

ESTUDO DO PADRÃO DE PROLIFERAÇÃO CELULAR ENTRE OS CARCINOMAS ESPINOCELULAR E VERRUCOSO DE BOCA: UTILIZANDO COMO PARÂMETROS A IMUNOEXPRESSÃO DO PCNA, KI-67 E CICLINA B1

SPÍNDULA FILHO, José Vieira de ; **BATISTA**, Aline Catvalho; **CRUZ**, Aparecido Divino; **MENDONÇA**, Elismauro Francisco de.

Faculdade de Odontologia

spindulafilho@uo.com.br

Palavras-chave: PCNA, KI-67, Ciclina B-1, Carcinoma espinocelular e verrucoso de boca, HPV, PCR e Imunohistoquímica.

1 Introdução

O câncer de boca representa em torno de 5% do total das neoplasias malignas que afetam os seres humanos, destes 90% são carcinomas espinocelulares (CEC) e carcinoma verrucoso (CV), considerado uma variante de baixo grau do CEC, representa em torno de 6,2% de todos CECs da cavidade bucal (INCA-2006; CHAGÍN, 2000). A estimativa de câncer de boca para Goiás em 2006 prevê 7,24 casos para cada 100.000 homens e 2,86 casos para 100.000 mulheres, demonstrando uma incidência maior no sexo masculino (INCA, 2006).

O carcinoma espinocelular é a neoplasia maligna mais comum na cavidade bucal e o carcinoma verrucoso é considerado uma variante de baixo grau do CEC. Apesar de todo conhecimento acumulado ao longo dos anos sobre essas duas neoplasias, dúvidas permanecem quanto ao diagnóstico, tratamento e prognóstico no CEC e CV. Para tentar diminuir as dificuldades no diagnóstico do CV e diferenciá-lo do CEC vários estudos de comparação entre as duas entidades patológicas têm sido realizados.

2 Revisão de literatura

Vários autores têm procurado fazer um estudo retrospectivo quanto à detecção de HPV em amostras de CEC e CV em blocos de parafina que ficam armazenados nos laboratórios de

patologia dos hospitais e centros que diagnosticam e tratam câncer de boca no mundo (MILLER; JOHNSTONE; LEXINGTON, 2001).

Trabalhos de revisão de literatura confirmam essa discrepância nos resultados como nesta pesquisa de HPV+ em 1051 amostras de CECs o índice de detecção de HPV positivo variou de 0 a 100% com desvio padrão de $\pm 31,5\%$. Para o CV com um (n=63) houve uma prevalência de 27% com a razão variando de 0% a 100 e desvio padrão de $\pm 44,6\%$. Esses resultados confirmam a variabilidade na prevalência de HPV positivo no CEC e CV (MILLER; WHITE; LEXINGTON, 1996).

O HPV-16 pode ser responsabilizado por 80% dos HPV positivos em CEC e o melhor método de detecção do vírus é pela PCR (MASSANO et al., 2006).

O tabagismo é um fator de risco preocupante porque o fumo é um dos agentes cancerígenos conhecidos que o ser humano introduz voluntariamente no organismo (INCA, 1996).

Um estudo de caso controle realizado nas cidades de São Paulo, Curitiba e Goiânia apontou que há uma forte associação entre o consumo de tabaco e o câncer de boca e particularmente entre os fumantes de cachimbo e o CEC de língua (FRANCO et al., 1989).

O álcool é considerado um forte fator de risco para o desenvolvimento de cânceres no trato aerodigestório superior sobretudo na cavidade bucal, faringe, esôfago e laringe (BROWN, 2005).

Os tumores de soalho de boca e de língua são os de maior incidência quando correlacionados ao álcool como fator de risco. Os mecanismos pelos quais as bebidas alcoólicas exercem seus efeitos cancerígenos não são completamente entendidos, e provavelmente diferem nos diferentes órgãos afetados. Assim como outros carcinogêneos que atuam em diferentes locais (BOFFETA; HASHIBE, 2006).

As opções de tratamento para o CEC são variadas e vai depender do tamanho, da localização do tumor primário, da presença de linfonodos infartados, da presença ou ausência

de metástases à distância, da tolerância do paciente ao tratamento proposto e acima de tudo da predisposição ou desejo de “cura” desse paciente (NEVILLE, TERRY, 2002). Já para o CV desde a primeira descrição de Ackerman (1948), até aos dias atuais, muitas controvérsias persistem na literatura com relação ao tipo de tratamento a ser dado para esta neoplasia. A maioria dos pacientes é tratada cirurgicamente (RAJENDRAN et al., 1988; POMATTO et al., 1993; SPIRO, 1998; CHAGÍN ; 2000, KOCH, et al., 2001).

