

EXPRESSÃO DO GENE P53 NO CARCINOMA BUCAL: REVISTA DA LITERATURA

JANETE DIAS ALMEIDA*, ELISABETE MORAES**, YASMIN RODARTE CARVALHO**, EMILIA ANGELA LOSCHIAVO ARISAWA*

RESUMO

A busca por marcadores biológicos que auxiliem no diagnóstico, prognóstico e tratamento das neoplasias é intensa. O diagnóstico precoce é importantíssimo para a sobrevida do paciente e o p53 tem sido amplamente estudado. O gene p53 está localizado no cromossomo 17p13.1 e sua mutação é a alteração mais comum nas neoplasias humanas. A maioria das mutações ocorre em células somáticas, porém formas herdadas também foram encontradas. Neste artigo é feita uma breve revista sobre a carcinogênese bucal e a expressão de p53.

UNITERMOS

Oncogenes; carcinoma de células escamosas; proteínas proto-oncogênicas.

ALMEIDA, J.D. et al. p53 gene expression in oral squamous cell carcinomas: brief review of the

literature. *Pós-Grad. Rev. Fac. Odontol. São José dos Campos*, v.2, n.2, jul./dez., 1999.

ABSTRACT

Search of biologic markers have been done in order to help diagnosis, prognosis and treatment of neoplasias. The p53 gene is located on chromosome 17p13.1. It is up to now the single most common genetic alteration known in human cancer. The majority of p53 mutations are found in somatic cells, but inherited forms of p53 have also been described. Early diagnosis is very important considering patient's survival. In this article, a brief review is made concerning oral carcinogenesis and p53.

UNITERMS

Oncogenesis; carcinoma, squamous cell; proto oncogene proteins.

* Aluna do Curso de Pós-Graduação em Odontologia – Área de Concentração em Biopatologia (Nível Doutorado) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

**Departamento de Biopatologia e Diagnóstico – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

INTRODUÇÃO

O p53 é um gene localizado no cromossomo 17p13.1 que codifica uma fosfoproteína nuclear de peso 53 kDa (Cotran et al.³, 1994; Yan et al.¹⁹, 1996), que regula a replicação de DNA, a proliferação e morte celulares (Cotran et al.³, 1994). Não se sabe ao certo o mecanismo de ação pelo qual o p53 age como supressor neoplásico (Cotran et al.³, 1994; Aguiar & Araújo¹, 1997). Os autores sugerem que esta proteína age como um policial molecular que previne a propagação de células geneticamente danificadas. Sob condições fisiológicas apresenta uma meia vida muito curta, mensurada em minutos e não há evidência de que seja requerida para divisão celular normal. A proteína p53 parece estar envolvida na regulação do *checkpoint* G1/S do ciclo celular (Cox & Walker⁴, 1996; Yan et al.¹⁹, 1996). Quando as células são expostas a agentes mutagênicos químicos ou radiação, ocorrem alterações no gene que levam a modificações pós translacionais do p53. Mutações de p53 podem levar ao crescimento de proteínas com alterações conformacionais, funcionalmente defeituosas, que têm uma meia vida maior em relação à proteína p53 selvagem (Yan et al.¹⁹, 1996). (Cox & Walker⁴, 1996; Yan et al.¹⁹, 1996). Quando as células são expostas a agentes mutagênicos químicos ou radiação, ocorrem alterações no gene que levam a modificações pós translacionais do p53. Mutações de p53 podem levar ao crescimento de proteínas com alterações conformacionais, funcionalmente defeituosas, que têm uma meia vida maior em relação à proteína p53 selvagem (Yan et al.¹⁹, 1996). A proteína p53 selvagem acumulada na célula promove a parada do ciclo celular na fase G1. Esta é uma pausa reversível muito bem vinda, pois permite que a célula repare o DNA atingido pelo agente mutagênico. Se, por algum motivo, este mecanismo falha, diante do risco de permitir que células mutadas se dividam, a p53 leva a célula à apoptose (Cox & Walker⁴, 1996). A perda de p53 faz com que muitas células expostas a agentes mutagênicos repliquem o DNA danificado, deixando assim as mutações incorporadas ao genoma (Cotran et al.³, 1994). Embora uma mutação apenas não seja suficiente para transformar uma célula, a perda da p53 predispõe as células a mutações adicionais e finalmente

à transformação maligna. Alterações estruturais acumulam-se no núcleo (Lavielle et al.¹⁰, 1998) levando à reatividade imuno-histoquímica da proteína p53 (Wong et al.¹⁸, 1998).

