses antígenos a células T específicas.³³

Araujo et al.³⁴ estudaram a presença e distribuição de CLs na patogênese da QA e observaram que nos casos de QA apresentando displasia epitelial houve uma maior concentração de CLs CD1a+ em relação ao epitélio labial normal. Diferentemente, no estudo por Gomes et al.³³ foi evidenciado uma menor concentração de CLs em casos de QA também em relação ao epitélio labial normal. Além disso, no mesmo estudo³³ não houve diferenças significativas quando avaliando CLs CD83+ maduras. Estes estudos^{33,34} mostram que o papel das CLs na patogênese da QA precisa ser ainda mais bem definida, bem como estabelecer adequados critérios de avaliação de CLs em amostras de QA.

De maneira comparativa, Öhman et al.³⁵ avaliaram a presença de CLs CD1a+ em casos de leucoplasia oral e CEC oral, sendo notado que o fenótipo neoplásico mostrava maior associação com CLs. Diferentemente, Gomes et al.³³ demonstraram uma redução da concentração de CLs no CEC-LI em comparação ao lábio normal, sendo explicado devido à intensa exposição do lábio inferior à radiação ultravioleta a qual resulta em diferentes graus de mudança na densidade e morfologia das CLs, prejudicando a resposta imunológica.

No geral, podemos evidenciar que há estudos mostrando que na carcinogênese oral e labial,^{33,34} as CLs mostram um perfil anti-tumoral.

1.3.2 Células dendríticas plasmocitoides (CDp) na carcinogênese oral

As CDp se originam na medula óssea, emergindo como células maduras na periferia. São CDs com vida relativamente curta e circulam principalmente através dos órgãos linfoides, onde normalmente compreendem 0,1% a 0,5% das células nucleadas. Além disso, estão presentes em outros órgãos internos, incluindo pele e mucosas. Ao analisá-las histopatologicamente, as CDps apresentam formato arredondado e morfologia secretora plasmocitoide, semelhante aos plasmócitos,³⁶ enquanto na análise imunoistoquímica, em humanos, a presença de CDp é detectada através dos marcadores CD123 e CD303. Os seus estágios de ativação são avaliados pelo seguinte perfil: CDp

imatura, expressando ambos os marcadores CD123 e CD303, já as CDp maduras expressam apenas o marcador CD123.³⁷

As CDp estão presentes nos tecidos periféricos e no sangue humano.³⁸ Devido a sua capacidade de produzir grandes quantidades de IFN-1 (INF- α), desempenham um papel importante na resposta imune antiviral. Recentes estudos também ressaltam a sua capacidade de modular respostas imunes no microambiente tumoral, favorecendo o crescimento tumoral.³⁹ De fato, a presença de CDp foi demonstrada em vários tumores, incluindo melanoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de pulmão, câncer de ovário e câncer de mama.³⁸

Em uma busca pela plataforma PUBMED é possível encontrar poucos estudos avaliando CDps em lesões de cavidade oral. Silva et al.⁴⁰ em um recente estudo, analisaram e quantificam CDp em leucoplasia oral, CEC oral e fibroma submucoso oral. Os resultados mostraram um aumento, porém não significativo, de CDp CD303+ no CEC oral em relação ao epitélio normal.⁴⁰ Ainda nesse sentido, Han et al.⁴¹ também realizaram um estudo analisando CDp CD123+ em CEC oral. Os autores observaram um aumento de CDp no microambiente tumoral em relação ao grupo controle, sendo associado à progressão e persistência tumoral.⁴¹

Em outro recente e notório estudo realizado na Universidade de Wuhan por Yang et al.³⁷ foi induzido CEC em camundongos com o intuito de analisar o efeito terapêutico da depleção de CDp no prognóstico e desenvolvimento tumoral. Com a depleção das CDp realizada através do bloqueio da molécula CD317, o grupo tratado mostrou diminuição na capacidade proliferativa das células tumorais, além de diminuição do tamanho do baço e dos gânglios linfáticos, indicativo de normalização do status de tolerância imunológica. Além disso, nesse mesmo estudo foi correlacionado com achados em humanos, sugerindo que a imunoterapia direcionada nas CDp pode ser eficaz para o tratamento do CEC da região de cabeça e pescoço.³⁷

Por fim, há falta de estudos avaliando CDp na QA e CEC-LI, especialmente se considerando estudo comparativo destas duas lesões com estágios de maturação das CDp, isto é, CDp maduras e imaturas na carcinogênese labial.

2. OBJETIVO

O presente estudo tem como objetivo caracterizar e quantificar os marcadores de CDp CD123 e CD303 em biópsias de QA e CEC-LI, por meio de análise imunoistoquímica, visando compreender melhor os seus mecanismos tumorigênicos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado nos Laboratórios de Microscopia e Histopatologia do Departamento de Estomatologia, Saúde Coletiva e Odontologia Legal da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (DESCOL, FORP-USP). O estudo foi aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa (Número do Parecer: 40393820.7.0000.5440).

3.1 Seleção da amostra: Realizou-se um estudo retrospectivo, cujos dados clínicos foram obtidos dos formulários clínicos de encaminhamento das biópsias ao Laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP). Para o estudo, foram selecionados 33 casos de QA e 31 casos de CEC-LI (blocos de parafina de biópsia).

3.2 Análise histopatológica: A partir do material existente nos blocos de parafina, foram realizados dois novos cortes com 5 µm de espessura, os quais foram corados com hematoxilina-eosina (H&E), e posteriormente analisados para descrição morfológica dos cortes convencionais e confirmação do diagnóstico de acordo com os critérios propostos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (El-Naggar et al., 2017).

