

Efeitos da radiação solar crônica prolongada sobre o sistema imunológico de pescadores profissionais em Recife (PE), Brasil*

Effects of long-term chronic exposure to sun radiation in immunological system of commercial fishermen in Recife, Brazil

Sarita Maria de Fátima Martins de Carvalho Bezerra¹ Mirian Nakagami Sotto²
 Noemia Mie Orii³ Cleiton Alves³
 Alberto José da Silva Duarte⁴

Resumo: FUNDAMENTOS: Existe um consenso de que a exposição à radiação ultravioleta determina alterações no sistema imunológico da pele, o que permite que se avenge a hipótese de que a exposição prolongada e crônica ao Sol pode representar uma das maiores agressões ambientais à saúde humana. Entre as várias ocupações que requerem, necessariamente, exposição prolongada e crônica ao Sol está a de pescador. No entanto, a experiência clínica dermatológica, amalhada ao longo de vários anos de exercício da Medicina, não parece confirmar essa hipótese.

OBJETIVO: Avaliar efeitos clínicos, histológicos e imunológicos da exposição crônica e prolongada à radiação ultravioleta em pescadores.

MÉTODOS: Em estudo prospectivo, transversal, observacional, foram caracterizadas lesões dermatológicas, marcadores imunológicos e alterações histológicas de pescadores e subpopulações de linfócitos comparadas a grupo-controle. Empregaram-se testes de Mann-Whitney, exato de Fisher, Wilcoxon em nível de 0,05.

RESULTADOS: Houve diferenças entre os grupos exposto e protegido em elastose ($p = 0,03$), ectasia de vasos dérmicos ($p = 0,012$) e número de células nas camadas epidérmicas entre os cones ($p = 0,029$). Foram mais comuns em pescadores CD45RO, CD68+ e mastócitos na pele ($p = 0,040$, $p < 0,001$ e $p = 0,001$); CD3CD8CD45RO no sangue ($p = 0,016$).

CONCLUSÃO: As alterações sugerem que exposição crônica e prolongada ao sol promove tolerância à radiação ultravioleta, protetora da imunossupressão.

Palavras-chave: Alergia e imunologia; Antígenos; Dermatologia; Pele; Raios ultravioleta

Abstract: BACKGROUND: Among the various occupations which necessarily require long-term and chronic sun exposure is that of a fisherman. However, clinical experience in dermatology earned over several years of medical practice does not seem to confirm this hypothesis.

OBJECTIVE: To evaluate clinical, histological and immunological effects of long-term and chronic exposure to ultraviolet radiation in fishermen.

METHODS: A prospective, cross-sectional and observational study characterized skin lesions, immunological markers and histological alterations in fishermen, as well as lymphocyte subpopulations compared to a control group. Mann-Whitney, Fisher's and Wilcoxon statistical tests were used at a significance level of 0.05.

RESULTS: There were significant differences between the exposed group and the group protected due to elastosis ($p = 0.03$), ectasia of dermal vessels ($p = 0.012$) and number of cells in the epidermal layers between cones ($p = 0.029$). Most common among fishermen were CD45RO, CD68 + and mastocytes in the skin ($p = 0.040$, $p < 0.001$, $p = 0.001$) and CD3CD8CD45RO in the blood ($p = 0.016$).

CONCLUSION: The alterations suggest that long-term and chronic sun exposure promotes tolerance to ultraviolet radiation, which protects against immunosuppression.

Keywords: Allergy and immunology, Antigens; Dermatology; Skin; Ultraviolet Rays

Recebido em 21.01.2010.

Aprovado pelo Conselho Consultivo e aceito para publicação em 01.07.2010.

* Trabalho realizado na Universidade de São Paulo - Laboratório de Imunopatologia e Alergia (LIM-56) – São Paulo (SP), Brasil.

Conflito de interesse: Nenhum / *Conflict of interest: None*

Suporte financeiro / *Financial funding*: Este estudo teve o suporte financeiro do Laboratório de Imunopatologia da Universidade de São Paulo, Escola de Medicina, Hospital das Clínicas e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) para realização dos testes imunológicos

¹ Doutora; dermatologista; professora voluntária do Centro de Estudos Dermatológicos do Recife (PE) (Ceder), Brasil.

² Doutora; patologista da Universidade de São Paulo (USP) - Laboratório de Imunopatologia e Alergia (LIM-56) – São Paulo (SP), Brasil.

³ Mestres; biólogos da Universidade de São Paulo (USP) - Laboratório de Imunopatologia e Alergia (LIM-56) – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Livre-docente; titular do Departamento de Patologia da Universidade de São Paulo (USP) – São Paulo (SP), Brasil.

INTRODUÇÃO

Apesar de a maioria dos cânceres da pele não melanoma se iniciar pela exposição crônica ao Sol, tais cânceres podem se desenvolver rapidamente como resultado da exposição à radiação ultravioleta (RUV), como tem sido demonstrado em modelos animais experimentais.¹

Estudos mostram que a RUV na pele produz não só uma imunossupressão não específica local, mas também uma supressão sistêmica específica contra antígenos introduzidos na fase crítica da exposição.^{2,3,4,5} Outros autores sugerem que o dano induzido ao DNA pela RUV desencadeia uma cascata de eventos: imunodepressão sistêmica mediada pelo linfócito T, diminuição das células *natural killers* (NK), regulação imprópria das citocinas e mudanças na apresentação dos antígenos às células de Langerhans.⁶ Os componentes-chave dessa cascata são as citocinas epidérmicas, que modulam a resposta imunológica a antígenos introduzidos no hospedeiro submetido à RUV, redirecionando a resposta a um estado de imunodepressão.^{7,8}

Apesar de se ter especulado que a exposição à RUV em baixas doses (por poucas horas) pode exercer alguns efeitos benéficos, por reduzir a resposta imunológica da pele e o risco de desenvolvimento de processos autoimunes, principalmente em indivíduos atópicos,⁹ há consenso quanto ao fato de que a RUV determina alterações no sistema imunológico da pele. Por esse motivo, o interesse científico tem priorizado a compreensão da quantificação desses efeitos, em função do tempo de exposição solar.^{3,10,11} Esse consenso permite que se avenge a hipótese de que a exposição prolongada e crônica ao Sol pode representar uma das maiores agressões ambientais à saúde humana.⁹ Entre as várias ocupações que requerem, necessariamente, exposição prolongada e crônica ao Sol está a de pescador. No entanto a experiência clínica dermatológica, amalhada ao longo de vários anos de exercício da Medicina, não parece confirmar essa hipótese.

Este artigo tem por objetivo avaliar os efeitos clínicos, histopatológicos e imunológicos decorrentes da radiação solar em pescadores masculinos com mais de dez anos de profissão.

INDIVÍDUOS E MÉTODOS

O estudo foi prospectivo, transversal e observacional das características dermatológicas diagnosticadas ao exame físico, com comparação de grupos, para a análise de marcadores imunológicos em pele e em sangue e de alterações histológicas em pele. Desenvolveu-se na cidade do Recife, localizada no estado de Pernambuco, Brasil, nas coordenadas geográficas: latitude 8°04'03"S, longitude 34°55'00"W,

altitude de 4m em relação ao nível do mar e temperatura média anual de 25,2°C.

