

C 556025
R 1148087
02/09/99 II

RENATO LUIZ MAIA NOGUEIRA

**ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO DA EXPRESSÃO DE p53 E SUA
CORRELAÇÃO COM LESÕES BENIGNAS E CARCINOMAS DA MUCOSA
BUCAL**

Dissertação apresentada à Coordenação do
Curso de pós-graduação em Patologia Tropical,
do Departamento de Patologia e Medicina Legal
da Universidade Federal do Ceará, como parte
dos requisitos necessários para a obtenção do
título de mestre

Orientadora: Profa. Dra. Sílvia Helena B. Rabenhorst

FC-00006209-5

Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira

Agosto 1998
Fortaleza - Ceará

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

D
616.99431
N 7152
1998

C 556025
R 1148087
02/09/99 II

RENATO LUIZ MAIA NOGUEIRA

**ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO DA EXPRESSÃO DE p53 E SUA
CORRELAÇÃO COM LESÕES BENIGNAS E CARCINOMAS DA MUCOSA
BUCAL**

Dissertação apresentada à Coordenação do
Curso de pós-graduação em Patologia Tropical,
do Departamento de Patologia e Medicina Legal
da Universidade Federal do Ceará, como parte
dos requisitos necessários para a obtenção do
título de mestre

Orientadora: Profa. Dra. Sílvia Helena B. Rabenhorst

FC-00006209-5

Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira

Agosto 1998
Fortaleza - Ceará

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

D
616.99431
N 7152
1998

FICHA CATALOGRÁFICA 985 - 1438

N715 NOGUEIRA, Renato Luiz Maia

Estudo Imunohistoquímico da proteína p53 e sua
correlação com lesões benignas emalignas da mucosa bucal /
Renato Luiz Maia Nogueira. – Fortaleza, 1998
102 fl. : il.

Orientadores: Profa. Dra. Sílvia Helena B. Rabenhorst e
Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira

1. Neoplasias bucais. 2. Imunohistoquímica – Boca. 3.
Genes supressores tumorais – boca. 4 Tabagismo – p53 –
Câncer bucal, 5. HPV – p53, 6.p53 – Câncer

UFC	BIBLIOTECA
	UNIVERSIDADE
Nº. 1148087	
02 / 09	99

**ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO DA EXPRESSÃO DE p53 E SUA
CORRELAÇÃO COM LESÕES BENIGNAS E CARCINOMAS DA MUCOSA
BUCAL**

Renato Luiz Maia Nogueira

Orientadora: Prof. Dra. Sílvia Helena B. Rabenhorst

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de pós-graduação em Patologia Tropical, do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre

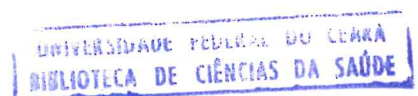
Banca Examinadora

Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida
Ferreira

Prof. Dra. Sílvia Helena B. Rabenhorst

Prof. Dra. M.^a Goretti Freire de Carvalho

Agosto 1998
Fortaleza - Ceará



Dos rios que tudo arrastam
se diz violentos

Mas não se diz violentas, as
margens que o comprimem...

Bertolt Brechet

À Luiza Mendes,
Marselle, meus irmãos,
amigos, aos pacientes e à
vida.

AGRADECIMENTOS

Existe uma regra de etiqueta que recomenda não fazermos agradecimentos nominalmente, pois, normalmente esquecemos algumas pessoas, e é freqüente serem as de maior importância, justamente as que esquecemos. Entretanto, me arriscarei a cometer essa gafe e tentarei nominar, agradecendo sinceramente, do fundo de minha alma, as pessoas e instituições que indubitavelmente sem elas, esse trabalho não teria sido realizado.

Ao meu mestre e orientador Prof. Dr. Francisco Valdeci de Almeida Ferreira, não só pelo incentivo e orientação durante esse curso, mas pela grandeza de sua dedicação à docência universitária e principalmente pelo exemplo de dignidade, ética e humildade no exercício cotidiano da vida.

À minha mestra e também orientadora Prof.a. Dra. Sílvia Helena Barem Rabenhorst, que com sua rigidez técnico-científica, conseguiu me convencer (e disciplinar) da necessidade deste rigor, no exercício da pesquisa, como também, sem sua dedicação, amparo, incentivos e seus reforços positivos, e principalmente, sem os seus prazos eu não teria conseguido.

A Prof.a. Dra. M.^a Goretti Freire de Carvalho, da UFRN, pela gentileza e disponibilidade de participar das atividades de avaliação desse trabalho.

À Marselle Fernandes Fontenelle, minha esposa e companheira, pela paciência, incentivo, pelo silêncio de minha ausência, mas principalmente por me suportar ao seu lado, um grande beijo, mil desculpas e obrigado meu amor.

À todo o Corpo docente e à Coordenação do Mestrado em Patologia, e ao Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, pelo apoio técnico, científico e financeiro dispensado.

Ao instituto de prevenção do Câncer do Ceará, instituição do mais alto valor social, que sem ela e seus valorosos profissionais, a vida de muitas mulheres e homens do Ceará teriam sido de sobremaneira, abreviadas, e espaço de grande valor científico e aprendizado prático, meu obrigado à direção, por permitir que parte dessa pesquisa se desse em seu serviço odontológico.

Ao Dr. Pedro Teixeira, meu amigo e parceiro, por abrir todos os espaços dentro do serviço de odontologia do IPCC, mas principalmente por sua gentileza, amizade e carinho com que me recebeu e me acolheu durante esses dois anos em que trabalhamos juntos, espero que continuemos a produzir muitas coisas e fatos juntos caro amigo.

À todos os Cirurgiões dentistas do IPCC, Dra. Fátima, Dra. Rejane, Dr. Leitão, Dr. Esdras, Dr. Aguiar, Dra. Regina, Dra. Veleda, Dra. Ifigênia que muito me ajudaram, e à Zelinha a quem tanto perturbei e quem tanto me ajudou nestes anos.

Às funcionárias do Centro Cirúrgico e do Serviço Social, da Secretaria e do Arquivo do IPCC a quem muito devo, e que foram de muito valor e me prestaram a maior atenção durante esse tempo.

À Dra. Débora e a Dra. Denise, essas duas jovens patologistas me acolheram carinhosamente, me ensinaram e me toleraram pacientemente por todo esse tempo, a elas devo muito. A todo o pessoal do laboratório de patologia, principalmente na pessoa da Eliane, da Lúcia e da Conceição, e do Laboratório de citologia do IPCC.

Aos meus amigos do Laboratório de técnicas especiais citohistopatológicas (LABTECH) do DPML da UFC, João, Franzé, Susana e Cristina que muito me ajudaram e me ensinaram nestes anos.

Ao Prof. Dr. Eilson por sua prestimosa ajuda na análise estatística deste trabalho.

À todos os funcionários do DPML da UFC, principalmente à Paula, a quem recorríamos sempre nas dificuldades, e quem sempre nos recebeu e ajudou.

À minha querida amiga Roberta Barroso Cavalcante, que sem sua ajuda, muitas coisas não teriam caminhado durante este curso, e principalmente na realização dessa dissertação.

Ao meu amigo e colega de mestrado Fabrício de Maicy Bezerra, espero poder retribuir a sua ajuda quando for sua hora companheiro.

Ao meu companheiro Sérgio Luz e Silva, pela ajuda na hora certa.

Ao mestre Sebastião Mourão pela correção e revisão gramatical do meu trabalho, desculpa a última hora.

Aos colegas de turma do mestrado, pela convivência fraterna e carinhosa. Espero sorte e felicidade a todos.

Aos meus alunos, pela paciência com que me agüentaram nos dias difíceis de estresse, e pela convivência e ensinamentos que muito me ensinaram.

Ao companheiros da diretoria do CRO-Ce que souberam entender a minha ausência durante esse período.

Aos pacientes, que no anseio da cura nos recebem e nos ensinam tanto, a esses os meus mais sinceros agradecimentos.

Ao CNPQ, pela bolsa e pelo financiamento de parte desse trabalho.

RESUMO

As neoplasias de mucosa oral possuem alta prevalência no Brasil, caracterizando-se como um grave problema de saúde pública. A correlação destas com fatores ambientais como o fumo e os vírus e, com fatores individuais, como idade, sexo e localização da lesão, tem sido relatada. Mais recentemente, com os avanços tecnológicos, as pesquisas direcionaram para a detecção das mutações de oncogenes e genes supressores tumor. O gene p53, é o gene supressor de tumor mais comumente mutado em todas as neoplasias humanas, nos cânceres de boca, as porcentagens são muito variáveis, tendo sido relatadas em torno de 35% a 70%. Dentre os vários métodos utilizados, a pesquisa da proteína p53 por imunohistoquímica tem sido a mais utilizada para a constatação de mutações no gene, desde que a meia vida desta proteína é aumentada nas formas mutadas. Com o objetivo de caracterizar os cânceres de boca da nossa região, foi realizado um estudo para a detecção de mutação do gene p53, correlacionando esses achados com o tabagismo, vestígios histopatológicos de infecção por HPV, idade, sexo e a localização da lesão. Para isto foi utilizado a técnica de imunohistoquímica, em amostras de 85 pacientes com lesões de mucosa oral, coletadas no IPCC, divididas em três grupos, o 1º grupo, de referência, constituído de lesões reacionais inflamatórias ou traumáticas (15 casos), o 2º grupo de lesões benignas e pré-malignas (36 casos) e o 3º grupo de carcinomas invasivos (34 casos). Do total dos casos pesquisados 32,9% (28/85), foram positivos para a p53. Quando divididos em grupo, 6,7% (1/15), grupo 1; 22,2% (8/36) no grupo 2 e 55,8 (19/34) no grupo 3, foram positivos. O resultado entre as lesões benignas e malignas foi altamente significativo ($P=0,001$). Também foi altamente significativo o fato de que nos casos positivos do grupo das lesões malignas, a positividade para a p53 ocorreu de forma intensa em 78,9% dos casos, contrastando das lesões benignas que se coraram de forma tênue. Não se encontrou correlação significativa ao cruzar a expressão de p53 com sexo, idade e com localização das lesões. Os resultados foram altamente significativos ($P=0,001$) entre a expressão de p53 e o tabagismo e significativos ($P=0,05$)

entre a expressão de p53 e os sinetes histopatológicos de infecção por HPV no grupo 2. A forte expressão de p53 encontrada nos carcinomas é sugestivo das formas detectadas serem as mutadas, e dessa forma, conclui-se que a expressividade da proteína p53 estaria vinculada à malignidade com associação a pacientes expostos ao tabaco. Por outro lado, a detecção da proteína p53 nas lesões benignas seria resultado de sua atividade normal em resposta à agressão pelo tabaco. A expressão da proteína p53 em células apresentando indícios de HPV pode ser explicada pelos tipos virais dessas lesões serem os menos agressivos ou por estar o gene viral não integrado. Nos casos de não integração, a proteína E6 não é expressada em quantidades suficientes para a degradação total das proteínas p53. A presença de sinetes é uma indicação deste fato. Na nossa amostra não foi encontrado expressividade de p53 vinculado com idade ou o sexo do paciente, bem como a com a localização da lesão. O passo seguintes deste trabalho é entre outros, caracterizar com método mais sensíveis a presença de HPV.

ABSTRACT

Oral cancer is the sixth most common cancer in the world, account for approximately 4% of all cancer and 2% of (chiba,1996) all cancer dead. Incidence rates for oral cancer in some metropolitan areas in Brazil are among the highest in the world. Multiple risk factors are involved in the development for the oral cancer. Several epidemiological investigations have shown that chronic exposure to tobacco are one the most risk factors followed by alcohol. Evidence is increasing that some virus, particularly HPV, plays a role in the carcinogenic process, but it is less defined. Individual factors such sex, age as well grade and lesion location have been reported. Numerous studies have pointed to the importance of the tumor suppressor gene in the process of carcinogenesis. In particular, a high incidence of p53 mutation has been demonstrated in tobacco-related cancer, but the role of p53 mutation in the etiology of oral cavity cancer has not yet firmly identified. The p53 mutant forms are more stable and can be detected by immunohistochemistry. Based on that the aim of this study were to investigate the expression of p53 protein in oral lesions from patients from Ceará region, and to correlate that expression with tobacco smoking, histopathologic traces of HPV, age, gender and location of lesions. For that, it was used.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	15
■ Câncer de Boca	16
• Fatores Individuais	19
* Idade	19
* Sexo	19
* Características Genéticas	19
• Bases Genéticas do Câncer	20
* p53	22
* p53 e Câncer	25
• Fatores Externos	28
* Tabagismo	28
* Alcoolismo	29
* Radiações Ionizantes	30
* Dieta	31
* Irritações Mecânicas Crônicas	32
* Agentes Biológicos	32
OBJETIVOS	38
MATERIAIS E MÉTODOS	39
• Imunohistoquímica	40
• Análise Histopatológica	41
• Análise Imunohistoquímica	42
• Análise Estatística	42
RESULTADOS	43
• Expressão de p53	43

	XIV
• Sexo X p53	45
• Idade X p53	47
• Tabagismo X p53	49
• Infecção por HPV X p53	51
• Localização X p53	52
DISSCUSSÃO	55
• p53 X Carcinomas	55
• p53 X Lesões benignas	56
• p53 X Sexo	58
• p53 X Idade	59
• p53 X Tabagismo	59
• p53 X HPV	61
• p53 X Localização	63
CONCLUSÕES	65
PERSPECTIVAS	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
ANEXOS	79
• Tabela geral	80
• Tabela dos carcinomas	81
• Tabela das lesões benignas	82
• Tabela do grupo de referência	83
• Pranchas	84
• Ficha clínica	94

INTRODUÇÃO

O Ministério da Saúde estima que, em 1998, ocorrerão 269.000 novos casos de câncer no Brasil, sendo 140.705 (52,3%) em mulheres e 128.295 (47,7%) em homens. Quanto à mortalidade por câncer, para este mesmo ano, a estimativa é de 107.950 óbitos, dos quais 58.070 (53,8%), entre homens e 49.880 (46,2%) entre mulheres (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1998). Estes números apontam por si a gravidade do problema, transformando o câncer num dos principais problemas de saúde pública do Brasil.

Parte desse quadro se deve à mudança no perfil epidemiológico sofrido nos últimos anos pela população brasileira; fruto, principalmente, de alterações na economia. Hoje, observa-se nas taxas de mortalidade das macroregiões brasileiras, um quadro que oscila entre os índices de um país desenvolvido, em que predominam as mortes por doenças crônicas degenerativas e aqueles de um país subdesenvolvido em que doenças infecciosas e parasitárias são prevalentes. Como exemplo, temos as diferenças entre as regiões Sul e Sudeste em relação à região Nordeste do Brasil, onde nesta última, as doenças infecciosas e parasitárias superam o câncer em 0,02% como causa *mortis* por doença (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1997). Na tabela 1, podemos visualizar a distribuição da mortalidade, por causa de óbitos, no Brasil em 1989.

Tabela 1 - Distribuição proporcional das principais causas de óbitos - Brasil - 1989

Causa	Nº de óbitos	Mortalidade proporcional
Doenças do ap. circulatório	228.790	34,36%
Causas externas	102.252	15,35%
Neoplasmas	80.614	12,11%
Doenças infecto-contagiosas	45.023	6,76%
Afecções perinatais	41.193	6,19%

Fonte: Estatísticas de Mortalidade - Ministério da Saúde -- 1994 *apud* Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde, Instituto Nacional do Câncer / Pro-Onco, Coordenação de Saúde Bucal - "Câncer de Boca", Rio de Janeiro, 1992.

O aumento da expectativa de vida que passou de 33,7 anos no início do século para 68 anos atualmente (Brasil, MPO, IBGE, 1991), o processo de urbanização das grandes cidades, o acesso aos serviços de saúde, melhores condições de higiene e saneamento básico, avanços tecnológicos na área médica, como os antibióticos e as vacinas, bem como melhores condições de moradia, foram variáveis que contribuíram para essa mudança no modo de adoecer e morrer no Brasil.

Assim, ao invés das doenças infecto-contagiosas o brasileiro passou a morrer mais por doenças crônicas degenerativas, como as cardiovasculares e o câncer. Espera-se que com os avanços tecnológicos na área médica, as doenças cardiovasculares deverão diminuir a incidência, passando assim, o câncer, a ser a principal causa *mortis*, por doenças, da população brasileira no próximo século (Lopes et al., 1992).

O Câncer de Boca

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) os cânceres da cavidade bucal e da faringe representam 6% de todos os casos

diagnosticados, sendo que entre os homens esse percentual sobe para 8% e entre as mulheres cai para 4% (Parkin et al., 1987; Parkin et al., 1992).

Esses valores sofrem variações geográficas, como a alta incidência de câncer de lábio em regiões do Canadá ou de algumas regiões da Índia, onde o câncer de boca atinge uma incidência de 40% entre todos os tumores malignos (Parkin et al., 1987; Parkin et al., 1992).

No quadro geral de incidência e prevalência do câncer no Brasil, o câncer de boca encontra-se como o 8º, dentre os de maior prevalência, no período de 1976 a 1985 (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1992). As estimativas para 1998 foram de cerca de 8.100 novos casos, sendo cerca de 1880 destes, na região Nordeste (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1998).

No Nordeste, além dos fatores já citados como a industrialização, a urbanização e o aumento de expectativa de vida, contribuem também para essa alta ocorrência de câncer bucal outros fatores socio-econômicos como, a baixa renda [80% desta população tem rendimento inferior a dois salários mínimos (Brasil, MPO, IBGE, 1991)]; o baixo grau de escolaridade [35 % da população é analfabeta]; a ocupação laboral [34% da população ainda permanece no campo trabalhando na agricultura e na pesca (Brasil, MPO, 1996)] e o sistema público de saúde no qual o acesso aos avanços tecnológicos ainda são muito limitados nesta região.

Como também fatores culturais como hábitos de risco como tabagismo e o alcoolismo que são muito difundidos, principalmente na população rural e de baixa renda (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1995) e a exposição as radiações solares, típicas de uma região tropical. Estes, socio-econômicos e culturais, são fatores que se potencializam, gerando condições para o aumento das taxas de incidência do câncer de boca, nessa região.

Os dados publicados pelo Instituto Nacional do Câncer (INCa), 1987, do Registro Nacional de Patologia Tumoral (RNPT), do período de 1976 a 1985, mostraram maior freqüência de câncer de boca em homens do que em mulheres, e a língua como sítio anatômico mais freqüente (ver tabela 2). Um fato preocupante é que, tanto no período de 1976 a 1985, como de 1986 a 1993, a maioria dos diagnósticos foram dados em fases bastante avançadas

da lesão (estadiamento III e IV da classificação TNM) (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1992; Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1996).

Ainda, em relação aos fatores de risco para o câncer de boca, existem dois fatores que atuam conjuntamente na sua gênese: são os fatores individuais e os fatores ambientais ou externos. Ambos são variados e seus papéis não estão completamente esclarecidos. Fatores ambientais, como os agentes físicos, químicos e biológicos, estão mais documentados, enquanto os fatores individuais como sexo, idade e hereditariedade, estão associados, mas não tão bem esclarecidos. Importante é que é da conjugação multifatorial destas variáveis, associado ao tempo de exposição, que surgem as neoplasias malignas (Franco et al., 1989; Tommasi. & Garrafa, 1980).

Os principais fatores individuais, as bases genéticas do câncer e mais especificamente o gene supressor tumoral p53, como também os principais fatores ambientais que atuam na carcinogênese bucal serão revisados, com o objetivo de fundamentar teoricamente este trabalho.

Tabela 2 - Câncer de boca segundo localizações primárias, no Brasil, de 1976 a 1985

Localizações	Diagnóstico em homens		Diagnóstico em mulheres	
	%	Nº	%	Nº
Língua	32,0	9.490	27,7	2.474
Lábio	27,5	8.159	22,7	2.034
Assoalho bucal	9,5	2.825	8,1	724
Gengiva	6,4	1.899	10,3	925
Partes não especificadas	24,6	7.311	31,2	2.785
Total	100	29.684	100	8.942

Fonte: RNPT/INCa/Ministério da Saúde, 1976 - 1985, Ministério da Saúde -- 1994 *apud* Brasil, Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde, Instituto Nacional do Câncer / Pro-Onco, Coordenação de Saúde Bucal - "Câncer de Boca", Rio de Janeiro, 1992.

Fatores Individuais

Idade

Com aumento da expectativa de vida e o envelhecimento, o indivíduo fica por mais tempo exposto aos agentes cancerígenos, a capacidade de reparo de mutações ou de danos ao DNA das células fica menos eficiente e a capacidade de vigilância do sistema imunológico diminui.

Na literatura em geral é consensual pelo autores, como sendo a partir dos 40 anos de idade o maior risco para o aparecimento dos casos de câncer de boca (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1996; Franco et al., 1989; Li et al., 1996; Kowalski et al., 1991; Sampaio et al., 1985; Garay et al., 1991).

Sexo

Nos boletins de mortalidade do ministério da Saúde (Brasil, MS, FNS/DATASUS, 1998), os homens são mais freqüentemente acometidos por câncer de boca do que as mulheres, chegando a uma relação de 4:1 no Nordeste (Brasil, MS, 1992).

Esta relação é justificada, principalmente, pela maior exposição aos agentes cancerígenos pelo homens. Esse Perfil vem se modificando ano após ano, principalmente depois do avanço das mulheres ao mercado de trabalho, trazendo também alguns maus hábitos que antes eram "privilégios" masculinos, como o fumo e o álcool (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1996; Franco et al., 1989; Kowalski et al., 1991).

Características Genéticas

Foram comprovadas, nos últimos anos, algumas tendências de transmissão hereditária de tumores malignos, como o de mama por exemplo

(Anderson, 1993). Pelo menos até o momento, no entanto, ainda não existe comprovação de que isto ocorra no câncer de boca.

Sabe-se que as características raciais têm um papel coadjuvante no câncer de lábio, pois, devido à menor quantidade de melanina, os brancos têm maior probabilidade de desenvolver esse tipo de neoplasia do que os negros, quando expostos às radiações solares contínuas (Tommasi & Garrafa, 1980; Kowalski et al., 1991). É clara a herança genética de determinadas mutações ou defeitos cromossômicos que predis põem o paciente a desenvolver mais facilmente uma neoplasia maligna. É, neste sentido, que o papel dos mecanismos genéticos envolvidos na carcinogênese deve ser melhor avaliado.

Bases Genéticas do Câncer

As evidências concretas de que o câncer é uma doença genética, foram firmadas no final da década de 50, quando, ainda à luz da microscopia óptica, observava-se as aberrações nucleares presentes em células tumorais, tais como duplicações, triplicações, rearranjos ou deleções de cromossomos. Todas essas alterações, bem como a posterior confirmação da translocação do cromossomo Filadélfia encontrada na leucemia mielóide crônica, firmaram e comprovaram as bases genéticas do câncer (Caballero et al., 1998).

Genericamente, podemos dizer que o câncer ocorre sempre que mutações genéticas acontecem diretamente, alterando o controle de crescimento e diferenciação das células ou indiretamente, impedindo os mecanismos normais de controle e restrição da divisão celular. Portanto, independentemente das causas, as neoplasias apresentam distúrbios no controle do ciclo celular que levam ao aumento do crescimento e proliferação da célula, levando ao surgimento de massas tumorais celulares (Rabenhorst et al., 1993).

Os mecanismos envolvidos nas alterações genéticas que levam ao câncer são classificados em duas categorias: na primeira, estão os

oncogenes e na segunda, os genes supressores tumorais (Caballero et al., 1998).

Os proto-oncogenes são genes celulares que, na maioria das vezes, controlam os mecanismos de crescimento, desenvolvimento e diferenciação normais das células, que, quando alterados por mutações, se convertem em oncogenes dominantes que passam a ser superexpressados, aumentando assim em grande quantidade a concentração de seus produtos na célula.

Os proto-oncogenes podem ser divididos em quatro classes: I- Os fatores de crescimento; II- Os receptores para fatores de crescimento; III- Os transdutores de sinal e IV- Os fatores de transcrição. Mutações, translocações ou ampliações destes ou de regiões onde estes proto-oncogenes estejam, podem levar a uma superexpressão, fazendo com que suas funções sejam amplificadas, desequilibrando, assim, o ciclo celular e, possivelmente, promovendo a carcinogênese (Ver figura 1).

