



CARCINOMA ADENOIDE CÍSTICO COM TRANSFORMAÇÃO PARA ADENOCARCINOMA E CARCINOMA POUCO DIFERENCIADO. ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE PROTEÍNAS RELACIONADAS À HIPÓXIA (HIF-1A, VEGF) E NEOANGIOGÊNESE

Orientadora: Profa. Dra. Albina Altemani - aaltemani@uol.com.br

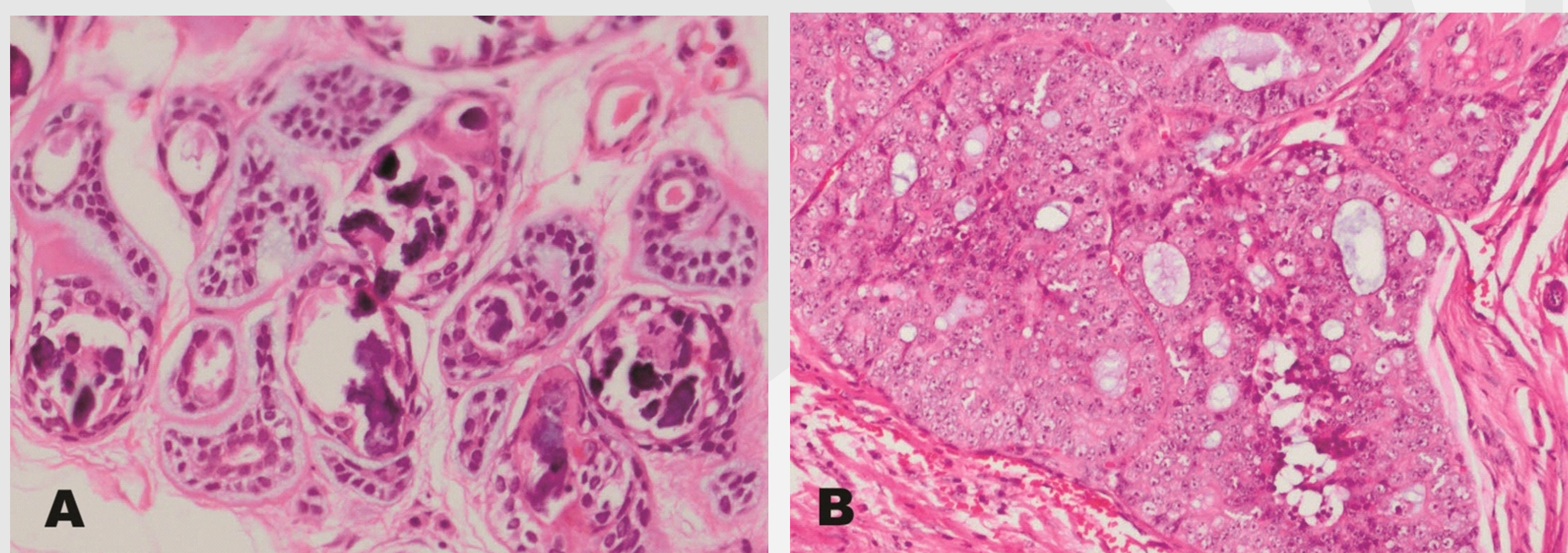
Aluno: Marcelo Follis Tasso graduando 3º ano Medicina Unicamp - marcelofollis@gmail.com

Departamento de Anatomia Patológica,
Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-887, Campinas, SP, Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Carcinoma Adenoide Cístico - CAC - Transformação para alto-grau - Hipóxia

INTRODUÇÃO

O **Carcinoma Adenoide Cístico (CAC)** está entre os mais frequentes tumores malignos de glândulas salivares. É caracterizado por curso clínico prolongado, com frequentes recidivas locais, metástases tardias e, posteriormente, óbito. **A transformação para alto-grau** é um fenômeno incomum em carcinomas salivares e tem sido associada ao aumento de agressividade. Em CACs com transformação para alto-grau (**CAC-TAG**), o curso clínico tende a ser acelerado e com uma grande propensão para metástases linfonodais.



CAC → HIPÓXIA? → CAC-TAG

Por que a Hipóxia?

