

## EXPRESSÃO DE MAGE (Y- 18) EM LESÕES BUCAIS MALIGNAS E POTENCIALMENTE MALIGNAS DE PACIENTES COM E SEM FATOR DE RISCO ASSOCIADO

FELIPE BRUNATTO DA LUZ<sup>1</sup>; DEISE DE AVILA SILVA<sup>1</sup>; SANDRA BEATRIZ CHAVES TARQUINIO<sup>2</sup>; ADRIANA ETGES<sup>2</sup>; ANA PAULA NEUTZLING GOMES<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Acadêmicos de Pós-Graduação, Nível Mestrado, Área de Diagnóstico Bucal, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil – felipebrunatto@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Professora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil – apngomes@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O carcinoma espinocelular (CEC) é um tumor epitelial agressivo, que corresponde a mais de 90% das neoplasias malignas no trato aerodigestivo superior. Essa doença debilitante corresponde, respectivamente, a 8ª e 13ª malignidade mais comum no mundo para homens e mulheres (WARNAKULASURIYA, 2009).

A transição da mucosa normal para o CEC invasivo é um processo complexo de várias etapas, impulsionado por mudanças genéticas que ocorrem devido a padrões de expressão alterada de vários genes. Sua etiologia é multifatorial e os fatores de risco estão agrupados em não modificáveis e modificáveis. Nesse último grupo estão os hábitos e estilo de vida, sendo o mais importante o uso do tabaco, seguido pelo consumo excessivo de álcool. Esses fatores atuam tanto individualmente quanto sinergicamente (DAHLSTROM et al., 2008).

Desse modo, o CEC de pacientes com fator de risco associado (fumo e álcool) difere em muitas variáveis daqueles que ocorrem em pacientes não tabagistas e não etilistas, como por exemplo idade e localização mais frequentes.

O prognóstico sombrio observado para muitos pacientes que sofrem de carcinoma espinocelular bucal é em parte devido à ausência de marcadores sensíveis e específicos para a detecção precoce de tumores primários ou de células malignas, que podem ser usados para determinar o risco de desenvolvimento do tumor em lesões precursoras. Por conseguinte, vários marcadores potenciais das alterações moleculares têm sido estudados, destacando-se os antígenos melanoma-associado MAGE-A, os quais não são expressos em tecidos adultos normais, com exceção das células germinais masculinas, mas muitas vezes são detectados em uma variedade de tecidos tumorais. Assim, se antígenos MAGE-A estão presentes, uma lesão benigna pode ser claramente distinguida de uma lesão maligna, com altíssima precisão (KRAUSS et al., 2011).

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a expressão imuno-histoquímica do anticorpo MAGE (Y-18) em lesões bucais potencialmente malignas e malignas de pacientes com e sem fator de risco associado e comparar o padrão de marcação imuno-histoquímica nessas lesões.

### 2. METODOLOGIA

Este estudo obteve parecer favorável à sua execução pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina/UFPEL (OF.51/12).

Quarenta espécimes fixados em formol 10% e incluídos em parafina foram obtidos dos arquivos do Centro de Diagnóstico das Doenças da Boca (CDDB) da Faculdade de Odontologia - UFPEL. Foram utilizadas 20 amostras de casos de

displasia severa/carcinoma *in situ* e 20 amostras de carcinoma espinocelular intraoral, sendo que em cada grupo as amostras estavam distribuídas entre pacientes com fator de risco associado à ocorrência da lesão (tabaco e álcool) e sem fator de risco relatado.

Os dados referentes a sexo, idade, local da lesão e exposição a fatores de risco foram obtidos dos registros de biópsia, não sendo especificados critérios para a inclusão dos fatores de risco, como tempo de uso e quantidade do tabagismo/etilismo. Todos os casos foram submetidos a estudo imuno-histoquímico utilizando-se o anticorpo MAGE (Y-18) pelo método da streptavidina-biotina (SABC, do inglês Streptavidina-Biotin Complex).

Para a avaliação da marcação imuno-histoquímica, um sistema de pontuação foi utilizado considerando a homogeneidade da reação na região mais marcada (escores: 0 - negativo; 1 - células positivas <25%; 2 - células positivas 25-50%; 3 - células positivas 50-75%; 4 - células positivas > 75%). De cada lâmina foi selecionada visualmente a área mais marcada (*hot spot*) e desse local foram feitas 5 fotos em 5 campos consecutivos, em microscopia de luz, com aumento de 40x. Após capturar a imagem da área mais marcada, foram obtidas mais quatro fotos movimentando o botão micrométrico em 1/8 de volta à direita, esquerda, acima e abaixo do primeiro campo. Utilizando o aplicativo (Image ProPlus para Windows 4.5.1), um único observador contabilizou as células marcadas em cada campo. O escore final do caso foi obtido pela média dos 5 campos.