Compuseram a população 3.000 pescadores do sexo masculino, residentes no bairro do Pina, na cidade do Recife (PE), provenientes de uma colônia de profissionais registrados. Admitiu-se que 75% dos pescadores na população tivessem alterações cutâneas secundárias à exposição prolongada à radiação solar, em virtude do exercício profissional, e que 9% de não pescadores pudessem apresentar tais alterações, adotando uma proporção de 2:1 para pescadores e não pescadores, nível de significância de 0,05 e poder de prova de 90%; o tamanho amostral mínimo estimado foi 19 pescadores para 10 não pescadores.

No gráfico 1 estão detalhados os passos da determinação do tamanho amostral adotado, demonstrando que, para completar o tamanho amostral estimado, no período de setembro de 2005 a setembro de 2006, foram convidados a participar do estudo 75 indivíduos do sexo masculino que apresentavam registro profissional de pescador e exerciam a profissão há mais de dez anos consecutivos, assim como 20 não pescadores, tendo todos concordado em participar do estudo por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido.

Foram excluídos os indivíduos com história prévia ou com alteração de exames complementares laboratoriais indicativos de: *Diabetes mellitus*, nefropatia, hepatopatia, desnutrição, anemia, infecção ou alergia. Também foram excluídos os sujeitos com depressão, vacinação há menos de três meses da coleta de dados, qualquer forma de neoplasia maligna ou uso de quaisquer medicações ou suplementos alimentares.

Para triagem dos sujeitos da pesquisa quanto à existência de problemas relacionados ao consumo de álcool, utilizou-se o questionário *Alcohol Use Disorders Identification Test* (Audit), classificando-se como portadores de problema com alcoolismo pontuação igual a oito ou maior.¹²

Para avaliação do estado geral e investigação de alterações que poderiam atuar como fatores de confundimento por comprometerem o estado imunológico dos sujeitos da pesquisa, foram realizados: hemograma, eletroforese de proteínas, exames de ureia, creatinina, glicemia, aspartatoaminotransferase (AST) e alanina-aminotransferase (ALT), assim como exame coproparasitológico de três amostras fecais de avaliações subsequentes.

A fim de quantificar as subpopulações de linfócitos, também foram incluídos dez indivíduos do sexo masculino, moradores do bairro do Pina, não pescadores, para quem o exercício profissional não exigia exposição prolongada à radiação solar. Os não pesca-

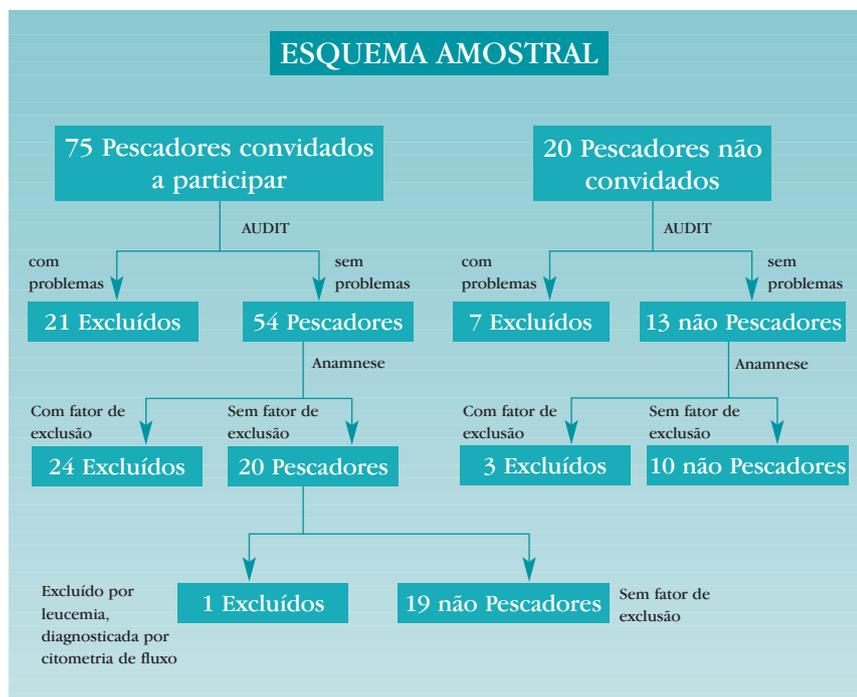


FIGURA 1: Fluxo da seleção da amostra do estudo Recife, Brasil (setembro de 2005 a setembro de 2006)

dores foram investigados quanto à obediência aos critérios de inclusão e de exclusão, analogamente aos pescadores. Estes tinham idade média igual a $46,3 \pm 9,54$ anos, variando entre 30 e 60 anos, enquanto que os não pescadores apresentaram média etária igual a $42,5 \pm 11,63$ anos e variação entre 26 e 58 anos. A diferença de idade não teve significância estatística ($p = 0,377$).

Quanto à distribuição de tipos de pele, no grupo de pescadores houve predomínio do tipo IV da classificação de Fitzpatrick, enquanto que o tipo VI esteve presente exclusivamente no grupo de não pescadores, sem diferença significativa entre os grupos ($p = 0,137$) (Tabela 1).

Os pescadores declararam exercer a profissão por um tempo médio de $29 \pm 10,3$ anos, com variação entre 12 e 45 anos, no que diferiram significativamente dos não pescadores, cujo tempo médio de profissão se igualou a $13,8 \pm 9,3$ anos, com variação entre 5 e 34 anos ($p = 0,001$).

O tempo de exposição diária dos pescadores ao Sol foi de 12 horas, enquanto que, para o grupo de não pescadores, o tempo médio de exposição diária solar igualou-se a $1,2 \pm 0,42$ horas, variando entre uma e duas horas.

Ao exame clínico dermatológico, foram consideradas quaisquer alterações presentes em pele, mucosas ou anexos, independentemente dos fatores etiológicos envolvidos.

Cada pescador foi submetido a duas biópsias de pele íntegra com *punch* de 4mm, sob anestesia

local com lidocaína sem vasoconstritor: uma na linha média do terço cranial próxima à região cranial medial da escápula, área exposta ao Sol, e outra na linha média da região glútea esquerda, correspondente à área não exposta à radiação solar (área coberta). Os fragmentos de biópsia, assim que colhidos, foram fixados em solução de formol a 10%, tamponados (pH 7,4), seccionados em cortes de 4mm de espessura e recobertos por solução adesiva de 3-aminopropil-trioetoxissilano (Marca Sigma Chemical®, cód. A3648) na concentração de 3%, em acetona PA, para posterior coloração pelo método de hematoxilina-eosina.

Ao exame microscópico, para cada uma das biópsias, observou-se: hiperqueratose, média do número de camadas de células da epiderme nos cones epiteliais e nos segmentos de epiderme entre cones epiteliais. Na derme foram investigadas: presença de elastose, ectasia dos vasos sanguíneos dérmicos superficiais, intensidade, composição e localização do infiltrado inflamatório em torno das estruturas vasculares superficiais ou profundas. Os achados histológicos foram categorizados segundo a intensidade em: ausente, leve, moderado ou intenso.

Para a quantificação dos mastócitos, procedeu-se à coloração de secções de biópsia de pele com solução aquosa de azul de toluidina-HCl a 0,5%, sendo reconhecidos por microscopia óptica por meio da presença dos grânulos citoplasmáticos corados em púrpura.

