

Determinação da expressão de proteínas no sítio epitélio-mesênquima do Tumor Queratocístico Odontogênico: importância no comportamento tumoral

TAVARES, Denise¹; **VENCIO**, Eneida Franco²

Palavras-chave: Fibronectina ,Laminina, Metaloproteinase-2, Invasão tumoral, Disruptura

1. INTRODUÇÃO (justificativa e objetivos)

O tumor odontogênico queratocístico apresenta comportamento tumoral invasivo local e recidivante. Microscopicamente o seu revestimento epitelial contém características peculiares, como a espessura uniforme, um padrão queratinizado com superfície corrugada, o paliçamento e hiper cromatismo das células da camada basal, além de cistos satélites na cápsula fibrosa. Áreas de disruptura epitélio-conjuntivo podem estar presentes. A fibronectina e a laminina são proteínas localizadas na membrana basal, responsáveis pela união epitélio-conjuntivo. Estas proteínas são perdidas ou penetram nas células tumorais durante invasão e metástase. A fragmentação ou ausência da laminina tem sido detectada em tumores malignos e pode ser devido à degradação proteolítica ou diminuição da síntese. As metaloproteinases (MMPs) pertencem à família do zinco e cálcio dependente de enzimas proteolíticas que degradam moléculas da matriz extracelular. A *overexpression* destas proteínas tem sido associada à destruição da ECM com invasão de outros tumores odontogênicos, como o ameloblastoma, e também em processos invasivos e metastáticos de tumores.

2. METODOLOGIA

2.1 – Escolha da amostra

Treze casos clínicos de tumor queratocístico odontogênico foram selecionados do Laboratório de Patologia da UFG. Os blocos em parafina dos casos selecionados foram recortados e corados pela técnica da hematoxilina e eosina.

2.2 – Técnica HE

Foram realizados os cortes dos blocos selecionados em parafina no micrótom. Os cortes foram colocados em banho maria a 42°C com o objetivo de eliminar dobras teciduais. As lâminas foram colocadas em suporte e desparafinadas em estufa e em seguida numa seqüência de xilol. Posteriormente, mergulhadas numa seqüência de álcool, lavadas em água corrente e mergulhadas em hematoxilina. Finalmente, elas foram passadas rapidamente no diferenciador, lavadas em água e mergulhadas em eosina, desidratadas em álcool e diafanizadas em xilol. A montagem das lâminas

seguiu-se pela aplicação de uma gota de enthelan e posicionamento da lamínula.

2.3 – Preparação das lâminas

As lâminas foram mergulhadas em solução de detergente neutro em água, lavadas em água corrente e, em seguida, foram colocadas na estufa para secar. As lâminas foram então imersas em acetona, silano e acetona, esgotando bem o excesso e colocados na estufa para secar. Os blocos em parafina foram resfriados e cortados para serem recortados em micrótomo com espessura de 3mm. As lâminas com os cortes foram colocadas em estufa à 70°C por 30 minutos para melhor adesão do tecido.

2.4 – Protocolo de imunistoquímica

As lâminas foram desparafinadas em estufa, e colocadas em seqüência de xilol e álcool. Para detecção da proteína MMP-2 as lâminas foram incubadas em tampão EDTA e para detecção da FN foram incubadas em tampão citrato. Para detecção da laminina a recuperação antigênica foi em proteinase K. Em seguida, foi resfriada à temperatura ambiente, incubadas em solução de peróxido de hidrogênio. Dispensou-se sobre as lâminas da laminina, MMP-2 e FN o anticorpo primário e incubado em câmara úmida a 8°C overnight. Posteriormente, incubadas em anticorpo secundário e finalmente em peroxidase. As lâminas forma tratadas com DAB e coradas em hematoxilina e montadas em lamínula e enthelan.

3. RESULTADOS E DISCUSSAO

Foram selecionados 13 casos de tumor queratocístico odontogênico do acervo do Laboratório de Patologia da UFG. O tumor queratocístico odontogênico foi classificado em paraqueratinizado e ortoqueratinizado (tabela 1; fig. 1), sendo que 9 foram para, 2 orto e 2 para e ortoqueratinizado. Com relação ao gênero, ouve uma prevalência para o sexo masculino com 77%. A faixa etária dos pacientes variou de 11 a 68 anos com media de 39 anos de idade. A maioria das lesões localizavam-se na mandíbula e 2 na maxila. Imunistoquimicamente, apenas quatro casos dos treze estudados apresentaram expressão da MMP-2 e da FN (tabela 2; fig. 2 e 3). Ambas as proteínas apresentaram *overexpression* nas áreas de disrruptura epitélio-conjuntivo. A expressão da laminina (fig.4) só esteve evidente em um único caso, nos demais houve uma disrruptura do epitélio-conjuntivo não podendo ser assim expressa já que essa proteína é responsável pela união do epitélio com o conjuntivo.