A atividade supressora do p53 pode ser inativada por produtos de certos oncogenes nucleares. A proteína p53 é versátil e pode vir a agir como um oncogene (Cotran et al.³, 1994). A inativação desta proteína pode preceder o desenvolvimento neoplásico na carcinogênese.

A base molecular do comportamento *yin e yang* pode ser relacionada, pelo menos em parte, à sua atividade supressora. Parece que algumas formas mutantes do p53 não apenas perdem sua função normal, mas também ganham a habilidade de inativar a proteína p53 selvagem. Assim, uma célula com um alelo mutante e um alelo selvagem funciona como se não tivesse qualquer função supressora. Mutações deste tipo são denominadas dominante negativo porque o alelo mutante age predominantemente (Cotran et al.³, 1994).

p53

Estudos *in vivo* e *in vitro* de carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço mostraram que a introdução da proteína p53 selvagem nas culturas atenuava a replicação e promovia alterações morfológicas sugestivas de apoptose. *In vivo* verificaram uma redução significativa do volume da neoplasia, em camundongos que receberam a proteína p53 selvagem (Liu et al.¹¹, 1994).

Bahar et al.² (1997) sugerem que a super expressão de p53 e a alteração da adesão celular observada pela perda gradual de moléculas CD44v6 podem representar eventos precoces no desenvolvimento de neoplasias malignas na cavidade bucal.

Warnakulasuriya & Johnson¹⁷ (1994) concluíram que epitélios positivos para proteína p53 têm uma atividade proliferativa maior que os negativos. Os mesmos encontraram uma relação próxima entre PCNA e a proteína p53. Yan et al.¹⁹ (1996) examinaram sessenta casos de carcinomas de língua e mucosa bucal, encontrando 45 casos positivos para p53, sendo que 13 apresentaram super expressão no epitélio adjacente,

além de índices de mitóticos maiores nos casos positivos para p53.

Em estudos realizados em carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço, Aguiar & Araújo¹ (1997) examinaram 26 amostras de arquivos, os quais apresentavam epitélio adjacente previamente graduado para atipia histológica. Os achados imuno-histoquímicos foram correlacionados com o grau histológico, para determinar se a expressão de p53 poderia ser utilizada no diagnóstico precoce de câncer bucal. As autoras encontraram expressão da proteína p53 no epitélio adjacente à neoplasia em 96.1% das amostras. Treze das 26 amostras eram representadas por epitélio adjacente histologicamente normal e todos foram positivos para p53, o que para as autoras poderia representar cancerização de campo e alteração genética, mostrando um risco aumentado para o desenvolvimento de lesões múltiplas independentes que podem se tornar malignas.

Entretanto, Kerdpon et al.⁹ (1997) não encontraram associação significativa entre a expressão de p53 e o grau de displasia. Eles observaram um padrão diferente de expressão de p53 em lesões hiperplásicas e displásicas. Detectaram também proporção aumentada de casos com expressão positiva crescente de p53 de hiperplasia para displasia e para carcinoma de células escamosas bucal.

Cox & Walker⁴ (1996) encontraram expressão de p53 em 75% dos casos estudados de fibrose submucosa bucal, 68% em carcinomas de células escamosas de boca e 17.6% dos espécimes de mucosa bucal clinicamente normal. Eles concluíram que mutações ou deleções do gene supressor neoplásico podem ser prevalentes em fibrose submucosa bucal.

