

Imunoexpressão da proteína de reparo hMSH2 em queilite actínica e mucosa labial normal

Imunodetection of repair protein hMSH2 in actinic cheilitis and normal labial mucosa

Hélder Antônio Rebelo Pontes¹, Maria Cássia Ferreira de Aguiar², Ricardo Alves de Mesquita³, Flávia Sirotheua Corrêa Pontes⁴,
João Batista da Silveira Júnior⁵

Resumo

A queilite actínica é a principal lesão pré-neoplásica do lábio. A exposição crônica à radiação solar é apontada como o principal agente etiológico, tanto para a queilite actínica como para o carcinoma epidermóide do lábio. Porém, estudos complementares são necessários para ajudar a mapear os eventos moleculares indispensáveis para que ocorra a progressão da queilite actínica para esta neoplasia. 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, é importante avaliar esta proteína em queilites actínicas. Este estudo teve como objetivo descrever e analisar a imunoexpressão da proteína hMSH2 em amostras de queilites actínicas com várias graduações histológicas (discreta, moderada e acentuada), assim como no epitélio do lábio inferior normal. Os resultados não mostraram diferenças estatísticas entre as várias graduações 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 que a proteína hMSH2 não participa da progressão de queilite actínica para carcinoma epidermóide no lábio, no entanto, mais estudos são necessários para melhor compreensão da participação do reparo de bases mal pareadas neste processo.

Palavras-chave: Queilite actínica; Proteína hMSH2; Reparo de bases mal pareadas.

¹ Professor Assistente I de Ciências Patológicas I da Universidade Federal do Pará - Mestre em Estomatologia pela Universidade Federal de Minas Gerais

² Professora Adjunta de Patologia Bucal da Universidade Federal de Minas Gerais - Doutora em Patologia Bucal pela Universidade de São Paulo.

³ Professor Adjunto de Patologia Bucal da Universidade Federal de Minas Gerais - Doutor em Patologia Bucal pela Universidade de São Paulo-

⁴ Mestre em Estomatologia pela Universidade Federal de Minas Gerais - Especialista em Periodontia pela Profis-USP Bauru

⁵ Aluno de iniciação científica do Departamento de Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais

Pesquisa realizada na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais com o apoio financeiro da FAPEMIG (Fundação de Amparo à pesquisa de Minas Gerais) e CNPq.

Endereço para correspondência: Hélder Antônio Rebelo Pontes - Av. Conselheiro Furtado 2438, Ed. Domus I apto 301 Belém-Pará CEP 66040100.
E-mail: harp1@uol.com.br

Abstract

The actinic cheilitis is a precancerous lesion of the lip. The exposure to direct sun light radiation has been indicated as the most important etiologic agent of both the actinic cheilitis and the squamous cells carcinoma of the lip. Thereby, other studies are necessary to help mapping the molecular events that contribute to the actinic cheilitis progression into a neoplasia. The hMSH2 protein of the DNA mismatch repair interacts with proteins that constitute the main repair pathways of the damage caused by ultraviolet radiation, nucleotide excision repair. Therefore, it is important to evaluate this protein in actinic cheilitis. The propose of this study was describe and to analyze the hMSH2 protein immunoexpression in samples of actinic cheilitis with different histological degrees (mild, moderate and severe), as well as in normal inferior lip epithelium. When actinic cheilitis with different histological degrees were compared among themselves, the results showed no statistical differences. There is no significant statistic differences among the actinic cheilitis and the normal lip mucosa. These results suggest that the hMSH2 protein does not participate on the actinic cheilitis development into squamous cell carcinoma of the lip, however other studies are necessary for a better understanding of DNA mismatch repair system participation at the context.

Key words: Actinic cheilitis; hMSH2 protein; Mismatch repair system.

INTRODUÇÃO

O estudo das alterações moleculares que ocorrem em lesões potencialmente malignas auxilia no entendimento das etapas que devem ser percorridas para a aquisição de um fenótipo maligno, fornecendo, deste modo, ferramentas para o estabelecimento de protocolos de diagnóstico, tratamento e acompanhamento mais específicos destas lesões. A queilite actínica é a principal lesão pré-neoplásica do lábio inferior, ocorrendo como conseqüência da exposição ao componente ultravioleta da radiação solar, predominantemente em homens de pele clara¹⁻³.