Tabela 1: Dados clínicos dos 13 casos do Tumor Queratocístico Odontogênico

Casos	Gênero	Idade	Local	Diagnostico
1.	F	11	Mandibula	Paraqueratinizado
2.	M	16	Mandibula	Ortoqueratinizado
3.	M	40	Mandibula	Paraqueratinizado
4.	M	23	Maxila	Para e Ortoqueratinizado
5.	M	58	Mandibula	Para e Ortoqueratinizado
6.	F	68	Mandibula	Paraqueratinizado
7.	M	27	Mandibula	Paraqueratinizado
8.	M	43	Mandibula	Paraqueratinizado
9.	M	33	NE*	Ortoqueratinizado
10.	M	65	Mandibula	Paraqueratinizado
11.	M	28	Maxila	Paraqueratinizado
12.	M	66	Mandibula	Paraqueratinizado
13.	F	35	Mandibula	Paraqueratinizado

bilateral

*NE: não especificado

Tabela 2: Expressão da laminina, fibronectina e metaloproteinase-2 em cada caso

CASOS/PROTEINAS	MMP-2	FN	LN	TIPO MICROSCÓPICO
1	-	-	-	Paraqueratinizado
2	-	-	-	Ortoqueratinizado
3	-	+	-	Paraqueratinizado
4	-	-	-	Paraqueratinizado e Ortoqueratinizado
5	-	-	-	Paraqueratinizado e Ortoqueratinizado
6	-	+	-	Paraqueratinizado
7	+	+	+	Paraqueratinizado
8	-	-	-	Paraqueratinizado
9	-	-	-	Ortoqueratinizado
10	+	+	-	Paraqueratinizado
11	-	-	-	Paraqueratinizado
12	-	-	-	Paraqueratinizado
13	-	-	-	Paraqueratinizado

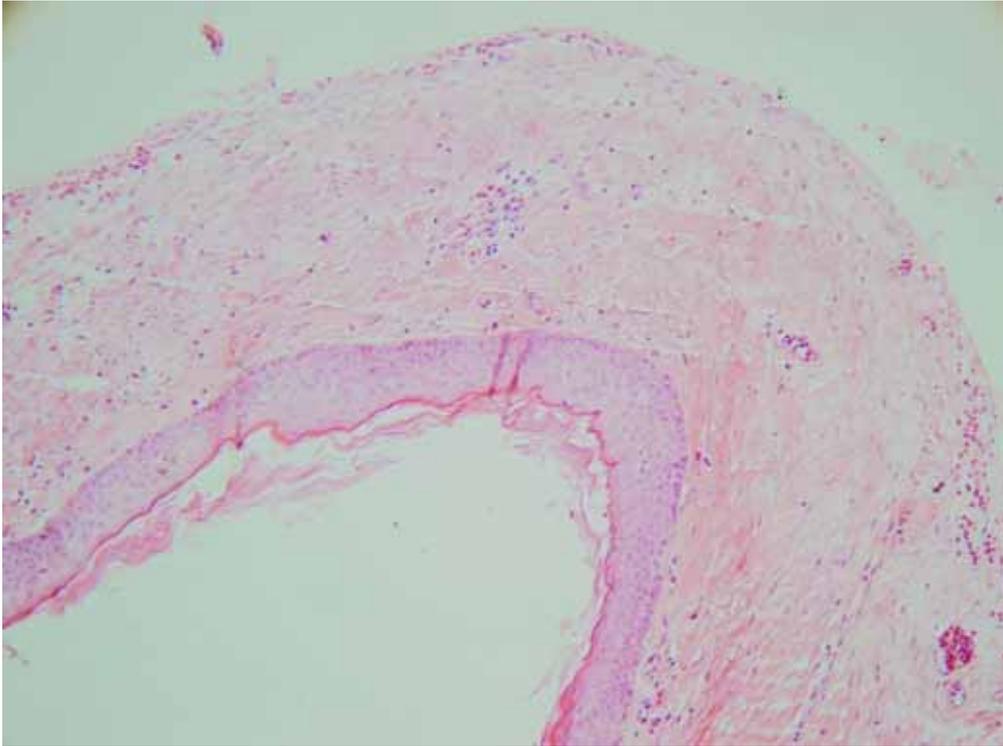


Figura 1: Tumor Queratocístico Odontogênico produtor de ortoqueratina.