- Altera a expressão de genes específicos (tumores agressivos)
- Fenótipo dediferenciado em certos tipos de cânceres tais como o carcinoma ductal de mama in situ e em células de neuroblastoma

Como estudar a Hipóxia?

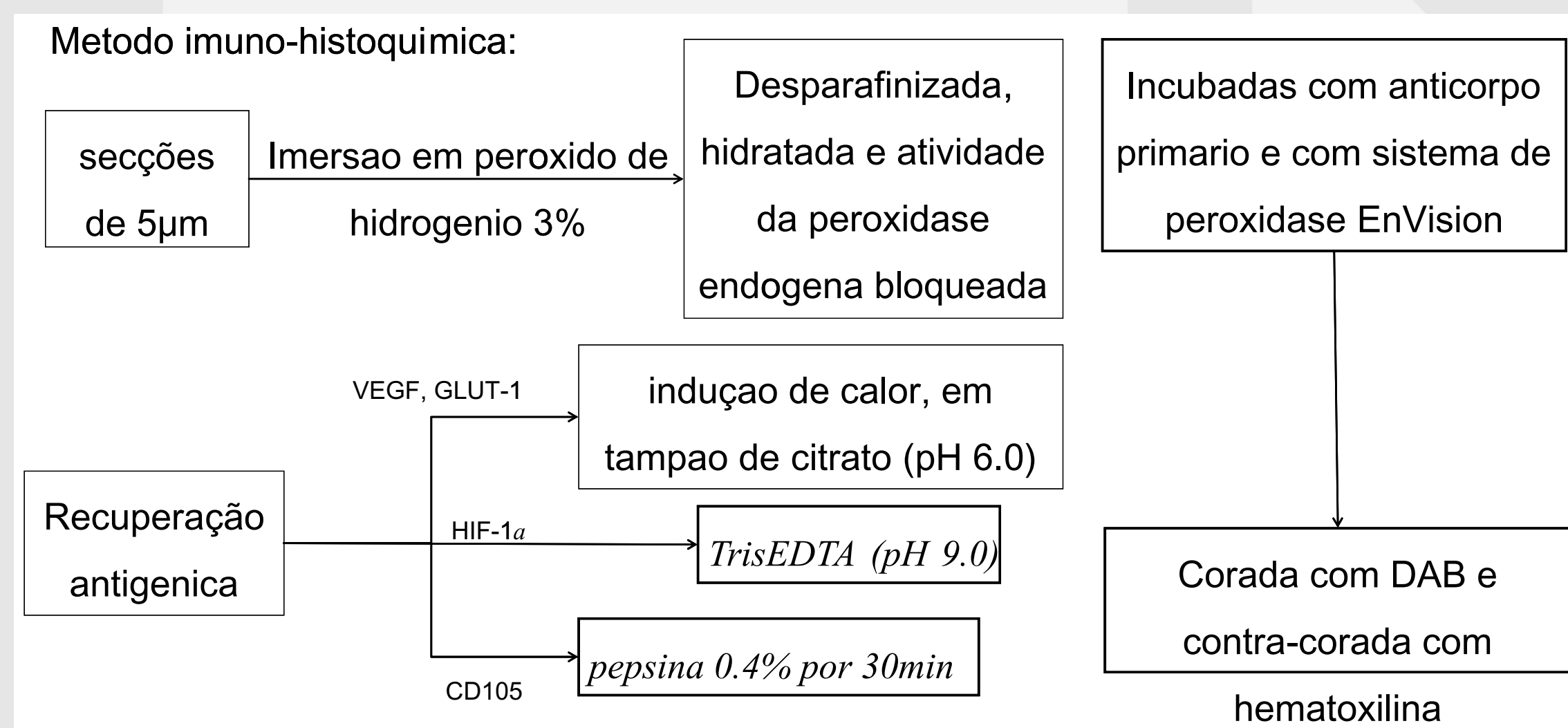
- HIF-1α** Não degradado durante a hipóxia. Transcreve genes respondíveis à hipóxia como VEGF e GLUT-1
- GLUT-1** Transportador de glicose encontrado em todas as células. Em hipóxia, mantém a nutrição celular por via glicolítica
- VEGF** Molécula mais importante que controla a angiogênese (crescimento de vasos sanguíneos) fisiológica e patológica
- CD105** Super-regulado na hipóxia, parece exercer um efeito antiapoptótico das células endoteliais

