

O Mosaico Inflamatório nos Subtipos de Carcinoma Basocelular

The Inflammatory Mosaic in the Histological Subtypes of Basal Cell Carcinoma

Mosaico Inflammatorio en los Subtipos de Carcinoma de Células Basales

Jacqueline Ramos Machado Braga¹; Moyses Sadigursky²; Aryon de Almeida Barbosa Junior³

Resumo

Introdução: O carcinoma basocelular (CBC) é definido como um tumor localmente invasivo e de progressão lenta. À medida que ele se espalha, inicia-se um processo inflamatório crônico com recrutamento de diversos tipos celulares.

Objetivo: Caracterizar o infiltrado inflamatório, nos diferentes subtipos de CBC, através da identificação e quantificação de suas células. **Método:** Foi realizado estudo retrospectivo de 71 blocos de parafina de pacientes diagnosticados com CBC não recorrente. As análises imuno-histoquímicas foram realizadas pela técnica de estreptoavidina-biotina-peroxidase (CD3, CD20, CD68, CD8, CD4, Ki-67 e MAST cell), além da técnica do azul de toluidina para mastócitos.

Resultados: Os subtipos mais frequentes foram o infiltrativo (26%) e o superficial (23%). Na composição do infiltrado inflamatório, os linfócitos TCD4+ corresponderam à população mais numerosa (216,2±22,23), seguida por mastócitos (111,0±7,88), linfócitos TCD8+ (57,38± 5,94), linfócitos B (55,9± 6,83) e macrófagos (21,18±2,58). Houve uma baixa atividade proliferativa celular total (47,61±7,48), no entanto em formas mais agressivas esse dado foi inverso e com infiltrado rico em mastócitos. O subtipo adenoide apresentou o mais denso infiltrado, enquanto o cístico apresentou o mais discreto. Observou-se relação inversa entre o número de mastócitos e de linfócitos T, sem correlação com agressividade. **Conclusão:** No CBC, o infiltrado inflamatório peritumoral sugere uma resposta imunológica mediada por células TCD4+ e composição variando de acordo com o tipo de tumor. Sugere-se que as características de cada tumor possam promover diferenças no microambiente tecidual, induzindo alterações na composição do infiltrado que poderiam tanto auxiliar quanto impedir o crescimento tumoral.

Palavras-chave: Humanos; Neoplasias Cutâneas; Carcinoma Basocelular-fisiopatologia; Carcinoma Basocelular-patologia; Mastócitos

¹ Doutora em Imunologia. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas (BA), Brasil. E-mail: jacquebraga@ufbr.edu.br.

² Pós-Doutor em Imunopatologia. Hospital Universitário Prof. Edgar Santos. Universidade Federal da Bahia (UFBA). Salvador (BA), Brasil. E-mail: moyses@ufba.br.

³ Doutor em Medicina. Fundação Gonçalo Muniz (Fiocruz Bahia). Salvador (BA), Brasil. E-mail: ary3on@hotmail.br.

Endereço para correspondência: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Agronômicas e Biológicas. Rua Rui Barbosa, 710 - Campus Universitário - Setor de Biologia - Laboratório de Imunobiologia (111). Cruz das Almas (BA), Brasil. CEP: 44380-000.

INTRODUÇÃO

No Brasil, o tipo mais frequente de câncer é o de pele, correspondendo a 70% de todos os cânceres diagnosticados. O carcinoma basocelular (CBC) é o tipo mais comum e, na Bahia, estima-se que haverá, em 2013, cerca de 4.800 novos casos¹. Apesar de ser um tumor potencialmente maligno, ele tem um comportamento pouco agressivo na maioria dos casos, apresentando altas taxas de cura quando tratado em seus estágios iniciais². O aumento progressivo do número de casos de CBC no Brasil ocorre fundamentalmente pelo envelhecimento da população e pela exposição crônica aos raios UV.

Evidências sugerem que o CBC origina-se de células pluripotentes na camada basal ou folículos da pele³. Alguns estudos⁴⁻⁷ têm demonstrado que mutações no gene *PATCHED* (*PTCH*), localizado no cromossomo 9 e um regulador negativo da via *Hedgehog*, parecem ser responsáveis pelo crescimento de tumor na Síndrome de *Nevus Baso-Celular* (*BCNS*), uma condição autossômica caracterizada por múltiplos *BCC*. A maioria dos *CBC* compartilha as mesmas alterações genéticas, porém variações na expressão de determinados genes e proteínas são a base genética dos diferentes padrões clínicos e histológicos do *CBC*⁸.

