

Introdução

As alterações epiteliais observadas nas leucoplasias e nos carcinomas espinocelulares (CEC) de boca vem sendo estudadas por meio de diferentes marcadores, a fim de observar os fatores indicadores de transformação maligna e do comportamento dessas lesões. O objetivo do presente estudo foi analisar a imunomarcagem do TGF- β 1 e Ki-67 em leucoplasias e em CEC de boca, assim como correlacioná-los com fatores de risco, com a graduação histológica e com o acompanhamento dos pacientes.

Metodologia

Coleta dos dados demográficos
Fatores de risco
Características clínicas
Tratamento e acompanhamento dos prontuários médicos

Confecção de blocos de TMA nos casos de CEC



Graduação histopatológica das lâminas coradas por H/E
Leucoplasia- OMS, 2005
CEC- Bryne, 1989

Anticorpo	Origem	Clone	Recuperação	Diluição	Tempo
Ki67	Dako	MIB-1	Banho maria	1:50	O/N
TGF β 1	Santa Cruz	sc-146	Banho maria	1:100	O/N

Tabela 1. Anticorpos utilizados no presente estudo

Ki67 - Análise quantitativa para cálculo do índice de marcação de proliferação
(% de células com marcação nuclear positiva sobre 1000 células)

TGF β 1 - Análise semi-quantitativa por meio de escores baseados no % de células com marcação citoplasmática

Análise Estatística

Todos os dados clínicos, demográficos e imunohistoquímicos foram analisados com SPSS, Windows, versão 18.0. Os diferentes grupos foram analisados usando o teste Qui-quadrado de Pearson, teste t de Students ou ANOVA. Correlação de Spearman foi realizada para determinar a correlação entre TGF β 1 e Ki67 em leucoplasias e/ou CEC. Regressão de Cox foi realizada para avaliar prognóstico nos CEC. Variáveis independentes apresentando valores <0.25 no modelo univariado

Resultados

A expressão do TGF- β 1 e a proliferação celular, aumentam durante a carcinogênese bucal. Porém, não estão associados nem com as características demográficas e nem com a graduação histológica das lesões