Objetivo: verificar se a hipóxia está envolvida na patogênese do CAC-TAG

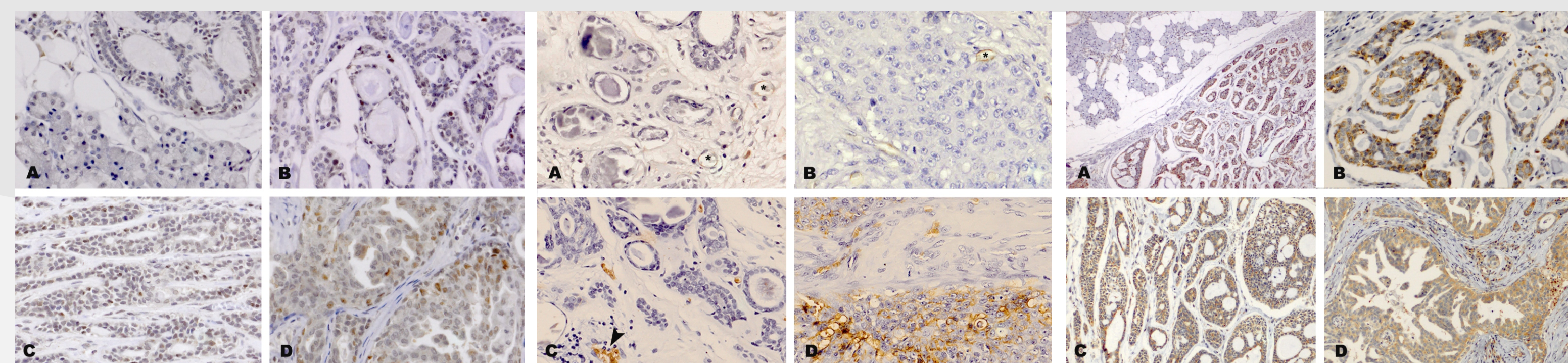
MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado com 26 amostras de CAC (8 de CAC-TAG e 18 de tumores clássicos).

As áreas com transformação para alto-grau foram identificadas segundo as recomendações de Seethala et al (2007) e, em todos os casos, pelo menos três dos critérios maiores estavam presentes: proliferação de células tumorais com pelo menos perda focal de células mioepiteliais ao redor do ninho tumoral; tamanho nuclear pelo menos 2-3 vezes maior que o tamanho do núcleo do CAC clássico; membrana nuclear irregular e espessada; nucléolo proeminente na maioria das células.



MARCADOR	3 HOTSPOTS (40x)	CONSIDERADO	PADRÃO
CD105	Área com maior densidade microvascular (DMV)	Número médio de vasos	-
HIF-1α	Área de maior concentração de células positivas	Porcentagem de células positivas	Puramente difuso, perinecrotico ou misto
VEGF	-	Número relativo de células neoplásicas	I - 10-25% II - entre 25-50% III - >50%
GLUT-1	-	Padrão de coloração	Antiestromal ou proestromal



Expressão de HIF-1α (núcleo castanho escuro). A, B: CAC clássico - note a ausência de expressão na glândula salivar normal adjacente ao tumor (A) o qual contém células positivas. C, D: Áreas convencionais e transformadas (respectivamente) em CAC-TAG. CAC clássico e CAC-TAG mostram um padrão de expressão difuso de HIF-1α. (X400).

Vasos positivos para CD105 (*) em áreas convencionais (A) e transformadas (B) de CAC-TAG. C - ausência da expressão de GLUT1 em área convencional de CAC-TAG (apenas eritrócitos são positivos para GLUT1 - cabeça da flecha). D - expressão de GLUT1 proestromal no componente transformado (X400).

(em A, note a ausência de expressão na glândula salivar normal ao redor do tumor). C,D. CAC-TAG - áreas convencionais (C) e transformadas (D). CAC clássico e CAC-TAG mostram níveis similares de expressão de VEGF (A, C - X200; B, D X400).

