



REVISTA MEDICA DEL
HOSPITAL GENERAL
DE MEXICO
www.elsevier.es



ARTÍCULO ORIGINAL

Hallazgos histopatológicos y expresión de p53 y Ki67 en queilitis actínica

Histopathological findings and expression of p53 and Ki67 in actinic cheilitis

Patricia Mercadillo-Pérez,¹ Luis Miguel Moreno-López.²

Resumen

Introducción: La queilitis actínica es la lesión premaligna de labio más común, y afecta con mayor frecuencia el borde bermellón del labio inferior. En las lesiones orales premalignas y malignas, las mutaciones en p53 han sido reportadas con una frecuencia muy alta en lesiones agresivas. Asimismo, se ha mostrado que la expresión de Ki67 tiene que ver con la progresión hacia la severidad de las lesiones.

Material y métodos: Se realizó un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo-prospectivo, longitudinal y abierto, incluyendo 36 casos de queilitis actínica.

Resultados: Se encontró una edad media de los pacientes de 42.7 años, evolución media de 6.5 años. La displasia leve fue del 36.1%, moderada de 47.2%, severa de 16.7%. El infiltrado inflamatorio fue de predominio linfohistiocitario con 61.1%. Se identificó elastosis en 22.2%, cinco de los casos y pseudofolículos linfoides en tres, 8.9%. El edema de las fibras de colágena fue leve en 66.7%, moderado en 22.2%. La expresión de Ki67 y su relación con el grado de displasia y potencial hacia carcinoma epidermoide fue significativo ($p=0.04$). Mientras que la expresión de la proteína p53 y su relación con el grado de displasia o invasión no fue significativa ($p=0.35$).

Conclusiones: El uso del marcador de proliferación celular ki67 es una herramienta predictora, para evaluar la posibilidad de avance hacia carcinoma epidermoide de labio y mucosas o de agresividad local, por la relación significativa que guarda con el grado de displasia e invasión en estos casos.

Palabras clave: Queilitis actínica, expresión relativa, p53, ki67, carcinoma epidermoide, displasia, México.

1 Jefa del Servicio de Dermatopatología, Hospital General de México O.D. Profesora Titular del Curso Universitario de Especialización en Dermatopatología. México D.F., México.

2 Médico adscrito al Servicio de Dermatopatología, Hospital General de México O.D. México D.F., México.

Correspondencia: Dra. Patricia Mercadillo Pérez. Servicio de Dermatopatología, Hospital General de México O.D. Dr. Balmis 148, Colonia Doctores, Delegación Cuauhtémoc. C.P 06720. México D.F. México.
Correos electrónicos: mercadillo@prodigy.net.mx, dermpathgm@yahoo.com.mx

Abstract

Introduction: Actinic cheilitis is the most common premalignant lesion of the lip, and it is frequently located on the lower lip. In premalignant and malignant oral lesions, p53 mutations have been reported in a very high frequency, and it has been shown that the Ki67 expression has a role in the progression towards the severity.

Material and methods: We performed an observational, descriptive, retrospective-prospective, longitudinal, open study, including 36 cases of actinic cheilitis.

Results: We found an age mean 42.7 years, mean evolution 6.5 years. The dysplasia was mild in 36.1%, moderate in 47.2%, severe in 16.7%. The predominant inflammatory infiltrate type was lymphohistiocytic 61.1%. Elastotic changes in collagen were found in 22.2% of the cases and we could identify lymphoid pseudofollicles in 38.9%. The edema in collagen fibers was mild in 66.7%, moderate in 22.2%. The expression of the p53 protein and its relation with the level of dysplasia or invasion was not statistically significant ($p=0.35$), whereas the expression of Ki67 and its relation with the dysplasia level potential towards squamous cell carcinoma was significant ($p=0.04$).

Results: We can conclude that usage of ki67 as a cellular proliferating marker is a predictive tool to evaluate the possibility of an advancement towards squamous cell carcinoma of the lips and mucosa or that indicates local aggressivity due to the significant relation between dysplasia degree and invasion in the cases.