Os cortes histológicos foram submetidos à téc-

TABELA 1: Características demográficas e tipos de pele na amostra de pescadores e não pescadores, Recife, Brasil (setembro de 2005 a setembro de 2006)

Variáveis	Grupos		Comparação entre grupos	
	Não pescadores	Pescadores	Valor de p	Significância
Número de indivíduos				
Total	10 (34,5%)	19 (65,5%)		
Idade (anos)			Teste de Mann-Whitney	
Média (DP)	42,5 (11,63)	46,3 (9,54)	0,377	ns
Média IC 95%	34,2; 50,8	41,7; 50,9		
1° q-med.-3° q	33,8-41,5-56,3	36,0-47,0-55,0		
Mínimo; máximo	26,0; 58,0	30,0; 60,0		
Tipos de pele			Teste de independência**	
Frequência			0,137	ns
Tipo II, % (n)	40,0 (4)	36,8 (7)		
Tipo IV, % (n)	40,0 (4)	63,2 (12)		
Tipo VI, % (n)	20,0 (2)	0,0 (0)		
Coefficiente de Cramer	0,392			

DP = desvio padrão; 1° q-med.-3° q = 1° quartil-mediana-3° quartil; coeficiente de Cramer = coeficiente de contingência de Cramer (valor de 0 indica independência até um valor máximo de 1); ns = não significante (p > 0,05)

** Teste exato de Fisher

nica imunoistoquímica da estreptavidina-biotina peroxidase¹³ para demonstração de linfócitos T CD8+, células NK, CD45RO e células de Langerhans. Os marcadores CD4 e CD68 foram determinados pelo método de detecção *StreptoABComplex/HRP (Kit Duet, Mouse/Rabbit, code n°. K0492, Dako Cytomation®, Carpinteria, California, EUA)*.

O número de linfócitos T CD4+, CD8+, células *natural killers*, monócitos/macrófagos CD68, CD45RO e mastócitos foi obtido por meio da contagem do número de células dérmicas imunomarcadas, utilizando-se ocular de 10X com graticula e objetiva de 40X. A área do quadrículo, nesse aumento, correspondeu a 0,0625mm². Para cada um dos fragmentos foram analisadas as áreas de pelo menos seis campos (três junto aos vasos do plexo dérmico superficial e três em plano mais profundo da derme), determinando-se a média do número de células imunomarcadas por milímetro quadrado de área de derme.

Realizou-se a avaliação de células CD1a+ epidérmicas (células de Langerhans) por meio da fração de área epidérmica com expressão de antígeno CD1a.¹⁴ Optou-se por esse método de aferição uma vez que as células de Langerhans exibem dendritos, que se dispõem por entre os queratinócitos e podem se anastomosar, o que torna difícil a individualização das células para contagem. A fração de área CD1a+ foi obtida pela contagem do número de pontos que incidiam sobre reação positiva, dividido pelo total de pontos que incidiam sobre a epiderme, excluída a

camada córnea. Para isso, utilizou-se a mesma ocular de 10X com graticula e objetiva de 40X. Toda a epiderme de cada fragmento de pele foi avaliada.

Cada sujeito da pesquisa (pescador e não pescador) foi submetido à coleta de 10ml de sangue total, por punção em veia cefálica mediana, utilizando-se tubo a vácuo contendo etilenodiaminotetracetato de potássio (EDTA) 1mg/dl. A cada 50ml de sangue total homogeneizado adicionou-se anticorpo monoclonal (*Immunotech®, Marseille, France*) marcado com isotiocianato de fluoresceína para CD4 e CD8, isotiocianato de fluoresceína + ficoeritrina para CD3 e associado a cianoficoeritrina para IgG1; cianoficoeritrina para CD3 5CD19 5 e CD25; ficoeritrina Texas Red-X para CD8, CD45RO e CD45RO; ficoeritrina para CD28, HLA-DR e CD69, de tal forma que as subpopulações celulares puderam ser distinguidas por citometria de fluxo.

Foram adquiridas imagens de 5.000 células num *gate* de linfócitos, empregando-se gráfico de coordenadas cartesianas com abcissa para análise de dispersão frontal e ordenadas para dispersão lateral (FS x SS). Os valores relativos de contagem das subpopulações de linfócitos e de HLA foram convertidos em contagem absoluta, com base no total de linfócitos determinado em contador hematológico de células, modelo STKS (*Beckman-Coulter®, Fullerton, California, EUA*), aproximadamente no período de 24h pós-coleta.

Para análise histopatológica e imunoistoquímica

ca da pele prolongada e cronicamente exposta à radiação solar, admitiram-se os parâmetros da pele coberta como controle de cada paciente, portanto, não exposta diretamente à radiação solar.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de São Paulo.

Com o fim de proceder a uma descrição amostral, empregaram-se os parâmetros da estatística descritiva na caracterização de variáveis em escala intervalar, compreendendo: média, mediana, quartis e desvio padrão. Para as variáveis em escala nominal ou ordinal, utilizou-se a distribuição de frequências absolutas e relativas. Com o objetivo de testar a hipótese de igualdade entre os grupos de pescadores e não pescadores, usou-se o teste de Mann-Whitney, assim como o teste exato de Fisher, para análise de independência entre o grupo e as características analisadas. Em ambos os testes, adotou-se nível de significância igual a 0,05, monocaudal à direita. Para a análise de independência entre os grupos de pescadores e de não pescadores, empregou-se o coeficiente de Cramer. Na comparação entre os achados histopatológicos e imunológicos de pele coberta e exposta à radiação solar, foram empregados o teste de Wilcoxon e o teste de sinais, ambos em nível de significância de 0,05, monocaudal à direita.

RESULTADOS

Ao exame dermatológico do grupo dos não pescadores, não se diagnosticaram alterações em cabeça, face, tronco, membros superiores e inferiores, mãos, pés e unhas, assim como estiveram ausentes alterações em cavidade oral. Entre os pescadores, independentemente de distribuição topográfica, as alterações mais frequentes foram: elastose, melnose solar e hiperqueratose. Houve um caso de queilite actínica.

Comparação entre pele coberta e pele exposta ao Sol

Os achados histopatológicos e imunoistoquímicos da região exposta à radiação solar comparados àqueles da região coberta são apresentados nas tabelas 2 e 3. Ao exame histopatológico da pele, a hiperqueratose de intensidade moderada predominou na pele exposta ao Sol (26,3%) quando comparada à pele coberta (10,5%), entretanto essa diferença não foi significativa. Dois pescadores (10,5%) não apresentavam hiperqueratose na pele coberta (Tabela 2).

A variação do número de camadas celulares nos cones e nos segmentos da epiderme entre os cones foi maior em pele exposta do que em pele coberta, mas essa diferença só teve significância para o número de camadas celulares nos segmentos da epiderme entre os cones (Figuras 2A e 2B) (Tabela 2).

A elastose, que foi diagnosticada também ao exame físico, esteve significativamente relacionada à exposição da pele à radiação solar (Figuras 2A e 2B), e, quando presente, teve maior intensidade na pele exposta (Tabela 2).

O número de vasos dérmicos ectásicos foi significativamente maior na pele exposta à radiação solar do que na pele coberta (78,9% contra 31,6%; $p = 0,012$) (Figuras 2C e 2D). O infiltrado inflamatório perivascular linfo-histiocitário superficial leve também foi mais frequente em pele exposta, exceção feita a três casos, nos quais esse infiltrado foi de intensidade moderada; entretanto, essas diferenças não foram significantes (Tabela 2).