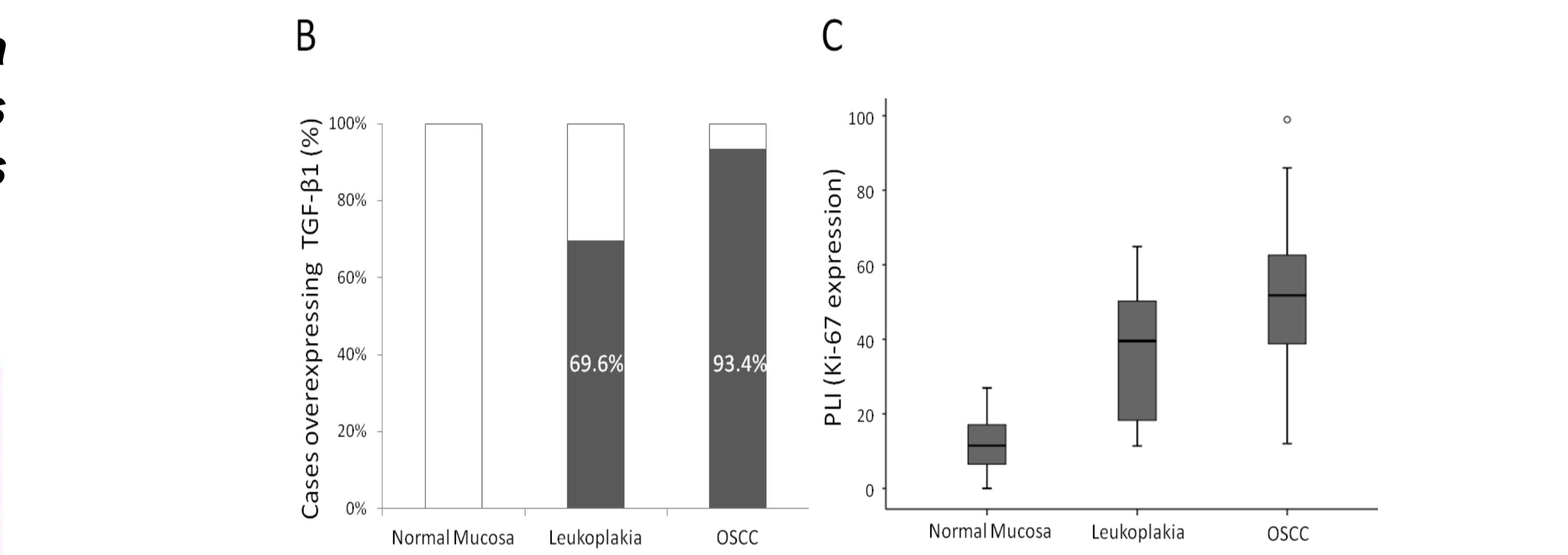
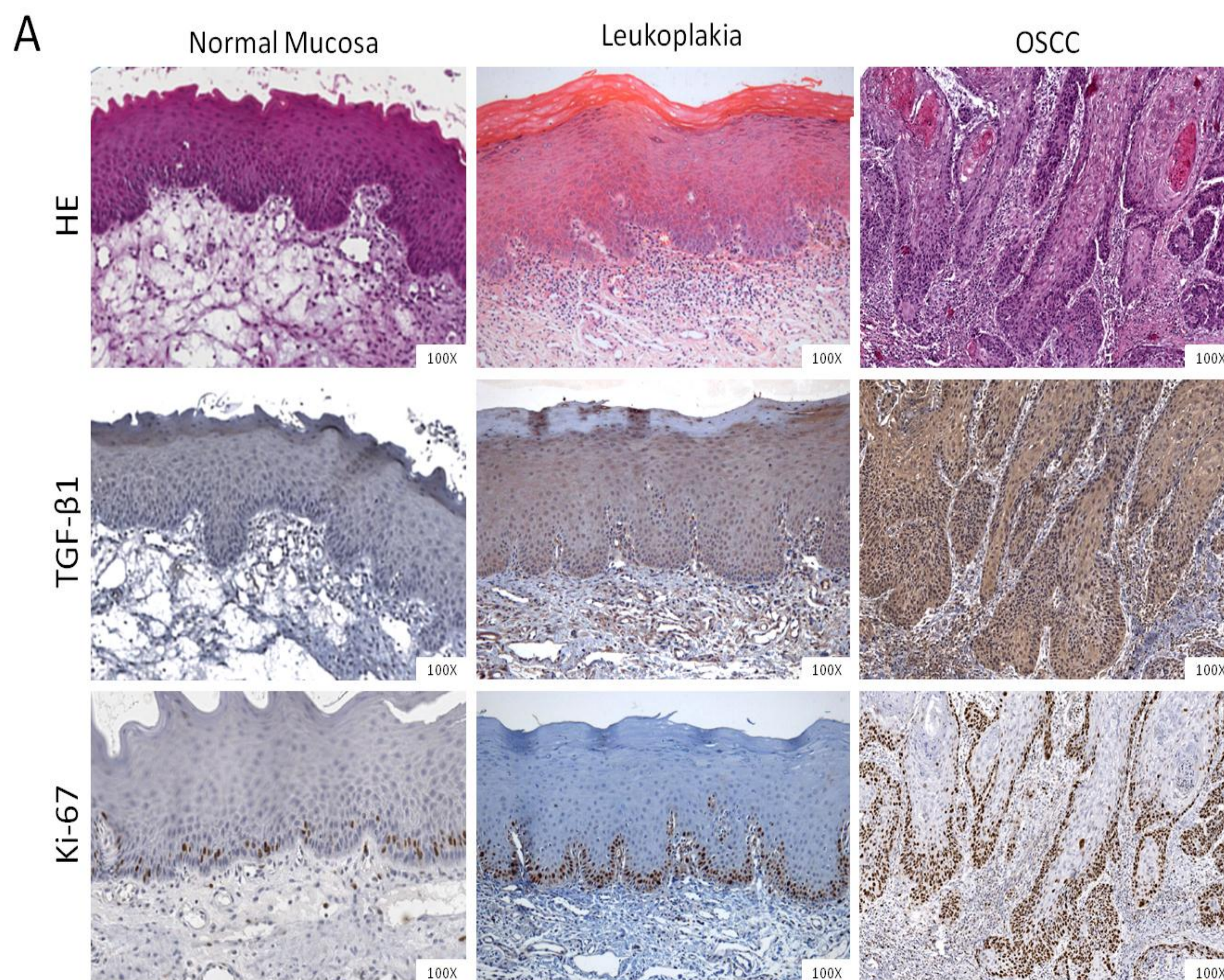


Tabela 2. Marcação imunohistoquímica do TGF- β 1 e Ki-67 (média e desvio padrão) em leucoplasias e CEC de boa.

	Leucoplasia	CEC	p valor
TGF- β 1			
<50%	7 (30.4%)	5 (6.6%)	<0.00 [†]
>50%	16 (69.6%)	7 (93.4%)	
Média (DP)	36.20 (\pm 18.09)	50.66 (\pm 17.18)	<0.00 [†]

[†] Teste t Student
[‡] Qui-quadrado de Pearson

Tabela 3. Imunomarcagem de TGF- β 1 e Ki-67 (número absoluto e percentual) de acordo com a graduação histopatológica.

