

LEITE, A. F. O.; ALENCAR R.C.G.; SILVA T.A. MENDONÇA, E.F.; BATISTA, A. C. Identificação e quantificação de células c-kit positivas no infiltrado inflamatório (mastócitos c-kit positivos) pelo método da streptavidina-biotina-peroxidase (imunistoquímica) em carcinomas espinocelulares e lesões cancerizáveis da boca. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSAO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. *Anais eletrônicos do XIV Seminário de Iniciação Científica* [CD-ROM], Goiânia: UFG, 2006. n. p.

IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS C-KIT POSITIVAS NO INFILTRADO INFLAMATÓRIO (MASTÓCITOS C-KIT+) PELO MÉTODO DA STREPTAVIDINA-BIOTINA-PEROXIDASE (IMUNOISTOQUÍMICA) EM

CARCINOMAS ESPINOCELULARES E LESÕES CANCERIZÁVEIS DA BOCA
LEITE, Angélica Ferreira Oton¹; ALENCAR, Rita de Cássia ²; SILVA, Tarcília Aparecida³; MENDONÇA, Elismauro Francisco⁴; BATISTA, Aline Carvalho⁵

Palavras-chave: Mastócitos, c-kit, Carcinoma espinocelular de boca, Lesões cancerizáveis.

1. INTRODUÇÃO (Justificativa e objetivos)

Os mastócitos (MCs) no carcinoma espinocelular de boca (CEC) e nas lesões cancerizáveis podem desempenhar importante papel na angiogênese, degradação da matriz extracelular, bem como podem participar da modulação da resposta imune inata e adquirida (METCALFE et al., 1997; WALSH, 2003). A migração, adesão, diferenciação, sobrevivência e função dos MCs são controladas, especialmente, pelo fator de células tronco ("Stem cell factor" - SCF) (GALLI et al., 1995; MEININGER et al., 1992; SUNDSTROM et al., 2001). O SCF, também denominado c-kit ligante, exerce sua função nos MCs quando este se liga em seu receptor específico (SCFR ou c-kit) (ANDREADIS et al., 2006). Normalmente, MCs maduros não estão presentes na circulação, assim, seus precursores migram para os tecidos como células imaturas e sofrem diferenciação *in situ* (ABBAS et al., 1997; METCALFE et al., 1997). A identificação e quantificação de células c-kit-positivas (c-kit+) presentes no infiltrado inflamatório e/ou tecido conjuntivo em CEC e lesões cancerizáveis de boca, bem como em mucosa bucal clinicamente saudável (Controle), possibilitará avaliar a presença e migração destas células nestas lesões.

2. METODOLOGIA

2.1-Seleção da amostragem

Foram selecionadas 38 amostras de CEC (soalho bucal, língua, gengiva/rebordo alveolar, palato, mucosa jugal), 26 de lesões cancerizáveis com e sem displasia epitelial (LC/SD) e 12 de mucosa bucal clinicamente saudável (Controle) dos arquivos de blocos do Laboratório de Patologia Bucal da FO/UFG e do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge da Associação de Combate ao Câncer de Goiás (HAJ/ACCG).

2.2-Identificação de mastócitos

Os MCs c-kit+ foram identificados pelo método da streptavidina-biotina-peroxidase (imunistoquímica), com a utilização de anticorpos policlonais de coelho anti-c-kit humano (A4502, DAKO, Glostrup-Denmark), a uma diluição de 1:200.

2.3-Contagem dos mastócitos c-kit⁺ por mm² e análise estatística

O número de MCs c-kit+ foi quantificado por meio de análise morfométrica utilizando microscópio óptico contendo um retículo de integração (Carl Zeiss). Em cada amostra, os MCs c-kit+ foram quantificados na região subepitelial (LC/SD e Controle) e no fronte de invasão tumoral (CEC) utilizando um aumento de 40x em

10 campos microscópicos consecutivos. No aumento de 40x a área do retículo é igual a $0,0961\text{mm}^2$. Registramos, desta maneira, o número total de mastócitos encontrados na área percorrida e dividimos este número por $0,961\text{mm}^2$, obtendo-se o número de células por mm^2 . Os resultados, dos grupos avaliados, foram expressos como média do número de MCs por $\text{mm}^2 \pm$ o respectivo desvio padrão. Os dados obtidos foram trabalhados estatisticamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1- Resultados

A densidade de MCs c-kit+ foi significativamente maior no grupo Controle ($95.91 \pm 62.96\text{mm}^2$) quando comparado com o grupo de LC/SD ($73.80 \pm 36.52 \text{mm}^2$) e com o grupo de CEC de boca ($19.24 \pm 17.26 \text{mm}^2$) (Mann-Whitney com $P < 0.05$). Em adição, verificamos um número significativamente menor de MCs c-kit+ no grupo de CEC quando comparado ao de LC/SD (Mann-Whitney com $P < 0.05$) (Figura 1).

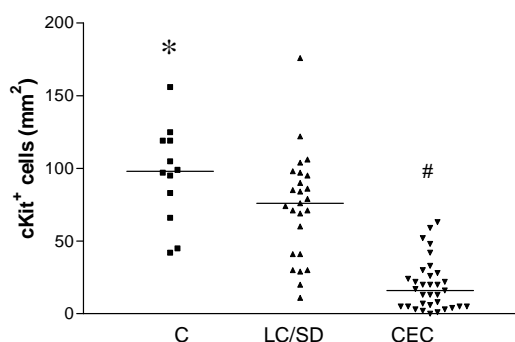


Figura 1: Número de células c-kit+ por mm^2 nas amostras de Carcinomas Espinocelulares de boca (CEC) - $n=38$, Lesões Cancerizáveis com e sem displasia epitelial (Leucoplasia) - $n=26$ e amostras de Mucosa bucal clinicamente saudável (Controle) - $n=12$. * (asterisco) significa $P < 0.05$ (Teste Mann-Whitney) quando comparado o Controle com os demais grupos. # significa $P < 0.05$ (Teste Mann-Whitney) quando comparado o CEC com a Leucoplasia (LC/SD).