Os danos genéticos ocasionados pela radiação ultravioleta são reparados especialmente por uma via de reparo do DNA conhecida como Reparo de Excisão de Nucleotídeo (NER- do inglês *nucleotide excision repair*)⁴⁻⁶. Alguns trabalhos da literatura mostraram a interação entre a proteína hMSH2 e a via de reparo de excisão de nucleotídeo^{7,8}. A proteína hMSH2 integra o sistema de reparo de bases mal pareadas (MMR- do inglês *mismatch repair*) do DNA, sistema responsável pelo reparo de bases nitrogenadas mal pareadas localizadas em regiões que apresentam seqüências repetidas de nucleotídeos no DNA, conhecidas como regiões microsátélites. A supressão dessa via de reparo do DNA está associada ao aparecimento de neoplasias malignas no cólon, endométrio, estômago, intestino e ovário, caracterizando a síndrome hereditária do carcinoma do cólon-retal não polipóide (HNPCC- do inglês *hereditary non-polyposis colorectal cancer*)⁹⁻¹¹.

O sistema MMR, em humanos, começou a ser caracterizado somente a partir de 1993, quando Kolodner et al. clonaram, usando PCR, o primeiro gene MMR humano, o MSH2¹²⁻¹³. O sistema MMR humano é composto por quatro heterodímeros: MutS α , MutS β , MutL α e MutL β . O heterodímero MutS α é formado pelas proteínas hMSH2 e hMSH6, o heterodímero MutS β é constituído pelas proteínas hMSH2 e hMSH3, o heterodímero MutL α é formado pelas proteínas hMLH1 e hPMS2 e o heterodímero MutL β é formado pelas proteínas hMLH1 e hMLH3^{14,6}.

MutS α atua, em humanos, no reconhecimento de bases mal pareadas, principalmente G-T, e em locais de inserção ou deleção de alças de um nucleotídeo; enquanto MutS β age, em humanos, no reconhecimento de amplas alças de inserção ou deleção de dois a oito pares de bases de nucleotídeos não pareados e reconhece menos eficientemente inserção e deleção de um par de base não pareada^{9,15,16}. Após o reconhecimento das bases mal pareadas pelos heterodímeros MutS, os heterodímeros MutL ligam-se ao composto formado pelas bases mal pareadas e o heterodímero MutS, reação patrocinada pelo antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA)^{5,17}. As enzimas EXO1, MED1 e FEN-1 posteriormente ligam-se ao conjunto base mal pareada-MutS-MutL e removem os erros de pareamento^{5,14}. A síntese do novo fragmento de DNA corretamente pareado é realizada pelas proteínas polimerases δ e ϵ e a ligação ao DNA é patrocinada pela enzima ligase I¹⁷.

A perda da função dos genes MMR requer a inativação homozigótica em nível celular, ou seja, os

dois alelos selvagens devem ser inativados^{18, 16}. A perda da eficiência do sistema MMR conduz a uma condição genética conhecida como instabilidade microsátelite (MSI). Regiões microsátelites são caracterizadas por curtas sequências de nucleotídeos (dois a cinco pares de nucleotídeos) repetidas de 15 a 30 vezes e distribuídas pelo genoma.^{12, 19, 20} As mutações nos genes do sistema de reparo de bases mal pareadas, dentre os quais está o gen hMSH2, criam um ambiente propício a transformação maligna, ao permitir que ocorram mutações em outros genes, como em alguns genes reguladores do crescimento celular, nos genes supressores tumorais ou, ainda, nos genes responsáveis pelo reparo do DNA e que realizam a apoptose¹⁶.

Considerando que os danos ocasionados pela radiação ultravioleta são reparados pelas proteínas que participam do reparo de excisão de nucleotídeos e que alguns estudos mostraram interações dessas proteínas com a proteína hMSH2, este estudo objetiva: 1) Avaliar, topográfica e quantitativamente, a imunoexpressão da proteína hMSH2 nas diferentes graduações histológicas de queilite actínica, comparando com a imunomarcação em mucosa labial normal. 2) Avaliar a existência de relação entre a imunomarcação de hMSH2 e os diferentes graus de atipia na queilite actínica.