A proliferação celular pode ser definida como o aumento do número de células resultante da complementação do ciclo celular (LEVINE et al., 1994). Trata-se de um processo biológico de importância para o organismo, entretanto sabe-se que o controle desse processo mostra-se perdido nas lesões tumorais (TUMULURI et al., 2002). De acordo com Bacchi e Gown (1993), a proliferação celular surge como um fator precursor na origem de tumores malignos. O antígeno nuclear de células proliferativas (PCNA) tem sido relatado em inúmeros trabalhos, por ser este marcador, um indicador útil do comportamento biológico de alguns tumores (ARISAWA et al., 1999). Outro marcador celular bem estudado é o anticorpo Ki-67 que reconhece um antígeno que está associado ao núcleo celular e que, em células continuamente ciclizantes, é expresso em todas as fases do ciclo celular, exceto em G0 (ARISAWA et al., 1999). A ciclina B1 é uma proteína que regula a passagem da fase G2 para a fase M e possui 62Kd. Ela é encontrada em associação com CDKs e por isso regulam a atividade das mesmas. A ciclina B1 forma um complexo com a proteína cdc2, conhecida também como CDK1, formando o fator promotor de maturação (MPF). O complexo MPF é essencial para a transição de G2/M e atua também no controle dos *checkpoints* (WASNER et al., 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o padrão de proliferação celular no carcinoma verrucoso de boca comparado ao carcinoma espinocelular de boca a partir dos marcadores PCNA, Ki-67 e Ciclina B-1.

3.2 Objetivos Específicos

- Identificar a presença de HPV nas amostras de CEC e CV por meio de PCR.
- Descrever os dados demográficos (gênero, idade, raça) fatores de riscos (tabagismo, etilismo e HPV), aspectos clínicos (localização, morfologia, presença de metástase, recidiva e sobrevida) e estágio clínico TNM das amostras pertinentes ao estudo.
- Comparar a imunoexpressividade de PCNA, Ki-67 e Ciclina B1 entre o Grupo do CEC e CV, Grupo CEC com controle e Grupo CV com controle.
- Analisar qualitativamente a marcação nas camadas basal e parabasal nos grupos do CV e controle.

4 MATERIAL E MÉTODO.

Foram selecionados 39 casos de CEC e oito casos de CV provenientes do arquivo de Patologia do Hospital Araújo Jorge, que foram enviados pelo Centro Goiano de doenças da boca (CGDB). Posteriormente, avaliou-se o padrão de proliferação celular no CV de boca, CEC de boca e no controle a partir dos marcadores PCNA, Ki-67 e Ciclina B-1, através da técnica de imunohistoquímica. A identificação do HPV nas amostras de CEC e CV foi realizada a partir da reação em cadeia da polimerase (PCR).

5 RESULTADOS

Os resultados das 47 amostras estudadas não revelaram a presença de HPV+. Já na imunoexpressão dos marcadores houve marcação em 35 CECs, oito CVs e nove controles para o PCNA; 39 CECs, sete CVs e nove controles para o Ki-67 e 35 CECs, oito CVs, nove controles para a Ciclina B-1. A análise estatística mostrou diferença na imunomarcação dos marcadores PCNA e Ciclina B-1 entre os grupos do CEC e CV ($P < 0,05$); o mesmo não ocorreu para o Ki-67 ($p = 0,5$). Observou-se que a marcação tanto no CV como no controle concentrava mais nas camadas basal e parabasal e contagem das células positivas na base do

epitélio mostrou diferença na marcação nos três marcadores ($p < 0,05$). O teste correlação de Pearson demonstrou correlação negativa entre o PCNA e Ciclina B-1 ($p < 0,05$) considerando todos os grupos e correlação positiva entre Ki-67 e a Ciclina B-1 ($p < 0,05$). Não houve correlação entre o PCNA e Ki-67. Existiu correlação positiva também da Ciclina B-1 e a gradação histológica, considerando os dois grupos de carcinomas, notou-se que quanto maior a gradação histológica maior a imunomarcação da Ciclina B-1.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que a presença de HPV em CEC e CV de boca é relatado na literatura, mas não o encontramos nessas amostras;

A imunomarcação do PCNA serve, tão somente, como um referencial e não é considerado um bom marcador, porque marca em todas as fases do ciclo celular;

O Ki-67 é um marcador muito utilizado na literatura e mostrou efetivo neste trabalho, mas não mostraram diferença significativa entre os dois tipos de tumores, CEC e CV.

Já a Ciclina B-1 é um marcador pouco usado nas neoplasias de cabeça e pescoço, mas mostrou eficaz na marcação e revelou uma peça de grande auxílio na diferenciação entre os dois tumores e na gradação histológica.

Por fim observou-se que a localização da marcação no CV é semelhante a que ocorre em lesões benignas, mostrando mais uma vez o comportamento benigno do CV.