Os padrões histológicos de apresentação do *CBC* variam de acordo com a classificação utilizada. Podem-se evidenciar os seguintes padrões: o adenoide, no qual se observam formações tubulares e estruturas tipo glândulas, com as células dispostas radialmente ao longo de “ilhas” de tecido conectivo; o morfea, em que há uma grande participação de tecido conectivo e as células encontram-se embebidas num denso estroma fibroso; o cístico, que mostra espaços císticos no centro das massas tumorais; o sólido ou nodular, que mostra massas tumorais bem delimitadas, de tamanhos variados e embebidas na derme; o superficial, que apresenta proliferações irregulares de tecido tumoral ligadas à superfície da epiderme; e o folicular, que evidencia cada folículo piloso distorcido pela proliferação de “ilhas” de células basais que se estendem por baixo da epiderme⁹.

A formação de tumores e as reações inflamatórias são duas diferentes condições patológicas com distintas etiologias de iniciação, mas apresentando mecanismos de desenvolvimento que dividem algumas características básicas. Ambos os fenômenos são acompanhados por alterações na matriz extracelular, recrutamento de células inflamatórias e neovascularização, mediadas pela expressão de metaloproteínas, além do acúmulo e ativação de mastócitos¹⁰.

O *CBC* é frequentemente associado a um infiltrado mononuclear peritumoral, mas até hoje a função desse infiltrado e seu possível papel no crescimento do tumor ainda não foram bem estabelecidos. A significância

funcional da presença de células inflamatórias próximas às áreas tumorais ainda permanece obscura e especulativa. Enquanto alguns investigadores não encontram correlação entre prognóstico do tumor e essas células no infiltrado inflamatório, outros mostram uma relação positiva ou negativa¹¹.

Estudos têm demonstrado¹² que, nas áreas de tumor, pode-se evidenciar a presença predominante de linfócitos *TCD4+*, macrófagos, granulócitos e mastócitos, esses ativados e em degranulação tanto no próprio tumor quanto no estroma adjacente. Entretanto, ainda é desconhecido o real papel dos mastócitos como células componentes da resposta imune antitumor, ou como mediadores de imunossupressão.

O objetivo desse estudo foi caracterizar o infiltrado inflamatório, nos diferentes subtipos de *CBC*, através da identificação e quantificação de suas células.

MÉTODO

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) sob o protocolo número 422.111.

O protocolo experimental incluiu a classificação (HE)¹⁰ em sete subtipos histológicos: nodular (10), infiltrativo (20), superficial (18), adenoide (10), folicular (3), cístico (4) e morfea (6), totalizando 71 blocos de parafina de biópsias, que seriam descartadas, de pacientes com *CBC* não recidivante do Instituto de Patologia Cutânea de Salvador, Bahia. Seções (5µm), obtidas após microtomia mecânica, foram coradas em azul de toluidina para evidenciar os mastócitos que apresentavam metacromasia. Os cortes obtidos foram desparafinizados e submetidos à recuperação antigênica pelo calor utilizando-se tampão citrato (10mM pH 6.0) por 15 minutos. Apenas com o anticorpo anti-MAST cell, a recuperação antigênica foi feita por digestão enzimática com *Pronase* (1%). O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado com solução de H_2O_2 (3%), seguido da incubação com os anticorpos monoclonais pela técnica imuno-histoquímica da estreptavidina-biotina-peroxidase (*StreptABC*, *DAKO*®), usando como marcadores moleculares *CD3* (policlonal rabbit anti-human, pronto uso, *DAKO*®), *CD4* (monoclonal mouse anti-human, 1:25, *NOVOCASTA*®), *CD8* (monoclonal mouse anti-human, 1:50, *DAKO*®), *CD68* (monoclonal mouse anti-human, 1:50, *DAKO*®), *CD20* (monoclonal mouse anti-human, 1:100, *DAKO*®), *Ki-67* (*MIB1*) (monoclonal mouse anti-human, 1:10, *DAKO*®) e *MAST cell Tryptase* (monoclonal mouse anti-human, 1:50, *DAKO*®). As reações foram reveladas, usando o *DAB* (*Sigma*®) como cromógeno, e contracoradas com hematoxilina de Harris (*Merck*®). Para cada reação, utilizou-se, como controle positivo, amídala hipertrófica e, como controle negativo, não foi

adicionado o anticorpo primário. As lâminas montadas foram submetidas à morfometria, onde as células marcadas foram consideradas positivas quando apresentavam a imunocoloração homogênea e intensa. Foi determinado o número de células por campo de $236,796 \mu\text{m}^2$, perfazendo uma média de três determinações, totalizando uma área de $710,388 \mu\text{m}^2$ para cada anticorpo testado em cada paciente. Mediante análise estatística não paramétrica, foi utilizado o programa GraphPad Prism 4 para a elaboração dos testes de análise de variância (One-Way ANOVA), teste de Mann-Whitney, Turkey's e Newman-Keuls. Considerou-se nível de significância p menor ou igual a 0,05.