MATERIAIS E MÉTODOS

SELEÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS:

As amostras de queilite actínica e mucosa labial normal foram selecionadas nos arquivos do laboratório de Anatomia Patológica da Faculdade da Universidade Federal de Minas Gerais. Foram selecionados 12 amostras com diagnóstico de queilite actínica e 6 amostras de mucosa do lábio inferior que se

apresentavam dentro de um padrão de normalidade. Todos os casos selecionados foram fixados em formol a 10% e processados segundo procedimentos de rotina para inclusão em parafina. As amostras foram submetidas a cortes de 4µm, coradas pelo método de hematoxilina e eosina (HE). Posteriormente, as lâminas foram avaliadas para o diagnóstico e graduação histológica de queilite actínica. A graduação histológica das queilites actínicas foi realizada por dois patologistas, separadamente, que utilizaram o sistema proposto por Paula e Gómez²¹ (quadro 1): ausência de atipia, atipia epitelial discreta, atipia epitelial moderada e atipia epitelial acentuada. A figura 1 ilustra um caso de queilite actínica com atipia leve.

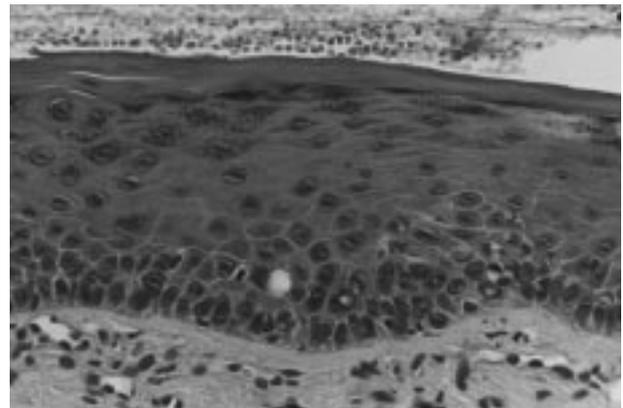


Figura 1 - Queilite actínica com atipia discreta.

TÉCNICA DE IMUNOISTOQUÍMICA:

As reações de imunistoquímica para a marcação da proteína de reparo hMSH2 foram desenvolvidas no laboratório de imunistoquímica da disciplina de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da UFMG. As reações de imunistoquímica foram desenvolvidas

Quadro1- Sistema de graduação histológica do epitélio bucal proposto por Paula e Gómez (2001) usado na avaliação histológica de queilite actínica.

GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA	CRITÉRIOS MORFO-CITOLÓGICOS
Ausência de atipia epitelial	Sem alterações morfo-citológicas
Atipia epitelial discreta	Presença de uma ou mais alterações morfo-citológicas, restrita à camada basal do epitélio
Atipia epitelial moderada	Presença de uma ou mais alterações morfo-citológicas acometendo metade da espessura do epitélio e a presença de projeções epiteliais em forma de gota
Atipia epitelial acentuada	Presença de uma ou mais alterações morfo-citológicas acometendo mais de metade da espessura do epitélio e a presença de projeções epiteliais em forma de gota