Keywords: Actinic cheilitis, relative expression, p53, ki67, squamous cell carcinoma, dysplasia, México.

Introducción

La queilitis actínica es la lesión premaligna de labio más común, se constituye por una lesión inflamatoria causada por exposición solar, que afecta el borde bermellón del labio. Es muy importante porque la mayoría de los carcinomas de labio son originados de una queilitis actínica,¹ en algunas series se estima un riesgo relativo para desarrollar carcinoma de 2.5 hasta 10% o 20%.²

Los cambios clínicos de las queilitis actínicas incluyen atrofia, queratosis, infiltración, erosión, sin identificarse un margen entre la piel y el borde bermellón del labio inferior. La queilitis actínica ha sido relacionada además del efecto solar al tabaco, problemas dentarios, mal aseo, trauma por mordisqueo, infecciones crónicas por herpes virus y algunas otras afecciones bacterianas. Generalmente, los labios tienen descamación intensa, zonas secas, erosionadas y úlceras. Hay una apariencia moteada con borde bermellón que no tiene límites bien definidos, los labios lucen pálidos o parduscos. Se identifican estriaciones lineares, así como áreas queratósicas y costrosas. Cuando los signos clínicos están presentes en un área muy bien demarcada de la epidermis, se presupone que será la que tenga los cambios histopatológicos más severos, sin embargo frecuentemente ocurre pobre demarcación histológica de estos límites.²⁻⁴

Los criterios para considerar queilitis actínica han sido diversos. Según Markopoulus y colaboradores son:

1) una lesión blanca o erosiva clínicamente localizada en el labio, 2) cambios epiteliales iguales o mayores a la displasia epitelial leve, y 3) cambios histopatológicos basofílicos del tejido conectivo subyacente.⁵

Por su parte, Nieto Pimentel y colaboradores han establecido una clasificación de las queilitis actínicas, semejante a la utilizada en las queratosis actínicas:¹

- Queilitis atrófica: epitelio delgado sin elongación de la red de crestas.
- Queilitis hipertrófica: Engrosamiento moderado o intenso de la red de crestas con o sin alargamiento de las mismas.
- Queilitis ulcerada: Pérdida parcial del epitelio o deterioro de una o más de las capas del estrato espinoso.
- Queilitis acantolítica: Zonas de ruptura suprabasal con o sin células atípicas acantolíticas.
- Queilitis simple: Sin atipia y con o sin engrosamiento del epitelio.

Un marcador muy importante de la transformación neoplásica es la expresión de la proteína p53. El gen p53 es un gen supresor tumoral localizado en el brazo corto del cromosoma 17, codifica una fosfoproteína nuclear de 53-kD que bloquea la progresión del ciclo celular para permitir la reparación del DNA y

desencadena apoptosis. Un gen p53 mutado, produce una proteína p53 anormal, la cual es más estable y puede ser demostrada por inmunohistoquímica, por lo que una tinción positiva para p53 es un indicador de presencia de mutación.⁵

Las mutaciones en el gen supresor tumoral p53 son el cambio más importante en los cánceres humanos, están relacionados con eventos tempranos dentro de la carcinogénesis. En las lesiones orales premalignas y malignas, las mutaciones en p53 han sido reportadas a nivel de proteínas y DNA. Ki67 es un antígeno nuclear que se presenta en la región pericromosómica durante la mitosis, siendo una proteína no-histona e interviniendo en el ciclo celular. Se ha mostrado que la expresión de Ki67, tiene que ver con la progresión hacia la severidad de las lesiones orales.⁶

Se han realizado diversos estudios con series de pacientes con queilitis actínica, que intentan demostrar la presencia de alteraciones en p53 y ki67, detectables por métodos de inmunoperoxidasa, con la cuantificación relativa de la expresión de estas moléculas y la extrapolación hacia su relación con el posterior desarrollo de carcinoma epidermoide en estos sitios. Revelándose una asociación estadísticamente significativa con el grado de expresión de los mismos, y la presencia de mayor tendencia al desarrollo de carcinoma epidermoide y mayor agresividad de los estos.^{1,5,6}

La correcta clasificación de las condiciones inflamatorias y premalignas de las mucosas, y en especial de las queilitis actínicas, se hace necesaria dados los avances de comprensión en la histogénesis y comportamiento biológico de cada uno de ellos, permitiendo asegurar el mínimo riesgo de desarrollo de carcinomas frente a lesiones premalignas. La expresión de marcadores de proliferación permite estadificar y contribuir a la plena comprensión del fenómeno etiopatogénico y su evolución biológica.