	Leucoplasia		p valor	CEC		p valor
	Sem displasia	Displasia		Baixo/Moderado	Alto	
TGF- β 1						
<50%	4 (40%)	5 (25%)	0.65	1 (2.7%)	4 (10.3%)	0.65 [†]
>50%	6 (60%)	7 (75%)		36 (97.3%)	53 (98.7%)	
Média (DP)	36.10 (\pm 20.18)	36.44 (\pm 17.93)	0.96	49.19 (\pm 13.97)	52.58 (\pm 18.04)	0.35 [‡]

[†] Teste t Student
[‡] Qui-quadrado de Pearson

Associação entre TGF- β 1 com as características clinico-demográficas não foram observadas nem em leucoplasias e nem em CEC.

O aumento da expressão de TGF- β 1 está correlacionado com o aumento da proliferação celular

A correlação dos coeficientes de Spearman foram calculados para determinar se TGF- β 1 poderia implicar em mudanças nas células proliferativas durante a carcinogênese bucal. Agrupando todos os casos, encontra-se uma correlação direta entre TGF- β 1 e Ki-67. Um aumento da expressão do TGF- β 1 foi correlacionado com um aumento da expressão do Ki67 ($r = 0.36$, $p < 0.00$).

A expressão de TGF- β 1 não é um fator preditivo de pior prognóstico nem em leucoplasia, nem em CEC

O padrão de expressão do TGF- β 1 foi homogêneo em duas lesões analisadas. Como resultado, essa proteína não foi associada com a transformação maligna nas leucoplasias e nem com a pior sobrevida dos pacientes com CEC.

Regressão de Cox foi realizada para verificar se as características clínicas e histopatológicas poderiam influenciar na pior sobrevida dos pacientes.

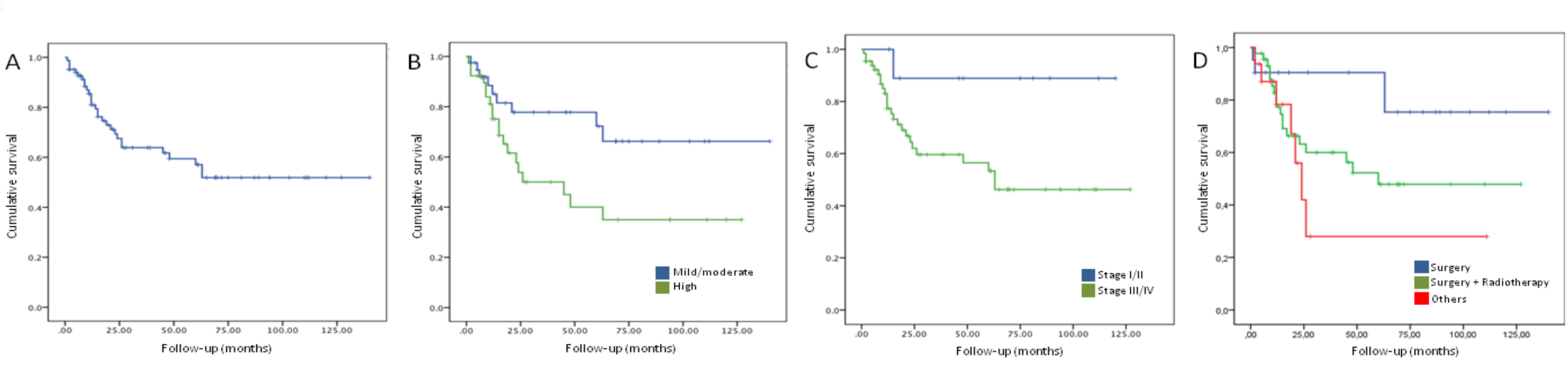


Figura 1. Análise da expressão do TGF- β 1 e do Ki-67 durante a carcinogênese bucal. **(A)** Exemplos representativos da expressão de TGF- β 1 e de Ki-67 em mucosa normal, em leucoplasia e em CEC. Ambas proteínas exibem aumento gradual desde a mucosa normal até o CEC de boca. **(B)** Análise de mucosa normal, de leucoplasia e de casos apresentando maior marcação de TGF- β 1 (>50% positivo para células epiteliais). **(C)** Box plot da expressão do Ki-67 em mucosa normal, em leucoplasia e em CEC.

Conclusão

Conclui-se que o TGF- β 1 demonstra ter um papel pro-tumorigênico, desde os estágios precoces da carcinogênese, o que pode contribuir para a transformação maligna do epitélio bucal.