pela técnica manual da estreptavidina-biotina. As reações foram desenvolvidas em cortes histológicos de 4µm de espessura e estendidos em lâminas de vidro previamente preparadas com 3-aminopropyltriethoxy-silane a 4% (Sigma Chemical, St. Louis, USA), por 5 minutos, e em dois banhos rápidos de acetona PA. Posteriormente permaneceram em temperatura ambiente durante 24 h. Os cortes foram desparafinizados em 3 banhos de xilol e reidratados em etanol. Para a remoção do pigmento de formol, os cortes foram imersos em hidróxido de amônio a 10%, em etanol 95% e lavados em sete banhos de água destilada. Para a recuperação antigênica, as lâminas foram mergulhadas em TRS-ph 6 (Target retrieval Solution- Dako Corporation, Glostrup, Denmark) e foi utilizada a panela elétrica a vapor por 30 minutos, com temperatura entre 95°C- 98°C. Para inibição da peroxidase endógena, os cortes passaram por dois banhos de 15 minutos em peróxido de hidrogênio 10 volumes, sendo posteriormente lavados em cinco banhos de água destilada. Os cortes foram incubados em anticorpo anti-MHS2 (clone G219-1129-Pharmigen, San Diego, USA), sempre à temperatura ambiente, permanecendo em câmara úmida. Inicialmente, os espécimes foram incubados em anticorpo secundário biotilado polivalente por 30 minutos. Em seguida, foi realizada a incubação com o complexo streptavidina-peroxidase por 30 minutos. A revelação da reação foi feita pelo uso da solução cromógena contendo 25 mg de diaminobenzidina (3,3' diaminobenzidina, Sigma Chemical, St. Louis, USA) diluídos em 100 ml de tampão TRIS-HCL pH 7,4, aos quais foi adicionado 1,2 ml de peróxido de hidrogênio 10 volumes. Os cortes permaneceram nesta solução por cinco minutos, sendo lavados em água corrente por cinco minutos, seguidos por dois banhos de água destilada. Para a realização da contra-coloração as lâminas foram mergulhadas em solução de hematoxilina de Mayer por cinco minutos. Decorrido este tempo, as lâminas foram imersas rapidamente em solução aquosa de hidróxido de amônio a 10% e lavadas em água corrente por cinco minutos. Posteriormente, os cortes foram desidratados em soluções com concentrações crescentes de etanol, diafinizados em xilol e montados em Permount (Fisher Scientific, Fair Lawn, USA).

ANÁLISE DA IMUNOMARCAÇÃO:

A análise para a avaliação da imunomarcagem para hMSH2 foi executada através de um retículo de contagem para delimitação de campos, ajustado a um microscópio de luz (Axiostar-Zeiss), com aumento final de 400x. O mesmo observador realizou a contagem em todos os casos de queilite actínica e mucosa labial

normal. Em cada campo, delimitado pelo retículo de contagem, foram contados o número total de células e o número de células positivas para hMSH2. Foram consideradas como positivas as células que apresentavam núcleos com coloração castanha, como resultado da precipitação do cromógeno diaminobenzidina. A partir desta análise foi gerado um índice de marcação que indica a percentagem de células positivas em relação ao número total de células, nas áreas epiteliais analisadas. Para definição do número de campos a serem selecionados, foram analisados 8, 10 e 12 campos em cinco amostras aleatórias. Como as diferenças entre 8, 10 e 12 campos não foram significativas, optou-se pela contagem de 8 campos histológicos em cada amostra. O primeiro campo foi ajustado na área de maior imunomarcagem e preservação da arquitetura da lesão. Verificou-se, então, o número total de células e o número de células positivas. Foram consideradas como negativas as células que apresentaram núcleos de coloração azul, contracolorados pela hematoxilina de Mayer. Foram consideradas como positivas as células que apresentaram núcleos de coloração castanha.

TESTES ESTATÍSTICOS APLICADOS E CARACTERIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS:

A comparação entre os dados, em nível ordinal, das três amostras independentes foi realizada através da análise de variância de Kruskal-Wallis. A primeira amostra foi formada por seis casos de mucosa labial inferior normal. A segunda amostra foi constituída pelos casos de queilite actínica sem atipia epitelial e com atipia epitelial discreta. A terceira amostra foi formada pelos casos de queilite actínica com atipia epitelial moderada e a com atipia epitelial acentuada. Também foi aplicado o teste de *Mann-Whitney* entre os casos agrupados em dois grupos: o primeiro grupo formado por casos de queilite actínica sem atipia epitelial e com atipia epitelial discreta e o segundo grupo, por casos de queilite actínica com atipia epitelial moderada e com atipia epitelial acentuada.