RESULTADOS

Entre os casos de CBC analisados, o maior percentual foi de homens (70%), com faixa etária média de 56,7 anos e lesões em face (31%). A Figura 1 demonstra os valores relativos ao total de casos analisados, após sua classificação, quanto ao subtipo histológico de CBC ($n=71$). Considerando apenas o padrão principal de cada tumor, o infiltrativo (28,2%) e o superficial (25,3%) foram os mais frequentes, seguidos do nodular e adenoide (14,1%), morfea (8,5%), cístico (5,6%) e folicular (4,2%).

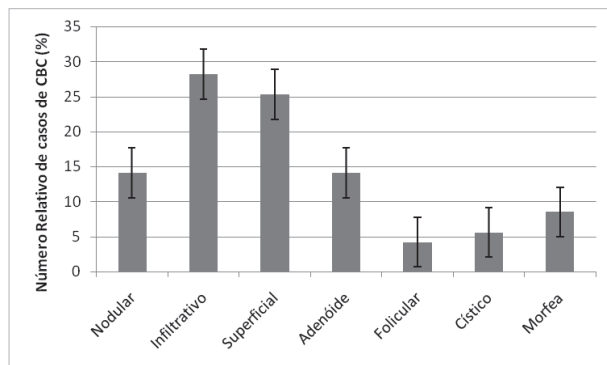


Figura 1. Valores relativos dos casos analisados após sua classificação quanto ao subtipo histológico de CBC

Os achados imuno-histoquímicos estão listados na Tabela 1. Observa-se que, com relação ao anti-CD3, o maior número de linfócitos T apresentou-se no subtipo adenoide ($686,20 \pm 46,13$), enquanto o menor número foi representado no subtipo cístico ($40,25 \pm 3,2$). Avaliando as subpopulações de linfócitos T, o anticorpo anti-CD4 evidenciou maior número de linfócitos TCD4+ no subtipo adenoide ($529,4 \pm 54,6$) e menor no cístico ($18,75 \pm 2,7$). Com o anticorpo anti-CD8, o subtipo que apresentou maior número de linfócitos TCD8+ foi o superficial ($87,28 \pm 17,82$), enquanto no cístico, o menor número dessas células compoendo o infiltrado inflamatório ($3,75 \pm 1,03$). O anticorpo anti-CD20 demonstrou haver maior número de linfócitos B no subtipo infiltrativo ($117,8 \pm 16,47$) e, como subtipo com menor número de células marcadas, o adenoide ($13,0 \pm 2,23$).

Com relação ao anticorpo anti-CD68, o subtipo com maior número de macrófagos foi o infiltrativo ($31,65 \pm 7,61$), enquanto o cístico apresentou o menor número de células marcadas ($3,0 \pm 0,41$). O anticorpo anti-MAST cell revelou que o subtipo morfea apresentava o maior número de mastócitos no infiltrado ($211,7 \pm 19,73$) e menor número no subtipo folicular ($42,33 \pm 5,2$). Tais dados foram ratificados pela técnica histológica de azul de toluidina (AT) para marcação de mastócitos ($83,27 \pm 5,69$). O anticorpo anti-Ki67, um marcador de células em proliferação, mostrou que o subtipo morfea apresentou-se com maior número de células em divisão ($217,8 \pm 27,01$) e menor no subtipo cístico ($2,25 \pm 0,25$).

Os achados imuno-histoquímicos da Figura 2 (A e B) demonstram a presença dos mastócitos em torno das "ilhas" tumorais e não na região central dos tumores. Em alguns subtipos de CBC, como o superficial (Figuras 3A e 3B), existe um denso infiltrado inflamatório de linfócitos T próximo às regiões tumorais. Além disso, no subtipo adenoide (Figuras 4A e 4B), observa-se o infiltrado inflamatório de linfócitos B e macrófagos ao longo das formações tubulares e estruturas tipo glândulas que caracterizam esse tipo de tumor.