Material y métodos

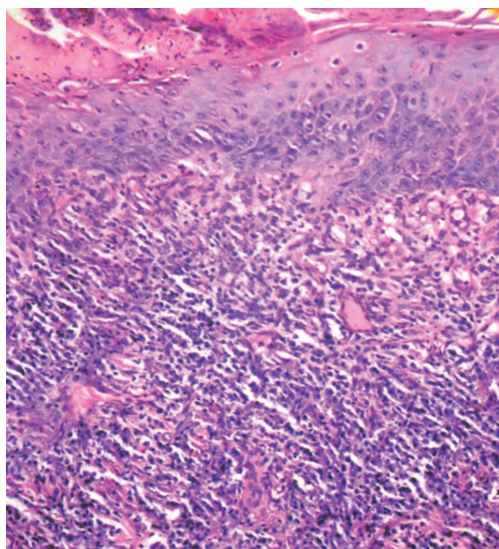
Se realizó un estudio observacional, retrospectivo-prospectivo, longitudinal y descriptivo. Incluyó a 36 especímenes de pacientes con queilitis actínica, de ambos sexos, obtenidos del año 1997 a 2007. Se obtuvieron datos generales provenientes de los archivos del Servicio de Dermatopatología del Hospital General de México (HGM) O.D, los cuales incluyeron edad, sexo, presentación clínica, diagnóstico clínico y tiempo de evolución. Se revisaron las preparaciones histológicas en las laminillas correspondientes a

los casos mencionados, para determinar características microscópicas de la epidermis (presencia de costra, ulceración, atrofia y acantosis), grado de displasia (clasificada como *leve*, *moderada* y *severa*), presencia y tipo de infiltrado inflamatorio (establecido en *linfocitario*, *linfoplasmocitario* y *linfohistiocitario*). Se evaluaron las características de la dermis incluyendo: elastosis (evaluada como *presencia* o *ausencia*), edema de la dermis (evaluado como *ausente*, *leve*, *moderado* y *abundante*), formación de pseudofolículos linfoides (evaluado como *presencia* o *ausencia*), displasia epitelial (evaluada como *leve*, *moderada* y *severa*), según los criterios de clasificación de Bánoczy y Csiba, grado de invasión de la proliferación epitelial hacia la dermis (evaluada como *ausente*, *inicio de invasión* o *presencia franca de carcinoma epidermoide bien diferenciado*). Se determinó el grado de expresión relativa tisular para proteína p53 y ki67, en el tejido conservado en parafina de cada caso, que se sometieron a reacción de inmunoperoxidasa, utilizando la técnica de avidina-biotina-inmunoperoxidasa para ambos anticuerpos monoclonales. La evaluación de la expresión de los dos anticuerpos ki67 y p53 fue semicuantitativa, tomando en cuenta el número de células positivas con expresión nuclear en el caso de ki67, y citoplasmática y nuclear en caso de p53. Se utilizó la escala semicuantitativa siguiente: 0 = no hay expresión, 1 = expresión del 0% al 25%, 2 = expresión del 25% a 50% de las células, 3 = expresión de 50% al 75% de las células, y 4 = expresión de más del 75% de las células. El objetivo del estudio fue determinar cuál es la frecuencia de presentación de la queilitis actínica dentro de las alteraciones de las mucosas, estableciendo el orden de frecuencia de las variantes histopatológicas de cada caso. Además, establecer los niveles de expresión relativa para los marcadores p53 y Ki67, tratando de identificar los casos susceptibles a transformación hacia carcinoma epidermoide. Asimismo, otro de los propósitos fue evaluar la correlación entre el porcentaje de expresividad de los marcadores p53 y Ki67, y la severidad de la displasia epitelial.