RESULTADOS

Distribuímos os casos de queilite actínica em dois grupos: a) um grupo contendo cinco casos exibindo atipia discreta e um caso com ausência de atipia (Fig. 1); b) um segundo grupo com quatro casos apresentando atipia moderada e dois casos mostrando atipia acentuada. Todos os pacientes com queilite actínica eram do sexo masculino, sendo 11 leucodermas e um melanoderma. As alterações localizavam-se no lábio inferior e a média de idade dos pacientes era de 55 anos, com o desvio padrão de 12,6 e a mediana de 57,5 anos. Os dados clínicos e os resultados da graduação histológica dos casos de queilite actínica estão relacionados na tabela 1.

Tabela 1 - Índice de marcação para a proteína hMSH2 nas amostras de queilite actínica com atipia epitelial moderada e com atipia epitelial moderada.

CASO	ÍNDICE DE MARCAÇÃO
1	66,12 %
2	65,14 %
3	43,97 %
4	55,17 %
5	36,98 %
6	81,87 %
MÉDIA	58,06
MÍNIMO	36,98
MÁXIMO	81,87

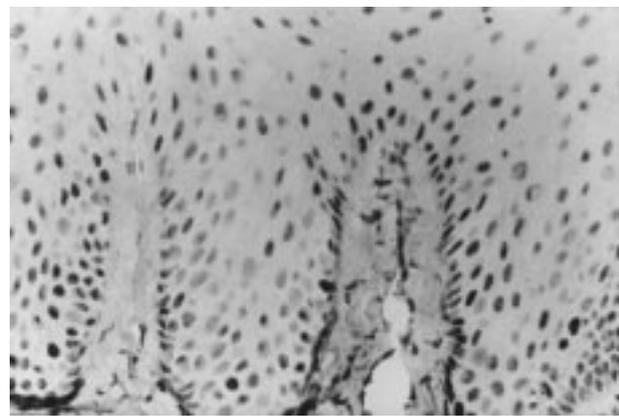


Figura 2 - Imunomarcção da proteína hMSH2 em mucosa labial normal.

A análise da imunomarcção para hMSH2 em epitélio labial normal apresentou um padrão caracterizado por positividade de marcação nuclear em todas as camadas epiteliais, sendo que o maior número de células positivas encontrava-se nas camadas basal e parabasal (Fig. 2).

A imunomarcção para hMSH2 foi positiva em todos os casos de queilite actínica e em todas as camadas epiteliais, porém a imunomarcção mais acentuada ocorreu nas camadas basal e parabasal (Fig. 3). Este padrão se repetiu em todos os casos, não havendo variação de acordo com o grau de atipia (Tabelas 2, 3 e 4).

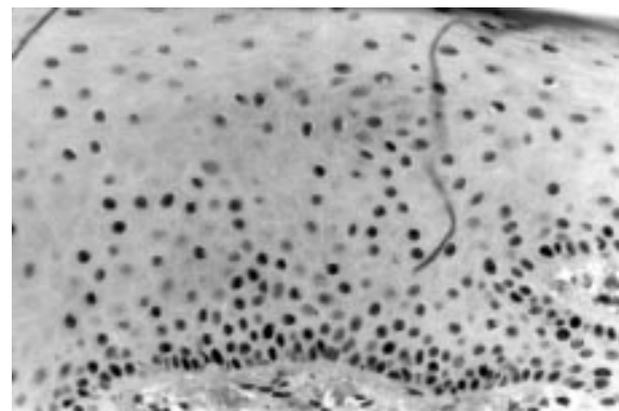


Figura 3 - Imunomarcção da proteína hMSH2 em queilite actínica.

Tabela 2 - Aspectos clínicos e graduação histológica dos casos de queilite actínica.

