



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

KHALIL FERNANDES VIANA

**AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE PI3K, PTEN E S6K1 EM MUCOSAS
NORMAIS E DISPLASIAS EPITELIAIS ORAIS**

FORTALEZA

2020

KHALIL FERNANDES VIANA

**AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE PI3K, PTEN E S6K1 EM MUCOSAS
NORMAIS E DISPLASIAS EPITELIAIS ORAIS**

Defesa de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para obtenção do título de mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Karuza Maria Alves Pereira.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- V667a Viana, Khalil Fernandes.
Avaliação imunistoquímica de PI3K, PTEN e S6K1 em mucosas normais e displasias epiteliais orais /
Khalil Fernandes Viana. – 2020.
67 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e
Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2020.
Orientação: Profa. Dra. Karuza Maria Alves Pereira.
1. Lesões Pré-Cancerosas. 2. PTEN Fosfo-Hidrolase. 3. Fosfatidilinositol 3-Quinase. 4. Proteínas
Quinases S6 Ribossômicas . I. Título.

CDD 617.6

KHALIL FERNANDES VIANA

**AVALIAÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DE PI3K, PTEN E S6K1 EM MUCOSAS
NORMAIS E DISPLASIAS EPITELIAIS ORAIS**

Defesa de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para obtenção do título de mestre em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Karuza Maria Alves Pereira (Orientadora)

Prof^ª. Dr^ª. Márcia Cristina da Costa Miguel (UFRN)

Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves (UFC-Sobral)

*“A ignorância afirma ou nega
veementemente; a ciência duvida.”*

Voltaire

AGRADECIMENTOS

A Deus, que, mesmo sem que possamos compreender seus desígnios, sempre tem um plano e olha por nós.

Aos meus pais, que são minhas fontes de inspiração e exemplo de vida pessoal e profissional, tanto na clínica odontológica como na busca da docência.

Aos meus irmãos, Luciana e Gustavo, os quais sempre me apoiaram e me defenderam das adversidades da vida.

A minha noiva, Débora, que desde o início me apoiou, incentivou, segurou minha mão e me auxiliou na confecção dos recursos de mídias digitais e *layouts*.

A minha orientadora, Prof^a. Karuza, que vem sendo, além de orientadora, uma segunda mãe, apresentando-me os caminhos corretos da vida acadêmica desde os primórdios da minha graduação, alertando-me, aconselhando-me, importando-se comigo e tendo a paciência de uma mãe dedicada e fiel para com seus filhos. Agradeço a ela cada puxão de orelha, cada conselho e cada orientação nessa jornada em andamento e espero poder continuar seguindo seus passos nessa caminhada da pós-graduação.

Aos professores do Laboratório de Patologia Bucal da UFC, Ana Paula, Mário e Fabrício, pela referência, pelo exemplo e pelos ensinamentos da área da patologia e por confiarem na minha dedicação e no meu empenho na pós-graduação.

Ao Professor Fábio Wildson, exemplo de profissional e ser humano a ser seguido, por me ensinar, desde a graduação, como ser uma pessoa de boa índole e um homem de caráter.

Ao Professor Filipe Nobre, pela parceria desde os tempos da graduação e por ter aceitado participar da banca.

À professora Márcia Miguel, pela referência que é na área-tema dessa pesquisa e por ter me honrado ao participar da presente banca.

Às minhas amigas da pós-graduação Sthefane, Thâmara e Thaís, as quais sempre me instruíram da melhor forma com conhecimentos científicos, dicas de como encarar a pós-graduação e pelas horas dedicadas ao compartilhamento de ideias para esta pesquisa.

Ao professor Paulo Goberlânio, pela gentileza, disponibilidade e atenção ao participar da parte estatística desta pesquisa e pelos conhecimentos transmitidos durante o mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Laboratório de Patologia Bucal e Clínica de Estomatologia, onde realizei minhas atividades acadêmicas, fiz grandes amizades e cresci bastante como pessoa e profissional.

À **CAPES**, pela concessão da bolsa, pelo apoio financeiro e por acreditar nesta pesquisa.