Tabela 1. Média do número de células imunocompetentes ao redor das ilhas tumorais dos casos de CBC analisados

Anticorpo	Subtipo de CBC						
	Nodular	Infiltrativo	Superficial	Adenoide	Folicular	Cístico	Morfea
CD3	190,5	282,4	323,4	686,2***	178,3	40,25	166,8
CD4	131,7	206,4	213	529,4***	115	18,75	60
CD8	22,4	50,4	87,28*	86	55,33	3,75	38,33
CD20	24	117,8***	43,94	13	66,67	20,25	28,67
CD68	16,8	31,65*	17,8	15,9	21	3	24,83
MAST	76,7	111,1	137,3	48,3	42,33	100,5	211,7***
Ki-67	55,5	18,5	57,17	4,4	26,33	2,25	217,8***

*** $p < 0,001$ * $p < 0,05$

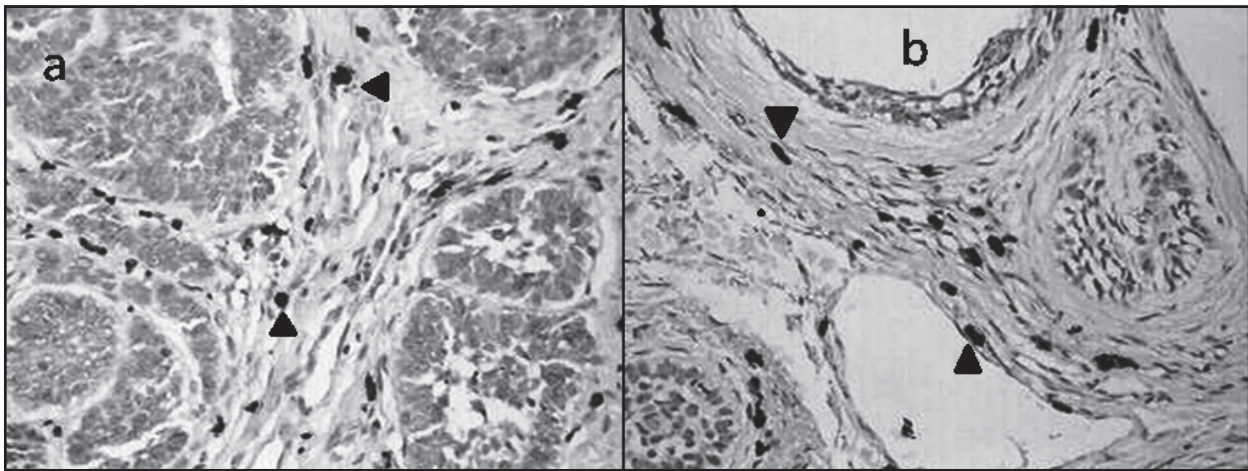


Figura 2. Imuno-histoquímica positiva para mastócitos. Em **A**, mastócitos (setas) em torno das “ilhas” tumorais no subtipo adenoide de CBC. Em **B**, mastócitos em torno dos folículos formados entre as “ilhas” tumorais no subtipo folicular de CBC (aumento 400X)

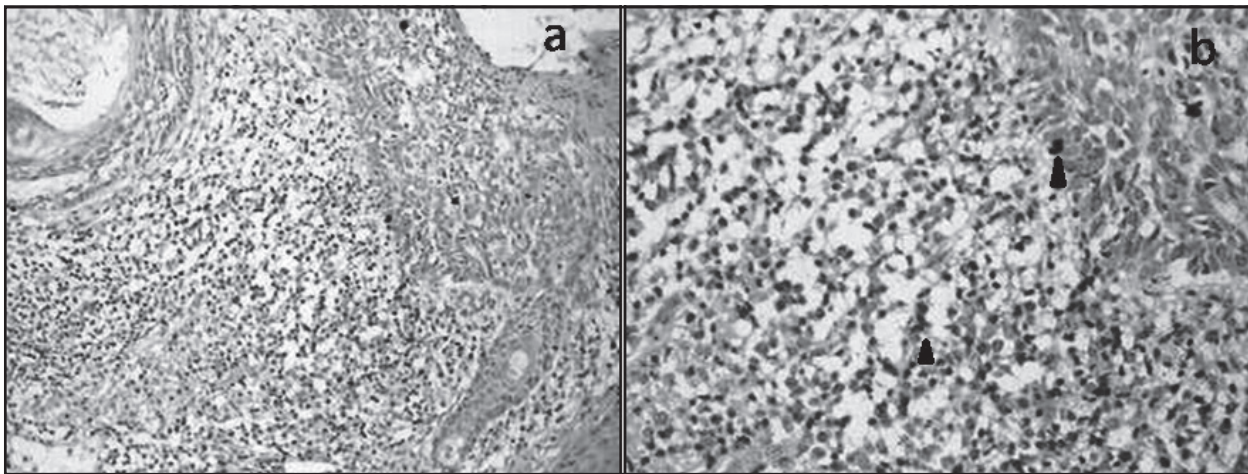


Figura 3. **A.** Imuno-histoquímica positiva para linfócitos CD8+ (aumento 100X); **B.** para o marcador de linfócitos CD3 (setas), ambos no subtipo superficial de CBC (aumento 400X). Notar o denso infiltrado inflamatório neste subtipo de tumor

