Claudio Roberto Cernea

*Carcinomas cutâneos com acometimento
suspeito ou comprovado da base do crânio:
fatores clínicos, histopatológicos e biológicos*

São Paulo

2001

Claudio Roberto Cernea

**Carcinomas cutâneos com acometimento suspeito
ou comprovado da base do crânio: fatores clínicos,
histopatológicos e biológicos**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Professor Livre-Docente junto ao Departamento de Cirurgia
(Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço)**

**São Paulo
2001**

214.1/58
5P. USP
FM-3
C-39300

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cerneia, Claudio Roberto

Carcinomas cutâneos com acometimento suspeito ou comprovado da base do crânio : fatores clínicos, histopatológicos e biológicos / Claudio Roberto Cernea. — São Paulo, 2001.

Tese(livre-docência)—Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Cirurgia. Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço.

Descritores: 1.CARCINOMA BASOCELULAR/cirurgia 2.CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS/cirurgia 3.BASE DO CRÂNIO/cirurgia 4.PROTEÍNAS DE ONCOGENE/uso diagnóstico 5.PROTEÍNA P53/uso diagnóstico 6.ANTÍGENO KI-67/uso diagnóstico 7.MEMBRANA BASAL 8.ANTÍGENOS CD34/uso diagnóstico 9.PROTEÍNA S100 DO TECIDO NERVOSO/uso diagnóstico

USP/FM/SBD-214/01

DEDICATÓRIA

*A meus queridos pais, **Renée** (in memoriam) e **Sache**, que com seu exemplo de carinho, amor, dedicação e retidão moral, contribuíram para construir os alicerces de minhas idéias e de meus princípios.*

*À minha adorada esposa **Selma**, com quem Deus me proporcionou a felicidade de compartilhar a minha vida, que é a luz que sempre ilumina o meu caminho.*

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Alberto R. Ferraz**, pela sua sempre presente orientação nas fases mais importantes de minha trajetória profissional até o presente momento, responsável direto pela minha escolha quanto à especialidade cirúrgica, pelo meu aperfeiçoamento em outros Centros especializados no Exterior, pelo estímulo para minha atividade associativa junto à Sociedade Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, pelos seus comentários, sempre lúcidos e precisos, pelo seu apoio e pela confiança em mim depositada, e pela oportunidade que me ofereceu para prestar este concurso, a minha eterna gratidão.

Ao **Prof. Dr. Anóí C. Cordeiro**, pelos seus ensinamentos, sempre profundos, por suas críticas, sempre construtivas, que muito contribuíram para a minha formação acadêmica, e pelo seu exemplo de mestre e médico.

Aos **Prof. Drs. Lenine G. Brandão e Gilberto de Britto e Silva Filho**, pelos ensinamentos recebidos e pelo estímulo e apoio demonstrado.

Ao **Dr. Marcos R. Tavares** pela amizade fraterna, pelas críticas sempre construtivas e pelo exemplo de honradez e integridade.

Aos meus colegas e amigos da Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: **Drs. Vergilius J. F. de Araújo Filho, Roberto P. Magalhães, Erivelto M. Volpi, Marcelo D. Durazzo, Pedro Michaluart Jr. e Fábio L. M. Montenegro**, pela amizade e pelo apoio em todos estes anos de convivência profissional. Em especial, gostaria de agradecer ao **Dr. Luiz R. Medina dos Santos** por me proporcionar acesso ao banco de dados por ele organizado de parte dos doentes submetidos a operações craniofaciais em nossa Instituição, que serviu como fonte para a coleta de dados clínicos e cirúrgicos de alguns casos deste estudo.

Aos colegas de outras Especialidades do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo que participaram das operações craniofaciais, numa verdadeira simbiose multidisciplinar: **Drs. Eduardo Vellutini, Otávio Velasco, Mário Siqueira, Marcos Q. T. Gomes, Oswaldo L. M. Cruz, Júlio Moraes-Besteiro e Luiz C. Ishida.**

Às **Dras. Inês de Castro e Míriam N. Sotto**, pela perseverança demonstrada na obtenção dos blocos anatomopatológicos dos casos deste estudo, pela leitura das lâminas, que foi peça fundamental desta pesquisa, e pela confecção das lâminas em branco para a análise imunohistoquímica.

Ao **Prof. Dr. Carlos E. Bacchi e Dra. Ângela F. Logullo**, pela inestimável contribuição para o planejamento da análise imunohistoquímica, pelo auxílio na pesquisa da gigantesca literatura sobre o assunto e pela execução e leitura das avaliações imunohistoquímicas que constituíram uma das bases deste estudo.

Aos **Prof. Drs. Luís C. C. Gayotto e Evandro A. Rivitti**, por autorizarem o acesso aos blocos anatomopatológicos arquivados, respectivamente, no Departamento de Patologia e no Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aos acadêmicos **André S. Potenza, Fernando Sasaki, Henrique O. A. Fagundes Neto e Frederico F. D. Matos de Sá**, pela sua incansável ajuda na coleta dos dados dos prontuários dos casos deste estudo.

À **Srta. Mariana Curi**, pela competência na execução da análise estatística desta tese.

Às **Sras. Valéria V. Lombardi, Mariacéu P. Faria e Rogéria C. Dias** pela eficiência na obtenção das referências bibliográficas no Brasil e no Exterior.

À **Sra. Sônia L. P. T. Carvalho** pela elaboração da ficha catalográfica da tese.

À minha maravilhosa equipe cirúrgica, formada pelos **Drs. Flávio C. Hojaij, Sunao Nishio, Dorival de Carlucci Jr., Ariovaldo F. de Freitas e Sílvia V. Pigozzi**, além da **Sra. Yara Rinaldi**, pela indispensável tranquilidade que me proporcionaram em minha clínica privada. Em especial, meu tributo à **Dra. Nishio** e aos **Drs. Hojaij e Carlucci Jr.**, que, com seus intelectos privilegiados, incansável capacidade de trabalho e admirável dedicação, muito me ajudaram na fase de acabamento da tese, quanto também recebi a colaboração dos **Drs. Daniela H. Martins e Felipe B. Vanderlei**.

À **Sra. Vera Rosenthal**, pela concepção artística da capa desta tese.

À **Sra. Claudia Intatilo**, pela paginação e diagramação desta tese.

À **Sra. Natalina N. Nagado**, Secretária da Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo seu permanente bom humor, competência, paciência e dedicação.

Aos Médicos Residentes de Cirurgia Geral e da Especialidade de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, que participaram do tratamento dos doentes ao longo dos anos deste estudo.

Aos doentes que colaboraram para que esta tese se tornasse possível e que são, em última análise, a razão primeira de nossas carreiras profissionais, pois todos nós almejamos, ao nos aprimorarmos, oferecer-lhes um cuidado médico cada vez mais competente e eficaz, a minha respeitosa homenagem.

Finalmente, gostaria de agradecer àqueles que tenham contribuído para a feitura desta tese e que, por alguma infeliz omissão de minha parte, não foram aqui lembrados.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE SÍMBOLOS

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	7
1. Ressecções craniofaciais oncológicas	8
1.1. Ressecções craniofaciais oncológicas e carcinomas cutâneos	10
2. Aspectos epidemiológicos	14
3. Etiopatogenia	15
4. Histopatologia	16
5. Fatores prognósticos convencionais	20
5.1. Tempo de queixa	20
5.2. Fatores clínicos	20
5.3. Fatores histopatológicos	22
6. Fatores prognósticos biológicos	23
6.1. c-erbB-2	23
6.2. TP53	26
6.3. Ki-67	36
6.4. Colágeno tipo IV	38
6.5. Angiogênese	40
6.6. Invasão perineural – Proteína S-100	45
7. Novas perspectivas terapêuticas	45
7.1. Terapia molecular com transfecção de p53 nativa	46
7.2. Terapia molecular antiangiogênica	46
3. OBJETIVOS	47
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS	49

1. Casuística	50
1.1. Critérios de inclusão e formação dos grupos	50
1.1. Dados epidemiológicos	52
1.2. Dados clínicos	52
1.3. Dados cirúrgicos	52
1.4. Seguimento	53
2. Análise histopatológica	53
2.1. Análise histopatológica dos CBCs (Grupos 1 e 3)	53
2.2. Análise histopatológica dos CECs (Grupos 2 e 4)	58
3. Análise imunohistoquímica	60
3.1. Aspectos técnicos da análise IHQ	60
3.2. Critérios para interpretação dos resultados do estudo IHQ	62
4. Análise estatística	69
5. Caracterização final da casuística	69
5.1. Grupos de estudo	69
5.2. Grupos de controle	72
6. Avaliação da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa	73
5. RESULTADOS	74
1. Variáveis epidemiológicas	75
1.1. Grupos 1 e 3	75
1.2. Grupos 2 e 4	76
2. Variáveis clínicas	77
2.1. Grupos 1 e 3	77
2.2. Grupos 2 e 4	79
3. Variáveis cirúrgicas	80
3.1. Grupos 1 e 3	80
3.2. Grupos 2 e 4	81
4. Seguimento	82
4.1. Grupos 1 e 3	82
4.2. Grupos 2 e 4	82
5. Variáveis histopatológicas	83
5.1. Grupos 1 e 3	83

5.2. Grupos 2 e 4	88
6. Variáveis biológicas	91
6.1. Grupos 1 e 3	91
6.2. Grupos 2 e 4	98
7. Relação entre o achado histopatológico de invasão perineural e a pesquisa imunohistoquímica da invasão com a proteína S-100	101
8. Resultados descritivos do pacientes submetidos a duas operações	102
6. DISCUSSÃO	105
1. Variáveis epidemiológicas	108
1.1. Sexo	108
1.2. Idade	108
1.3. Cor	108
2. Variáveis clínicas	109
2.1. Duração da queixa	109
2.2. Tamanho do tumor	110
2.3. Tipo da lesão	111
2.4. Estadiamento TNM	111
2.5. Localização	112
3. Variáveis cirúrgicas	113
3.1. Invasão orbitária e endocraniana	113
3.2. Reconstrução	114
4. Seguimento e evolução	115
5. Variáveis histopatológicas	116
5.1. CBC	116
5.2. CEC	120
6. Variáveis biológicas	123
6.1. CBC	124
6.2. CEC	133
7. Relação entre o achado histopatológico de invasão perineural e a pesquisa imunohistoquímica da invasão com a proteína S-100	140
8. Análise comparativa das variáveis nos doentes submetidos a duas operações	140

9. Novas perspectivas terapêuticas	142
9.1. <i>Terapia molecular com transfecção de p53 nativa</i>	142
9.2. <i>Terapia molecular antiangiogênica</i>	143
7. CONCLUSÕES E INFERÊNCIAS	144
1. Conclusões	145
2. Inferências	146
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	147
Apêndices	

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1</i>	CBC nodular (10x)
<i>Figura 2</i>	CBC cístico (10x)
<i>Figura 3</i>	CBC adenóide (10x)
<i>Figura 4</i>	CBC superficial (10x)
<i>Figura 5</i>	CBC esclerodermiforme (10x)
<i>Figura 6</i>	CBC metatípico (10x)
<i>Figura 7</i>	CBC com crescimento expansivo (seta) (10x)
<i>Figura 8</i>	CBC com crescimento infiltrativo (seta) (10x)
<i>Figura 9</i>	CBC com perfil dos blocos arredondado (10x)
<i>Figura 10</i>	CBC com blocos espiculados (10x)
<i>Figura 11</i>	CBC com paliçada bem formada (seta) (40x)
<i>Figura 12</i>	CBC com paliçada malformada (seta) (40x)
<i>Figura 13</i>	CBC com pleomorfismo nuclear discreto (40x)
<i>Figura 14</i>	CBC com pleomorfismo nuclear moderado (40x)
<i>Figura 15</i>	CBC com pleomorfismo nuclear intenso (40x)
<i>Figura 16</i>	CBC com estroma fibroso (10x)
<i>Figura 17</i>	CBC com estroma hialinizado (10x)
<i>Figura 18 a e b</i>	CBC com invasão perineural (setas) (40x)
<i>Figura 19</i>	CEC grau I, com discreto infiltrado inflamatório (10x)
<i>Figura 20</i>	CEC grau II, com moderado infiltrado inflamatório (10x)
<i>Figura 21</i>	CEC grau III (10x)
<i>Figura 22</i>	CEC infiltrando músculo esquelético (seta) (10x)
<i>Figura 23</i>	CEC infiltrando osso (seta) (10x)
<i>Figura 24</i>	CEC com infiltração perineural (seta) (20x)
<i>Figura 25</i>	CEC com desmoplasia presente (4x)
<i>Figura 26</i>	CEC com desmoplasia ausente (10x)
<i>Figura 27</i>	CEC com intenso infiltrado inflamatório (10x)
<i>Figura 28</i>	CEC infiltrando parênquima cerebral (10x)
<i>Figura 29</i>	Imunocoloração revelando superexpressão em padrão

membrana para proteína do oncogene c-erbB-2 nas células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

Figura 30 Imunocoloração revelando expressão nuclear para a proteína p53 nas células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pelo verde de metila (aumento original: 400x)

Figura 31 Imunocoloração revelando expressão nuclear para o antígeno de proliferação celular Ki-67 em <30% das células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pelo verde de metila (aumento original: 400x)

Figura 32 Imunocoloração revelando expressão nuclear para o antígeno de proliferação celular Ki-67 em 30-50% das células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pelo verde de metila (aumento original: 400x)

Figura 33 Imunocoloração revelando expressão nuclear para o antígeno de proliferação celular Ki-67 em >50% das células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pelo verde de metila (aumento original: 400x)

Figura 34 Imunocoloração revelando membrana basal íntegra ao redor do bloco de células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

Figura 35 Imunocoloração revelando rupturas da membrana basal ao redor do bloco de células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

Figura 36 Imunocoloração revelando ausência de membrana basal ao redor do bloco de células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

- Figura 37* Imunocoloração revelando discreta angiogênese em carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)
- Figura 38* Imunocoloração revelando moderada angiogênese em carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)
- Figura 39* Imunocoloração revelando intensa angiogênese em carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)
- Figura 40* Imunocoloração revelando filetes nervosos íntegros em região adjacente ao carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)
- Figura 41* Imunocoloração revelando filetes nervosos parcialmente destruídos e infiltrados por blocos de células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)
- Figura 42* Paciente portador de CBC fronto-temporal direita, com exposição e invasão da calota craniana. a: Aspecto da lesão, evidenciando extensa invasão óssea; b: Delimitação da incisão; c: Defeito cirúrgico após a ressecção craniofacial; d: Aspecto no 30º dia pós-operatório.
- Figura 43* Três doentes com extensos CBCs com invasão de base de crânio: a. CBC esclerodermiforme com invasão orbitária bilateral; b. CBC metatípico, com exposição de calota craniana; c. CBC esclerodermiforme, recidivado após 24 operações
- Figura 44 a e b* Dois pacientes com extensos CECs de região fronto-orbitária, com metástases linfonodais em loja parotídea esquerda e em pescoço

<i>Figura 45</i>	Tipo da lesão
<i>Figura 46</i>	Regiões acometidas pelos CBCs
<i>Figura 47</i>	Regiões acometidas pelos CECs
<i>Figura 48</i>	Distribuição por variante histopatológica dos CBCs
<i>Figura 49</i>	Padrão de crescimento dos CBCs
<i>Figura 50</i>	Perfil dos blocos celulares
<i>Figura 51</i>	Paliçada periférica dos blocos celulares
<i>Figura 52</i>	Pleomorfismo nuclear
<i>Figura 53</i>	Estroma tumoral
<i>Figura 54</i>	Profundidade de invasão
<i>Figura 55</i>	Invasão perineural em CBCs
<i>Figura 56</i>	Margens definitivas de ressecção
<i>Figura 57</i>	Distribuição dos CECs segundo a classificação de Broder
<i>Figura 58</i>	Profundidade de invasão dos CECs
<i>Figura 59</i>	Invasão perineural nos CECs
<i>Figura 60</i>	Desmoplasia em CECs
<i>Figura 61</i>	Infiltrado inflamatório peritumoral nos CECs
<i>Figura 62</i>	Hiperexpressão do c-erbB-2 nos CBCs
<i>Figura 63</i>	Relação da hiperexpressão do c-erbB-2 com as variantes de CBC
<i>Figura 64</i>	Hiperexpressão da p53 nos CBCs
<i>Figura 65</i>	Relação entre hiperexpressão da p53 e variante histopatológica de CBC
<i>Figura 66</i>	Expressão do Ki-67 nos CBCs
<i>Figura 67</i>	Relação entre expressão do Ki-67 e variante histopatológica de CBC
<i>Figura 68</i>	Avaliação da MB com colágeno tipo IV nos CBCs
<i>Figura 69</i>	Correlação entre a MB e a variante histopatológica de CBC
<i>Figura 70</i>	Avaliação da angiogênese com CD34 nos CBCs
<i>Figura 71</i>	Correlação entre a angiogênese e a variante histopatológica de CBC
<i>Figura 72</i>	Avaliação da invasão de filetes nervosos com a proteína S-100 em CBCs

- Figura 73* Correlação da avaliação de filetes nervosos com a variante histopatológica de CBC
- Figura 74* Hiperexpressão do c-erbB2 nos CECs
- Figura 75* Hiperexpressão da p53 nos CECs
- Figura 76* Expressão do Ki-67 nos CECs
- Figura 77* Avaliação da MB com colágeno tipo IV nos CECs
- Figura 78* Avaliação da angiogênese com CD34 nos CECs
- Figura 79* Avaliação da invasão de filetes nervosos com a proteína S-100 em CECs

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1</i>	Comparação entre invasão perineural e proteína S-100 para todos os grupos
<i>Tabela 2</i>	Evolução das variáveis cirúrgicas e histopatológicas entre as duas operações
<i>Tabela 3</i>	Evolução das variáveis biológicas entre as duas operações

LISTA DE ABREVIATURAS

CBC	carcinoma basocelular
CEC	carcinoma epidermóide
<i>et al.</i>	e colaboradores
<i>apud</i>	citando
TP53	gene supressor de tumor p53
c-erbB-2	protooncogene HER-2/ <i>neu</i>
p185	proteína resultante da codificação do c-erbB-2
G1	fase do ciclo celular, correspondente ao primeiro intervalo
PCNA	<i>proliferating cell nuclear antigen</i>
Ki-67	antígeno de proliferação Ki-67
S	fase do ciclo celular, correspondente à síntese
G2	fase do ciclo celular, correspondente ao segundo intervalo
M	fase do ciclo celular, correspondente à mitose
G0	fase de "repouso" da célula
CD31	proteína ligada ao processo de formação vascular
CD34	proteína ligada ao processo de angiogênese
S-100	proteína presente no tecido nervoso
UV-A	segmento da luz solar com comprimento de onda entre 320nm e 400nm
UV-B	segmento da luz solar com comprimento de onda entre 290nm e 320nm
UV-C	segmento da luz solar com comprimento de onda entre 200nm e 290nm
DNA	ácido desoxirribonucleico
RNA	ácido ribonucleico
AIDS	síndrome da imunodeficiência adquirida
TNM	estadiamento clínico dos tumores malignos
TADA	trato aerodigestivo alto
SV40	vírus que afeta macacos
mRNA	ácido ribonucleico mensageiro
p21	proteína indutora da apoptose celular
GADD45	proteína indutora da apoptose celular

Bcl-2	gene antagonista do TP53
mdm2	gene inibidor natural do TP53
p53	proteína resultante da codificação do gene TP53
base C	citosina
base T	timina
bFGF	<i>basic fibroblastic growth factor</i>
EGF	<i>epidermal growth factor</i>
IGF	<i>insuline-like growth factor</i>
TGF-β1	<i>transforming growth factorβ1</i>
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
IMD	<i>intratumoral microvessel density</i>
HE	hematoxilina-eosina
DCCP	Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IHQ	imunohistoquímica
ABC	avidina-biotina peroxidase
IgG	imunoglobulina da classe G
SST	solução salina tamponada
EUA	Estados Unidos da América
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
p	nível descritivo estatístico
MB	membrana basal
AGM-470	agente anti-angiogênico

LISTA DE SÍMBOLOS

cm	centímetro
<	menor que
>	maior que
=	igual a
%	por cento
kdalton	quilodalton
nm	nanômetro
mm	milímetro
x	vezes
pH	potencial hidrogenioiônico
ml	mililitro

RESUMO

CERNEA, C.R. Carcinomas cutâneos com acometimento suspeito ou comprovado da base do crânio: fatores clínicos, histopatológicos e biológicos. São Paulo, 2001. 190p. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

O carcinoma basocelular (CBC) é o tumor mais comum do ser humano, correspondendo a 65% dos tumores malignos de pele. O segundo tipo de câncer cutâneo mais freqüente é o carcinoma epidermóide (CEC). Além dos fatores já conhecidos, como luz ultravioleta e etnia, as alterações na função de oncogenes e genes supressores de tumor, bem como um desequilíbrio de fatores de proliferação, também têm sido associados à carcinogênese de neoplasias da epiderme. Alguns subtipos histológicos de CBC, como o esclerodermiforme e o metatípico, exibem um comportamento biológico mais agressivo. Existem alguns parâmetros histopatológicos que podem ser usados para se avaliar o grau de agressividade. Alguns doentes sofrem de carcinomas cutâneos extremamente agressivos que, mesmo tratados adequadamente, apresentam várias recidivas, podendo invadir estruturas subjacentes, como músculos e ossos. Estas neoplasias, devido à deformidade que causam, foram por alguns autores denominadas "tumores horripilantes". Nestas situações, estão indicados extensos procedimentos cirúrgicos multidisciplinares, envolvendo equipes de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Neurocirurgia e Cirurgia Plástica, que são as ressecções craniofaciais oncológicas.

O presente estudo avaliou, de forma retrospectiva, alguns fatores clínicos, histopatológicos e biológicos, visando caracterizar um perfil abrangente de 35 destes tumores avançados (24 CBCs e 11 CECs), tratados na Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade entre 1982 e 2000. Este perfil foi comparado com 33 CBCs e CECs que apresentaram boa evolução clínica, tratados no Departamento de Dermatologia da mesma Instituição, no mesmo período de tempo.

Os doentes portadores de CBCs com invasão de base de crânio apresentaram um perfil com as seguintes características: duração de queixa prolonga-

da; estadiamento avançado; lesões ulceradas; acometimento de mais de uma região; invasão óssea freqüente; invasão dural em 25% e encefálica em 8,33% dos casos; reconstrução geralmente com retalhos de vizinhança ou microcirúrgicos; subtipos mais encontrados: esclerodermiforme ou metatípico; padrão de crescimento infiltrativo; blocos celulares com perfil espiculado e paliçada malformada; pleomorfismo nuclear moderado; estroma fibroso; invasão perineural em 58,33%; geralmente, ressecados com margens livres; hiperexpressão de c-erbB-2 em 70,83%; de p53 em 70,83%; expressão intensa de Ki-67 em 37,50%; membrana basal rompida ou ausente em 79,16%; angiogênese intensa em 25,00% e invasão perineural demonstrada pela proteína S-100 em 50% dos tumores. Em relação aos CBCs com boa evolução, houve diferença estatística nas seguintes variáveis: duração da queixa; estadiamento; tipo clínico da lesão; localização; reconstrução; distribuição dos subtipos histológicos; padrão de crescimento; perfil dos blocos celulares; profundidade de invasão; margens de ressecção; invasão da membrana basal; invasão perineural demonstrada pela proteína S-100. Ocorreu diferença marginalmente significativa nas variáveis p53 e CD34.

Os doentes portadores de CECs com invasão de base de crânio apresentaram um perfil com as seguintes características: estadiamento avançado; lesões ulceradas; acometimento de mais de uma região; invasão óssea em 100% dos casos; invasão dural em 45,45% e encefálica em 18,18% dos casos; retalhos de vizinhança ou microcirúrgicos em 90,90% dos casos; Grau II histológico em 72,73%; invasão perineural em 45,45%; desmoplasia em 90,91%; infiltrado inflamatório peritumoral moderado em 63,64%; geralmente, ressecados com margens livres; hiperexpressão de c-erbB-2 em 81,82%; de p53 em 9,09%; expressão intensa de Ki-67 em 72,73%; membrana basal rompida ou ausente em 100%; angiogênese intensa em 54,55% e invasão perineural demonstrada pela proteína S-100 em 63,64% dos tumores. Em relação aos CECs com boa evolução, houve diferença estatística nas seguintes variáveis: estadiamento; reconstrução; profundidade de invasão; invasão perineural; desmoplasia; infiltrado inflamatório peritumoral; expressão intensa de Ki-67. Ocorreu diferença marginalmente significativa na distribuição da localização do tumor.

SUMMARY

CERNEA, C.R. Cutaneous carcinomas with suspected of confirmed skull base invasion: clinical, histopathological and biological factors. São Paulo, 2001. 190p.– University of São Paulo Medical School.

Basal cell carcinoma (BCC) is the most frequent human tumor, corresponding to 65% of skin cancers. The second is squamous cell carcinoma (SCC). In addition to well known carcinogenic factors, like ultraviolet light and ethnical aspects, functional alterations of oncogenes and tumor-suppressor genes, as well as increased activity of proliferation factors, have been associated with skin carcinogenesis. There are some histological subtypes, like sclerodermiform and metatypical, which show a particularly aggressive biological behavior. Some histopathological parameters may be employed in order to evaluate this aggressiveness. Some patients may present extremely invasive tumors which, in spite of being adequately treated, recur repeatedly, involving muscles and bones, jeopardizing patient's life. These neoplasias, because of the resultant deformity, were named "horrifying tumors" by some authors. In these instances, it is advisable to perform extensive multidisciplinary surgical procedures, the craniofacial oncological resections, involving Head and Neck Surgery, Neurosurgery and Plastic Surgery teams.

In this retrospective study, some clinical, histopathological and biological factors were analyzed in a series of 35 advanced skin tumors with suspected or confirmed invasion of the skull base (24 BCCs and 12 SCCs), treated at the Department of Head and Neck Surgery of Hospital das Clínicas of the University of São Paulo Medical School, between 1982 and 2000. They were compared to 33 BCCs and SCCs with good clinical outcome, treated at the Department of Dermatology of the same Institution, in the same time frame.

Patients with BCC with skull base involvement exhibited the following profile: prolonged medical history; advanced stage; ulcerated lesions;

involvement of more than one region; frequent bone erosion; dural invasion in 25% and cerebral involvement in 8,33% of the cases; reconstruction usually accomplished with conventional or microvascular flaps; commonly found subtypes: sclerodermiform and metatypical; infiltrative pattern; cellular blocks with narrow and elongated strands and ill-defined palisade arrangement in the periphery; moderated nuclear pleomorphism; fibrous stroma; perineural invasion in 58,33%; generally, resected with free margins; hiperexpression of c-erbB-2 in 70,83%; of p53 in 70,83%; strong expression of Ki-67 in 37,50%; basement membrane disrupted or absent in 79,16%; intense angiogenesis in 25,00% and immunohistochemically demonstrated perineural invasion by protein S-100 in 50% of the tumors. Comparing to the BCCs with good outcome, there were statistical differences in the following parameters: length of medical history; clinical type of the lesion; localization; staging; reconstruction; distribution of histological subtypes; pattern of growth; profile of cellular blocks; depth of invasion; surgical margins; basement membrane invasion; perineural invasion demonstrated by S-100 protein. Differences in p53 expression and CD34 were marginally significant.