3.3 Estágio morfológico e classificação: O grau de diferenciação celular na QA e CEC-LI foram estabelecidos de acordo com os critérios propostos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (El-Naggar et al., 2017).

3.4 Análise imunoistoquímica: Os cortes obtidos sobre lâminas revestidas com organossilano (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) foram submetidos à técnica imunoistoquímica pelo método da estreptavidina-biotina-peroxidase (Universal LSAB™+ Kit/HRP, Rb/Mo/Goat, K0690, Dako) para avaliar os anticorpos individuais CD123 e CD303, considerando o seguinte perfil: CDp maduras (CD123+) e imaturas (CD123+/CD303+), avaliando cortes sequenciais. Áreas com maior densidade de imunomarcagem foram selecionadas e a densidade e percentual de células positivas foram registradas em x400 (0,25mm²) (células positivas/mm²). Contagem independente de 10 campos separados para cada marcador e para cada caso foram feitas, sendo a média e desvio padrão destes valores registrados.

3.5 Análise estatística: Os dados foram analisados com Prism versão 5.0 (Graphpad, San Diego, CA, EUA). A distribuição normal foi testada usando o teste de Shapiro-Wilks. Nas amostras com distribuição normal, foram aplicados o teste t de Student e a correlação de Pearson. Nas amostras que apresentaram distribuição não normal, foi aplicado o teste U de Mann-Whitney e a correlação de Spearman. Um valor de probabilidade $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4. RESULTADOS

4.1 Queilite actínica: Dentre os 33 casos selecionados de QA, a maioria dos casos foram do sexo masculino ($n=29$), sendo o restante dos casos do sexo feminino. A idade variou de 24 a 81 anos (média, 58 anos). Todas as lesões estão localizadas no lábio inferior; todos os pacientes foram de raça branca, com exceção de apenas um caso, que era pardo. Os hábitos de tabagismo e etilismo foram variados: sendo que 2 casos eram apenas fumantes, 1 caso era ex-fumante e positivo para etilismo, 1 caso era ex-fumante e ex-etilista 1 caso era não fumante e etilista, 2 casos positivos para ambos, 2 casos negativos para ambos. O restante dos casos não continha informações de etilismo/tabagismo.

4.2 Carcinoma espinocelular de lábio inferior: Dentre os 31 casos selecionados de CEC-LI, a maioria dos casos foram do sexo masculino ($n=24$), sendo o restante dos casos do sexo feminino. A idade variou de 29 a 86 anos (média, 66 anos). Todos os pacientes foram da raça branca, com exceção de apenas um caso, que era mulato. Os hábitos de tabagismo e etilismo são variados: sendo 5 casos apenas fumantes, 1 caso era ex-fumante e ex-etilista, 2 casos eram apenas etilistas, 5 casos positivos para ambos, 3 casos negativos para ambos. O restante dos casos não continha informações de etilismo/tabagismo.

4.3 Estágio morfológico e classificação: Histopatologicamente, na QA, 22 casos apresentaram displasia epitelial de alto grau, 9 casos displasia epitelial de baixo grau, e 2 casos hiperplasia epitelial; já no CEC-LI, 26 casos foram bem diferenciados e 5 moderadamente diferenciados.

4.4 Achados imunoistoquímicos na QA: Na QA, 33 e 25 casos apresentaram células CD123+ e CD303+, respectivamente (**Figuras 1-4**).

4.5 Achados imunoistoquímicos na CEC-LI: No CEC-LI, 31 e 20 casos apresentaram células CD123+ e CD303+, respectivamente (**Figuras 5-8**).

4.6 Análise imunoistoquímica comparativa entre QA e CEC-LI: Ambos QA e CEC-LI apresentaram similar número de células CD123+, já a QA apresentou um maior número de células CD303+ do que o CEC-LI ($p > 0,05$). Células CD123+ foram mais

numerosas do que células CD303+ em ambos QA ($p>0,05$) e CEC-LI ($p<0,05$). Não houve diferenças quando comparando a frequência de CDp com variáveis clinicopatológicas.