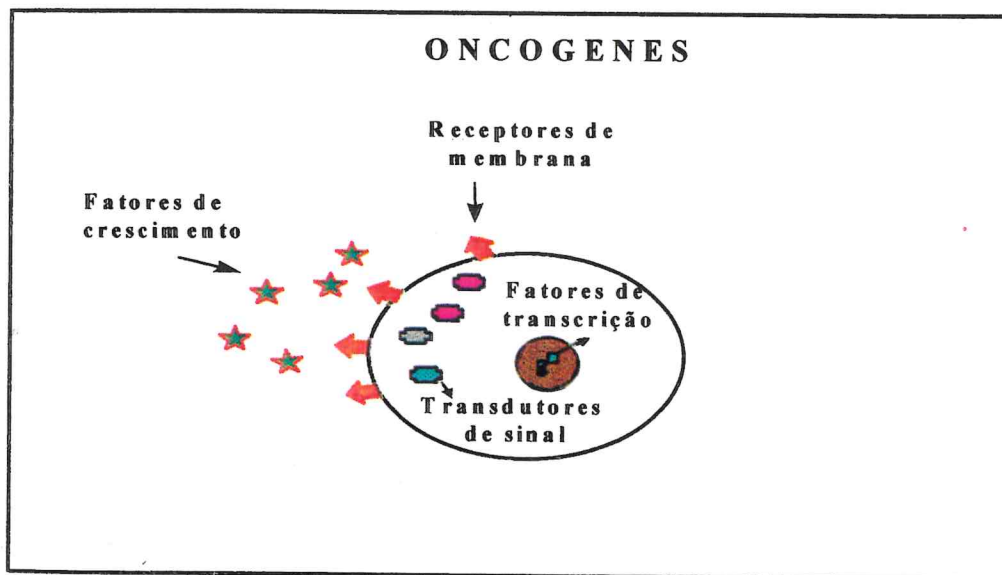


Figura 1 - Classificação dos oncogenes e locais de atuação na célula

Adaptado de Sapp et al., 1997.

Os genes supressores tumorais, contrariamente aos oncogenes, são normalmente genes recessivos e codificam proteínas que atuam em vários níveis de regulação da proliferação e diferenciação celulares. Desta forma,

são capazes de suprimir o comportamento proliferativo das células e, quando inativados, levam ao crescimento não controlado das mesmas.

O primeiro gene supressor tumoral a ser descrito foi o gene Rb (de retinoblastoma), por Knudson em 1971(*apud* Bruce et al., 1997), através de modelos matemáticos, ao observar formas hereditárias do tumor de retina em crianças . Posteriormente, por uso de sondas moleculares, foi observada uma deleção na região 13q14 (Caballero et al., 1998), onde se encontra esse gene, gerando um estado de heterozigose. Assim, uma criança que herdasse essa alteração, mais facilmente poderia sofrer uma mutação somática no outro alelo, gerando condições para o surgimento da neoplasia. Essa deficiência nos dois alelos de Rb é observada em crianças com retinoblastoma (Bruce et al., 1997).

O Rb está associado a várias outras neoplasias, somente em faixas etárias mais avançadas (Bruce et al., 1997; Brentani et al., 1998).

O partir daí, outros candidatos a genes supressores tumorais foram identificados. O mais importante deles, sendo também o mais comumente alterado em neoplasias humanas, é o p53.

p53

O gene supressor tumoral p53 foi descrito inicialmente em 1979, como um oncogene e só posteriormente, em 1989, depois de compreendida sua função, passou a ser classificado como gene supressor tumoral (Velculescu & El-Deiry, 1996). Este gene se localiza no cromossomo 17 na região 17p13.3. Devido à sua habilidade de monitorar o DNA celular, induzindo seu reparo quando possível ou a apoptose celular, tem sido nomeado como "Guardião do genoma" (Lane, 1992).

O gene p53 codifica uma proteína que foi nomeada por seu peso molecular de 53 kDa. É uma fosfoproteína de ação nuclear, composta de 11 exons, que codificam 393 aminoácidos (Arrowsmith & Morin, 1996), existente na sua forma ativa como um tetrâmero, dividida em três regiões: 1- Extremidade NH2 (N-terminal), similar aos fatores de transcrição; 2- Região central, sítio de ligação ao DNA; 3- Extremidade carboxil (C-terminal),

necessária à oligomerização (Arrowsmith & Morin, 1996; Bruce et al., 1997; Cho et al., 1994).

As propriedades bioquímicas da p53 estão intimamente relacionadas às suas funções celulares. A p53 se liga de forma específica ao DNA, por sua porção central, formando complexos estáveis com o DNA lesado de alta afinidade, aumentando sua meia vida, estimulando suas propriedades transcricionais e criando sítios de ligações na sua porção N-terminal para posterior ação de proteínas reparadoras do DNA lesado. (Vogelstein & Kinzler, 1992; Bruce et al., 1997).

A função primordial da p53 é a manutenção da integridade do genoma. Ela não é detectada na célula normal (por esse motivo é que quando foi descoberta, p53 foi descrita como um oncogene), diferente de Rb que é detectado regularmente. Só quando o DNA é lesado por um acidente genético ou por agentes mutagênicos, sejam químicos, físicos ou biológicos, a proteína é induzida em resposta, se acumulando no núcleo, se ligando ao DNA lesado e parando o ciclo celular na fase G1/S, para que seja feito o reparo do DNA alterado. Quando isso não é possível ela dispara o mecanismo de apoptose, ativando outros genes e outras proteínas. (Bates & Vousden, 1996; Vogelstein & Kinzler, 1992).

A atuação de p53 no ciclo celular se dá através da sua afinidade pelo DNA lesado, ativando a transcrição de outro gene que codifica uma proteína de 21kd, chamada p21, que tem alta afinidade por um complexo ciclina E/CDK2 (Quinase dependente de ciclina).

Este complexo ciclina E/CDK2 dirige a passagem da célula da fase G1 para a fase S do ciclo celular (Carson & Lois, 1995; Velculescu & El-Deiry 1996; Heinzl et al., 1996). Portanto, em presença de p53, a célula produz p21, que inativa o complexo E/CDK2, parando a célula em G1, possibilitando que o reparo do DNA seja realizado por outras proteínas. Caso isso não seja possível, p53 dispara a morte celular programada (apoptose), através de outros mecanismos como a ativação transcricional de moléculas como bax e bcl2 para provocar a apoptose celular (Bates & Vousden, 1996).

Outra via de atuação da p21 se dá através de sua ligação ao complexo ciclina D/CDK4, que fosforila Rb. Ligada à p21, este complexo não

ativa a fosforilação de Rb, que é fundamental para ativar o fator de transcrição E2F. O papel de E2F é ativar genes necessários à progressão do ciclo para a fase S (White, 1994).

Assim, estes complexos ciclina/CDK's são necessários à progressão do ciclo celular, e, quando inibidos por p21, fazem o ciclo parar. Além destes caminhos, independentemente, p21 também se liga a PCNA que inibe DNA polimerase que também atuará na parada do ciclo (Guo et al., 1997; Kastan et al., 1991; Vogelstein & Kinzler, 1992).

Estes mecanismos moleculares de p53 atuam, impedindo que uma alteração de DNA seja transmitida como pode ser observado na figura 2.

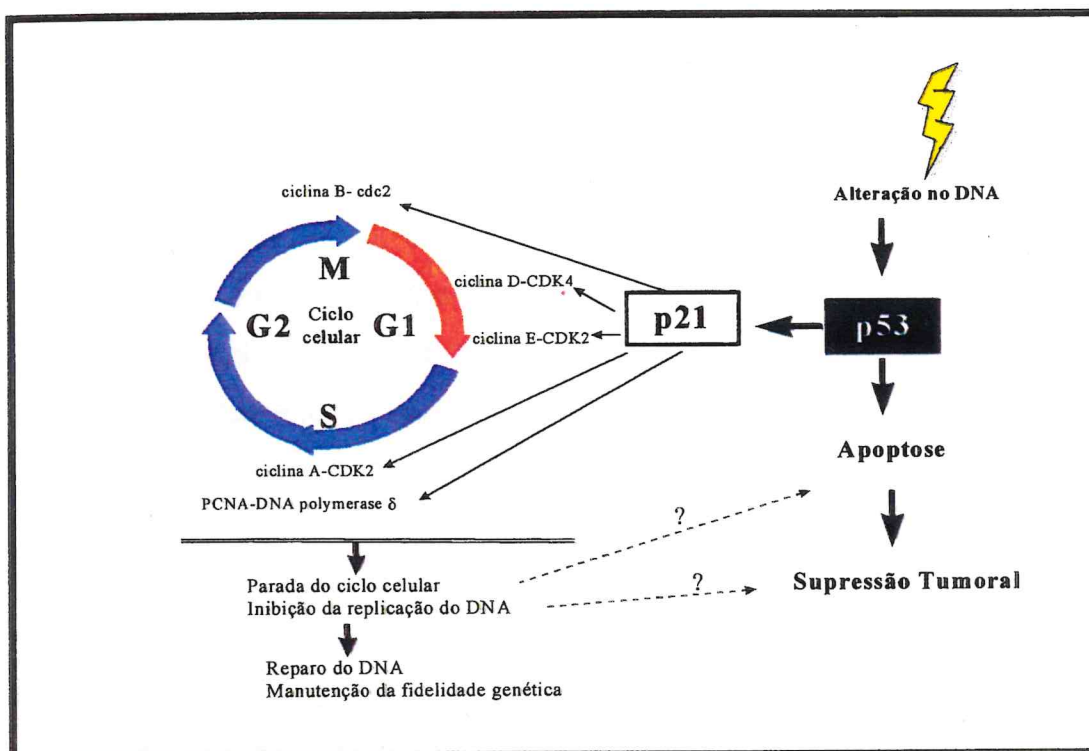


Figura 2 Mecanismo de atuação de p53

Vias moleculares de p53 e p21 que levam à parada do crescimento celular.

Quando ocorre danos ao DNA provocado por agentes químicos, físicos ou biológicos, geram-se condições para a indução da síntese de p53, ela ativar a transcrição e a expressão de p21 que é um inibidor do ciclo celular, pois, p21 se liga a vários complexos de CDK's em diferentes fases do ciclo celular (G1,S ou M), inibindo a atividade destas quinases. Na fase G1, p21 se liga ao complexo ciclina E/CDK2. Assim, este complexo ciclina/CDK necessário à progressão do ciclo celular, inibido por p21, pára o ciclo. (Adaptado de Velculescu & El-Deiry, 1996).

O nível de expressão de p53, bem como a interação de p53 com vários outros genes, determina uma variedade de respostas em diferentes tipos celulares humanos (Velculescu & El-Deiry, 1996).

p53 e Câncer

A mutação de p53 é a alteração genética mais comum nos mais variados tipos de câncer humano, encontrada em média em cerca de 37% de todas as neoplasias, variando de 7% a 85%, dependendo do sítio anatômico (Velculescu & El-Deiry, 1996). Pacientes que apresentam algum tipo de deficiência que interfira na funcionalidade normal da p53, terão predisposição a acumular mutações e rearranjos cromossômicos, que tenderão a levar ao surgimento de células malignas (Caminero et al., 1996; Desaintes et al., 1995; Nylander et al., 1996; Vogelstein & Kinzler, 1992).

A perda de função da p53 pode ocorrer de várias maneiras: 1- deleção de um ou dos dois alelos, como na Síndrome de Li-Fraumeni e no Xeroderma pigmentoso; 2- mutações "nonsense"; 3- mutações "missense", que são mais comuns, provocando redução ou alteração dos tetrâmeros da proteína, podendo alterar a sua funcionalidade; 4- Associação com outras proteínas, como nas infecções pelo HPV, onde a proteína E6 viral tem afinidade pela p53, desativando-a e degradando-a e desta forma impedindo sua ação (Velculescu & El-Deiry, 1996; Crook et al., 1994; Vogelstein & Kinzler, 1992).

A figura 3 esquematiza os diferentes tipos de inativação de p53.

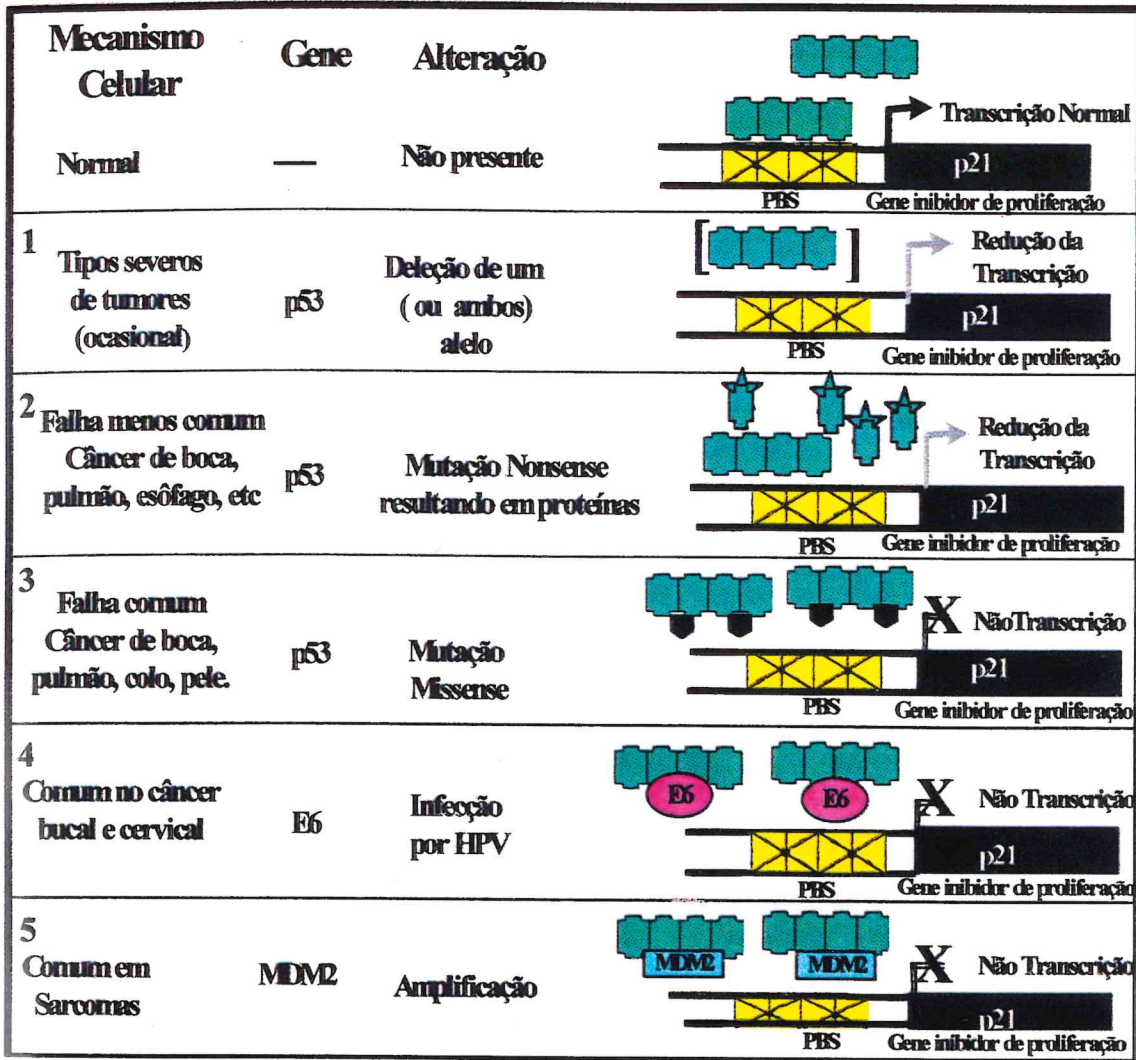


Figura 3 - Mecanismos de inativação p53

p53 atua na forma de tetrâmero se ligando a um sítio de ligação de p53 (PBS), ativando a expressão de um gene inibidor do crescimento (p21 p. ex), que fica adjacente a PBS. Deleção de um ou ambos os alelos de p53 reduzem a expressão dos tetrâmeros, resultando na diminuição da expressão de p21 (1). Mutações “nonsense”, produzem a proteína truncada, impedindo a oligomerização e a formação dos tetrâmeros de p53, assim resultando também na redução de p53 (2). Mutações “missense” resultam em defeitos na proteína, produzindo efeitos negativos que vão determinar uma grande diminuição na atividade e funcionalidade dos tetrâmeros de p53 (3). A ligação de p53 com proteínas, como com E6 do HPV (4) ou com a super expressão do oncogene MDM2 pela célula (5), resultam na inibição funcional de p53, pois esses complexos impedem a ligação de p53 a seu PBS, inibindo a ativação transcricional de p21. E6 também promove a degradação de p53 (Adaptado com modificações e atualizações de Vogelstein & Kinzler, 1992).

As mutações de p53 aparentemente ocorrem em estágios precoces da carcinogênese em tumores do pulmão, de cavidade oral e de glândulas

salivares (Yan et al. 1996; Kärjä et al. 1997), mas em outros tipos de cânceres, como nos linfomas, ela parece ser um evento tardio.

A detecção de mutações de p53 podem ser realizadas por diversos métodos laboratoriais, diretos como pela reação de polimerase em cadeia (PCR) do DNA ou do RNA, seguido pelo seqüenciamento ou por polimorfismo conformacional de simples fita (SSCP), ou indiretos através da Imunohistoquímica, usando anticorpos que detectam o acúmulo da proteína mutante nos tecidos (Velculescu & El-Deiry, 1996).

Os estudos por seqüenciamento direto do gene p53, o método mais preciso para detecção de mutações, sugerem que a maioria das mutações de p53, ocorrem no domínio de ligação ao DNA, localizado entre os exons 5 e 8, (códon 126 a 306) , e correspondem a mais de 85% das mutações de p53. (Greenblat et al *apud* Velculescu & El-Deiry, 1996).

Storey et al., 1998, relataram recentemente que pacientes que tem alteração em um aminoácido na cadeia protéica já podem apresentar inativação de p53 e aparentemente pacientes que têm arginina em lugar de prolina na posição 72 têm sete vezes maior probabilidade de p53 ser inativada por HPV E6, fazendo desta forma que estes pacientes sejam mais susceptíveis aos carcinomas promovidos por papilomavírus.

A proteína p53 não participa do desenvolvimento embriológico normal. Bruce et al. em 1997, referem que ratos que tiveram deleção dos dois alelos de p53 se desenvolvem normalmente, no entanto, desenvolvem câncer antes dos três meses de vida, indicando que a presença de p53 só acontece quando alterações de DNA ocorrem na célula e necessitam de reparo.

A meia vida de p53 tipo selvagem é de poucos minutos no núcleo celular. Quando alterada, a p53 fica mais estável e, aparentemente, esta mutação interfere no seu mecanismo de degradação, pois fica acumulada no núcleo em grande volume. Por essa razão é que, quando detectada por imunohistoquímica, na maioria das vezes, podemos afirmar que o gene p53 está mutado. (Lazarus et al., 1996; Caballero et al., 1998; Loyola et al., 1995).

Dentre os vários métodos utilizados para o diagnóstico de mutações em p53, a imunohistoquímica é o mais utilizado, principalmente pela maior facilidade metodológica e pelo menor custo.

Importante é que, atualmente, alterações da funcionalidade de p53 caracterizam-se como uma importante via de estudo para o diagnóstico precoce, o prognóstico e o tratamento das mais diversas neoplasias malignas em seres humanos (Jin et al., 1998; Murti et al., 1998; Ogden et al., 1997; Matsumura et al., 1996, Leung et al., 1996).

Fatores Externos

Tabagismo

O tabaco encontra-se entre os principais fatores cancerígenos com os quais o homem mantém contato, sendo um agente cancerígeno completo, atuando nas três fases da carcinogênese: iniciação, promoção e progressão do tumor (Brasil, MS. INCA/Pro-Onco, 1996; Franco et al., 1989; Li et al., 1996; Kowalski et al., 1991; Sampaio et al., 1985; Garay et al., 1991).

O tabaco contém na sua composição mais de 4.700 substâncias, tendo, 60 delas, ação carcinogênica, destacando-se os hidrocarbonetos policíclicos e as nitrosaminas, dentre outros elementos químicos como níquel, cádmio, carbono 14 e polônio 210, além dos pesticidas utilizados na lavoura do tabaco como o DDT, por exemplo (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1995; Lopes et al., 1992; Franco et al., 1989).

Em adição à ação carcinogênica química, o cigarro fumado possui ainda uma ação mecânica pelo atrito com a mucosa e, principalmente, uma agressão térmica à mucosa devido às altas temperaturas da fumaça aspirada pela boca e pelas vias aéreas. / Essas três formas de agressão se potencializam em suas capacidades de provocar danos ao DNA dos queratinócitos do epitélio bucal (Franco et al., 1989; Tommasi & Garrafa, 1980).

A última pesquisa brasileira, realizada em 363 municípios do país, estimou uma população de cerca de 30.641.554 fumantes (59% de homens e 41% de mulheres) que representa 32% da população brasileira acima de 15 anos. Esse percentual é maior na zona rural que na zona urbana, e entre as mulheres mais jovens é maior do que nos homens jovens, justificando o aumento crescente de câncer de boca entre as mulheres (IBGE, 1989 in Lopes et al., 1992).

Muscat et al., em 1996, avaliando a diferença entre os gênero em relação ao risco de desenvolver câncer oral, sugere que as mulheres fumantes tenham maior risco que os homens fumantes.

As formas de consumo do tabaco, quer seja mascado, fumado ou aspirado, desempenham um papel diferencial na capacidade de potencializar o risco do tabagista em desenvolver o câncer (Wandenberg et al., 1996; Franco et al., 1989).

No trabalho de Franco et al., 1989, em três cidades brasileiras, foi estimado o risco de desenvolver câncer bucal, para fumantes de cigarro industrializado, cachimbo e cigarro de fabricação manual, em 6,3; 13,9 e 7,0 vezes, respectivamente, maiores que em não fumantes. Já os consumidores de tabaco sem fumaça de longa duração, podem ter o risco aumentado em até 50 vezes em relação aos não tabagistas, principalmente nos casos de câncer de mucosa jugal, onde o tabaco permanece longo tempo em contato com o epitélio.

Lewin et al. (1998), também relataram o efeito multiplicador e interativo do consumo associado de álcool e tabaco no risco de desenvolver câncer de cabeça e pescoço na população sueca.

Além dos fumantes ativos, esse hábito atinge também os fumantes passivos, que correm maior risco que os não fumantes (Franco et al., 1989).

Alcoolismo

Acredita-se que o álcool tenha uma importante participação na carcinogênese, pois, além da ação química dos seus componentes (como

nitrosaminas e hidrocarbonetos) na mucosa oral e gastrointestinal, os consumidores freqüentes de álcool apresentam rotineiramente problemas de desnutrição, o que, segundo Tommasi & Garrafa em 1980, provoca uma atrofia das camadas epiteliais da mucosa bucal, facilitando a agressão de outros carcinógenos.

O INCA (Brasil, MS, INCA/Pro-Onco, 1996) sugere ainda que, localmente, o álcool tem duas ações que potencializam a carcinogênese. A primeira seria uma deficiência imunológica local, e a segunda, um aumento da permeabilidade do epitélio oral, permitindo que outros carcinógenos tenham acesso às camadas mais profundas do epitélio, favorecendo os mecanismos de agressão ao DNA dos queratinócitos da camada germinativa da mucosa oral, principalmente do epitélio da língua, onde se estima seja maior o risco de desenvolver câncer pelos consumidores de álcool.

No trabalho de Franco et al. (1989), foi estimado que os consumidores crônicos de álcool etílico têm um risco de 8,5 a 9,2 vezes maior que os não consumidores, de desenvolver câncer bucal. Estes autores relataram ainda que o álcool etílico e o tabaco têm uma atuação sinérgica, potencializando suas capacidades carcinogênicas. Conjuntamente, o consumo associado de tabaco e álcool elevaria o risco de câncer a cerca de 141,6 vezes, quando comparado aos não consumidores.

No entanto, Lewin et al., em 1998, relatam que o consumo moderado de álcool tem pequeno ou nenhum efeito carcinogênico em não fumantes, em seu estudo caso-controle na população sueca.

Radiações Ionizantes

As radiações ionizantes têm uma grande capacidade de provocar danos no DNA das células animais, sendo conhecido seus efeitos, principalmente depois da descoberta dos raios X e após estudos epidemiológicos, depois da 2ª guerra mundial, quando da chacina atômica em Hiroshima e Nagasaki, com a alta incidência de leucemias e carcinomas naquelas populações.

As radiações solares já foram laboratoriais e epidemiologicamente associadas ao câncer de pele, bem como ao câncer de lábio. A radiação ultravioleta emitida pelo sol provoca queimaduras, eritemas e lesões celulares degenerativas e neoplásicas da pele (Scully et al., 1996; Vivier & Mckee, 1997; Pindborg et al., 1997).