Patients with SCC with skull base involvement showed the following profile: advanced stage; involvement of more than one region; bone erosion in all cases; dural invasion in 45,45% and cerebral involvement in 18,18% of the cases; reconstruction with conventional or microvascular flaps in 90,90; histologic grade II in 72,73%; perineural invasion in 45,45%; desmoplasia in 90,91%; moderated peritumoral inflammatory infiltrate in 63,64%; generally, resected with free margins; hiperexpression of c-erbB-2 in 81,82%; of p53 in 9,09%; strong expression of Ki-67 in 72,73%; basement membrane disrupted or absent in 100%; intense angiogenesis in 54,55% and immunohistochemically demonstrated perineural invasion by protein S-100 in 63,64% of the tumors. Comparing to the SCCs with good outcome, there were statistical differences in the following parameters: staging; reconstruction; depth of invasion; perineural spread; desmoplasia; peritumoral inflammatory infiltrate; strong expression of Ki-67. Difference in the localization of the lesion was marginally significant.

— | INTRODUÇÃO | —

O carcinoma basocelular (CBC) é o tumor mais comum do ser humano, correspondendo a 65% dos tumores malignos de pele (LANG & MAIZE, 1991; RUHOY et al., 2001). Estatísticas norte-americanas mostram uma prevalência de 19:1000 e 14:1000 em pessoas de pele clara dos sexos masculino e feminino, respectivamente (RUHOY et al., 2001). O segundo tipo de câncer cutâneo mais freqüente é o carcinoma epidermóide (CEC) (SAMPAIO & RIVITTI, 2000; RUHOY et al., 2001). Ambos tem incidência crescente em pessoas com exposição prolongada ao sol (FRIEDMAN, 1991). Pacientes com CBC em cabeça e pescoço tem um risco de desenvolver um câncer simultâneo ou uma segunda neoplasia primária na mesma região estimado em 3.8% a 27%, além de um índice 10,7 vezes maior de incidência de neoplasias primárias múltiplas do que a população geral (CHANG, 1993; CHUNG, 1993).

Além dos fatores já conhecidos, como luz ultravioleta e etnia, as alterações na função de oncogenes (LIU et al., 1996; AHMED et al., 1997) e genes supressores de tumor (DeROSA et al., 1993; OLIVEIRA, 1998), bem como um desequilíbrio de fatores de proliferação (BARRETT et al., 1997; ABDELSAYED et al., 2000), também tem sido associados à carcinogênese de neoplasias da epiderme.

Alguns subtipos histológicos de CBC, como o esclerodermiforme e o metatípico, exibem um comportamento biológico mais agressivo (SAMPAIO & RIVITTI, 2000; RUHOY et al., 2001). Além disso, tumores que se localizam em sulcos de fusão embrionária ou próximos a orifícios naturais também têm maior índice de recidivas (SAMPAIO & RIVITTI, 2000; RUHOY et al., 2001). Existem alguns parâmetros histopatológicos que podem ser usados para se avaliar o grau de agressividade (SOTTO, 1999): padrão de crescimento do tumor (expansivo, infiltrativo, misto), perfil dos blocos celulares (arredondados, espiculados), blocos celulares com paliçada periférica (bem formada, malformada, ausente), pleomorfismo nuclear (ausente, presente) e estroma do tumor (fibroso, hialinizado).

Alguns doentes sofrem de carcinomas cutâneos extremamente agressivos que, mesmo tratados adequadamente, apresentam várias recidivas, podendo invadir estruturas subjacentes, como músculos e ossos. Estas neoplasias, devido à deformidade que causam, foram por alguns autores denominadas “tumores horripilantes” (horrifying tumors) (JACKSON & ADAMS, 1973; BIANCHINI & WOLTER, 1984; HORLOCK et al., 1998). Por vezes, há acometimento da órbita e da base do crânio, colocando em risco a vida do paciente. Nestas situações, estão indicados extensos procedimentos cirúrgicos multidisciplinares, envolvendo equipes de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Neurocirurgia e Cirurgia Plástica, que são as ressecções craniofaciais oncológicas. Estas complexas operações, apesar de já terem sido descritas há mais de 50 anos (DANDY, 1941; SMITH et al., 1954), só passaram a ser executadas de forma sistemática nas duas últimas décadas (KETCHAM et al., 1973; SHAH & GALICICH, 1977; SCHRAMM et al., 1979; JACKSON et al., 1984; MORAIS-BESTEIRO et al., 1990).

Na casuística do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, mais de 50% dos doentes que foram submetidos a estas grandes operações eram portadores de carcinomas cutâneos com invasão de base de crânio (MEDINA DOS SANTOS et al., 1994; CERNEA et al., 1997). Em outra grande casuística nacional, do Rio de Janeiro, esta prevalência de tumores cutâneos com invasão de base de crânio também foi notada (DIAS et al., 1997; DIAS et al., 1999).

Por que alguns carcinomas cutâneos, principalmente basocelulares, apresentam tão alto grau de malignidade? Alguns fatores prognósticos, já mencionados, são conhecidos: subtipos histológicos mais agressivos

(esclerodermiforme e metatípico) e localizações mais perigosas (próximas a orifícios naturais). Por outro lado, a literatura internacional é surpreendentemente pobre em relatos destes tumores com invasão de base de crânio. São escassas as correlações de seu perfil biológico obtidas através dos novos achados de biologia molecular que tem surgido em número crescente (TP53, fatores relacionados à angiogênese ou à proliferação celular, entre outros).

Os estágios sequenciais que perfazem os múltiplos passos da carcinogênese não estão ainda totalmente elucidados. Vários tipos de neoplasias humanas não decorrem de apenas um defeito genético, mas são resultado de alterações acumuladas em diversas etapas distintas que, por fim, levam à manifestação neoplásica (FIELD, 1992; GOLLIN, 2001).

Um dos oncogenes que tem sido mais relacionados com diversos tipos de neoplasias malignas humanas é o protooncogene HER-2/neu, também denominado c-erbB-2. Este gene se encontra presente na célula normal e codifica a produção de uma proteína, p185, que se posiciona na membrana plasmática como receptor. Um ligante plasmático de natureza desconhecida se liga a esta proteína, desencadeando um série de fenômenos em cascata no citoplasma, que agem na proliferação celular. Quando amplificado, o c-erbB-2 leva a uma super-expressão da proteína p185, acarretando proliferação celular descontrolada. Alguns autores atribuíram um valor prognóstico a este oncogene em CBCs (STAIBANO et al., 1996) e em CECs de Cabeça e Pescoço (GIANTOMAKIS et al., 2000).

O TP53 apresenta-se como o gene supressor de tumor mais envolvido em neoplasias humanas em várias localizações (LAKE, 1992; NIGRO, 1989) e em cerca de 50% dos tipos histológicos de tumores malignos no homem (HARRIS, 1993; HOLLSTEIN, 1991, OLSON, 1994). De fato, é considerado um "guardião" do genoma, interrompendo o ciclo celular na fase G1, quando há dano do DNA (OZBUN & BUTEL, 1997; LEVINE, 1997). Quando este dano é irreparável, ele induz a apoptose. Existem vários relatos na literatura de associação da super-expressão ou da mutação do gene TP53 com CEC de cabeça e pescoço (NAGAI, 1996; LASALETA et al., 1999). Tanto no CBC como no CEC, essas alterações no gene TP53 são freqüentes (BRASH et al., 1991; SHEA et al., 1992; HEALY et al., 1995; SHIMIZU et al., 1996; MANSOOR et al., 1996; OUHTIT et al., 1998), e correspondem, provavelmente, a um evento precoce

no processo de carcinogênese (REN, 1996). O valor prognóstico destas anormalidades, entretanto, é controverso.

O estudo da proliferação celular em tumores malignos é importante, pois ela pode ser indicativa de pior prognóstico para as lesões com índices mais altos que, teoricamente, crescem mais rapidamente (GONZALEZ-MOLES et al., 1996). Várias proteínas celulares relacionadas com a proliferação celular podem ser analisadas, tais como PCNA (proliferating cell nuclear antigen) e Ki-67. Esta última é a que tem sido mais relatada na literatura internacional, mormente em carcinomas cutâneos, devido à sua pronta identificação pelas técnicas imunohistoquímicas (BACCHI & GOWN, 1993; ROLAND et al., 1994). O Ki-67 é uma proteína nuclear expressa em células que se encontram nas fases "de divisão" do ciclo (G1, S, G2 e M), mas que não é evidenciada naquelas que se acham na fase de "repouso" do ciclo celular (G0). Os relatos disponíveis quanto ao valor prognóstico do Ki-67 são controversos. Para alguns autores (KANITAKIS et al., 1997), não houve piora no prognóstico em tumores cutâneos que exibiam um aumento de sua expressão. Para outros, contudo, (HEALY et al., 1995), ele foi um fator claro de piora da expectativa prognóstica em CBC, observação esta confirmada em publicações mais recentes (ABDELSAYED et al. 2000).

A invasão da membrana basal por neoplasias epiteliais é fortemente indicativa de maior agressividade tumoral, pois franqueia-lhes o acesso a regiões ricas em capilares, possibilitando assim a sua disseminação tanto por via linfática locorregional quanto hematogênica, à distância (LIOTTA et al., 1980; MARTINEZ-HERNANDEZ & AMENTA, 1983). A constatação do comprometimento desta membrana é aprimorada utilizando-se a pesquisa imunohistoquímica de diversos fatores, dentre os quais se destaca o colágeno tipo IV (SAKR et al., 1987; KUSUKAWA et al., 1993). Aparentemente, pode haver uma associação entre este fator de membrana e outros, ligados à proliferação celular e à angiogênese (KUSUKAWA et al., 1993).

Um aspecto que tem merecido atenção especial por parte de vários pesquisadores da carcinogênese é a influência da angiogênese sobre o crescimento, agressividade e capacidade de metastatização de diversos tumores malignos. O pioneiro desta linha de pesquisa foi FOLKMAN. Em seus estudos, publicados em 1971 e em 1989, ele sugeriu que o crescimento e a

metastatização de vários tumores sólidos poderiam requerer a transformação de uma fase pré-vascular para uma fase angiogênica, isto é, o desenvolvimento de novos vasos capilares sangüíneos intra-tumorais (FOLKMAN et al., 1971; FOLKMAN et al., 1989). É provável que a angiogênese seja o resultado de um desequilíbrio entre estímulos negativos e positivos, tais como mecanismos parácrinos e fatores angiogênicos locais (SOLIMENE et al., 1999). Para a avaliação do processo de angiogênese, várias proteínas podem ser analisadas, destacando-se: fator VIII, CD31, CD34 e integrinas (BROOKS, 1996).

Um achado histopatológico muito associado a um incremento da agressividade tumoral é a invasão perineural (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; LANG & MAIZE, 1991). É compreensível, pois esta forma de disseminação tumoral possibilita a extensão da neoplasia a distâncias muito superiores aos seus limites anatômicos (ROWE et al., 1992). Apesar da relevância deste fator prognóstico já haver sido comprovada em diversos tumores epidermóides oriundos da mucosa do trato aerodigestivo superior, poucas publicações têm analisado a sua importância nos tumores cutâneos em Cabeça e Pescoço (ROWE et al., 1992; NIAZI & LAMBERTY, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). Não obstante a sua comprovação ser possível com o uso da histopatologia convencional, existem antígenos identificáveis por imunohistoquímica que permitem realçar a presença de filetes nervosos microscópicos, auxiliando na detecção de uma eventual disseminação perineural (FLEURY & BACCHI, 1987). O antígeno mais utilizado para este fim é a proteína S-100 (FLEURY & BACCHI, 1987).

A avaliação conjunta e mais abrangente da importância de fatores relacionados a oncogenes (c-erbB-2), genes supressores (TP53), proliferação celular (Ki-67), invasão de membrana basal (colágeno tipo IV), angiogênese (CD34) e invasão perineural (proteína S-100), em carcinomas cutâneos de Cabeça e Pescoço, ainda não foi relatada na literatura internacional. Possivelmente, esta avaliação mais completa poderia auxiliar na identificação de lesões com pior expectativa prognóstica, como aquelas que invadissem a base do crânio, principalmente se a mesma metodologia fosse aplicada, comparativamente, numa população de doentes com CBCs e CECs com boa evolução clínica.

—|REVISÃO DE LITERATURA|—

1. RESSECÇÕES CRANIOFACIAIS ONCOLÓGICAS

Vários cirurgiões do final do século XIX e início do século XX, como BALLANCE, ROSE e CUSHING, notabilizaram-se por desenvolverem técnicas operatórias engenhosas para abordar tumores que envolviam a base do crânio (*apud* GOODRICH, 1997). Entretanto, o primeiro acesso craniano para tumores orbitários com acometimento cranial foi publicado em 1941 por um neurocirurgião americano que era discípulo de CUSHING, DANDY (*apud* GOODRICH, 1997). Em seu estudo, envolvendo 31 doentes, ele foi capaz de expor toda a região orbitária, incluindo os seios paranasais adjacentes.

Dois anos depois, dois oftalmologistas publicaram uma proposta de acesso combinado craniofacial para o tratamento de um retinoblastoma (RAY & McLEAN, 1943).

Na década seguinte, SMITH *et al.* (1954) descreveram um acesso combinado craniofacial para a terapêutica cirúrgica de tumores de seio frontal com extensão intracraniana.

A padronização desta técnica craniofacial para o tratamento dos tumores ma-

lignos nasossinusais só ocorreu na década seguinte, com um trabalho que é considerado a pedra angular da cirurgia craniofacial oncológica. KETCHAM *et al.* (1963) descreveram minuciosamente os princípios técnicos que, em essência, são empregados até hoje. A operação se iniciava com uma craniotomia bifrontal, que proporcionava acesso à superfície superior da neoplasia, possibilitando a avaliação das condições de ressecção. Se elas existissem, tinha início então o tempo facial, através de uma incisão paralateronasal, e o tumor era retirado em monobloco. Esta casuística pioneira incluiu 19 doentes, dos quais treze tinham tumores recidivados, atingindo 58% de sobrevida em 5 anos. Este grupo atualizou seus resultados em mais dois artigos (KETCHAM *et al.*, 1973; KETCHAM & VanBUREN, 1985). Nesta última série, com 89 doentes, a sobrevida em 10 anos foi de 44%.

JANECKA (1997) dividiu a evolução da cirurgia craniofacial oncológica em 3 fases: a primeira, nas décadas de 1960 e 1970, foi de reconhecimento da nova técnica, baseada principalmente nos estudos mencionados no parágrafo anterior (KETCHAM *et al.*, 1963; KETCHAM *et al.*, 1973). A segunda etapa, que foi da década de 1970 até a de 1980, envolveu uma difusão dos princípios técnicos, notando-se uma aceitação cada vez maior, que se refletiu no aparecimento de diversos centros multidisciplinares espalhados pelo mundo. Na terceira fase, a partir da década de 1980 até hoje, houve uma ampliação dos horizontes da cirurgia craniofacial oncológica, expandindo as indicações cirúrgicas para limites jamais sonhados, tais como ressecções de seio cavernoso (AL-MEFTY, 1991; SAITO *et al.*, 1999) e de artéria carótida interna intracraniana (AL-MEFTY, 1991; POMERANZ *et al.*, 1993; NAYAK *et al.*, 1995).

A grande maioria das séries publicadas incluiu mormente tumores malignos oriundos da mucosa dos seios paranasais e esteseoneuroblastomas, sem fazer qualquer menção a carcinomas cutâneos com invasão da base do crânio (TERZ *et al.*, 1980; KRESPI & SISSON, 1982; FISCH, 1983; JACKSON *et al.*, 1984; SCHULLER *et al.*, 1984; KINNEY & WOOD, 1987; KRESPI, 1989; BRIDGER & BALDWIN, 1989; BOUAZIZ *et al.*, 1991; ROUX *et al.*, 1991; AUSTIN *et al.*, 1994; JANECKA *et al.*, 1994; KRAUS *et al.*, 1994; LEVINE *et al.*, 1994; NAYAK *et al.*, 1995; ANDERSEN *et al.*, 1996; PENSACK *et al.*, 1996; LUND *et al.*, 1998; CANTÙ *et al.*, 1999; ZHANG *et al.*, 1999; BRIDGER *et al.*, 2000).

De fato, num artigo de revisão sobre patologia das lesões tumorais que

acometiam a base do crânio, ROSS & SASAKI (1995) sequer citaram os carcinomas cutâneos.

1.1. RESSECÇÕES CRANIOFACIAIS ONCOLÓGICAS E CARCINOMAS CUTÂNEOS

WESTBURY *et al.* (1975) efetuaram ressecções craniofaciais em 19 doentes, dos quais oito tinham CECs de face e um era portador de um CBC. Dentre os primeiros, apenas 2 (25%) sobreviveram, enquanto que o seguimento do único doente com CBC foi perdido.

TERZ *et al.* (1980) realizaram ressecções craniofaciais em 5 doentes com CBC e em 15 com CEC. Estes tumores se originaram com maior frequência nas seguintes regiões: orelha, pálpebras e couro cabeludo. Os defeitos cirúrgicos foram reconstruídos com próteses, com boa reabilitação. A sobrevida em 5 anos foi de 71% para todo o grupo.

LANG *et al.* (1983) publicaram uma série com 53 carcinomas avançados de couro cabeludo, submetidos a tratamento cirúrgico combinado por uma equipe multidisciplinar. Trinta e um eram CBCs e vinte e dois eram CECs. Em 38 doentes, a ressecção incluiu pele e/ou gálea. Dez doentes sofreram exérese do periósteo ou da cortical óssea externa. Em 5 casos, fez-se necessária uma ressecção mais radical, incluindo dura-máter ou encéfalo. A reconstrução foi feita com enxertos de pele em 38 casos, e com retalhos em 15 doentes. A sobrevida em 3 anos foi de 87%.

JACKSON *et al.* (1983) apresentaram 10 doentes com tumores cutâneos avançados submetidos a ressecções craniofaciais, dos quais quatro eram CBCs e três eram CECs. Devido ao seguimento ainda muito limitado, a sobrevida não foi mencionada, e os autores comentaram que o objetivo principal deste trabalho era alertar para a possibilidade de indicar estes procedimentos combinados em tumores cutâneos muito extensos, também denominados "horripilantes".

Em seu estudo já mencionado, KETCHAM *et al.* (1985) submeteram 89 doentes a ressecções craniofaciais. Dentre estes, apenas três apresentavam CBCs, dos quais dois não apresentavam recidivas após 10 anos. Quanto aos 30 CECs, não havia menção sobre quais eram de origem mucosa (provavelmente, a quase totalidade) e quais eram cutâneos.

ROSEN *et al.* (1986) executaram ressecções craniofaciais em cinco pacientes

com tumores de base de crânio, dos quais quatro eram CECs recidivados. A reconstrução foi feita com retalho trapezial posterior, com bons resultados. Não houve comentários em relação à sobrevida, devido ao seguimento ainda muito limitado.

SHAH *et al.* (1987) publicaram uma série de 42 doentes submetidos a ressecções craniofaciais num período de 10 anos. Dentre eles, foram mencionados apenas 3 tumores de origem cutânea (um CBC e dois CECs), sem qualquer referência quanto à sua evolução.

JONES *et al.* (1988) relataram 18 doentes tratados com ressecções craniofaciais para tumores que causaram grandes e complexos defeitos cirúrgicos, dos quais oito eram CBCs e seis eram CECs. Trinta e três por cento das lesões atingiram grande tamanho devido à negligência do paciente com a sua doença, mas 50% eram recidivas. Houve ressecção de dura-máter em oito doentes. As margens foram verificadas com biópsias de congelação, e somente tumores com margens livres foram submetidos à reconstrução imediata, que foi feita com retalhos microcirúrgicos. A sobrevida em 2 anos foi de 60% para todo o grupo, sem especificar o tipo histológico.

MEDINA *et al.* (1990) avaliaram 18 doentes submetidos a ressecções combinadas do osso temporal, dos quais onze eram CECs e cinco eram CBCs. Após um seguimento médio de 28 meses, 72% dos doentes não apresentavam sinais de recidivas.

VanTUYL & GUSSACK (1991) relataram a sua experiência com 21 doentes que sofreram ressecções craniofaciais envolvendo a fossa anterior. Dois pacientes eram portadores de CECs cutâneos e dois de CBCs. Segundo os autores, estes quatro tumores eram extremamente agressivos. A sobrevida para todo o grupo foi de 57%, para um acompanhamento mediano de 41 meses. Os fatores que foram associados com pior prognóstico foram invasão dural (sobrevida de 22%) e invasão orbitária (sobrevida de 40%).

SHAH *et al.* (1992) apresentaram uma casuística de 71 doentes submetidos a ressecções craniofaciais oncológicas envolvendo a fossa anterior. Dentre estes, apenas seis (8%) eram portadores de carcinomas cutâneos (sem especificação quanto ao tipo). A sobrevida global em 5 anos foi 56%. Não foi possível estabelecer conclusões relativas aos diversos tipos histológicos, em vista do reduzido número de casos. O fator prognóstico mais importante foi invasão de dura-máter.

CATALANO *et al.* (1994) publicaram uma série de 73 casos de tumores que

acometiam a base do crânio e que foram tratados por operações combinadas. Dentre estes, onze eram portadores de CECs (sem qualquer informação se eram cutâneos ou mucosos) e quatro de CBCs. O enfoque do trabalho era sobre a taxa de complicações (que foi de 63%), sem menção específica quanto à sobrevida.

IRISH *et al.* (1994) efetuaram 77 operações craniofaciais em 73 doentes, num período de 10 anos. Vinte e nove eram portadores de CECs (sem especificação se eram cutâneos ou mucosos) e dez de CBCs. A maioria dos tumores cutâneos eram recidivados, e se originaram na pele das regiões mais centrais da face, que os autores chamaram de “triângulo do perigo”. Trinta e um por cento da totalidade dos casos apresentavam invasão da dura-máter. A sobrevida em 5 anos foi de 65% para a série inteira.

Em nosso meio, MEDINA DOS SANTOS *et al.* (1994) analisaram 81 doentes submetidos a 92 ressecções craniofaciais num período de 12 anos. Vinte e três pacientes tinham CECs e dezessete eram portadores de CBCs. Juntamente com mais um caso de carcinoma sebáceo, estes tumores cutâneos correspondiam a 50,6% da casuística. A sobrevida em 5 anos deste subgrupo de pacientes foi de 39%, estatisticamente pior do que os outros dois subgrupos, formados por tumores benignos e por outros tumores malignos ($p=0,00024$). Considerando a totalidade dos casos, a fossa anterior se encontrava acometida em 53% dos casos, a fossa posterior em 3%, a fossa média em 12%, e mais de uma fossa craniana em 17%. A dura-máter foi ressecada e reconstruída em 38% dos casos. Nestes, a sobrevida em 5 anos foi de 48%, comparados com 72% nos que não apresentavam invasão dural, mas a diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,1518$). Quanto à reconstrução, 54% dos casos necessitaram de métodos complementares, na maioria retalhos microcirúrgicos. A sobrevida destes doentes foi de 40%, significativamente inferior àquela observada entre os doentes passíveis de fechamento primário ($p=0,0039$). Margens de ressecção livres foram obtidas em 74% dos casos, enquanto que a invasão perineural foi observada em 32% dos tumores. Nenhum destes dois fatores teve influência estatisticamente significativa sobre o prognóstico. Os autores ressaltaram a elevada incidência de carcinomas cutâneos nesta casuística, e atribuíram-na à intensa radiação solar existente no clima tropical brasileiro.

CLAYMAN *et al.* (1995) avaliaram 39 casos de ressecções craniofaciais. Vinte doentes eram portadores de CECs (sem informação se eram cutâneos ou

mucosos) e oito de CBCs. Todos os pacientes foram reconstruídos com retalhos microcirúrgicos. A sobrevida em 5 anos para todo o grupo foi de 55%. Os dois fatores que influíram de forma mais negativa no prognóstico foram invasão dural e margens cirúrgicas positivas.

MARGARINO *et al.* (1996) relataram uma série de sete doentes submetidos a ressecções craniofaciais, dos quais dois tinham CECs cutâneos. Observaram uma sobrevida em 18 meses de 71% para o grupo todo.

JANECKA (1997) descreveu a sua experiência com 187 ressecções craniofaciais, das quais cento e dezoito em tumores malignos. Destes, apenas dois (1,7%) eram carcinomas cutâneos. A sobrevida global em 30 meses foi de 67%.

CERNEA *et al.* (1997) publicaram um trabalho de atualização da casuística estudada por MEDINA DOS SANTOS *et al.* (1994), analisando-a sob uma outra óptica: indicações, contra-indicações e limitações das ressecções craniofaciais. De um total de 102 doentes, setenta e cinco apresentavam tumores malignos. Dentre estes, cinquenta e dois (69%) eram portadores de carcinomas cutâneos. A principal indicação cirúrgica nesta série de casos foi possibilitar a abordagem oncológica segura e completa em extensos tumores cutâneos com invasão suspeita ou comprovada da base do crânio. Os autores ressaltaram que, antes da era da cirurgia craniofacial, estes casos seriam considerados inoperáveis. Algumas das contra-indicações enumeradas, muitas delas relativas, foram: invasão de partes vitais do parênquima do sistema nervoso central, do seio cavernoso e da artéria carótida interna, além de tipos histológicos muito agressivos e desfavoráveis.

Ainda em nosso meio, DIAS *et al.* (1997) analisaram retrospectivamente cinquenta e sete portadores de carcinomas cutâneos com invasão da base do crânio, que representavam 68% de um total de 84 doentes tratados através de ressecções craniofaciais. Houve uma predominância de doentes do sexo masculino (60%), principalmente da raça branca (86%). Dezoito por cento dos pacientes apresentavam invasão da dura-máter; 81% sofreram exenterações orbitárias. A reconstrução com retalhos microcirúrgicos foi empregada em 56% dos casos. A sobrevida em 5 anos foi de 64%. O principal fator de piora do prognóstico foi a presença de invasão dural ($p=0,005$).

Num estudo subsequente, DIAS *et al.* (1999) avaliaram o índice de complicações numa série de 104 doentes submetidos a 109 ressecções craniofaciais,

num período de 25 anos. Sessenta e três pacientes (61%) eram portadores de carcinomas cutâneos: quarenta e oito CBCs e vinte e cinco CECs. A sobrevida global em 5 anos para a série inteira foi de 61%.

KELLY *et al.* (2000) descreveram a sua experiência incluindo setenta e uma ressecções craniofaciais oncológicas. Dentre elas, quatorze foram indicadas para tratar CBCs extensos de face e quatro para CECs cutâneos. O índice de cura (sem especificar o período de acompanhamento) foi de 50% para os CBCs e de 0% para os CECs. Para toda a série, o índice de cura foi de 39%.

2. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

O CBC é o câncer mais comum do ser humano (LANG & MAIZE, 1991; RUHOY *et al.*, 2001). Estatísticas norte-americanas mostraram uma prevalência de 19:1000 e 14:1000 em pessoas de pele clara dos sexos masculino e feminino, respectivamente (RUHOY *et al.*, 2001). Segundo ROBINSON *et al.* (1996), aproximadamente 800.000 novos casos são diagnosticados anualmente nos Estados Unidos.

A incidência do CEC nos Estados Unidos é de 60:100.000 (SOBER & BURSTEIN, 1995), chegando a subir para 118:100.000 no Havaí (RUHOY *et al.*, 2001).

Na Austrália, a incidência de carcinomas cutâneos no período entre 1978 e 1985 foi de 161:100.000, por ano (KALDOR *et al.*, 1993).

No Brasil, o Ministério da Saúde estimou que 25% dos tumores malignos em seres humanos seriam carcinomas cutâneos. As maiores taxas de incidência foram observadas em 1991, em Goiânia, e corresponderam a 117:100.000 homens e 84:100.000 mulheres. As menores foram as registradas em Campinas, em 1992: 25:100.000 homens e 15:100.000 mulheres (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997). Entretanto, o próprio Ministério advertiu que a maioria dos casos foi tratada em ambulatórios, consultórios e clínicas, estando, por conseguinte, fora do sistema de informação sobre o câncer. Assim, estes números provavelmente refletiram apenas uma pequena parcela do universo de doentes com câncer cutâneo não-melanoma em nosso País. Mesmo com a precariedade das estatísticas disponíveis, tem se observado uma tendência de alta na prevalência do câncer cutâneo, mormente na região sul,

segundo o Ministério da Saúde (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000). De acordo com esta publicação oficial, houve um aumento na incidência de 30% em homens e de 11% em mulheres entre 1979 e 1993, em Porto Alegre.