3.2- Discussão

Nossos achados sugerem uma possível falha na migração dos MCs c-kit+ nas amostras de CEC e lesões cancerizáveis. Isto porque é o SCF, ligante do receptor c-kit, um dos principais responsável pela migração dos mastócitos para tecido conjuntivo/estroma. Dentre outros fatores que estimulam a migração e diferenciação dos mastócitos estão a interleucina-3 (IL-3) e IL-9 (MEININGER et al., 1992).

Nossos resultados não corroboraram com os achados de IAMAROON et al que, ao contrário, demonstraram um aumento progressivo na densidade de mastócitos triptase+ em lesões hiperqueratóticas com displasia epitelial quando comparadas com lesões hiperqueratóticas sem displasia e com mucosa bucal normal. Em adição, IAMAROON et al. verificaram um aumento significativo do número de mastócitos no CEC de boca e se comparado com os grupos citados acima e demonstraram uma correlação positiva da densidade destas células com de vasos sanguíneos neoformados. No entanto, em concordância com nossos resultados, SAND et al. demonstraram, em estudo experimental de carcinogênese, uma redução significativa da população de mastócitos no sítio tumoral. Em adição aos achados de SAND et al., tem sido verificado que camundongos deficientes de mastócitos apresentam um aumento na incidência de tumor após tratamento com agente carcinogênico (TANOOKA et al.), sugerindo, desta forma, que os mastócitos podem desempenhar um importante papel na defesa imunológica contra as células tumorais.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos e com base na metodologia utilizada, podemos concluir que há uma redução gradativa e significativa na densidade de mastócitos c-kit+ (mastócitos migrados) entre os grupos de lesões cancerizáveis e CEC quando comparados ao grupo Controle; bem como foi demonstrado um menor número de mastócitos c-kit+ no grupo CEC quando comparado ao de lesões cancerizáveis, sugerindo, assim, uma possível falha na migração destas células para o microambiente tumoral.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1-ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Immunity to tumours. In: _____ . *Cellular and Molecular Immunology*. 4.ed. Philadelphia: Saunders,p.382-405,1997.
- 2-ANDREADIS, D.; EPIVATIANOS, A.; POULOPOULOS, A.; NOMIKOS, A.; PAPAZOGLU, G.; ANTONIADES, D.; BARBATIS, C. Detection of c-kit (CD117) molecule in benign and malignant salivary gland tumours. *Oral Oncol*. V.42, p.57-65,2006.
- 3-GALLI, S.J.; TSAI, M.; WERSHIL, BK.; TAM, SY.;COSTA, JJ. Regulation of mouse and human mast cell development, survival and function by stem cell factor, the ligand for c-kit receptor. *Int Arch Allergy Immunol*. v.107,n.1-3, p.51-3,1995.
- 4-IAMAROON, A.; PONGSIRIWET, S.; JITTIDECHARAKS, S.; PATTANAPORN, K.; PRAPAYASATOK S; WANACHANTARARAK S. Increase of mast cells and tumor angiogenesis in oral squamous carcinoma. *J Oral Pathol Med*.v. 32, p.195-9, 2003.
- 5-MEININGER, C.; YANO, H.; ROTTAPPEL, R.; BERNSTEIN, A.; ZSEBO, M.; ZETTER, B.R. The c-kit Receptor Ligand Functions as a Mast Cell Chemoattractant. *Blood*.v.79, n.4, p.958-63,1992.
- 6-METCALFE, D.D.; BARAM, D.; MEKORI, Y.A. Mast cells. *Physiol Rev*. v. 77, n. 4, p.1033-79,1997.
- 7- SAND, L.; HILLIGES, M.; LARSSON, P.A.; WALLSTRON, M.; HIRSCH, J.M. Effects of long-term administration of cancer-promoting substances on oral subepithelial mast cells in the rat. *Anticancer Res*. v.22, n.5, p.2623-7, 2002.
- 8-SUNDSTROM, M.; ALFREDSSON, J.; OLSSON, N.; NILSSON, G. Stem Cell Factor-Induced migration of mast cells requires p38 mitogen-activated protein kinase activity. *Exp Cell Res*.v.267, n.1, p.144-51, 2001.
- 9-TANOOKA, H.; KITAMURA Y.; SADO T.; TANAKA K.; NAGASE M.; KONDO S. Evidence for involvement of mast cells in tumor suppression in mice. *J Natl Cancer Inst*. v.69, n.6, p.1305-9, 1982.
- 10-WALSH, L.J. Mast cell and oral inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med*.v.14,n.3,p.188-98,2003.

Fonte de Financiamento– Bolsa PIBIC, Projetos CNPq - processos nº 620013/2004-4 e 401305/2005-8.

¹Aluna do Programa de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC). Disciplina de Patologia Geral e Bucal. Laboratório de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Goiás (FO-UFG)-angelicaothon@hotmail.com

²Pesquisadora Participante, Membro do Serviço de Anatomia-Patológica do Hospital Araújo Jorge da ACCG, Goiânia-GO.

³Pesquisadora Participante, Disciplina de Patologia Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (FO-UFMG)

⁴Pesquisador Participante, Disciplina de Patologia Geral e Bucal da FO-UFG.

⁵Orientadora, Disciplina de Patologia Geral e Bucal da FO-UFG–ali.caba@uol.com.br