Lavieille et al.¹⁰ (1997) estudaram a proteína p53 em 112 carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço. Os autores detectaram mutações de p53 em 57% dos casos. Os mesmos ainda sugerem que a análise sorológica da p53 pode ser útil para complementar os testes disponíveis (análise molecular e imuno-histoquímica), para detecção precoce da presença de alterações da p53.

Flaitz et al.⁷ (1995) detectaram a presença de p53 mutada em 2 casos de carcinomas espinocelulares em pacientes HIV positivos através de técnicas de imuno-histoquímica.

Nylander et al.¹³ (1995) encontraram expressão de p53 em 21 (64%) dos 33 casos de carcinomas de células escamosas de cabeça e pescoço estudados. Em pacientes fumantes, Tsuji et al.¹⁶ (1995) encontraram um índice de expressão da proteína p53 mais elevado em carcinomas de células escamosas da cavidade bucal, em relação aos não fumantes.

Em neoplasias malignas bucais de pacientes fumantes de betel e tabaco foi demonstrada a deleção alélica do gene p53. Nesses pacientes foi observada a expressão de p53 mutante em 22% (8/36) dos casos, o que se aproximou da frequência de p53 alelo perdida, que foi de 21% (Wong et al.¹⁸, 1998).

Yan et al.¹⁹ (1996) estudaram sessenta casos de carcinomas de células escamosas de língua e mucosa bucal, tendo encontrado positividade para a p53 em 45% dos casos. Os mesmos encontraram super expressão da p53 relativamente maior em não fumantes do que em fumantes (66,7% vs. 42,9%) e estão avaliando a possibilidade de a maior proporção de super expressão da proteína p53 encontrada em pacientes não fumantes ser devido à infecção pelo vírus HPV.

Dawson et al.⁵ (1996) observaram, ao examinarem 17 neoplasias de células escamosas, que três destas exibiam pontos de mutação do gene de supressão tumoral múltiplo 1 (MTS1). Tais neoplasias não revelavam relações consistentes entre a expressão imuno-histoquímica de p53 ou o grau de diferenciação histológica e frequência de mitose com a mutação do MTS1.

McDonald et al.¹² (1996) relatam um caso de carcinoma de células escamosas p53 positivo que parecia ter origem no epitélio de um cisto odontogênico.

Vários estudos relacionados à metodologia são discutidos na literatura. Piffkó et al.¹⁴ (1995) concluíram que o uso de mais de um anticorpo anti-p53, aliado a um método pré-tratamento, pode ampliar o painel de recursos para o estudo de imunofenótipos p53 em material de arquivo e, ainda, aumentar o valor informativo da reação imuno-histoquímica para detecção de p53.

Dowell & Ogden⁶ (1996) investigaram a aplicação da técnica de recuperação de antígeno em microondas em material de arquivo, incluído em parafina, para o p53 em 22 espécimes de carcinomas de células escamosas bucais e em 36 espécimes de lesões benignas de mucosa

bucal e compararam com a técnica sem recuperação. Os resultados encontrados mostraram que o antígeno recuperado aumenta a sensibilidade da imunoreatividade de p53, não sendo específico para lesões malignas, levando à necessidade de se interpretar a super expressão encontrada com precaução. Assim, frente aos resultados por eles obtidos, os autores concluíram que os aspectos técnicos da imuno-histoquímica para p53 devem ser discutidos criticamente, particularmente quando forem realizadas comparações entre diferentes estudos. Fatores técnicos diversos podem ser a razão de alguns autores terem encontrado positividade em tecidos não malignos.

Shindoh et al.¹⁵ (1995) investigaram a mutação do gene supressor de neoplasia p53 em 26 espécimes de carcinoma de células escamosas bucal, utilizando o anticorpo monoclonal pAb1801, o qual reconhece tanto a proteína p53 selvagem como a mutante.

DISCUSSÃO

Não existe dúvida de que o gene p53 tem um papel crítico na carcinogênese, entretanto o papel preciso de sua expressão alterada em diferentes etapas ainda é incerto (Aguiar & Araújo¹, 1997).