4.7 Expressão de CD123 em casos de QA:

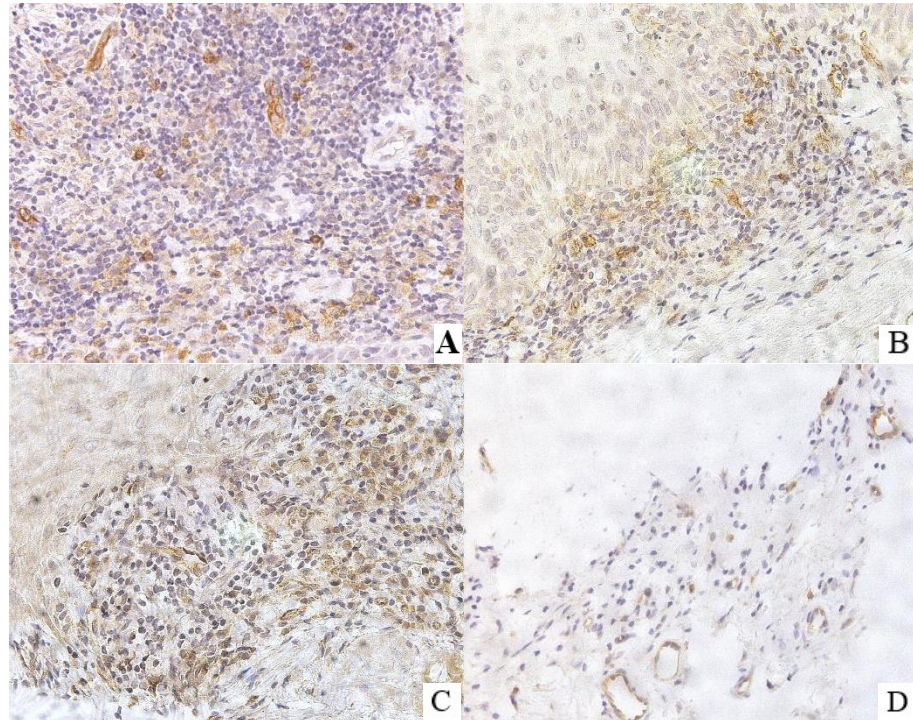


Figura 01. Expressão de CD123 em casos de QA. Observe que várias células com morfologia plasmocitoide são CD123 positivas (A,B), enquanto que outros casos mostram somente vênulas pós-capilares CD123 positivas (C, D) (A-D, x40).

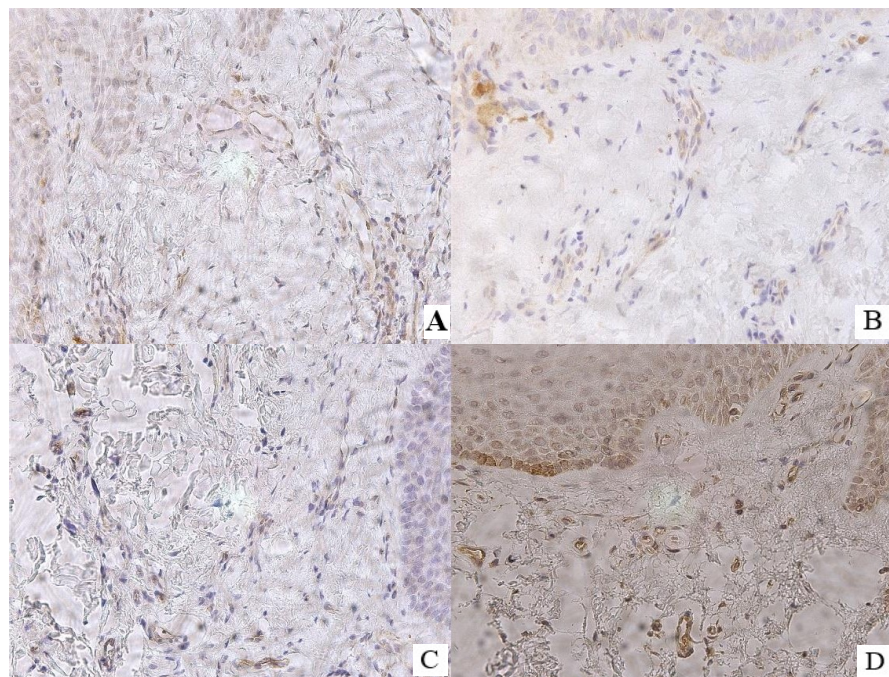


Figura 02. Expressão de CD123 em casos de QA. Observe que há células mononucleares CD123 positivas (A-D, x40).

4.8 Expressão de CD303 em casos de QA:

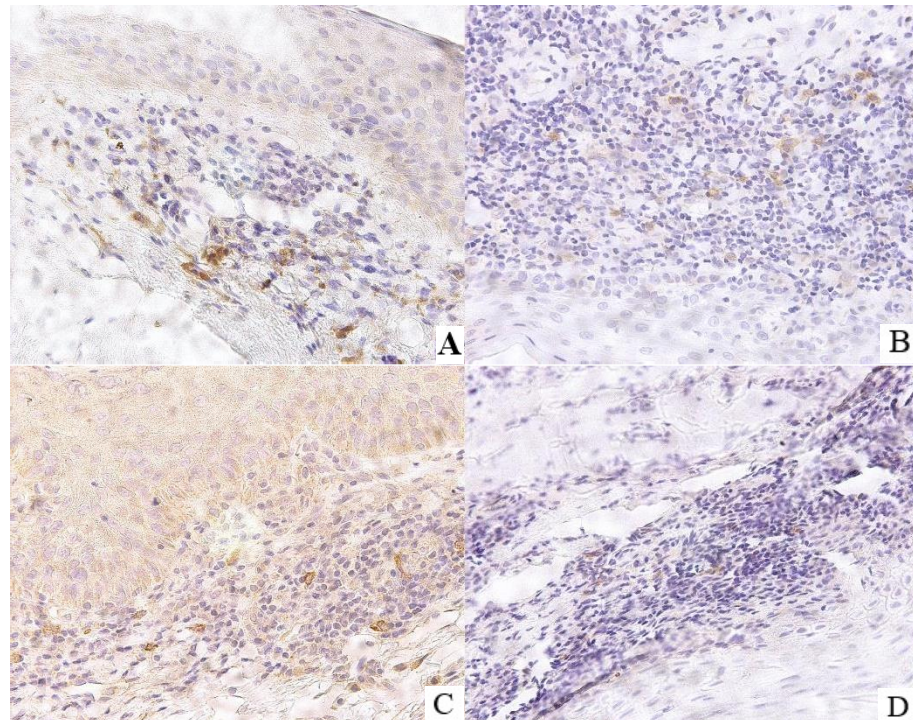


Figura 03. Expressão de CD303 em casos de QA. Observe células CD303 positivas permeadas por infiltrado inflamatório (A-C), enquanto que outros casos mostram escassas células CD303 positivas (D) (A-D, x40).