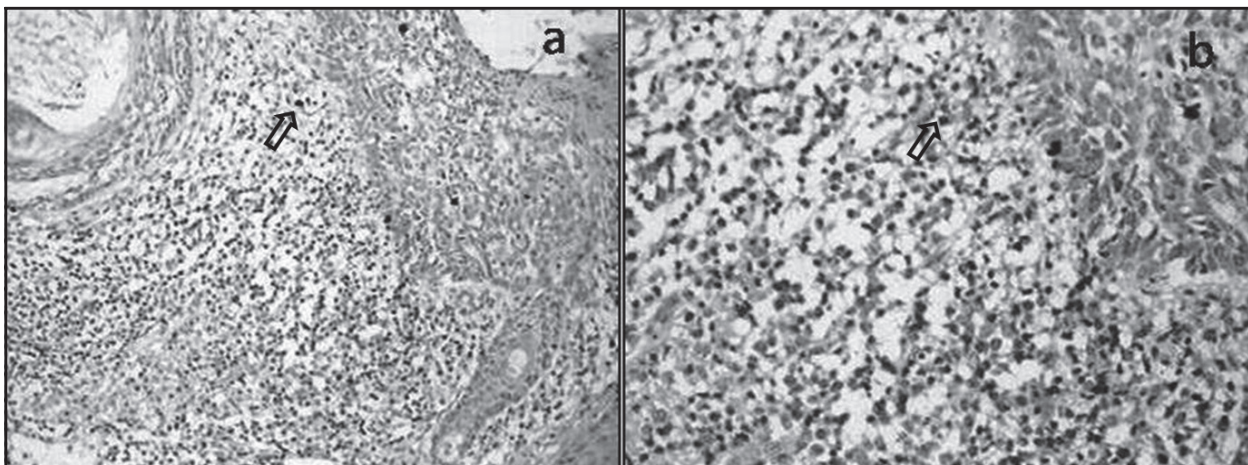


Figura 4. **A.** Imuno-histoquímica positiva para linfócitos B (CD20+) (aumento 100X); **B.** para macrófagos (CD68+) (seta) (aumento 400X), ambos no subtipo adenoide de CBC

DISCUSSÃO

A frequência maior dos subtipos histológicos infiltrativo (28,2%) e superficial (25,3%) corroboram os achados de outros estudos¹³⁻¹⁴ que consideram tais subtipos como os mais frequentes entre os casos de CBC. Outros autores¹⁵⁻¹⁶ sugerem que o padrão nodular e o infiltrativo sejam os mais frequentes, correspondendo a 70% e 15% respectivamente. Essas discrepâncias entre os estudos provavelmente ocorrem devido ao tipo de classificação adotada por cada pesquisador. Outro fator que também pode afetar as taxas de frequência relaciona-se às diferenças inerentes à cada população em estudo.

O CBC se associa a um infiltrado inflamatório mononuclear de magnitude variável, composto por uma gama de tipos celulares que apresentam uma grande quantidade de moléculas marcadoras em sua superfície, algumas das quais aparecem momentaneamente em etapas particulares da diferenciação ou da ativação celular. Nossos achados corroboram este estudo e demonstram que o CBC apresenta infiltrado inflamatório composto de diferentes tipos celulares, variando seu número de acordo com o subtipo de tumor¹⁷.

Com relação à composição do infiltrado nos subtipos de CBC, os subtipos nodular e cístico apresentaram um pobre infiltrado inflamatório. O subtipo infiltrativo apresentou infiltrado rico em linfócitos TCD4+, linfócitos B e macrófagos. O subtipo superficial mostrou infiltrado rico em linfócitos TCD4+, TCD8+ (Figura 3A) e mastócitos, enquanto o folicular e o adenoide apresentaram um infiltrado inflamatório formado, em sua maioria, por linfócitos TCD4+ (Figura 4A). O subtipo morfea mostrou infiltrado rico em mastócitos e células tumorais em proliferação. Essa variação da quantidade de células do infiltrado, já demonstrada em estudo anterior¹⁸, pode ocorrer devido ao microambiente tecidual gerado por cada subtipo de tumor, o que poderia regular as características do infiltrado inflamatório peritumoral, cooptar moléculas sinalizadoras e, conseqüentemente, interferir na qualidade da resposta imunológica antitumor e no crescimento e metástase tumoral.

Os linfócitos T corresponderam à maior população celular do infiltrado inflamatório em zona peritumoral de CBC, diferindo estatisticamente do número de linfócitos B, como também indica estudo anterior¹⁹. Com relação à subpopulação de células T, houve um número médio quatro vezes maior, de linfócitos tipo Th (CD4+), quando comparado ao de linfócitos TCD8+ ($p < 0,001$), sendo a razão CD4/CD8 maior no subtipo adenoide (6,1). Estudo anterior²⁰ indica serem essas células as responsáveis por dirigir a resposta imunológica tanto no CBC quanto no carcinoma espinocelular (CEC).

