



Autor(es): AMANDA MARIA RIBEIRO, LORENA DOS REIS PEREIRA QUEIROZ, ALFREDO MAURICIO BATISTA DE PAULA, MARCELA GONÇALVES DE SOUZA, ANDRÉ LUIZ SENA GUIMARÃES, LUCYANA CONCEIÇÃO FARIAS, CARLA MENDONÇA DE ALMEIDA

## O aumento da demonstração de marcadores angiogênicos em neoplasias de Lesões de pele.

### Introdução

"O câncer de pele representa uma estimativa de neoplasia maligna mais comum no mundo todo. Compreende-se que Carcinoma Basocelular(CBC) são células menos agressiva e podem ser rapidamente destrutivas"(FASCINA;Tais,2014,p.124. Bem como, os tipos de câncer de pele tem relação com radiação ultravioleta (RUV), que podem afetar o tumor causando alterações moleculares no estroma e desencadeando múltiplos tumores primários. Segundo AMSTRONG *et al*(2001,p.8-18) a maioria dos casos de carcinoma de células escamosas (CCEP) maligna está associada a Ceratose actínica. Em camadas basais superiores, a expressão do gene HIF-1 $\alpha$  (Fator Indutor de hipóxia) torna-se mais preciso devido a pele não ser diretamente vascularizada sendo necessário para a proliferação celular. Mas em camada basal relacionado a queratinócitos que expressam o gene Fator indutor de Hipóxia -1 $\alpha$  é menor. Considerando as alterações moleculares relacionada ao gene as lesões ceratose actínica, carcinoma de células basais e carcinoma de células escamosas, o estudo teve como objetivo comparar os níveis de proteínas relacionadas com a angiogênese diante das formas mais comuns malignas e pré-malignas de lesões de pele.

### Material e Métodos

#### A. Reações de Imunohistoquímica

Foi avaliada a expressão tecidual do HIF-1Alfa, Fator de Crescimento Endotelial Vascular receptor (VEGFR1) e (VEGFR2), CD31 nas secções de 3 $\mu$ m, usando um protocolo de imunocoloração. Resumidamente, as seções foram desparafinizada com xilol e reidratado com soluções de álcool. Também foi usado uma lavagem de solução salina tamponada de fosfato entre incubações tamponada. Usando Hematoxilina de Mayer contra coloração. Amostras de fígado foram usadas como controles positivos. Os controles negativos foram realizados substituindo o anticorpo primário com controle negativo universal.

#### B. Avaliação da imunorreatividade

Foram fotografado campos de tumor com ampliação de 400x e feito a Contagem de células somando células positivas e negativas. A imunohistoquímica de HIF1A, VEGFR1 e VEGFR2 foi avaliada nas células do tumor para carcinoma de células escamosas (CCEP), carcinoma basocelular ALTO RISCO(BCCAR) e Carcinoma basocelular BAIXO RISCO(CBCBR) e displasia epitelial em ceratose actínica (CA). Contudo identificou micro vasos e células com ou sem membrana basal. O teste revelou boa concordância após usar o valor mediano, comparando os valores de baixa e alta expressão.

Avaliaram os diferentes padrões entre as lesões. Um valor inferior a 0,05 foi considerado significativo. Todos os dados foram digitados em SPSS 18.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA) e submetidos à análise estatística específica.

### Resultados e discussão

Os padrões aos marcadores de imunohistoquímica são exibidas na Fig. 1.A intensidade de HIF1A era forte e homogênea em carcinoma de células escamosas (CCEP), tanto carcinoma basocelular BAIXO RISCO (CBCBR) e carcinoma basocelular ALTO RISCO (CBCAR) apresentaram padrões heterogêneos de coloração e intensidade. A expressão mais fraca de HIF1A estava presente somente nas camadas epiteliais inferiores de ceratose actínica. Além disso, em CCEP apresentado com VEGFR1 intensa e homogênea a coloração. Em CBCBR e CBCAR, a coloração de VEGFR1 foi fraca e heterogênea em comparação com os o carcinoma de células escamosas. A ceratose actínica demonstrou VEGFR 1 em todas camadas epiteliais. Entre todos os grupos, as células apresentaram VEGFR2 com coloração citoplasmática. Em lesões neoplásicas, a maioria dos pontos quentes de Densidade Microvascular (DMV)