Correlação de Pearson, teste exato de Fisher, Kruskal-Wallis e Mann Whitney foram utilizados para fins estatísticos, e foram realizados com o programa Sigma-Stat 3.5 (Systat Software Inc.). Um valor de p inferior a 0,05 ( $p < 0,05$ ) foi considerado estatisticamente significante.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O CEC dos pacientes com fatores de risco tradicionais difere em muitas variáveis daqueles que ocorrem em pacientes não tabagistas e não etilistas, como por exemplo idade e localização mais frequentes. KRUSE et al. (2010), observaram uma média de idade mais elevada para os pacientes com carcinoma não fumantes do que fumantes (71,4 anos e 63,7 anos, respectivamente). Nosso trabalho concorda com os achados desses autores, já que observamos que os pacientes sem fator de risco associado ao câncer apresentaram uma média de idade maior do que aqueles que fumavam ou bebiam, tanto nas lesões malignas quanto nas potencialmente malignas. É importante destacar, entretanto, que a diferença observada foi pequena, assim como o tamanho da amostra.

Com relação ao sexo, no grupo dos carcinomas observamos diferenças bem estabelecidas. No grupo dos pacientes sem fator de risco, as mulheres foram maioria, enquanto entre as lesões associadas a fumo e álcool, os homens predominaram. Concordando com a literatura, provavelmente estes achados refletem a atuação de outros fatores etiológicos para o desenvolvimento do câncer de boca no sexo feminino.

Em 2010, CUFFEL et al., avaliaram a expressão de antígenos MAGE-A e NY-ESO-1 em CECs de cabeça e pescoço, através de PCR e imuno-histoquímica. Os autores verificaram que mais de 80% das amostras mostraram positividade para pelo menos um dos genes avaliados. HAIER et al. 2006, observaram positividade em 50% dos CECs avaliados, mas sem correlação com estadiamento clínico, graduação histológica ou idade dos pacientes. Da mesma forma, Figueiredo et al. 2011, avaliaram a expressão imuno-histoquímica dos antígenos MAGE em 63 casos carcinomas espinocelulares de laringe, encontrando positividade em 67%

dos casos. Achado semelhante foi encontrado por Montoro et al. 2011, investigando a expressão imuno-histoquímica dos antígenos MAGE-A4 e MAGE-C1 em CECs orais. Estes autores observaram positividade para pelo menos um dos antígenos em 78% dos pacientes, mas esta expressão não teve relação com sobrevida ou outras variáveis clínico-patológicas.

Em nosso trabalho, como já era esperado em função dos resultados da literatura, o percentual de casos de CECs positivos também foi alto. Dezesete dos vinte casos de CEC avaliados expressaram o MAGE (Y-18), representando 85% do grupo das malignidades. No entanto, esta expressão não esteve associada à presença ou ausência dos fatores de risco tradicionais, o que nos leva a sugerir que o aparecimento destes antígenos no processo de carcinogênese é independente dos fatores etiológicos envolvidos.

Por outro lado, observamos positividade para o MAGE em apenas quatro das vinte lesões potencialmente malignas (20%). Em nosso estudo só incluímos lesões potencialmente malignas com alto grau de displasia epitelial, procurando observar diferenças relacionadas à associação ou não com os fatores de risco principais para o desenvolvimento do CEC.

Ries et al. (2012), avaliaram a utilidade da expressão de MAGE-A na predição da transformação maligna em leucoplasias bucais. Inicialmente, relataram um único caso de um paciente acompanhado por um ano; na sequência, os autores avaliaram amostras de pacientes acompanhados por pelo menos 5 anos e observaram que o MAGE-A só foi expresso em casos que sofreram transformação em CEC. Segundo seus resultados, houve uma correlação estatisticamente significativa entre a expressão do MAGE-A e a transformação maligna, mas não entre a expressão do MAGE-A e o grau de displasia epitelial, sugerindo que a detecção deste antígeno seja útil em identificar as lesões com maior risco de transformação, independentemente da graduação de displasia.

Seguindo esta linha, com base em nossos resultados podemos sugerir que os casos de lesões potencialmente malignas que exibiram marcação para o MAGE (Y-18) poderiam apresentar maior chance de transformação, justificando a adoção de um plano de tratamento mais agressivo e a necessidade de um acompanhamento cuidadoso do paciente. Do ponto de vista clínico, entretanto, estes achados não representam uma mudança de conduta, já que todos os pacientes com diagnóstico histológico de displasia grave são tratados desta maneira em nosso Serviço.