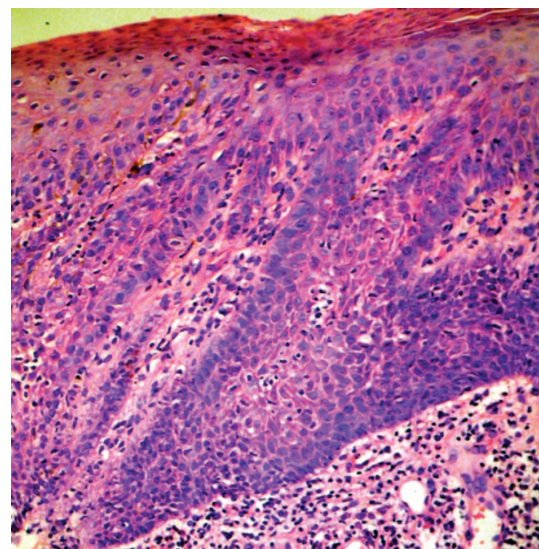
Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete de procesamiento de datos SPSS versión 17. Los datos se presentaron como la media y sus correspondientes intervalos de confianza (IC) en donde fue necesario. Se establecieron porcentajes de presentación por variable y número de casos, con estadística descriptiva. Para la evaluación del grado de displasia,

» **Figura 1.** Queilitis actínica, epitelio con displasia leve, atrofia y abundante infiltrado linfohistiocitario de la dermis (Tinción con H&E 20X).



» **Figura 2.** Imagen con displasia moderada, vacuolización de capa basal e inicio de invasión de la proliferación hacia la dermis superficial (Tinción con H&E 20X).



invasión y su correlación con la expresividad de Ki67 y p53 se utilizó regresión lineal, *ji cuadrada* y correlación de Pearson.

» Resultados

Se incluyeron 36 casos de queilitis actínica. De los cuales, 12 correspondieron al sexo masculino (33.7%) y 24 al sexo femenino (66.3%). La media de la edad fue de 42.7 (IC 95% 37.6-47.9). La evolución del padecimiento fue expresada en años, con una media de 6.5 (IC 95% de 4.7-8.2). Se evaluó el grado de displasia epidérmica, con una escala semicuantitativa clasificada por alteraciones histopatológicas como: *leve*, *moderada* y *severa*, obteniéndose 13 casos con displasia leve (36.1%), 17 casos con displasia moderada (47.2%) y seis casos con displasia severa (16.7%) (**Figuras 1 y 2**). Los hallazgos en la epidermis se resumen en la **Tabla 1**, representaron presencia de costra seis casos (16.7%), ulceración nueve casos (25%), atrofia un caso (2.8%) y acantosis en sus diferentes grados 20 casos (55.6%). Existió vacuolización de la capa basal de la epidermis en 20 casos (55.6%). El infiltrado inflamatorio presente en la dermis fue de predominio linfohistiocitario en 22 casos (61.1%), linfoplasmocitario en 11 casos (30.6%) y solamente linfocitario en tres casos (8.3%). En la evaluación de alteraciones en las características de los vasos

capilares dérmicos se puede establecer la presencia de vasos tortuosos y dilatados en 69.4%, y presencia de extravasación eritrocitaria en 22.2% (ocho casos). Se identificó elastosis sólo en ocho casos (22.2% de los casos), y formación de pseudofolículos linfoides (**Figura 3**) sólo en 38.9% (14 casos). Las fibras de colágeno además de ser evaluadas en su integridad se evaluaron en apariencia, y el edema fue valorado como leve en 66.7% (24 casos), moderado en 22.2% (ocho casos) y severo en 5.6% (dos casos). Existió presencia de invasión de la proliferación hacia la dermis papilar en 11.1% de los casos (cuatro casos). En cuanto a la evaluación de la expresión relativa se presenta un resumen en la **Tabla 2**. Para el análisis de la expresión de la proteína p53, encontramos ausencia de expresión en 21 casos (58.3%), expresión de 1% a 25% en 14 casos (38.9%) y solamente un caso con expresión del 25% al 50% (2.8%) (**Figuras 4 y 5**). Por su parte, la evaluación de Ki67 fue como sigue, no hubo expresión sólo en tres casos (8.3%), expresión del 1% al 25% en cinco casos (13.9%), expresión del 25% al 50% en 17 casos (47.2%) y expresión del 50% a 75% en 11 casos (30.6%) (**Figuras 6 y 7**).