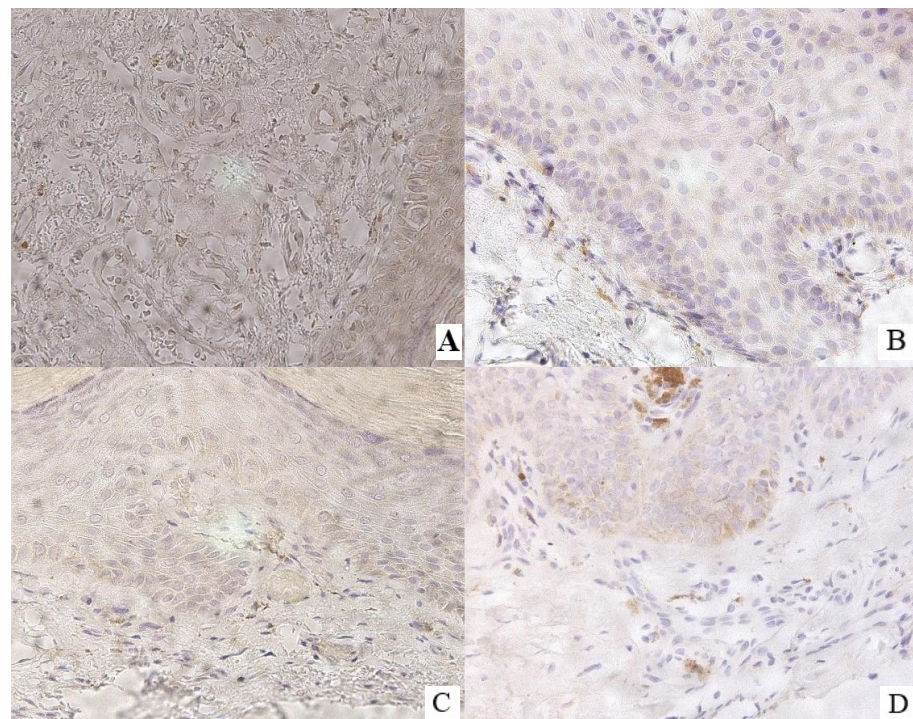


Figura 04. Expressão de CD303 em casos de QA. Observe células de morfologia monocitoide CD303 positivas (A-C), enquanto que outros casos apresentam células CD303+ e infiltrado inflamatório (D) (A-D, x40).

4.9 Expressão de CD123 em casos de CEC-LI:

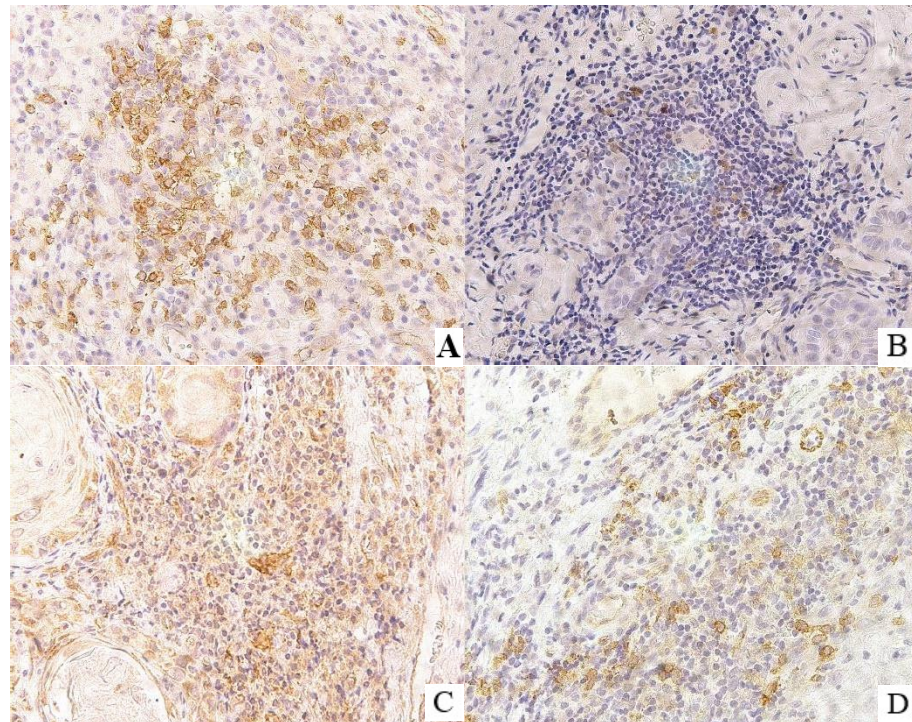


Figura 05. Expressão de CD123 em casos de CEC-LI. Observe que várias células mononucleares são CD123 positivas (A-D, x40).