A análise comparativa dos elementos celulares estudados permitiu identificar que, em pele exposta ao sol, houve diferenças significantes em comparação com a pele coberta: maior número de linfócitos CD45RO+ ($p = 0,04$) (Figuras 3A e 3B), maior número de macrófagos revelados pelo anticorpo CD68 ($p < 0,001$) (Figuras 3C e 3D) e da quantidade de mastócitos ($p = 0,001$) (Figura 3). Na pele exposta à radiação solar, os macrófagos predominaram nas camadas dérmicas superior e média, em torno de vasos sanguíneos, adjacentes ao material elastótico, diferentemente da pele coberta, na qual se localizaram disseminados na camada superior da derme (Figuras 3C e 3D). Na pele exposta, os mastócitos apresentaram tamanho maior que os da pele coberta. O número de células NK (CD56+) foi maior em pele exposta à radiação solar, porém sem significância estatística ($p = 0,413$). A pele coberta assemelhou-se à pele exposta quanto aos demais elementos celulares relacionados à resposta imune da pele: células de Langerhans (CD1a+), linfócitos CD4+ e CD8+ (Tabela 3).

No gráfico 1 observa-se que as contagens dos marcadores CD45RO e CD68, assim como o número de mastócitos, foram significativamente maiores em pele exposta à RUV do que na pele coberta.

As contagens dos marcadores imunológicos das subpopulações de linfócitos CD3, CD3CD4, CD3CD8CD19, CD45RA, CD3CD4CD45RA, CD3CD8CD45RA, CD45RO, CD3CD45RO, CD3CD4CD45RO, CD28, CD3CD28, CD3CD4CD28, CD3CD8CD28, CD3CD4CD25 e HLA-DR foram maiores entre os pescadores do que entre os não pescadores. Por outro lado, as contagens das subpopulações de linfócitos CD3CD56, CD3CD45RA, CD69, CD3CD69, CD3CD4CD69, CD3CD8CD69, CD25, CD3CD25, CD3CD8CD25, CD3HLA-DR, CD3CD4HLA-DR e CD3CD8HLA-DR foram menores entre os pescadores do que entre os não pescadores. Apesar das diferenças relatadas, apenas o aumento da subpopulação CD3CD8CD45RO foi significativa ($p = 0,016$) (Tabela 4).

TABELA 2: Achados histológicos de biópsia em pele coberta e exposta à RUV em 19 pescadores, Recife, Brasil (setembro de 2005 a setembro de 2006)

Variáveis	Região		Comparação entre regiões	
	Coberta	Exposta	Valor de p	Significância
Hiperqueratose			Teste de sinais	
Frequência			0,125	ns
Ausente, % (n)	10,5 (2)	0,0 (0)		
Discreta, % (n)	78,9 (15)	73,7 (14)		
Moderada, % (n)	10,5 (2)	26,3 (5)		
Cones			Teste de Wilcoxon	
Média (DP)	10,1 (1,29)	10,8 (0,96)	0,051	ns
Média IC 95%	9,5; 10,7	10,4; 11,3		
1° q-med.-3°q	9,0-10,0-11,0	10,0-11,0-12,0		
Mínimo; máximo	8,0; 13,0	9,0; 12,0		
Segmentos epidérmicos entre os cones				
Média (DP)	5,2 (0,42)	5,8 (1,08)	0,029	s
Média IC 95%	5,0; 5,4	5,3; 6,3		
1° q-med.-3°q	5,0-5,0-5,0	5,0-6,0-6,0		
Mínimo; máximo	5,0; 6,0	5,0; 9,0		
Elastose			Teste de sinais	
Frequência			0,003	s
Ausente, % (n)	73,7 (14)	21,1 (4)		
Discreta, % (n)	21,1 (4)	47,4 (9)		
Moderada, % (n)	0,0 (0)	10,5 (2)		
Intensa, % (n)	5,3 (1)	21,1 (4)		
Ectasia			Teste de sinais	
Frequência			0,012	s
Ausente, % (n)	68,4 (13)	21,1 (4)		
Presente, % (n)	31,6 (6)	78,9 (15)		

DP = desvio padrão; 1° q-med.-3°q = 1° quartil-mediana-3° quartil; ns = não significante ($p \geq 0,05$); s = significante ($p < 0,05$)

DISCUSSÃO

Cumprir destacar, nesta discussão de resultados, alguns aspectos relevantes relativos a características próprias dos pescadores, que os fazem constituírem um grupo especial para o estudo da exposição prolongada e crônica à RUV, como também os referentes às alterações histopatológicas e imunológicas decorrentes dessa exposição solar.

A principal dificuldade metodológica na realização do presente trabalho foi a falta de referências na literatura quanto à padronização do número de elementos das subpopulações de linfócitos envolvidos na imunologia da pele de indivíduos expostos crônica e prolongadamente à radiação solar, o que se constituiu no aspecto inédito desta pesquisa. Em sua maioria, os estudos restringem-se à imunologia da pele submetida à radiação solar esporadicamente ou por curto espaço de tempo. Neste caso, adotou-se como controle um grupo de indivíduos não pescadores, não

expostos crônica e prolongadamente à radiação solar, que comprovadamente tinham características epidemiológicas e socioeconômicas semelhantes às dos pescadores.

Com a finalidade de estabelecer o protocolo para análise das alterações imunológicas sistêmicas, buscou-se, inicialmente, comparar o grupo de pescadores ao grupo de não pescadores quanto às variáveis demográficas, identificando-se diferença significativa no que se referiu à escolaridade e ao tempo de profissão.

A diferença significativa verificada no tempo de profissão, tendo sido maior para os pescadores, talvez possa ser atribuída ao processo de formação para o exercício da ocupação. Pescadores são formados empiricamente pela convivência familiar com outros pescadores, processo que se inicia ainda na adolescência e prossegue ao longo de toda a vida, acarretando, então, tempo de profissão mais prolongado. Os