Al realizar la correlación entre la expresividad de los marcadores de inmunohistoquímica y el grado de invasión o displasia, se encontró que la significancia entre expresividad de Ki67 y grado de

Tabla 1. Hallazgos histopatológicos en especímenes de queratitis actínica.

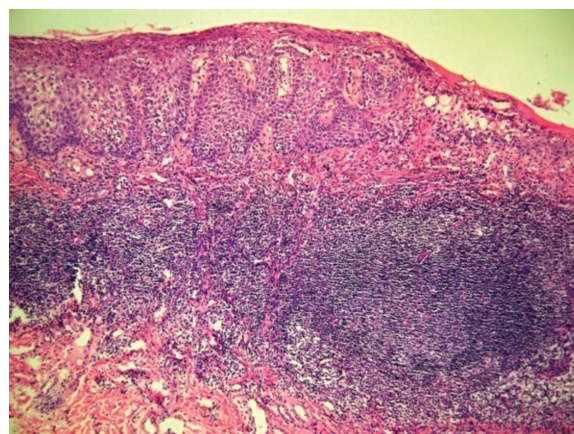
Hallazgo	Frecuencia
Presencia de costra	16.7% (6)
Ulceración	25% (9)
Atrofia	2.8% (1)
Acantosis	55.6% (20)
Vacuolización basal	55-6% (20)
Vasos dilatados en dermis	69.4% (25)
Extravasación eritrocitaria	22.2% (8)
Elastosis	22.2% (8)
Seudofolículos linfoides	38.9% (14)

invasión fue significativa con $p=0.04$. En el caso de la expresión de p53 y el grado de invasión, no hubo resultados significativos con $p=0.35$. Se realizó regresión lineal para evaluar interrelación entre invasión como variable dependiente, con la expresión de p53 y ki67, pero no hubo significancia con una R de 0.35 y $p=0.10$.

Discusión

Diversos autores han evaluado las diferentes presentaciones de la queratitis actínica, tanto en sus aspectos clásicos microscópicos como en las moléculas que intervienen para evaluar comportamiento y agresividad de estos estados. Nieto Pimentel y colaboradores realizaron un estudio con 70 casos de queratitis actínica crónica, encontrando 31 de los casos asociados con el desarrollo de carcinoma epidermoide del labio, éstos mencionan que los pacientes presentaban frecuentemente datos de ulceración, la cual probablemente fue causada por trauma físico. Por comparativo, nuestra serie sólo demostró la presencia de 25% de ulceración.¹ Se ha sugerido que parte de la atipia tan intensa en algunos de los casos ha sido causada por el fenómeno local de regeneración epitelial, pero no hay herramientas para hacer la correlación estadística correcta. En nuestros casos el 11% tuvo invasión hacia la dermis superficial, no pudiendo establecerse una correlación estadística válida con ambos marcadores de inmunohistoquímica, pero con tendencia hacia la displasia severa. En nuestra serie de casos, la displasia encontrada fue de grado moderado hasta en el 47% de los casos, siendo muy constante en su forma leve al igual en 36.1% de los mismos, en general estos hallazgos constituyen parte de la definición propia arquitectural de la

Figura 3. Epitelio acantósico con displasia severa. Infiltrado linfohistiocitario con formación de pseudofolículos linfoides (Tinción con H&E 10X).



queratitis actínica. Pero posteriormente utilizando la escala para la interrelación con los marcadores de inmunohistoquímica, se demuestra una expresión relativa de Ki67 mayor, con interrelación directa dependiendo del grado de displasia y de los hallazgos, que determinan la agresividad del epitelio que sufrió las mutaciones propias de la entidad.