CASO	SEXO	IDADE	RAÇA	LOCAL ANATÔMICO	GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA
1	M	34	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	SEM ATIPIA
2	M	43	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA DISCRETA
3	M	69	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA DISCRETA
4	M	54	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA DISCRETA
5	M	37	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA DISCRETA
6	M	47	MELANODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA DISCRETA
7	M	70	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA MODERADA
8	M	63	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA MODERADA
9	M	62	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA MODERADA
10	M	70	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA MODERADA
11	M	56	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA ACENTUADA
12	M	59	LEUCODERMA	LÁBIO INFERIOR	ATIPIA ACENTUADA

Tabela 3 - Índice de marcação para a proteína hMSH2 em mucosa bucal normal

CASO	ÍNDICE DE MARCAÇÃO
1	43,01 %
2	31,78 %
3	26,05 %
4	35,26 %
5	40,24 %
6	58,11 %
MÉDIA	39,07
MÍNIMO	26,05
MÁXIMO	58,11

Tabela 4 - Índice de marcação para a proteína hMSH2 nas amostras de queilite actínica sem atipia epitelial e com atipia epitelial discreta.

CASO	ÍNDICE DE MARCAÇÃO
1	51,27 %
2	58,08 %
3	55,13 %
4	56,42 %
5	45,73 %
6	50,62 %
MÉDIA	52,85
MÍNIMO	45,73
MÁXIMO	58,08

Análise estatística da imunomarcção

O teste de *Kruskal-Wallis* demonstrou não existirem diferenças estatisticamente significativas entre as imunomarcações da proteína hMSH2 nos diferentes aspectos histopatológicos da queilite actínica e mucosa labial normal ($H = 5,67 /$ graus de liberdade $+2 / p > 0,05$). Na avaliação da relação entre a imunomarcção das amostras do grupo com queilite actínica sem atipia e com atipia epitelial discreta quando comparados ao grupo com casos de queilite actínica com atipia epitelial moderada e acentuada. O teste de *Mann-Whitney* demonstrou que não existiam diferenças estatisticamente significativas entre as imunomarcações da proteína hMSH2 nos dois grupos avaliados ($N1 = 6 / N2 = 6 / R1 = 35,5 / R2 = 42,5 / U = 14,5 / Z = 0,56 / p > 0,05$).

DISCUSSÃO

O número de casos avaliados neste estudo não permite uma análise epidemiológica profunda, porém os dados clínicos obtidos estão de acordo com os relatos

registrados na literatura, com exceção do caso de queilite actínica encontrado em um paciente melanodérmico, representando menos de 1% dos relatos encontrados na literatura^{22, 23}.

Em todas as amostras analisadas a marcação foi exclusivamente nuclear, fato que está em consonância com a função sugerida pela literatura para a proteína hMSH2^{5,16}. Observou-se, também, que nas mucosas normais, assim como nos dois grupos de queilites actínicas pesquisados, a imunomarcção da proteína hMSH2 ocorreu em todas as camadas epiteliais, apesar da marcação ser mais acentuada nas camadas basal e para-basal. Esses achados são diferentes de alguns encontrados na literatura que evidenciaram marcação em mucosa normal exclusivamente nas camadas basal e para-basal, locais que representam os compartimentos de proliferação celular²⁴. O fato de encontrarmos marcação em todos os compartimentos do epitélio labial pode ser interpretado de várias formas: 1) em razão da recuperação antigênica ter sido realizada com TRS que sabidamente promove maior recuperação antigênica. 2) devido à possibilidade de ter ocorrido marcação cruzada com outra proteína distinta da proteína hMSH2.

Nossos resultados mostraram que a diferença da imunexpressão da proteína hMSH2 entre a mucosa normal e a queilite actínica não foi estatisticamente significativa. Não houve também diferenças estatísticas significativas na expressão de hMSH2 entre os vários níveis de atipia das amostras de queilite actínica analisadas. Os resultados sugerem que nos casos de queilite actínica investigados, a imuno-expressão da proteína hMSH2 não se encontra alterada.

Convém aclarar, no entanto, que a análise da imunexpressão de todas as outras proteínas que participam do sistema MMR, principalmente hMLH1, seria importante para avaliar a eficiência desta via de reparo em queilites actínicas. É útil lembrar, que a perda da expressão das proteínas hMLH1 e hMSH2 são responsáveis por mais de 2/3 das neoplasias que surgem na síndrome hereditária do carcinoma cólon-retal não polipóide (HNPCC) e que deficiências nas demais proteínas participantes desta via de reparo do DNA representam juntas somente 10% dos casos^{16, 25}.

