

## **PES085 - EXPRESSÃO DE NOTCH1, ADAM-12, HIF-1A E HB-EGF NO AMELOBLASTOMA E SUA RELAÇÃO COM A HIPÓXIA, INVADOPÓDIOS E INVASIVIDADE TUMORAL**

**CAROLINA CARMINE PROIETTI<sup>1</sup>; MARIA SUELI DA SILVA KATAOKA<sup>2</sup>; JOÃO DE JESUS VIANA PINHEIRO<sup>2</sup>; NATACHA MALU MIRANDA DA COSTA<sup>3</sup>; AMANDA DALLA VECHIA FIALHO<sup>1</sup>**

carol.proietti@hotmail.com

<sup>1</sup>Graduação, <sup>2</sup>Doutorado, <sup>3</sup>Mestrado

Universidade Federal do Pará (UFPA)

**Introdução:** O ameloblastoma (AME) é o tumor odontogênico de maior significado clínico. Originado do epitélio odontogênico, apresenta crescimento lento e contínuo e embora caracterizado como neoplasia benigna, é localmente agressivo, sendo capaz de destruir tecidos moles e ósseos. O mesmo apresenta aspecto clínico-radiográfico-patológico variável e padrões histológicos diferentes e vários tipos de tratamento têm sido propostos para esta neoplasia (enucleação, curetagem, eletrocauterização, excisão e marsupialização), mas na maioria dos casos as cirurgias radicais com margem de segurança são realizadas. Sabe-se que a concentração de oxigênio em áreas específicas do microambiente tumoral é reduzida, resultando em hipóxia intratumoral. Em condições de baixa concentração de oxigênio, as proteínas NOTCH1, ADAM-12, HIF-1 $\alpha$  e HB-EGF, em conjunto, têm sido relacionadas com a formação de invadopódios, aumento de metástase e invasão neoplásica. **Objetivos:** Avaliar a expressão das proteínas NOTCH1, ADAM-12, HIF-1 $\alpha$  e HB-EGF in vitro e in vivo para melhor compreender o processo de invasão tumoral do AME. **Métodos:** As células da linhagem AME-TERT foram descongeladas e cultivadas em frascos específicos em meio de cultivo DMEM-F/12 suplementado com 10% de soro fetal bovino, e mantidas em incubadora a 37<sup>o</sup>C em atmosfera úmida e 5% de CO<sub>2</sub>. Para detectar a imunexpressão das proteínas na cultura, as células foram cultivadas sobre lamínulas de vidro em placas de 24 poços, submetidas a um protocolo de imunofluorescência indireta e as imagens adquiridas em microscópio de fluorescência. Para avaliar a expressão das proteínas de interesse por imunohistoquímica (técnica da imunoperoxidase) foram utilizados 20 casos de AME e 8 casos de tumor odontogênico cístico calcificante (TOCC), como controle. A avaliação da imunomarcação foi realizada pela medida da área ( $\mu$ m) e da fração (%) de área marcada nas imagens adquiridas em microscópio AxioScope equipado com câmera AxioCamHRc e objetiva de 40x. **Resultados e Discussão:** Pela técnica de imunofluorescência indireta as proteínas estudadas demonstraram imunexpressão positiva. Foi possível observar na linhagem AME-TERT a imunexpressão citoplasmática puntiforme de NOTCH1, HIF-1 $\alpha$  e do fator de crescimento HB-EGF, bem como a imunexpressão de ADAM-12 com característica granular. Os experimentos imunohistoquímicos revelaram a expressão das proteínas estudadas em todas as amostras de ameloblastoma. A proteína NOTCH1 apresentou marcação citoplasmática intensa, com aspecto uniforme, e de forma menos homogênea no núcleo das células do parênquima neoplásico. Já o HIF-1 $\alpha$  revelou intensa marcação, predominantemente nuclear, nas células centrais das ilhas formadas pelo epitélio tumoral e nas células ao redor dos cistos. Em relação à ADAM-12 e ao HB-EGF, ambas as proteínas apresentaram o mesmo aspecto de marcação no citoplasma e na membrana celular, de forma densa e puntiforme, não apresentando imunexpressão nuclear. Nas células do estroma tumoral, todas as proteínas de interesse apresentaram leve marcação com aspecto puntiforme. O TOCC apresentou leve marcação das proteínas estudadas, tanto

no parênquima como no estroma tumoral. Os resultados evidenciaram elevada expressão das proteínas nas células neoplásicas do AME em relação às do TOCC (p**Conclusão:** Os resultados evidenciaram que a linhagem expressa as proteínas NOTCH1, ADAM-12, HIF-1 $\alpha$  e HB-EGF nos experimentos in vitro. As proteínas do estudo in vivo também foram expressas, de forma mais intensa nas células neoplásicas do ameloblastoma em relação às do TOCC, assim como uma maior expressão no parênquima em relação ao estroma do ameloblastoma.

**Referências Bibliográficas:**

Pinheiro JJ, Nascimento CF, Freitas VM et al. Invadopodia proteins, cortactin and membrane type I matrix metalloproteinase (mt1-mmp) are expressed in ameloblastoma. *Histopathology* 2011; 59: 1266-1269.

Siqueira AS, Carvalho MR, Monteiro AC et al. Matrix metalloproteinases, tims and growth factors regulating ameloblastoma behaviour. *Histopathology* 2010; 57: 128-137.

Barnes, L. et al. World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of Head and neck tumors. Lyon: IARC; 2005.