Tanto o CBC quanto o CEC ocorrem mais comumente em pessoas de pele clara, com exposição prolongada à luz solar. Ambos também são mais encontrados em condições hereditárias que potencializam a ação deletéria dos raios solares, como o albinismo e o xeroderma pigmentoso (KRAEMER *et al.*, 1987).

As faixas etárias mais altas são as mais acometidas, principalmente pelos CBCs (BETTI *et al.*, 1995). Noventa e cinco por cento dos pacientes têm entre 40 e 79 anos (MacDONALD III & RIDENOUR, 1999).

3. ETIOPATOGENIA

Em 1903, KROMPECHER (*apud* RUHOY *et al.*, 2001), propôs a denominação de carcinoma de células basais, por acreditar que a sua origem se situava nesta célula da camada basal da epiderme. Entretanto, estudos mais recentes demonstraram que estes tumores provavelmente aparecem a partir de células totipotentes localizadas na camada basal da epiderme e de seus anexos (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; RUHOY *et al.*, 2001).

Já o CEC é um tumor de queratinócitos, localizados nas camadas mais superficiais da epiderme ou do epitélio mais superficial dos anexos cutâneos (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; RUHOY *et al.*, 2001).

O principal fator ambiental envolvido com o aparecimento dos carcinomas cutâneos é a radiação ultravioleta (UV). Ela ocupa uma porção do espectro luminoso situada entre 200nm e 400nm de comprimento de onda, e é dividida em 3 segmentos: UV-C (200nm a 290nm), UV-B (290nm a 320nm) e UV-A (320nm a 400nm) (MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). A UV-A promove a pigmentação cutânea e é a responsável pelo envelhecimento da pele, devido à deterioração das fibras elásticas. A UV-C é completamente absorvida pela camada de ozônio e não apresenta qualquer ação patogênica no homem. A UV-B é a fração que causa eritema, imunossupressão e, em última análise, os cânceres cutâneos (LANG & MAIZE, 1991). A exposição humana à radiação UV-B é influenciada por uma série de fatores, tais como: profissão (se é uma atividade ao ar livre, a

exposição solar crônica é maior), quantidade de ozônio na atmosfera e localização geográfica. Para cada decréscimo de 8 a 10 graus de latitude, há uma correspondente duplicação no nível de radiação UV-B, acompanhada de aumento semelhante na incidência de CEC (BUZELL, 1993; BUZELL, 1996; GLOSTER & BRODLAND, 1996). A ação deletéria da radiação UV-B ocorre na estrutura do DNA, promovendo a formação de dímeros de pirimidina-ciclobutano que, por sua vez, participam da inativação de genes supressores de tumor e da ativação de oncogenes. Há também uma inibição da imunidade celular, principalmente pelo comprometimento funcional das células de Langerhans (BUZELL, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999).

Condições que afetam cronicamente a imunidade também podem predispor ao aparecimento de carcinomas cutâneos, especialmente o CEC. De fato, este tumor é mais comum do que o CBC em transplantados renais, podendo atingir até 42% desta população, nove anos após o transplante (HAYDON III, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). Nestes doentes, bem como nos portadores de AIDS, os CECs são mais agressivos, com taxas de metastatização e mortalidade mais elevadas (RUHOY *et al.*, 2001).

Estima-se que 60% de todos os CECs se desenvolvam a partir de lesões pré-neoplásicas conhecidas como queratoses actínicas (BUZELL, 1996; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999).

O CEC pode aparecer numa área de inflamação cutânea ou sobre uma cicatriz preexistente. É, então, conhecido como úlcera de Marjolin, e exibe uma acentuada malignidade, com índices de metastatização e de óbito de 30% e de 33%, respectivamente (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; ROWE *et al.*, 1992).

4. HISTOPATOLOGIA

O CBC invade a derme sob formas variadas, que vão desde cordões bem definidos até infiltrados difusos. As células basalóides habitualmente têm citoplasma escasso e núcleos grandes, arredondados ou alongados (RUHOY *et al.*, 2001). Pontes intercelulares são difíceis de serem caracterizadas à microscopia óptica convencional. Ocasionalmente, estas células exibem marcante atipia nuclear com hipercromasia, núcleos múltiplos e figuras mitóticas bizarras. Não há, con-

tudo, evidência que estas atipias nucleares se acompanhem de um caráter clinicamente mais agressivo (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983). O arranjo dos núcleos celulares em forma de paliçadas na periferia das ilhas de CBC é característica deste tumor. Por outro lado, a perda deste arranjo é indicativa de maior invasividade tumoral (FREEMAN, 1976; SOTTO, 1999).

Existem diferentes subtipos histopatológicos de CBC, que podem se apresentar clinicamente mais agressivos, com pior expectativa prognóstica. É importante salientar que subtipos diversos podem ser observados numa mesma lesão, que deve ser classificada de acordo com aquela variante que predominar. A forma clínica clássica de CBC, que é uma pápula perlácea telangiectásica, corresponde, histopatologicamente, à forma sólida, com ilhas de células tumorais com típicas paliçadas periféricas bem formadas, que as separam nitidamente do estroma adjacente (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; RUHOY *et al.*, 2001). Estes cordões podem assumir um aspecto semelhante a túbulos glandulares, configurando o subtipo adenóide (SOTTO, 1999; RUHOY *et al.*, 2001). Por vezes, a lesão assume um aspecto atrófico cicatricial, mimetizando a esclerodermia. À histopatologia, notam-se as células cancerosas arranjadas em finos cordões infiltrativos, envolvidos por um denso estroma esclerótico. Este é o subtipo esclerodermiforme, considerado muito agressivo, com uma acentuada propensão para estender-se de forma subclínica por até 7 mm além dos limites tumorais aparentes (MacDONALD III & RIDENOUR, 1999) e, por conseguinte, ser altamente recidivante. Outro subtipo, mais raro, é o metatípico. Ele foi descrito pela primeira vez em 1910, por MacCORMAC (*apud* RENNER *et al.*, 1999). Há considerável controvérsia na literatura sobre a verdadeira natureza deste tumor. Alguns o consideram um CBC que está evoluindo para um CEC; outros acreditam tratar-se de um verdadeiro "tumor de colisão" (RENNER *et al.*, 1999). A maioria dos autores, contudo, defende que o carcinoma metatípico seja mesmo uma variante mais agressiva do CBC (BUZELL, 1993). BOREL, em 1973, relatou 45,7% de recidivas locais. FARMER & HELWIG (1980), ao analisarem 17 casos de CBC com metastatização linfonodal, encontraram áreas do subtipo metatípico em 60% dos casos cujas biópsias prévias puderam analisar. Ao exame histopatológico, observaram ninhos típicos de CBC entremeados de áreas de células escamosas, com aspecto infiltrativo e com citoplasma eosinofílico. Eram comuns as pérolas córneas.

O CEC apresenta algumas características histopatológicas, variáveis em intensidade: atipia celular (geralmente expressa por meio de pleomorfismo nuclear), hiperchromatismo nuclear, figuras mitóticas atípicas, diminuição ou ausência de pontes intercelulares, queratinização celular individualizada e acantólise (RUHOY *et al.*, 2001). Aqui, diferentemente do CBC, quanto mais atípicas as alterações celulares, maior é a invasividade da lesão (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983). A diferenciação do CEC caminha rumo à queratinização (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983). Em 1921, BRODERS introduziu uma classificação histopatológica dos CECs, baseada no seu grau de diferenciação: grau I: mais de 75% das células tumorais são diferenciadas; grau II: entre 50% e 75% das células são diferenciadas; grau III: entre 25% e 50% das células são diferenciadas; grau IV: menos de 25% das células são diferenciadas. Assim, a queratinização é exuberante nos tumores grau I, e praticamente ausente nas lesões grau IV.

A profundidade de invasão tumoral do CEC tem sido valorizada recentemente, de maneira análoga ao melanoma maligno (BUZELL, 1993). ROWE *et al.* (1992) relataram índices de recidiva local e metástases de, respectivamente, 5,3% e 6,7%, em CECs com espessura inferior a 4mm e níveis de invasão de Clark superficiais (I a III), comparados com 17,2% e 45,7% observados em lesões mais espessas e profundas. Esta relação não foi demonstrada para o CBC (ROWE *et al.*, 1992).

Tanto o CBC quanto o CEC podem invadir planos musculares, cartilagosos e até mesmo ósseos. Entretanto, principalmente para os CBCs, esta disseminação é um evento mais tardio (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; LANG & MAIZE, 1991). Antes disso, estes carcinomas tendem a se espalhar por planos de menor resistência, ao longo do pericôndrio ou do periósteo. Assim, em determinadas regiões, como no canto interno do olho, poderia ocorrer um fenômeno chamado de "efeito iceberg", no qual o tumor clinicamente aparente corresponderia apenas a uma pequena fração de uma lesão que se estendeu silenciosamente ao longo do ligamento cantal e do periósteo orbitário (LANG & MAIZE, 1991).

Os carcinomas cutâneos podem apresentar uma forma de disseminação muito insidiosa e que piora sobremaneira o prognóstico: a invasão perineural (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; LANG & MAIZE,

1991; ROWE *et al.*, 1992; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). O controle adequado das margens cirúrgicas é muito dificultado, mesmo com o emprego de biópsias de congelação, pois esta forma de propagação geralmente só é evidenciada nos cortes parafinados (NIAZI & LAMBERTY, 1993; RANDLE *et al.*, 1993). Dentre os CBCs, o subtipo esclerodermiforme é o que mais freqüentemente exibe esta modalidade de propagação (RANDLE *et al.*, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). NIAZI & LAMBERTI, em 1993, avaliaram 3355 CBCs, encontrando 6 casos (0,18%) com invasão perineural, todos eles recidivados. Quatro doentes haviam sido irradiados; três se queixavam de parestesias. Quatro pacientes foram submetidos a ressecções cirúrgicas ampliadas de osso temporal; dois (50%) faleceram por causa do tumor. Na casuística de ROWE *et al.* (1992), o achado de invasão perineural em CEC acompanhou-se de taxas de recidiva local e de metastatização de 47,2% e 47,3%, respectivamente.

A invasão perineural pode ser avaliada através da histopatologia convencional. Além dela, a identificação imunohistoquímica da proteína S-100 pode ajudar na identificação dos filetes nervosos, como será mencionado mais à frente.

A Sociedade Brasileira de Patologia normatizou, em 1999, alguns parâmetros histopatológicos, e recomendou que eles fossem usados para se avaliar o grau de agressividade dos carcinomas cutâneos (SOTTO, 1999). Para o CBC, foram sugeridos: variante histológica (sólido, micronodular, cístico, adenóide, superficial, esclerodermiforme, metatípico), padrão de crescimento do tumor (expansivo, infiltrativo, misto), perfil dos blocos celulares (arredondados, espiculados), blocos celulares com paliçada periférica (bem formada, malformada, ausente), pleomorfismo nuclear (ausente, presente), estroma do tumor (fibroso, hialinizado), invasão perineural (ausente, presente), invasão vascular (ausente, presente) e margens de ressecção (livres, comprometidas). Para o CEC, os itens foram: profundidade de invasão (derme, subcutâneo, plano muscular, cartilagem/osso), gradação histológica de Broders (I, II, III, IV), desmoplasia (sim, não), infiltrado inflamatório peritumoral (leve, moderado, intenso), invasão perineural (ausente, presente), invasão vascular (ausente, presente) e margens de ressecção (livres, comprometidas).

5. FATORES PROGNÓSTICOS CONVENCIONAIS

5.1. TEMPO DE QUEIXA

Há uma controvérsia na literatura em relação ao valor prognóstico do tempo de aparecimento da lesão. Alguns autores sugeriram que CECs com velocidade de crescimento maior e com tempo de queixa mais curto metastatizaram com mais freqüência (FITZPATRICK & HARWOOD, 1985; JOHNSON *et al.*, 1992). Outros, contudo, observaram maior disseminação metastática em CECs que tinham uma história clínica de mais de 12 meses (BINDER *et al.*, 1968; HAYDON III, 1993). Em relação ao CBC, RANDLE *et al.* (1993) constataram uma relação direta entre o tamanho tumoral (T) e o tempo mais longo de história clínica.

5.2. FATORES CLÍNICOS

Segundo ROWE *et al.* (1992), algumas características clínicas e histopatológicas dos carcinomas cutâneos poderiam implicar num maior risco de recidiva local, de metastatização e até mesmo de morte. Eram: localização, maior diâmetro tumoral, profundidade de invasão, características histológicas, etiologia, tratamento prévio e imunossupressão.

O aspecto clínico da lesão poderia ser relacionado à variante histopatológica e, por conseguinte, à expectativa prognóstica, como será exposto mais adiante. Assim, lesões nodulares, perláceas e exofíticas, corresponderiam geralmente ao tipo nodular, enquanto que lesões mais úlcero-infiltrativas, com margens indefinidas, poderiam se traduzir histopatologicamente, pela variante esclerodermiforme (MacDONALD III & RIDENOUR, 1999).

Quanto à localização, o CEC que se originava no pavilhão auricular apresentava um risco aumentado de recidiva local (18,7%) e de metástases (11%), quando comparado com outras localizações em Cabeça e Pescoço (ROWE *et al.*, 1992). Em contraste, para o CBC, as áreas de maior risco de recidiva eram: asa nasal, couro cabeludo, além da região pré-auricular (LANG & MAIZE, 1991; ROWE *et al.*, 1992). Alguns autores consideraram que algumas áreas de fusão embrionária da face (sulco nasogeniano, canto interno do olho e filtro labial,

entre outras) constituíam regiões mais susceptíveis para o aparecimento de CBCs mais agressivos (PANJE & CEILLEY, 1979; LANG & MAIZE, 1991).

Em relação ao tamanho da lesão tumoral (T), RANDLE *et al.* (1993) avaliaram 50 doentes com CBCs maiores do que 5cm, que foram denominados “gigantes”. Recidivas tumorais ocorreram em 68% destes pacientes, número estatisticamente maior do que os 4% observados em tumores pequenos, tratados na mesma instituição ($p < 0,001$). Em outro estudo, analisando CECs, para um diâmetro maior ou igual a 2cm, o risco de recidiva local duplicava (7,4% para lesões menores, comparados com 15,2% em lesões maiores), e a frequência de metástases triplicava (9,1% e 30,3%, respectivamente) (ROWE *et al.*, 1992). O aparecimento de metástases linfonodais sugere pior prognóstico. Aproximadamente 5% dos CECs cutâneos apresentam esta forma de disseminação (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983), que é mais comum nas lesões maiores e menos diferenciadas (DZUBOW & GROSSMAN, 1991). Por outro lado, a disseminação linfática do CBC é excepcional, variando de 0,0028% a 0,55% (SNOW *et al.*, 1994). Como já foi relatado, o subtipo histológico mais associado a esta forma de propagação é o metatípico (LATTES & KESSLER, 1951; FARMER & HELWIG, 1980; DOMARUS & STEVENS, 1984; LANG & MAIZE, 1991; SNOW *et al.*, 1994). Em uma série, 1,9% de tumores com diâmetro acima de 3 cm evoluíram com disseminação metastática (SNOW *et al.*, 1994).

O estadiamento clínico TNM, estabelecido pela UICC (SPIESSL *et al.*, 1993), é muito importante, devido à sua simplicidade, reprodutibilidade e universalidade. De acordo com esta classificação, o T (referente ao tumor primário) poderia ser: TX (tumor primário não pode ser avaliado), T0 (não há evidência de tumor primário), Tis (carcinoma *in situ*), T1 (tumor até 2cm em sua maior dimensão), T2 (tumor maior que 2cm até 5cm em sua maior dimensão), T3 (tumor maior que 5cm em sua maior dimensão) ou T4 (tumor invadindo estruturas profundas, como cartilagem, músculo esquelético ou osso). As categorias do N (metástases linfonodais regionais) seriam: NX (linfonodos regionais não podem ser avaliados), N0 (ausência de metástases em linfonodos regionais) ou N1 (metástase em linfonodo regional). As definições para a categoria M (metástases à distância) seriam: MX (presença de metástase à distância não pode ser avaliada), M0 (ausência de metástase à distância) ou M1 (metástase à distância). As

lesões de pior prognóstico seriam caracterizadas como aquelas que se enquadrassem nas categorias mais altas (T4 e/ou N1, por exemplo).

Por vezes, os carcinomas cutâneos, especialmente o CBC, não mostravam qualquer fator histopatológico ou clínico desfavorável e, mesmo assim, apresentavam uma recidiva local após uma excisão cirúrgica adequada. Em 90% dos casos, a recidiva ocorreu dentro de um período pós-operatório de 24 meses ((MENN *et al.*, 1971). A simples ocorrência desta recidiva denotaria maior agressividade tumoral. MENN *et al.* (1971) trataram 100 doentes com CBCs recidivados, observando uma nova recidiva em 47%. Num outro estudo em CECs, houve nova recidiva em 23,3% e aparecimento de metástases em 30,3% dos casos (ROWE *et al.*, 1992).

Existem alguns estudos na literatura sobre alguns tumores cutâneos, especialmente CBCs, que, devido à extensa destruição que causam, desfigurando o doente, foram chamados de "horripilantes" (*horrifying tumors*) (JACKSON & ADAMS, 1973; BIANCHINI & WOLTER, 1984; HORLOCK *et al.*, 1998). É digno de nota o reduzido número de casos nestas três publicações: trinta e três, um e vinte e dois, respectivamente.

5.3. FATORES HISTOPATOLÓGICOS

Como já foi citado, duas variantes histopatológicas de CBC são consideradas mais agressivas pela maioria dos autores: esclerodermiforme e metatípico (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; LANG & MAIZE, 1991; RANDLE *et al.*, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999).

JOHNSON *et al.* (1992) procuraram traçar um perfil dos CECs de alto risco. Dentre os fatores mais relacionados com uma piora do prognóstico, destacaram: profundidade de invasão abaixo da derme reticular, grau de diferenciação mais alto e, principalmente, invasão perineural.

Como já foi mencionado acima, a Sociedade Brasileira de Patologia enumerou uma série de fatores histopatológicos que deveriam ser avaliados nos carcinomas cutâneos. Seriam indicativos de pior prognóstico para o CBC: subtipos histológicos esclerodermiforme e metatípico, padrão de crescimento infiltrativo, perfil dos blocos celulares espiculado, paliçada periférica malformada ou ausente, pleomorfismo nuclear presente, estroma hialinizado, invasões perineural e vascular presentes e

margens de ressecção comprometidas. Para o CEC, seriam considerados fatores de pior prognóstico: invasão de planos profundos, graus III e IV, presença de desmoplasia, infiltrado inflamatório peritumoral leve, invasões perineural e vascular presentes e margens de ressecção comprometidas (SOTTO, 1999).

6. FATORES PROGNÓSTICOS BIOLÓGICOS

O processo de divisão celular é precedido pela replicação do material genético. Durante esta replicação, o DNA pode sofrer mutações, que são agrupadas em 3 classes distintas, conforme a sua extensão: genômicas, cromossômicas e gênicas. As primeiras são alterações (ganho ou perda) no número total de cromossomos, podendo afetar todo o conjunto de cromossomos (poliploidia) ou o número de cópias de um cromossomo em particular (aneuploidia). As mutações cromossômicas são alterações na estrutura de uma área cromossômica, não havendo mudança no número total. Podem ser: deleção (falta de um segmento), duplicação (de um segmento) e translocação (inserção ou troca de um pedaço de outro cromossomo). As mutações gênicas consistem em alterações pontuais na sequência original de nucleotídeos, e podem ser de três tipos: substituições de nucleotídeos, deleções ou inserções (SAMARA *et al.*, 1992; CAMARGO *et al.*, 1999).

Do ponto de vista funcional, as mutações podem ser classificadas em 4 tipos: silenciosas (quando a substituição de um nucleotídeo no DNA não ocasiona uma correspondente substituição de aminoácido protéico, não havendo, portanto, alteração fenotípica), "missense" (quando a substituição de uma base no DNA promove a substituição de um aminoácido por outro na proteína, podendo ou não haver o aparecimento de uma proteína anômala correspondente), "nonsense" (ocorre quando a alteração de uma base no DNA gera apenas moléculas truncadas, sem atividade biológica potencial) e na fase de leitura (a alteração do nucleotídeo no DNA causa um erro na fase de transcrição, acarretando a síntese de um peptídeo completamente distinto do original) (CAMARGO *et al.*, 1999).

6.1. C-ERBB-2

Na maioria das situações, o desenvolvimento tumoral não depende de uma

única mutação em um tipo isolado de gene, mas de um conjunto delas que estimule a ação de genes promotores do crescimento celular desordenado e incontrolável, os oncogenes, ao mesmo tempo que iniba a atuação dos genes supressores de tumor (LOPES *et al.*, 1999). Os proto-oncogenes são genes existentes nas células normais, exercendo importantes funções. Quando alterados por alguma mutação ou amplificação, determinam um efeito positivo no crescimento celular, e passam a ser denominados oncogenes (LOPES *et al.*, 1999).

O c-erbB-2 é um oncogene localizado no braço curto do cromossomo 17 (BECKHARDT *et al.*, 1995). O nome *erb* derivou do vírus causador de uma forma de eritroblastose que ocorre em aves, e que é idêntico ao primeiro oncogene de membrana identificado, o c-erbB-1 (LEE, 1992). O c-erbB-2 codifica uma glicoproteína de 185 kdaltons (WEINSTEIN *et al.*, 1996). Esta oncoproteína, através da tirosina-quinase, promove a ativação do receptor para o fator de crescimento que, por sua vez, passa a ativar várias proteínas transdutoras de sinal na parte interna da membrana celular (WEINSTEIN *et al.*, 1996; LOPES *et al.*, 1999). Ocorre, então, um incremento não apenas no ritmo de crescimento celular, que passa a ser desenfreado, como também no potencial metastático da célula tumoral (BECKHARDT *et al.*, 1995).

6.1.1. C-erbB-2 e tumores de Cabeça e Pescoço

O papel biológico do c-erbB-2 em tumores de Cabeça e Pescoço é controverso.

Alguns autores relataram uma expressão aumentada deste oncogene em CECs do trato aerodigestivo alto (TADA). BECKHARDT *et al.*, em 1995, ao analisarem onze linhagens de culturas celulares e trinta e oito peças cirúrgicas de CECs de diversas localizações do TADA, observaram aumento da expressão do c-erbB-2 em 47% das análises. XIA *et al.*, em 1997, encontraram expressão aumentada em 53% de 80 portadores de CEC de boca. Em nosso meio, PARISE Jr. (1999) relatou esta hiperexpressão em 39% de 54 doentes com CEC de Cabeça e Pescoço. Outros estudos, porém, não confirmaram esta expressão aumentada (SOMERS *et al.*, 1990; LEONARD *et al.*, 1991).

Quanto à correlação entre o achado da expressão aumentada de c-erbB-2 e a expectativa prognóstica dos tumores de Cabeça e Pescoço, os resultados

publicados na literatura também têm sido controversos.

WERKMEISTER *et al.*, em 1996, avaliaram 85 doentes com CEC de cavidade oral e encontraram uma correlação estatisticamente significativa entre a expressão deste oncogene e uma redução no intervalo livre de doença.

Também neste ano, WEINSTEIN *et al.* analisaram 32 pacientes com CECs supraglóticos, notando uma frequência muito aumentada não apenas de metástases linfonodais como também de disseminação hematogênica naqueles com expressão do c-erbB-2.

ROYCHOWDHURY *et al.* (1996) publicaram um estudo sobre 30 portadores de tumores malignos de nasofaringe, dos quais quatorze eram CEC. Um dos fatores prognósticos mais importantes foi a expressão aumentada de c-erbB-2.

XIA *et al.* (1997), no estudo já citado, encontraram uma redução significativa da sobrevida nos 53% de doentes com expressão aumentada de c-erbB-2.

Neste mesmo ano, IBRAHIM *et al.* avaliaram o valor prognóstico de diversos oncogenes da família c-erbB em 24 doentes com CECs de diversas localizações do TADA, notando que somente a hiperexpressão do c-erbB-2 foi indicativa de redução na sobrevida.

SHIGA *et al.* (2000) encontraram uma resposta significativamente pior à quimioterapia quando havia expressão aumentada de c-erbB-2, numa população de 29 portadores de tumores recidivados de diversas localizações em Cabeça e Pescoço.

Entretanto, outros estudos não conseguiram demonstrar qualquer valor prognóstico relacionado ao aumento da expressão deste oncogene (KEARSLEY *et al.*, 1991; FIELD *et al.*, 1992; GIATROMANOLAKI *et al.*, 2000).

6.1.2. C-erbB-2 e carcinomas cutâneos

LIU *et al.* (1996) avaliaram a importância do c-erbB-2 especificamente em carcinomas cutâneos. Eles encontraram expressão aumentada em 59% de 43 portadores de CBCs. Por outro lado, constataram um significativo aumento da expressão em 84,6% de 26 doentes com CECs, diretamente proporcional à diminuição da diferenciação tumoral. Atribuíram, assim, um possível papel prognóstico para a expressão aumentada do c-erbB-2 em CEC.

Em 1997, AHMED *et al.* também estudaram a expressão deste oncogene em carcinomas cutâneos. Em 10 casos de CBC, observaram 50% de hiperexpressão. Dos 24 portadores de CEC, 83% tinham expressão aumentada do c-erbB-2, mostrando uma tendência a uma maior positividade naquelas lesões que haviam se disseminado para linfonodos, sugerindo, portanto, um valor prognóstico para os CECs cutâneos que expressavam muito este oncogene.

6.2. TP53

Mutações no gene TP53 são as alterações genéticas mais comuns em cânceres humanos: elas ocorrem entre 60% e 65% de todos os carcinomas (LEVINE, 1994). A sua importância fica evidenciada pelo enorme número de publicações encontrada na literatura, somente na década de 1990: 18.328 trabalhos. A sucessão de fatos que levaram ao seu descobrimento é digna de nota.

De 1953 a 1961, a prevenção da poliomielite era feita com a vacina Salk, produzida a partir de células renais de macacos. Estes macacos eram importados da Índia e, num determinado carregamento em 1960, foi identificado um novo vírus, denominado SV40, que induzia o aparecimento de tumores nos símios e que contaminou várias caixas de vacina. Após vários estudos nas décadas de 1960 e 1970, dois grupos de pesquisadores (LANE & CRAWFORD, 1979; LINZER & LEVINE, 1979) demonstraram que este "vírus SV40" possuía identidade antigênica com um gene que existia também no ser humano, que foi então denominado de TP53, devido ao seu produto protéico, uma proteína de peso molecular 53 kdaltons (LEVINE *et al.*, 1991; LEVINE, 1994).

6.2.1. Estrutura e expressão fisiológica

O TP53 situa-se no braço curto do cromossomo humano 17, na posição 17p13.1 (OZBUN & BUTEL, 1997). Ele inclui de 16 a 20 kb de DNA (CHARURUKS & VORAVUD, 1996), compreendendo 11 exons (QUON *et al.*, 2001).

A principal função deste gene é promover a formação de uma fosfoproteína nuclear de 393 aminoácidos, com peso molecular de 53 kdaltons (CHEN *et al.*, 1990; LEVINE *et al.*, 1991; HARRIS, 1993; CARSON & LOIS, 1995;

CHARURUKS & VORAVUD, 1996; OZBUN & BUTEL, 1997).