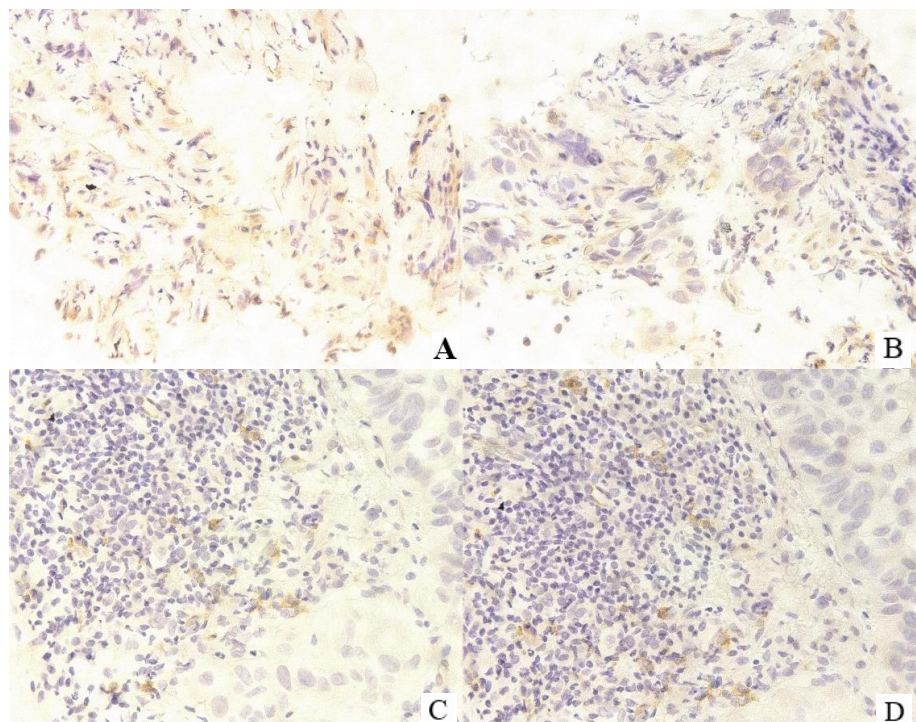


Figura 06. Expressão de CD123 em casos de CEC-LI. Observe cortes de um mesmo espécime (A-B; C-D) apresentando células CD123 positivas em quantidades similares (A-D, x40).

4.10 Expressão de CD303 em casos de CEC-LI:

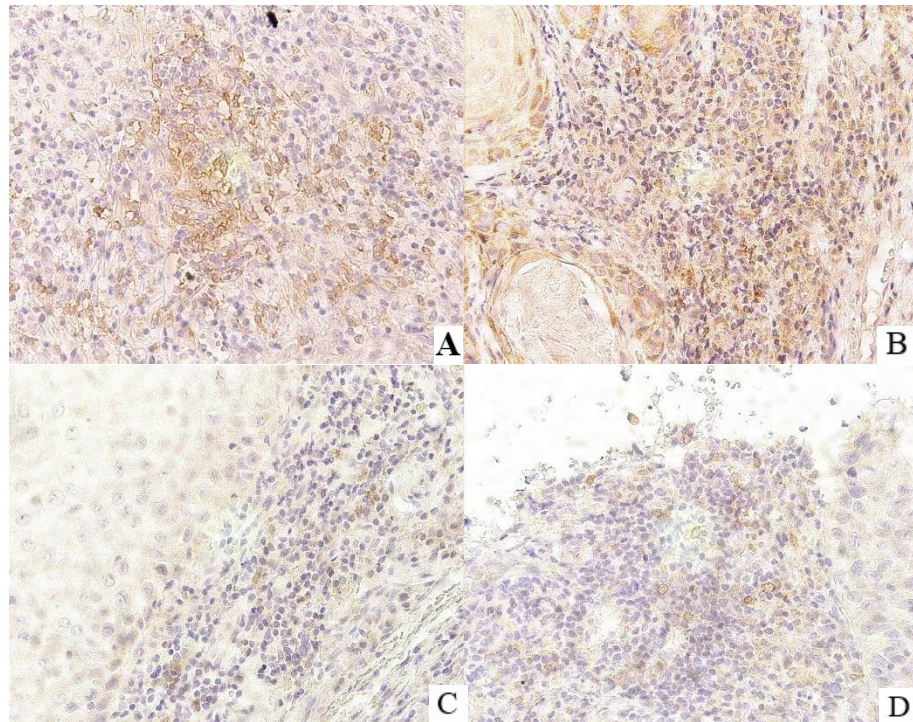


Figura 07. Expressão de CD303 em casos de CEC-LI. Observe que várias células são CD303 positivas (A, B), enquanto que outros casos mostram expressão discreta (C, D) (A-D, x40).