As radiações actínicas em regiões, como o Nordeste brasileiro, que possuem um grande contingente de trabalhadores no campo e na pesca litorânea, se expondo durante toda vida a elas, como já nos referimos anteriormente, representam um relevante carcinógeno no cotidiano de nossas vidas (Sampaio et al., 1985).

Dieta

O mesmo processo de industrialização que trouxe grandes benefícios na qualidade de vida da humanidade, trouxe também mudanças significativas nos hábitos alimentares do povo brasileiro, bem como trouxe diversas substâncias químicas com potencial carcinogênico, principalmente nos alimentos industrializados como os conservantes, por exemplo.

A influência do tipo de dieta tem sido mais objetivamente pesquisada nos casos de câncer gástrico, principalmente em países em que este tipo de câncer tem alta prevalência. Aparentemente, em populações que privilegiam dietas mais ricas em condimentos e em gorduras animais, há maior risco de desenvolver câncer. Por outro lado, as que privilegiam dietas mais ricas em vegetais, como frutas e verduras, têm este risco reduzido (Lopes et al., 1992).

No Nordeste, onde existe diversos bolsões de miséria, onde a fome mata em silêncio muitas crianças, também teria uma importância decisiva, principalmente nos quadros de desnutrição crônicos dessa população, que levariam a deficiências no desenvolvimento orgânico, às deficiências imunológicas, favorecendo assim, indiretamente, as condições para o surgimento de neoplasias (Lopes et al., 1992).

Irritações Mecânicas Crônicas

A discussão sobre a capacidade de irritantes crônicos, como as próteses dentárias totais, serem carcinogênicos vem de longa data e predominou na década de 70. No entanto, hoje sabe-se que os componentes químicos das dentaduras não são carcinogênicos, e que o trauma mecânico também não tem potencial mutagênico (Tommasi & Garrafa, 1980).

A atuação desses irritantes crônicos, como as dentaduras mal ajustadas, as pontas de dentes cariados que traumatizam a mucosa, ou qualquer outro agente traumático crônico, se deve à sua capacidade de lacerar e expor as camadas mais profundas do epitélio bucal, principalmente a camada germinativa, a outros agentes com capacidade carcinogênica como o tabaco, por exemplo (Schütz, 1997).

O fato de 68,5% da população nordestina entre 50 - 59 anos, e 75 % dos acima de 55 anos necessitar ou ser portadora de prótese total (Brasil, MS, 1988), e que, cerca de 80% desta população é de baixa renda, torna o problema da falta ou da má qualidade das próteses totais, uma questão importante a ser abordada dentro da prevenção ao câncer de boca, e portanto um fator facilitador importante a ser considerado no desenvolvimento das neoplasias.

Agentes Biológicos

Sabe-se da capacidade oncogênica dos vírus há mais de 80 anos, desde que se descobriu um vírus que era capaz de provocar sarcomas em galinhas, batizado à época com o nome de vírus do sarcoma de Roux, o qual hoje se sabe ser um retrovírus.

Nas duas últimas décadas, com o grande desenvolvimento das técnicas de genética e biologia molecular, os vírus passaram a ser pesquisados com grande interesse. A associação positiva de alguns deles com lesões malignas tem encorajado ainda mais a busca de explicações sobre os seus mecanismos de patogenicidade e seus potenciais oncogênicos.

Dentre os vírus com atividade oncogênica o vírus Epstein-Barr tem sido associado aos linfomas e aos carcinomas da nasofaringe, o vírus da hepatite B associado ao carcinoma hepatocelular, e o vírus do papiloma humano (HPV) a diversos tipos de carcinomas (Hoppe-Seyler & Butz, 1995).

É o Vírus do Papiloma Humano (HPV), um pequeno (55nm) vírus DNA dupla fita circular, não envelopado, icosaédrico, epiteliotrópico, no entanto, o que mais tem sido pesquisado, pois, tem sido fortemente associado aos carcinomas das mucosas cervico-vaginal, ano-retal, peniana e bucofaringeana (Franceschi et al. 1996; Hoppe-Seyler & Butz, 1995; Miller & White, 1996; Busby-Early et al., 1994).

Esse grupo de vírus é formado por mais de 100 tipos que infectam seres humanos e animais. Cerca de 75 tipos têm capacidade de infectar seres humanos e foram numerados por ordem de descoberta. Essa classificação, para diferenciá-los, foi baseada na homologia da seqüência de DNA, avaliada por técnica de hibridização (Jacynoto et al., 1994).

Os tipos de HPV são responsáveis por várias manifestações benignas como os papilomas, condilomas acuminados ou as hiperplasias epiteliais focais.

Entretanto, é como fator de risco, pelo potencial carcinogênico, que apresenta para as lesões epiteliais malignas de diversos sítios anatômicos, que ele mais tem sido estudado. A associação positiva já foi estabelecida por diversos trabalhos epidemiológicos para o câncer de colo do útero (Naud et al., 1994; Mendonza-Alcantar et al., 1994; Shih et al., 1988; Munoz et al., 1992; Crook et al., 1994). A própria Organização Mundial da Saúde (OMS), em 1992, já reconheceu a infecção pelo HPV como a principal causa do câncer cervical.

A diferenciação da manifestação clínica e do quadro histopatológico se dará dependendo do tipo do vírus causador. Os tipos 2, 6 e 11, por exemplo, provocam condilomas exofíticos e são classificados como de baixo risco. Já os tipos 16, 18, 31, 33, 35, 45 e 52, de alto e médio risco, são encontrados mais comumente nos condilomas planos, nos carcinomas intra-epiteliais (displasias epiteliais leves, moderadas e severas) e nos invasivos (Palefsky et al., 1995; Padayachee et al., 1995; Miller & White, 1996).

À luz da microscopia óptica, por técnicas de citologia ou de histopatologia, é possível observar várias alterações celulares e teciduais provocadas pela infecção deste grupo de vírus, principalmente nas lesões proliferativas, quando a infecção é produtiva, estes achados citológicos e histopatológicos são rotineiramente chamados de sinetes ou vestígios citohistopatológicos de infecção por HPV, manifestam-se como graus variados de acantose, hiperqueratose, papilomatose e displasias nas camadas epiteliais, bem como atipias nucleares, hiperchromasias, mitoses atípicas, coilocitose, bi ou multinucleação e disqueratose nos queratinócitos (Pfister, 1996; Loreto et al., 1992; Naud et al., 1994; Ferenczy & Jenson, 1996; Park et al., 1996). Ver as figuras 22, 23, 24, 25, 26 e 27.

Estudos em bases mundiais, utilizando metodologias biomoleculares como a reação de polimerase em cadeia (PCR) e a hibridização de DNA *in situ*, detectaram DNA de HPV em mais de 93% dos carcinomas de cérvix uterina. O tipo 16 é prevalente com 50% dos casos, seguido pelo tipo 18 com 14% e o 45 com 8% (Munoz et al., 1992).

Em uma importante revisão da literatura mundial, feita por Miller & White em 1996, de 58 trabalhos publicados sobre epidemiologia do papilomavírus humano na mucosa oral, no período de setembro de 1995 a julho de 1996, considerando as diversas técnicas de detecção viral, encontraram os seguintes dados como média geral: 13% do epitélio normal apresentava DNA de HPV; lesões benignas apresentavam 14,8 %; neoplasias *in situ* 18,5%; e os carcinomas de células escamosas invasivos 27,2%. Os autores afirmaram ainda que quando se considerou apenas os trabalhos que usaram o PCR, todos esses percentuais aumentaram (Miller & White 1996).

O HPV normalmente infecta os queratinócitos como um plasmídeo. Seu DNA dupla fita circular atua no núcleo da célula hospedeira, quando permissiva, interferindo no seu ciclo celular, estimulando a entrada da célula na fase S, desta forma obtendo dela as proteínas que lhe faltam para a sua reprodução (Busby-Early et al., 1994). É agindo como plasmídeo que o HPV provoca as lesões benignas do epitélio, como os condilomas, papilomas ou

as verrugas. Nestas há um baixo potencial de transformação carcinomatosa (Turek & Smith, 1996; Miller & White, 1996).

O problema surge, quando por algum motivo que não se sabe ainda, ocorre a integração aleatória do DNA viral ao genoma da célula hospedeira. Nesta forma integrada, a infecção não é produtiva, mas terá um papel importante na carcinogênese (Busby-Early et al., 1994; Dalal et al., 1996).

Esse papel se deve ao fato da ruptura do DNA circular do vírus normalmente ocorrer entre os genes E1 e E2, deixando invariavelmente preservados os genes E6 e E7, que estão localizados imediatamente após a seqüência regulatória da replicação do DNA viral. Desta forma, as proteínas E6 e E7 ficam sendo produzidas ininterruptamente dentro da célula, isso porque o gene E2, que regula a transcrição do genoma viral, invariavelmente perde sua função por causa da ruptura de parte dele, quando da integração (Villa, 1998). Ver figura 4.

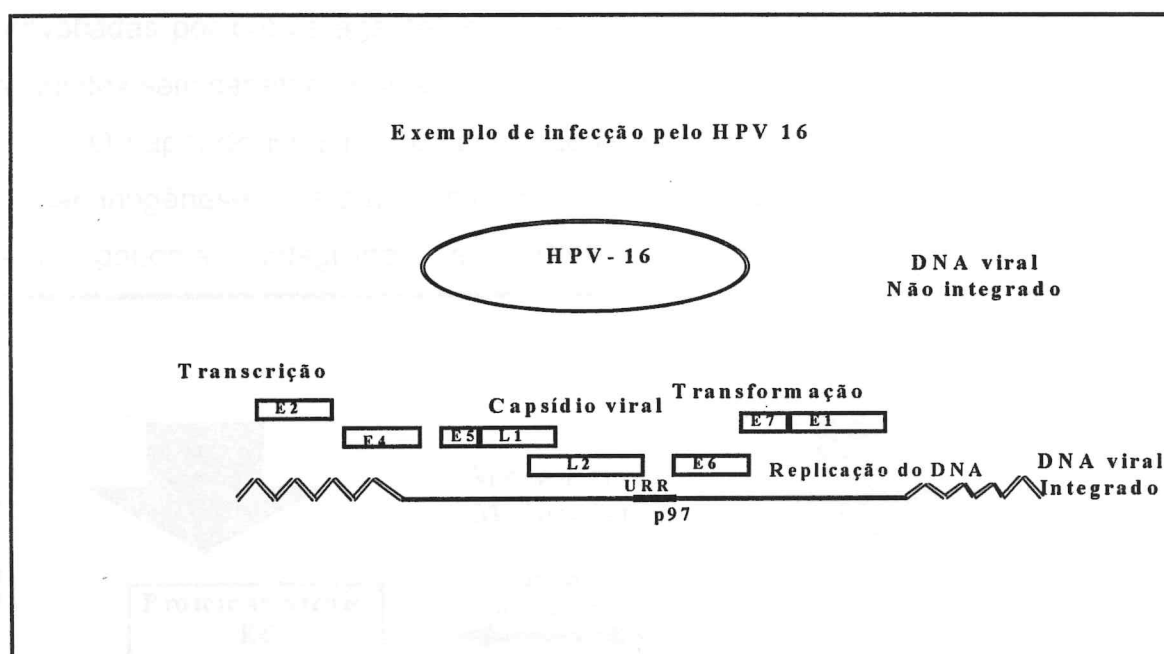


Figura 4 - Exemplo de infecção por HPV (tipo 16)

1- Região controle longa - Replicação e expressão genética do HPV

2- Região genética precoce viral, E1 e E2 replicação do genoma viral e controle transcricional, E6 e E7 alterações no padrão de crescimento, diferenciação, transcrição e ciclo celular da célula hospedeira, E5 modula a divisão celular a partir da membrana e o E4 desestabiliza a rede de microfilamentos facilitando a liberação dos vírus, expressão tardia

3- Região tardia, L1 e L2, codificam as proteínas do cápsideo viral, camada espinhosa e granulosa.

Fonte: Adaptado de Turek, L.P.; Smith, E.M. Programação genética dos papilomavírus humanos genitais na infecção e no câncer, Papilomavírus II. Clin. Obst. E Ginec. De Amer. Do Nort., 1996

Nessa integração do genoma viral ao genoma celular, é que reside o potencial carcinogênico do HPV, pois são as proteínas virais E6 e E7 que têm afinidade bioquímica por duas proteínas celulares, respectivamente p53 e Rb, inibindo-as funcionalmente e degradando-as (Villa, 1998; Miller & White, 1996; Franceschi et al., 1996; Storey et al., 1998; Crook et al., 1994; Busby-Early et al., 1994).

Essas proteínas, p53 e Rb, têm um importante papel no mecanismo de regulação e controle do ciclo celular, promovendo a parada do ciclo para reparo de alterações no DNA celular ou promovendo a apoptose da célula danificada, como já foi descrito anteriormente (Hickman et al., 1994; Villa, 1998; Chiba et al., 1996).

Assim, quando o DNA do HPV está integrado, a célula pode ficar saturada de proteínas virais E6 e E7, não permitindo que os genes supressores tumorais executem suas funções. Desta forma, mutações provocadas por outros agentes poderão passar para as gerações celulares seguintes sem serem corrigidas (ver figura 3).

O papel do HPV não é como agente mutacional, nem como iniciador da carcinogênese, mas atua como um importante fator promotor quando tem seu genoma integrado ao DNA humano. (ver figura 5).

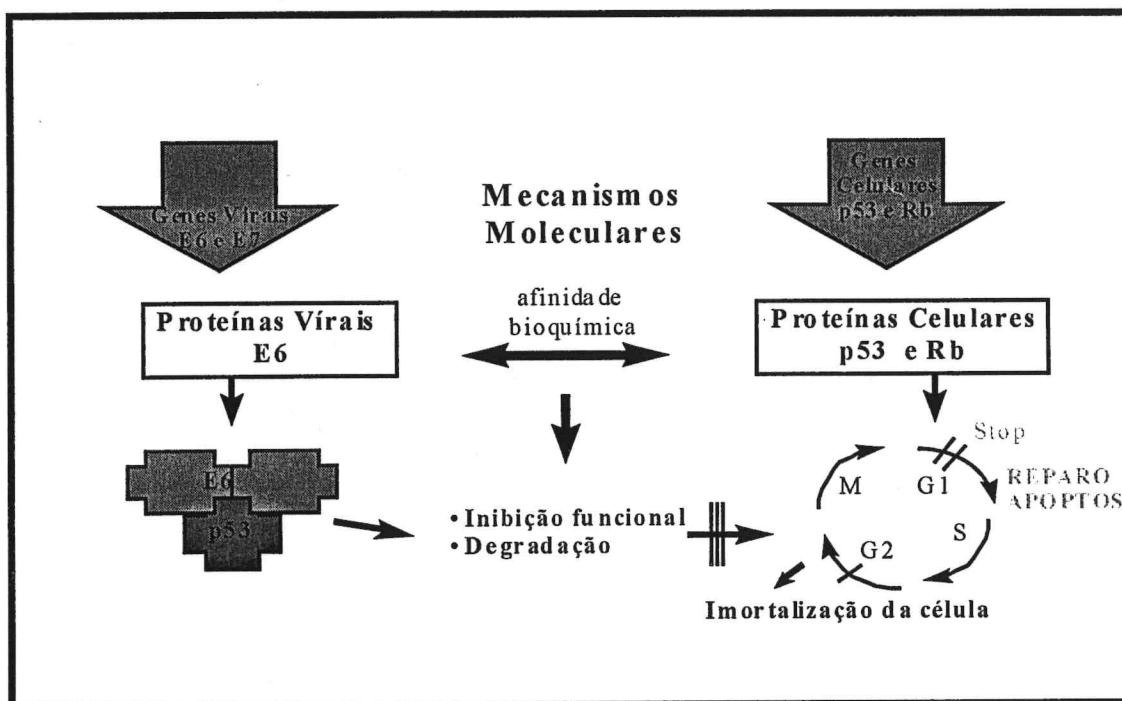


Figura 5 - HPV e carcinogênese

A atividade das proteínas virais, E6 e E7, dentro do ciclo celular se dará pela inibição e degradação das proteínas celulares p53 e Rb, impedindo assim dois importantes mecanismos de regulação da proliferação e do reparo da célula.

Baseados nos fatores abordados anteriormente, considera-se o estudo das possíveis mutações de p53 um importante parâmetro a ser aprofundado na busca de resolução para o problema do câncer.

Neste sentido, foi proposta a realização de um estudo das mutações de p53 em uma amostra de nossa população, por imunohistoquímica, com pré-tratamento em microondas, principalmente pela maior facilidade metodológica e pelo menor custo.

Segundo Greenblat et al., *apud* Velculescu & El-Deiry, 1996, a pesquisa da p53 pelo método da imunohistoquímica apresenta grande sensibilidade para detectar a forma mutante de p53 em 75% dos casos das mutações. Entretanto outras mutações, como deleção dos dois alelos, formas truncadas ou ligações de p53 com outras proteínas que impeçam o sítio de ligação do anticorpo, não vão ser detectadas por imunohistoquímica.

Dowell & Odgen, 1996, apresentaram um estudo importante, discutindo o uso da recuperação antigênica em imunohistoquímica, com microondas ou autoclave, e revelaram que, com esse pré-tratamento, a sensibilidade do método é aumentada em três vezes.

leção

3- Conclusões e perspectivas

(antes) histopatológico

Humano (HPV).

OBJETIVOS

Este trabalho, considerando o problema do câncer bucal e alguns dos fatores individuais e ambientais (fumo e HPV) envolvidos na sua gênese, tem por objetivos:

- 1- Pesquisar, por imunohistoquímica, a ocorrência de expressão da proteína p53 em lesões proliferativas benignas e carcinomas da mucosa bucal, em uma amostra de pacientes de uma região tropical.
- 2- Correlacionar os achados da expressão de p53 entre um grupo de lesões proliferativas benignas, um de carcinomas e um terceiro, de referência, e todos estes, com as seguintes variáveis clínicas dos pacientes da amostra: sexo, idade, hábito de fumar e localização da lesão.
- 3- Correlacionar a expressão de p53 nos grupos, com os vestígios (sinetes) histopatológicos de infecção pelo Vírus do Papiloma Humano (HPV).

MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra¹ foi constituída de 85 biópsias de mucosa bucal colhidas de pacientes que freqüentam por livre escolha, o serviço odontológico do Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará (IPCC)-SUS, Fortaleza - Ceará, no período de novembro de 1996 a março de 1998. O critério de seleção foi a presença de lesões de mucosa bucal benignas ou malignas.

A amostra foi composta de 48 mulheres e 37 homens, com idade variando entre 16 a 91 anos, com média de 52,8 anos, de baixa renda, 78% com renda mensal inferior a dois salários mínimos. As informações clínicas referentes aos pacientes foram anotadas em ficha clínica individual (anexo).

A amostra foi classificada em três grupos, seguindo a orientação da Organização Mundial da Saúde (OMS) em sua última classificação histológica de pré-câncer e câncer da mucosa oral (Pindborg et al., 1997), sendo o primeiro de lesões de origem traumática/inflamatórias, sem potencial de malignidade e sem agentes etiológicos com potencial carcinogênico, como as hiperplasias fibrosas, fibroepiteliais e mucocelos (ver em anexo as figuras 6a, 6b, 7, 8, 9a e 9b), composto de 15 casos, que por apresentarem o epitélio íntegro e dentro dos padrões próximos da normalidade, constituiu-se em nosso grupo de referência (grupo 1); o segundo de lesões proliferativas benignas, compreendendo neoplasias benignas, como os papilomas e condilomas e lesões pré-neoplásicas como as estomatites nicotínicas, leucoplasias e líquen plano (ver em anexo as figuras 10, 11, 12, 13, 14 e 15,), classificadas genericamente, aqui, como lesões benignas constituído

¹ O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará.

por 36 casos (grupo 2) e o terceiro grupo (grupo 3), 34 casos, formado pelos carcinomas de células escamosas da boca (ver em anexo as figuras 16, 17, 18, 19, 20 e 21).

As biópsias incisionais ou excisionais, após realizadas, foram acondicionadas em frascos de vidros, contendo formol a 10%, neutro, que após fixação foram processadas e incluídas em parafina, onde foram emblocadas, cortadas em micrótomo manual rotativo e coradas em Hematoxilina e Eosina, para definição do diagnóstico histopatológico

Posteriormente, foram realizados cortes de 4 micrômetros colocados em lâminas previamente tratadas com organosilano, para processamento imunohistoquímico.

Imunohistoquímica

A detecção de antígeno p53 foi realizada usando a técnica APAAP para imunohistoquímica, seguindo a seguinte metodologia:

- 1- Desparafinização em Xilol por 3 X 10 minutos.
- 2- Hidratação em álcool etílico decrescente, álcool 100% 5 min, Álcool a 95% 5 min, Álcool 70% 5 min e lavagem em água corrente por 5 minutos.
- 3- Recuperação antigênica, segundo Dowell & Odgen (1996), dos cortes em ambiente de microndas por 7,5 min em potência máxima, os cortes mergulhados em tampão citrato (pH 6,0).
- 4- Lavagem em TBS por 5 minutos.
- 5- Incubação em Soro normal de coelho 1/50 em BSA/TBS a 10% durante 20 minutos em câmara úmida.
- 6- Incubação do anticorpo primário, rato anti-p53 (DO-7, Dakopatts, Ca, USA), que reconhece epítomos residentes entre os aminoácidos 35 a 45 de p53 humana tipo selvagem ou tipo mutante (Vojtesek et

al., In Ibrahin et al., 1996), diluição 1/50, em BSA/TBS a 5%, 16-18 hs, em câmara úmida.

7- Incubação do anticorpo secundário, coelho anti-rato (Dakopatts Z 259) diluição 1/50 em BSA/TBS a 5% durante 30 minutos.

8- Incubação em APAAP 1/50 em BSA/TBS a 5% durante 30 min, em câmara úmida.

9- Intensificação da coloração, com repetição dos passos 6, 7 e 8 por 3 X 10 minutos.

10- Incubação em substrato* durante 20 minutos

11- Contra-coloração com hematoxilina de Mayer.

12- Montagem em glicerolgel.

OBS. Todas as incubações foram seguidas de lavagens em TBS por 5 minutos

*Substrato

Naftol AS-MX fosfato	- 2mg
Dimetilformamida	- 0,2ml
Tris 0,1M pH8,2	- 9,8ml
Levamisol 1M	- 10 μ l
Fast-Red TR	- 10mg

A solução foi Preparada dissolvendo-se o naftol AS-MX em dimetilformamida num tubo de vidro. Adicionando-se o tampão Tris pH 8,2 e o Levamisol para bloquear a atividade endógena da fosfatase alcalina.

Foi utilizado como controle positivo, um Carcinoma de células escamosas de boca, previamente positivo para p53. Como controle negativo para cada reação, foi retirado o anticorpo primário.

Análise Histopatológica

A leitura das lâminas coradas em HE foi realizada em microscópio óptico (Nikon), para definição do diagnóstico histopatológico, posteriormente

realizou-se a leitura de todas as lâminas, por três profissionais separadamente, que avaliaram o epitélio das lesões em busca de alterações sugestivas de infecção por Papilomavírus humano (HPV), utilizando os critérios citohistopatológicos descritos na literatura (Loreto et al. 1992) (ver em anexo as figuras 22, 23, 24, 25, 26 e 27), quando haviam discordância fazia-se uma reavaliação, até chegar-se ao consenso, entre os profissionais.

Análise Imunohistoquímica

A leitura das lâminas de imunohistoquímica para p53, foram feitas em microscópio óptico e classificadas em positivas para expressão de p53 e negativas. As que coraram positivamente foram sub-classificadas por intensidade de coloração usando como critério a contagem dos núcleos corados em 10 campos aleatórios do epitélio da lesão (contagem subjetiva), classificados em fracamente positivas, 5 a 20%, moderadamente positivas, 20 a 60% e fortemente positivas, acima de 60%. as lesões que apresentavam menos de 5% dos núcleos corados ou que apresentavam coloração inespecífica foram consideradas negativas.

Análise Estatística

Os dados foram agrupados e analisado estatisticamente, submetidos ao teste do χ^2 , teste exato de Fisher e χ^2 de Mc Newman, para verificação de correlação entre a expressão da proteína p53 e os demais dados dos pacientes, como idade, sexo, localização da lesão, hábito de fumar e sinetes histológicos para infecção por HPV.