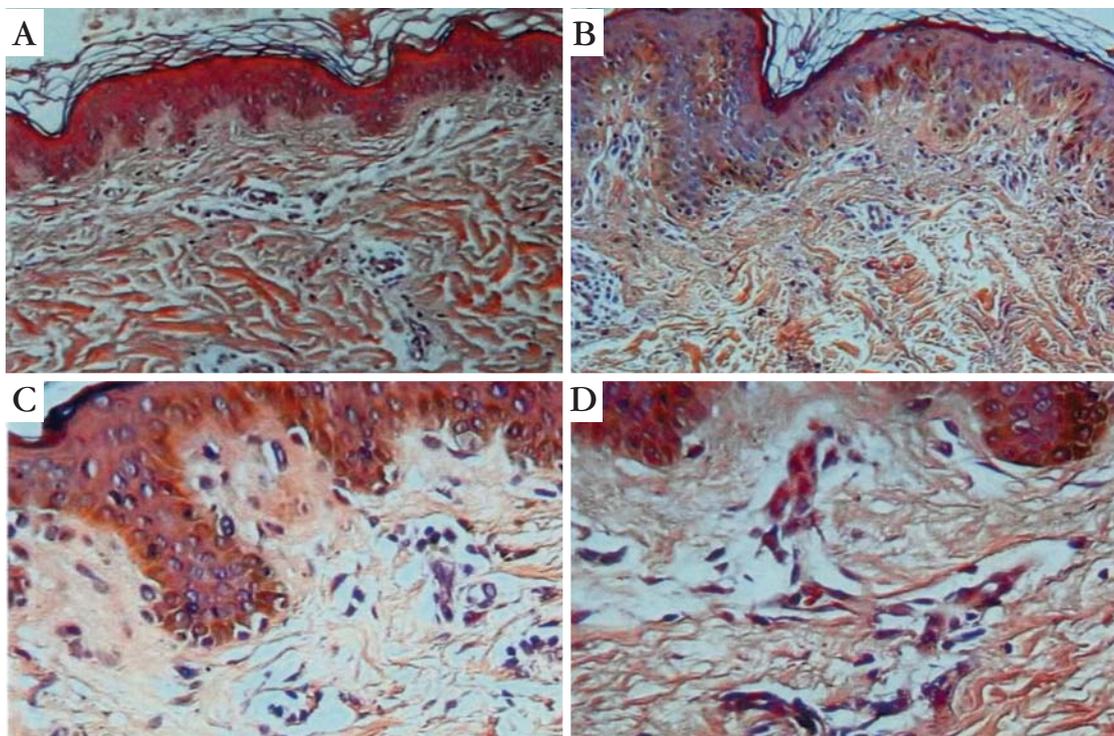


FIGURA 2: Aspecto histológico de biópsia de pele (A) pele coberta; (B) a presença de elastose na derme e o aumento do número de camadas celulares epidérmicas entre os cones na pele exposta (H& amp;E, aumento x100); (C) pele coberta; (D) presença de ectasia na derme da pele exposta (H& amp;E, aumento 400x)

componentes do grupo de não pescadores exerciam ocupações que exigiam formação profissional no ensino formal, portanto, iniciaram suas funções laborais mais tardiamente do que os pescadores.

As alterações clínicas dermatológicas diagnosticadas em pescadores derivaram tanto da exposição solar prolongada e crônica quanto de fatores próprios da ocupação que exerciam.

Eférides são pequenas máculas de cor castanho-amarelada, presentes em áreas fotoexpostas, derivadas de um fenômeno protetor oriundo do aumento de melanina em nível de camada basal devido à hiperatividade focal de melanócitos. É a primeira reação que a pele desenvolve quando exposta ao Sol, que habitualmente tem início na infância, sem qualquer

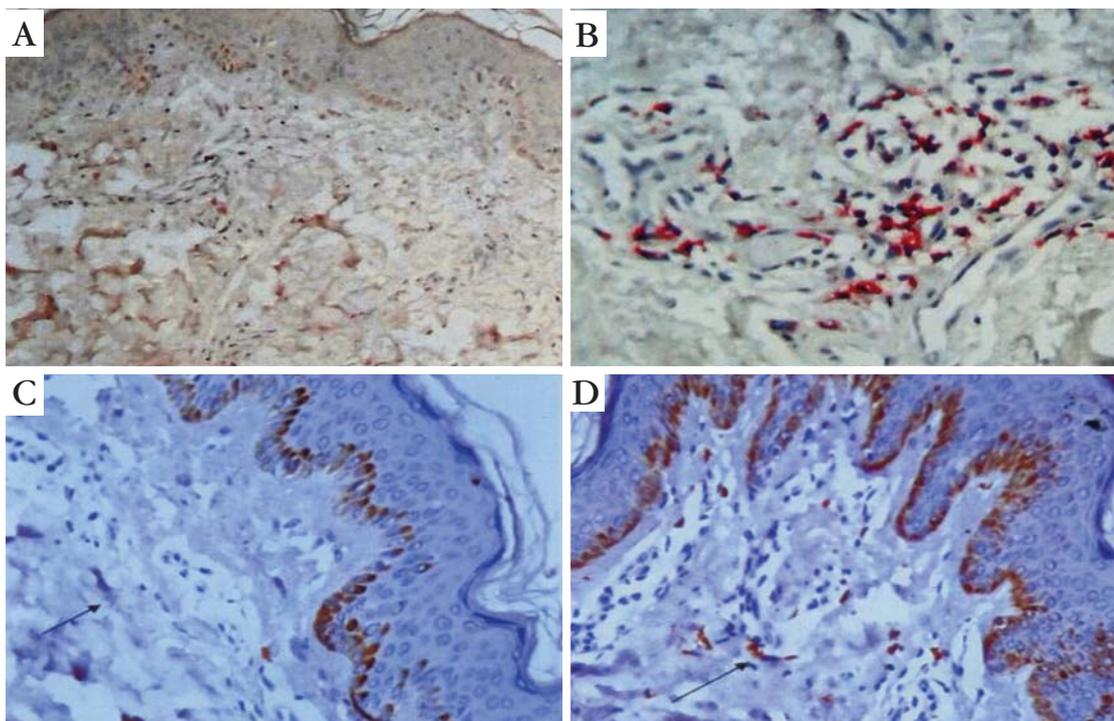


FIGURA 3: Linfócitos T CD45RO e CD68 na biópsia de pele (A) pele coberta – raras células CD45RO T imunocoradas em volta de vasos sanguíneos dérmicos (aumento X100); (B) pele exposta – observar numerosas células T CD45RO imunocoradas em volta de vasos sanguíneos dérmicos (aumento X400); (C) pele coberta – raras células CD68 imunocoradas em volta de vasos sanguíneos dérmicos (aumento X100); (D) pele exposta – observar numerosas células CD68 imunocoradas em volta de vasos sanguíneos dérmicos (aumento X400)

TABELA 3: Marcadores imunológicos em biópsia de pele de 19 pescadores, Recife, Brasil (setembro de 2005 a setembro de 2006)

Variáveis	Região		Comparação entre regiões	
	Coberta	Exposta	Valor de p	Significância
CD1a			Teste de Wilcoxon	
Média (DP)	0,0089 (0,00775)	0,0085 (0,01539)	0,313	ns
Média IC 95%	0,0052; 0,0126	0,0011; 0,0159		
1° q-med.-3° q	0,0020-0,0080-0,0150	0,0010-0,0060-0,0090		
Mínimo; máximo	0,0000; 0,0280	0,0000; 0,0700		
CD4			Teste de Wilcoxon	
Média (DP)	38,7 (36,31)	43,0 (35,51)	0,360	ns
Média IC 95%	21,2; 56,2	25,9; 60,1		
1° q-med.-3° q	10,7-22,7-72,0	17,3-30,7-61,3		
Mínimo; máximo	1,3; 122,7	5,3; 128,0		
CD8			Teste de Wilcoxon	
Média (DP)	29,2 (25,41)	36,9 (39,16)	0,360	ns
Média IC 95%	17,0; 41,5	18,0; 55,7		
1° q-med.-3° q	13,3-25,3-41,3	5,3-18,7-64,0		
Mínimo; máximo	0,0; 82,7	0,0; 125,3		
CD56			Teste de Wilcoxon	
Média (DP)	0,49 (1,347)	1,05 (2,375)	0,413	ns
Média IC 95%	0,00; 1,14	0,00; 2,20		
1° q-med.-3° q	0,00-0,00-0,00	0,00-0,00-1,33		
Mínimo; máximo	0,00; 5,33	0,00; 9,33		
CD45RO			Teste de Wilcoxon	
Média (DP)	12,7 (27,92)	14,4 (14,90)	0,040	s
Média IC 95%	0,0; 26,2	7,2; 21,6		
1° q-med.-3° q	2,7-5,3-9,3	5,3-13,3-18,7		
Mínimo; máximo	0,0; 125,3	1,3; 69,3		
CD68			Teste de Wilcoxon	
Média (DP)	0,42 (1,093)	16,77 (17,380)	< 0,001	s
Média IC 95%	0,00; 0,95	8,39; 25,15		
1° q-med.-3° q	0,00-0,00-0,00	5,33-13,33-21,33		
Mínimo; máximo	0,00; 4,00	0,00; 73,33		
Mastócitos			Teste de Wilcoxon	
Média (DP)	33,7 (13,02)	50,8 (18,81)	0,001	s
Média IC 95%	27,4; 40,0	41,7; 59,9		
1° q-med.-3° q	21,3-34,7-46,7	33,3-49,3-69,3		
Mínimo; máximo	13,3; 53,3	22,7; 86,7		

DP = desvio padrão; 1° q-med.-3° q = 1° quartil-mediana-3° quartil; ns = não significante ($p \geq 0,05$); s = significante ($p < 0,05$)

risco de degeneração maligna, fato encontrado em pescadores que, mesmo com intensa exposição solar, não apresentavam qualquer neoplasia maligna no restante da cobertura dérmica.