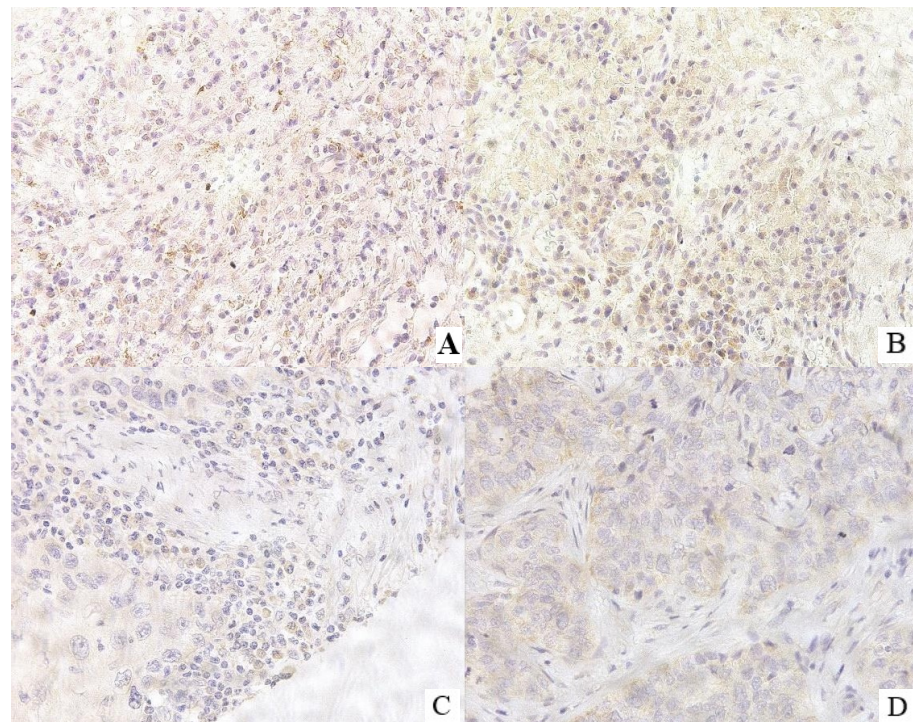


Figura 08. Expressão de CD303 em casos de CEC-LI. Observe escassas células com morfologia plasmocitoide CD303 positivas (A, B), enquanto outros casos são negativos (C, D) (A-D, x40).



Figura 09. Gráfico mostrando a frequência de células CD123+ e CD303+ nos casos de QA e de CEC-LI.

5. DISCUSSÃO

O presente trabalho relata a expressão de marcadores CD123 e CD303 em biópsias de QA e no CEC-LI, objetivando identificar e quantificar as CDp e seu estágio de maturação. Importante salientarmos que as CDs circulam através do sangue, órgãos linfóides e outros órgãos internos, como pele e mucosas^{36,38}, sendo as CDp, capazes de produzir grandes quantidades de IFN- α , desempenhando papel importante na resposta imune antiviral. Ainda, alguns estudos relatam o envolvimento das CDp no microambiente tumoral favorecendo mecanismos pró-tumorais³⁹, sendo demonstrado em melanoma, câncer de cabeça e pescoço, câncer de pulmão, ovário e mama³⁸.

Han et al. (2017), em um estudo com técnicas em biologia molecular, mostraram que células de câncer oral podem interferir a função das CDp, regulando negativamente a produção de IFN- α mediada por TLR-9 através do aumento de secreção de TGF- β e IL-10, podendo levar ao comprometimento funcional dessas células infiltradas no microambiente tumoral⁴². Além disso, revelaram que um número aumentado de CDp infiltrantes em carcinoma espinocelular oral, tem uma tendência de se correlacionar com aumento da massa tumoral e metástases em linfonodos⁴², sugerindo que as CDp podem facilitar a migração e invasão das células cancerígenas.

Gardner et al. (2020), em um estudo a respeito das funções das CDs na imunoterapia, demonstraram que a função da CDp em câncer depende da proporção e se essas são derivações mielóides, além de seu estado de ativação ser muito importante⁴³. Ainda nesse sentido, mostraram estudos com resultados contraditórios a depender da localização do tumor,

como por exemplo, correlações de que CDp associadas com o microambiente tumoral de adenocarcinoma de pulmão possui prognóstico positivo; entretanto, as CDp associadas com tumores de mama, correlacionou-se fortemente com um prognóstico geral ruim, assim como CDp encontradas em pacientes com carcinoma ovariano, nos quais induziam células T reguladoras produtoras de IL-10 e inibiram a proliferação de células T efetoras⁴³.

Em nosso estudo, foi possível observar a expressão de marcadores de CDp em ambas lesões, encontrando-se predominância de CDp imunopositiva para CD123 tanto na QA e CEC-LI, seguido por menores quantidades de CDp imunopositivas para CD303. No entanto, observamos maiores quantidades de CDp imaturas (CD303+) na QA do que o CEC-LI. Yang et al. (2019), em seu estudo a respeito de depleção de CDp por CD317 em microambiente tumoral de carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço em camundongos, relatou a desaceleração do crescimento tumoral e normalização dos órgãos imunológicos após bloqueio de CDp mediado pelo anticorpo CD317³⁷, implicando que as CDp contribuem para o crescimento e desenvolvimento tumoral. Assim, diante dos nossos resultados, é possível que a presença de CDp na QA e CEC-LI favorece mecanismos imunes para o desenvolvimento e crescimento tumoral. No entanto, mais estudos devem ser feitos, sobretudo na cavidade oral, para que possamos discutir de maneira mais ampla a presença dessas células e sua participação efetiva nos mecanismos tumorigênicos da QA e CEC-LI, fazendo-se necessário também, estudos que avaliem a infiltração de CDp imaturas e maduras, para que consigamos compreender melhor qual a relação existente entre grau de maturação e evolução tumoral.

6. CONCLUSÕES

Nossos resultados sugerem participação de CDp nos mecanismos imunes envolvidos na patogênese da QA e CEC-LI. Nesses casos, células CD303+ (CDp imaturas) parecem ser prevalentes na QA, as quais seguem um processo de maturação no CEC-LI, possivelmente modulando mecanismos pró-tumorais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

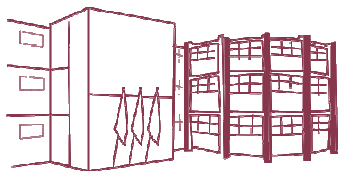
1. Lai M, Pampena R, Cornacchia L, Pellacani G, Peris K, Longo C. Treatments of actinic cheilitis: A systematic review of the literature. *J Am Acad Dermatol*. 2019 Aug 7. pii: S0190-9622(19)32501-0.
2. Muse ME, Crane JS. Actinic Cheilitis. 2019 Nov 23. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan.