Ha habido diversos estudios que postulan la utilidad del inmunomarcaje con P53 y Ki67, por ejemplo, el estudio realizado por Neto Pimentel y colaboradores, mencionado anteriormente, encontrándose 31 de los mismos asociados con carcinoma epidermoide del labio. El tejido fijado en parafina se sometió a inmunotinción para demostrar expresión de p53, encontrándose en 85%, pero no se demostró como un marcador para progresión hacia carcinoma estadísticamente significativo.⁵

Previamente, Kanan y colaboradores habían realizado una investigación con 50 casos, cinco de tejido normal, 30 de leucoplaquia y 15 de carcinoma invasivo, encontrando que en los casos de leucoplaquia y carcinoma, el 70% expresaron p53 en más del 5% de las células, mientras que en la mucosa normal menos del 5% de las células lo hicieron. El índice de proliferación evaluado por Ki67 fue más alto en las lesiones malignas (43%), y más bajo en las muestras de mucosa normal. El análisis estadístico reveló la expresión de ambas p53 y Ki67, relacionado significativamente con el estadio histopatológico del tumor, pero no entre cada marcador. Esto sugiere que la expresión de p53 y Ki67 en las lesiones premalignas y malignas

» **Tabla 2.** Expresión de p53 y Ki67 por inmunotinción en 36 casos de queilitis actínica.

Nivel de expresión relativa	p53	Ki67
Ausencia	58.3% (21 casos)	8.3% (3 casos)
1 (1-25%)	38.9% (14 casos)	13.9% (5 casos)
2 (25-50%)	2.8% (1 caso)	47.2% (17 casos)
3 (50-75%)	–	30.6% (11 casos)

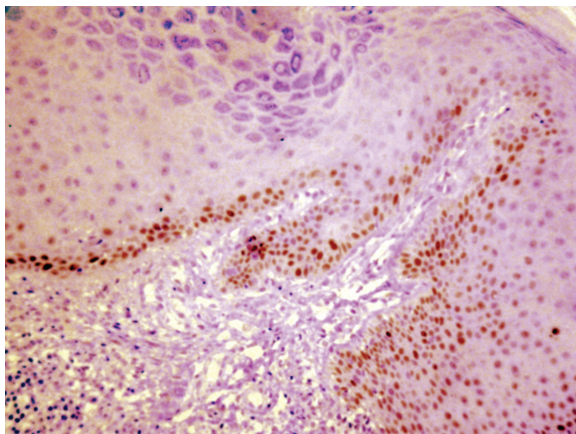
orales, tiene un efecto directo en el estado de proliferación de las lesiones. Mientras que Ki67 exhibe una asociación más pronunciada con la progresión tumoral, aunque su expresión sea más heterogénea en las leucoplaquias. Entonces, estos marcadores se pueden utilizar para determinar puntos intermedios para los programas de prevención y delimitación de la tendencia, de la queilitis actínica para transformarse en carcinoma.⁶ Nuestra serie de 36 casos, como hemos expuesto, reveló significancia estadística entre la expresividad de Ki67 y grado de invasión ($p=0.04$). En el caso de la expresión de p53 y el grado de invasión ($p=0.35$), sin haber correlación alguna. Se valoró la positividad de la inmunotinción en casos con ulceración, para no generar desviación de la significancia estadística y que no se confundiera el estado de reparación del epitelio con la expresión del marcador por la propia queilitis actínica. Lo que nos permite enunciar que existe una relación directa con el epitelio y sus diferentes grados de displasia, así como la

identificación de expresión relativa de Ki67, permitiéndonos inferir que a mayor grado de actividad celular y presencia de mutaciones, los cambios displásicos son mayores y tienen consecuencias en la progresión hacia la formación de carcinomas.