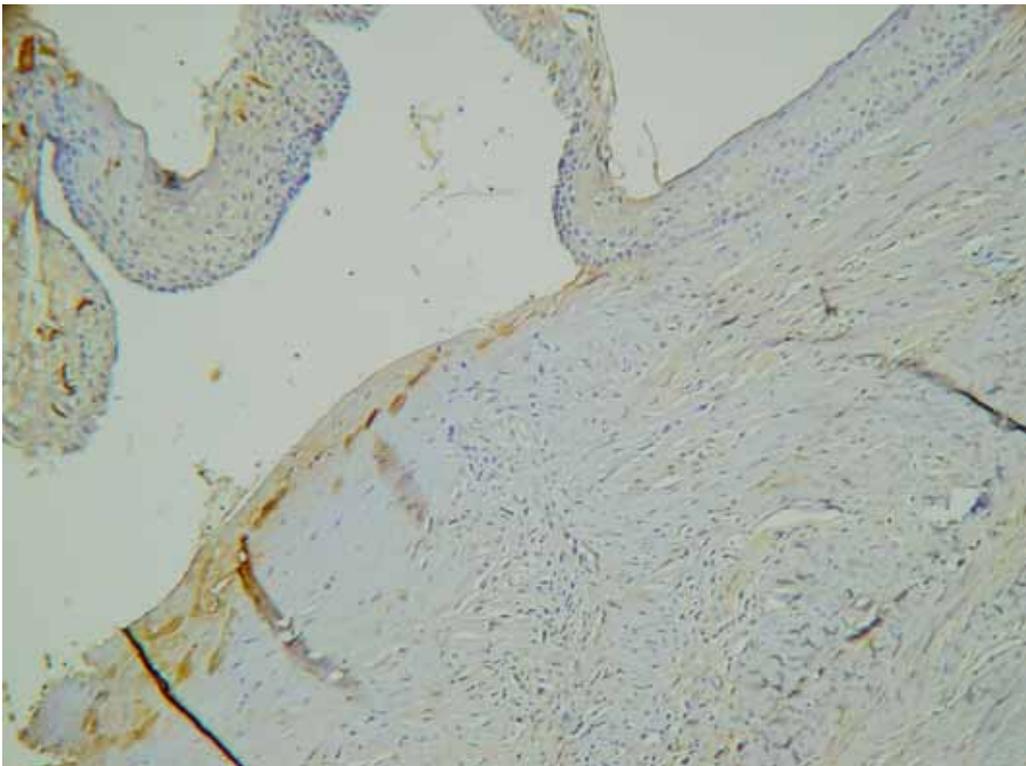


Figura 2: Maior aumento mostrando maior expressão da MMP-2.