A proteína nativa p53 tem uma meia vida intracelular de poucos minutos, não sendo passível de detecção pelos métodos imunohistoquímicos disponíveis atualmente (OLIVEIRA, 1998). Estima-se que 200 genes têm a sua ação regulada por ela (OLIVEIRA, 1998). Esta proteína não é necessária para o crescimento ou diferenciação celulares (CARSON & LOIS, 1995). No final da fase G1 do ciclo celular, contudo, ocorre um aumento de 10 a 20 vezes nos seus níveis, espelhando incrementos no mRNA. Outra fonte de estímulo para o aumento na produção da proteína p53 é o aparecimento de mutações no DNA celular, quer sejam espontâneas, quer sejam causadas por carcinógenos, tais como radiação solar, radicais livres ou tabaco (CARSON & LOIS, 1995). Finalmente, esta elevação também ocorre quando a célula atinge a sua senescência (LEVINE *et al.*, 1991), participando da "morte celular programada e natural" (OZBUN & BUTEL, 1997).

Quando acontece uma mutação do DNA, a proteína nativa p53 que foi fabricada interage com uma série de outras proteínas, mormente fatores de transcrição celular, formando complexos moleculares tetraméricos (OZBUN & BUTEL, 1997). A expressão destes compostos resulta em inibição do crescimento celular em diversos níveis, principalmente entre as fases G1-S e S-G2 (ARROWSMITH & MORIN, 1996; OZBUN & BUTEL, 1997). No principal intervalo, entre as fases G1-S, aparentemente a síntese celular é retardada, até que um "controle de qualidade" do DNA alterado seja efetuado: se for possível uma correção, ele é reparado e o ciclo prossegue (SHAW, 1996); se, por outro lado, a alteração for irreversível, ocorre a produção das proteínas p21 e GADD45 que, por sua vez, impedem a duplicação do DNA (CARSON & LOIS, 1995; SHAW, 1996). O ciclo é interrompido e a apoptose celular é induzida, possivelmente através da inibição do gene Bcl-2 (LEVINE *et al.*, 1991; SHAW, 1996; OZBUN & BUTEL, 1997; OLIVEIRA, 1998).

Em seres humanos, a maioria das células somáticas normais possui uma vida útil limitada, podendo se dividir de 50 a 60 vezes (CARSON & LOIS, 1995). As células envelhecidas sintetizam em menor quantidade o gene mdm2, um inibidor natural do p53 (SHAW, 1996). Desta forma, após cada duplicação da população celular, um contingente de células "incapazes" abandona o ciclo celular e entra em apoptose fisiológica (HERMEKING & EICK, 1994; CARSON & LOIS, 1995; FREDERICK *et al.*, 1999).

Assim, o TP53 nativo é considerado por muitos como o verdadeiro “guardião do genoma” humano, contribuindo para a reparação de alterações do DNA potencialmente carcinogênicas ou induzindo a apoptose celular (MARSHALL, 1991; LEVINE *et al.*, 1991; HARRIS, 1993; CARSON & LOIS, 1995; CHARURUKS & VORAVUD, 1996; OZBUN & BUTEL, 1997; LEVINE, 1997); outros o denominaram “policial molecular” (CHANG *et al.*, 1993).

6.2.2. Mutações

As mutações do p53 são as mais comuns dentre todas envolvidas com a carcinogênese humana (SAMARA *et al.*, 1992; HARRIS, 1993; LEVINE, 1994). Elas podem ser congênitas ou adquiridas.

A mutação congênita do p53 se associa com uma síndrome autossômica dominante, descrita em 1988, conhecida com Síndrome de Li-Fraumeni (LI *et al.*, 1988). Seus portadores apresentam diversos tumores malignos de várias linhagens, habitualmente abaixo de 45 anos (LEVINE *et al.*, 1991; CHANG *et al.*, 1993). Em todos os doentes, um dos alelos do p53 apresenta-se mutante, geralmente nos codons 245 e 258 (LEVINE *et al.*, 1991; CHANG *et al.*, 1993).

As mutações adquiridas do p53 podem ser: por alterações pontuais de nucleotídeos, por deleções, por inserções, por “nonsense” e por “missense” (HINDS *et al.*, 1989; NIGRO *et al.*, 1989; CHEN *et al.*, 1990; SOMERS *et al.*, 1992; ULLRICH *et al.*, 1992; HARRIS & HOLLSTEIN, 1993; CHANG *et al.*, 1993; BOYLE *et al.*, 1993; YIN *et al.*, 1993; LEVINE, 1997). Estas últimas parecem ser as mais freqüentes. Num estudo muito abrangente, HARRIS & HOLLSTEIN (1993) analisaram 1312 ocorrências de p53 alterado, encontrando mutações “missense” em 83% das situações.

A meia vida celular da p53 mutante por “missense” é de 3 a 7 horas (OLIVEIRA, 1998). Assim, ela se acumula no núcleo e pode ser detectável por métodos imunohistoquímicos (MONTENARH, 1992; ORAM *et al.*, 1994). De fato, a imunorreatividade da p53 pode ser considerada uma evidência indireta da mutação do TP53 (BARBARESCHI *et al.*, 1992; PORTER *et al.*, 1992; DEITOS *et al.*, 1993). Entretanto, segundo alguns autores, outros tipos de mutação do TP53, ou mesmo uma super-expressão de seu antagonista mdm-2, poderiam dificultar

a detecção imunohistoquímica da p53 alterada (MATSUMURA *et al.*, 1996; PAVELIC & GLUCKMAN, 1997; LOGULLO *et al.*, 2000). MINETA *et al.* (1998) corroboraram esta opinião, afirmando que algumas mutações do TP53, apesar do seu indiscutível potencial carcinogênico, não se traduziriam, necessariamente, por hiperexpressão à pesquisa imunohistoquímica. QUON *et al.* (2001) chegaram a afirmar que esta heterogeneidade de mutações do TP53 poderia ser responsável pela considerável controvérsia existente na literatura sobre o valor prognóstico da p53, como será discutido mais adiante. Dessa forma, alguns autores, que não constataram correlação entre prognóstico e sua hiperexpressão poderiam, na realidade, estar avaliando outras mutações que não necessariamente seriam detectáveis por métodos imunohistoquímicos.

Algumas fontes endógenas importantes de geração de mutações pontuais do TP53 incluem falhas da DNA polimerase, a depurinação, o dano biológico secundário à liberação de radicais livres gerados nos processos biológicos e a desaminação da 5-metil-citosina (OLIVEIRA, 1988). A estas fontes endógenas, soma-se a exposição a carcinógenos ambientais (OLIVEIRA, 1998). O principal agente carcinogênico exógeno relacionado com os CECs do TADA é o tabaco, e ele causa mutações no TP53 (BRENNAN *et al.*, 1995; IBRAHIM *et al.*, 1999), habitualmente nos exons 5 a 8 (FIELD *et al.*, 1991; SAKAI & TSUCHIDA, 1992; FIELD *et al.*, 1993). Nos tumores cutâneos, o principal fator exógeno envolvido é a radiação solar ultravioleta. Ela causa substituições das bases simples C para T e duplas CC para TT, especialmente nos CECs (BRASH *et al.*, 1991; MCGREGOR *et al.*, 1992; CAMPBELL *et al.*, 1993; MOLÈS *et al.*, 1993; NAKAZAWA *et al.*, 1994; ORAM *et al.*, 1994).

Alguns autores defenderam a idéia, particularmente preocupante, de que o TP53 mutante não apenas se encontraria incapacitado para exercer a sua função protetora do genoma, como também passaria a atuar como um verdadeiro oncogene (OLSON & LEVINE, 1994; LEVINE *et al.*, 1997).

6.2.3. p53 e tumores de Cabeça e Pescoço

A expressão aumentada da p53 pode ser observada até mesmo em lesões pré-malignas epiteliais em Cabeça e Pescoço. SHIN *et al.* (1994) notaram 45% de positividade em displasias. SAUTER *et al.* (1994) encontraram 47% e 54% de

positividade em displasias moderadas e graves do TADA, respectivamente. ROWLEY *et al.* (1997) relataram o achado de 92% de expressão aumentada em displasias de cavidade oral. Devido a esta ocorrência tão comum, mesmo em lesões pré-malignas, alguns autores postularam que a mutação do TP53 seria um evento inicial no processo de carcinogênese (SAUTER *et al.*, 1994; PAVELIC & GLUCKMAN, 1997; CRUZ *et al.*, 1998). Outros, contudo, consideraram que esta mutação só ocorreria mais tardiamente, já configurando um fenótipo invasivo (SHAHNAVAZ *et al.*, 2000).

Diversos autores relataram o achado de percentuais variáveis de hiperexpressão da p53 em CECs do TADA, respectivamente: MAESTRO *et al.* (1992) – 60%; OGDEN *et al.* (1992) – 54%; WATLING *et al.* (1992) – 62%; SAKAI *et al.* (1992) – 63%; SAKAI & TSUCHIDA (1992): 90%; SOMERS *et al.* (1992): 100%; BOYLE *et al.* (1993) – 43%; BURNS *et al.* (1993) – 50%; KAUR *et al.* (1994) – 75%; XU *et al.* (1994) – 50%; BRENNAN *et al.* (1995) – 43%; LIPPMAN *et al.* (1995) – 89%; MUNIRAJAN *et al.* (1996) – 21%; MATSUMARA *et al.* (1996) – 53%; ROWLEY *et al.* (1997) – 80%; VAN OIJEN *et al.* (2000) – 90%; LINGEN *et al.* (2000) – 83%. Em nosso meio, três trabalhos mostraram 48% (LOGULLO *et al.*, 1997), 54% (PARISE Jr., 1999) e 45% (DIAS, 1999).

Apesar dessa incidência elevada, o valor prognóstico da hiperexpressão da p53 em CEC do TADA ainda é objeto de controvérsia. Vários autores não constataram qualquer correlação entre a hiperexpressão da p53 e uma piora da sobrevida (BRACHMAN *et al.*, 1993; NADAL *et al.*, 1995; NYLANDER *et al.*, 1995; SHINTANI *et al.*, 1995; RIETHDORF *et al.*, 1997; NIBU *et al.*, 1998; PAI *et al.*, 1998; PRUNERI *et al.*, 1998; STOLL *et al.*, 1998; PIFFK *et al.*, 1998). Por outro lado, esta relação foi observada em várias publicações (LEE *et al.*, 1993; GLUCKMAN *et al.*, 1994; SPAFFORD *et al.*, 1996; MINETA *et al.*, 1998; GIROD *et al.*, 1998; HEGDE *et al.*, 1998; KANEKAWA *et al.*, 1999; OBATA *et al.*, 2000; JACKEL *et al.*, 2000). Curiosamente, dois grupos relataram proporção inversa àquela mais reconhecida na literatura internacional, ou seja, uma hiperexpressão da p53 associada a uma *melhora* da sobrevida (SAUTER *et al.*, 1992; HIRVIKOSKI *et al.*, 1997). Outro estudo interessante, feito pelos pioneiros dos protocolos de preservação quimio-radioterápica em laringe, constatou uma melhor resposta a este protocolo nos doentes com tumores que hiperexpressavam p53 (BRADFORD *et al.*, 1995).

Analogamente, a relação entre a expressão aumentada da p53 e a

metastatização linfonodal também é discutível. Alguns autores não notaram esta associação (GASPARINI *et al.*, 1993; LEEDY *et al.*, 1994, CAPACCIO *et al.*, 2000), enquanto outros a encontraram (KOCH *et al.*, 1996; OSAKI *et al.*, 1997; MA *et al.*, 1998; UNAL *et al.*, 1999).

Finalmente, diversos pesquisadores encontraram uma relação proporcional entre expressão aumentada de p53 e desenvolvimento de segundos tumores primários em Cabeça e Pescoço (NEES *et al.*, 1993; CHUNG *et al.*, 1993; CLOOS *et al.*, 1994; ZARIWALA *et al.*, 1994; KOCH *et al.*, 1994; GALLO *et al.*, 1995; NAKANISHI *et al.*, 1995; SHIN *et al.*, 1996; HÖGMO *et al.*, 1996; RIBEIRO Jr. *et al.*, 1996).

Numa abrangente meta-análise da literatura, QUON *et al.* (2001) observaram uma tendência para se aceitar um efeito adverso da hiperexpressão do p53 tanto sobre o controle locorregional como na sobrevida de doentes com CEC do TADA. Ressaltaram, contudo, que conclusões mais definitivas somente seriam oferecidas por estudos prospectivos incluindo populações numerosas e homogêneas de doentes.

6.2.4. p53 e CBC

GUSTERSON *et al.* (1991) avaliaram 10 casos de CBC, não conseguindo demonstrar a presença da p53 em nenhum.

BARBARESCHI *et al.* (1992) notaram 48% de expressão aumentada da p53 em 27 CBCs.

RADY *et al.* (1992) encontraram 50% de hiperexpressão de p53 em 14 doentes com CBC, atribuindo esta mutação à ação do UV-B.

SHEA *et al.* (1992) observaram 83% de expressão aumentada de p53 em 36 peças cirúrgicas de CBC, ressaltando que também queratinócitos de pele normal adjacente apresentavam com frequência focos desta hiperexpressão.

RO *et al.* (1993) examinaram a hiperexpressão da p53 em uma variedade de lesões cutâneas, notando positividade em 42% dos CBCs.

ZIEGLER *et al.* (1993) encontraram 92% de expressão aumentada de p53 em 27 CBCs.

DeROSA *et al.* (1993) efetuaram um estudo imunohistoquímico de p53 em 19 portadores de CBC considerados "não-agressivos" (curados num perí-

odo superior a 2 anos) e em 19 doentes com CBCs "agressivos" (todos recidivados uma ou mais vezes; três com metástases hematogênicas). Somente 11% dos tumores do primeiro grupo apresentaram expressão aumentada da p53, que foi constatada em 95% dos CBCs agressivos. Esta diferença foi estatisticamente muito significativa ($p < 0,001$). Os autores concluíram que a pesquisa imunohistoquímica da proteína p53 poderia ser uma importante arma na avaliação prognóstica inicial dos CBCs.

Em contrapartida, KONISHI *et al.* (1994), utilizando técnicas de PCR (*polymerase chain reaction*) em 11 doentes com CBCs, não conseguiram identificar mutações específicas do TP53 em nenhum, apesar de relatarem perda da heterozigozidade em outro cromossomo, o de número 9, em 40% dos tumores.

Van der RIET *et al.* (1994), ao estudarem 36 casos de CBC, confirmaram esta perda de heterozigozidade do cromossomo 9 em 69% dos tumores, mas também notaram 44% de mutação do TP53.

URANO *et al.* (1995) não encontraram a hiperexpressão de p53 em 10 pessoas normais, sem acentuada exposição solar. Entretanto, constataram-na em áreas de epiderme normal limítrofes com um CBC em três doentes. Nestas áreas, a mutação observada foi da forma "missense" de C para G, no codon 249.

GROSSMAN & WEI (1995) conduziram um estudo molecular sobre a capacidade de reparação do DNA pela p53 em 135 portadores de CBC e 135 controles. Observaram uma redução nesta capacidade de reparação nos doentes com CBC, mormente naqueles mais jovens. A mutação do TP53 mais observada foi pontual.

HEALY *et al.* (1995) compararam três grupos de peças operatórias de CBC: 17 tumores sem recidiva, as 17 peças iniciais de tumores que recidivaram e as correspondentes 17 peças das recidivas, empregando avaliação imunohistoquímica para p53 e Ki-67. Não houve diferença significativa na expressão de p53 nos três grupos, que oscilou ao redor de 95%; os tumores recidivados, no entanto, expressaram mais Ki-67 ($p < 0,05$).

D'ERRICO *et al.* (1997) avaliaram a hiperexpressão da p53 em 45 doentes com CBC. A incidência variou de 6% em doentes abaixo dos 40 anos de idade, a 35% em pacientes acima desta faixa etária. Também notaram instabilidade no cromossomo 9 em 38% dos casos, independentemente da idade. Os autores

postularam que o aparecimento do CBC em pessoas mais jovens poderia estar relacionado a uma via carcinogênica independente da mutação do TP53.

BARRETT *et al.* (1997) procuraram correlacionar a expressão imunohistoquímica de p53, Ki-67 e PCNA em 30 doentes com 4 subtipos de CBCs: superficial, nodular, esclerodermiforme e metatípico. Observaram uma escala crescente de hiperexpressão dos três fatores, começando com o superficial e atingindo seu auge no metatípico. Além disso, a distribuição da hiperexpressão dos fatores de proliferação e da p53 nos subtipos mais agressivos era mais difusa.

UNDEN *et al.* (1997) encontraram 56% de hiperexpressão da p53 em 36 doentes com CBC.

OUHTIT *et al.* (1998) compararam a freqüência de mutações do TP53 em pele normal obtida de 53 doentes com CBC e de 75 pessoas normais, encontrando valores três vezes maiores no primeiro grupo.

Em nosso meio, OLIVEIRA (1998) estudou a expressão imunohistoquímica da proteína p53 em 91 CBCs, retirados de 79 doentes, divididos em 66 não-agressivos e 25 agressivos, consoante critérios histopatológicos. Encontrou 82% de hiperexpressão no primeiro grupo e 76% no segundo, diferença esta não significativa. Ao avaliar os queratinócitos da epiderme normal adjacente a 83 destas lesões, notou 97% de positividade. Entretanto, apenas 60% dos queratinócitos da pele normal adjacente a 5 neoplasias situadas em áreas não expostas mostraram hiperexpressão de p53.

BOONCHAI *et al.* (2000) analisaram a expressão da p53 em 121 CBCs, e encontraram um aumento das taxas de hiperexpressão nas lesões de subtipos mais agressivos (esclerodermiforme e metatípico) em comparação com os menos agressivos (superficialmente invasivo e nodular), com $p=0,04$. Além disso, essas taxas também foram significativamente maiores em lesões que se localizavam em áreas mais expostas ao sol ($p=0,004$).

ABDELSAYED *et al.* (2000) compararam a expressão de p53, Bcl-2, PCNA e Ki-67 em dois grupos: um com 20 CBCs e outro com 20 tricoepiteliomas (um tumor cutâneo benigno). Os índices de p53 e Bcl-2 foram similares nos 2 grupos. Entretanto, os índices de hiperexpressão tanto do PCNA quanto do Ki-67 foram maiores nos CBCs. Os autores concluíram

que os dois grupos de neoplasias apresentavam as mesmas alterações no mecanismo inicial que regulava o crescimento celular, mas características diversas no tocante à proliferação celular.

6.2.5. p53 e CEC

GUSTERSON *et al.* (1991) encontraram hiperexpressão de p53 em apenas 15% de 20 casos de CEC.

BRASH *et al.* (1991) analisaram 24 doentes com CEC, verificando mutações do TP53 em 58%. Como já foi mencionado, relacionaram estas mutações principalmente com a substituição de bases CC por TT ou de bases C por T.

STEPHENSON *et al.* (1992) investigaram a hiperexpressão da p53 em 63 CECs, concluindo que esta positividade mostrava uma tendência para aumentar em tumores mais indiferenciados.

LEE & TEH (1994) avaliaram 45 portadores de CEC, constatando aumento da expressão de p53 em 76% dos tumores.

KERSCHMANN *et al.* (1994) verificaram um índice de expressão aumentada de p53 em 60% de 20 CECs.

PILCH *et al.* (1994) encontraram expressão aumentada de p53 em 76% de 21 CECs.

ORAM *et al.* (1994) compararam as frequências de hiperexpressão de p53 em 15 CECs localizados em áreas expostas ao sol e em 11 CECs de áreas protegidas, com valores de 67% e 55%, respectivamente. Esta diferença não foi significativa.

McGREGOR *et al.* (1994) observaram 43% de expressão aumentada da p53 em quatorze doentes com insuficiência renal, transplantados ou não, portadores de CEC. Este índice não diferiu significativamente dos 55% observados numa população de vinte e dois CECs de pacientes sem insuficiência renal.

RHIM *et al.* (1995) encontraram 40% de hiperexpressão de p53 em 25 doentes portadores de CEC, sem qualquer relação com o estágio clínico ou o grau de diferenciação histológica.

Por outro lado, MATSUMURA *et al.* (1995) avaliaram 23 CECs em pacientes com xeroderma pigmentoso, e observaram uma nítida correlação

do aumento da expressão da p53 com o grau de diferenciação histológica. Em 11 CECs bem diferenciados, este índice foi de 27%; já para os tumores menos diferenciados, ele subiu para 86% ($p < 0,05$). Houve também uma relação com o tamanho dos tumores: lesões menores do que 8mm exibiram uma frequência de mutação de 20%, enquanto que lesões maiores tiveram um índice de 88% ($p < 0,025$).

HUGHES & ROBINSON (1995) estudaram 27 casos de CEC microinvasivo, achando expressão aumentada de p53 em 85%.

COULTER *et al.* (1995) observaram 66% de hiperexpressão do p53 em 21 CECs em áreas expostas ao sol. Por outro lado, este índice foi de apenas 11% em 19 CECs vulvares ou perianais, e esta diferença foi significativa ($p < 0,0004$).

SHIMIZU *et al.* (1996) encontraram 75% de hiperexpressão de p53 em 16 casos de CEC bem diferenciado.

MANSOOR *et al.* (1996) avaliaram a imunorreatividade de p53 e Ki-67 em 175 casos de CEC. Notaram um aumento importante da expressão de ambos marcadores com a indiferenciação e com o aumento da espessura tumoral. Todavia, não conseguiram demonstrar qualquer valor prognóstico para esta expressão aumentada, no tocante à sobrevida.

MATSUTA *et al.* (1997) investigaram a expressão da p53 em 32 doentes com CEC, constatando um aumento em 94%.

AHMADIAN *et al.* (1998) analisaram o aumento da expressão da p53, juntamente com a perda da heterozigotidade da região cromossômica 9q22.3 em biópsias de pele normal, displasias e CECs. No primeiro grupo, acharam 70% de hiperexpressão do p53, sem constatar a alteração cromossômica. Nas displasias, observaram 70% de mutações do p53, das quais 30% tinham também a alteração no cromossomo 7. Nos CECs, 85% tinham hiperexpressão do p53, dos quais 65% também exibiam a perda da heterozigotidade. Os autores sugeriram que a mutação do p53 seria um evento inicial no processo de formação do CEC, enquanto que a mutação na região 9q22.3 apareceria mais tardiamente neste processo.

AUEPEMKIATE *et al.* (2000) relataram seu estudo da expressão da p53 em 67 biópsias de CEC. Encontraram hiperexpressão em 27% das análises, com uma relação inversamente proporcional com o grau de diferenciação histológica.

6.3. Ki-67

O antígeno de proliferação Ki-67 é uma proteína nuclear cuja expressão ocorre durante as fases consideradas “ativas” do ciclo celular (G1, S, G2 e M), desaparecendo das células que se encontram em “repouso” (fase G0) (KANITAKIS *et al.*, 1997). Sua função ainda é desconhecida, mas a sua presença é considerada uma condição absolutamente necessária para que a proliferação celular ocorra (HEALEY *et al.*, 1995). SMITH *et al.* (1995) postularam que a sua ação ocorreria através da manutenção da estabilidade do DNA durante o processo de mitose.

A detecção imunohistoquímica do Ki-67 permite uma quantificação do potencial de proliferação da célula tumoral (GONZALEZ-MOLES *et al.*, 1996). Assim, lesões com menor atividade proliferativa exibem expressão em menos de 30% de suas células, contrastando com tumores com maior atividade, nos quais mais de 50% das células têm expressão aumentada (BACCHI & GOWN, 1993). Contudo, HEALY *et al.* (1995) sugeriram que a expressão aumentada de Ki-67 deveria ser encarada mais como um indício de um “estado de proliferação”, do que como um indicador do “ritmo de proliferação”.

6.3.1. Ki-67 e tumores de Cabeça e Pescoço

A expressão aumentada de Ki-67 (mais de 50% das células tumorais com imunorreatividade) em CECs do TADA tem sido relatada em proporções variáveis, conforme atestam alguns valores, publicados em séries recentes: GONZALEZ-MOLES *et al.* (1996): 51%; NYLANDER *et al.* (1997): 32%; NG *et al.* (1999): 98%; GRZANKA *et al.* (2000): 53%.

Quanto ao valor prognóstico desta proliferação celular exacerbada, traduzida pelo aumento da expressão do Ki-67, não há unanimidade na literatura internacional. Alguns autores não observaram qualquer correlação entre a expectativa prognóstica e a hiperexpressão desta proteína (ROLAND *et al.*, 1994; GONZALEZ-MOLES *et al.*, 1996; NYLANDER *et al.*, 1997; SPAFFORD *et al.*, 1997; GRZANKA *et al.*, 2000; STOLL *et al.*, 2000; WONG *et al.*, 2000). Outros, porém, contataram uma piora da sobrevida em portadores de cânceres com expressão de Ki-67 (GIROD *et al.*, 1998; KUROPKAT *et al.*, 1999; VALENTE *et al.*, 1999; XIE *et al.*, 1999).

6.3.2. Ki-67 e CBC

BAUM *et al.* (1993) investigaram a expressão de Ki-67 em 62 doentes com CBC. Observaram uma grande heterogeneidade na expressão, bem como na distribuição das áreas em que ela ocorria, compatível com a grande variabilidade histológica destes tumores. A expressão intensa do antígeno Ki-67 foi notada em 32,9% das neoplasias.

HEALY *et al.* (1995), num estudo já mencionado, compararam 3 grupos de peças de CBCs: 17 peças correspondentes a tumores que não apresentaram recidivas, 17 peças iniciais de tumores que recidivaram, e as correspondentes 17 peças destas recidivas. Houve uma expressão de Ki-67 estatisticamente superior entre os tumores que posteriormente recidivaram, ao contrário do que foi observado com a expressão da p53.

BARRETT *et al.* (1997) avaliaram a incidência de expressão do Ki-67 nos diferentes subtipos de CBC. Encontraram uma frequência maior desta expressão nos tipos mais agressivos, principalmente no esclerodermiforme.

Estes achados foram confirmados por HORLOCK *et al.* (1997), investigando as características de multiplicação celular em 81 CBCs.

Entretanto, estes mesmos autores (HORLOCK *et al.*, 1998) compararam as características de proliferação celular, usando como parâmetro a expressão de Ki-67, destes 81 doentes com uma outra população de 22 CBCs "horripilantes", não encontrando diferença significativamente estatística. Curiosamente, porém, dentro desta última população de casos, notou-se uma associação significativa entre os subtipos mais agressivos e a expressão de Ki-67, numa analogia com o trabalho anterior.

Num estudo já citado, ABDELSAYED *et al.* (2000) avaliaram a expressão de Ki-67 em 20 portadores de CBC, encontrando um índice de 51%, estatisticamente superior ($p=0,02$) ao que foi observado em um grupo de tricoepiteliomas benignos.

6.3.3. Ki-67 e CEC

KERSCHMANN *et al.* (1994) avaliaram 20 casos de CEC, encontrando

um percentual de expressão do Ki-67 de 46%.

SKALOVA & MICHAL (1995) também estudaram o mesmo número de casos, notando uma expressão aumentada e difusa de Ki-67 nas células dos CECs, mormente nas regiões mais invasivas da lesão tumoral. Em contrapartida, em vinte peças de queratoacantoma (um tumor benigno), o padrão de imunocoloração de Ki-67 era muito mais localizado e restrito à periferia dos blocos neoplásicos.

Num estudo já citado, MANSOOR *et al.* (1996) encontraram uma relação estatisticamente significativa entre a expressão aumentada de Ki-67 e o grau de diferenciação ($p < 0,0001$) e a espessura e profundidade de invasão tumorais ($p = 0,026$), numa população de 175 casos de CEC. Entretanto, não demonstraram valor prognóstico para a expressão aumentada de Ki-67, pois a proporção nos casos que recidivaram foi similar à observada nos tumores com boa evolução.