Por outro lado, como poucos estudos são encontrados sobre o papel do MAGE na carcinogênese bucal, não podemos considerar de forma categórica a marcação positiva como evidência de transformação maligna em nossos casos. Na realidade, só o acompanhamento clínico pode complementar resultados como estes, nos permitindo aceitar ou rejeitar certos aspectos como características “benignas” ou “malignas” das lesões potencialmente malignas. A associação da identificação das alterações moleculares ocorrendo nestas lesões com a observação do comportamento biológico por elas apresentado é essencial para que se consiga realmente desenvolver marcadores mais específicos e confiáveis na determinação do risco de transformação contido em cada caso.

#### 4. CONCLUSÕES

A presença dos antígenos MAGE (Y-18) no processo de carcinogênese é independente dos fatores etiológicos envolvidos. A detecção desse antígeno pode ser útil na identificação de lesões bucais potencialmente malignas com

maior risco de transformação em CEC, mas estudos posteriores de acompanhamento clínico são necessários para confirmação desse achado.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CUFFEL, C.; RIVALS, J. P.; ZAUGG, Y.; SALVI, S.; SEELENTAG, W.; SPEISER, D.E.; LIÉNARD, D.; MONNIER, P.; ROMERO, P.; BRON, L.; RIMOLDI, D. Pattern and clinical significance of cancer-testis gene expression in head and neck squamous cell carcinoma. **International Journal of Cancer**, Malden, v.128, n.11, p.2625-2634, 2011.

DAHLSTROM, K. R.; LITTLE, J. A.; ZAFEREO, M. E.; LUNG, M.; WEI, Q.; STURGIS, E. M. Squamous cell carcinoma of the head and neck In never smoker–never drinkers: a descriptive Epidemiologic study. **Head & Neck**, Malden, v.30, n.1, p.75-84, 2008.

FIGUEIREDO, D. L. A.; MAMEDE, R. C. M.; SPAGNOLI, G. C.; SILVA, W. A.; ZAGO, M.; NEDER, L.; JUNGBLUTH, A. A.; SAGIORO, F. P. High expression of câncer testis antigens MAGE-A, MAGE-C1/CT7, MAGE-C2/CT10, NY-ESO-1, and GAGE in advanced squamous cell carcinoma of the larynx. **Head & Neck**, Malden, v.33, n.5, p.702-707, 2011.

HAIER, J.; OWZCARECK, M.; GULLER, U.; SPAGNOLI, G. C.; BÜRGER, H.; SENNINGER, N.; KOCHER, T. Expression of MAGE-A cancer/testis antigens in esophageal squamous cell carcinomas. **Anticancer Research**, Kapandriti, v.26, n.3B, p.2281-2287, 2006.

KRAUSS, E.; RAUTHE, S.; GATTENLÖHNER, S.; REUTHER, T.; KOCHER, M.; KRIEGEBaum, U.; KÜBLER, A. C.; MÜLLER-RICHTER, U. D. A. MAGE-A antigens in lesions of the oral mucosa. **Clinical Oral Investigation**, London, v.15, n.3, p.315-320, 2011.

KRUSE, A. L.; BREDELL, M.; GRÄTZ, K. W. Oral squamous cell carcinoma in non-smoking and non-drinking patients. **Head & Neck Oncology**, Londond, v. 4, n.2, p.1-3. 2010.

MONTORO, J. R. M. C.; MAMEDE, R. C. M.; SERAFINI, L. N.; SAGGIORO, F. P.; FIGUEIREDO, D. L.; SILVA, W. A. Jr.; JUNGBLUTH, A. A.; SPAGNOLI, G. C.; ZAGO, M. A. Expression of câncer-testis antigens MAGE-A4 and MAGE-C1 in oral squamous cell carcinoma. **Head & Neck**, Malden, v.34, n.8, p.1123-1128, 2011.

RIES, J.; AGAIMY, A.; VAIRAKTARIS, E.; KWON, Y.; NEUKAM, F. W.; STRASSBURG, L. H., NKENKE, E. Evaluation of MAGE-A expression and grade of dysplasia for predicting malignant progression of oral leukoplakia. **International Journal Oncology**, Athens, v.41, n.3, p.1085-1093, 2012.

WARNAKULASURIYA, S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. **Oral Oncology**, Philadelphia, v.45, n.4, p.309-316, 2009.