A ausência de lesões pré-malignas e neoplásicas na pele de pescadores permite supor a existência de adaptação da pele à exposição prolongada e crônica ao Sol. Isso sugere que o organismo cria mecanismos protetores contra a radiação solar, do que deriva dano

menor do que o presente em indivíduos que se expõem esporadicamente ao Sol, portanto, sem defesa específica da pele.

Essa hipótese foi aventada por Schwartz⁹ em 2005, ao estudar o efeito da RUV em indivíduos caucásianos, mas o autor concluiu que a afirmação deveria ser confirmada por futuros estudos. No entanto, não se pode abandonar a hipótese de que esses pescadores apresentem uma adaptação genética da pele à radiação

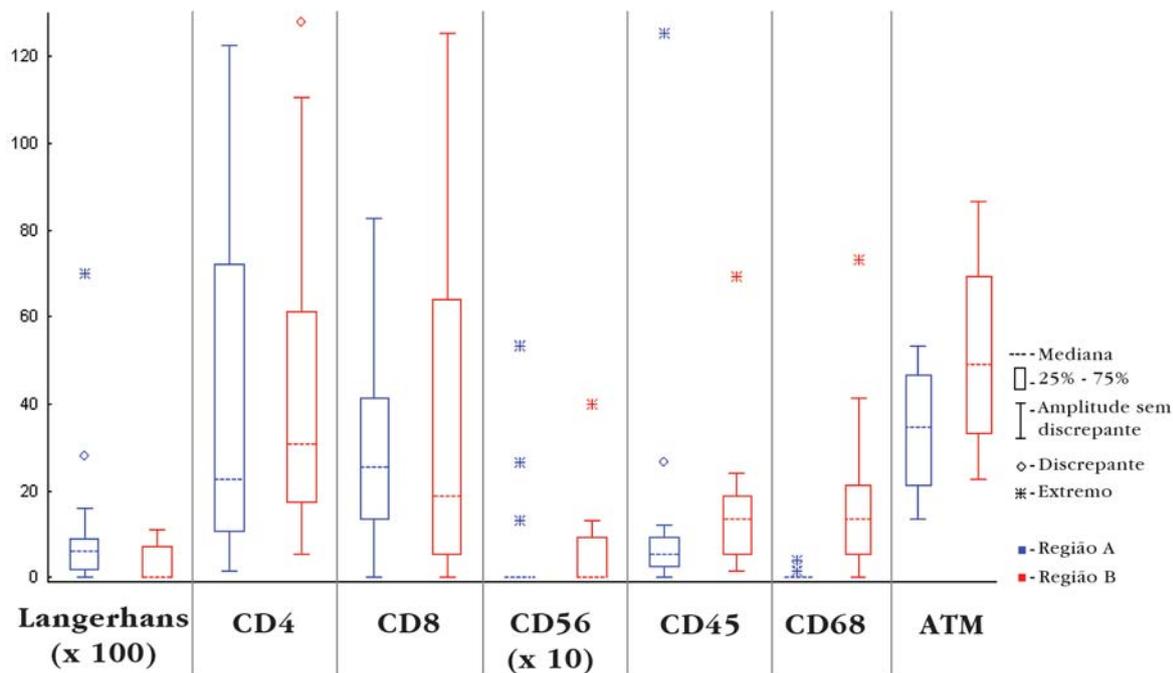


GRÁFICO 1: Dispersão em relação à mediana dos marcadores imunológicos em pele coberta e exposta

solar crônica, por serem descendentes de pais e avós pescadores, como será discutido em seguida. Para confirmar tal hipótese, esses aspectos, na opinião dos pesquisadores deste estudo, também precisam ser estudados em seus descendentes não pescadores.

O efeito reacional à exposição prolongada e crônica ao Sol também pode ser identificado nos pescadores pesquisados pela presença frequente de elastose e melanose solar nas áreas fotoexpostas. A elastose, também conhecida como *peau citriné*, é uma alteração caracterizada por espessamento coriáceo da pele, de cor amarelada e superfície sulcada, assim como por manchas de cor castanho-clara a escura. A elastose e o aumento do número e da atividade dos

melanócitos atuam impedindo a penetração solar nas camadas mais profundas da pele e, assim, reduzindo o risco de um dano maior.

A queilite solar, clinicamente caracterizada por escamação e crostas no lábio inferior, foi diagnosticada em um pescador e atribuída ao seu fotótipo. Fenômeno semelhante foi relatado por Nicolini et al.,¹⁵ em 1989, ao estudarem 556 pescadores de Valparaíso, Chile, com biótipo loiro ou ruivo e olhos azuis ou verdes, nos quais diagnosticaram queilite solar em 43% da amostra, de severidade aguda em 8% e crônica em 35% dos casos.

Em resumo, os achados clinicodermatológicos

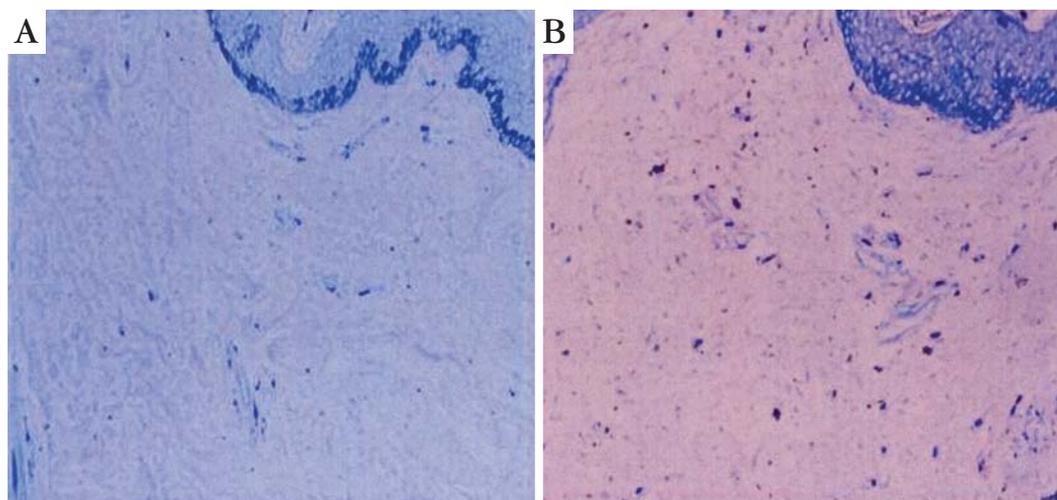


FIGURA 4: Coloração histológica com azul de toluidina para mastócitos em biópsia de pele (A) pele coberta; (B) pele exposta

TABELA 4: Subpopulação de linfócitos em sangue periférico de pescadores e não pescadores, Recife, Brasil (setembro de 2005 a setembro de 2006)