KANITAKIS *et al.* (1997) compararam a expressão de Ki-67 em dois grupos de pacientes: um com 14 CECs clinicamente agressivos e outro com 28 CECs não-agressivos. Não houve qualquer diferença entre os índices de expressão imunohistoquímica intensa nos dois grupos (15% e 17,5%, respectivamente).

6.4. COLÁGENO TIPO IV

A célula cancerosa começa a proliferar desordenadamente e tende a abandonar os limites originais do epitélio, causando a invasão dos planos mais profundos, estágio essencial para as diversas formas de disseminação tumoral. Para esta etapa ocorrer, geralmente é necessária a ruptura da membrana basal (LIOTTA *et al.*, 1980; MARTINEZ-HERNANDEZ & AMENTA, 1983).

A membrana basal é, na verdade, uma estrutura altamente especializada, cuja função é separar as células dos tecidos vizinhos (HIROTA *et al.*, 1990). Nos epitélios normais, ela é contínua (KUMAGAI *et al.*, 1994). Ela é composta por diversas proteínas extracelulares, dentre as quais se destacam laminina, colágeno tipo IV, fibronectina, heparina-sulfato proteoglican e entactina nidogênica (MARTINEZ-HERNANDEZ & AMENTA, 1983; HIROTA *et al.*, 1990). O colágeno tipo IV tem sido considerado uma de suas proteínas mais importantes. Ele envolve tanto as células epiteliais quanto os vasos sangüíneos adjacentes, mantendo a arquitetura tissular (HIROTA *et al.*, 1990). A sua importância na invasão tumoral e no processo

de metastatização tem sido demonstrada na literatura (NICOLSON & POSTE, 1983; BARSKY *et al.*, 1983; LIOTTA, 1986; NAKAJIMA *et al.*, 1987). A sua degradação pela colagenase tipo IV e por outras enzimas tem sido correlacionada com o prognóstico, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (HIROTA *et al.*, 1990). Imunohistoquimicamente, esta degradação pode ser demonstrada pela deposição descontínua do colágeno tipo IV, evidenciando assim uma solução de continuidade da membrana basal, que poderia atingir o extremo de ausência completa, relacionando-se com tumores mais indiferenciados e agressivos (STËNBACK *et al.*, 1985; HAVENITH *et al.*, 1988).

6.4.1. Colágeno tipo IV e tumores de Cabeça e Pescoço

SAKR *et al.* (1987), estudando a membrana basal com imunohistoquímica para colágeno tipo IV em 57 CECs do TADA, constataram uma associação direta entre a descontinuidade dessa membrana e a agressividade histológica dos tumores.

HIROTA *et al.* (1990) avaliaram o perfil imunohistoquímico da deposição de colágeno tipo IV na membrana basal de 82 casos de CEC de cavidade oral. Constataram uma diminuição desta deposição, de forma mais descontínua, nos tumores de estádios T mais avançados (T3 e T4), nos tipos histológicos mais indiferenciados, nas lesões com invasão mais profunda e nos casos que apresentavam metastatização linfática.

KUSUKAWA *et al.* (1993) avaliaram a hiperexpressão da metaloproteinase de matriz 2, que degrada o colágeno tipo IV, em 46 doentes com CEC de cavidade oral. Notaram uma prevalência significativamente maior (76,9%) em tumores que metastatizaram para linfonodos do que em lesões sem metástases (25%).

KUMAGAI *et al.* (1994) estudaram o padrão de distribuição da membrana basal com imunohistoquímica para colágeno tipo IV em 72 doentes com CEC de boca. A maioria das lesões (59,7%) apresentavam perda parcial ou completa desta membrana. Este achado se correlacionou de maneira estatisticamente significativa com tumores mais indiferenciados, mais invasivos e com metástases linfonodais (89% dos doentes com pescoço positivo).

SHINOHARA *et al.* (1996) avaliaram a membrana basal em 117 biópsias de CEC de cavidade oral, utilizando métodos imunohistoquímicos para 7 diferentes antígenos, entre os quais o colágeno tipo IV. Houve uma associação

estatística entre a descontinuidade da membrana basal e o grau de diferenciação histológico, o estágio T e o comprometimento da matriz extracelular.

6.4.2. Colágeno tipo IV e carcinomas cutâneos

RASMUSSEN *et al.* (1991) avaliaram a deposição de colágeno tipo IV em 21 CBCs, verificando continuidade da membrana basal na maioria dos casos.

Neste mesmo ano, OGURO *et al.* (1991) estudaram alterações imunohistoquímicas da membrana basal em CECs, utilizando, entre diversos anticorpos, o anti-colágeno tipo IV. Nos tumores bem diferenciados, a membrana basal se encontrava íntegra. No entanto, nas lesões mais indiferenciadas, havia consideráveis soluções de continuidade, evidenciando um intensa atividade enzimática de degradação da membrana. Os autores concluíram ser este um achado coerente com a maior agressividade e capacidade de disseminação metastática destas últimas neoplasias.

DUMAS *et al.* (1999) analisaram a expressão imunohistoquímica de antígenos da membrana basal em 13 CBCs, 13 CECs e 8 carcinomas *in situ*. Observaram uma relação inversamente proporcional entre a deposição do colágeno tipo IV e a agressividade tumoral. Nos CBCs, o subtipo esclerodermiforme se acompanhava de ruptura da membrana basal com mais frequência.

6.5. ANGIOGÊNESE

A importância do estudo da angiogênese no desenvolvimento dos tumores malignos é evidenciada pelo grande número de publicações sobre o assunto: sete mil, duzentos e setenta e quatro, somente na década de 1990, conforme pesquisa efetuada na Internet.

O desenvolvimento do sistema vascular ocorre essencialmente por dois processos distintos: vasculogênese e angiogênese (SOLIMENE *et al.*, 1999). No primeiro, os vasos sanguíneos são formados a partir do recrutamento, diferenciação e organização de células precursoras, os angioblastos (SOLIMENE *et al.*, 1999). Na angiogênese, também chamada de neovascularização, o aparecimento de novos vasos se origina em vasos e capilares preexistentes

(PETRUZZELLI, 1996; SOLIMENE *et al.*, 1999).

A angiogênese fisiológica é fundamental em diversos processos, tais como a reprodução (proliferação vascular do endométrio, por exemplo) e a cicatrização das feridas. Nestas situações, é um processo de curto prazo e auto-limitado (PETRUZZELLI, 1996). Por outro lado, a angiogênese patológica é resultante de um desequilíbrio dos mecanismos reguladores, mantendo-se indefinida e descontroladamente (PETRUZZELLI, 1996; FOLKMAN, 1996).

O conceito de que o crescimento tumoral era dependente da angiogênese foi inicialmente proposto em 1971 (FOLKMAN *et al.*, 1971). Eles demonstraram que o volume de tumores mantidos em perfusão isolada não excedia 1 a 2 mm³; contudo, estes mesmo tumores, quando eram implantados em ratos, cresciam rapidamente, atingindo vários centímetros. Estas últimas neoplasias eram ricamente vascularizadas, em contraste com as outras que as originaram. FOLKMAN *et al.* (1971), então, formularam a seguinte hipótese: "Uma vez que a massa tumoral tenha se estabelecido, cada incremento na sua população celular precisaria ser precedido de um aumento em sua rede capilar".

De fato, a procura por um "fator angiogênico tumoral" se iniciara alguns anos antes, em 1968, resultando numa extensa lista (PETRUZZELLI, 1996). Alguns dos fatores angiogênicos mais conhecidos são: bFGF (*basic fibroblastic growth factor*), EGF (*epidermal growth factor*), fibronectina, IGF (*insuline-like growth factor*), integrinas, metaloproteases, TGF- β 1 (*transforming growth factorb1*) e VEGF (*vascular endothelial growth factor*) (BUSSOLINO *et al.*, 1996; MOUSA, 1996; PETRUZZELLI, 1996; McNAMARA *et al.*, 1998; SOLIMENE *et al.*, 1999). Na verdade, a angiogênese induzida por um tumor envolveria diversas etapas, didaticamente expostas por PETRUZZELLI, em 1996. Inicialmente, haveria uma dissolução da membrana basal de um vaso preexistente, geralmente uma vênula pós-capilar, fruto de uma ação combinada de uma collagenase, metaloproteases, ativadores de plasminogênio e fatores que alteram a permeabilidade vascular, todas substâncias produzidas pelo tumor. A fase seguinte envolveria a migração de células endoteliais externas em direção à massa tumoral. Em seguida, estas células se organizariam e formariam um vaso neoformado intratumoral, que, por sua vez, originaria outros ramos e até mesmo alças capilares.

Uma outra classe de substâncias seria responsável pela inibição do processo de angiogênese: são denominados fatores angiostáticos (SOLIMENE *et al.*, 1999) ou antiangiogênicos (McNAMARA *et al.*, 1998). Alguns dos mais estudados são: angiostatina, endostatina, determinados tipos de interferon, tamoxifen e retinóides, entre outros (McNAMARA *et al.*, 1998; SOLIMENE *et al.*, 1999). O potencial terapêutico destes agentes é óbvio, e será mencionado mais adiante.

Como avaliar a atividade angiogênica de um determinado tumor? Evidentemente, a determinação da expressão dos fatores angiogênicos ajudaria a fornecer uma imagem desta atividade. Entretanto, como se trata de um processo que inclui várias etapas, poder-se-ia estar subestimando uma ou mais delas, bem como valorizando outras de forma indevida. Por outro lado, a medida do resultado final, ou seja, da quantidade de vasos neoformados, poderia oferecer um retrato mais fidedigno desta atividade angiogênica: é a análise da densidade de microvasos intratumoral (IMD, do idioma inglês, *intratumoral microvessel density*) (VERMEULEN *et al.*, 1996). Vários estudos na literatura confirmaram a correlação entre a IMD e hiperexpressão de fatores angiogênicos, crescimento tumoral e aparecimento de metástases à distância (VERMEULEN *et al.*, 1996). A IMD pode ser identificada e quantificada utilizando-se métodos imunohistoquímicos que buscam pesquisar células endoteliais. Os marcadores mais utilizados para a caracterização destas células são: CD31, CD34 e o antígeno relacionado ao fator VIII. A relação entre a angiogênese e o comportamento biológico de diversos tumores malignos humanos, dentre os quais se destacam os cânceres de mama e de cólon, tem sido amplamente relatada na literatura internacional, com importantes implicações prognósticas e terapêuticas (PETRUZZELLI, 1996; TOI *et al.*, 1996; GASPARINI, 1996; ELLIS & FIDDLER, 1996; FOLKMAN, 1996; GRIFFIOEN *et al.*, 1998; McNAMARA *et al.*, 1998).

6.5.1. Angiogênese e tumores de Cabeça e Pescoço

Existem algumas evidências de que a angiogênese teria uma função importante no processo de transformação neoplásica do epitélio da cavidade oral. JIN *et al.* (1995) avaliaram a densidade de microvasos em um espectro de 74 lesões intra-orais, que variou de inflamação crônica até CECs pouco diferenciados, no-

tando uma correlação positiva entre esta densidade e a gravidade da lesão. Num estudo com metodologia semelhante em 100 lesões orais, PAZOUKI *et al.* (1997) também constataram uma proporção direta entre o IMD e a progressão tumoral.

SPAFFORD *et al.* (1996) encontraram expressão imunohistoquímica de CD34 em apenas 1 dentre 70 casos de CEC de laringe, concluindo que a neovascularização seria muito raramente observada neste tipo de neoplasia.

PETRUZZELLI *et al.* (1997) demonstraram que cinco linhagens celulares de CECs do TADA produziam alguns fatores de crescimento capazes de estimular a angiogênese *in vitro*.

Quanto ao valor prognóstico da angiogênese em CECs do TADA, houve uma considerável controvérsia na literatura. Vários autores relataram uma correlação estatisticamente significativa entre o aumento do processo de angiogênese e indicadores de pior prognóstico, como metástases linfonodais e sobrevida diminuída (GASPARINI *et al.*, 1993; WILLIAMS *et al.*, 1994; ALBO *et al.*, 1994; ZÄTTERSTRÖM *et al.*, 1995; SHPITZER *et al.*, 1996; ALCALDE *et al.*, 1997; DELLA CONO *et al.*, 1997; MURRAY *et al.*, 1997). Em contrapartida, outros grupos não observaram qualquer valor prognóstico relacionado com o aumento da angiogênese (LEDDY *et al.*, 1994; GLEICH *et al.*, 1996; GLEICH *et al.*, 1997; DRAY *et al.*, 1996; HEGDE *et al.*, 1998).

6.5.2. Angiogênese e CBC

Em 1975, WOLF & HUBLER desenvolveram um modelo experimental em hamsters para investigar a elaboração do que denominaram "fator tumoral angiogênico". Eles formularam a hipótese de que este "fator", que não conseguiram caracterizar, extraído de alguns tumores cutâneos como melanoma, CBC e CEC, estimularia o aparecimento de vasos sangüíneos dilatados e tortuosos nos animais, ao contrário de extratos obtidos de componentes normais da pele.

STAIBANO *et al.* (1996) procuraram correlacionar o comportamento biológico de CBCs com a angiogênese. Para tanto, avaliaram a IMD, usando pesquisa imunohistoquímica de fator VIII, em dois grupos de portadores de CBCs: um com tumores considerados pouco agressivos, baseados na sua evo-

lução e no seu aspecto histológico, e outro com tumores muito agressivos. Encontraram valores significativamente mais altos nos tumores do segundo grupo, concluindo que o processo de neovascularização seria uma parte importante na aquisição de um fenótipo agressivo do CBC.

Por outro lado, BASARAB *et al.* (1998) avaliaram a expressão de CD34 em 15 doentes com CBC, encontrando aumento da IMD em apenas 7% dos tumores.

Em contrapartida, BEDLOW *et al.* (1999) propuseram uma nova metodologia para investigar a microcirculação tumoral *in vivo*, empregando vídeo-microscopia. Analisaram 12 CBCs, usando como referência a pele normal adjacente, e constataram uma vascularização estatisticamente maior em todas as neoplasias.

6.5.3. Angiogênese e CEC

LARCHER *et al.* (1996) utilizaram um modelo experimental em camundongos para estudar a expressão de um fator angiogênico, o VEGF, em CEC. Concluíram que o estímulo angiogênico ocorreria nas fases mais precoces da carcinogênese cutânea, ao menos no modelo experimental empregado.

Também com um modelo experimental em camundongos, BOLONTRADE *et al.* (1998) analisaram a vascularização de lesões cutâneas induzidas quimicamente em duas linhagens de animais, que diferiam entre si pela susceptibilidade de progressão de papilomas para CECs. Concluíram que a expressão da angiogênese era igualmente manifesta em ambas as linhagens, postulando que ela seria um evento precoce no processo de carcinogênese, não possuindo, portanto, qualquer valor prognóstico.

Já STRIETH *et al.* (2000) chegaram a uma conclusão diametralmente oposta. Eles avaliaram a IMD com CD31 em 10 biópsias de pele normal, 14 queratoses actínicas, 12 queratoses actínicas hipertróficas, 9 CECs precoces (com espessura inferior a 2mm) e 16 CECs avançados. A IMD foi semelhante nos quatro primeiros grupos de biópsias, mostrando-se significativamente elevada apenas nos tumores mais avançados. Os autores concluíram que a exacerbação da angiogênese ocorreria apenas naqueles CECs mais agressivos.

6.6. INVASÃO PERINEURAL – PROTEÍNA S-100

Como já foi mencionado acima, a invasão perineural está associada à maior agressividade dos carcinomas cutâneos. Esta forma de invasão pode ser avaliada através de cortes histológicos do tumor, corados pela hematoxilina-eosina (HE). Além disso, a imunodeteção da proteína S-100 nas células de Schwann, e consequentemente, nos filetes nervosos peritumorais, auxilia na identificação da invasão perineural do carcinoma (FLEURY & BACCHI, 1987). Assim, justifica-se o emprego da avaliação imunohistoquímica da proteína S-100, na tentativa de revelar com maior precisão o envolvimento perineural pela neoplasia (FLEURY & BACCHI, 1987).

7. NOVAS PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS

SAMARA *et al.* (1993) publicaram uma revisão sobre as perspectivas de desenvolvimento de tratamento molecular para tumores malignos humanos. Afirmaram que as técnicas moleculares, usadas basicamente para tentar identificar defeitos genéticos relacionados com a carcinogênese, poderiam ser também empregadas no futuro para tentar corrigi-los. Alertaram para o desenvolvimento de novos vetores virais, representados principalmente por retrovirus. Estes eram RNA-vírus, e o seu RNA poderia ser introduzido por transfecção na célula doente, inicialmente pela forma de um provirus, que seria, então, incorporado ao seu genoma, numa tentativa de corrigir a anormalidade genética. Os autores citaram alguns resultados preliminares encorajadores em cânceres mamários, cerebrais, pulmonares, renais e em melanomas.

Num outro excelente artigo de revisão, CLAYMAN (1995) enumerou os diversos métodos de transferência de material genético para o núcleo da célula cancerosa: químicos, físicos e biológicos. Estes últimos utilizavam diversos tipos de vírus, destacando-se os adenovírus, pela sua alta eficácia de transfecção. Entretanto, o autor chamou a atenção para dois importantes aspectos da terapia gênica. Inicialmente, a simples presença do gene na célula cancerosa não seria uma garantia absoluta de sua ação terapêutica. Em segundo lugar, a terapia gênica poderia se acompanhar de riscos potenciais consideráveis, que não deveriam ser negligenciados.

7.1. TERAPIA MOLECULAR COM TRANSFEÇÃO DE p53 NATIVA

Diversos autores propuseram o emprego de transfecção de p53 nativa em tumores do TADA, com resultados ainda muito incipientes (CLAYMAN *et al.*, 1995; CLAYMAN *et al.*, 1996; TAKAHASHI *et al.*, 1996; FRANK *et al.*, 1998; EURA *et al.*, 2000, HENDERSON *et al.*, 2000).

Na maior casuística publicada, CLAYMAN *et al.* (1998) utilizaram injeções intra-tumorais de adenovirus-p53 em 33 doentes com CECs do TADA avançados. Destes, dezessete foram passíveis de análise objetiva de seus tumores. Dois experimentaram redução de mais de 50% do volume tumoral e seis tiveram sua doença estabilizada por um período de 3,5 meses; em nove casos, a doença tumoral progrediu. O vírus foi detectado na urina, no sangue e na saliva de vários pacientes.

7.2. TERAPIA MOLECULAR ANTIANGIOGÊNICA

Em seu artigo de revisão já mencionado, PETRUZZELLI (1996) citava as perspectivas promissoras da terapêutica antiangiogênica, principalmente nos tumores localmente avançados e metastáticos.

Diversas propostas terapêuticas, empregando diferentes agentes antiangiogênicos, surgiram na literatura internacional (MOUSA, 1995; LINGEN *et al.*, 1996; TEICHER *et al.*, 1996; LIN *et al.*, 1996; FOLKMAN, 1996; GRIFFIOEN *et al.*, 1998; McNAMARA *et al.*, 1998).

Recentemente, alguns autores propuseram, ainda de forma muito preliminar, alguns modelos de terapia antiangiogênica para carcinomas cutâneos (STREIT *et al.*, 1999; BIELENBERG *et al.*, 1999; BLEUEL *et al.*, 1999).

| OBJETIVOS |

OS OBJETIVOS DESTE ESTUDO FORAM:

1. Avaliar a população de doentes portadores de CBCs com invasão suspeita ou confirmada de base de crânio, que foram submetidos a abordagens multidisciplinares no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, analisando fatores clínicos, cirúrgicos e histopatológicos; além disso, investigar, por ensaio imunohistoquímico, a proliferação celular, por meio da expressão do antígeno Ki-67, a expressão de oncogenes, representado pelo produto do oncogene c-erbB-2, a expressão de genes supressores, através da oncoproteína p53, a invasão da membrana basal, por meio da análise do colágeno tipo IV, a expressão do fator relacionado com a angiogênese CD34, e a invasão perineural, utilizando a expressão da proteína S-100, procurando estabelecer um perfil abrangente;
2. Utilizar a mesma metodologia para avaliar um grupo de doentes com CECs com invasão suspeita ou confirmada de base de crânio, também para a criação de um perfil;
3. Analisar os mesmos fatores clínicos, cirúrgicos, histopatológicos e imunohistoquímicos numa população-controle de CBCs que apresentaram evolução clínica favorável, atendidos no mesmo Hospital, e compará-los com os CBCs mencionados acima;
4. Estudar estes mesmos fatores numa população-controle de CECs com boa evolução clínica, atendidos no mesmo Hospital, e cotejá-los com o grupo de CECs supracitado.

—|CASUÍSTICA E MÉTODOS|—

1. CASUÍSTICA

1.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E FORMAÇÃO DOS GRUPOS

1.1.1. Grupos de estudo

1.1.1.1. *Critérios de inclusão*

Para a formação dos dois grupos principais deste estudo, foram pesquisados os doentes portadores de carcinomas cutâneos com invasão suspeita ou comprovada da base do crânio, atendidos e tratados na Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (DCCP HC-FMUSP). A pesquisa foi baseada no Banco de Dados da DCCP HC-FMUSP, a partir de 1982, quando teve início a abordagem conjunta multidisciplinar das lesões tumorais da base do crânio, até o ano de 2000. Os doentes foram divididos em dois grupos: o Grupo 1, reunindo os portadores de CBC, e o Grupo 2, formado pelos CECs. A decisão de dividi-los dessa

forma foi tomada em virtude das diferentes características clínicas, histopatológicas e moleculares dos dois tipos de câncer, que poderiam dificultar a interpretação e a confiabilidade dos resultados.

1.1.1.2. Critérios de exclusão

Foram excluídos aqueles casos em que não fossem acessíveis as informações contidas no protocolo do estudo (Apêndice A). Este protocolo foi baseado num estudo prévio da DCCP HC-FMUSP, que avaliou mais profundamente os fatores prognósticos dos tumores de base de crânio (MEDINA DOS SANTOS *et al.*, 1994). A impossibilidade de se obterem estas informações ocorreu nas diferentes fases de sua coleta, abaixo relacionadas:

- prontuário não localizado
- bloco anatomopatológico não localizado
- bloco anatomopatológico deteriorado
- ausência de material representativo do tumor no bloco anatomopatológico

1.1.1. Grupos de controle

1.1.2.1. Critérios de inclusão

Foram constituídos dois grupos de controle com doentes portadores de carcinomas cutâneos atendidos e tratados no Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A pesquisa foi baseada em dados fornecidos pelo Arquivo Central do Hospital. Somente foram incluídos pacientes que comprovadamente não apresentaram recidiva tumoral, num período mínimo de 24 meses. Analogamente aos grupos de estudo, os casos foram divididos em dois grupos: Grupo 3: doentes com CBCs; Grupo 4: pacientes com CECs.

1.1.2.2. Critérios de exclusão

Foram aplicados os mesmo critérios supracitados, acrescidos de três outros:

- prontuário não localizado
- bloco anatomopatológico não localizado
- bloco anatomopatológico deteriorado
- ausência de material representativo de tumor no bloco anatomopatológico
- falta de qualquer referência quanto ao seguimento pós-operatório
- seguimento pós-operatório inferior a 24 meses
- recidiva local ou locorregional do tumor

1.1. DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Foram anotados os seguintes dados epidemiológicos: sexo (masculino ou feminino); idade (em anos); cor (branca, preta, parda ou amarela).

1.2. DADOS CLÍNICOS

A duração da queixa foi anotada, em meses.

Foi considerado o maior diâmetro tumoral (em cm); analogamente, o tumor foi classificado em uma das categorias T do estadiamento TNM.

A localização foi registrada (frontal, têmporo-parietal, órbita, malar, nariz ou orelha), especificando aqueles tumores muito extensos, que acometiam mais de uma região.

O aspecto clínico da lesão foi anotado: ulcerado, nodular/vegetante ou outro.

A presença de linfonodos, quando referida, foi assinalada, com especificação do número, tamanho em centímetros e lateralidade.

Finalmente, foi estabelecido o estadiamento TNM.

1.3. DADOS CIRÚRGICOS

Em alguns doentes dos Grupos 1 e 2 que foram submetidos a mais de uma operação, foi possível a recuperação dos dados referentes a mais de um procedimento cirúrgico, incluindo a análise histopatológica e molecular das respectivas peças operatórias. Somente a abordagem cirúrgica combinada, que geralmente foi a última operação, foi considera-

da para os cálculos estatísticos de todas as variáveis, procurando manter o rigor científico da comparação com os grupos de controle. Entretanto, os resultados histopatológicos e moleculares dos dois procedimentos executados num mesmo paciente foram posteriormente comparados numa análise paralela, de forma descritiva, visando detectar alguma transformação ocorrida entre as duas situações.

Para os Grupos 1 e 2, os seguintes dados foram coletados: invasão de órbita, óssea, de dura-máter e de parênquima cerebral; tipo de reconstrução (sem reconstrução, fechamento primário, enxerto cutâneo, retalho de vizinhança, retalho à distância ou retalho microcirúrgico).

Para os Grupos 3 e 4, foi avaliado o tipo de reconstrução.

1.4. SEGUIMENTO

Em relação aos Grupos 1 e 2, foi caracterizada a condição do doente em relação ao seu seguimento: vivo, morto pelo tumor, morto por outra causa ou perdido. Foi anotado o tempo de acompanhamento, em meses.

Os parâmetros de sobrevida não foram considerados para os Grupos 3 e 4.

2. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Em todos os casos, lâminas representativas foram revisadas por duas Médicas Patologistas: Dras. Míriam Sotto e Inês de Castro, juntamente com o autor.

Os parâmetros histopatológicos foram analisados de forma distinta nos Grupos 1 e 3 (reunindo CBCs), em relação aos Grupos 2 e 4 (que incluíam CECs). Para todos, foram consideradas as normas recomendadas pela Sociedade Brasileira de Patologia (SOTTO, 1999).

2.1. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DOS CBCs (GRUPOS 1 E 3)

A variedade histológica do tumor foi classificada da seguinte maneira:

sólido (Figura 1), micronodular, cístico (Figura 2), adenóide (Figura 3), superficial ou multicêntrico (Figura 4), esclerodermiforme (Figura 5), metatípico (Figura 6) ou outra não definida. Foi levada em conta a variedade predominante no câncer, já que comumente havia mais de um subtipo histológico.

Figura 1 - CBC Sólido

Figura 2 - CBC cístico (10x)

Figura 3 - CBC adenóide (10x)

Figura 4 - CBC superficial (10x)

Figura 5 - CBC esclerodermiforme (10x)

Figura 6 - CBC metatípico (10x)

As seguintes características histopatológicas de agressividade foram pesquisadas: padrão de crescimento do tumor (expansivo [Figura 7], infiltrativo [Figura 8] ou misto);

Figura 7 - CBC com crescimento expansivo (seta) (10x)

Figura 8 - CBC com crescimento infiltrativo (seta) (10x)

- perfil dos blocos celulares (arredondados [Figura 9] ou espiculados [Figura 10]);

Figura 9 - CBC com perfil dos blocos arredondado (10x)

Figura 10 - CBC com blocos espiculados (10x)

- aspecto da paliçada periférica destes blocos celulares (bem formada [Figura 11], malformada [Figura 12] ou ausente);

Figura 11 - CBC com paliçada bem formada (seta) (40x)

Figura 12 - CBC com paliçada malformada (seta) (40x)

- pleomorfismo nuclear (ausente, discreto [Figura 13], moderado [Figura 14] ou intenso [Figura 15]);

Figura 13 - CBC com pleomorfismo nuclear discreto (40x)

Figura 14 - CBC com pleomorfismo nuclear moderado (40x)

Figura 15 - CBC com pleomorfismo nuclear intenso (40x)

- estroma do tumor (fibroso [Figura 16] ou hialinizado [Figura 17]);

Figura 16 – CBC com estroma fibroso (10x)

Figura 17 – CBC com estroma hialinizado (10x)

- profundidade de invasão tumoral (derme, tecido celular subcutâneo, fáscia/músculo ou cartilagem/osso); invasão perineural (Figura 18) e vascular.