RESULTADOS

Expressão de p53

A detecção por imunohistoquímica da proteína p53 foi observada em 32,9% (28/85) dos 85 casos pesquisados, sendo que no grupo referência foi positiva apenas em um caso, 6,7% (1/15), nas lesões benignas foi positiva em 22,2% dos casos (08/36) e o grupo dos carcinomas foi positivamente corado em 55,8% dos casos (19/34), sendo que destes 78,9% coraram forte ou moderadamente (15/19), havendo correlação significativa entre a detecção do acúmulo de p53 em carcinomas e a não detecção da expressão de p53 nas lesões benignas e no grupo referência (ver tabelas 3 e 4).

Em geral, a marcação para p53 foi nuclear, homogênea e não havendo marcação de qualquer estrutura que não fossem as células epiteliais. Nas lesões benignas (grupo 2) a maioria das marcações mostraram-se negativas (figuras 28, 29, 30 e 31), neste grupo, as lesões que coraram positivamente, se deram de forma tênue e localizadas na camada basal e parabasal do epitélio (figuras 32 e 33).

Nos carcinomas, a marcação positiva, em geral, foi mais intensa. Nestes, observou-se que os que apresentavam padrões bem diferenciados com pérolas de queratina, a marcação positiva se deu apenas nas camada de células germinativas basais e parabasais (figuras 34, 35, 36 e 37), havendo também padrões difusos em toda a lesão, onde, em algumas áreas apresentavam células intensamente positivas e em outras áreas próximas, as células neoplásicas apresentavam-se negativas (figuras 38, 39, 40 e 41), bem como foi possível observar que em alguns caso a margem transicional

da lesão apresentava epitélio displásico com intensa coloração, ao mesmo tempo que o epitélio normal sobre a lesão apresentava células espaçadas na camada basal, positivamente coradas para p53 (figuras 42, 43, 44 e 45)

Tabela 3 - Número e percentual de pacientes, agrupados segundo o tipo em grupo de referência, lesões benignas e carcinomas da mucosa bucal, relacionados com a expressão por imunohistoquímica da proteína p53.

Tipo	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Referência	1	6,7	14	93,3	15	42,4
Benignas	8	22,2	28	77,8	36	17,6
Carcinoma	19	55,8	15	44,2	34	40,0
Total	28	32,9	57	67,1	85	100

P<0,001 $\chi^2 = 14,66$ G.L. = 2

Dentre as lesões que coraram positivamente nos três grupos, encontrou-se correlação significativa entre os grupos e a intensidade de coloração de p53. Aqui as lesões moderada e fortemente coradas foram agrupadas em um só grupo e chamadas de **forte**, para obtermos maior representação estatística e como também esse agrupamento não comprometer o significado da expressão de p53.

O grupo de referência e o grupo das lesões benignas quando expressaram p53, fizeram-no fracamente em 88.9% (8/9) e nestes casos a expressão se localizava na camada basal do epitélio, como já referido. Na amostra, apenas um caso de lesão benigna corou moderadamente, esse caso foi de uma jovem de 20 anos, que não fuma, não bebe, não usa prótese, não apresenta sinetes histológicos para HPV e a lesão se localizava na língua, a única justificativa para esse resultado é por que era uma leucoplasia de nove anos de evolução, essa paciente deve ser

acompanhada. Enquanto que o grupo das lesões malignas expressou p53 fortemente em 78,9% (Tabela 4).

TABELA 4 - Número e percentual de pacientes que expressaram positivamente a proteína p53, agrupados segundo o tipo em: grupo de referência, lesões benignas e carcinomas da mucosa bucal, correlacionados com a intensidade de coloração.

<i>Tipo</i>	<i>p53+(forte)</i>		<i>p53+(fraco)</i>		<i>Total</i>	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Referênci	0	0,0	1	100	1	3,6
a						
Benignas	1	12,5	7	87,5	8	28,6
Carcinom	15	78,9	4	21,1	19	67,8
as						
Total	16	57,1	12	42,9	28	100

P<0,001 $\chi^2 = 11,53$ G.L. = 2

Sexo X p53

Em relação ao sexo dos pacientes, as mulheres que representavam 56,4% da amostra (48/85), apresentaram menor percentual de positividade que os homens; foram p53 positivas em apenas 15% (13/85) do total de casos; Já os homens, 43,6% (37/85) da amostra total, apresentaram positividade em 17,6% (15/85) do total, o que representa 27% (13/48) dentro da amostra feminina e 40,5% (15/37) dentro da amostra masculina. Dentro dos grupos as mulheres obtiveram os seguintes percentuais de positividade, 10% (1/10) no grupo referência, 21,7% (5/18) nas lesões benignas e 46,6% (7/15) nos carcinomas e os homens nenhum caso no grupo de referência, 23% (3/13) nas lesões benignas e 63,2% (12/19) nos carcinomas. Portanto

não foi constatada correlação significativa entre sexo e expressão de p53 em nenhum dos grupos, conforme tabelas 5, 6, 7 e 8.

TABELA 5 - Pacientes agrupados segundo o sexo em relação à expressão de p53

Sexo	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Homens	15	40,5	22	59,5	37	43,5%)
Mulheres	13	27,1	35	72,9	48	56,5%)
Total	28	32,9	57	67,1	85	100

P=0,19 (NS) $\chi^2 = 1,71$

TABELA 6 - Pacientes do grupo de referência, agrupados segundo o sexo em relação à expressão de p53.

Sexo	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Homens	0	0,0	5	100	5	33,3%
Mulheres	1	10,0	9	90,0	10	66,7%
Total	1	6,7	14	93,3	15	100

P=0,66 (NS) $\chi^2 = 0,54$

TABELA 7 - Pacientes com lesões benignas, agrupados segundo o sexo em relação à expressão de p53.

Sexo	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Homens	3	23,1	10	76,9	13	36,1
Mulheres	5	21,7	18	78,3	23	63,9
Total	8	22,2	28	77,8	36	100

P=0,61(NS) $\chi^2 = 0,01$

TABELA 8 - Pacientes com carcinoma espinocelular da mucosa bucal, agrupados segundo sexo em relação à expressão de p53.

Sexo	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Homens	12	63,2	7	36,8	19	55,9
Mulheres	7	46,7	8	53,3	15	44,1
Total	19	55,9	15	44,1	34	100

P=0,33(NS) $\chi^2 = 0,92$

Idade X p53

Na amostra pesquisada, a idade média foi de 52,8 anos, com intervalo variando de 16 a 91 anos. Em relação aos grupos, o de referência, apresentou idade média de 42,4 anos, o grupo das lesões benignas de 46 anos e o de carcinomas de 63,7 anos. A idade média de todos os pacientes p53 positivos foi de 60,5 anos e dos p53 negativos foi 48,8 anos; no grupo 2 (lesões benignas) foi de 50 anos, para p53 positivo e 44,8 anos, para p53 negativo; no grupo 3 (dos carcinomas) foi de 64,6 anos, para as p53 positivas e 62,4 anos, para os p53 negativos.

Os grupos foram divididos em duas faixas etárias, abaixo de 40 anos e acima de 40 anos (isto porque há um certo consenso de ser a partir desta idade o maior risco para desenvolver câncer bucal) e correlacionados com a expressão de p53. Genericamente pôde-se afirmar que a expressão de p53 é diretamente proporcional à idade do paciente, mas não mantém significância entre idade e expressão de p53, na amostra. Por grupo, essa correlação entre idade e expressão de p53 não foi significativa. Ver tabelas 9, 10 e 11.

TABELA 9 - Pacientes do grupo de referência, agrupados segundo a idade em relação à expressão de p53.

Faixa Etária	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<40 anos	0	0,0	7	100	7	46,7
40 ou >	1	12,5	7	87,5	8	53,3
Total	1	6,7	14	93,3	15	100

P=0,53(NS) $\chi^2=0,94$

TABELA 10 - Pacientes com lesões benignas da mucosa bucal, agrupados segundo a idade em relação à expressão de p53.

Faixa Etária	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<40 anos	2	13,3	13	86,7	15	41,7
40 ou >	6	28,6	15	71,4	21	58,3
Total	8	22,2	28	77,8	36	100

P=0,25(NS) $\chi^2=1,18$

TABELA 11 - Pacientes com carcinoma espinocelular da mucosa bucal, agrupados segundo a idade em relação à expressão de p53.

Faixa Etária	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<40 anos	1	33,3	2	66,7	3	8,8
40 ou >	18	58,1	13	41,9	31	91,2
Total	19	55,9	15	44,1	34	100

P=0,41(NS) $\chi^2=0,68$

Tabagismo X p53

Os fumantes representavam 58,8% (50/85) do total da amostra pesquisada; destes 50% foram p53 positivos; dos 35 não fumantes da amostra só 3 foram p53 positivos e não eram carcinomas. Na amostra geral foi encontrada correlação altamente significativa ($P=0,0001$) entre a detecção da expressão da proteína e o hábito de fumar. O hábito de fumar apresentou-se distribuídos por grupo da seguinte forma: 13,3% (2/15) no de referência; 47,2% (17/36) nas benignas e 91,2% (31/34) nos carcinomas, eram de fumantes. Ao Correlacionar-se o tabagismo com a expressão de p53, observou-se correlação altamente significativa ($P=0,001$) entre a expressão da proteína e o hábito de fumar no grupo dos carcinomas. Neste grupo todos os carcinomas que expressaram p53 eram de fumantes, e os três casos de não fumantes foram p53 negativos.

Nas lesões benignas que foram p53 positivas e os pacientes eram fumantes, a detecção desta expressão foi fraca e sempre localizadas na camada basal do epitélio, 75% (6/8), Ver tabelas 12, 13, 14 e 15.

TABELA 12 - Amostra geral dos Pacientes, segundo o hábito de fumar em relação à expressão de p53.

Hábito	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Fumantes	25	50	25	50	50	58,8
Não Fumantes	3	8,6	32	91,4	35	41,2
Total	28	32,9	57	67,1	85	100

$$\chi^2 \quad 14.18 \quad P < 0.0001$$

TABELA 13 - Pacientes do grupo Referência, agrupadas segundo o hábito de fumar em relação à expressão de p53.

Hábito	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Fumantes	0	0,0	2	100	2	13,3
Não Fumantes	1	7,7	12	92,3	13	86,7
Total	1	6,7	14	93,3	15	100

P=0,86(NS) $\chi^2 = 0,16$

TABELA 14 - Pacientes com lesões benignas da mucosa bucal, segundo o hábito de fumar em relação à expressão de p53.

Hábito	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Fumantes	6	35,3	11	64,7	17	47,2
Não Fumantes	2	10,5	17	89,5	19	52,8
Total	8	22,2	28	77,8	36	100

P=0,08(NS) $\chi^2 = 3,18$

TABELA 15 - Pacientes com carcinoma espinocelular da mucosa bucal, agrupados segundo o hábito de fumar em relação à expressão de p53.

Hábito	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Fumantes	19	61,3	12	38,7	31	91,2
Não Fumantes	0	0,0	3	100	3	8,8
Total	19	55,9	15	44,1	34	100

P<0,001 $\chi^2 = 4,17$

Infecção por HPV X p53

Os aspectos citohistopatológicos utilizados para considerar a presença de infecção por HPV foram observados em 48,2% (41/85) do total da amostra, sendo 26,7% (4/15) no grupo de referência; 63,9% (23/36) nas benignas e 50% (17/34) nos carcinomas.

Com relação à infecção por HPV e a expressão de p53, observou-se que 53,5% (15/28) das lesões que expressaram p53 eram também HPV sugestivas. Ressalta-se que 30,4% (7/23) dos casos sugestivos de HPV no grupo das lesões benignas foram também p53 positivas. Neste grupo, observou-se significância entre os sinetes histológicos de HPV e a expressão de p53.

É importante chamar a atenção que, 7 dos 8 casos p53 positivos do grupo de lesões benignas foram fracamente positivos e destes sete, seis eram também fumantes (ver figuras 46, 47, 48 e 49). No grupo dos carcinomas, dos 19 que expressaram p53, 36,8% (7/19) também apresentavam sinetes sugestivos para HPV. Neste grupo não houve correlação significativa entre infecção por HPV e expressão de p53 (tabelas 16, 17 e 18).

TABELA 16 - Pacientes do grupo de referência, agrupados segundo os sinetes histopatológicos de infecção pelo HPV e à expressão de p53.

HPV	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Sugestivo de HPV	1	25,0	3	75,0	4	26,7
Não Sugestivo de HPV	0	0,0	11	100	11	73,3
Total	1	6,7	14	93,3	15	100

P=0,27(NS)

Fisher = 2,95

TABELA 17 - Pacientes com lesões benignas da mucosa bucal, agrupadas segundo os sinetes de infecção pelo HPV e à expressão de p53

HPV	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Sugestivo de HPV	7	30,4	16	69,6	23	63,9
Não Sugestivo de HPV	1	7,7	12	92,3	13	36,1
Total	8	22,2	28	77,8	36	100

P < 0,05 $\chi^2_{mn} = 12,5$

TABELA 18 - Pacientes com carcinoma espinocelular da mucosa bucal, segundo os sinetes de infecção pelo HPV e à expressão de p53

HPV	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Sugestivo de HPV	7	50,0	7	50,0	14	41,2
Não Sugestivo de HPV	12	60,0	8	40,0	20	58,8
Total	19	55,9	15	44,1	34	100

$\chi^2_{mn} < 3,84$ (NS)

Localização X p53

A distribuição por sítio anatômico de nossas lesões na cavidade oral não apresentaram níveis de significância esperados, a língua, que é a região de maior ocorrência de carcinomas bucais, não apresentou, na amostra pesquisada, maior percentual de positividade (Ver tabelas 19, 20 e 21).

TABELA 19 - Pacientes do grupo de referência, agrupados segundo a localização anatômica e à expressão de p53

Localização	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Palato Duro	0	0,0	4	100	4	26,7
Mucosa Jugal /Labial	1	25,0	3	75,0	4	26,7
Gengiva Inferior	0	0,0	3	100	3	20,0
Língua	0	0,0	2	100	2	13,3
Palato Mole	0	0,0	1	100	1	6,7
Assoalho Bucal	0	0,0	1	100	1	6,7
Total	1	6,7	14	93,3	15	100

TABELA 20 - Pacientes com lesão benignas, agrupados segundo a localização em relação à expressão p53

Localização	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Língua	5	41,7	7	58,3	12	33,3
Mucosa Jugal /Labial	1	9,1	10	90,9	11	30,6
Palato Duro	0	0,0	8	100	8	22,2
Palato Mole	2	50,0	2	50,0	4	11,1
Assoalho Bucal	0	0,0	1	100	1	2,8
Total	8	22,2	28	77,8	36	100

TABELA 21 - Pacientes com carcinoma espinocelular da mucosa bucal, agrupados segundo a localização anatômica, em relação à expressão da p53

Localização	p53+		p53-		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Língua	5	45,5	6	54,5	11	32,4
Mucosa Jugal /Labial	7	70	3	30	10	29,4
Palato Duro	4	66,7	2	33,3	6	17,6
Assoalho Bucal	3	60	2	40	5	14,4
Gengiva Inferior	0	0	2	100	2	5,9
Total	19	55,8	15	44,2	34	100

DISCUSSÃO

As mutações do gene p53 já foram bem estabelecidas em vários estudos, seja por seqüenciamento direto (Heinzel et al., 1996), por polimorfismo conformacional de simples fita (Munirarajan et al., 1996; Heinzel et al., 1996) ou por imunohistoquímica (Ogden et al., 1997; Copete et al., 1997), como sendo a mais freqüente alteração genética nos carcinomas orais, girando em torno de 35 a 80% de todos os estudos, usando imunohistoquímica (Dowell & Ogden, 1996).

p53 X Carcinomas

Os dados que foram encontrados, com relação à expressão da proteína p53 em carcinoma bucais, vão ao encontro dos relatados por vários autores dentre eles: Gopalakrishnan et al. (1997), 40%; Mao et al. (1996), 41,5%; Lan et al. (1996), 78,9%; Nylander et al. (1996), 49%; Ibrahim et al. (1996), 68%; Yan et al. (1996), 45% e Gimenez-Conti et al. (1996), 51,7%. Na amostra estudada, foi observada positividade em 55,8% (19/34), dos casos de carcinomas; destes, 78,9% coraram forte ou moderadamente (15/19). Esses dados também vão ao encontro dos resultados relatados por Jin et al. (1998), em que 83% dos carcinomas foram moderada ou fortemente corados. Já Munirajan et al. (1996), 21%, Chiba et al. (1996), 24% e Kusama et al. (1996), 33,3%, encontraram percentuais bem inferiores em relação aos da amostra pesquisada.

Considerando os trabalhos acima citados, os aqui encontrados confirmam os relatados na literatura e apresentam níveis de significância ($p < 0,001$) entre a expressão de p53 e os carcinomas bucais.

É possível que o percentual de mutações da amostra pesquisada seja maior, pois a sensibilidade da técnica de imunohistoquímica, segundo Ogden et al. (1997), é bem inferior em relação a outros métodos, como o sequenciamento direto por PCR ou o SSCP por exemplo, o qual permite que tipos de mutações como as deleções de alelos ou as proteínas truncadas por mutação nonsense, presentes, não tenham sido detectadas (Velculescu & El-Deiry, 1996; Vogelstein & Kinzler, 1992).

É também possível que a presença de falsos positivos, em virtude de atuação de p53 normal se acumular no núcleo na tentativa de parar a evolução da lesão, tenham ocorrido (Ranki et al., 1995; Copete et al., 1997). Mas como na amostra pesquisada, 78,9% dos carcinomas, foram fortemente positivos, é provável que se trate realmente de mutação do gene.

p53 X Lesões benignas

Nas lesões benignas, a detecção de p53 poderia ser considerado um importante marcador prognóstico para a evolução destas à malignidade, como afirmam Mao et al. (1996); Chiba et al. (1996) e Murti et al. (1998). No entanto, Dowell & Ogden (1996) e Ogden et al. (1997), chamam atenção a respeito da cautela que se deve ter, quando da detecção por imunohistoquímica de p53, em relação ao prognóstico destas lesões benignas. Isso porque, após a introdução do pré-tratamento em ambiente de microndas, do material embebido em parafina, a sensibilidade do método que era mais baixa, ampliou-se em três vezes. Os autores afirmam que a positividade de p53 em tecido normal e lesões benignas, coradas fracamente e localizadas na camada basal ou supra basal, não deve ser considerada como mutação de p53 e sim como a atividade normal de p53 na camada

germinativa do epitélio. Essa opinião é compartilhada por Copete et al. (1997); Piffkó et al. (1995) e Li et al. (1996).

Nas lesões benignas da amostra pesquisada, 22,2% (8/36) apresentaram positividade para p53, sendo que 7 das 8 foram fracamente coradas e a coloração se limitava às células da camada basal e supra basal. Esses dados estão de acordo com os observados por Mao et al. (1996), que encontraram 33,3% de positividade em lesões benignas e Piffkó et al. (1995) que encontraram 28,5%, em margens livres de tumor.

Importante é que tanto no grupo de lesões benignas como no grupo de referência a p53 não foi detectada em sua maioria, o que sugere que, realmente, a p53 só é chamada a exercer sua função quando em presença de agentes mutagênicos.

Contrariamente ao da amostra pesquisada, Dowell & Ogden (1996), encontraram 97,2% em sua amostra de lesões benignas, Copete et al. (1997), encontraram 93% em sua amostra de papilomas e Gopalakrishnan et al. (1997), encontraram 70% em leucoplasias. Eles, como na amostra pesquisada, relataram que a localização da detecção foi a camada basal, e a maioria apresentava-se fracamente coradas.

Outro relato importante, que concorda com a opinião desses três autores, foi descrito por Li et al. (1996), os quais, por imunohistoquímica, em 32 cistos odontogênicos, encontraram positividade para p53, variando de 38 a 71%, todas localizadas na camada basal ou supra basal, mas ao utilizarem SSCP e seqüenciamento direto, não encontraram mutações em nenhum gene da amostra dos cistos. Assim Li et al. (1996), reforçam os argumentos dos três autores citados acima, que sugerem ser essa uma atividade normal de p53 na camada germinativa do epitélio.

Piffkó et al. (1995), comparando os achados da presença de p53 nas margens não neoplásicas de carcinomas de mucosa oral em relação as áreas neoplásicas da mesma lesão, encontraram positividade em 77%, todas fracamente coradas e localizadas na camada basal, maior portanto, que a encontrada nas áreas neoplásicas dos carcinomas, que foi de 40%. Estes autores, apontam para justificar esses achados três possibilidades: 1- alterações de p53 representam eventos precoces na carcinogênese oral; 2-

estas áreas representam campos potenciais de cancerização destas lesões e 3- são simplesmente indicativas de atividade normal de p53, atuando no reparo da célula.

Os achados da amostra pesquisada concordam com os de Dowell & Ogden (1996); os de Copete et al. (1997); os de Piffkó et al. (1995), nas lesões benignas de mucosa oral, em relação à fraca positividade e a localização, na camada basal, de p53. Estes achados reforçam os argumentos de Piffkó et al. (1995) e dos outros anteriormente citados, de que realmente essa positividade é sugestiva do trabalho normal desta proteína. No que se refere ao percentual encontrado, é possível que se deva aos critérios de positividade e aos métodos de leitura das lamínas, os quais na amostra pesquisada, são um tanto subjetivos e são menos precisos que os métodos de captura de imagens por computador utilizados por esses autores.

Entretanto, ainda neste ponto, um argumento de grandiosa relevância, levantado por Murti et al. (1998) e por Trivedy et al. (1998), deve ser citado: eles sugerem que, se estas células estão expressando p53 do tipo selvagem à níveis detectáveis por imunohistoquímica, provavelmente elas estão sendo gravemente agredidas por um agente mutagênico. Neste sentido, a detecção de p53 por imunohistoquímica pode ser realmente um importante marcador de potencial de malignização de lesões iniciais, como afirmam eles.

p53 X Sexo

Na amostra pesquisada, não foi encontrada correlação significativa em relação ao sexo e a expressão de p53, como é citado na literatura, e provavelmente, deve-se ao fato das mutações de p53, aparentemente, serem eventos mais relacionados à exposição aos agentes carcinogênicos (Velculescu & El-Deiry, 1996) e, como vem se revelando, as mulheres passaram a se expor aos agentes iguais aos homens (Franco et al., 1989;

Lewin et al., 1998), portanto, não havendo correlação entre sexo e mutação de p53.

p53 X Idade

Aparentemente a expressão de p53 é mais freqüente em pacientes de idades mais avançadas, isto provavelmente devido ao maior tempo de exposição a agentes carcinogênicos. Na amostra em questão, não foi encontrada correlação significativa entre idade e expressão de p53, mas observou-se que a média de idade para os pacientes p53 positivos foi maior que os p53 negativos, tanto no grupo de lesões benignas (p53 positivos = 50 anos, p53 negativos = 44,8), como nos carcinomas (p53 positivos = 64,6 anos e p53 negativos = 62,4), nos carcinomas, a média foi maior que nas benignas. Esses achados concordam com os relatados por Loyola et al. (1995); Yan et al. (1996); Piffkó et al. (1995) e por Jin et al. (1998).

p53 X Tabagismo

A correlação entre o tabaco e diversos tipos de câncer do pulmão, das vias aéreas superiores e da cavidade oral foram estabelecidas há várias décadas.

No Brasil, um importante marco foi estabelecido com o trabalho de Franco et al., 1989, em que os autores estabeleceram percentuais de risco para o desenvolvimento de câncer bucal em relação a diversos hábitos, dentre os quais, o principal foi o tabaco.

Lazarus et al. (1996), citam Wynder et al. os quais referem que acima de 75% dos carcinomas orais estão associados ao uso de tabaco.

Devido ao grande número de estudos destacando as mutações de p53 como a alteração genética mais incidente em neoplasias malignas humanas,

Lazarus et al. (1996), realizaram um estudo para estabelecer a possível correlação entre mutação de p53 e uso de tabaco. Nos seus achados, analisando carcinoma bucais por sequenciamento de DNA, relataram que 44,4% das mutações encontradas na amostra, eram transições de bases G:C por T:A, mutações "missenses", típicas de neoplasias provocadas pelo tabaco. Sugerem ainda que a indução de mutações de p53 depende do tempo de exposição ao tabaco, bem como do volume consumido diariamente, portanto os fumantes pesados têm maior incidência de mutação de p53 que fumantes leves, segundo eles.

Achados semelhantes foram relatados por Munirajan et al. (1996), na Índia, onde 11 de 12 carcinomas bucais pesquisados, com mutação em p53, eram transições de bases AT por GC, nos exons de 5-8, e sugerem um importante papel das nitrosaminas, presentes no tabaco, na carcinogênese, mas afirmam que devem haver outros oncogenes envolvidos nesse mecanismo.