Variáveis	Grupos		Comparação entre grupos	
	Não pescadores	Pescadores	Valor de p	Significância
CD1a			Teste de Wilcoxon	
Total	10 (34,5%)	19 (65,5%)		
CD45RO			Teste de Mann-Whitney	
Média (DP)	680,3 (215,41)	974,9 (433,83)	0,056	ns
Média IC 95%	526,2; 834,4	765,8; 1.184,0		
1° q-med.-3° q	483,8-656,0-824,5	718,0-925,0-1.147,0		
Mínimo; máximo	370,0; 1.091,0	316,0; 1.928,0		
CD3CD45RO			Teste de Mann-Whitney	
Média (DP)	651,0 (229,61)	925,6 (435,57)	0,094	ns
Média IC 95%	486,7; 815,3	715,6; 1.135,5		
1° q-med.-3° q	441,5-577,0-844,3	579,0-846,0-1.101,0		
Mínimo; máximo	355,0; 1.070,0	337,0; 1.894,0		
CD3CD4CD45RO			Teste de Mann-Whitney	
Média (DP)	461,7 (150,90)	650,6 (316,77)	0,094	ns
Média IC 95%	353,8; 569,6	498,0; 803,3		
1° q-med.-3° q	292,5-455,5-596,0	423,0-688,0-787,0		
Mínimo; máximo	261,0; 669,0	150,0; 1.508,0		
CD3CD8CD45RO			Teste de Mann-Whitney	
Média (DP)	160,5 (105,39)	315,7 (222,35)	0,016	s
Média IC 95%	85,1; 235,9	208,5; 422,9		
1° q-med.-3° q	91,3-132,0-190,0	148,0-264,0-388,0		
Mínimo; máximo	71,0; 429,0	66,0; 901,0		

DP = desvio padrão; 1° q-med.-3° q = 1° quartil-médiana-3° quartil; ns = não significante ($p \geq 0,05$); s = significante ($p < 0,05$)

diagnosticados nos pescadores, em sua maioria, refletiram alterações adaptativas à atividade da pesca, consideradas adequadas por profissionais formados empiricamente, com baixa escolaridade, o que lhes dificulta a compreensão da necessidade de adotar condutas preventivas contra tais agravos.

Quanto às alterações identificadas ao exame histopatológico de biópsia de pele coberta e exposta, houve dois achados que merecem detalhamento. A predominância de elastose em pele exposta forneceu evidência de que a exposição crônica à radiação solar promove degradação do colágeno e acúmulo de elastina anormal na derme.

Vale ainda ressaltar que se tem descrito que a RUV promove danos à molécula de DNA e dos queratinócitos, mas já se comprovou o comprometimento dos fibroblastos, cuja alteração de síntese proteica explicaria a presença de elastina anormal, responsável pela elastose solar. Bosset et al.,¹⁶ ao comprovarem a concomitância de aumento de elastose, de ectasia e do número de células TCD4+ e CD45RO+ em pele cronicamente exposta ao Sol, enunciaram a hipótese

de que o dano celular do DNA levaria à síntese de moléculas anormais, cuja presença desencadearia a secreção de mediadores inflamatórios pelos mastócitos, modulando direta ou indiretamente a síntese de proteinases que degradariam a matriz extracelular ou desencadeariam a ativação da metaloproteinases. Os mastócitos ativados sofreriam degranulação nos locais de inflamação crônica e alterariam o metabolismo dos fibroblastos, que passariam a sintetizar elastina anormal, principalmente, sob a ação da metaloproteinase-9 (MMP-9). Esse processo, adverso à pele, promoveria a recirculação de células de memória na pele, como os linfócitos T CD4+CD45RO+, provavelmente em resposta à ativação das células endoteliais induzida pela expressão da E-selectina, um mediador do tráfego linfocitário na pele inflamada.¹⁷⁻¹⁹

Ainda nesse contexto, a diferença significativa de células imunologicamente marcadas nos segmentos da epiderme entre os cones veio comprovar os achados de Baba et al.²⁰ em 2005. Esses autores identificaram que a estimulação da epiderme pela radiação solar promove hiperproliferação das células da camada basal

nos cones, com conseqüente extensão das projeções epidérmicas entre os cones, que irão formar um número maior de camadas celulares, atuando como defesa a essa injúria. Essa constatação parece comprovar a existência de um fenômeno adaptativo de proteção, quando da exposição prolongada e crônica da pele à radiação solar. Os mesmos autores demonstraram que as projeções celulares entre os cones se instalam no terceiro dia da exposição à UVB e desaparecem no décimo dia, cessada a exposição. Argumentaram que esse mecanismo seria semelhante àquele que ocorre na cicatrização de feridas da epiderme. Parece plausível supor que o mesmo mecanismo se manteria na exposição prolongada e crônica à radiação solar, promovendo aumento da profundidade dos cones para dentro da derme e, conseqüentemente, maior distanciamento dos queratinócitos capazes de mitose em relação à radiação solar. A migração celular entre os cones promoveria o aumento do número de queratinócitos em fase pós-mitótica, portanto, mais capazes de apoptose. Não se conseguiu, no entanto, confirmar essa hipótese a partir dos achados.

O aumento de elastose, comprovado na presente pesquisa pela elevação da resistência da pele ao *punch*, à biópsia, pelo engrossamento e endurecimento da pele, identificados pelo exame físico, assim como pelo exame histopatológico, promove maior resistência da pele à tensão e à pressão. Isso poderia ter dificultado a penetração dos cones hiperplasiados, o que promoveria uma migração celular ainda maior entre os cones, aumentando o número de camadas celulares que atuariam como fator de proteção à penetração da RUV na região mais profunda da pele.

Em resumo, as alterações histopatológicas relativas à proliferação das camadas celulares nos segmentos da epiderme nos cones e entre os cones, à elastose e à ectasia, são processos protetores e adaptativos à exposição crônica e prolongada à radiação solar, derivados das atividades metabólicas de fibroblastos e imunológica de mastócitos associadas à proliferação celular.

Por meio da imunistoquímica, pôde-se identificar ausência de imunossupressão na pele exposta à radiação solar porque os marcadores CD1a, CD4, CD8 e CD56 foram semelhantes aos da pele coberta, considerada como controle. O maior número de linfócitos T CD45RO+, macrófagos revelados pelo anticorpo CD68+, e de mastócitos em pele exposta permite aventar a hipótese de a radiação solar promover um efeito de tolerância representado pelo aumento do sinal imunológico capaz de desencadear elevação do fluxo de leucócitos, macrófagos e mastócitos em pele irradiada, compatível com a presença significativa de ectasia, associando a exposição crônica e prolongada à inflamação crônica e ao fotoenvelhecimento da pele.^{8,17,21}

Considerando o mecanismo local das alterações da pele atribuídas à radiação solar, referidas na literatura, pode-se lançar a hipótese de que o mecanismo de tolerância consistiu no desencadeamento do efeito barreira à penetração da radiação solar pela elastose, pelo aumento das camadas celulares entre os cones e pelo bronzeamento da pele, que se constitui na expressão fenotípica do aumento de melanócitos. A esses processos associou-se a elevação da vasculatura, representada pela ectasia, com sinal imunológico em pele favorecendo o fluxo leucocitário, expresso pelo aumento do CD45RO+, dos macrófagos e dos mastócitos.