Figura 18 A e B – CBC com invasão perineural (setas) (40x)

A

B

No Grupo 1, algumas informações adicionais foram obtidas do laudo anatomopatológico definitivo: invasão de calota craniana/órbita, de dura-máter, de parênquima cerebral, de periórbita e de globo ocular. Foram anotados também os dados relativos às margens cirúrgicas intra-operatórias, verificadas por biópsia de congelação, bem como às margens definitivas.

No Grupo 3, apenas os dados das margens cirúrgicas finais foram recuperados do laudo anatomopatológico definitivo, já que não foram feitas biópsias de congelação neste grupo.

2.2. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DOS CECs (GRUPOS 2 E 4)

Os seguintes parâmetros histopatológicos de agressividade foram pesquisados: grau de diferenciação histopatológico (BRODERS, 1921) (I [Figura 19], II [Figura 20], III [Figura 21] e IV);

Figura 19 - CEC grau I, com discreto infiltrado inflamatório (10x)

Figura 20 - CEC grau II, com moderado infiltrado inflamatório (10x)

Figura 21 - CEC grau III (10x)

- profundidade de invasão tumoral (derme, tecido celular subcutâneo, fáscia/ músculo [Figura 22] ou cartilagem/osso [Figura 23]);

Figura 22 - CEC infiltrando músculo esquelético (seta) (10x)

Figura 23 - CEC infiltrando osso (seta) (10x)

- invasão perineural (Figura 24) e vascular,

Figura 24 - CEC com infiltração perineural (seta) (20x)

- desmoplasia (presente [Figura 25] ou ausente[Figura 26])

Figura 25 - CEC com desmoplasia presente (4x)

Figura 26 - CEC com desmoplasia ausente (10x)

- e infiltrado inflamatório peritumoral (leve [Figura 19], moderado [Figura 20] ou intenso [Figura 27]).

Como no Grupo 1, também no Grupo 2 algumas informações adicionais foram extraídas do laudo anatomopatológico definitivo: invasão de calota craniana/órbita, de dura-máter, de parênquima cerebral (Figura 28), de periórbita e de globo ocular. Foram anotadas também os dados relativos às margens cirúrgicas intra-operatórias, verificadas por biópsia de congelação, bem como às margens definitivas.

Figura 27 - CEC com intenso infiltrado inflamatório (10x)

Figura 28 - CEC infiltrando parênquima cerebral (10x)

Analogamente, no Grupo 4, apenas os dados das margens cirúrgicas finais foram recuperados do laudo anatomopatológico definitivo, já que não foram feitas biópsias de congelação neste grupo.

3. ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA

Todos os blocos, correspondentes a todos os casos de todos os grupos, foram cortados, sendo confeccionadas de dez a quinze lâminas por caso sem qualquer coloração, incluídas em organosilano. Estas lâminas foram enviadas para os Prof. Dr. Carlos E. Bacchi e Dra. Ângela F. Logullo, que efetuaram a análise e interpretação imunohistoquímica (IHQ).

3.1. ASPECTOS TÉCNICOS DA ANÁLISE IHQ

A pesquisa dos antígenos do produto protéico do oncogene c-erbB-2, da proteína p53, do antígeno Ki-67 para estudo da proliferação celular, do colágeno tipo IV

para identificação da membrana basal peritumoral, do antígeno CD34, como marcador endotelial para o estudo da angiogênese, e da proteína S-100 para identificação dos filetes nervosos nos tecidos tumorais, foi realizada através da aplicação de anticorpos específicos contra essas proteínas, em associação com o sistema avidina-biotina peroxidase (ABC), descrito por HSU *et al.* (1981), com modificações (envolvendo basicamente o uso do forno de microondas) (SHI *et al.*, 1991; GOWN *et al.*, 1993). A metodologia constou do seguinte: cortes histológicos dos tumores, de 4 a 5 μm , foram desparafinizados imediatamente antes da realização da técnica de IHQ, sendo, posteriormente, hidratados e lavados com solução salina tamponada (SST) em pH 7,4. Após a desparafinização, os cortes foram incubados em forno de microondas caseiro por 15 minutos em solução tampão de citrato, pH 6,4, conforme descrito por GOWN *et al.* (1993). Esse procedimento de uso do forno de microondas foi realizado com a finalidade de recuperação de epitopos. A seguir, os cortes foram incubados com os anticorpos primários específicos por pelo menos 12 horas durante o período noturno, à temperatura aproximada de 4°C, nas seguintes diluições: proteína S-100 - 1:300; Ki-67 - 1:300; colágeno tipo IV - 1:80; CD34 - 1:50; proteína p53 - 1:600; produto protéico do oncogene c-erbB2 - 1:3000. Após lavagem em SST, as lâminas foram incubadas por 60 minutos com anticorpos secundários biotinilados anti-IgG de camundongo (para os tecidos onde foram utilizados os anticorpos contra Ki-67, colágeno tipo IV, CD34, proteína p53 e c-erbB-2) ou anti-IgG de coelho (para os tecidos onde foi utilizado anticorpo anti-proteína S-100) (Vector Corp., EUA), produzidos em cavalo e cabra, respectivamente. A seguir, os cortes foram incubados com o complexo ABC Elite® (Vector Corp., EUA) por 45 min. O complexo ABC foi preparado na proporção de 5 μl de avidina com 5 μl de biotina em 5 ml de SST. Para interpretação da reação, as lâminas foram tratadas com solução de 3,3' diaminobenzidina (DAB, 1mg/ml) (Sigma Chemical Company, EUA), na concentração de 1mg/ml em trizma (Sigma Chemical, EUA) e em solução de H_2O_2 (Sigma Chemical Company, EUA) a 0,1%. Os cortes foram contra-corados com verde de metila ou hematoxilina de Harris por aproximadamente 5 minutos. Com exceção da incubação em forno de microondas e da incubação noturna dos anticorpos primários, todas as demais incubações foram realizadas à temperatura ambiente. Os tecidos controles positivos utilizados nas reações imunohistoquímicas foram: melanoma para proteína S-100, nódulo linfático com hiperplasia linfóide

reativa para antígeno de proliferação celular Ki-67, pele normal para colágeno tipo IV, vasos sangüíneos dos próprios tecidos teste para CD34, carcinoma infiltrativo de mama para proteína p53 e produto protéico do c-erbB-2.

3.2. CRITÉRIOS PARA INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DO ESTUDO IHQ

3.2.1. Imunocoloração para produto protéico do oncogene c-erbB-2: imunorreatividade constou de positividade em padrão-membrana nas células tumorais

3.2.1.1. Positiva (positividade em virtualmente todas as células neoplásicas para c-erbB-2) (Figura 29)

Figura 29 - Imunocoloração revelando superexpressão em padrão membrana para proteína do oncogene c-erbB-2 nas células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.1.2. Negativa (ausência de células tumorais positivas para proteína c-erbB-2)

3.2.2. Imunocoloração para proteína p53: imunorreatividade constou de positividade nuclear nas células tumorais do carcinoma

3.2.2.1. Negativa (ausência de células tumorais positivas para proteína p53)

3.2.2.2. Positiva (positividade em virtualmente todas as células neoplásicas para p53) (Figura 30)

Figura 30 - Imunocoloração revelando expressão nuclear para a proteína p53 nas células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pelo verde de metila (aumento original: 400x)

3.2.2.3. Inconclusiva

3.2.3. Imunocoloração para antígeno de proliferação celular Ki-67: imunorreatividade constou de positividade nuclear nas células tumorais do carcinoma. A avaliação foi semi-quantitativa.

3.2.3.1. Positiva em <30% das células tumorais (Figura 31)

Figura 31 - Imunocoloração revelando expressão nuclear para o antígeno de proliferação celular Ki-67 em <30% das células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pelo verde de metila (aumento original: 400x)

3.2.3.2. Positiva em 30-50% das células tumorais (Figura 32)

Figura 32 - Imunocoloração revelando expressão nuclear para o antígeno de proliferação celular Ki-67 em 30-50% das células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pelo verde de metila (aumento original: 400x)

3.2.3.3. Positiva em >50% das células tumorais (Figura 33)

Figura 33 - Imunocoloração revelando expressão nuclear para o antígeno de proliferação celular Ki-67 em >50% das células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pelo verde de metila (aumento original: 400x)

3.2.4. Imunocoloração para colágeno tipo IV: imunorreatividade presente na membrana basal ao redor de blocos de células tumorais do carcinoma

3.2.4.1. Presença de membrana basal íntegra ao redor de blocos de células neoplásicas (Figura 34)

Figura 34 - Imunocoloração revelando membrana basal íntegra ao redor do bloco de células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.4.2. Presença de membrana basal com rupturas pelas células neoplásicas (Figura 35)

Figura 35 - Imunocoloração revelando rupturas da membrana basal ao redor do bloco de células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.4.3. Ausência de membrana basal (Figura 36)

Figura 36 - Imunocoloração revelando ausência de membrana basal ao redor do bloco de células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.4.4. Inconclusiva (significa que a imunocoloração não foi positiva para a membrana basal em estruturas que normalmente a contêm, como, por exemplo, a epiderme; com isso, o resultado ao redor das células tumorais foi inconclusivo)

3.2.5. Imunocoloração para CD34 (marcador endotelial para estudo da angiogênese): imunorreatividade constou de positividade em padrão-membrana nas células endoteliais dos vasos sanguíneos peritumorais. A intensidade da imunocoloração foi comparada ao tecido normal, no caso, pele. O critério foi semi-quantitativo.

3.2.5.1. Discreta angiogênese (Figura 37)

Figura 37 - Imunocoloração revelando discreta angiogênese em carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.5.2. Moderada angiogênese (Figura 38)

Figura 38 - Imunocoloração revelando moderada angiogênese em carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.5.3. Intensa angiogênese (Figura 39)

Figura 39 - Imunocoloração revelando intensa angiogênese em carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.6. Imunocoloração para proteína S-100 (marcador de células de Schwann) para identificação de filetes nervosos: imunorreatividade consistiu de positividade nuclear e citoplasmática nas células de Schwann

3.2.6.1. Presença de terminações nervosas (filetes nervosos) sem infiltração neoplásica (filetes íntegros) (Figura 40)

Figura 40 - Imunocoloração revelando filetes nervosos íntegros em região adjacente ao carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.6.2. Presença de terminações nervosas (filetes nervosos) com infiltração neoplásica; destruição total ou parcial de filetes nervosos pelas células tumorais (Figura 41)

Figura 41 - Imunocoloração revelando filetes nervosos parcialmente destruídos e infiltrados por blocos de células do carcinoma. Técnica da avidina-biotina-peroxidase (ABC); contra-coloração pela hematoxilina de Harris (aumento original: 400x)

3.2.6.3. Ausência de terminações nervosas (filetes nervosos); terminações nervosas não identificadas pela imunocoloração

3.2.6.4. Inconclusiva

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados coletados foram inseridos num programa Excell (Microsoft Corp., EUA), colocado num microcomputador Pentium II 400 MHz (LG Electronics, Coréia do Sul).

As variáveis contínuas foram descritas através de valores mínimo e máximo, mediana média e desvio padrão, enquanto que as variáveis categorizadas foram descritas através de frequências absolutas e relativas.

Os grupos de pacientes 1 e 2 foram comparados com seus respectivos grupos controles através dos testes t de Student e de Wilcoxon para amostras independentes (ROSNER¹, 1986) para as variáveis contínuas, e através do teste exato de FISHER e qui-quadrado de PEARSON (ROSNER², 1986) para as variáveis categorizadas.

As variáveis "invasão perineural" (histopatológica) e "proteína S-100" (molecular) foram comparadas com relação à proporção de pacientes positivos, utilizando-se o teste de WALD, baseado num modelo linear para dados categorizados (AGRESTI, 1990).

5. CARACTERIZAÇÃO FINAL DA CASUÍSTICA

5.1. GRUPOS DE ESTUDO

Entre 1982 e 2000, 153 doentes foram submetidos a ressecções craniofaciais no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A abordagem multidisciplinar destes casos incluiu, na maioria das situações, a Disciplina de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, a Disciplina de Neurocirurgia, a Disciplina de Cirurgia Plástica, o Departamento de Otorrinolaringologia, o Departamento de Anatomia Patológica, o Serviço de Radioterapia, além de outros profissionais, como Psicólogas, Fonoaudiólogas e Fisioterapeutas. Deste total, setenta e oito (51%) eram portadores de carcinomas cutâneos.

Foram excluídos quarenta e três doentes, por diversos motivos. Não foram recuperados dados dos prontuários de vinte e quatro casos. Doze pacientes tiveram os seus prontuários localizados, mas não os seus blocos anatomopatológicos. Em

quatro dos casos mais antigos, os blocos se encontravam deteriorados, impossibilitando a confecção das lâminas organosiladas. Finalmente, em três doentes, os únicos blocos recuperados não apresentavam porções representativas do tumor.

Assim, a composição final dos Grupos 1 e 2 incluiu, respectivamente, vinte e quatro doentes com CBCs (Figuras 42 e 43) e onze com CECs (Figura 44).

Figura 42 - Paciente portador de CBC fronto-temporal direita, com exposição e invasão da calota craniana. A: Aspecto da lesão, evidenciando extensa invasão óssea; B: Delimitação da incisão; C: Defeito cirúrgico após a ressecção craniofacial; D: Aspecto no 30º dia pós-operatório.

A

B

C

D

Figura 43 - Três doentes com extensos CBCs com invasão de base de crânio:
A. CBC esclerodermiforme com invasão orbitária bilateral; B. CBC metatípico, com exposição de calota craniana; C. CBC esclerodermiforme, recidivado após 24 operações

A

B

C

Figura 44 A e B- Dois pacientes com extensos CECs de região fronto-orbitária, com metástases linfonodais em loja parotídea esquerda e em pescoço

A

B

5.2. GRUPOS DE CONTROLE

Foram coletados aleatoriamente 350 prontuários de doentes portadores de carcinomas cutâneos atendidos e operados no Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Todos foram tratados em regime ambulatorial, e todos os procedimentos operatórios foram executados com anestesia local.

Foram então selecionados casos que satisfizessem os critérios mencionados acima, ou seja, que tivessem no prontuário uma referência explícita a um seguimento pós-operatório mínimo de 24 meses sem qualquer sinal de recidiva. Trinta casos de CBCs e treze de CECs foram então identificados.

Foram excluídos sete doentes com CBCs: dois por também serem portadores de epidermodisplasia verruciforme (uma doença cutânea que se acompanha de várias neoplasias benignas e malignas, e que poderia introduzir um fator histopatológico estranho neste grupo) e cinco pelo fato de os seus respectivos blocos apresentarem material insuficiente para a confecção das lâminas organosilindadas.

Dos treze casos de CECs, três também foram excluídos porque os seus respectivos blocos não continham material suficiente para a obtenção das lâminas organosilínadas.

Desta forma, a composição final dos Grupos de controle 3 e 4 incluiu, respectivamente, vinte e três doentes com CBCs e dez pacientes com CECs.

Este estudo, portanto, avaliou um total de 74 operações, com as suas respectivas peças cirúrgicas, efetuadas em 68 doentes (Apêndice B).

6. AVALIAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA ANÁLISE DE PROJETOS DE PESQUISA

A comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo aprovou o presente Protocolo de Pesquisa, registrado sob o número 148/01.

— | RESULTADOS | —

1. VARIÁVEIS EPIDEMIOLÓGICAS

Algumas das variáveis foram analisadas apenas nos grupos de estudo (1 e 2), ou porque não foram passíveis de obtenção nos grupos de controle (3 e 4), ou porque a sua comparação estatística com os primeiros grupos era desprovida de sentido. Assim, os resultados abaixo referentes a estas variáveis foram apresentados de forma descritiva. Os demais se acompanharam das respectivas análises estatísticas.

1.1. GRUPOS 1 E 3

1.1.1. Sexo

No Grupo 1, a maioria dos doentes foi do **sexo** masculino (58%), ao contrário do Grupo 3, no qual a maior **parte** era do sexo feminino (60%). Esta diferença não foi significativa ($p=0,188$).

1.1.2. Idade

A idade dos doentes do Grupo 1 variou entre 35 anos e 79 anos, com uma mediana de 59,5 anos. No Grupo 3, a idade foi de 38 anos a 88 anos, com uma mediana de 60 anos. Não houve diferença estatística entre os dois grupos ($p=0,2264$).

1.1.3. Cor

Em ambos os grupos, a maioria dos doentes era de cor branca: 91,67% no Grupo 1 e 100% no Grupo 3. Esta diferença não foi significativa ($p=1,000$).

1.2. GRUPOS 2 E 4

1.2.1. Sexo

A maior parte dos doentes de ambos os grupos foi do sexo masculino (Grupo 2: 63,64%; Grupo 4: 60%), sem diferença estatística ($p=1,000$).

1.2.2. Idade

A idade dos doentes do Grupo 2 situou-se entre 37 anos e 97 anos, com uma mediana de 65 anos. No Grupo 4, a idade mínima foi 55 anos e a máxima foi 86 anos, com uma mediana de 65,5 anos. Não houve diferença estatística ($p=0,525$).

1.2.3. Cor

Em ambos os grupos, a maioria dos pacientes era de cor branca (Grupo 2: 90,91%; Grupo 4: 100%), não se notando diferença estatística ($p=1,000$).

2. VARIÁVEIS CLÍNICAS

2.1. GRUPOS 1 E 3

2.0.1. Duração da queixa

No Grupo 1, a duração da queixa variou entre o mínimo de 12 meses e o máximo de 240 meses, com uma mediana de 84 meses. No Grupo 3, esta duração foi de 1 mês a 240 meses, com uma mediana de 12 meses. A diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,0001$).

2.0.2. Tamanho do tumor

No Grupo 1, o tamanho do câncer oscilou entre 2,5 cm e 12,0 cm, com uma mediana de 6,0 cm. No Grupo 3, este tamanho ficou entre 0,5 cm e 7,9 cm, com uma mediana de 1,5 cm. Esta diferença foi significativa ($p < 0,0001$).

2.0.3. Estadiamento TNM

A maioria dos tumores do Grupo 1 foi classificada como T4 (75%), enquanto que a maior parte das lesões do Grupo 3 era T1 (86,96%); esta diferença foi significativa ($p < 0,001$). Estas mesmas proporções foram constatadas em relação ao estadiamento completo. Apenas um paciente, do Grupo 1, apresentou metástases linfonodais (4,17%), sem diferença estatística quanto ao Grupo 3 ($p = 1,000$).

2.0.4. Tipo da lesão (Figura 45)

No Grupo 1, a maioria das lesões era ulcerada (75%), enquanto que no Grupo 3 a maior parte dos tumores era nodular ou vegetante (52,17%). Esta diferença foi significativa ($p = 0,025$).

Figura 45 - Tipo da lesão

2.0.5. Localização (Figura 46)

No Grupo 1, contingentes importantes de casos tinham como localização as regiões têmporo-parietal (25%) e orbitária (25%); entretanto, a maior parte dos tumores acometia mais de uma região, devido às suas grandes dimensões (29,17%). Por outro lado, a maior parte dos cânceres do Grupo 3 situava-se nas regiões malar (26,09%) e nasal (26,09%). Esta diferença de distribuição entre os dois grupos foi estatisticamente significativa ($p=0,005$).

Figura 46 - Regiões acometidas pelos CBCs

2.2. GRUPOS 2 E 4

2.2.1. Duração da queixa

No Grupo 2, a duração da queixa variou entre o mínimo de 4 meses e o máximo de 36 meses, com uma mediana de 18 meses. No Grupo 4, esta duração foi de 2 meses a 60 meses, com uma mediana de 12 meses. A diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,7224$).

2.2.2. Tamanho do tumor

No Grupo 2, o tamanho do câncer oscilou entre 3 cm e 12,0 cm, com uma mediana de 7,5 cm. No Grupo 4, ele ficou entre 0,9 cm e 5 cm, com uma mediana de 1,75 cm. Esta diferença foi significativa ($p<0,0001$).

2.2.3. Estadiamento TNM

A maioria dos tumores do Grupo 2 foi classificada como T4 (90,91%), enquanto que a maior parte das lesões do Grupo 4 era T1 (70%); esta diferença foi significativa ($p<0,001$). Estas mesmas proporções foram constatadas em relação ao estadiamento completo. No Grupo 2, 36,36% dos casos apresentavam metástases linfonodais, que não foram observadas em nenhum dos doentes do Grupo 4. Não houve diferença estatística ($p=0,090$).

2.2.4. Tipo da lesão

Tanto no Grupo 2 (72,73%) quanto no Grupo 4 (60%), a maioria das lesões era ulcerada. Esta diferença não foi significativa ($p=0,538$).

2.2.5. Localização (Figura 47)

No Grupo 2, vários CECs tinham como localização as regiões têmporo-parietal (18,18%) e nasal (18,18%); entretanto, a maior parte dos tumores envolvia mais de uma região, devido às suas grandes dimensões (36.36%). Por outro lado, a maioria das neoplasias do Grupo 4 situava-se nas regiões da orelha (50%) e malar (30%). Esta diferença de distribuição entre os dois grupos foi marginalmente significativa (p=0,056).

3. VARIÁVEIS CIRÚRGICAS

3.1. GRUPOS 1 E 3

3.1.1. Invasão orbitária

No Grupo 1, a maior parte dos CBCs invadia a órbita (54,17%).

3.1.2. Invasão óssea

A maioria dos tumores do Grupo 1 exibia comprometimento do osso subjacente (75%).

3.1.3. Invasão de dura-máter

No Grupo 1, constatou-se invasão de dura-máter em 25% dos casos.

3.1.4. Invasão de parênquima cerebral

Apenas 8,33% dos tumores do Grupo 1 invadiam o parênquima cerebral.

3.1.5. Reconstrução

A maior parte dos defeitos cirúrgicos no Grupo 1 foi reconstruída com o emprego de retalhos de vizinhança (54,17%), mas uma parcela importante necessitou de um retalho microcirúrgico para a sua reparação (29,17%). Por outro lado, a maioria dos defeitos operatórios no Grupo 3 foi passível de fechamento primário (56,52%). Esta diferença foi significativa ($p < 0,001$).

3.2. GRUPOS 2 E 4

3.2.1. Invasão orbitária

No Grupo 2, a maior parte dos CECs invadia a órbita (54,55%).

3.2.2. Invasão óssea

A totalidade dos tumores do Grupo 2 comprometia o osso subjacente (100%).

3.2.3. Invasão de dura-máter

No Grupo 2, notou-se invasão de dura-máter em 45,45% dos casos.

3.2.4. Invasão de parênquima cerebral

Dentre os tumores do Grupo 2, 18,18% invadiam o parênquima cerebral.

3.2.5. Reconstrução

A maior parte dos defeitos cirúrgicos no Grupo 2 foi reconstruída com o uso de retalhos de vizinhança (45,45%) ou de um retalho microcirúrgico (45,45%). Quanto aos defeitos operatórios no Grupo 4, foram utilizados o fechamento primário (30%), retalhos de vizinhança (30%), enxertos (20%) ou cicatrização por segunda intenção (20%). Esta diferença foi significativa ($p=0,006$).

4. SEGUIMENTO

4.1. GRUPOS 1 E 3

4.1.1. Tempo de seguimento

O tempo de seguimento dos doentes do Grupo 1 variou de 1 mês até 84 meses, com uma mediana de 28,5 meses. No Grupo 3, este tempo foi de 24 meses até 97 meses, com uma mediana de 36 meses. Não se observou diferença estatística ($p=0,2767$).

4.1.2. Condição

Dezesseis doentes do Grupo 1 (66,67%) encontravam-se vivos, sem sinais de recidivas. Oito pacientes (33,33%) faleceram por causa de seus CBCs.

4.2. GRUPOS 2 E 4

4.2.1. Tempo de seguimento

O tempo de seguimento dos doentes do Grupo 2 oscilou entre 1 mês e 24 meses, com uma mediana de 14 meses. No Grupo 4, este tempo foi de 24 meses

até 84 meses, com uma mediana de 32,5 meses. Não houve diferença estatística (p=0,073).

4.2.2. Condição

No Grupo 2, cinco doentes (45,45%) encontravam-se vivos, sem sinais de recidivas, cinco (45,45%) haviam falecido por causa do tumor e um (9,09%) morreu devido a um segundo tumor primário (um adenocarcinoma gástrico).

5. VARIÁVEIS HISTOPATOLÓGICAS

5.1. GRUPOS 1 E 3

5.1.1. Variante histopatológica (Figura 48)

No Grupo 1, as variantes mais comuns foram o CBC esclerodermiforme (45,83%) e o metatípico (25%). Já no Grupo 3, os subtipos mais comuns foram o sólido (60,87%) e o adenóide (13,04%). A diferença foi estatisticamente significativa (p=0,004).

Figura 48 - Distribuição por variante histopatológica dos CBCs

5.1.2. Padrão de crescimento (Figura 49)

A maior parte dos CBCs do Grupo 1 exibiu um padrão de crescimento infiltrativo (83,3%), enquanto que o padrão mais observado no Grupo 3 foi o expansivo (39,13%). Esta diferença foi significativa ($p=0,002$).

Figura 49 - Padrão de crescimento dos CBCs

5.1.3. Perfil dos blocos celulares (Figura 50)

A maior parte das neoplasias do Grupo 1 apresentava blocos celulares com perfil espiculado (75%), ao contrário do Grupo 3, no qual a maioria dos tumores tinha blocos celulares com perfil arredondado (56,52%). Esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,028$).

Figura 50 - Perfil dos blocos celulares

5.1.4. Aspecto da paliçada periférica dos blocos celulares (Figura 51)

A maioria dos CBCs do Grupo 1 apresentava paliçada periférica malformada (45,83%), enquanto que no Grupo 3 um número igual de tumores exibiam blocos celulares com paliçada bem formada (43,48%) ou malformada (43,48%). Esta diferença não foi significativa ($p=0,481$).

Figura 51 - Paliçada periférica dos blocos celulares

5.1.5. Pleomorfismo nuclear (Figura 52)

Em ambos os grupos, a maioria dos cânceres apresentava um pleomorfismo celular que foi classificado como moderado (Grupo 1: 66,67%; Grupo 3: 56,52%). Não houve diferença estatística ($p=0,771$).

Figura 52 - Pleomorfismo nuclear

5.1.6. Estroma (Figura 53)

A maior parte dos CBCs em ambos os grupos apresentava estroma tumoral fibroso (Grupo 1: 75%; Grupo 3: 83%), sem diferença estatística ($p=0,461$).

Figura 53 - Estroma

5.1.7. Profundidade de invasão (Figura 54)

A maioria dos tumores do Grupo 1 estendia-se até o plano ósseo ou cartilaginoso (79,17%). No Grupo 3, a maior parte das lesões apresentava invasão restrita à derme (91,30%). Esta diferença foi significativa ($p<0,001$).

Figura 54 - Profundidade de invasão

5.1.8. Invasão perineural (Figura 55)

A invasão perineural foi constatada na maior parte dos CBCs do Grupo 1 (58,33%). Por outro lado, esta forma de disseminação foi encontrada em apenas 1 caso (4,35%) do Grupo 3, e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$).