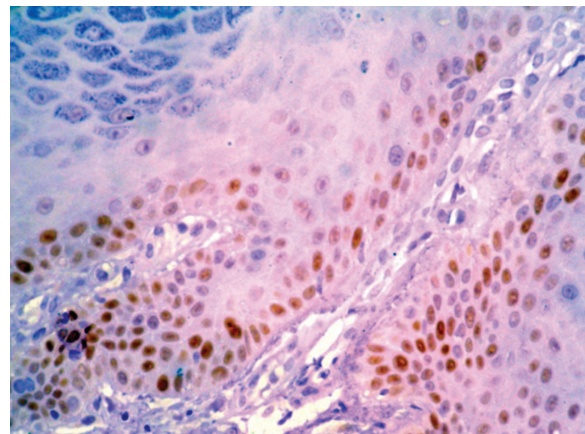
Además de los marcadores expuestos, es bien sabido que la transformación maligna es a menudo asociada con cambios en otros marcadores de diferenciación normal, y muchos estudios han demostrado incremento o disminución de las citoqueratinas comúnmente expresadas en la mucosa normal, durante la transformación maligna. La expresión alta de CK14 puede explicar que el epitelio anexo a tejido inflamado de otro tipo o periodontopatías, induce la expresión de la misma citoqueratina, debido a alteración en la maduración del epitelio, y a que estas citoquinas producidas por los linfocitos pueden alterar la expresión proteica. Algunos otros estudios además de CK14 han manifestado la expresión de CK19 en lesiones premalignas. Por su parte, la expresión de CK16 ha sido reportada en otras entidades como el carcinoma epidermoide y las porciones hipertróficas de las queratosis actínicas, porque marcan queratinocitos hiperproliferativos o activos.^{7,8,9} Esto delimitará futuros campos de estudio específicos con otras moléculas, que pueden favorecer la cabal comprensión del cambio displásico en los pacientes con queilitis actínica.

Con respecto al posterior desarrollo de carcinoma epidermoide en lesiones preexistentes de queilitis actínica, diversos autores han resaltado su importancia

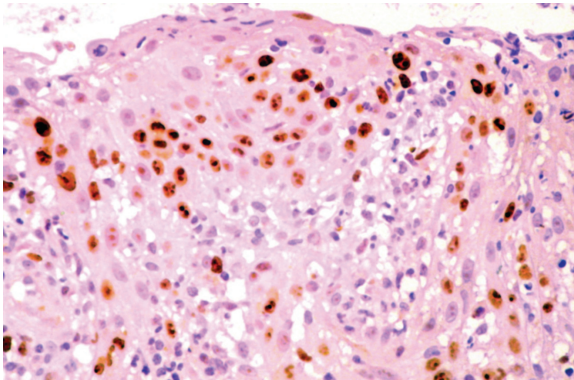
» **Figura 4.** Expresión moderada del 25% al 50% de las células del epitelio (Inmunoperoxidasa para proteína p53 10X).



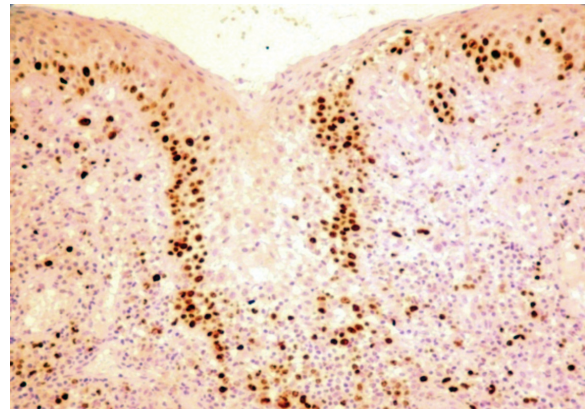
» **Figura 5.** La distribución de las células que expresaron positividad incluye la capa basal y varias del estrato espinoso (Inmunoperoxidasa para proteína p53 20X).



» **Figura 6.** Expresión del 25% al 50% en los núcleos de las células del epitelio (Inmunoperoxidasa para Ki67).