Nos resultados encontrados, na amostra pesquisada, observou-se correlação significativa ($p < 0,001$) entre o hábito de fumar e a expressão de p53 nas lesões malignas. Quando se considerou a amostra total, também se observou significância entre a expressão de p53 e o hábito de fumar. Na amostra em questão, 91,2% dos pacientes com carcinomas eram fumantes, destes 61,3% foram p53 positivos, os três pacientes não fumantes foram p53 negativos. Este achado é importante porque sugere claramente a associação entre o papel carcinogênico do tabaco e as mutações de p53, o que poderia facilitar a progressão e um pior prognóstico como sugere Murti et al. (1998). Esta correlação fica mais evidente ainda quando consideramos os pacientes não fumantes na amostra geral, dos 35 não fumantes, apenas 3 (8,6%) foram p53 positivos, o restante 32 (91,4%) foram p53 negativos, enquanto que nos fumantes 50% foram p53 positivos.

Entretanto, chamou atenção o fato de que, 6 dos 8 casos de expressão de p53 positiva no grupo de lesões benignas e o único caso positivo encontrado no grupo de referência, serem todos de fumantes, o que sugere mais fortemente que esses achados de p53, por imunohistoquímica, na camada basal do epitélio e em fraca expressividade, seja realmente a

atividade de p53 tipo selvagem, como relatam Murti et al. (1998), Ibrahim et al. (1996), Lazarus et al. (1996), Ogden et al. (1997) e Piffkó et al. (1995). Não estando descartada a possibilidade de uma mutação nonsense de um alelo, segundo Piffkó et al. (1995).

p53 X HPV

Estudos, *in vitro*, comprovando a imortalização de queratinócitos de mucosa oral humana, infectados por HPV 16, foram realizados por Liu et al. (1997) e por Shin et al. (1996). Os autores relataram o importante papel que as oncoproteínas E6 e E7 deste vírus têm na carcinogênese bucal.

Em um estudo retrospectivo realizado por Miller & White (1996), com base em 58 artigos publicados em menos de um ano (setembro de 1995 a junho de 1996) sobre HPV na mucosa oral, reforçaram o seu papel e de suas oncoproteínas na carcinogênese da mucosa bucal..

No trabalho em questão, os sinetes citohistopatológicos para infecção por HPV foram observados em 48,2% (41/85) da amostra total, sendo 26,7% (4/15) no grupo normal, 63,9% (23/36) nas benignas e 50% (17/34) nos carcinomas. É importante ressaltar que o método de investigação por critérios citohistopatológicos em HE, para sugerir infecção por HPV, utilizados aqui, é de baixa sensibilidade e baixa especificidade. Segundo Miller & White (1996), em lesões benignas, a sensibilidade gira em torno de 7,2% quando comparada com o PCR. Em carcinomas a sensibilidade é menor ainda.

Ao correlacionar os achados sugestivos de infecção por HPV e a expressão de p53, observou-se que 30,4% (7/23) dos casos sugestivos de HPV no grupo das lesões benignas foram também p53 positivas. Neste grupo obteve-se níveis de significância ($P < 0,05$). Estes achados vão ao encontro dos relatados por Ranki et al. (1995) em condilomas de pênis, onde 55,4% eram p53 positivos, mas ficam abaixo dos relatados por Copete et al.

(1997) em papilomas de mucosa oral, nos quais eles encontraram 93% fracamente positivos para p53.

Munirajan et al. (1996) e Copete et al. (1997), sugerem que na infecção por HPV, E6 estabilizaria a molécula de p53 por um tempo maior que o normal, assim p53 poderia ser detectado por imunohistoquímica. Vários autores, entre eles Busby-Early et al., 1994; Huibregtse et al., 1994; Crook et al., 1994, afirmam que a meia vida de p53 associada a E6 diminui, e p53 é degradada rapidamente.

Busby-Early et al. (1994), sugerem que, a estabilidade de p53 nesses casos, poderia ter como justificativa outra proteína, como MDM2, ligando-se e estabilizando p53. Considerando MDM2 (Murine Double Minute - 2), um oncogene celular, muito encontrado em sarcomas, Matsumura et al. (1996), pesquisou sua freqüência em carcinomas e leucoplasias de mucosa oral e correlaciono-a com a expressão de p53 nas mesmas lesões. Nos seus achados, 75% das leucoplasias p53 positivas, por imunohistoquímica, também foram MDM2 positivos, e 76% dos carcinomas p53 positivos, também foram MDM2 positivos, ainda 34,6% das leucoplasias e carcinomas que expressaram a proteína p53, mas não apresentavam mutação do gene (por SSCP), foram positivas para MDM2. Estes achados não só reforçam o argumento de Busby-Early et al. (1994), como também apontam o MDM2 como uma importante alteração a ser melhor pesquisada na carcinogênese bucal.

É importante ressaltar que 7 dos 8 casos p53 positivos, deste grupo de lesões benignas, são fracamente positivos e destes sete, seis são também fumantes. Desta forma, pode-se sugerir que esta positividade detectada, seja p53 tipo selvagem reparando o DNA lesado pelo tabaco. Sabe-se que nas lesões benignas em que é possível observar sinetes de HPV, a infecção é produtiva e, portanto, o DNA viral está na forma de plasmídeo, onde a quantidade de E6 produzida é menor, não degradando toda a p53 da célula.

Embora a especificidade da histopatologia seja baixa, encontrou-se, nos carcinomas que expressaram p53, 36,8% (7/19) também sendo sugestivos para HPV. Neste grupo não houve correlação significativa entre

infecção por HPV e expressão de p53. Os achados encontrados na amostra pesquisada, embora um pouco acima dos relatados por outros autores, como Chiba et al. (1996), que encontraram 25% nas amostras deles, Riethdorf et al. (1997), encontraram 18% HPV positivo e p53 positivo, ambos usaram PCR e SSCP em carcinomas de boca.

Gopalakrishnan et al. (1997), Chiba et al. (1996) e Riethdorf et al. (1997) sugerem que, embora a consequência da mutação de p53 e a integração genômica do HPV serem a mesma, estes dois mecanismos não são necessariamente excludentes.

Esses achados da amostra, embora não se contraponham à literatura, devem ser avaliados com cautela, isto porque o método para avaliar a infecção por HPV utilizado tem baixa sensibilidade e especificidade, quando se trata dos carcinomas. Já em relação às lesões benignas, sugere-se de grande valor, no cotidiano clínico, os achados citohistopatológicos sugestivos de infecção por HPV, principalmente quando forem associados à presença de p53 por imunohistoquímica, mesmo que fracamente corada, pois teria um importante valor prognóstico da lesão, sugerindo que aquela região está sendo agredida e poderá evoluir para a malignidade, com maior probabilidade.

p53 X Localização

Os nossos achados em relação a localização foram meramente descritivos, não havendo portanto nenhuma correlação entre o local da lesão e a expressão de p53. Ibrahim et al. (1996) e Loyola et al. (1995), relatam os mesmos achados em seus trabalhos.

Na tentativa de buscar alguma correlação, tentamos agrupar as localizações em mucosas mastigatórias queratinizadas (palato duro e gengiva) e mucosas de revestimento (palato mole, assoalho bucal, ventre lingual, mucosa jugal e labial), mas não se obteve níveis de significância relevantes. Diferentemente do que observou Ibrahim et al. (1996), mesmo o

CONCLUSÕES

Com base na metodologia proposta, e com a análise dos resultados obtidos na amostra, é possível tirar as seguintes conclusões:

- 1- Avaliada por meios imunohistoquímicos, a expressão da proteína p53 foi muito freqüente(55,8%) e altamente significativa($p=0,001$) nos carcinomas bucais, nestes com predominância de marcações fortes (78,9%),sugerindo tratar-se de mutações do gene p53.
- 2- A expressão de p53 mostrou-se um evento vinculado mais à malignidade, visto que na quase totalidade do grupo de referência, e na maioria das lesões benignas a expressão de p53 não foi observada, e quando o foi, se fez fracamente(87,5%), sendo a maioria destes(75%) em pacientes expostos a um importante carcinógeno: o tabaco.
- 3- O habito de fumar mostrou correlação altamente significativa com a expressão de p53($p=0,001$), sugerindo que este carcinógeno estimule a síntese de p53 para reparar os danos ao DNA, por ele provocados ou que ele provoque mutações no próprio gene p53.
- 4- A expressão de p53 não foi vinculada significativamente ao sexo, à idade, nem à localização da lesão, em qualquer dos grupos analisados.
- 5- A expressão de p53 e os vestígios histopatológicos de infecção por HPV não se relacionaram significativamente aos carcinomas e nas lesões benignas estão comumente associados($p=0,05$),reiterando os dados da literatura universal.

PERSPECTIVAS

Dentre as novas questões que surgiram e que apontam para novos caminhos a serem abordados no futuro, poder-se-ia destacar as seguintes:

- 1- Se a expressão da proteína p53 foi tão freqüente, em carcinomas, será que realmente se trata de mutação? Se for, qual o tipo de mutação? E será que está vinculada a algum agente mutagênico específico?
- 2- Se esta expressão freqüente não se deve a mutações genéticas, se deverá a qual mecanismo de estabilização e disfunção de p53? Será a ação do oncogene MDM2, que é freqüente em nosso meio, ou pode ser a proteína E6 do HPV?
- 3- Qual a freqüência de infecção por HPV em lesões bucais? será que está integrado ou na forma de plasmídeo? Quais os tipos prevalentes em nosso meio?
- 4- Nas lesões benignas, a detecção de p53 se deve a que fato? Estabilização, atividade funcional ou mutações? Esta detecção pode ser marcador prognóstico de malignidade?
- 5- Várias outras informações clínicas dos pacientes da amostra foram obtidas, como estadiamento clínico, alcoolismo, VDRL, entre outros e podem ser posteriormente utilizadas e cruzadas com a expressão de p53.

Para responder a estas perguntas, impõe-se novos projetos e à aquisição de equipamentos que permita metodologias mais específicas e mais sensíveis, como hibridização in situ e PCR, por exemplo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.²

1. ANDERSON, D. E. Genetic study of breast cancer: identification of a high risk group. **Cancer**, v. 34, p.1090-1097, 1993.
2. ARROWSMITH, H.C. ; MORIN, P. New insights p53 function in structural studies. **Oncogene**, v. 12, p.1379-1385, 1996.
3. BATES, S.; VOUSDEN, K. H. p53 in signaling checkpoint arrest or apoptosis. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 6, p. 12-19, 1996.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde. Divisão Nacional de Saúde Bucal - Levantamento epidemiológico em saúde bucal: Brasil, Zona Urbana, 1986, Brasília , 1988.
5. _____ , Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde, Instituto Nacional do Câncer / Pro-Onco, Coordenação de Saúde Bucal - "Câncer de Boca", Rio de Janeiro, 1992.
6. _____ , Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde, Instituto Nacional do Câncer / Pro-Onco, Coordenação de Programas de Controle do Câncer - Divisão de educação - "Câncer de Boca" Manual de detecção de lesões suspeitas. 2ª ed. rev. e atual. Rio de Janeiro, 1996.
7. _____. Ministério da Saúde. - Estatísticas de mortalidade: Brasil 1980 - 1995, Sistema de informação sobre mortalidade - SIM. Brasília, FNS/DATASUS, Home Page.

² Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), NBR 6023. Referências Bibliográficas.

8. _____. Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer/Pro-Onco, - Falando sobre tabagismo, 2ª ed, Rio de Janeiro, 1995
9. _____. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Programas de Controle de Câncer - Pro-Onco. "O Problema do Câncer no Brasil". 4.ed. Rio de Janeiro, 1997
10. _____. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Coordenação dos Programas de Controle do câncer / Pro-Onco - Estimativa de incidência e mortalidade por câncer no Brasil para 1998. Rio de Janeiro, 1998.
11. _____, IBGE. Censo Demográfico do Brasil de 1991. Rio de Janeiro, 1991.
12. _____, IBGE - Contagem da população, Rio de Janeiro, 1996.
13. BRENTANI, M. M. Ciclo Celular. In: BRENTANI, M.M. et. al. **Bases da oncologia**. São Paulo: Lemar, 1998 p. 81-89.
14. BRUCE, A. et. al. **Biologia molecular da célula**, 3ª ed. Porto Alegre, Artes médicas, 1997, Cap.: Câncer, p. 1255-1294:
15. BUSBY-EARLY, R.S.C., et. al. p53 mutations in cervical carcinogenesis - low frequency and lack of correlation with human papillomavirus status. **J. Cancer**, v. 69, p. 732-737, 1994.
16. CABALLERO, O.L.; DANI, S. U.; SIMPSON, A. J.G. Oncogenes e genes supressores de tumores. In: BRENTANI, M.M. et. al. **Bases da oncologia** São Paulo: Lemar, 1998 p. 53-69.

17. CAMINERO, M. J. et. al. Detection of p53 protein in oropharyngeal carcinoma, prognostic implications. **Arch Otolaryngol. Head and Neck Surg**, v.122, p. 769-772, 1996.
18. CARSON, A. D.; LOIS, A. Cancer progression and p53. **Lancet**, vol. 346, p.1009-1011, 1995.
19. CHIBA, I., et. al. Mutations in the p53 gene and human papillomavirus infection as significant prognostic factors in squamous cell carcinomas of the oral cavity. **Oncogene**, v. 12, p. 1663-1668, 1996.
20. CHO, Y., et. al. Crystal structural of a p53 tumor suppressor-DNA complex: Understanding tumorigenic mutations. **Science**, v. 265, p. 346-355, 1994.
21. COPETE, M.A.; WENDT, K.; CHEN, S.Y. Expression of p53, ki-67 and cytokeratin-4 (CK4) in oral papillomas. **J. Oral Pathol. Med**, v. 26, p. 211-216, 1997.
22. CROOK, T. et. al. Modulation of transcriptional regulatory properties of p53 by HPV E6. **Oncogene**, v. 9, p.1225-1230, 1994.
23. DALAL, S. et. al. Mutational analysis of Human papillomavirus type 16 E6 demonstrates that p53 degradation is necessary for immortalization of mammary epithelial cells. **J. of Virol.** , v 70, n° 2, p. 683-688, 1996.
24. DESAINTEs, C. et. al. Wild-type p53 down-regulates transcription from oncogenic human papillomavirus promoters through the epithelial specific enhancer. **Oncogene**, v.10, p. 2155-2161, 1995.
25. DOWELL, S.P. OGDEN, G.R. The use of antigen retrieval for immunohistochemical detection of p53 overexpression in malignant

and benign oral mucosa: a cautionary note. **J. Oral Pathol. Med**, v. 25, p. 60-64, 1996.

26. FERENCZY, A. JENSON, A.B. Tissue effects and host response the key to the rational triage of cervical neoplasia, **Obstet. Ginecol. Clin. North Am.**, . v.23, p. 759-782, 1996.
27. FRANCESCHI, S.; MUÑOZ, N. et. al. Human Papillomavirus and Cancer of the Upper Aerodigestive Tract: A Review of Epidemiological and Experimental Evidence, **Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v 5, 567-577, jul, 1996
28. FRANCO, E.L. et. al. Risk factors for oral cancer in Brazil : a case-control study . **Int. J. Cancer**, v 43, p 992-1000, 1989.
29. GARAY, J.S. et. al. Programa nacional de detecccion del cancer bucal. Resultados en 5 años de aplicacin. **Rev. Cubana Estomat.**, v. 28, n.2, p.83-92, 1991.
30. GIMENEZ-CONTI, I.B. et. al. p53, Rb, and cyclin D1 expression in human oral verrucous carcinomas. **Cancer**, v. 78, n. 1, p. 17- 23, 1996.
31. GOPALAKRISHNAN, R. et. al. Mutated and wild-type p53 expression and HPV integration in proliferative verrucous leucoplakia and squamous cel carcinoma. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, v. 83, n. 4, p. 471-477, 1997.
32. GUO, W.; BALUDA, M.A., PARK, N.H. Ethanol upregulates the expression of p21 and prolongs G1 transition via a p53-independent pathway in human epithelial cells. **Oncogene**, v.15, p.1143-1149, 1997.

33. HEINZEL, P.A.; BALARAM, P.; BERNARD, H.U. Mutation and polymorphisms in the p53, p21 and p16 genes in oral carcinomas of Indian quid chewers. **Int. J. Cancer**, v. 68, p. 420-423, 1996.
34. HICKMAN, E.M.; PICKSLEY, S.M.; VOUSDEN, K.H. Cells expressing HPV16 E7 continue cell cycle progression following DNA damage induced p53 activation. **Oncogene**, v. 9, p. 2177-2181, 1994.
35. HUIBREGTSE, J. M.; SCHEFFNER, M.; HOWLEY P. M. E6-AP directs the HPV E6-dependent inactivation of p53 and is representative of a family of structurally and functionally related proteins. **Cold Spring Harb. Symp. Quantit. Biol.** v. 59, p. 237-245, 1994.
36. HOPPE-SEYLER, F.; BUTZ, K. Molecular mechanisms of virus-induced carcinogenesis: the interaction of viral factors with cellular tumor suppressor proteins. **J. Mol. Med**, v. 73, p. 529-538, 1995.
37. IBRAHIM, S.O. et. al. Immunohistochemical detection of p53 in non-malignant and malignant oral lesions associated with snuff dipping in the Sudan and Sweden. **Int. J. Cancer**, v. 68, p. 749-753, 1996.
38. JACYNTO, C. FILHO, GA, MALDONADO, P. HPV infecção genital feminina e masculina. Rio de Janeiro: Revinter, 1994.
39. JIN, Y.T. et. al. The prognostic significance of the biomarkers p21, p53 and bcl-2 in laryngeal squamous cell carcinoma. **Cancer**, v. 82, n. 11, p. 2159-2165, 1998.
40. KÄRJÄ, J.V. et. al. Expression and mutations of p53 in salivary glands tumours. **J. Oral Pathol. Med**, v. 26, p. 217-223, 1997.

41. KASTAN, M.B. et. al. Participation of p53 Protein in the cellular response to DNA damage. **Cancer Res.**, v. 51, p. 6304-6311, 1, 1991.
42. KOWALSKI, L.P. et. al. Modelo de programa de prevenção e detecção precoce do câncer bucal. **Saúde em Debate**, v. 32, p. 66-71, 1991.
43. KUSAMA, K. et. al. p53 Gene alterations and p53 protein in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. **J. Pathol.**, v. 178, p. 415-421, 1996.
44. LAN, H. A. et. al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and p53 in epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma of oral mucosa - a marker for poor tumor differentiation, increasing nuclear atypia and invasiveness? **Anticancer Res.**, v. 16, p. 3059-3066, 1996.
45. LANE, D.P. Guardian of the genome. **Nature**, v. 358, p.15-6, 1992.
46. LAZARUS, P.; STERN, J. et. al. Relationship between p53 incidence in oral cavity squamous cell carcinomas and patient tobacco use. **Carcinogenesis**, v. 17, n. 4, p. 733-739. 1996.
47. LEUNG, K.W.; PEDLAR, J.; HIGH, A. S. Decreasing p53 overexpression in sequential, recurrent, oral squamous cell carcinomas. **Br. J. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 34, p. 225-229, 1996.
48. LEWIN, F. et. al. Smoking, oral snuff and alcohol in the etiology of Squamous cell carcinoma of the head and neck, A population-based case-referent study in Sweden. **Cancer**, v.82, n. 7, p. 1367-1375, 1998.
49. LI, T.J. et. al. p53 expression in odontogenic keratocyst epithelium. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 25, p. 249-255, 1996.

50. LIU, X. et. al. HPV-16 oncogenes E6 and E7 are mutagenic in normal human oral keratinocytes. **Oncogene**, v.14, p. 2347-2353, 1997.
51. LOPES, E.R. et. al. Câncer e meio ambiente, Tabaco - agrotóxicos - radiações - dieta. Um documento para a Conferência Mundial de Ecologia. **Rev. Bras. de Cancerol.**, v. 38, n.1, p. 35-64 , 1992.
52. LORETO, C.D. et. al. Fatores interferentes na correlação cito-histológica em papilomavirus (HPV). **Rev. Bras. Patol. Clín.** v. 28, n. 2, p.34-38, 1992.
53. LOYOLA, A. M.; BORRA, R. C.; ARAÚJO, V. C. Expressão da proteína p53 em carcinomas epidermóides de mucosa bucal. **RPG- Rev. Posgrad.**, v. 12, n. 2, p. 52-58, 1995.
54. MAO, E. J. et. al. Human papilloma viruses and p53 mutations in normal, pre-malignant and malignant oral epithelia. **Int. J. Cancer**, v. 69, p.152-158, 1996.
55. MATSUMURA, T. et. al. p53 and MDM2 expression in oral squamous cell carcinoma. **Oncology**, v. 53, p. 308-312, 1996.
56. MENDONZA-ALCANTAR, L. et. al. Detección del papilomavirus humano en ADN de tejido normal y lesiones premalignas del cérvix por hibridación molecular, **Rev. Inst. Nac. de Cancerol.**, v.40, p. 8-13, 1994.
57. MILLER, C. S. AND WHITE, D. K. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, v 82, p57-68, 1996.

58. MUNIRAJAN, A. K. et. al. p53 Gene mutations in oral carcinomas from India. **Int. J. Cancer**, v. 66, p. 297-300, 1996.
59. MUNOZ, N. et. al. The epidemiology of human papillomavirus and cervical cancer, IARC Sci Publ N° 119, Lyon, Intern. Agency for research on cancer, 1992.
60. MURTI, P. R. et. al. p53 expression in oral precancer as a marker for malignant potential. **J. Oral Pathol. Med**, v. 27, p. 191-196, 1998.
61. MUSCAT, J.E.; RICHIE, J.P. et. al. Gender differences in smoking for oral cancer. **Cancer Res.**, v. 56, p. 5192-5197, 1996.
62. NAUD, P.S.V. et. al. Correlação entre citologia, colposcopia, histologia e tipagem viral em lesões precursoras do câncer de cérvix uterina na infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV). **Rev. AMRIGS**, v. 38, n.1, p. 18-22, 1994.
63. NYLANDER, K. et. al. A non-random deletion in the p53 gene in oral squamous cell carcinoma. **Br. J. Cancer**, v.73, p.1381-1386, 1996.
64. OGDEN, G.R. et. al. Overexpression of p53 in normal oral mucosa of oral cancer patients does not necessarily predict further malignant disease. **J. Pathol.**, v. 182, p. 180-184, 1997.
65. PADAYACHEE, A. et. al. A polymerase chain reaction (PCR) investigation of oral verrucae which contain HPV types 2 and 57 by in situ hybridization. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 24, p.329-334, 1995.

66. PALEFSKY, J.M. et al. Association between proliferative verrucous leukoplakia and infection with human papillomavirus type 16. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 24, p.193-197, 1995.
67. PARK, T.W. et al., Association between human papillomavirus type and clonal status of cervical squamous intraepithelial lesions. **J. Nat. Cancer Instit.**, v. 88, n. 6, p. 355-358, 1996.
68. PARKIN, D.M.; MUIR, C.S. et al. Cancer incidence in five continents, Comparability and quality of data. **TARC Sa Publ.**, n. 120, 1992.
69. PARKIN, D.M.; MUIR, C.S.; LÄÄRÄ, E. Global burden of cancer, **OMS and IARC**, 1987.
70. PFISTER, H. The role of human Papillomavirus in anogenital cancer. **Obstet, Gynecol. Clin. North Am.**, v.23, n.3, p.579-595, 1996.
71. PINDBORG, J.J. et al. Histological typing of cancer and precancer of oral mucosa, 2^a ed. Springer, WHO, 1997.
72. PIFFKÓ, J. et al. Expression of p53 protein 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, p. 337-342, 1995.
73. RABENHORST, S.H.; Burini, R.C.; Schmitt, F.C.L. Marcadores de proliferação celular. **Rev. Bras. Pat. Clín.**, v. 29, n. 1, p.24-29, 1993.
74. RANKI, A.; LASSUS, J.; NIEMI, K.M. Relation of p53 tumor suppressor protein expression to human papillomavirus (HPV) DNA and to cellular

atypia in male genital warts and premalignant lesions, **Acta Derm. Venereol.**, v. 75, p. 180-186, 1995.