Mutações do gene p53, resultando na expressão da proteína p53 alterada, são as modificações moleculares mais comumente reconhecidas em uma variedade de neoplasias (Wong et al.¹⁸, 1998), incluindo o carcinoma de cabeça e pescoço (Liu et al.¹¹, 1994; Lavieille et al.¹⁰, 1998). A detecção de p53 mutada em células neoplásicas também foi correlacionada por alguns autores com alto grau histológico e altos índices de proliferação, fatos usualmente associados com neoplasias agressivas (Flaitz et al.⁷, 1995; Aguiar & Araújo¹, 1997). Entretanto, Yan et al.¹⁹ (1996) não encontraram correlação entre a super expressão de p53 e o grau, tamanho e estágio da neoplasia, invasão vascular, metástase em linfonodos ou recorrência local.

A expressão da proteína p53 mutada tem sido relatada em um grande número de casos de carcinomas espinocelulares invasivos de vários locais, incluindo a mucosa bucal^{1, 2, 5 - 19}.

A prevalência de super expressão de p53 em carcinomas espinocelulares induzidos por betel/tabaco exibe uma variação considerável. A maior prevalência

encontrada foi de 45% na Índia e Taiwan, em contraste aos 17% dos carcinomas bucais, os quais apresentaram super expressão de p53, na Papua Nova Guiné. Dos carcinomas citados, apenas 10% exibiram mutação do gene p53 em exons conservados. O espectro de mutação do p53 sugere que o tabaco tenha efeito contributivo neste processo (Wong et al.¹⁸, 1998). Yan et al.¹⁹ (1996) encontraram super expressão de p53 relativamente menor, apesar de não ser estatisticamente significativa, em fumantes e usuários de betel do que em não fumantes. Os autores acreditam que a inativação da proteína p53 pode ocorrer nas fases iniciais da carcinogênese bucal, podendo não ser um bom marcador para o prognóstico, porém pode ser usada como um biomarcador para avaliação de risco de desenvolvimento de neoplasia, de recorrências locais e de eficiência de tratamento químico e radioterápico.

As técnicas de imuno-histoquímica que se utilizam do microondas para o pré tratamento das amostras a serem estudadas mostram um aumento na proporção de células neoplásicas positivas e na intensidade de coloração de p53 (Dowell & Ogden⁶, 1996). Com esta técnica, uma coloração imuno-histoquímica positiva p53 confinada às células basais e parabasais foi observada em todas as condições benignas da cavidade bucal estudadas, incluindo hiperplasia induzida por prótese, papiloma e hiperqueratose na qual não existia displasia epitelial. (Dowell & Ogden⁶, 1996). Na interpretação dos autores, o achado reflete função celular normal da p53 selvagem. O uso do microondas para o pré tratamento altera a sensibilidade com a qual a proteína pode ser visualizada, permitindo a detecção de níveis mais baixos que a super expressão associada à neoplasia (Dowell & Ogden⁶, 1996).

O acúmulo de proteína selvagem p53 pode refletir uma resposta ao dano persistente do DNA pela atividade de carcinógenos, o que pode suportar as observações de que a super expressão de p53 é um indicador de transformação maligna (Wong et al.¹⁸, 1998). A proteína selvagem também pode estar super expressa em células com gene p53 normal que foram submetidas a doses letais de radiação, o que propiciaria oportunidade para o reparo do DNA alterado (Yan et al.¹⁹, 1996).