No presente trabalho não avaliamos a imunexpressão da proteína hMLH1 em função de não conseguirmos alcançar um padrão ideal de imunomarcção para esta proteína. Acreditamos que problemas inerentes ao anticorpo hMLH1 utilizado concorreram para a deficiência na padronização da marcação, uma vez que utilizamos o protocolo preconizado pelo fabricante.

A expressão imuno-histoquímica das proteínas envolvidas no sistema MMR não necessariamente assegura que tais proteínas estejam com suas funções normais. De fato, alterações genéticas menores podem gerar níveis normais de proteínas do sistema MMR, porém, tais proteínas podem apresentar deficiências funcionais.^{18, 11, 26} Em última análise somente poderemos descartar a participação das proteínas MMR na progressão das queilites actínicas para carcinoma epidermóide do lábio após avaliação da presença de mutações em todos os genes envolvidos neste reparo. Em função do reparo de excisão de nucleotídeo (NER) ser o principal mecanismo de reparo dos *adducts* formados por dímeros de pirimidina (T-T) que se encontram no mesmo filamento de DNA, parece lícito sugerir que a imunoexpressão das proteínas que formam o complexo TFIIH, especialmente as proteínas XPD e XPB, assim como mutações nos respectivos genes sejam analisadas em queilites actínicas para avaliar a participação de NER na progressão da queilite actínica para carcinoma epidermóide do lábio.

Os resultados obtidos neste estudo reforçam, também, os relatos encontrados na literatura, que afirmam que diferentes tipos histológicos de neoplasias apresentam vias de iniciação e progressão tumoral diferentes⁶. Nesta linha de pensamento Kim et al²⁷ afirmaram que os carcinomas gástricos possuem duas vias diferentes de progressão: os pacientes ligados à síndrome HNPCC não apresentam alteração no gene p53, enquanto pacientes com cânceres gástricos não vinculados à síndrome (neoplasias esporádicas) possuem alterações genéticas em p53. Da mesma maneira, a proteína hMSH2 parece ser necessária para o reparo dos danos ocasionados pela radiação solar em pacientes HNPCC que desenvolvem ceratoacantomas (síndrome de Muir-Torre), enquanto que os nossos resultados mostraram que nas fases processuais da queilite actínica investigadas, a proteína de reparo hMSH2 não está alterada.

CONCLUSÃO

Não foram observadas diferenças morfológicas ou quantitativas na imunoexpressão da proteína hMSH2 nas diferentes graduações histológicas de queilite actínica em relação à mucosa labial normal. Não foram observadas diferenças na imunoexpressão da proteína hMSH2 entre os grupos histológicos de queilite actínica: sem atipia epitelial/atipia epitelial discreta; atipia epitelial moderada/atipia epitelial acentuada.