3. Muse ME, Crane JS. Actinic Cheilitis. 2020 Aug 8. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. PMID: 31855380.
4. Rodríguez-Blanco I, Flórez Á, Paredes-Suárez C, Rodríguez-Lojo R, González-Vilas D, Ramírez-Santos A, Paradela S, Conde IS, Pereiro-Ferreirós M. Actinic Cheilitis: Analysis of Clinical Subtypes, Risk Factors and Associated Signs of Actinic Damage. *Acta Derm Venereol*. 2019 Sep 1;99(10):931-932.
5. Marçon CR, Maia M. Albinism: epidemiology, genetics, cutaneous characterization, psychosocial factors. *An Bras Dermatol*. 2019 Sep - Oct;94(5):503-520.
6. Kaugars GE, Pillion T, Svirsky JA, Page DG, Burns JC, Abbey LM. Actinic cheilitis: a review of 152 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1999 Aug;88(2):181-6.
7. Markoupoulos A, Albanidou-Farmaki E, Kayavus I. Actinic cheilitis: clinical and pathologic characteristics in 65 cases. *Oral Dis*. 2004 Jul;10(4):212-6.
8. Oliveira Alves MG, da Mota Delgado A, Balducci I, Carvalho YR, Cavalcante AS, Almeida JD. Study of MDM2 and SUMO-1 expression in actinic cheilitis and lip cancer. *Arch Dermatol Res*. 2014 Nov;306(9):837-41.
9. de Oliveira Ribeiro A, da Silva LC, Martins-Filho PR. Prevalence of and risk factors for actinic cheilitis in Brazilian fishermen and women. *Int J Dermatol*. 2014 Nov;53(11):1370-6.
10. de Santana Sarmiento DJ, da Costa Miguel MC, Queiroz LM, Godoy GP, da Silveira EJ. Actinic cheilitis: clinicopathologic profile and association with degree of dysplasia. *Int J Dermatol*. 2014 Apr;53(4):466-72.
11. Cavalcante AS, Anbinder AL, Carvalho YR. Actinic cheilitis: clinical and histological features. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008 Mar;66(3):498-503.
12. Domínguez-Gordillo A, Esparza-Gómez G, García-Jiménez B, Cerero-Lapiedra R, Casado-Gómez I, Romero-Lastra P, Warnakulasuriya S. The pattern of lip cancer occurrence over the 1990-2011 period in public hospitals in Madrid, Spain. *J Oral Pathol Med*. 2016 Mar;45(3):202-10.
13. Souza RL, Fonseca-Fonseca T, Oliveira-Santos CC, Corrêa GT, Santos FB, Cardoso CM, Sant' Ana-Haikal D, Guimarães AL, Batista-De Paula AM. Lip squamous cell carcinoma in a Brazilian population: epidemiological study and clinicopathological associations. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011 Sep 1;16(6):e757-62.
14. Luce EA. Carcinoma of the lower lip. *Surg Clin North Am*. 1986 Feb;66(1):3-11.

15. Hasson O. Squamous cell carcinoma of the lower lip. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Jun;66(6):1259-62.
16. Kübler AC, de Carpentier J, Hopper C, Leonard AG, Putnam G. Treatment of squamous cell carcinoma of the lip using Foscan-mediated photodynamic therapy. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001 Dec;30(6):504-9.
17. Strieder L, Coutinho-Camillo CM, Costa V, da Cruz Perez DE, Kowalski LP, Kaminagakura E. Comparative analysis of three histologic grading methods for squamous cell carcinoma of the lip. *Oral Dis.* 2017 Jan;23(1):120-125.
18. Güleç AT. Diagnosing squamous cell carcinoma of the lip using dermoscopy. *J Am Acad Dermatol.* 2017 Feb;76(2S1):S82-S83.
19. Costa NL, Oton-Leite AF, Cheim-Júnior AP, Alencar Rde C, Bittar GO, Silva TA, Batista AC. Density and migration of mast cells in lip squamous cell carcinoma and actinic cheilitis. *Histol Histopathol.* 2009 Apr;24(4):457-65.
20. Sakkal S, Miller S, Apostolopoulos V, Nurgali K. Eosinophils in Cancer: Favourable or Unfavourable? *Curr Med Chem.* 2016;23(7):650-66.
21. Gonçalves AS, Oliveira JP, Oliveira CF, Silva TA, Mendonça EF, Wastowski IJ, Batista AC. Relevance of HLA-G, HLA-E and IL-10 expression in lip carcinogenesis. *Hum Immunol.* 2016 Sep;77(9):785-90.
22. Gonzaga AKG, Santos HBP, Crispim JCO, Souza LB, Palomino GM. Immunohistochemical evaluation of HLA-G and FoxP3+ T regulatory cells in oral cavity and lower lip squamous cell carcinomas. *Braz Oral Res.* 2019;33:e020.
23. da Silva KD, Caldeira PC, Alves AM, Vasconcelos ACU, Gomes APN, de Aguiar MCF, Tarquinio SBC. High CD3(+) lymphocytes, low CD66b(+) neutrophils, and scarce tumor budding in the invasive front of lip squamous cell carcinomas. *Arch Oral Biol.* 2019 Aug;104:46-51.
24. Gomes JO, de Vasconcelos Carvalho M, Fonseca FP, Gondak RO, Lopes MA, Vargas PA. CD1a+ and CD83+ Langerhans cells are reduced in lower lip squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2016 Jul;45(6):433-9.
25. Costa NL, Gonçalves AS, Martins AF, Arantes DA, Silva TA, Batista AC. Characterization of dendritic cells in lip and oral cavity squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2016 Jul;45(6):418-24.
26. Steinman RM, Idoyaga J. Features of the dendritic cell lineage. *Immunol Rev.* 2010 Mar;234(1):5-17.