Figura 55 - Invasão perineural em CBCs

5.1.9. Margens de ressecção

5.1.9.1. Congelação

No Grupo 1, foram obtidas margens livres ao exame de congelação em 17 doentes (70,83%).

5.1.9.2. Parafina (Figura 56)

Figura 56 - Margens definitivas de ressecção

No Grupo 1, as margens definitivas se mostraram livres de comprometimento neoplásico em 17 casos (70,83%). No Grupo 3, os CBCs foram retirados com margens livres em todos os doentes (100%). Esta diferença foi significativa (p=0,009).

5.2. GRUPOS 2 E 4

5.2.1.Graduação histológica (Broders) (Figura 57)

A maioria dos CECs do Grupo 2 foi classificada como Grau II (72,73%). No Grupo 4, apesar da maior parte dos tumores também se enquadrar nesta categoria (40%), notou-se uma distribuição mais eqüitativa também entre os Graus II (30%) e III (30%). Não ocorreu diferença estatística entre os dois grupos (p=0,356). Não houve tumores grau IV nesta casuística.

Figura 57 - Distribuição dos CECs segundo a classificação de Broders

5.2.2.Profundidade de invasão (Figura 58)

Figura 58 - Profundidade de invasão dos CECs

Todos os carcinomas do Grupo 2 comprometiam o plano cartilaginoso ou ósseo (100%), enquanto que a maioria dos tumores do Grupo 4 acometiam apenas a derme (70%). Esta diferença foi significativa ($p < 0,001$).

5.2.3. Invasão perineural (Figura 59)

Constatou-se a presença de invasão perineural em 45,45% dos tumores do Grupo 2. Por outro lado, esta forma de disseminação não ocorreu entre os doentes do Grupo 4. A diferença foi significativa ($p = 0,035$).

Figura 59 - Invasão perineural nos CECs

5.2.4. Desmoplasia (Figura 60)

A desmoplasia foi encontrada na maior parte dos CECs do Grupo 2 (90,91%). No Grupo 4, ela ocorreu em 20% das lesões, e esta diferença foi significativa ($p = 0,002$).

Figura 60 - Desmoplasia em CECs

5.2.5. Infiltrado inflamatório peritumoral (Figura 61)

Na maior parte dos casos do Grupo 2, o CEC era envolvido por um infiltrado inflamatório moderado (63,64%), ao passo que, no Grupo 4, este infiltrado inflamatório peritumoral foi considerado intenso na maioria dos doentes (70%). Esta diferença foi significativa ($p=0,05$).

Figura 61 - Infiltrado inflamatório peritumoral nos CECs

5.2.6. Margens de ressecção

5.2.6.1. Congelação

No Grupo 2, foram obtidas margens livres ao exame de congelação em 10 doentes (90,91%).

5.2.6.2. Parafina

No Grupo 2, as margens definitivas se mostraram livres de comprometimento neoplásico nos mesmos 10 casos (90,91%). No Grupo 4, todos os CECs foram retirados com margens livres (100%). Esta diferença não foi significativa ($p=1,000$).

6. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS

6.1. GRUPOS 1 E 3

6.1.1. c-erbB-2

A hiperexpressão desta proteína foi encontrada em 70,83% dos carcinomas do Grupo 1 e em 73,91% dos tumores do Grupo 3 (Figura 62). Esta diferença não foi significativa ($p=0,813$).

Figura 62 - Hiperexpressão do c-erbB-2 nos CBCs

Foi avaliada a relação entre a hiperexpressão do c-erbB-2 e a variante histopatológica de CBC, considerando-se conjuntamente os Grupos 1 e 3 (Figura 63). Com exceção dos subtipos adenóide (c-erbB-2 positivo em 40% das lesões) e superficial (negativo no único caso), todos os outros exibiram hiperexpressão deste oncogene na maioria das neoplasias, sem diferença estatística entre si ($p=1,000$).

Figura 63 - Relação hiperexpressão do c-erbB-2 com as variantes de CBC

6.1.2.p53

A hiperexpressão da p53 foi observada em 70,83% dos CBCs do Grupo 1 (Figura 64). No Grupo 3, esta expressão aumentada foi notada em 43,48% dos tumores. Esta diferença foi marginalmente significativa (p=0,058).

Figura 64 - Hiperexpressão da p53 nos CBCs

Foi analisada a relação entre a hiperexpressão da p53 e a variante histológica do CBC, considerando-se conjuntamente os Grupos 1 e 3 (Figura 65). Apesar de se observar uma tendência a um aumento de hiperexpressão nos subtipos considerados mais agressivos (esclerodermiforme: 69,23%; metatípico: 62,50%) em relação aos menos agressivos (sólido: 47,37%; adenóide: 60,00%), esta diferença não foi significativa ($p=0,366$).

Figura 65 - Relação entre hiperexpressão da p53 e variante histopatológica de CBC

6.1.3.Ki-67

No Grupo 1, a expressão do antígeno Ki-67 foi discreta em 33,33% dos tumores, moderada em 29,17% e intensa em 37,50% (Figura 66). No Grupo 3, a maioria dos tumores teve expressão discreta (43,48%) ou moderada (43,48%); apenas 13,04% exibiram expressão intensa. Entretanto, esta diferença não foi significativa ($p=0,155$).

Figura 66 - Expressão do Ki-67 nos CBCs

Foi analisada também a relação entre a expressão do Ki-67 e a variante histológica do CBC, considerando-se conjuntamente os Grupos 1 e 3 (Figura 67). Apesar de se observar uma tendência a um aumento de expressão nos subtipos considerados mais agressivos (esclerodermiforme: 38,46%; metatípico: 37,50%) em relação aos menos agressivos (sólido: 21,05%; 0% para os demais), esta diferença não foi significativa ($p=0,188$).

Figura 67 - Relação entre expressão do Ki-67 e variante histopatológica de CBC

6.1.4. Colágeno tipo IV

Nos CBCs do Grupo 1, através da análise imunohistoquímica do colágeno tipo IV (Figura 68), constatou-se ruptura da membrana basal pelas células neoplásicas em 33,33%; em 45,83% dos casos, notou-se ausência da membrana basal. No Grupo 3, a maioria dos carcinomas exibiu uma membrana basal íntegra ao redor dos blocos tumorais (73,91%), enquanto que em apenas 17,39% dos tumores ela estava ausente. Esta diferença foi significativa ($p<0,001$).

Figura 68 - Avaliação da MB com colágeno tipo IV nos CBCs

Foi estudada também a relação entre a integridade da membrana basal e a variante histopatológica do CBC, considerando-se conjuntamente os Grupos 1 e 3 (Figura 69). Verificou-se uma ocorrência maior de ruptura nos tipos mais agressivos (esclerodermiforme: 23,08%; metatípico: 50,00%) em relação aos menos agressivos (sólido: 5,26%; 0% para o adenóide). Esta diferença foi significativa ($p=0,00299$).

Figura 69 - Correlação entre a MB e a variante histopatológica de CBC

6.1.5.CD34

A análise da expressão do CD34 no Grupo 1 revelou angiogênese leve em 29,17% dos tumores, moderada em 45,83% e intensa em 25,00% (Figura 70). No Grupo 3, a maioria dos cânceres apresentou angiogênese discreta (56,52%) ou moderada (39,13%); apenas 4,35% exibiram angiogênese intensa. Esta diferença foi marginalmente significativa ($p=0,058$).

Figura 70 - Avaliação da angiogênese com CD34 nos CBCs

A relação entre a angiogênese e a variante histológica do CBC foi examinada, considerando-se conjuntamente os Grupos 1 e 3 (Figura 71). Apesar de se observar uma tendência a um aumento da angiogênese nos subtipos considerados mais agressivos (esclerodermiforme: 53,85% de angiogênese moderada e 23,08% intensa; metatípico: 37,50% moderada e 25,00% intensa) em relação aos menos agressivos (sólido: 36,84% de angiogênese moderada e 10,53% intensa; adenóide: 40% moderada e 0% intensa), esta diferença não foi significativa ($p=0,181$).

Figura 71 - Correlação entre a angiogênese e a variante histopatológica de CBC

6.1.6. Invasão perineural/proteína S-100

No Grupo 1, a análise imunohistoquímica da proteína S-100 revelou filetes nervosos invadidos pelo carcinoma em 50% dos casos (Figura 72). Em apenas 33,33% dos tumores havia filetes nervosos íntegros; em 16,67%, estes filetes não foram identificados. Em contrapartida, a maioria dos CBCs do Grupo 3 exibiu filetes nervosos sem demonstração imunohistoquímica de invasão neoplásica (91,30%). Esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$).

Figura 72 - Avaliação da invasão de filetes nervosos com a proteína S-100 em CBCs

Foi analisada também a relação entre a demonstração de filetes nervosos invadidos, pela proteína S-100, e a variante histológica do CBC, considerando-se conjuntamente os Grupos 1 e 3 (Figura 73). Verificou-se uma ocorrência maior de filetes nervosos invadidos nos subtipos mais agressivos (esclerodermiforme:

38,46%; metatípico: 62,50%) em relação aos menos agressivos (sólido: 10,53%; adenóide: 0%). Esta diferença foi significativa ($p=0,00317$).

Figura 73 - Correlação da avaliação de filetes nervosos com a variante histopatológica de CBC

6.2. GRUPOS 2 E 4

6.2.1. c-erbB-2

A hiperexpressão desta proteína foi encontrada em 81,82% dos carcinomas do Grupo 2 e em 100% dos tumores do Grupo 4 (Figura 74). Esta diferença não foi significativa ($p=0,476$).

Figura 74 - Hiperexpressão do c-erbB2 nos CECs

6.2.2.p53

A hiperexpressão da p53 foi observada em 9,09% dos CECs do Grupo 2 (Figura 75). No Grupo 4, esta expressão aumentada foi notada em 40,00% dos tumores. Esta diferença não foi significativa ($p=0,149$).

Figura 75 - Hiperexpressão da p53 nos CECs

6.2.3.Ki-67

No Grupo 2, a expressão do antígeno Ki-67 foi discreta em 18,18% dos tumores, moderada em 9,09% e intensa em 72,73% (Figura 76). No Grupo 4, a maioria dos tumores teve expressão discreta (30,00%) ou moderada (50,00%); apenas 20% mostraram expressão intensa. Esta diferença foi significativa ($p=0,050$).

Figura 76 - Expressão do Ki-67 nos CECs

6.2.4.Colágeno tipo IV

Nos CECs do Grupo 2, através da análise imunohistoquímica do colágeno tipo IV (Figura 77), constatou-se ruptura da membrana basal pelas células neoplásicas em 36,36%; em 63,64% dos casos, notou-se ausência da membrana basal. No Grupo 4, a maioria dos carcinomas exibia uma membrana basal íntegra ao redor dos blocos tumorais (40,00%). Esta diferença não foi significativa (p=0,075).

Figura 77 - Avaliação da MB com colágeno tipo IV nos CECs

6.2.5. CD34

A análise da expressão do CD34 no Grupo 2 revelou angiogênese leve em 9,09% dos tumores, moderada em 36,36% e intensa em 54,55% (Figura 78). No Grupo 4, a maioria dos cânceres apresentou angiogênese discreta (30,00%) ou moderada (60,00%); somente 10,00% exibiram angiogênese intensa. Esta diferença não foi significativa (p=0,133).

Figura 78 - Avaliação da angiogênese com CD34 nos CECs

6.2.6. Invasão perineural/proteína S-100

No Grupo 2, a análise imunohistoquímica da proteína S-100 revelou filetes nervosos invadidos pelo carcinoma em 63,64% dos casos (Figura 79). Em apenas 36,36% dos tumores havia filetes nervosos íntegros. Em contrapartida, a maioria dos CECs do Grupo 4 exibia filetes nervosos sem demonstração imunohistoquímica de invasão neoplásica (70,00%). Esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,080$).

Figura 79 - Avaliação da invasão de filetes nervosos com a proteína S-100 em CECs

7. RELAÇÃO ENTRE O ACHADO HISTOPATOLÓGICO DE INVASÃO PERINEURAL E A PESQUISA IMUNOHISTOQUÍMICA DA INVASÃO COM A PROTEÍNA S-100

A comparação entre o achado histopatológico de invasão perineural e a constatação imunohistoquímica com a proteína S-100 de filetes nervosos invadidos pela neoplasia foi avaliada para os quatro grupos conjuntamente, conforme a tabela abaixo (Tabela 1):

Tabela 1 - Comparação entre invasão perineural e proteína S-100 para todos os grupos

Invasão perineural	Proteína S-100			
	Fil. nerv. s/ inf.	Fil. nerv. infiltrados	Ausência de fil. nerv.	Total
Sim	7 (10,29%)	11 (16,18%)	2 (2,94%)	20 (29,41%)
Não	34 (50%)	10 (14,71%)	4 (5,88%)	48 (70,59%)
Total	41 (60,29%)	21 (30,59%)	6 (8,82%)	68 (100%)

A análise estatística não revelou diferença entre os dois métodos ($p=0,815$). No entanto, houve uma diferença entre os resultados observados nos dois tipos de carcinomas. Para os CBCs (Grupos 1 e 3), a avaliação imunohistoquímica detectou menos comprometimento de ramos nervosos do que o exame histopatológico (25,53% e 31,91%, respectivamente, sem diferença estatística ($p=0,3615$). Por outro lado, considerando-se os CECs (Grupos 2 e 4), a pesquisa da proteína S-100 conseguiu evidenciar quase o dobro de casos com filetes nervosos invadidos pela neoplasia (42,86% e 23,81%, respectivamente), ainda que esta diferença não tenha alcançado significância estatística ($p=0,1384$).

8. RESULTADOS DESCRITIVOS DO PACIENTES SUBMETIDOS A DUAS OPERAÇÕES

Para a avaliação das variáveis histopatológicas, foram considerados apenas os doentes do Grupo 1 para se tentar uma avaliação mais homogênea, visto que apenas um paciente do Grupo 2 foi submetido a duas operações. Devido ao reduzido número de casos, não foi efetuada nenhuma análise estatística.

Estes resultados estão relacionados nas tabelas a seguir:

Tabela 2 - Evolução das variáveis cirúrgicas e histopatológicas entre as duas operações

Variável	Operação 1	Operação 2	n	%
Invasão dural	Sim	Sim	1	16.67
	Não	Sim	2	33.33
	Não	Não	3	50.00
Invasão encefálica	Sim	Sim	1	16.67
	Não	Sim	1	16.67
	Não	Não	4	66.67
Padrão de crescimento	Infiltrativo	Infiltrativo	3	60.00
	Infiltrativo	Misto	1	20.00
	Misto	Infiltrativo	1	20.00
Perfil dos blocos	Arredondados	Arredondados	1	20.00
	Espiculados	Arredondados	1	20.00
	Espiculados	Espiculados	3	60.00
Paliçada periférica	Bem formada	Malformada	1	20.00
	Malformada	Bem formada	1	20.00
	Malformada	Malformada	1	20.00
	Malformada	Ausente	1	20.00
	Ausente	Ausente	1	20.00
Pleomorfismo nuclear	Discreto	Moderado	1	20.00
	Discreto	Intenso	2	40.00
	Moderado	Moderado	1	20.00
	Intenso	Intenso	1	20.00
Estroma	Fibroso	Fibroso	1	20.00
	Fibroso	Hialinizado	1	20.00
	Hialinizado	Hialinizado	3	60.00
Profundidade de invasão	Derme	Cartilagem/osso	1	20.00
	Subcutâneo	Cartilagem/osso	1	20.00
	Fáscia/músculo	Cartilagem/osso	3	60.00
Invasão perineural	Sim	Sim	3	60.00
	Não	Sim	1	20.00
	Não	Não	1	20.00
Margens à congelação	Livres	Livres	3	50.00
	Livres	Comprometidas	1	16.67
	Comprometidas	Livres	1	16.67
	Comprometidas	Comprometidas	1	16.67

Variável	Operação 1	Operação 2	n	%
Margens à parafina	Livres	Livres	3	50.00
	Livres	Comprometidas	1	16.67
	Comprometidas	Livres	1	16.67
	Comprometidas	Comprometidas	1	16.67

Tabela 3 - Evolução das variáveis biológicas entre as duas operações

Variável	Operação 1	Operação 2	n	%
C-erbB-2	Positivo	Positivo	4	66.67
	Negativo	Positivo	1	16.67
	Negativo	Negativo	1	16.67
p53	Positivo	Positivo	3	50.00
	Negativo	Positivo	2	33.33
	Negativo	Negativo	1	16.67
Ki-67	+ em < 30% céls.	+ em 30-50% céls.	1	16.67
	+ em 30-50% céls.	+ em 30-50% céls.	2	33.33
	+ em > 50% céls.	+ em < 30% céls.	1	16.67
	+ em > 50% céls.	+ em > 50% céls.	2	33.33
Colágeno Tipo IV	MB com ruptura	MB com ruptura	2	33.33
	Ausência de MB	MB com ruptura	1	16.67
	Ausência de MB	Ausência de MB	3	50.00
CD34	Angiog. discreta	Angiog. discreta	2	33.33
	Angiog. discreta	Angiog. moderada	1	16.67
	Angiog. moderada	Angiog. intensa	2	33.33
	Angiog. intensa	Angiog. intensa	1	16.67
Proteína S-100	Fil. nerv. s/ inf.	Fil. nerv. s/ inf.	1	16.67
	Fil. nerv. s/ inf.	Fil. nerv. infiltrados	1	16.67
	Fil. nerv. infiltrados	Fil. nerv. s/ inf.	1	16.67
	Fil. nerv. infiltrados	Fil. nerv. infiltrados	2	33.33
	Ausência de fil. nerv.	Fil. nerv. infiltrados	1	16.67

| *DISCUSSÃO* |

A cirurgia craniofacial oncológica teve o seu alvorecer no início do século passado, com os estudos de DANDY (*apud* GOODRICH, 1997), RAY & McLEAN (1943) e SMITH *et al.* (1954). A padronização da técnica para o tratamento dos tumores da base do crânio foi estabelecida por KETCHAM *et al.* (1963), criando os princípios que são, basicamente, empregados até os dias de hoje. Esta casuística pioneira foi atualizada em mais dois artigos (KETCHAM *et al.*, 1973; KETCHAM & VanBUREN, 1985).

Segundo JANECKA (1997), houve uma segunda fase de difusão destes princípios técnicos de abordagens cirúrgicas craniofaciais multidisciplinares, nas décadas de 1970 e 1980. Na terceira fase, que vai até os dias de hoje, as indicações e os limites destas operações foram consideravelmente ampliados (AL-MEFTY, 1991; SAITO *et al.*, 1993; POMERANZ *et al.*, 1993; NAYAK *et al.*, 1995).

A maior parte das séries publicadas incluiu principalmente tumores malignos nasossinusais, sem fazer qualquer menção a carcinomas cutâneos com invasão da base do crânio (TERZ *et al.*, 1980; KRESPI & SISSON, 1982; FISCH, 1983; JACKSON *et al.*, 1984; SCHULLER *et al.*, 1984; KINNEY & WOOD, 1987; KRESPI, 1989; BRIDGER & BALDWIN, 1989; BOUAZIZ *et al.*, 1991; ROUX *et al.*, 1991;

AUSTIN *et al.*, 1994; JANECKA *et al.*, 1994; KRAUS *et al.*, 1994; LEVINE *et al.*, 1994; NAYAK *et al.*, 1995; ROSS & SASAKI, 1995; ANDERSEN *et al.*, 1996; PENSAK *et al.*, 1996; LUND *et al.*, 1998; CANTÙ *et al.*, 1999; ZHANG *et al.*, 1999; BRIDGER *et al.*, 2000). Curiosamente, mesmo este último estudo, oriundo de um grupo australiano, país com uma incidência muito alta de neoplasias malignas cutâneas, sequer citou os carcinomas cutâneos.

Por outro lado, alguns autores publicaram as suas experiências com a utilização das operações craniofaciais combinadas em tumores malignos cutâneos com invasão suspeita ou comprovada da base do crânio (WESTBURY *et al.*, 1975; TERZ *et al.*, 1980; LANG *et al.*, 1983; JACKSON *et al.*, 1983; KETCHAM *et al.*, 1985; ROSEN *et al.*, 1986; SHAH *et al.*, 1987; JONES *et al.*, 1988; MEDINA *et al.*, 1990; VanTUYL & GUSSACK, 1991; SHAH *et al.*, 1992; CATALANO *et al.*, 1994; IRISH *et al.*, 1994; CLAYMAN *et al.*, 1995; MARGARINO *et al.*, 1996; JANECKA, 1997; KELLY *et al.*; 2000). Todos os tumores cutâneos destas séries eram, evidentemente, muito extensos e invasivos. Entretanto, eles ainda correspondiam a uma proporção reduzida do total de neoplasias com invasão da base do crânio, na maioria das casuísticas. JANECKA (1997), um dos especialistas mais respeitados neste campo, por exemplo, havia efetuado ressecções craniofaciais em apenas 2 carcinomas cutâneos, que correspondiam a 1,7% do total de cânceres por ele operados.

Em contraste, nas séries brasileiras (MEDINA DOS SANTOS *et al.*, 1994; DIAS *et al.*, 1997; CERNEA *et al.*, 1997; DIAS *et al.*, 1999), mais da metade dos doentes eram portadores de CBC ou CEC com invasão da base do crânio. Apesar da localização geográfica de nosso país, numa latitude onde os raios solares seriam potencialmente mais perigosos (BUZELL, 1993; BUZELL, 1996; GLOSTER & BRODLAND, 1996), as razões para estas disparidades são obscuras. Talvez elas pudessem ser ocasionadas por diferenças institucionais em relação à triagem e encaminhamento destes tumores cutâneos muito avançados para equipes multidisciplinares com experiência em cirurgia de base de crânio. Além disso, é menor a prevalência de neoplasias cutâneas nas porções mais setentrionais do Hemisfério Norte (BUZELL, 1993; BUZELL, 1996).

Assim, a motivação principal deste estudo foi tentar traçar um perfil clínico, histopatológico e biológico destes avançados carcinomas cutâneos com envolvimento da base do crânio, ainda inédito na literatura. Além disso, procurou se estabelecer

uma comparação com uma população de carcinomas cutâneos com boa evolução, atendidos e tratados na mesma Instituição, no mesmo período de tempo.

1. VARIÁVEIS EPIDEMIOLÓGICAS

Os carcinomas cutâneos são os cânceres mais comuns do ser humano (LANG & MAIZE, 1991; RUHOY *et al.*, 2001). A sua incidência é muito elevada nos Estados Unidos (SOBER & BURSTEIN, 1995; ROBINSON *et al.*, 1996; RUHOY *et al.*, 2001), na Austrália (KALDOR *et al.*, 1993) e no Brasil (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997; BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000). Em nosso meio, esta incidência parece estar aumentando (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2000).

1.1. SEXO

Os carcinomas cutâneos ocorrem com maior frequência no sexo masculino (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1997; RUHOY *et al.*, 2001). No presente estudo, a maioria dos pacientes era do sexo masculino, com exceção do Grupo 3, no qual 60% eram mulheres. Esta diferença não foi significativa.

1.2. IDADE

As faixas etárias mais altas são as mais acometidas, principalmente pelo CBC (BETTI *et al.*, 1995). Segundo MacDONALD III & RIDENOUR (1999), noventa e cinco por cento dos doentes tinham entre 40 e 79 anos. Em todos os grupos desta série, os limites etários foram semelhantes, com medianas de, respectivamente, 59,5, 65, 60 e 65,5 anos nos grupos 1, 2, 3 e 4. Este achado é coerente com a etiopatogenia dos carcinomas cutâneos, que dependem de uma exposição muito prolongada e contínua à ação prejudicial dos raios solares (BUZELL, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999).

1.3. COR

Tanto o CBC, que provavelmente se origina a partir de células totipotentes

basais (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; RUHOY *et al.*, 2001), quanto o CEC, que é um tumor de queratinócitos (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; RUHOY *et al.*, 2001), têm a radiação solar, principalmente a sua fração UV-B (LANG & MAIZE, 1991) como principal fator causal do meio ambiente (MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). Esta ação deletéria é mais acentuada nas regiões geográficas mais próximas aos trópicos (BUZELL, 1993; BUZELL, 1996; GLOSTER & BRODLAND, 1996).

Ambos os carcinomas cutâneos são mais freqüentes em pessoas de pele clara que, pela menor capacidade de produzir melanina, é mais susceptível aos efeitos perniciosos dos raios solares (KRAEMER *et al.*, 1987). De fato, em todos os grupos a maioria dos doentes era de cor branca (91,67% no Grupo 1, 90,91% no 2, 100% no 3 e no 4).

2. VARIÁVEIS CLÍNICAS

2.1. DURAÇÃO DA QUEIXA

Os dados disponíveis na literatura sobre o valor prognóstico do tempo de queixa dos carcinomas cutâneos são escassos e, sob alguns aspectos, controversos. Em relação ao CBC, RANDLE *et al.* (1993) observaram uma relação direta entre o tamanho tumoral e o tempo mais longo de história clínica.

Nesta série, a duração mediana da queixa no Grupo 1 foi de 84 meses, estatisticamente superior ($p < 0,0001$) à observada no grupo 3, que foi de 12 meses. Entretanto, esta diferença deve ser interpretada com alguma cautela. De fato, a maior parte dos cânceres do primeiro grupo eram recidivados, com tempo de acompanhamento muito prolongado. Noventa por cento das primeiras recidivas haviam aparecido até 24 meses depois do primeiro tratamento, mas diversos doentes haviam sofrido múltiplas intervenções, até que seus tumores atingissem as proporções e a invasividade que justificassem a indicação da operação craniofacial. Em um caso, por exemplo, esta abordagem de base de crânio foi efetuada após 24 tentativas cirúrgicas infrutíferas (Figura 43c). Em alguns doentes com lesões não recidivadas, contudo, a extensão tumoral foi realmente fruto de uma história muito prolongada, sem tratamento (Figura 42).

Quanto ao CEC, alguns autores postularam que tumores com velocidade de crescimento maior e tempo de queixa mais curto metastatizaram com mais frequência (FITZPATRICK & HARWOOD, 1985; JOHNSON *et al.*, 1992). Outros, ao contrário, notaram disseminação metastática em CECs que tinham uma história clínica de mais de 12 meses (BINDER *et al.*, 1968; HAYDON III, 1993).

Os doentes do Grupo 2 referiram uma duração de queixa mediana de 18 meses. Apesar deste valor ter se mostrado superior à mediana do Grupo 4, que foi de 12 meses, a diferença não foi estatisticamente significativa, quicá devido ao número reduzido de casos. É interessante mencionar que, apesar de não terem sido comparadas estatisticamente, a duração da queixa dos Grupos 1 e 2 foram bastante diferentes, talvez refletindo uma tendência para um comportamento mais indolente nos CBCs.

2.2. TAMANHO DO TUMOR

RANDLE *et al.* (1993) observaram uma evolução estatisticamente mais desfavorável em 50 doentes com CBCs maiores do que 5cm, que foram denominados "gigantes", quando comparados com lesões menores, tratadas na mesma instituição. Analogamente, alguns autores propuseram o termo "tumores horripilantes" (*horrifying tumors*), para estas lesões muito extensas que desfiguravam o doente (JACKSON & ADAMS, 1973; BIANCHINI & WOLTER, 1984; HORLOCK *et al.*, 1998), registrando uma evolução especialmente desfavorável nestas situações.

No Grupo 1, a mediana do tamanho dos CBCs foi 6,0cm, estatisticamente superior ($p < 0,0001$) à mediana do diâmetro das lesões do Grupo 3, que foi 1,5cm, comprovando a óbvia diferença nas dimensões. É interessante notar que o maior tumor do Grupo 3 tinha 7,9cm. É evidente que apenas uma medida poderia não refletir o real volume da lesão tumoral, que certamente seria melhor representado por um produto de sua área e de sua profundidade de invasão.