75. RIETHDORF, S. et. al. p53 gene mutations and HPV infection in primary head and neck squamous cell carcinomas do not correlate with overall survival: a long term follow-up study. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 26, p. 315-321, 1997.
76. SAMPAIO, M.C.C. et. al. Análise do carcinoma bucal. Casuística do Hospital Napoleão Laureano, João Pessoa, **Rev Bras. Cancerol.**, v. 31, n. 2, p.125-130, 1985.
77. SAPP, J.P.; EVERSOLE, L. R.; WYSOCKI G. P. **Contemporary Oral and Maxillofacial Pathology**. New York: Mosby , 1997 p. 156-195.
78. SCHÜTZ, A. B. Carcinoma epidermóide bucal aspectos microscópicos e comportamento biológico, **RGO**, Brasil, 1997.
79. SCULLY, C.; FLINT, S.R.; PORTER, S.R. Atlas Colorido de Doenças da Boca, Diagnóstico e Tratamento, 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1996 p. 103-110.
80. SHIH, L.W.S. et. al. Papilomavírus na área metropolitana de São Paulo: aspectos citológicos e imunocitoquímicos. **Acta Oncol. Bras.** v. 8, p. 59-64, 1988.
81. SHIN, K.H. et. al. Oncogenic transformation of HPV-immortalized human oral keratinocytes is associated with the instability of cells. **Oncogene**, v. 12, p.1089-1096, 1996.

82. STOREY, A.; THOMAS, M. et. al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. **Nature**, v. 393, p. 229-234, 1998.
83. TOMMASI, A.F.; GARRAFA, V. **Câncer Bucal** São Paulo: Medisa, 1980.
84. TRIVEDI, C. et. al. p52 aberrations in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma detected by immunocytochemistry and PCR-SSCP. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 27, p. 72-77, 1998.
85. TUREK, L.P.; SMITH, E.M. The genetic program of genital human Papillomavírus in infection and cancer. **Obstet, Gynecol. Clin. North Am.**, v.23, n.3, p.735-758, 1996
86. VELCULESCU, V.E. ; EL-DEIRY, W.S. Biological and clinical importance of the p53 tumor suppressor gene. **Clin. Chem.**, v. 42, n. 6, p. 858-868, 1996.
87. VILLA, L.L. Vírus e Câncer. In: BRENTANI, M.M. et al **Bases da oncologia** São Paulo: Lemar, 1998 p. 71-80.
88. VIVIER, A.; MCKEE, P.H. Atlas de dermatologia clínica 2ª ed. São Paulo: Manole, 1997 p. 9.1-9.37.
89. VOGELSTEIN, B. ; KINZLER, K.W. p53 Function and Dysfunction. **Cell**, v.70, p. 523-526, 1992.
90. WEDENBERG, C.; JÖNSSON, A.; HIRSCH, J.M. Assessment of p53 and Ki-67 expression in snuff-induced lesions. **Br. Oral Maxillofac. Surg.**, v. 34, p. 409-413, 1996.
91. WHITE, E. p53, Guardian of Rb. **Nature**, v. 371, p. 21-22, 1994.

92. YAN, J.J.; TZENG, C.C.; JIN, Y.T. Overexpression of p53 protein in squamous cell carcinoma of bucal mucosa and tongue in Taiwan: na immunohistochemical and clinicopathological study. **J. Oral Pathol. Med**, v. 25, p. 55-59, 1996.

ANEXOS

TABELA I - pacientes com lesão de mucosa oral, biopsiados no Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará, no período de novembro de 1996 a Março de 1998

	BIOPSIA	NOME	ID A D E	SEX O	FUM A	BE BE	SEX O OR AL	HPV	TIPO	DIAG. HIST.	PT TOT AL	REN DA SAL. MIN	LOCA LIZA ÇÃO	p 53
1.	9081 /96	MFSV	49	F	S	N	N	POS	BENIG	HAE	SIM	0	LG	++
2.	9254 /96	JVF	38	M	S	S	S	NEG	MALIG	CEC	NÃO	2	AB	-
3.	9374 /96	FD	38	M	N	S	S	POS	BENIG	HAE	NÃO	9	LG	-
4.	142/97	MSE	83	FF	S	S	NR	POS	BEM	HAE	SIM	1	MJ	+
5.	143 "	FCMO	71	F	S	N	NR	POS	BENIG	HAE	SIM	1	PD	-
6.	185 "	GVG	20	F	N	S	NÃO	POS	BENI	Papiloma	NÃO	20	ML	-
7.	318 "	JWBP	47	M	S	S	N	NEG	MALIG	CEC	SIM	0	LG	++++
8.	322 "	AR.S.	23	F	N	N	N	POS	BENIG	HAE	SIM	3	LG	-
9.	420 "	MLS	47	F	N	S	S	NEG	BENIG	HFBE	SIM	2	PD	-
10.	553 "	FNS	48	M	S	S	N	POS	MALIG	CEC	NÃO	1	LG	-
11.	554 "	AAFLL	42	M	S	S	S	POS	BENIG	HAE	NÃO	8	LG	++
12.	641 "	RSL	61	F	S	N	NR	NEG	BENIG	HAE	SIM	1	PM	-
13.	715 "	VGF	49	M	N	S	NR	POS	BENIG	HAE	SIM	7	LG	+
14.	722 "	MGL	50	M	S	S	N	NEG	MALIG	CEC	NÃO	0	LI	-
15.	785 "	F.C.M.	67	F	N	N	NÃO	POS	BENIG	HFBE	SIM	2	MJ	+
16.	846 "	MNOA	58	F	N	N	NÃO	NEG	BENIG	HAE	SIM	2	PD	-
17.	850 "	MEDS	59	F	N	N	NÃO	POS	BENIG	HFBE	SIM	3	PM	-
18.	959 "	MMS	40	F	N	N	SIM	POS	BENIG	HFBE	SIM	NR	GI	-
19.	978	DJO	82	F	S	N	NR	POS	MALIG	CEC	NR	1	MJ	++++
20.	1059"	RRF	29	F	S	N	SIM	NEG	BENIG	HFBE	SIM	1	GI	-
21.	1171	ORM	59	F	N	N	NR	NEG	MALIG	CEC	SIM	4	LG	-
22.	1251"	MSB	42	F	N	N	NÃO	POS	BENIG	HFBE	NÃO	NR	LG	-
23.	1252"	JNV	71	M	N	N	SIM	NEG	BENIG	HFBE	SIM	3	PD	-
24.	1326"	AACS	71	F	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	SIM	1	GI	-
25.	1398	JPB	91	M	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	NR	01	PD	+++
26.	1557"	EHC	66	M	N	N	SIM	NEG	BEM	HAE	SIM	1	MJ	-
27.	1558 "	FMF	66	F	S	N	NÃO	NEG	BENIG	HAE	SIM	1	PD	-
28.	1559"	PSLS	29	F	N	S	NÃO	NEG	BENIG	HAE	NÃO	1,5	PD	-
29.	1691"	JFL	70	M	N	N	NR	NEG	BENIG	HFBE	SIM	1	PD	-
30.	1692"	MFS	69	F	N	N	NR	POS	BENIG	HAE	SIM	1	PD	-
31.	1725"	MGC	24	M	N	S	SIM	POS	BENIG	HAE	NÃO	2,5	LG	-
32.	1727"	TFS	67	F	S	N	NÃO	POS	MALIG	CEC	NÃO	0	GI	-
33.	1817"	MBR	45	F	S	N	NÃO	POS	BENIG	HAE	SIM	NR	MJ	-
34.	1818"	APS	32	M	S	S	NÃO	POS	BENIG	HAE	NÃO	0	LG	++
35.	1919"	JOF	62	F	S	N	Não	POS	BENIG	Papiloma	SIM	1,5	PM	+
36.	1920"	MAT	78	F	S	N	NR	NEG	BENIG	HAE	SIM	1	PD	-
37.	2003"	AEB	30	F	N	N	SIM	NEG	BENIG	Muc/HAE	NÃO	3	LG	-
38.	2010"	EPP	25	F	N	S	SIM	POS	BENIG	HAE	NÃO	40	MJ	-
39.	2063	HPC	76	F	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	NR	1	LG	++++
40.	2167'	AMSC	80	F	S	S	NR	NEG	BENIG	HAE	SIM	1	PD	-
41.	2240	FHBL	23	M	NR	NR	NR	NEG	BENIG	Mucocele	NR	NR	ML	-
42.	2241"	MLC	30	F	N	N	SIM	NEG	BENIG	HFBE	SIM	NR	GI	-
43.	2440 "	N.K.S.	35	M	S	S	NR	NEG	BENIG	HAE	NÃO	0	LG	-
44.	2441"	RGT	56	M	S	N	NR	POS	BEM	HAE	NÃO	1	PD	-
45.	2481"	IBS	64	F	N	N	NÃO	POS	BENG	Papiloma	SIM	1	LG	-
46.	2796"	AMAM	42	F	S	S	NÃO	POS	BENIG	HAE	SIM	1	MJ	-
47.	2937"	JSF	21	M	N	N	SIM	NEG	BENIG	HAE	NÃO	2	LI	-
48.	2973"	AAS	23	F	N	N	SIM	NEG	BENIG	HAE	SIM	1	MJ	-
49.	3031"	CTS	64	F	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	SIM	1	AB	-
50.	3222"	MCO	55	F	N	N	SIM	POS	BENIG	Papiloma	SIM	2	AB	-
51.	3255"	FTB	21	M	N	N	SIM	NEG	BENIG	Mucocele	NÃO	2,5	ML	-
52.	3258"	MDSR	68	F	N	N	NR	POS	MALIG	CEC	SIM	1	LG	-
53.	3263"	ESA	16	F	N	N	N	POS	BENIG	HAE	NÃO	0,5	LG	-
54.	3303"	ASS	25	M	N	N	S	POS	MALIG	CEC	NÃO	1	PD	-
55.	3862"	EPA	76	M	S	N	NR	NEG	MALG	CEC	SIM	1	PD	-
56.	3870"	FRM	46	M	S	S	S	NEG	MALIG	CEC	SIM	1	LG	++++
57.	3960	RQ	49	F	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	NR	1	AB	+++
58.	3962	JAN	65	M	S	S	NR	POS	MALG	CEC	NÃO	02	AB	+++

59.	4104"	FLMS	19	F	N	N	S	POS	BENIG	HAE	NÃO	1	LG	-
60.	4129"	QAA	66	M	S	S	N	NEG	BENIG	HAE	SIM	4	ML	-
61.	4333	LAS	87	F	S	N	NR	POS	MALIG	CEC	SIM	1	MJ	-
62.	4997	LBL	72	M	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	SIM	2	PD	++++
63.	5006	BRS	75	M	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	NÃO	1	AB	++
64.	5553	MLP	63	F	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	SIM	1	LG	++++
65.	5750	JMGO	45	M	S	N	NR	POS	MALIG	CEC	SIM	5	PD	+
66.	5946"	MNS	50	F	N	N	NR	NEG	BENIG	HFBE	SIM	7	PD	-
67.	5948	GP	73	F	S	N	NR	POS	MALIG	CEC	SIM	01	RM	++++
68.	5949"	MCL	75	F	S	N	N	POS	MALIG	CEC	SIM	1	LG	-
69.	6440	BLC	59	M	S	S	NR	POS	MALIG	CEC	NR	NR	LI	++++
70.	6648	RMA	85	F	S	N	N	NEG	MALIG	CEC	NÃO	01	LI	+++
71.	6649	PEFS	25	M	N	S	NR	NEG	BENIG	Mucocele	NR	NR	ML	-
72.	7486"	RSS	31	M	S	S	N	POS	BENIG	HAE	NÃO	0	MJ	-
73.	7618"	MPD	70	F	S	N	NR	NEG	MALG	CEC	SIM	1	LG	-
74.	7821	JLC	58	M	S	S	NR	NEG	MALIG	CEC	NR	1	LI	+++
75.	7953"	CBS	20	M	N	S	S	NEG	BENIG	HAE	NÃO	10	MJ	-
76.	8304"	FSH	20	F	N	N	NR	NEG	BENIG	HAE	NÃO	4	LG	+++
77.	8800	PSS	83	M	S	S	NR	POS	MALIG	CEC	NÃO	01	LI	+++
78.	8897	MLAS	32	F	S	N	NR	NEG	BENIG	RANULA	SIM	NR	AB	-
79.	9322	MZMM	37	F	S	N	NR	POS	MALIG	CEC	SIM	1	PD	+++
80.	9380	JPO	77	M	S	N	NR	NEG	MALIG	CEC	SIM	1	RM	-
81.	9461	RRS	57	M	S	S	NR	NEG	MALIG	CEC	SIM	1	LG	+
82.	9853"	MMS	61	M	S	N	N	POS	MALIG	CEC	NÃO	2	LG	-
83.	888/98	RLS	56	M	N	N	S	POS	BENIG	Papiloma	SIM	2	PM	-
84.	920/98	RNS	66	M	S	S	NR	NEG	MALIG	CEC	NÃO	1	MJ	+
85.	989/98	MM	63	F	S	N	N	POS	BENIG	Papiloma	SIM	1	PM	+

Abreviações:

* HPV - Vestígios histopatológicos de infecção pelo Vírus do papiloma humano S - Sim, N - Não * NR - Não respondeu *CEC - Carcinoma Espinocelular * PT - Prótese Total * Sal. Min - Salário mínimo * NEG - Negativo * POS - Positivo * MALIG. - Maligno* BENIG - Benigno * FEM - Feminino * MASC - Masculino

p53 - Proteína p53

Intensidade de marcação: - negativo, + fracamente positivo, ++ positivo, +++ moderadamente positivo, ++++ fortemente positivo.

*B- Bem diferenciado *M- Moderadamente diferenciado *P- Pouco diferenciado

AB- Assoalho Bucal LG- Língua MJ- Mucosa Jugal GI- Gengiva Inferior LI- Lábio Inferior PD- Palato Duro RM- Retro Molar PM- Palato Mole

TABELA II - Pacientes com **CARCINOMA ESPINOCELULAR da mucosa bucal**, biopsiados no Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará, no período de novembro de 1996 a Março de 1998

	BIOPSIA	NOME	ID A D E	SE X O	FU M A	BE BE	SEXO ORAL	HPV	Sub classific ação	Tempo evolução (semanas)	PT TO TA L	REN DA SAL. MIN	LOC ALIZ AÇÃ O	p 53
1.	9254 /96	JVF	38	M	S	S	S	NEG	B	12	N	2	AB	-
2.	318 "	JWBP	47	M	S	S	N	NEG	B	48	S	0	LG	++++
3.	553 "	FNS	48	M	S	S	N	POS	B	08	N	1	LG	-
4.	722 "	MGL	50	M	S	S	N	NEG	B	08	N	0	LI	-
5.	978	DJO	82	F	S	N	NR	POS	B	08	NR	1	MJ	++++
6.	1171	ORM	59	F	N	N	NR	NEG	M	04	S	4	LG	-
7.	1326"	AACS	71	F	S	N	NR	NEG	B	12	S	1	GI	-

8.	1398	JPB	91	M	S	N	NR	NEG	B	NR	NR	01	PD	+++
9.	1727"	TFS	67	F	S	N	N	POS	B	80	N	0	GI	-
10.	2063	HPC	76	F	S	N	NR	NEG	B	04	NR	1	LG	++++
11.	3031"	CTS	64	F	S	N	NR	NEG	B	08	S	1	AB	-
12.	3258"	MDSR	68	F	N	N	NR	POS	B	10	S	1	LG	-
13.	3303"	ASS	25	M	N	N	S	POS	P	10	N	1	PD	-
14.	3862"	EPA	76	M	S	N	NR	NEG	M	12	S	1	PD	-
15.	3870"	FRM	46	M	S	S	S	NEG	B	08	S	1	LG	++++
16.	3960	RQ	49	F	S	N	NR	NEG	M	10	NR	1	AB	+++
17.	3962	JAN	65	M	S	S	NR	POS	B	16	N	02	AB	+++
18.	4333	LAS	87	F	S	N	NR	POS	B	04	S	1	MJ	-
19.	4997	LBL	72	M	S	N	NR	NEG	B	12	S	2	PD	++++
20.	5006	BRS	75	M	S	N	NR	NEG	B	40	N	1	AB	++
21.	5553	MLP	63	F	S	N	NR	NEG	M	08	S	1	LG	++++
22.	5750	JMGO	45	M	S	N	NR	POS	B	32	S	5	PD	+
23.	5948	GP	73	F	S	N	NR	POS	B	40	S	01	RM	++++
24.	5949"	MCL	75	F	S	N	N	POS	B	24	S	1	LG	-
25.	6440	BLC	59	M	S	S	NR	POS	B	10	NR	NR	LI	++++
26.	6648	RMA	85	F	S	N	N	NEG	B	12	N	01	LI	+++
27.	7618"	MPD	70	F	S	N	NR	NEG	B	16	S	1	LG	-
28.	7821	JLC	58	M	S	S	NR	NEG	B	08	NR	1	LI	+++
29.	8800	PSS	83	M	S	S	NR	POS	B	32	N	01	LI	+++
30.	9322	MZMM	37	F	S	N	NR	POS	B	48	S	1	PD	+++
31.	9380	JPO	77	M	S	N	NR	NEG	B	80	S	1	RM	-
32.	9461	RRS	57	M	S	S	NR	NEG	M	12	S	1	LG	+
33.	9853"	MMS	61	M	S	N	N	POS	M	24	N	2	LG	-
34.	920/98	RNS	66	M	S	S	NR	NEG	M	44	N	1	MJ	+

TABELA III - Pacientes com lesão benignas de mucosa oral, biopsiados no Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará, no período de novembro de 1996 à Março de 1998

	BIOPSIA	NOME	IDADE	SEXO	FUMA	BEBE	SEXO ORAL	HPV	PT TOT AL	REND A SAL. MIN	LOC ALIZ AÇÃ O	p 53
1.	143 "	FCMO	71	F	S	N	NR	POS	S	1	PD	-
2.	322 "	AR.S.	23	F	N	N	N	POS	S	3	LG	-
3.	554 "	AAFL	42	M	S	S	S	POS	N	8	LG	++
4.	641 "	RSL	61	F	S	N	NR	NEG	S	1	PM	-
5.	715 "	VGF	49	M	N	S	NR	POS	S	7	LG	+
6.	846 "	MNOA	58	F	N	N	N	NEG	S	2	PD	-
7.	1557"	EHC	66	M	N	N	S	NEG	S	1	MJ	-
8.	1558 "	FMF	66	F	S	N	N	NEG	S	1	PD	-
9.	1559"	PSLS	29	F	N	S	N	NEG	N	1,5	PD	-
10.	1692"	MFS	69	F	N	N	NR	POS	S	1	PD	-
11.	1725"	MGC	24	M	N	S	S	POS	N	2,5	LG	-
12.	1817"	MBR	45	F	S	N	N	POS	S	NR	MJ	-
13.	1818"	APS	32	M	S	S	N	POS	N	0	LG	++
14.	1920"	MAT	78	F	S	N	NR	NEG	S	1	PD	-
15.	2010"	EPP	25	F	N	S	S	POS	N	40	MJ	-
16.	2167"	AMSC	80	F	S	S	NR	NEG	S	1	PD	-
17.	2440 "	N.K.S.	35	M	S	S	NR	NEG	N	0	LG	-
18.	2441"	RGT	56	M	S	N	NR	POS	N	1	PD	-
19.	2796"	AMAM	42	F	S	S	N	POS	S	1	MJ	-
20.	2937"	JSF	21	M	N	N	S	NEG	N	2	LI	-
21.	2973"	AAS	23	F	N	N	S	NEG	S	1	MJ	-
22.	3263"	ESA	16	F	N	N	N	POS	N	0,5	LG	-

23.	4104"	FLMS	19	F	N	N	S	POS	N	1	LG	-
24.	4129"	QAA	66	M	S	S	N	NEG	S	4	MJ	-
25.	7486"	RSS	31	M	S	S	N	POS	N	0	MJ	-
26.	7953"	CBS	20	M	N	S	S	NEG	N	10	MJ	-
27.	8304"	FSH	20	F	N	N	NR	NEG	N	4	LG	+++
28.	185 "	GVG	20	F	N	S	N	POS	N	20	ML	-
29.	1919"	JOF	62	F	S	N	N	POS	S	1,5	PM	+
30.	2481"	IBS	64	F	N	N	N	POS	S	1	LG	-
31.	989/98	MM	63	F	S	N	N	POS	S	1	PM	+
32.	3222"	MCO	55	F	N	N	S	POS	S	2	AB	-
33.	888/98	RLS	56	M	N	N	S	POS	S	2	PM	-
34.	9081 /96	MFSV	49	F	S	N	N	POS	SIM	0	LG	++
35.	9374 /96	FD	38	M	S	S	S	POS	N	9	LG	-
36.	142	MSE	83	F	S	S	NR	POS	S	1	MJ	+

TABELA IV - Grupo 1- Pacientes com **LESÕES TRAUMÁTICAS** de mucosa oral, biopsiados no Instituto de Prevenção do Câncer do Ceará, no período de novembro de 1996 a Março de 1998

	BIOPS IA	NOME	IDADE	SEXO	FUMA	BEBE	HPV	PT TOTAL	RENDA SAL. MIN	LOCALI ZAÇÃO	p 53
1.	420 "	MLS	47	F	N	S	NEG	S	2	PD	-
2.	785 "	F.C.M.	67	F	N	N	POS	S	2	MJ	+
3.	850 "	MEDS	59	F	N	N	POS	S	3	PM	-
4.	959 "	MMS	40	F	N	N	POS	S	NR	GI	-
5.	1059"	RRF	29	F	S	N	NEG	S	1	GI	-
6.	1251"	MSB	42	F	N	N	POS	N	NR	LG	-
7.	1252"	JNV	71	M	N	N	NEG	S	3	PD	-
8.	1691"	JFL	70	M	N	N	NEG	S	1	PD	-
9.	2003"	AEB	30	F	N	N	NEG	N	3	LG	-
10.	2240	FHBL	23	M	NR	NR	NEG	NR	NR	ML	-
11.	3255"	FTB	21	M	N	N	NEG	N	2,5	ML	-
12.	6649	PEFS	25	M	N	S	NEG	NR	NR	ML	-
13.	8897	MLAS	32	F	S	N	NEG	SIM	NR	AB	-
14.	2241"	MLC	30	F	N	N	NEG	S	NR	GI	-
15.	5946"	MNS	50	F	N	N	NEG	S	7	PD	-

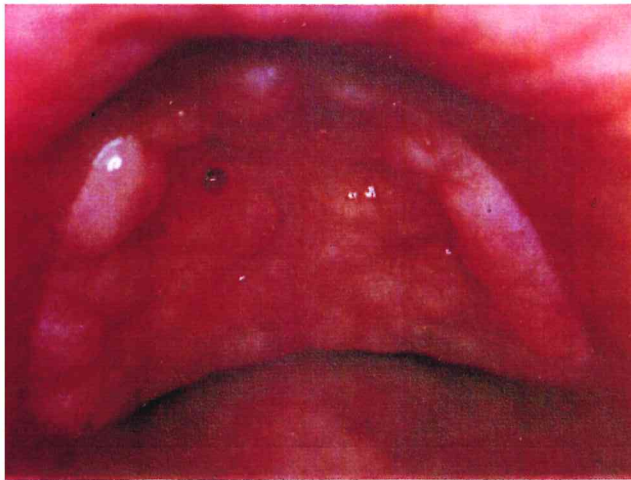


Figura 6 a - Caso 1252/97 - Hiperplasia traumática da mucosa palatina, provocada por prótese total com câmara de sucção.

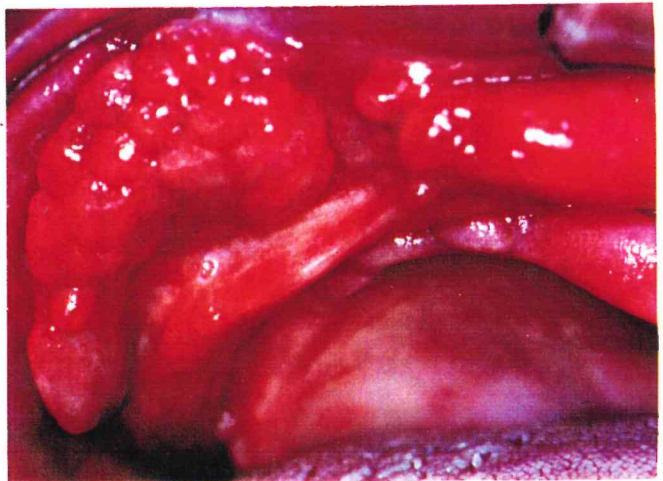


Figura 6 b - Caso 959/97 - Hiperplasia traumática da mucosa de fundo de saco superior, provocada por prótese total mal adaptada, lesão extensa e bilateral.



Figura 7 - Caso 785/97 - Fibroma traumático de mucosa jugal, provocado pelo hábito de morder bochecha, lesão circunscrita e delimitada.