» **Figura 7.** Expresión del 50% al 75% en las células epiteliales de la proliferación (Inmunoperoxidasa para Ki67).



y algunos como Milanez Morgado y colaboradores han incluso mencionado, que el pronóstico respecto a recurrencia y metástasis es mejor cuando existe queilitis actínica adyacente a carcinoma epidermoide, que cuando se encuentra carcinoma epidermoide aislado, no asociado a lesión preexistente.⁸ Pero de cualquier manera, el riesgo latente del desarrollo de una neoplasia más agresiva siempre está presente, y los diversos tratamientos dirigidos a la solución de las queilitis actínicas deben considerar el comportamiento biológico de la lesión y su agresividad.^{2,10}

» Conclusiones

1. La incidencia y prevalencia de la queilitis actínica en la población mexicana se ha incrementado, con el aumento de la fotoexposición y las actividades laborales que la implican.
2. Es indispensable la evaluación histopatológica de los casos sospechosos de queilitis actínica, para determinar conducta terapéutica y un mejor pronóstico para el paciente.
3. Nuestros resultados enfatizan la utilización de ki67 como una molécula de inmunomarcaje para queilitis actínica, y la relación de esa misma con el grado de displasia y potencial de desarrollo de carcinoma epidermoide. La proteína p53 en múltiples estudios ha sido postulada también como un biomarcador, pero al menos en nuestra serie no fue estadísticamente significativa. En la evaluación de los casos de queilitis actínica, la determinación de la expresión de ki67 se

postula como un método complementario, que determina un papel predictor en el desarrollo posterior de carcinoma epidermoide, el cual incide entonces para modificar la terapéutica aplicada en varios de los casos, evaluándose los que tienen regeneración celular con trauma para no confundir la significancia estadística.

4. La inclusión de los inmunomarcadores Ki67 y p53 en la evaluación rutinaria de los casos de queilitis actínica, permite tanto la comprensión integral del comportamiento de cada caso, como la planeación terapéutica de los mismos, ya que la población afectada por estas entidades representa aún al grupo activo laboralmente y económicamente útil, por lo que sugerimos su utilización dentro del protocolo rutinario de evaluación.
5. Este es un primer paso para el diseño de formas válidas e integrales de evaluación de la queilitis actínica, que en un futuro cercano se complementarán utilizando nuevas moléculas de inmunomarcaje y nuevos enfoques de valoración, dados los nuevos métodos de Biología Molecular que auxilian a la Dermatopatología en la comprensión de estos fenómenos.

Referencias

1. Nieto Pimentel DR, Michalany N, Alchorne M, et al. Actinic cheilitis: Histopathology and p53. *J Cutan Pathol* 2006;33:539-544.
2. Dufresne RG, Curlin MU. Actinic Cheilitis: A treatment review. *Dermatol Surg* 1997;23:15-21.
3. Nico MMS, Rivitti EA, Lourenco SV. Actinic cheilitis: histologic study of the entire vermillion and comparison with previous biopsy. *J Cutan Pathol* 2006;1-6.
4. Barnhill R (Editor). *Textbook of Dermatopathology*. USA. McGraw Hill. 1998. Chapter 26. 507-508.

5. Markopoulos A, Albanidou-Farmaki E, Kayavis I. Actinic cheilitis: clinical and pathological characteristics in 65 cases. *Oral diseases* 2004;10:212-216.
6. Kannan S, Jagadeesh CG, Raveendran PK, et al. Expresión de p53 en leukoplakia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa: correlation with 9expression of Ki67. *J Clin Pathol Mol Pathol* 1996;49:M170-M175.
7. Dos Santos Jean N, OM de Souza S, Nunes FD, et al. Altered cytokeratin expresión in actinic cheilitis. *J Cutan Patol* 2003;30:237-241.
8. Kugars GE, Pillion TBA, Svirsky JA, Page DG, Burns JC, Abbey LM. Actinic cheilitis: A review of 152 cases. *Oral Sur Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999;88(2):181-186.
9. Milanez MMA, Panhoca da Silca OM, Neto Pimentel DR, Watashi HCH, Maurice Wecks LL, Mota de Avelar AM, Shwery MN. Actinic cheilitis adjacent to squamous carcinoma of the lips as an indicator of prognosis. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2006;72(6):767-771.
10. Smith KJ, Germain M, Yeager J, Skelton H. Topical 5% imiquimod for the therapy of actinic cheilitis. *J Am Acad Dermatol* 2002;47:497-450.