27. Heath WR, Carbone FR. Dendritic cell subsets in primary and secondary T cell responses at body surfaces. *Nat Immunol.* 2009 Dec;10(12):1237-44.
28. Schraml BU, Reis e Sousa C. Defining dendritic cells. *Curr Opin Immunol.* 2015 Feb;32:13-20.
29. Fogg DK, Sibon C, Miled C, Jung S, Aucouturier P, Littman DR, Cumano A, Geissmann F. A clonogenic bone marrow progenitor specific for macrophages and dendritic cells. *Science.* 2006 Jan 6;311(5757):83-7. Epub 2005 Dec 1. Erratum in: *Science.* 2006 Mar 3;311(5765):1242.
30. Waskow C, Liu K, Darrasse-Jèze G, Guermonprez P, Ginhoux F, Merad M, Shengelia T, Yao K, Nussenzweig M. The receptor tyrosine kinase Flt3 is required for dendritic cell development in peripheral lymphoid tissues. *Nat Immunol.* 2008 Jun;9(6):676-83.
31. Onai N, Obata-Onai A, Schmid MA, Ohteki T, Jarrossay D, Manz MG. Identification of clonogenic common Flt3+M-CSFR+ plasmacytoid and conventional dendritic cell progenitors in mouse bone marrow. *Nat Immunol.* 2007 Nov;8(11):1207- 16.
32. Naik SH, Sathe P, Park HY, Metcalf D, Proietto AI, Dakic A, Carotta S, O'Keeffe M, Bahlo M, Papenfuss A, Kwak JY, Wu L, Shortman K. Development of plasmacytoid and conventional dendritic cell subtypes from single precursor cells derived in vitro and in vivo. *Nat Immunol.* 2007 Nov; 8(11):1217-26.
33. Gomes JO, de Vasconcelos Carvalho M, Fonseca FP, Gondak RO, Lopes MA, Vargas PA. CD1a+ and CD83+ Langerhans cells are reduced in lower lip squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2016 Jul;45(6):433-9.
34. Araújo CP, Gurgel CA, Ramos EA, Freitas VS, Barbosa Ade A Jr, Ramalho LM, dos Santos JN. Accumulation of CD1a-positive Langerhans cells and mast cells in actinic cheilitis. *J Mol Histol.* 2010 Dec;41(6):357-65.
35. Öhman J, Magnusson B, Telemo E, Jontell M, Hasséus B. Langerhans cells and T cells sense cell dysplasia in oral leukoplakias and oral squamous cell carcinomas-- evidence for immunosurveillance. *Scand J Immunol.* 2012 Jul;76(1):39-48.
36. Reizis B. Plasmacytoid Dendritic Cells: Development, Regulation, and Function. *Immunity.* 2019 Jan 15;50(1):37-50.
37. Yang LL, Mao L, Wu H, Chen L, Deng WW, Xiao Y, Li H, Zhang L, Sun ZJ. Pdc depletion induced by CD317 blockade drives the antitumor immune response in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2019 Sep;96:131-139.
38. Vermi W, Soncini M, Melocchi L, Sozzani S, Facchetti F. Plasmacytoid dendritic cells and cancer. *J Leukoc Biol.* 2011 Oct;90(4):681-90.

39. Labidi-Galy SI, Treilleux I, Goddard-Leon S, Combes JD, Blay JY, Ray-Coquard I, Caux C, Bendriss-Vermare N. Plasmacytoid dendritic cells infiltrating ovarian cancer are associated with poor prognosis. *Oncoimmunology*. 2012 May 1;1(3):380-382.
40. Silva LC, Fonseca FP, Almeida OP, Mariz BA, Lopes MA, Radhakrishnan R, Sharma M, Kowalski LP, Vargas PA. CD1a⁺ and CD207⁺ cells are reduced in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2020 Jan 1;25(1):e49-e55.
41. Han N, Zhang Z, Liu S, Ow A, Ruan M, Yang W, Zhang C. Increased tumor- infiltrating plasmacytoid dendritic cells predicts poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Arch Oral Biol*. 2017 Jun;78:129-134.
42. Han N, Li X, Wang Y, Wang L, Zhang C, Zhang Z, Ruan M, Zhang C. Increased tumor-infiltrating plasmacytoid dendritic cells promote cancer cell proliferation and invasion via TNF- α /NF- κ B/CXCR-4 pathway in oral squamous cell carcinoma. *J Cancer*. 2021 Mar 19;12(10):3045-3056.
43. Gardner A, de Mingo Pulido Á, Ruffell B. Dendritic Cells and Their Role in Immunotherapy. *Front Immunol*. 2020 May 21;11:924.



Folha de Informação

Em consonância com a Resolução CoCEX-CoG nº 7.497/2018, informamos que a Comissão de Graduação da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FORP/USP) em sua 531ª Reunião Ordinária, realizada em 03 de junho de 2024, **aprovou**, fundamentando-se na sugestão da Subcomissão para Avaliação dos Trabalhos de Conclusão de Curso (TCCs) da Unidade, **a inclusão deste trabalho na Biblioteca Digital de Trabalhos Acadêmicos da USP (BDTA).**

Cumpre-nos destacar que a disponibilização deste trabalho na BDTA foi autorizada pelos autores (estudante e docente orientador), conforme menção constante no trabalho e documentação existente no Serviço de Graduação da FORP.

Ribeirão Preto, 03 de junho de 2024.

Prof. Dr. Michel Reis Messoria
Presidente da Comissão de Graduação
FORP/USP