Figura 8 - Caso 1059/97 - Hiperplasia traumática da mucosa de fundo de saco inferior, provocada por prótese total mal adaptada.



Figura 9 a - Caso 2240/97 - Mucocele de lábio inferior, superficial, 1,5 cm, azulada, flutuante, epitélio íntegro.



Figura 9 b - Caso 3255/97 - Mucocele de lábio inferior, mais profunda, 3,0 cm, rosada, flutuante, epitélio íntegro.

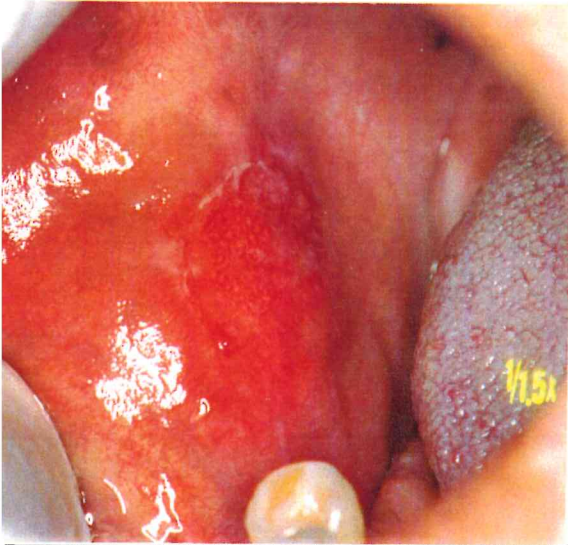


Figura 10 – Caso 2796/97 - Lesão de mucosa jugal, irregular, atrófica, eritroplásica, dolorosa, paciente de sexo feminino, compatível com líquen plano.

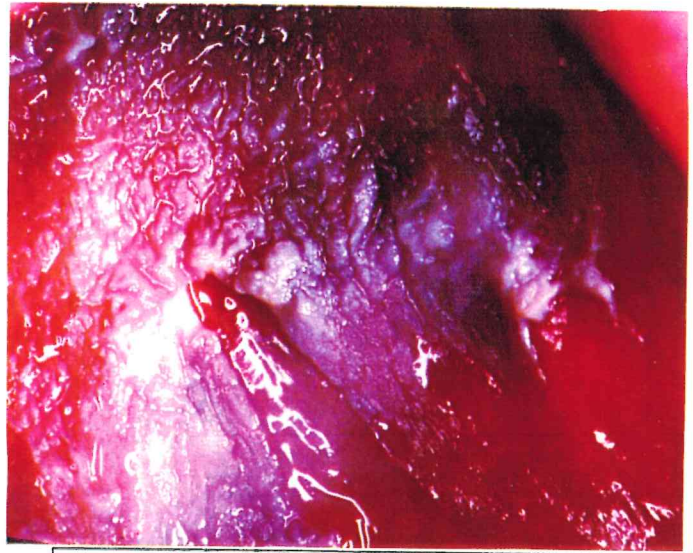


Figura 11 – Caso 142/97 - Lesão leucoplásica, paciente do sexo feminino, 83 anos, não fumante, 15 anos de evolução, difusa, indolor, áspera, extensa.

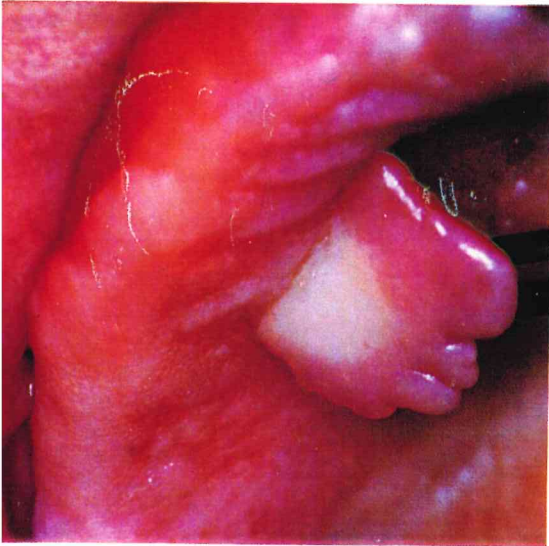


Figura 12 – Caso 989/97 - Papiloma de palato duro, péssil, indolor, provavelmente estimulado por trauma da prótese.

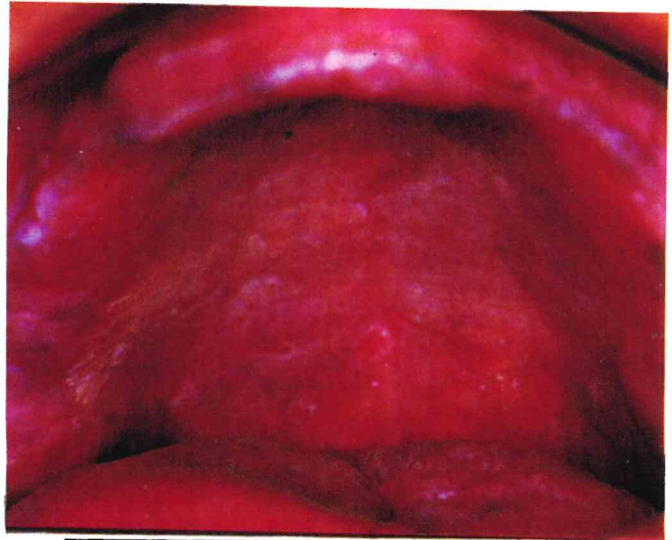


Figura 13 – Caso 2441/97 - Palato hiperceratístico, com pontilhados avermelhados. Estomatite nicotínica.

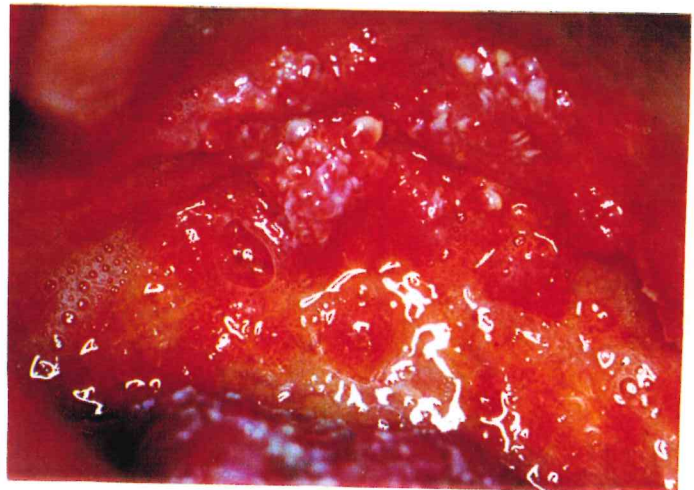


Figura 14 e 15 – Caso 888/98 Língua e palato mole de paciente debilitado pela AIDS, extensas áreas condilomatosas, compatíveis com manifestações de infecção por HPV.

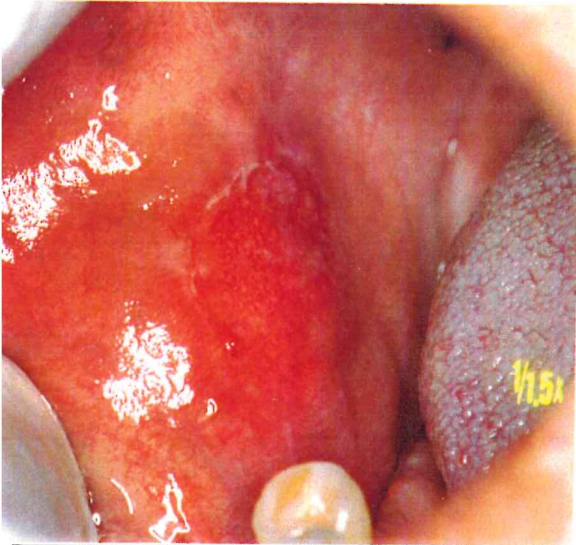


Figura 10 – Caso 2796/97 - Lesão de mucosa jugal, irregular, atrófica, eritroplásica, dolorosa, paciente de sexo feminino, compatível com líquen plano.

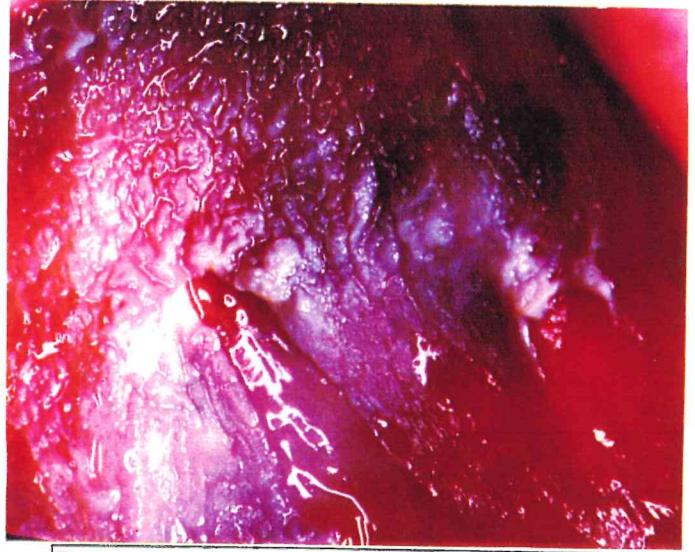


Figura 11 – Caso 142/97 - Lesão leucoplásica, paciente do sexo feminino, 83 anos, não fumante, 15 anos de evolução, difusa, indolor, áspera, extensa.

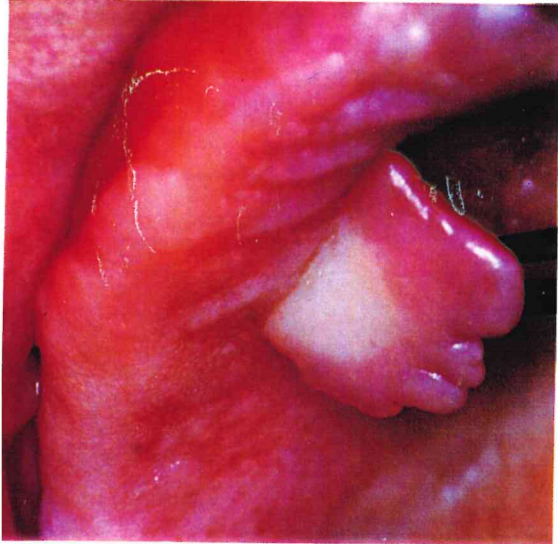


Figura 12 – Caso 989/97 - Papiloma de palato duro, séssil, indolor, provavelmente estimulado por trauma da prótese.

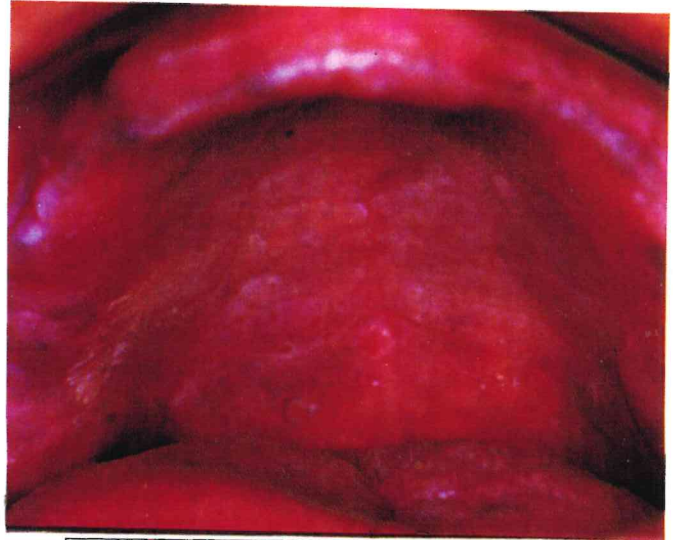


Figura 13 – Caso 2441/97 - Palato hiperqueratótico, com pontilhados avermelhados. Estomatite nicotínica.



Figura 14 e 15 – Caso 888/98 Língua e palato mole de paciente debilitado pela AIDS, extensas áreas condilomatosas, compatíveis com manifestações de infecção por HPV.

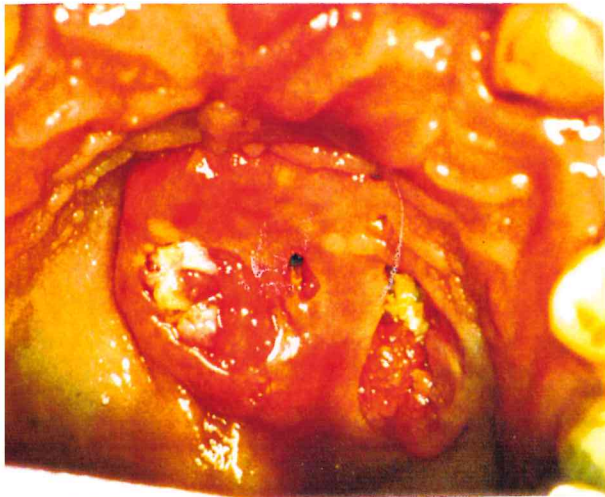


Figura 16 - Caso 9327/97 - Carcinoma de células espinhosas do palato, ulcerado, indolor, recoberto por áreas de epitélio íntegro, mulher de 37 anos, fumante.



Figura 17 - Caso 4997/97 - Carcinoma de células espinhosas do palato, homem de 72 anos, fumante, lesão extensa ulcerada com áreas necróticas.

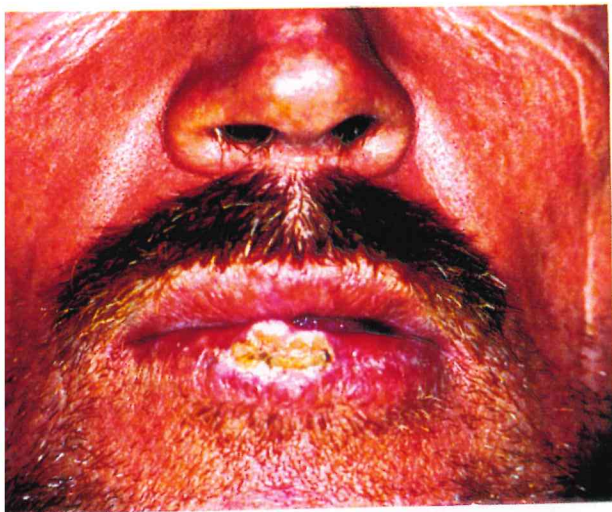


Figura 18 - Caso 722/97 - Carcinoma de células espinhosas do lábio, paciente de pele clara, agricultor, 45 anos, provocado pela exposição as radiações solares.



Figura 19 - Caso 6648/97 - Carcinoma de células espinhosas de lábio, paciente de pele clara, agricultora, 65 anos, fumante de cachimbo, a lesão se desenvolveu no local habitual da piteira do cachimbo.



Figura 20 - Caso 318/97 - Carcinoma de língua, homem, 47 anos, fumante, e alcoólatra, lesão infiltrativa, ulcerada com fundo necrótico, endurecida, indolor.

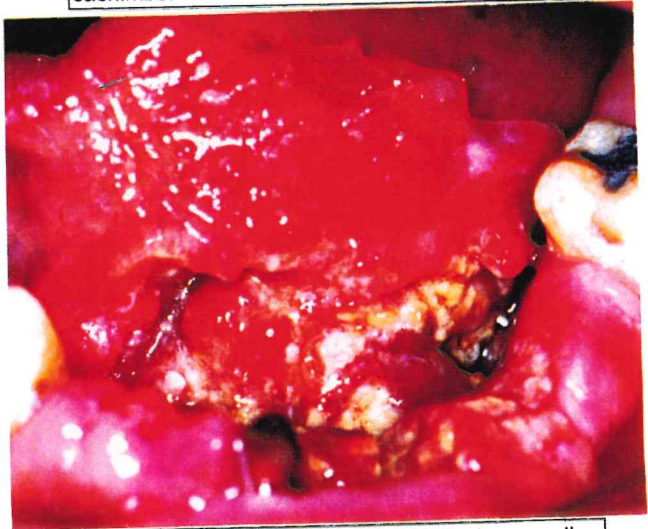


Figura 21 - Caso 3960/98 - Carcinoma de assoalho bucal, infiltrada no assoalho e na língua, estágio avançado, úlcera necrótica, prendendo a língua por infiltração tumoral.

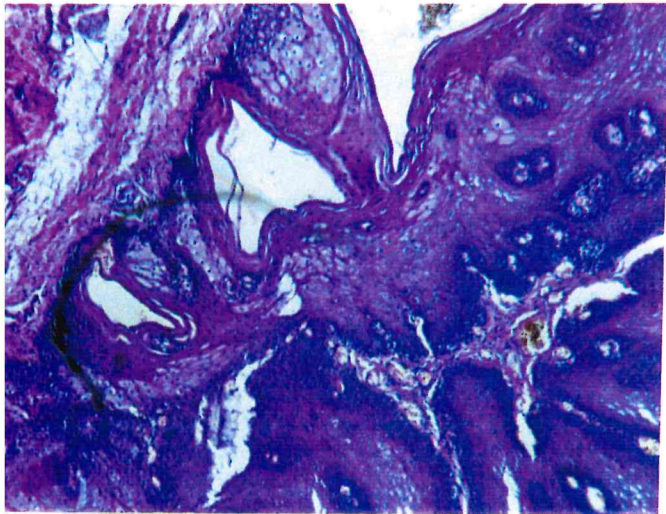


Figura 22 - Caso 989/98 40x - HE, Papiloma de células escamosas, HE, papilomatose, hiperqueratose, acantose, projeções digitiformes do epitélio.

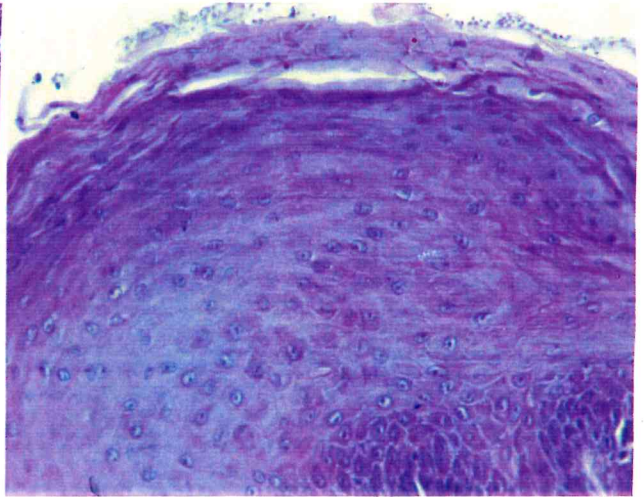


Figura 23 - Caso 989/98 100x - HE, Área de acantose, hiperparaceratose, coilócitos, apresentando descamação da camada córnea.

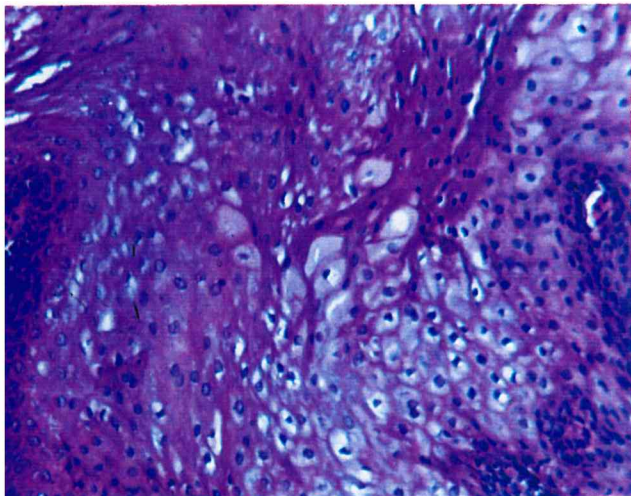


Figura 24 - Caso 989/98 100x- HE, Camada espinhosa, com várias alterações sugestivas de infecção por HPV, coilocitose, binucleações, hiper cromasias basais, disqueratose.

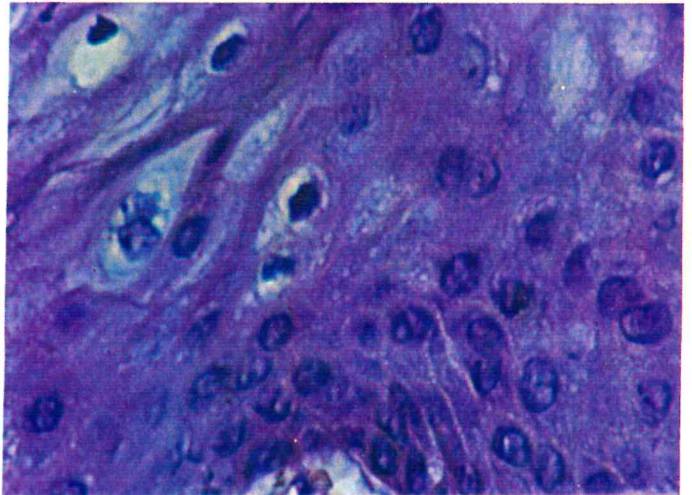


Figura 25 - Caso 989/98 400x - HE, binucleações e coilócitos, típicos de infecção por HPV.

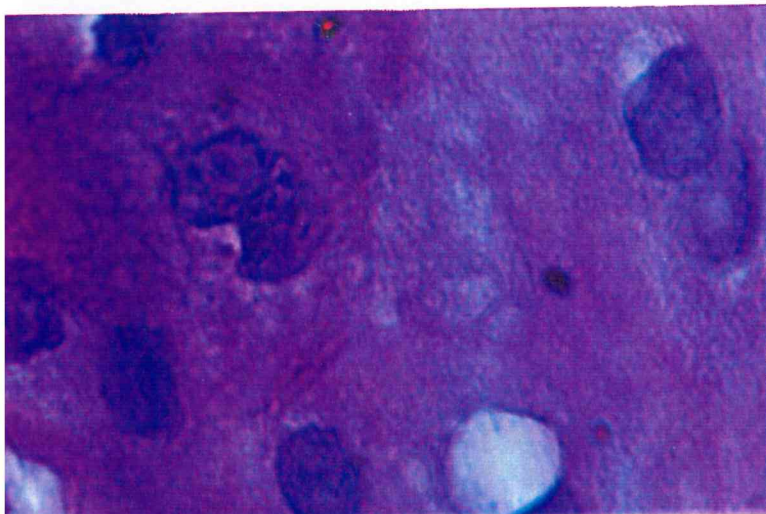


Figura 26 - Caso 1000x - HE, Célula binucleada, apresentando citoplasma ceratinizado, ainda na camada espinhosa, adjacente outra célula binucleada sem ceratinização precoce.



Figura 27 - Caso 989/98 400x - HE, Pérola de ceratina na camada espinhosa, com células apresentando halo perinuclear e outras de núcleo picnótico e hipercondensado. Sugestivos de HPV.



Figura 28 - Caso 1059/97 40x, HE, Epitélio normal, sem presença de inflamação, córion fibroso.

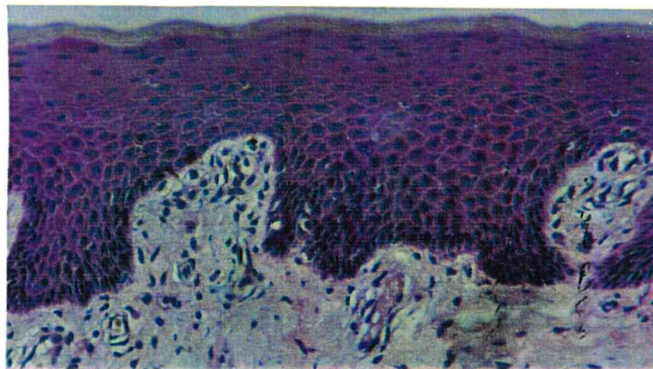


Figura 29 - Caso 1059/97 100x, HE, Epitélio integro de hiperplasia fibrosa, arquitetura das camadas apresenta-se organizada.



← Figura 30 - Caso 1059/97 40x, Imunohistoquímica p53 negativo, epitélio normal.