Quanto às alterações sistêmicas desencadeadas pela radiação solar, não se comprovou a imunossupressão, visto que o comportamento dos marcadores imunológicos em pescadores se assemelhou ao de indivíduos não sujeitos à exposição solar prolongada e crônica. No entanto, o aumento significativo da relação CD3+CD8+CD45RO+ exclusivamente em pescadores pareceu corroborar o comportamento local, sinalizando um efeito imunológico, protetor, sistêmico, de tolerância. Isso significa dizer que, provavelmente, a radiação solar desencadeia imunossupressão na pele, quando a exposição é eventual e de curta duração, já que outros estudos comprovaram que as alterações nos marcadores se verificam nas primeiras horas pós-exposição e normalizam depois de decorridas 24 a 48 horas. Assim, a imunossupressão associada ao dano ao DNA atuaria como fator de risco de neoplasia, principalmente nos indivíduos geneticamente susceptíveis.⁵

No caso da exposição prolongada e crônica, tanto pelo efeito barreira quanto pela adaptação imunológica, essa inativação do DNA não ocorreria, do que pareceu derivar a inexistência de qualquer caso de neoplasia maligna na pele de pescadores.

Os resultados do presente estudo permitem complementar a publicação de Lautenschlager et al.²² com os efeitos crônicos e prolongados da exposição solar que promovem imunoadaptação e fotoenvelhecimento.

Esta pesquisa não esgota o assunto, porque não se encontrou na literatura consultada qualquer trabalho investigando o comportamento histológico e imunológico da pele exposta à radiação solar por longos períodos e cronicamente. Desenvolveu-se uma linha de raciocínio lógica do ponto de vista da fisiologia, porém são necessários novos estudos para elucidar a tese aqui defendida.

CONCLUSÕES

O estudo da pele exposta e não exposta à radiação solar de pescadores com mais de dez anos de ati-

vidade e sujeitos à exposição solar diária de 12 horas, em média, permitiu concluir que: 1) a exposição solar crônica produz alterações cutâneas que representam mecanismos de defesa – elevação do número de camadas celulares da epiderme entre os cones epiteliais e também de melanócitos –, mas não provoca imunossupressão cutânea, diferentemente da exposição aguda ao UV, pois as células imunocompetentes comportam-se de modo idêntico na pele exposta e coberta, havendo ainda, na pele cronicamente exposta ao Sol, aumento de células imunologicamente ativas,

como CD+45RO, CD68 e mastócitos; 2) o estudo de marcadores imunológicos no sangue em indivíduos com exposição solar crônica e indivíduos do grupo de controle não expostos cronicamente ao Sol não mostra sinais de imunossupressão, havendo, nos indivíduos expostos, elevação da quantidade da maioria das subpopulações de linfócitos, sendo, porém, significativo apenas o aumento da subpopulação CD3CD8CD45RO e 3. Clinicamente, a ausência de queratoses actínicas e neoplasias nos pescadores estudados reforça a ausência de imunossupressão. □

REFERÊNCIAS

1. Yaron I, Zakheim AR, Oluwole SF, Hardy MA. Effects of ultraviolet-B irradiation on human LAK and NK cytotoxic activity. *Cell Immunol.* 1995;185:168-76.
2. Aboutalebi S, Strickland FM. Immune protection, natural products, and skin cancer: is there anything new under the sun? *J Drugs Dermatol.* 2006;5:512-7.
3. Narbutt J, Skibinska M, Lesiak A, Wozniacka A, Sysa-Jedrzejowska A, Cebula B, et al. Exposure to low doses of solar-simulates radiation induces an increase in the myeloid subtype of blood dendritic cells. *Scand J Immunol.* 2004;60:429-35.
4. Norval M. The mechanisms and consequences of ultraviolet-induced immunosuppression. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006;92:108-18.
5. Martinez MAR, Francisco G, Cabral LS, Ruiz IRG, Festa Neto C. Genética molecular aplicada ao câncer cutâneo não melanoma. *An Bras Dermatol.* 2006;81:405-19.
6. Duthie MS, Limber I, Norval M. The effects of ultraviolet radiation on the human immune system. *Br J Dermatol.* 1999;140:995-1009.
7. Godar DE, Lucas AD. Ultraviolet-A1 (340-400 nm)-mediated receptor and cytokine changes of transformed lymphocytes. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2005;21:23-31.
8. Aubin F. Mechanisms involved in ultraviolet light-induced immunosuppression. *Eur J Dermatol.* 2003;13:515-23.
9. Schwarz T. Mechanisms of UV-induced immunosuppression. *Keio J Med.* 2005;54:165-71.
10. Tobin DJ. Biochemistry of human-skin-our brain on the outside. *Chem Soc Rev.* 2006;35:52-67.
11. Sociedade Brasileira de Dermatologia. Análise de dados das campanhas de prevenção ao câncer de pele promovida pela Sociedade Brasileira de Dermatologia de 1999 a 2005. *An Bras Dermatol.* 2006;81:533-9.
12. Bush K, Kivlahan DR, McDonnell MB, Fihn SD, Bradley KA. The AUDIT alcohol consumption questions (AUDIT-C): an effective brief screening test for problem drinking. Ambulatory Care Quality Improvement Project (ACQUIP). *Alcohol Use Disorders Identification Test.* *Arc Intern Med.* 1998;158:1789-95.
13. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem.* 1981;29:577-80.
14. Bieber T, Ring J, Rieber EP. Anti-IgE monoclonal antibodies as tools for demonstration of cutaneous IgE bearing dendritic cells. *J Invest Dermatol.* 1988;91:284.
15. Nicolini S, Ascorra C, Guaman C, Latife AV. Actinic cheilitis in Quinta fishing workers: prevalence and associated histopathological aspects. *Odontol Chil.* 1989;37:160-74.
16. Bosset S, Bonnet-Duquenois M, Barré P, Chalon A, Lazou K, Kurfurst R, et al. Decreased expression of keratinocyte beta1 integrins in chronically sun-exposed skin in vivo. *Br J Dermatol.* 2003;148:770-8.
17. Bosset S, Bonnet-Duquenois M, Barré P, Chalon A, Kurfurst R, Bonté F, et al. Photoageing shows histological features of chronic skin inflammation without clinical and molecular abnormalities. *Br J Dermatol.* 2003;149:826-35.
18. Souza SR, Fischer FM, Souza JM. Suntanning and risk of cutaneous melanoma: a literature review. *Rev Saude Publica.* 2004;38:588-98.
19. Zak-Prelich M, Narbutt J, Sysa-Jedrzejowska A. Environmental risk factors predisposing to the development of basal cell carcinoma. *Dermatol Surg.* 2004;30:248-52.
20. Baba H, Yoshida M, Yokota T, Uchiwa H, Watanabe S. Human epidermal basal cell responses to ultraviolet-B differ according to their location in the undulating epidermis. *J Dermatol Sci.* 2005;38:41-6.
21. Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK. Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol.* 2001;79:547-68.
22. Lautenschlager S, Wulf HC, Pittelkow MR. Photoprotection. *Lancet* 2007;370:528-37.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA / MAILING ADDRESS:

Sarita Maria de Fátima Martins de Carvalho Bezerra

Rua Ernesto de Paula Santos, 187 – Sala 301 – Boa Viagem

51020-330 Recife - PE

Tel.: 81 34741-019

E-mail: saritamartins@uol.com.br

Como citar este artigo/How to cite this article: Bezerra SMFMC, Sotto MN, Orii NM, Alves C, Duarte AJS. Efeitos da radiação solar crônica prolongada sobre o sistema imunológico de pescadores profissionais em Recife, Brasil. *An Bras Dermatol.* 2011;86(2):222-33.