# 10<sup>o</sup>

# FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA  
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE  
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X



foram localizados no estroma do tumor. Enquanto os pontos quentes da CA foram mais perto do tecido epitelial, a coloração era forte em todas as lesões. O carcinoma de células escamosas apresentaram níveis aumentados de HIF1A, VEGFR1 e VEGFR2 em comparação com CA. Não houve diferença estatística na DMV comparando CCEP e CA (Fig. 2). A densidade microvascular foi aumentada em CBCAR e CBCBR em relação ao CA; Contudo, não foi observada nenhuma diferença nos níveis de HIF1A, VEGFR1 e níveis de VEGFR2. Comparando-se as lesões neoplásicas do estudo atual, CCEP também apresentou com níveis crescentes de HIF1Alfa para CBCBR ou CBCAR.

A ceratose actínica mostra-se fundamental para a homeostase e defesa contra radiação ultravioleta (Agostinis P. et al, 2011). Foi demonstrado que enquanto que a derme é bem oxigenada e vascularizada, na epiderme a tensão de O<sub>2</sub> varia de levemente hipóxico para severamente hipóxica em certos anexos da pele. O HIF1A é o principal regulador celular e de adaptação sistêmica à hipóxia, um fator chave no desenvolvimento do câncer. A ativação do complexo HIF-1 induz genes receptivos envolvidos no metabolismo para a sobrevivência celular sob condições normóxicas que também induz a angiogênese. No estudo atual, o aumento dos níveis de VEGFR1 e VEGFR2 em CCEP foram observados em relação a CA, que é uma possível lesão maligna (KUPHAL S. et al). Estes achados sugerem VEGFR1 e VEGFR2 como potenciais alvos para evitar a progressão da CA para CCEP.

"A angiogênese, vasos formados a partir dos pré-existentes, é essencial para um tumor crescer, além de proporcionar um caminho para o mesmo atingir a circulação e, subsequentemente a metástase" (FOLKMAN, J. SHING, J. p., 1992, p. 10931-10934, ). O estudo atual, CBCBR e CBCAR, que são neoplasias, apresentados com um número maior de vasos do que CA. Por outro lado, não houve correlação entre CD31, HIF1A, VEGFR1 e o número de vasos observados. É importante ressaltar que uma limitação importante do presente estudo foi avaliar o número total de vasos e não apenas vasos recém-formados

## Conclusão

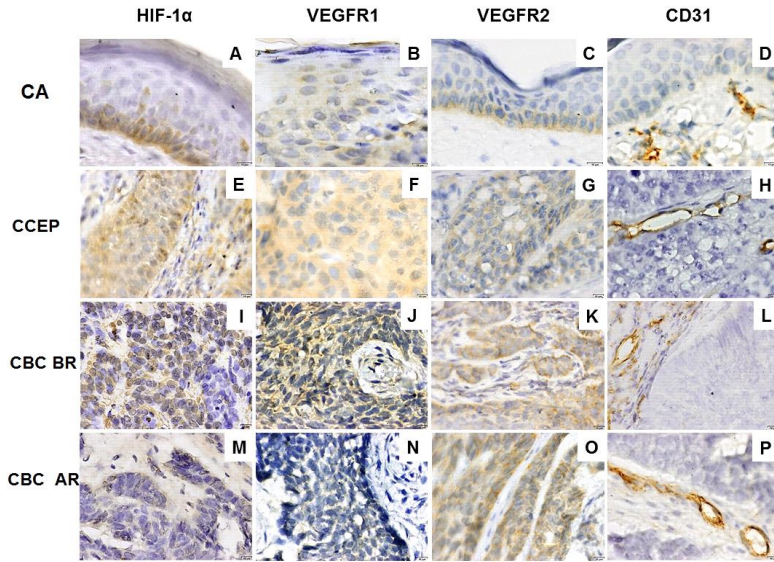
Carcinoma de células escamosas de pele demonstraram níveis mais elevados de HIF1A, VEGFR1 e VEGFR2. Enquanto carcinoma de células basais apresentaram o número de vasos em relação a CA. Estes dados sugerem que terapia antiangiogênica pode ser útil para o tratamento de câncer de pele.