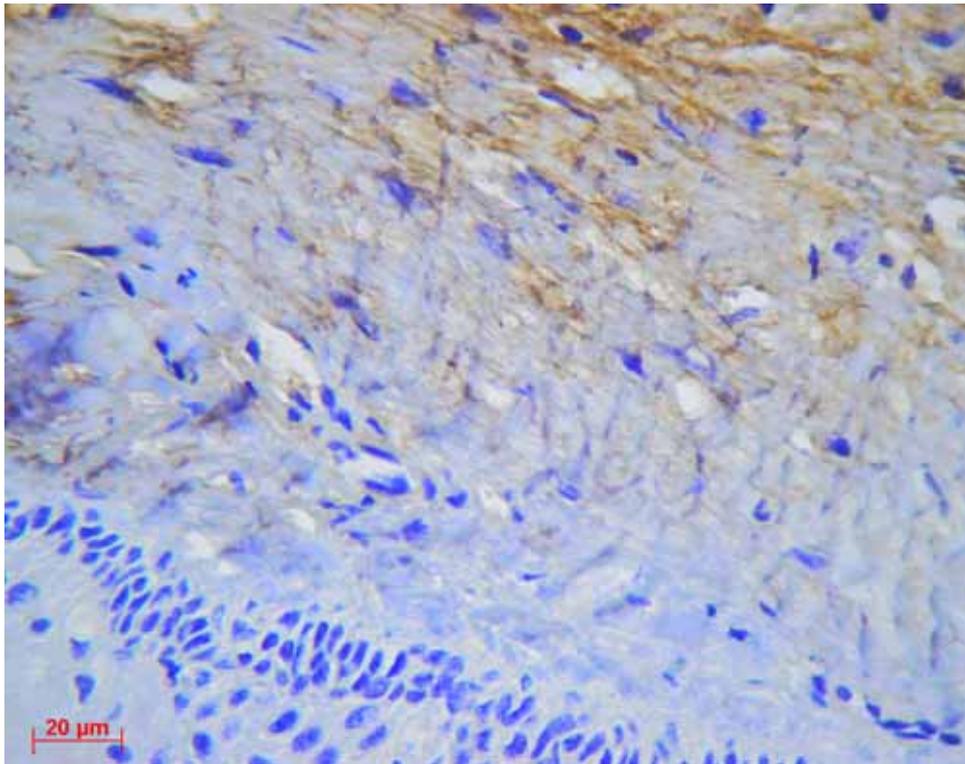


Figura 3: Expressão da fibronectina no Tumor Queratocístico Odontogênico

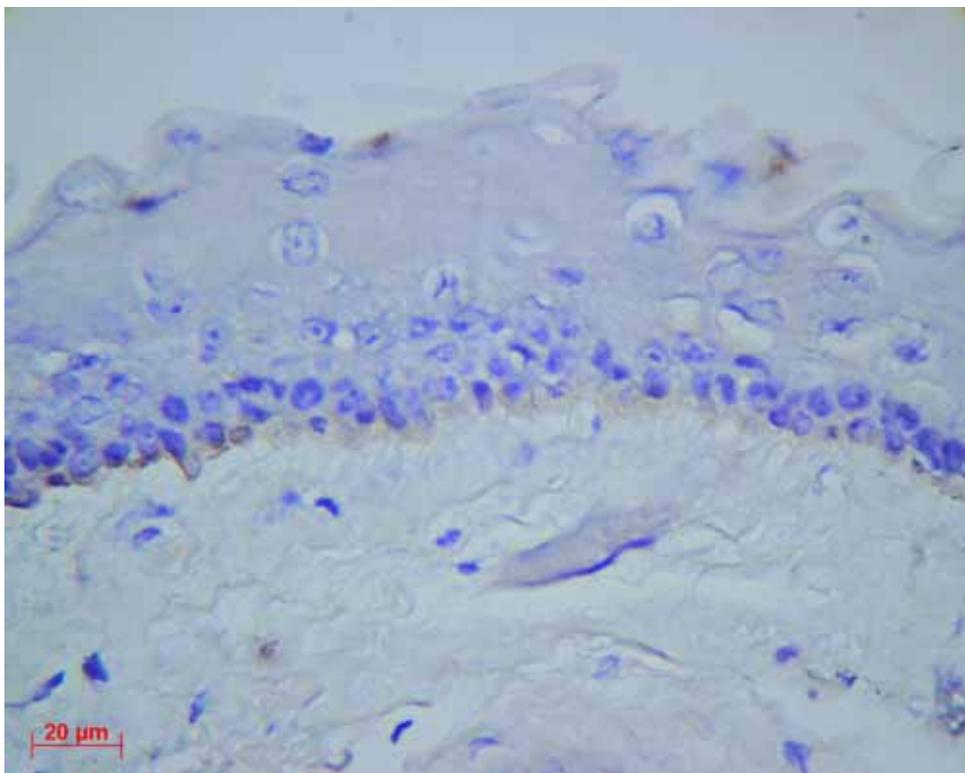


Figura 4: Expressão da laminina no Tumor Queratocístico Odontogênico em região de não ruptura do epitélio-mesênquima

4. CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que *overexpression* da fibronectina e MMP-2 em regiões de ruptura epitélio-conjuntivo do tumor queratocístico odontogênico. A expressão não uniforme da laminina foi identificada em locais de junção epitélio conjuntivo em apenas um caso, sugerindo provável degradação desta proteína nas demais lesões. Isso justificaria o comportamento tumoral invasivo deste tumor pela ausência desta barreira natural (membrana basal). Com isso, concluímos que a MMP-2, a fibronectina e a laminina parecem estar relacionadas ao comportamento invasivo local do tumor odontogênico queratocístico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barnes L., Eveson J.W., Reichart P., Sidransky D. Pathology & Genetics: Head and Neck Tumors. **World Health Organization Classification of Tumors**. IARC, p.306-7, 2005.

Neville B.W., Damm D.D., Allen C.M., Bouquot J.E. Cistos e tumores odontogênicos. Editora Guanabara Koogan. **Patologia Oral e Maxilofacial.**, p. 570-4,2004.

Vencio E.F. et al. Odontogenic keratocyst in maxillary sinus with invasive behavior. **J. Oral Fatti. Med.**, v.35, p.249-51, 2006.

FONTE DE FINANCIAMENTO – CNPq/PIVIC

¹Voluntário de iniciação científica. Faculdade de Odontologia – Laboratório de Patologia Bucal, tavaresdenise@zipmail.com.br

²Orientador/Faculdade de odontologia/UFG, vencio@hotmail.com