REFERÊNCIAS

1. Awde JD, Kogon SL, Morin RJ. Lip cancer: a review. *J Can Dent Assoc.* 1996;62:634-6.
2. Manganaro AM, Will MJ, Poulos E. Actinic cheilitis: a premalignant condition. *Oral Med.* 1997;12:54-9.
3. Santos JN, Sousa SOM, Nunes FD, Sotto MN, Araújo VC. Altered cytokeratin expression in actinic cheilitis. *J Cutan Pathol.* 2003;30:237-41.
4. Leach FS, Polyak K, Burrell M, Jonshon KA, Hill D, Duniop MG, et al. Expression of the human mismatch repair gene hMSH2 in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res.* 1996;56:235-40.
5. Marti MM, Kurz C, Fleck O. DNA mismatch repair and mutation avoidance pathways. *J Cell Physiol.* 2002;191:28-41.
6. Bernstein C, Bernestein H, Payne CM, Garewal H. DNA repair/ pro-apoptotic dual-role proteins in five major DNA repair pathways: fail-safe protection against carcinogenesis. *Mutat Res.* 2002;511:145-78.
7. Beltrand P, Tishkoff DX, Filosi N, Dasgupta R, Kolodner RD. Physical interaction between components of DNA mismatch repair and nucleotide excision repair. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:14278-83.
8. Korabiowska M, Viehover M, Schlott T, Berger H, Droese M, Brinck U. Relationship between DNA ploidy-related parameters and deletions in mismatch repair genes MLH1 and MSH2 in lentigo maligna and malignant melanomas. *Arch Dermatol Res.* 2001;293:219-25.
9. Johnson RE, Kovvali GK, Guzder SN, Amin NS, Holms C, Habraken Y, et al. Evidence for involvement of yeast proliferating cell nuclear antigen in dna mismatch repair. *J Biol Chem.* 1996;271:27987-90.
10. Fink D, Nebel S, Aebi S, Zheng H, Kim HK, Christen RD, et al. Expression of the DNA mismatch repair proteins hMLH1 and hMSH2 in normal human tissues. *Br J Cancer.* 1997;76:890-3.
11. Krugler S, Plaschke J, Jeske B, Gorgens H, Steffen RP, Andrea B, et al. Identification of six novel MSH2 and MLH1 germline mutations in HNPCC. *Hum Mutat.* 2003;592:1-5.
12. Prolla TA, Abuin A, Bradley A. DNA mismatch repair deficient mice in cancer research. *Cancer Biol.* 1996;7:241-7.
13. Nunn J, Nagini S, Risk JM, Prime W, Maloney P, Liliglou T, et al. Allelic imbalance at the DNA mismatch repair loci, hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2 and hMSH3, in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol.* 2003;39:115-29.
14. Kolodner RD, Marsischky GT. Eukaryotic DNA mismatch repair. *Genes Dev.* 1999;9:89-96.
15. Gu L, Hong Y, McCulloch S, Watanabe H, Li GM. ATP-dependent interactions of human mismatch repair proteins and dual role of PCNA in mismatch repair. *Nucleic Acids Res.* 1998;26:1173-8.
16. Chung CD, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis

- colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. *Ann Intern Med.* 2003;7:560-70.
17. Jacob S, Praz F. DNA mismatch repair defects: role in colorectal carcinogenesis. *Biochimie.* 2002;84:27-47.
 18. Kariola R, Otway R, Lonnqvist KE, Raevaara TE, Macrae F, Vos YJ, et al. Two mismatch repair gene mutations found in colon cancer patient- which one is pathogenic? *Hum Genet.* 2002;112:105-9.
 19. Lothe AR. Microsatellite instability in human solid tumours. *Mol Med Today.* 1997;5:61-8.
 20. Wang Q, Montamain G, Upadhyaya MRE, Dudley S, Liskay RM, Thibodeau SN, et al. Neurofibromatosis type 1 gene as a mutational target in a mismatch repair-deficient cell type. *Hum Genet.* 2003;112:117-23.
 21. Paula AMB, Gomez RS. Immunolocalization of p53, glutathione S-transferase and CD57 antigens in oral leukoplakia. *Anticancer Res.* 2001;21:379-85.
 22. Zelickson DB, Roenig KR. Actinic cheilitis: treatment with the carbon dioxide laser. *Cancer.* 1990;65:1307-11.
 23. Main JH, Pavone M. Actinic cheilitis and carcinoma of the lip. *J Can Dent Assoc.* 1994;60:113-6.
 24. Castrill G, Fabiano A, Torre GL, Marigo L, Plantelli C, Perfetti G, et al. Expression of hMSH2 and hMLH1 proteins of the human DNA mismatch repair system in salivary gland tumors. *J Oral Pathol Med.* 2002;31:234-8.
 25. Parc Y, Boisson C, Thomas G, Olschwang S. Cancer risk in 348 french MSH2 or MLH1 gene carriers. *J Med Genet.* 2003;40:208-13.
 26. Mu David, Mihray T, Duckett DR, Drummond JT, Modrich P, Sancar A. Recognition and repair of compound DNA lesions (base damage and mismatch) by human mismatch repair and excision repair systems. *Mol Cell Biol.* 1997;17:760-9.
 27. Kim SH, Lee BL, Woo DK, Bae SI, Kim WH. Assessment of markers for the identification of microsatellite instability phenotype in gastric neoplasms. *Cancer Lett.* 2001;164:61-8.