Com relação aos linfócitos B, o valor médio de 55,9±6,83 foi relativamente mais baixo quando comparado

com os outros subtipos celulares do infiltrado inflamatório ($p < 0,001$). Esse resultado é corroborado também por dados²¹ que demonstram que a quantidade encontrada de linfócitos B, no infiltrado inflamatório de áreas peritumorais de CEC, também é reduzida. Nossos achados sugerem que a resposta humoral mediada por célula B seja reduzida nesses tipos de tumores, provavelmente pelo ambiente tecidual onde o tumor se desenvolve, evidenciando um papel menor desses tipos celulares na defesa local contra a proliferação do CBC.

O segundo tipo celular mais numeroso do infiltrado inflamatório foi o dos mastócitos (Figuras 2A e 2B), apresentando valor médio de 111±7,88 células imunomarcadas e de 83,27±5,69 células marcadas com a técnica histológica do azul de toluidina. Esse aumento do número de mastócitos foi também observado em estudo anterior²² evidenciando uma associação dessas células em zonas peritumorais de CBC. Entre todos os subtipos de CBC estudados, o morfea foi o que apresentou a maior média (211,7±19,73) de mastócitos na zona peritumoral, diferindo estatisticamente de todos os outros subtipos ($p < 0,001$). O Folicular foi o subtipo com menor concentração de mastócitos no infiltrado inflamatório, apresentando média de apenas 42,33 células marcadas. Esses resultados foram ratificados pelos dados da coloração histológica do azul de toluidina. Um estudo recente²³ indica que, apesar de os mastócitos e outras células mieloides supressoras estarem associados a um pobre prognóstico, elevadas concentrações de células T efetoras (Teff) indicam um prognóstico favorável.

As células menos numerosas do infiltrado inflamatório peritumoral do CBC foram os macrófagos (CD68), com média de 21,78±2,58 de células marcadas. É importante salientar, entretanto, que não foi verificada uma correlação entre agressividade tumoral e composição do infiltrado inflamatório, pois, de acordo com os dados obtidos, encontraram-se tanto tumores com comportamento agressivo, e pobre infiltrado inflamatório (morfea), como tumores menos agressivos; porém com o mesmo tipo de infiltrado (cístico). O mesmo foi observado com relação aos mastócitos que se mostraram abundantes tanto em tumores agressivos quanto naqueles de comportamento menos infiltrante, o que pode indicar que essas células podem estar envolvidas tanto na supressão imune como na defesa antitumor.

O número médio de células em proliferação (Ki-67+) foi de 47,61±7,48, número em torno do esperado segundo dados anteriores²⁴. Entretanto, a média de células em proliferação variou muito de um subtipo ao outro de CBC, apresentando baixa atividade proliferativa celular, apesar da variação. Outro estudo²⁵ indica que um tumor individual não possui um padrão homogêneo de proliferação. O subtipo morfea apresentou a mais alta média de células em proliferação. Esse resultado corrobora achados anteriores

e sugere que, quanto mais agressiva for a forma de CBC, maior o número de células em proliferação.

CONCLUSÃO

Os achados demonstram ser provável que cada tipo de tumor cria um microambiente tissular próprio, com características próprias, que induzem respostas inflamatórias diferenciadas. Consequentemente, com relação aos subtipos de CBC, sugere-se o mesmo, ou seja, em cada subtipo as características são determinadas pelo tipo de alteração genética induzida para gerar cada forma de CBC. Essas características promoveriam diferenças no microambiente tecidual tumoral, que levaria a alterações na composição do infiltrado inflamatório peritumoral, bem como na liberação dos mediadores inflamatórios que poderiam tanto auxiliar quanto impedir o crescimento do tumor. A interação entre tumores e seu microambiente imunológico é complexa, mas sua compreensão é de importância fundamental para o desenvolvimento de novos marcadores prognósticos e estratégias terapêuticas.

CONTRIBUIÇÕES

Jacqueline Ramos Machado Braga e Moisés Sadigursky contribuíram na concepção e planejamento do projeto de pesquisa; na obtenção e/ou análise e interpretação dos dados; na redação e revisão crítica. Aryon de Almeida Barbosa Junior contribuiu na obtenção e/ou análise e interpretação dos dados.