RESUMO

As desordens orais potencialmente malignas (DOPM) englobam um conjunto de condições definidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como lesões orais que estejam comprovadamente associadas a um maior risco de transformação maligna. Por vezes, essas lesões apresentam displasia epitelial oral (DEO) com diferentes graus, que podem ser preditores de malignidade. Nesse contexto, buscando entender o processo de progressão das DOPM, algumas vias de sinalização celular vêm sendo estudadas. Dentre elas, destaca-se a via do fosfatidilinositol-3 quinase (PI3K), a qual possui proteínas-chave como PI3K e PTEN, envolvidas na ativação e inibição da via, respectivamente, e S6K1, associado ao aumento de síntese proteica e crescimento celular. Assim, o presente estudo objetivou analisar a expressão imunoistoquímica de PI3K, PTEN e S6K1 em casos de DEO e mucosa oral normal (MON). A amostra foi constituída por 20 casos de DEO com diferentes graus histológicos (8 de baixo risco e 12 de alto risco) e 20 casos de MON. A verificação imunoistoquímica foi realizada usando os anticorpos anti-PI3K, anti-PTEN, anti-S6K1. Os dados categóricos foram expressos em frequência absoluta e comparados pelo teste Exato de Fisher ou Qui-quadrado de Pearson, enquanto os dados contínuos foram expressos em médias \pm DP dos índices e histoscores calculados, os quais foram analisados pelo teste de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis, seguido do pós-teste de Dunn. Os resultados evidenciaram maior frequência de imunomarcção positiva para PI3K (95%) ($p=0,003$) e S6K1 (100%) ($p=0,004$) nas DEOs, além de maior ganho de PTEN nuclear (94,7%) ($p=0,002$) e citoplasmático (21,1%) ($p=0,03$) nas DEOs, comparado às MONs. Na gradação pelo sistema binário, observou-se maior ganho citoplasmático de PTEN nas DEOs de baixo risco (44,4%) ($p=0,018$), comparado às de alto risco. Os índices e histoscores calculados foram estatisticamente maiores para PTEN nuclear (5.83 ± 2.07) ($p<0,001$) e citoplasmático (3.00 ± 1.91) ($p<0,001$) e para PI3K (93.00 ± 51.10) ($p=0,003$) nas DEOs, comparado às MONs, enquanto que para S6K1 não foi observada diferença estatística. O presente estudo evidencia o provável papel das proteínas PI3K, PTEN e S6K1 na via PI3K, sugerindo que o aumento da expressão dessas proteínas pode estar associado ao desenvolvimento e progressão da DEO.

Palavras-chave: Lesões Pré-Cancerosas, Fosfatidilinositol 3-Quinase, PTEN Fosfo-Hidrolase, Proteínas Quinases S6 Ribossômicas.

ABSTRACT

Oral Potentially malignant disorders (OPMDs) enroll a set of conditions defined by the World Health Organization (WHO) as oral lesions that have been shown to be associated with an increased risk of malignant transformation. Sometimes, these lesions present oral epithelial dysplasia (OED) with different degrees, which can be predictors of malignancy. In this context, aiming to understand the process of progression of OPMDs, some cell signaling pathways have been studied. Among them, the phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) pathway stands out, which has key proteins such as PI3K and PTEN, involved in the activation and inhibition of the pathway, respectively, and S6K1, associated with increased protein synthesis and cell growth. Thus, the present study aimed to analyze the immunohistochemical expression of PI3K, PTEN and S6K1 in cases of OED and normal oral mucosa (NOM). The sample consisted of 20 cases of OED with different histological grades (8 low risk and 12 high risk) and 20 cases of NOM. Immunohistochemical verification was performed using anti-PI3K, anti-PTEN, anti-S6K1 antibodies. Categorical data were expressed in absolute frequency and compared by Fisher's exact test or Pearson's chi-square test, while continuous data were expressed as means \pm SD of the calculated indices and histoscores, which were analyzed using the Mann-Whitney or Kruskal test -Wallis, followed by Dunn's post-test. The results showed a higher frequency of positive immunostaining for PI3K (95%) ($p = 0.003$) and S6K1 (100%) ($p = 0.004$) in OEDs, in addition to greater gain of nuclear PTEN (94.7%) ($p = 0.002$) and cytoplasmic (21.1%) ($p = 0.03$) in OEDs, compared to NOMs. In the binary system grading, a greater cytoplasmic gain of PTEN was observed in low-risk OEDs (44.4%) ($p = 0.018$), compared to high-risk ones. The calculated indices and histoscores were statistically higher for nuclear (5.83 ± 2.07) ($p < 0.001$) and cytoplasmic PTEN (3.00 ± 1.91) ($p < 0.001$) and for PI3K (93.00 ± 51.10) ($p = 0.003$) in OEDs, compared to NOMs, while for S6K1 no statistical difference was observed. The present study highlights the probable role of PI3K, PTEN and S6K1 proteins in the PI3K pathway, which suggest that the increased expression of these proteins may be associated with the development and progression of OED.

Keywords: Precancerous Conditions, Phosphatidylinositol 3-Kinase, PTEN Phospho-Hydrolase, Ribosomal Protein S6 Kinases.