A grande variação nos índices de expressão de p53 pode ser devida a investigação de grupos pequenos e heterogêneos de pacientes com câncer, considerando o

local e o estadiamento TNM de neoplasias primárias, bem como a problemas de técnica relacionados à

demonstração imuno-histoquímica da proteína p53 (Piffkó et al.¹⁴, 1995).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AGUIAR, M.C.F., ARAÚJO, V.C. p53 protein expression in lining epithelium adjacent to oral squamous cell carcinoma. *R. P. G.* v.4, n.1, p.14-19, jan/mar. 1997.
- 2 BAHAR, R. et al. CD44 variant 6 (CD44v6) expression as a progression marker in benign, premalignant and malignant oral epithelial tissues. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.26, n.6, p.443-6. 1997.
- 3 COTRAN, R.S., ROBBINS,S.L., KUMAR, V. *Robbins pathologic basis of disease.* 5th Ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. 1400p.
- 4 COX, S.C., WALKER, D.M. Epithelial growth fraction and expression of p53 tumour suppressor gene in oral submucous fibrosis. *Aust. Dent. J.*, v.41, n.2, p.91-6, Dec.1996.
- 5 DAWSON, C.D., CHANG, K-W., SOLT, D.B. MTS1 gene mutations in archival oral squamous cell carcinomas. *J. Oral Pathol. Med.*, v.25, n.10, p.541-6. 1996.
- 6 DOWELL, S.P.,OGDEN, G.R. The use of antigen retrieval for immunohistochemical detection of p53 over-expression in malignant and benign oral mucos: a cautionary note. *J. Oral Pathol. Med.*, v.25, n.2, p.60-4. 1996.
- 7 FLAITZ,C.M. et al. Intraoral squamous cell carcinoma in human immunodeficiency virus infection. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, v.80, n.1, p.55-62, 1995.
- 8 GOODGER, N.M. et al. Cell cycle regulatory proteins-na overview with relevance to oral cancer. *Oral Oncology*, v. 33, n. 2, p. 61-73, 1997.
- 9 KERDPON, D., RICH, A.M., READE, P.C. Expression of p53 in oral mucosa hyperplasia, dysplasia and squamous cell carcinoma. *Oral Diseases*, v.3, n.2, p.86-92. 1997.
- 10 LAVIEILLE, J-P. et al. Implications of p53 alterations and anti-p53 antibody response head and neck squamous cell carcinomas. *Oral Oncology*, v.34, n.2, p.84-92, 1998.
- 11 LIU, T-J. et al. Growth suppression of head and neck cancer cells by the introduction of a wild-type p53 gene via a recombinant adenovirus. *Cancer Res.*, v.54, n.10, p.3662-7, July 1994.
- 12 McDONALD, A.R. et al. p53-positive squamous cell carcinoma originating from na odontogenic cyst. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.54, n.2, p.216-8, 1996.
- 13 NYLANDER, K. et al. P53 expression and cell proliferation in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer*, v.75, n.1, p.87-93, 1995.
- 14 PIFFKÓ, J. et al. Expression of p53 in oral squamous cell carcinomas and adjacent non-tumorous mucosa of the floor of the mouth: an archival immunohistochemical study using wet autoclave pretreatment for antigen retrieval. *J Oral Pathol Med*, v.24, n.8, p.337-42, 1995.
- 15 SHINDOH, M. et al. Detection of human papillomavirus DNA sequences in oral squamous cell carcinomas and their relation to p53 and proliferating cell nuclear antigen expression. *Cancer*, v.76, n.9, p.1513-21, 1995.
- 16 TSUJI, T., et al. The significance of PCNA and p53 protein in some oral tumors. *J Oral Maxillofac Surg*, v.24, n.3, p.221-5, 1995.
- 17 WARNAKULASURIYA, K.A.A.S., JOHNSON, N.W. Association of overexpression of p53 oncoprotein with the state of cell proliferation in oral carcinoma. *J Oral Pathol Med*, v.23, n.6, p.246-50, 1994.
- 18 WONG,Y.K. et al. p53 alterations in betel quid- and tobacco-associated oral squamous cell carcinomas from Taiwan. *J. Oral Pathol Med*, v.27, n.6, p.243-8, July, 1998.
- 19 YAN, J.J., TZENG, C.C., JIN, Y.T. Overexpression of p53 protein in squamous cell carcinoma of buccal mucosa and tongue in Taiwan: na immunohistochemical and clinicopathological study. *J. Oral Pathol Med*, v.25, n.2, p.55-9, 1996.