Declaração de Conflito de Interesses: Nada a Declarar.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil [Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2011 [2012 Out 22]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/estimativa20122111.pdf>.
2. Chinem VP, Miot HA. Epidemiologia do carcinoma basocelular. *An bras dermatol.* 2011; 86(2):292-305.
3. Ch'ng S, Wallis RA, Yuan L, Davis PF, Tan ST. Mast cells and cutaneous malignancies. *Mod Pathol.* 2006; 19(1):149-59.
4. Villavicencio EH, Walterhouse DO, Iannaccone PM. The sonic hedgehog-patched-gli pathway in human development and disease. *Am J Hum. Genet.* 2000; 67(5): 1047-54. Epub 2000 Sep 21.
5. Eberl M, Klingler S, Mangelberger D, Loipetzberger A, Damhofer H, Zoidl K, et al. Hedgehog-EGFR cooperation response genes determine the oncogenic phenotype of basal cell carcinoma and tumour-initiating pancreatic cancer cells. *EMBO Mol Med.* 2012; 4(3):218-33. Epub 2012 Feb 1.
6. Taipale, J, Beachy, P.A. The hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer. *Nature.* 2001; 411(6835): 349-54.
7. Ling G, Ahmadian A, Persson A, Undén AB, Afink G, Williams C, et al. PATCHED and p53 gene alterations in sporadic and hereditary basal cell cancer. *Oncogene.* 2001; 20(53): 7770-8.
8. Lynch CC, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases in tumor-host cell communication. *Differentiation.* 2002; 70(9-10):561-73.
9. Lever WF. *Histopathology of the skin.* 7rd ed. Philadelphia: Lippincott; 1990. p.62-3.
10. Navarrete N, Zelman V. ¿Existe um patón inflamatório asociado a Carcinoma Basocelular? *Rev Hosp Clin Chile.* 2001; 1(12):46.
11. Fernandez K, Rodriguez AR, Chopite M, Lopez C. Características clínicas e histológicas del carcinoma basocelular. *Gac Méd Caracas.* 2003; 109(4):136-7.
12. Ribatti D, Crivellato E. Mast cells, angiogenesis and cancer. In: Gilfillan AM, Metcalfe DD, editors. *Mast cell biology: contemporary and emerging topics.* Austin(TX): Landes Bioscience and Springer Science+Business Media; 2011. p.270-88.
13. Tran H, Chen K, Shumack S. Epidemiology and etiology of basal cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2003; 149 (Suppl 66):50-2.
14. Bernard P, Dupuy A, Sasco A, Brun P, Duru G, Nicoloyannis N, et al. Basal cell carcinomas and actinic keratoses seen in dermatological practice in France: a cross-sectional survey. *Dermatology.* 2008; 216(3):194-9. Epub 2008 Jan 9.
15. Mantese SAO, Berbert ALCV, Gomides MDA, Rocha A.. Basal cell carcinoma - analysis of 300 cases observed in Uberlândia - MG, Brazil. *An Bras Dermatol.* 2006; 81(2):136-42.
16. Mueller MM. Inflammation in epithelial skin tumours: old stories and new ideas. *Eur J Cancer.* 2006; 42(6):735-44. Epub 2006 Mar 9.
17. Lesack K, Naugler C. Morphometric characteristics of basal cell carcinoma peritumoral stroma varies among basal cell carcinoma subtypes. *BMC Dermatology.* 2012; 12:21. oi: 10.1186/1471-5945-12-1.
18. Glaser R, Andridge R, Yang EV, Shana'ah AY, Di Gregorio M, Chen M, et al. Tumor site immune markers associated with risk for subsequent basal cell carcinomas. *PLoS One.* 2011;6(9):e25160. doi: 10.1371/journal.pone.0025160. Epub 2011 Sep 29.
19. Ishi LA, Pereira IC, Schellini AS, Marques MEA, Padovani CA. Carcinoma basocelular da pálpebra – fatores relacionados com a recidiva tumoral. *An Bras Dermatol.* 2004; 79(4):423-30.
20. Rohrbach JM, Stiemer R, Mayer A, Riedinger C, Duijvestijn A, Zierhut M. Immunology and growth

- characteristics of ocular basal cell carcinoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2001; 239(1):35-40.
21. Manzano AC, Altemani A, Martins AS, Del Negro A, Tincani AJ. Caracterização imuno-histoquímica do infiltrado linfocitário em biópsia de carcinoma espinocelular da língua e soalho oral e sua implicação prognóstica. *Rev Bras Cir Cabeça pescoço.* 2010; 39(4):270-6.
22. Grimbaldston MA, Green A, Darlington S, Robertson BO, Marshman G, Finlay-Jones JJ, et al. Susceptibility to basal cell carcinoma is associated with high dermal mast cell prevalence in non-sun-exposed skin for an Australian populations. *Photochem Photobiol J.* 2003; 78(6):633-9.
23. Dalton DK, Noelle RJ. The roles of mast cells in anticancer immunity. *Cancer Immunol Immunother.* 2012; 61(9):1511-20. Epub 2012 Apr 18.
24. Abdelsaved RA, Guijarro-Rojas M, Ibrahim NA, Sanguenza OP. Immunohistochemical evaluation of basal cell carcinoma and trichopithelioma using Bcl-2, Ki67, PCNA and P53. *J. Cutan Pathol.* 2000; 27(4): 169-75.
25. Bartoš V, Adamicová K, Kullová M, Pěč M. Immunohistochemical evaluation of proliferative activity (Ki-67 index) in different histological types of cutaneous basal cell carcinoma. *Biologia.* 2012; 67(3): 610-5.