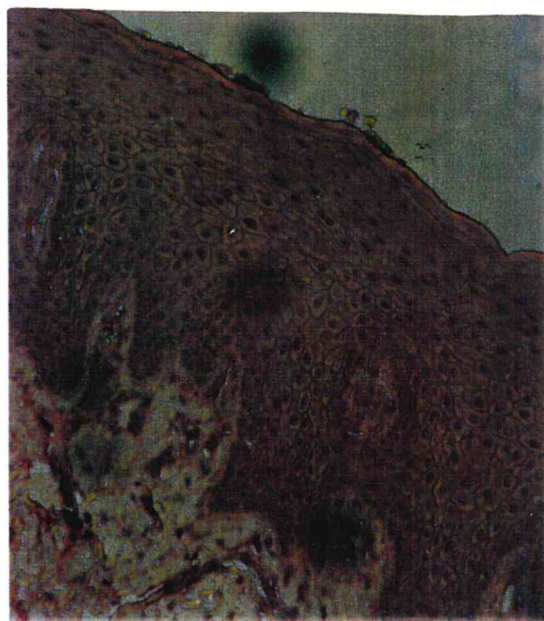


Figura 31 - Caso 1059/97 100x, Imunohistoquímica p53 negativo, epitélio normal. →

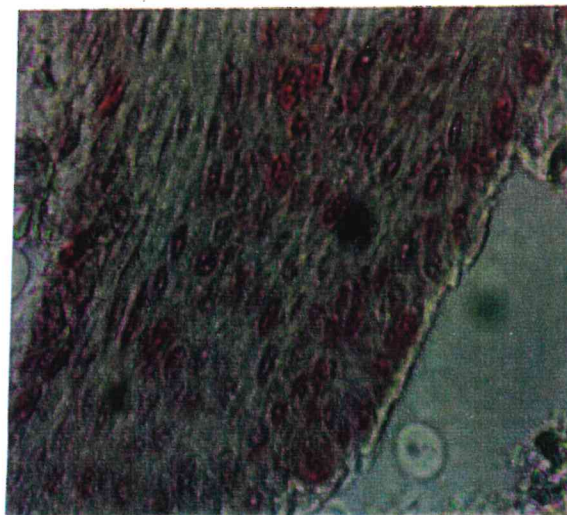


Figura 32 - Caso 1059/97 100x, Imunohistoquímica p53 positivo, epitélio Acantótico, apresentando positividade espaçada nas células da camada basal, paciente fumante. (ao lado esquerdo)

Figura 33 - Caso 1059/97 400x, Imunohistoquímica p53 positivo, mesmo paciente da fig. 32, positividade nas células basais e parabasais. (acima)

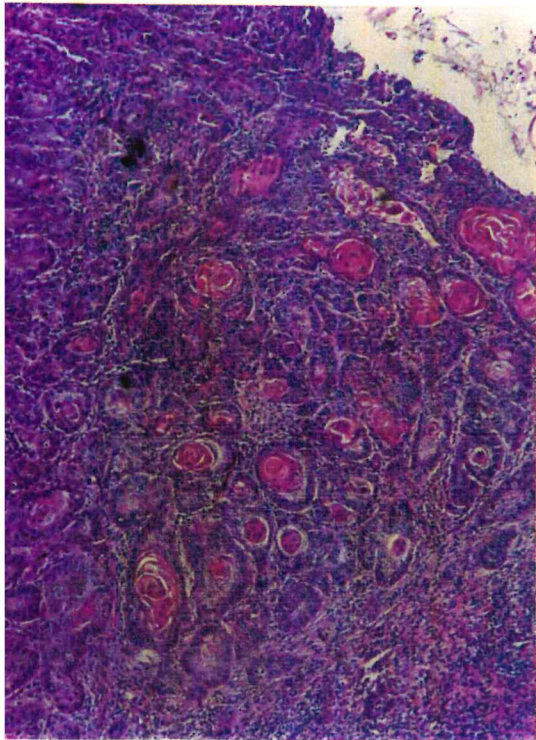


Figura 34 - Caso 3870/97 100x, HE, carcinoma de células espinhosas bem diferenciado invasor, apresentando pérolas de queratina, envolvidas por células germinativas, e infiltrado inflamatório.

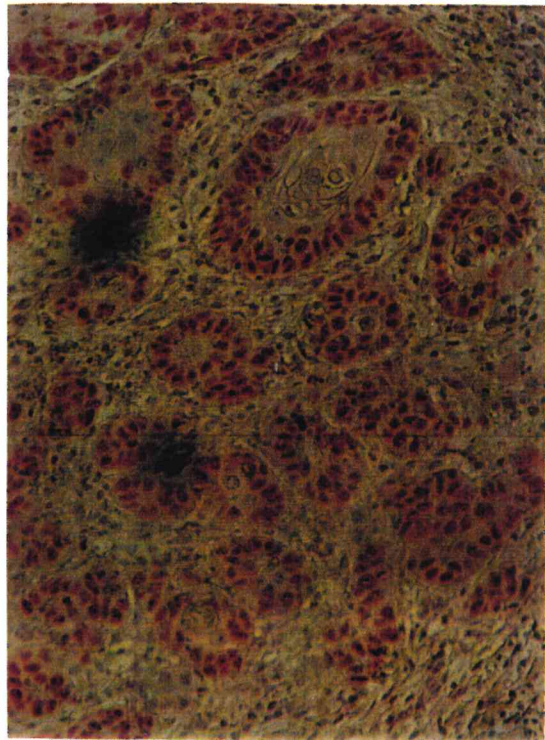


Figura 35 - Caso 3870/97 100x, Imunohistoquímica p53 positivo, carcinoma de células espinhosas bem diferenciado invasor, apresentando pérolas de queratina, envolvidas por células germinativas p53 positivas.

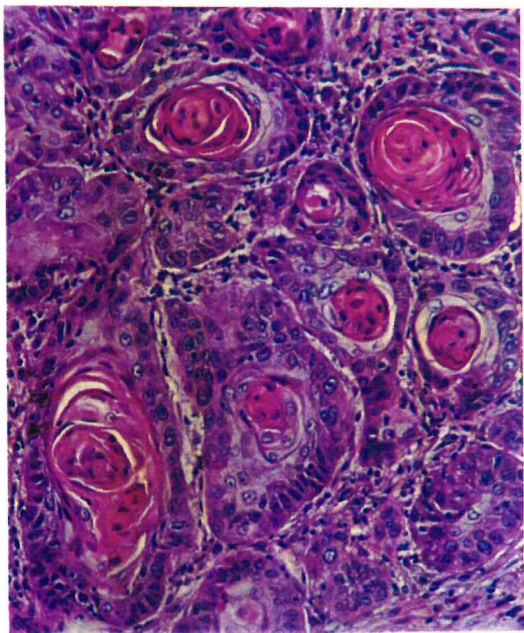


Figura 36 - Caso 3870/97 400x, HE, carcinoma de células espinhosas bem diferenciado invasor, apresentando pérolas de queratina, envolvidas por células germinativas, e infiltrado inflamatório.

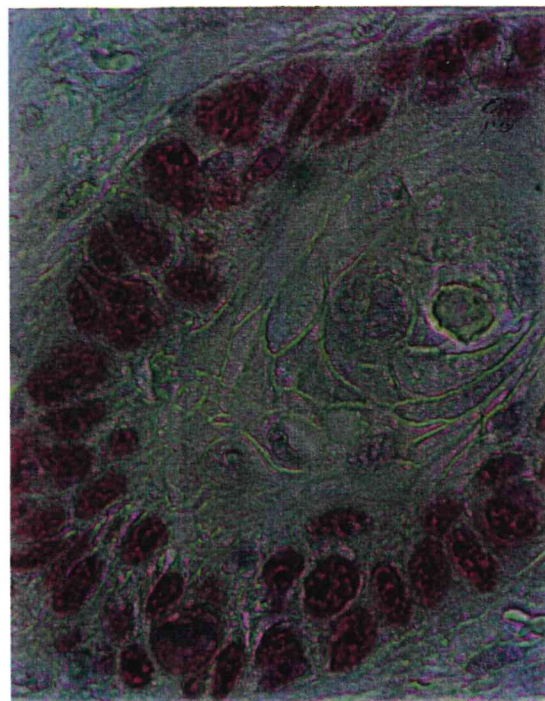


Figura 37 - Caso 3870/97 1000x, Imunohistoquímica p53 positivo, carcinoma de células espinhosas diferenciado, invasor, apresentando células da camada germinativa intensamente coradas por p53



Figura 38 - Caso 2063/97 40x, HE, carcinoma de células espinhosas bem diferenciado invasor, epitélio normal recobrando a lesão, áreas de neovascularização e focos de diferenciação córnea.



Figura 39 - Caso 2063/97 40x, Imunohistoquímica p53 positivo, carcinoma de células espinhosas diferenciado, invasor, apresentando focos de expressão de p53 e áreas p53 negativas, recoberto por epitélio normal algumas fracamente coradas por p53.

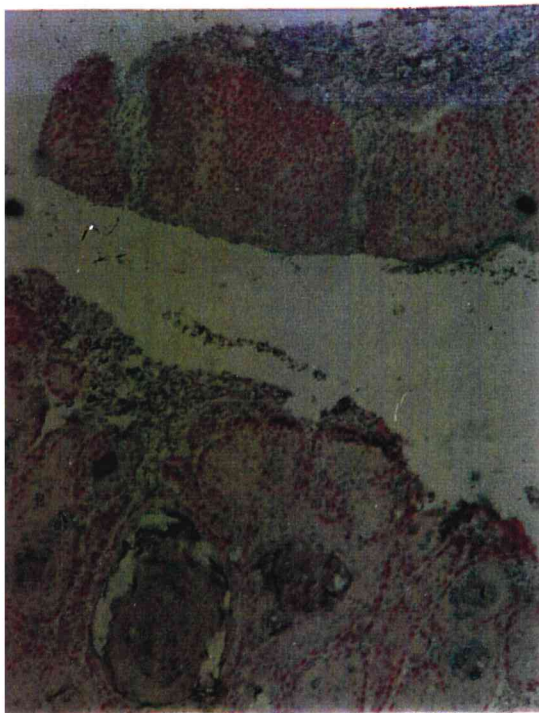


Figura 40 - Caso 2063/97 40x, Imunohistoquímica p53 positivo, margem de carcinoma de células espinhosas diferenciado, invasor, apresentando áreas de expressão de p53 e áreas p53 negativas, a margem da lesão apresenta epitélio displásico expressando p53 intensamente.

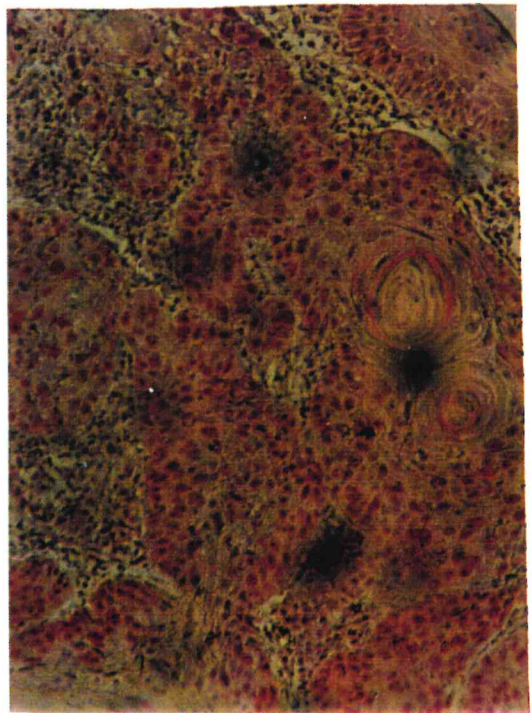


Figura 41 - Caso 2063/97 40x, Imunohistoquímica p53 positivo, visão aproximada da fig. 39, pérolas córneas rodeadas de células p53 positivas.

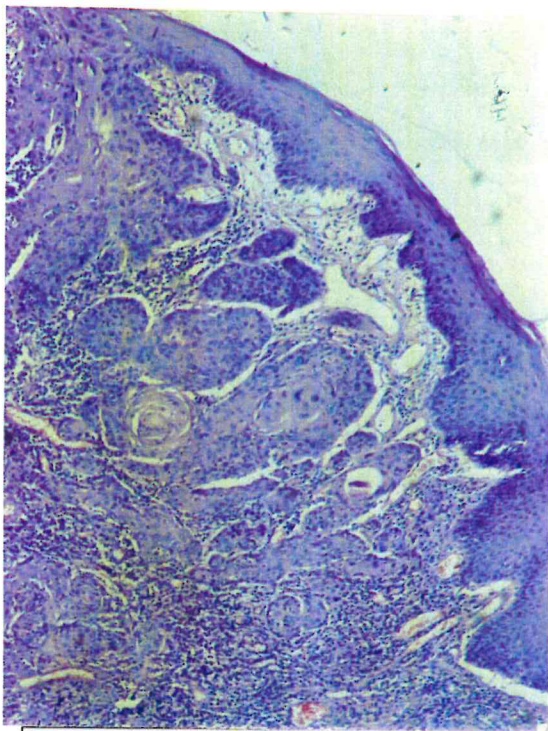


Figura 42 - Caso 318/97 40x, HE, margem de carcinoma de células espinhosas bem diferenciado, invasor, p53 e apresentando áreas de ceratinização, a direita epitélio normal da lesão.

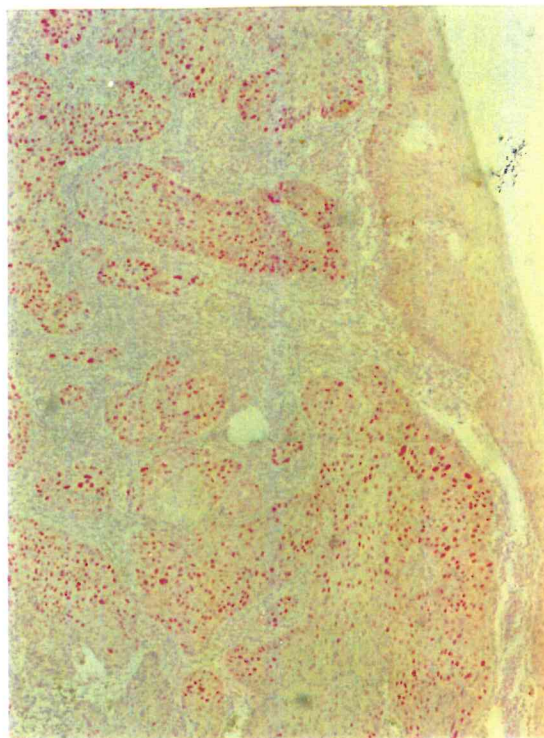


Figura 43 - Caso 318/97 100x, Imunohistoquímica p53 positivo, margem de carcinoma de células espinhosas diferenciado, invasor, apresentando áreas de intensa expressão de p53 e áreas p53 negativas, a margem da lesão apresenta epitélio normal.

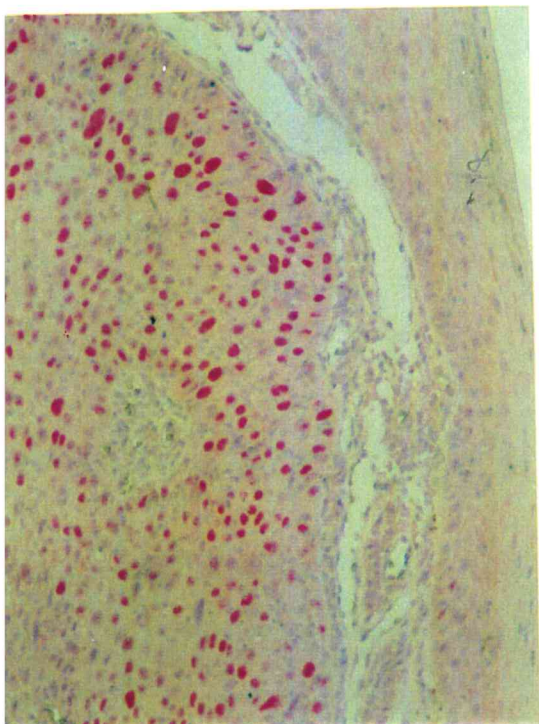


Figura 44 - Caso 318/97 400x, Imunohistoquímica p53 positivo, margem de carcinoma de células espinhosas diferenciado, invasor, apresentando áreas de intensa expressão de p53 e áreas p53 negativas, a margem da lesão apresenta epitélio normal com algumas células fracamente coradas.

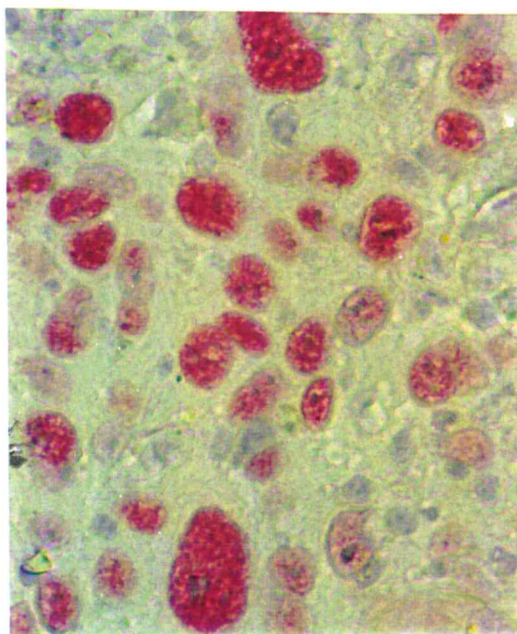


Figura 45 - Caso 318/97 1000x, Imunohistoquímica p53 positivo, carcinoma de células espinhosas diferenciado, invasor, apresentando células pleomórficas, expressando p53 e áreas p53 negativas, a margem da lesão.



Figura 46 - Caso 1818/97 40x, HE, Lesão clínica e histologicamente sugestiva de HPV, papilomatose, acantose e hiperqueratose.

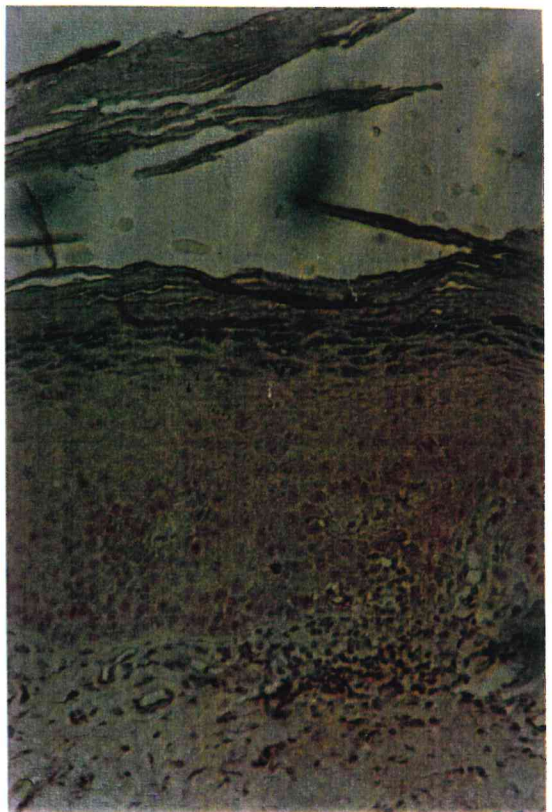


Figura 47- Caso 1818/97 100x, Imunohistoquímica p53 positivo, Mesma lesão da fig. 46, apresentando expressão de p53 na camada basal, corada fracamente. Paciente fumante.

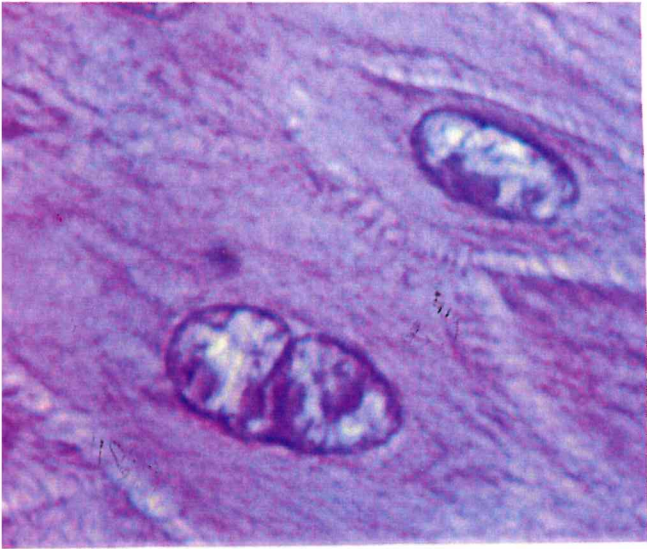


Figura 48 - Caso 1818/97 1000x, HE, Mesma lesão da fig. 46, apresentando binucleação na camada espinhosa. Sugestivo de HPV. Paciente fumante.



Figura 49- Caso 1818/97 1000x, Imunohistoquímica p53 positivo, Mesma lesão da fig. 46, apresentando binucleação na camada espinhosa. Sugestivo de HPV expressando p53. Paciente fumante.

Coloração por azul de toluidina

exame POSITIVO NEGATIVO Data _____
exame POSITIVO NEGATIVO Data _____
exame POSITIVO NEGATIVO Data _____
agnóstico clínico? _____

psia: Sim Data _____ Incisional excisional
io Por que? _____
sultado do exame histopatológico: _____

pectos Histopatológicos sugestivos de infecção por HPV Sim Não
ais? Coilocitose Binucleação Disqueratose Outros _____
agnóstico definitivo: _____

ologia esfoliativa Sim Não
ultado do exame citológico: _____

pectos citológicos sugestivos de infecção por HPV Sim Não
ais? Coilocitose Binucleação Disqueratose Outros _____
itamento sugerido: _____

agnóstico : Bom Favorável desfavorável Sombrio
ia: _____ Responsável: _____

s: _____

ficha: _____

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO EM PATOLOGIA
INSTITUTO DE PREVENÇÃO DO CÂNCER**

FICHA CLÍNICA

Dados pessoais

Nome: _____
Estado Civil _____ Idade: _____ Sexo _____ Cor: _____
Naturalidade: _____ Nacionalidade _____
Endereço: _____
Telefones de contato: _____
Profissão: _____ Ren. mens. em salários _____
Empregado Desempregado Autônomo Aposentado
Nº de dependentes: _____ Profissões anteriores _____
Escolaridade: Analfabeto Lê/Escreve 1º Grau 2º Grau 3º Grau

Dados clínicos

Motivo da consulta: _____

Hábitos

Fuma? Não Sim Há quanto tempo? _____ Tipo: _____
Quantos por dia? _____ Masca fumo? Sim Não
Bebe? Não Sim quanto por semana? (em ml) _____
Tipo : Fermentada Destilada Ambos
Você é uma pessoa ansiosa e nervosa? Sim Não

História médica

Esteve hospitalizada nos últimos cinco anos ? Não Sim

Porque? _____

Esta sob tratamento médico? Não Sim

porque? _____

Esta fazendo uso de algum medicamento? Sim Não

Qual? _____

Esteve sob tratamento de alguma carência vitamínica? Não Sim

Qual? _____ Há quanto tempo? _____

Você é uma pessoa sexualmente ativa ? Sim Não

Você já teve alguma DST (doença venérea)? Sim Não

Qual? _____

Qual é (ou foi) sua prática sexual? Sempre pelas vias normais Outras

Já praticou sexo oral? Sim Não

Nos últimos três anos teve mais de um(a) parceiro(a) sexual Sim Não

quantos? _____

Nos últimos três anos perdeu peso sem motivo aparente? Não Sim

Quanto? _____

É ou foi portador de alguma outra doença? Sim Não

Qual? _____

Queixa principal: _____

história da lesão

Quando surgiu? _____

Como surgiu ? (relação causa/efeito) _____

Sente sensação : Assintomático Dor Queimação Dormência Gosto

lim Sangramento Inchaço Medo do que seja

localização? _____

foi realizado algum tratamento? Não Sim

Qual? _____

Evolução? _____

História familiar de C.A.? Não Sim parentesco: _____

Exame físico extra-bucal

Presença de nódulos? Sim Não Local? _____

Tempo? _____ Aderência? Sim Não

Dor a palpação? Sim Não

Exame físico intra-bucal

Dentição completa Desdentado Párcial Desdentado total Sup. Inf.

Usa prótese dentária? Sim Não

Tipo: _____

Total Sup. Inf. Parcial removível a grampos

Parcial removível de acrílico Fixa

Nº de escovações diárias _____

Gengiva clinicamente? saudável inflamada

Dentes cariados ? presente ausente

Apresenta outros fatores traumáticos? Sim Não

Quais _____

Exame físico da lesão

Localização _____ Tamanho _____

Forma _____ Consistência _____

Cor _____ Base: Sésil Pendunculada Ulcerada Sim Não

Limites: Definidos Indefinidos Bordas _____

Nº de lesões _____

Exames complementares

Pressão arterial _____ Coagulograma Sim Não

Hemograma Sim Não Oroscoopia Sim Não

VDRL Sim Não resultado : POSITIVO NEGATIVO

Radiografias: Quais ? _____

Aspectos radiográficos da lesão: _____