## Agradecimentos

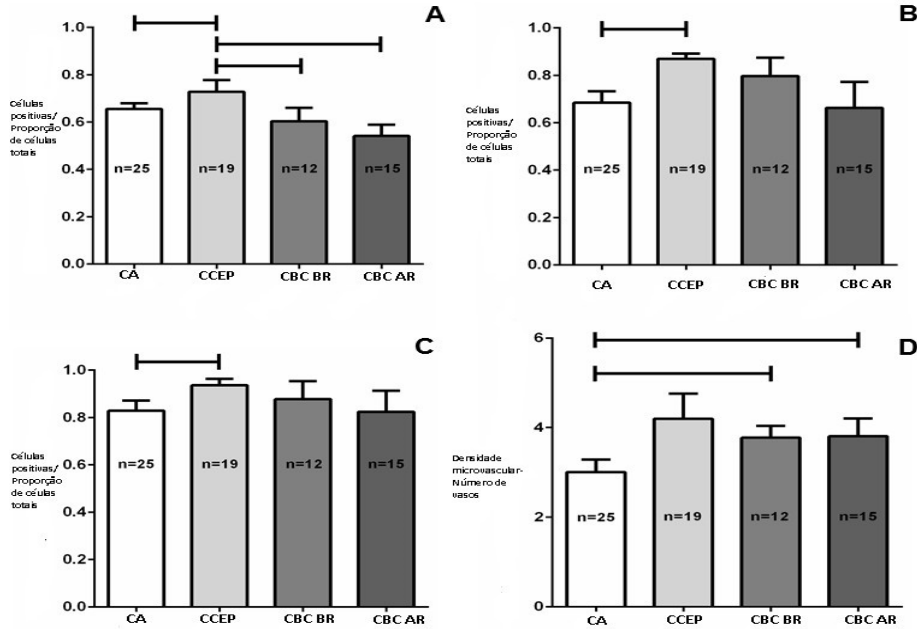
Este trabalho foi possível devido ao apoio dos órgãos de fomento FAPEMIG, CNPq e CAPES.

## Referências Bibliográficas

- FACINA, Tafs. Estimate. Brazilian Cancer Incidence. **Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva**. Rio de Janeiro. p. 124, mar. 2014.
- FOLKMAN, J. SHING, J. Angiogenesis. **The Journal of Biological Chemistry**. v. 267, n. 16, p. 10931-10934, jun. 1992.
- ARMSTRONG, B.K., KRICKER, A. The epidemiology of UV induced skin cancer. **Elsevier**. v. 63, p. 8-18, out. 2001.
- K. Nys, H. Maes, A.M. Dudek, P. Agostinis. Uncovering the role of hypoxia, **Biochim. Biophys. Acta**. v 1, p1-12. ,aug2011
- KUPHAL S, WINKLMIER A, WARNECKE C, BOSSERHOFF AK. Constitutive HIF-1 activity in malignant melanoma. v46 p.1159-69 apr 2010



**Figura1.** Os padrões dos marcadores imunohistoquímica a Ceratose Actínica(CA), carcinoma de células escamosas da pele (CCEP), carcinoma basocelular de baixo risco (CBCBR) e carcinoma basocelular alto risco (CBCAR).



**FIG. 2.** Quantificação da HIF1A, VEGF R1, VEGFR2 e DMV em lesões (A) HIF1A, (B) um VEGFR, (C) e VEGFR2 (D) (DMV).