Abstract

Introduction: Basal Cell Carcinoma (BCC) is defined as a slow-growing locally invasive tumor. As it spreads, it elicits a chronic inflammatory process with the recruitment of several cell types. **Objective:** To characterize the inflammatory infiltrate describing the different subtypes of BCC through the identification and quantification of its cells. **Method:** This was a retrospective study of 71 paraffin blocks from patients diagnosed with non-recurrent BCC. The immunohistochemical analyses were performed using the Streptavidin-biotin-peroxidase technique (CD3, CD20, CD68, CD8, CD4, and Ki-67 cell MAST), and the toluidine blue technique for mast cells. **Results:** The most frequent subtypes found were infiltrating (26%) and superficial (23%) BCC. Regarding the composition of the inflammatory infiltrate, the TCD4 + lymphocytes corresponded to the largest population (216.2 ± 22.23), followed by mast cells (111.0 ± 7.88), TCD8 + lymphocytes (57.38 ± 5.94), B lymphocytes (55.9 ± 6.83) and macrophages (21.18 ± 2.58). The total cell proliferative activity was generally low (47.61 ± 7.48), except for more aggressive forms of the disease, in which infiltrates rich in mast cells could be found. The adenoid subtype showed a denser infiltrate, while the Cystic subtype presented a scanty infiltrate. There was an inverse relationship between the number of mast cells and the number of T lymphocytes, without correlation with aggressiveness. **Conclusion:** In the BCC, the peritumoral inflammatory infiltrates suggests an immune response mediated by TCD4+ and a composition which varies according to the type of tumor. It has been suggested that the characteristics of each tumor type might reveal differences in the tumor tissue microenvironment, which cause alterations in the composition of the infiltrate, thereby favoring or impeding tumor growth.

Key words: Humans; Skin Neoplasms; Carcinoma, Basal Cell-physiopathology; Carcinoma, Basal Cell-pathology; Mast Cells

Resumen

Introducción: El carcinoma de células basales (CCB) se define como un tumor localmente invasivo y de lenta progresión. A medida que se propaga, se inicia un proceso inflamatorio crónico con la incorporación de distintos tipos de células. **Objetivo:** Caracterizar el infiltrado inflamatorio en los diferentes subtipos de CCB, a través de la identificación y cuantificación de sus células. **Método:** Se trató de un estudio retrospectivo de 71 bloques de parafina de pacientes diagnosticados con CCB no recurrentes. El análisis inmune-histoquímicas se llevaron a cabo por la técnica de Estreptavidina-biotina-peroxidasa (CD3, CD20, CD68, CD8, CD4, Ki-67 y mastocitos), además de la técnica de azul de toluidina para mastocitos. **Resultados:** Los subtipos más frecuentes fueron el infiltrado (26%) y el superficial (23%). En la composición del infiltrado inflamatorio, los linfocitos TCD4+ correspondían a la población más numerosa ($216,2 \pm 22,23$), seguida de mastocitos ($111,0 \pm 7,88$), los linfocitos TCD8+ ($57,38 \pm 5,94$), los linfocitos B ($55,9 \pm 6,83$) y macrófagos ($21,18 \pm 2,58$). Hubo una baja actividad proliferativa celular total ($47,61 \pm 7,48$), sin embargo en formas más agresivas este dato fue lo opuesto y con infiltrado rico en mastocitos. El subtipo adenoidea presentó el más denso infiltrado, mientras que el quístico presentó el más discreto. Hemos observado una relación inversa entre el número de mastocitos y de linfocitos T, sin correlación con la agresividad. **Conclusión:** En el CCB, el infiltrado inflamatorio peritumoral sugiere una respuesta inmunológica mediada por células TCD4+ y composición puede variar según el tipo de tumor. Se sugiere que las características de cada tumor puedan promover las diferencias en el microambiente del tejido, induciendo cambios en la composición de la infiltración que podría tanto ayudar, como impedir el crecimiento del tumor.

Palabras clave: Humanos; Neoplasias Cutáneas; Carcinoma Basocelular-fisiopatología; Carcinoma Basocelular-fisiopatología; Mastocitos