RESULTADOS

- As diferenças entre os grupos de HIF-1α, VEGF e CD105 não foram significantes;
- Não existe associação entre níveis de HIF-1α, metástases e recidivas;
- Nenhuma positividade para GLUT1 foi encontrada;
- Frequência de expressão de GLUT1 estava aumentada nas áreas transformadas;
- Comparando a expressão de VEGF e de CD105-DMV entre as áreas convencionais e transformadas no CAC-TAG e, posteriormente, com o CAC clássico não foi detectada nenhuma diferença significativa.

MARCADOR	VALORES
CD105	CAC > 0,7-19,7 CAC-TAG > AC: 1,7-11; AT: 0-5,7
HIF-1α	CAC > 54,3% CAC-TAG > AC: 47,4%; AT: 41,3% 100% puramente difuso
VEGF	CAC > III - 88% CAC-TAG > AC: III - 75% AT: III - 37,5%
GLUT-1	100% proestromal

Expressão de HIF-1α e CD105-DMV em células carcinomatosas

Teste	Anticorpo	CAC-TAG (média ± DP)			P
		CAC clássico (média ± DP)	AC	AT	
Mann-Whitney	CD105	5.2 ± 4.7	4.4 ± 3.5		0.724
	HIF-1α	54.3 ± 17.8	47.4 ± 4.1		0.371
Wilcoxon	CD105		4.4 ± 3.5	2.0 ± 1.7	0.128
	HIF-1α		47.4 ± 4.1	41.3 ± 19.0	0.463

AC-áreas convencionais; AT-áreas transformadas; CAC-carcinoma adenoide cístico; DMV-densidade microvascular; DP-desvio padrão

Expressão de VEGF em células carcinomatosas

Quantidade de células positivas	N	CAC-TAG AC		P Chi quadrado	
		CAC clássico	N		
<50%	2	2.00 ± 0.00	2	2.00 ± 0.00	0.563
>50%	16	3.00 ± 0.00	6	3.00 ± 0.00	
Quantidade de células positivas	N	CAC-TAG AT		P McNemar	
		CAC-TAG AC	N		
<50%	2	2.00 ± 0.00	5	1.80 ± 0.45	1.000
>50%	6	3.00 ± 0.00	3	3.00 ± 0.00	

AC-área convencional; AT- área transformada; CAC-carcinoma adenoide cístico

DISCUSSÃO

HIF-1α

- Não existem alterações significativas do nível de indução de HIF-1α durante o processo de transformação para alto-grau em CACs;
- A expressão da proteína HIF-1α não pode ser utilizada como marcador de agressividade tumoral;
- A expressão difusa de HIF-1α pode ser induzida por mecanismos oxigeno-independentes e, assim, a hipóxia provavelmente não seria o principal fator na estabilização de HIF-1α nos CACs.

GLUT1

- O característico alto índice de proliferação do componente transformado do CAC-TAG pode ser uma explicação para a alta expressão de GLUT1 assim como para seu padrão proestromal (não-hipóxico).

CD105 e VEGF

- A tensão de oxigênio tecidual no componente transformado provavelmente não difere significativamente se comparada às áreas convencionais.

CONCLUSÃO

Em CAC-TAG, a ausência de alterações significativas nos níveis de expressão do HIF-1α, VEGF e CD105, assim como o padrão de expressão do HIF-1α e GLUT-1, sugerem que a hipóxia pode não desempenhar um papel chave no processo de transformação para alto-grau. Apesar da expressão de HIF-1α ser um achado comum nos CACs, ela não pode ser utilizada como um marcador da agressividade tumoral.

AGRADECIMENTOS

Ao Pibic, pelo incentivo dado à pesquisa
À orientadora Profa. Dra. Albina Altemani, por tornar possível o projeto no âmbito acadêmico
E especialmente à doutoranda Ana Flávia de Mattos Costa cujo auxílio - dentro e fora do ambiente laboratorial - foi primordial para a efetivação do projeto e para meu crescimento individual como aluno

AGÊNCIA FINANCIADORA: CNPQ-Pibic