ROWE *et al.* (1992) observaram que o risco de recidiva local duplicava e o índice de metástases triplicava em CECs que ultrapassavam 2cm. Este achado foi confirmado no presente estudo, pois a mediana do tamanho dos CECs do Grupo 2 foi 7,50cm e do Grupo 4 foi 1,75cm, e esta diferença foi significativa ($p < 0,0001$).

2.3. TIPO DA LESÃO

O aspecto clínico do CBC corresponde comumente ao subtipo histopatológico. A forma clínica clássica, que é uma pápula perlácea telangiectásica, corresponde, histopatologicamente, ao padrão histopatológico sólido, que se caracteriza por apresentar ilhotas de células tumorais com típicas paliçadas periféricas bem formadas, que as separam nitidamente do estroma adjacente (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; RUHOY *et al.*, 2001). Em contrapartida, lesões mais infiltrativas e ulceradas podem corresponder à variante esclerodermiforme (MacDONALD III & RIDENOUR, 1999).

Confirmando estes autores, no Grupo 1, a maioria das lesões era ulcerada (75%), ao passo que no Grupo 3 a maior parte dos tumores era nodular ou vegetante, e esta diferença foi significativa ($p=0,025$).

Quanto aos CECs, as lesões mais ulceradas e infiltrativas também se associam com características histopatológicas de maior agressividade (MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). Entretanto, esta combinação não foi verificada no presente estudo, pois tanto no Grupo 2 (72,3%) quanto no Grupo 4 (60%) a maior parte das lesões era ulcerada.

2.4. ESTADIAMENTO TNM

O estadiamento clínico TNM, estabelecido pela UICC (SPIESSL, 1993) é universalmente aceito e leva em conta a lesão primária (T), as metástases linfonodais (N) e hematogênicas (M), numa caracterização crescente diretamente proporcional às dimensões, à propagação e, em última análise, à gravidade do tumor. Como já foi mencionado, o tamanho da lesão primária, representado pelo T, demonstra uma relação direta com a piora da evolução clínica, tanto para o CBC (RANDLE *et al.*, 1993) quanto para o CEC (ROWE *et al.*, 1992). Ratificando, a maioria das lesões do Grupo 1 foi classificada como T4 (75%), ao contrário do Grupo 3, no qual 89,6% dos cânceres eram T1 ($p<0,001$). Analogamente, a maior parte dos tumores do Grupo 2 foi estadiada como T4 (90,91%), enquanto que 70% dos CECs do Grupo 4 eram T1 ($p<0,001$).

O surgimento de metástases linfonodais se acompanha de uma piora na

expectativa prognóstica. Segundo LEVER & SCHAUMBURG-LEVER (1983), cerca de 5% dos CECs cutâneos podem exibir esta forma de disseminação, mais comum nas lesões maiores e menos diferenciadas (DZUBOW & GROSSMAN, 1991). Já a metastatização linfática do CBC é excepcional (SNOW *et al.*, 1994). Associa-se com tumores maiores (SNOW *et al.*, 1994) e ao subtipo metatípico (LATTES & KESSLER, 1951; FARMER & HELWIG, 1980; DOMARUS & STEVENS, 1984; LANG & MAIZE, 1991; SNOW *et al.*, 1994).

Dentre os CBCs do presente estudo, apenas um caso do Grupo 1, um tumor metatípico, apresentou linfonodos clinicamente metastáticos, representando 4,17% do total de casos deste grupo. Não houve diferença estatística com os casos do Grupo 3, provavelmente devido à casuística reduzida. No entanto, este número foi muito superior ao relatado por SNOW *et al.* (1994), que oscilava entre 0,028% e 0,55%.

No Grupo 2, 36,36% dos CECs mostraram disseminação metastática linfonodal, que não foram observadas no Grupo 4. A diferença não foi estatisticamente significativa (0,090), provavelmente em virtude do reduzido tamanho da casuística, mas evidenciou uma clara tendência de mais metastatização nos tumores do primeiro grupo.

A distribuição final dos estadiamentos refletiu principalmente o parâmetro T, já que não ocorreram metástases hematogênicas nos casos analisados.

2.5. LOCALIZAÇÃO

Segundo alguns autores (LANG & MAIZE, 1991; ROWE *et al.*, 1992), os CBCs localizados na asa nasal, no couro cabeludo e na região pré-auricular poderiam se acompanhar de um índice de recidivas maior. Outros consideraram que tumores que surgiam em algumas áreas de fusão embrionária da face, tais como: sulco nasogeniano, canto interno do olho e filtro labial possuíam um comportamento mais invasivo (PANJE & CEILLEY, 1979; LANG & MAIZE, 1991). Segundo LANG & MAIZE (1991), em lesões situadas no canto interno do olho, poderia ocorrer um fenômeno que denominaram de "efeito iceberg", no qual o tumor clinicamente aparente corresponderia a uma pequena fração de uma massa muito maior que teria crescido insidiosamente ao

longo do ligamento cantal interno e do periósteo orbitário.

No Grupo 1, diversos CBCs tinham como localização as regiões têmporo-parietal (25%) e orbitária (25%); entretanto, a maior parte dos tumores acometia mais de uma região, devido às suas grandes dimensões (29,17%). Por outro lado, a maior parte dos cânceres do Grupo 3 situava-se nas regiões malar (26,09%) e nasal (26,09%). Esta diferença de distribuição entre os dois grupos foi estatisticamente significativa ($p=0,005$), confirmando os relatos mencionados e reforçando a premissa de que CBCs localizados nestas áreas de maior risco devam ser tratados de formas mais incisiva, com amplas ressecções cirúrgicas, com um seguimento muito cuidadoso.

Segundo ROWE *et al.* (1992), quando o CEC se originava no pavilhão auricular, acompanhava-se de um risco aumentado de recidiva local (18,7%) e de metástases (11%), quando comparado com outras localizações em Cabeça e Pescoço. Esta observação não foi confirmada no presente estudo. No Grupo 2, vários CECs situavam-se nas regiões têmporo-parietal (18,18%) e nasal (18,18%), sendo que, na verdade, a maior parte dos tumores envolvia mais de uma região (36,36%), devido às suas grandes dimensões. Em contraste, a maior parte das neoplasias do Grupo 4 localizava-se nas regiões da orelha (50%) e malar (30%). A diferença de distribuição entre os dois grupos foi marginalmente significativa ($p=0,056$), possivelmente em decorrência do pequeno número de casos em ambos os grupos, evidenciando, contudo, uma clara tendência de ocorrerem neoplasias mais agressivas nas regiões têmporo-parietal e nasal.

3. VARIÁVEIS CIRÚRGICAS

As principais variáveis cirúrgicas foram analisadas apenas entre os doentes dos Grupos 1 e 3. Apenas a forma de reconstrução empregada foi avaliada nos 4 grupos.

3.1. INVASÃO ORBITÁRIA E ENDOCRANIANA

Em ambos os grupos de estudo, a maior parte dos tumores invadia a órbita (75% no Grupo 1; 54% no Grupo 2), fazendo com que em um contingente significativo destas operações fosse necessária uma exenteração do

conteúdo orbitário. DIAS *et al.* (1997) tiveram que efetuar exenterações orbitárias em 81% de seus casos. Segundo VanTUYL & GUSSACK (1991), a invasão orbitária é um fator de mau prognóstico.

O aprofundamento destes tumores cutâneos muito extensos acaba por comprometer, em seqüência, os ossos craniofaciais, a dura-máter e o parênquima cerebral. A invasão óssea é um evento mais tardio, principalmente no CBC, pois há uma tendência para a progressão obedecendo a planos periosteais de menor resistência (LANG & MAIZE, 1991). Quando ela acontece, porém, a próxima barreira é a dura-máter e o encéfalo, reduzindo sobremaneira as chances de cura (LANG *et al.*, 1983; VanTUYL & GUSSACK, 1991; MEDINA DOS SANTOS *et al.*, 1994; CLAYMAN *et al.*, 1995; DIAS *et al.*, 1997).

Dentre os casos do Grupo 1, havia invasão óssea em 75%, de dura-máter em 25% e de parênquima encefálico em 8,33%. Já no Grupo 2, a totalidade dos CECs comprometia o osso subjacente, enquanto que existia invasão dural em 45,45% e extensão para o encéfalo em 18,18% dos doentes.

Assim, baseados na literatura internacional e em nossa própria experiência (MEDINA DOS SANTOS *et al.*, 1994; CERNEA *et al.*, 1997), recomendamos a indicação das abordagens oncológicas craniofaciais combinadas em situações de acometimento suspeito ou comprovado de estruturas da base do crânio por carcinomas cutâneos extensamente invasivos.

3.2. RECONSTRUÇÃO

Historicamente, as primeiras tentativas de reconstrução de defeitos craniofaciais oncológicos empregavam próteses (TERZ *et al.*, 1980). Outros autores defendiam o emprego de enxertos de pele e retalhos convencionais (LANG *et al.*, 1983; ROSEN *et al.*, 1986). No entanto, devido à extensão e à localização dos defeitos resultantes dessas extensas ablações, várias publicações demonstraram a eficácia dos retalhos microcirúrgicos para a sua reparação (JONES *et al.*, 1988; SHAH *et al.*, 1992; MEDINA DOS SANTOS *et al.*, 1994; CLAYMAN *et al.*, 1995; DIAS *et al.*, 1997). De acordo com MEDINA DOS SANTOS *et al.* (1994), a sobrevida dos doentes que necessitaram de reconstrução microcirúrgica foi significativamente

inferior àquela verificada nos casos passíveis de fechamento primário ($p=0,0039$), obviamente refletindo a presença de uma lesão muito mais invasiva entre os primeiros.

No Grupo 1, a maioria dos defeitos operatórios foi reconstruída com retalhos de vizinhança (54,17%), mas quase um terço (29,17%) precisou de um retalho microcirúrgico. Por outro lado, 56,22% das feridas no Grupo 3 foi passível de fechamento primário, e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p<0,001$). Evidentemente, a diferença de magnitude dos atos operatórios dos dois grupos ficou aqui explicitada.

A quase totalidade dos defeitos cirúrgicos no Grupo 2 foi reparada com o emprego de retalhos de vizinhança (45,45%) ou microcirúrgicos (45,45%). Em contrapartida, diversos defeitos dos casos do Grupo 4 foram fechados primariamente (30%) ou por segunda intenção (20%), enquanto que foram usados enxertos em 20% e retalhos de vizinhança em 30% dos doentes. Esta diferença, pelas mesmas razões mencionadas no parágrafo anterior, também foi significativa ($p=0,006$).

4. SEGUIMENTO E EVOLUÇÃO

O tempo de seguimento dos pacientes do Grupo 1 teve uma mediana de 28,5 meses. Neste período, 66,67% dos doentes se encontravam vivos, sem sinais de recidivas. O tempo de seguimento mediano do Grupo 3 foi de 36 meses, não diferindo estatisticamente do primeiro grupo. Como já foi mencionado, a ausência comprovada de recidiva nestes doentes neste período tornava bastante precisa a caracterização dos tumores deste grupo como de evolução favorável, pela possibilidade muito remota de aparecimento da recorrência tumoral após 24 meses (MENN *et al.*, 1971).

No Grupo 2, o tempo mediano de seguimento foi de 14 meses, provavelmente em decorrência de uma pior evolução dos doentes deste grupo, pois apenas 45,45% deles se encontravam vivos, sem sinais de recidivas. No Grupo 4, o tempo mediano de seguimento foi de 32,5 meses. Como foi comentado no parágrafo anterior, comprovar-se-ia assim a natureza menos agressiva dos CECs deste grupo.

5. VARIÁVEIS HISTOPATOLÓGICAS

5.1. CBC

O CBC invade a derme de formas variadas (RUHOY *et al.*, 2001). Algumas atipias nucleares são muito freqüentes, mas não se traduzem por um caráter mais invasivo. Contudo, o arranjo celular em paliçada na periferia dos blocos neoplásicos é característica deste carcinoma, e a sua perda pode sugerir maior invasividade tumoral (FREEMAN, 1976; SOTTO, 1999). Analogamente, o perfil da invasão tumoral também pode se traduzir por maior propensão ao comprometimento dos tecidos adjacentes (SOTTO, 1999).

Assim, a série de parâmetros enumerados pela Sociedade Brasileira de Patologia serviu como base para a análise dos fatores histopatológicos nos grupos deste estudo (SOTTO, 1999).

5.1.1. Variedade histopatológica

Há diferentes subtipos histopatológicos de CBC. Alguns são considerados pouco invasivos, como o nodular (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; RUHOY *et al.*, 2001) e o adenóide (SOTTO, 1999; RUHOY *et al.*, 2001). Outros, entretanto, como o esclerodermiforme (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; LANG & MAIZE, 1991; RANDLE *et al.*, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999) e o metatípico (BOREL, 1973; FARMER & HELWIG, 1980; BUZELL, 1993; RENNER *et al.*, 1999) têm um comportamento muito agressivo.

Confirmando esta diferente agressividade dos subtipos, no Grupo 1, as variedades mais comuns foram o CBC esclerodermiforme (45,83%) e o metatípico (25,00%), enquanto que no Grupo 3 foram mais encontrados o sólido (60,87%) e o adenóide (13,04%). A diferença foi significativa ($p=0,004$). Convém ressaltar que, mormente em lesões mais volumosas, foi comum o achado de dois subtipos, sendo considerado para efeito de classificação aquele que predominava. Freqüentemente, a porção das lesões mais invasivas em osso ou em dura-máter foi aquela considerada histopatologicamente mais agressiva. Dessa forma, ficou caracterizada a grande heterogeneidade histopatológica destes tumores, reforçando a necessidade de uma

análise abrangente da peça operatória, para a sua classificação mais precisa.

5.1.2. Padrão de crescimento

A maioria dos CBCs do Grupo 1 mostrou um padrão de crescimento infiltrativo (82,3%), ao contrário do Grupo 3, no qual foi mais comum o padrão expansivo (39,13%). Esta diferença foi significativa ($p=0,002$), confirmando a maior gravidade do primeiro padrão, que é mais encontrado na variante esclerodermiforme (SOTTO, 1999).

5.1.3. Perfil dos blocos celulares

Este foi um achado superposto ao anterior, já que a maioria das lesões do Grupo 1 (75%) tinha blocos celulares com perfil espiculado, contrariamente às do Grupo 3, em que foi mais comum o perfil arredondado (56,52%). Esta diferença também foi significativa ($p=0,028$), numa analogia com o padrão de crescimento (SOTTO, 1999).

5.1.4. Aspecto da paliçada periférica dos blocos celulares, pleomorfismo nuclear e natureza do estroma tumoral

Nenhum destes três parâmetros histopatológicos de agressividade mostrou-se diferente estatisticamente entre os CBCs dos Grupos 1 e 3. Estes achados, principalmente o primeiro, divergiram de algumas publicações anteriores (FREEMAN, 1976; SOTTO, 1999). No entanto, LEVER & SCHAUMBURG-LEVER (1983) já haviam alertado para a falta de significado prognóstico das atipias nucleares dos CBCs.

5.1.5. Profundidade de invasão

Alguns autores procuraram demonstrar uma importância oncológica para a profundidade de invasão tumoral nos carcinomas cutâneos, tentando estabelecer um paralelo com os melanomas malignos (ROWE *et al.*, 1992; BUZELL, 1993).

Esta relação, porém, não foi demonstrada ainda para o CBC (ROWE *et al.*, 1992).

A maioria das neoplasias do Grupo 1 estendia-se até o plano ósseo ou cartilaginoso (79,17%), ao contrário das lesões do Grupo 3, geralmente restritas à derme (91,30%), sendo esta diferença significativa. Entretanto, é aconselhável cautela na interpretação desta diferença estatística, visto que a própria invasão muito mais profunda dos tumores do Grupo 1 foi o motivo real da indicação de uma abordagem craniofacial, que, evidentemente, não se fazia necessária no Grupo 3.

5.1.6. Invasão perineural

Esta é uma forma de disseminação muito insidiosa, que reduz a eficácia da terapêutica cirúrgica e piora muitíssimo o prognóstico (LEVER & SCHAMUBURG-LEVER, 1983; LANG & MAIZE, 1991; ROWE *et al.*, 1992; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). O controle histopatológico das margens operatórias é muito dificultado, pois esta forma de propagação geralmente só é evidenciada nos cortes parafinados (RANDLE *et al.*, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). De fato, NIAZI & LAMBERTI (1993) encontraram seis casos de CBCs com invasão perineural, que representavam apenas 0,18% da série completa. Todos eram tumores recidivados; quatro sofreram ressecções ampliadas do osso temporal; destes últimos, metade evoluiu para o óbito, por causa do tumor.

A invasão perineural, avaliada pela histopatologia convencional com coloração pelo HE, foi constatada na maioria dos CBCs do Grupo 1 (58,33%), e em apenas um caso (4,35%) do Grupo 3. Esta diferença foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$), sugerindo um perfil de fato mais invasivo para as lesões do grupo de estudo. É interessante mencionar as prevalências sensivelmente mais elevadas em *ambos* os grupos, quando comparadas com os 0,18% notados na extensa série de NIAZI & LAMBERTI (1993). Talvez a procura prospectiva, sistemática e dirigida efetuada neste estudo tenha contribuído para esta discrepância, e possa servir de alerta para estimular uma investigação mais minuciosa deste importante fator histopatológico.

As razões para este neurotropismo são desconhecidas. Até o comprometi-

mento de vasos linfáticos perineurais já foi aventado, mas nunca comprovado (NIAZI & LAMBERTI, 1993). Apesar de ser classicamente descrito em outros tumores epiteliais em Cabeça e Pescoço, como nos carcinomas adenocísticos salivares, a sua prevalência nos carcinomas cutâneos ainda é muito pouco estudada. É possível, contudo, que esta seja a razão da recorrência, sem causa aparente, de alguns tumores supostamente de bom prognóstico, que foram ressecados com margens livres (MENN *et al.*, 1971).

Como será discutido mais adiante, a detecção da invasão perineural pode ser facilitada pela demonstração imunohistoquímica dos filetes nervosos.

5.1.7. Margens de ressecção

As biópsias de congelação foram avaliadas apenas nos CBCs do Grupo 1, e foram obtidas margens livres em 70,83% dos doentes, proporção esta confirmada posteriormente nos cortes parafinados. Esta proporção diferiu estatisticamente do Grupo 3, no qual a totalidade dos tumores foi retirado com margens livres ($p=0,009$), atestando mais uma vez as diferenças de profundidade e de extensão dos tumores dos dois grupos.

Segundo alguns autores, as margens cirúrgicas finais comprometidas representaram uma influência muito negativa no prognóstico (CLAYMAN *et al.*, 1995). Para outros, no entanto, não foi possível a demonstração conclusiva desta associação (MEDINA DOS SANTOS *et al.*, 1994). Além disso, a obtenção de margens cirúrgicas livres é, por vezes, impossível nas neoplasias com grande invasão da base do crânio, por várias razões. Muitas vezes, havendo comprometimento da dura-máter, o câncer se espalha ao longo desta membrana, atingindo regiões anatômicas em que a sua ressecção segura (e posterior reconstrução hermética) se inviabiliza (CERNEA *et al.*, 1997). Outro aspecto importante é a diferença entre o conceito de margens cirúrgicas na face e no encéfalo. Embora seja aconselhável a confecção de margens tão generosas quanto possíveis nos tecidos faciais, é praticamente inadmissível para o neurocirurgião incluir a retirada de grandes porções de parênquima encefálico normal como margens de segurança, devido às desastrosas conseqüências que esta perda cerebral poderia acarretar.

5.2. CEC

Segundo RUHOY *et al.* (2001), o CEC exhibe algumas características histopatológicas, que podem variar em intensidade: atipia celular, hipercromatismo nuclear, figuras mitóticas atípicas, diminuição ou ausência de pontes intercelulares, queratinização e acantólise. Ao contrário do CBC, as atipias celulares geralmente traduzem maior invasividade da lesão (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983).

Uma vez mais, os parâmetros recomendados pela Sociedade Brasileira de Patologia serviram como base para a análise dos fatores histopatológicos dos CECs dos Grupos 2 e 4 (SOTTO, 1999).

5.2.1. Graduação histológica

BRODERS (1921) descreveu uma classificação dos CECs, estribada nos seu grau de diferenciação, estabelecendo uma relação inversa entre este grau (representado pela proporção de células tumorais bem diferenciadas) e a queratinização. Estudando uma população de doentes com CECs de lábio, ele observou uma evolução mais desfavorável nas lesões menos diferenciadas. JOHNSON *et al.* (1992) corroboraram estes achados, em CECs cutâneos.

Estes dados não foram confirmados no presente estudo. A maioria dos tumores de ambos os grupos foi classificada como Grau II, sendo que no Grupo 4 também foram encontrados diversos tumores Graus I e III. Não ocorreram cânceres Grau IV nesta casuística. Isto reforçaria a impressão clínica de que a diferenciação histológica não refletiria, necessariamente, o potencial de agressividade de um CEC em particular.

5.2.2. Profundidade de invasão

A profundidade de invasão tumoral do CEC tem sido valorizada, numa tentativa de criar uma analogia com o melanoma maligno (BUZELL, 1993). De fato, ROWE *et al.* (1992) notaram índices de recidiva e de metastatização significativamente maiores em lesões mais espessas e profundas. Neste mes-

mo ano, JOHNSON *et al.* (1992) identificaram a profundidade de invasão abaixo da derme reticular como um fator de pior prognóstico.

Todos os carcinomas do Grupo 2 comprometiam o plano cartilaginoso ou ósseo, ao contrário do Grupo 4, no qual a maior parte atingia apenas a derme, com uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$). Analogamente ao que foi discutido no item 5.1.5, esta diferença deve ser interpretada com cautela, pela enorme desigualdade entre as duas populações. Não obstante, ficou comprovada a influência extremamente negativa do acometimento orbitário e/ou endocranial, constatado em todos os tumores do Grupo 2, confirmando as impressões citadas na literatura.

É importante salientar que apenas a invasão óssea não se constitui numa contra-indicação para o tratamento cirúrgico combinado destes tumores cutâneos (CERNEA *et al.*, 1997). Entretanto, uma vez vencida a barreira óssea, é granjeado o acesso ao interior da cavidade craniana e às potenciais propagações meníngea e encefálica que, dependendo da extensão, podem inviabilizar qualquer tentativa terapêutica nestes enfermos (CERNEA *et al.*, 1997).

5.2.3. Invasão perineural

Como já foi discutido, a disseminação perineural pode piorar sobremaneira a expectativa prognóstica dos carcinomas cutâneos (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; LANG & MAIZE, 1991; ROWE *et al.*, 1992; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999). Na casuística de ROWE *et al.* (1992), o encontro de invasão perineural em CECs acompanhou-se de índices de recidiva local e de metastatização de 47,2% e 47,3%, respectivamente.

De fato, constatou-se esta invasão em 45,45% dos carcinomas do Grupo 2, mas ela não foi notada entre os doentes do Grupo 4, e esta diferença foi significativa ($p = 0,035$). Ficou, assim, evidenciado o perfil mais agressivo dos tumores do grupo de estudo, confirmando os poucos estudos disponíveis. Na prática clínica, a disseminação perineural, que é muito comum nos carcinomas adenocísticos salivares, é responsável pelo aparecimento da enfermidade tumoral a distâncias, por vezes, surpreendentes. Já tivemos oportunidade de observar comprometimento intracraniano de tumores adenocísticos de glân-

dulas salivares maiores e de CECs de lábio, por disseminação perineural retrógrada em divisões do V nervo craniano.

A análise imunohistoquímica da invasão perineural com a pesquisa da proteína S-100 será discutida mais adiante.

5.2.4. Desmoplasia

A desmoplasia é uma proliferação fibrosa, com deposição de colágeno e hialinização, sugestiva de fibrogênese. Ela ocorreu na maior parte dos CECs do Grupo 2 (90,91%), ao contrário do Grupo 4, no qual foi positiva em apenas 20% das lesões. Esta diferença foi significativa ($p=0,002$). Este achado foi de encontro ao que foi estabelecido com a publicação das normas da Sociedade Brasileira de Patologia (SOTTO, 1999). A presença de desmoplasia associada a um pior comportamento biológico poderia se equivar à grande agressividade constatada nos chamados carcinomas esquirrosos em outras localizações anatômicas, como no estômago e na mama (SOTTO, 1999).

5.2.5. Infiltrado inflamatório peritumoral

No CEC, a presença de um exuberante infiltrado inflamatório peritumoral, localizado na derme, geralmente acompanha-se de uma expectativa prognóstica favorável, pois é indicativa de uma reação imunológica mais efetiva por parte do doente ao seu flagelo neoplásico (RUHOY *et al.*, 2001). De fato, o encontro de um infiltrado peritumoral leve é associado com um pior prognóstico, neste tipo histológico (SOTTO, 1999).

No Grupo 2, a maioria dos CECs era envolvida por um infiltrado inflamatório moderado (63,64%). Pelo contrário, no Grupo 4, este infiltrado foi considerado intenso na maior parte dos tumores (70%), e esta diferença foi significativa ($p=0,050$). Assim, houve uma confirmação dos estudos já existentes, reiterando a importância da intensidade da resposta imunológica do paciente, traduzida pela exuberância do infiltrado inflamatório. Os mecanismos envolvidos nesta inibição da resposta inflamatória ainda são obscuros, provavelmente relacionados com fenômenos moleculares de estímulo e inibição parácrinos (RUHOY *et al.*, 2001). Além disso,

diversos autores observaram um aumento na agressividade de CECs em doentes com uma resposta imunológica comprometida como, por exemplo, transplantados renais (HAYDON III, 1993; MacDONALD III & RIDENOUR, 1999).

5.2.6. Margens de ressecção

No Grupo 2, obtiveram-se margens de ressecção livre na maioria dos doentes, tanto na análise por biópsias de congelação quanto nos cortes parafinados (90,91%), sem diferença estatística dos casos do Grupo 4, todos retirados com margens definitivas livres.

Esta observação não confirmou o valor prognóstico positivo das margens livres, e foi bastante diversa da constatação de um número significativamente maior de margens positivas entre os CBCs desta série.

6. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS

Por vezes, dois tumores com características clínicas, histopatológicas e até mesmo estadiamentos absolutamente indistinguíveis apresentam comportamentos biológicos diametralmente opostos. Este fenómeno, comumente observado na prática diária em Cirurgia de Cabeça e Pescoço, certamente não invalida os métodos de estadiamento disponíveis atualmente, apesar de evidenciar as suas limitações. Entretanto, uma óbvia questão deve ser formulada: por que isto acontece? A resposta, ainda não totalmente estabelecida, provavelmente se situa em nível molecular. Com o advento das técnicas de sequenciamento genético, associadas ao aperfeiçoamento dos métodos imunohistoquímicos, um número crescente de publicações têm surgido na literatura internacional buscando elucidar estes intrincados mecanismos biológicos relacionados à gênese tumoral.

Durante a replicação do material genético, essencial para o processo de divisão celular, o DNA pode sofrer mutações genômicas, cromossômicas e gênicas (CAMARGO *et al.*, 1999). Na verdade, estas mutações podem até mesmo preceder o início da divisão celular (CAMARGO *et al.*, 1999). As principais alterações são deleções, inserções e translocações (SAMARA *et al.*, 1992; CAMARGO *et al.*, 1999). Funcionalmente, estas mutações podem ser silenciosas. Em muitas ocasi-

ões, contudo, podem gerar moléculas truncadas, incapazes de desempenhar as suas funções biológicas protetoras ou, o que é pior, criar peptídeos anômalos, responsáveis por ações deletérias para a integridade celular (SAMARA *et al.*, 1992; CAMARGO *et al.*, 1999).

Geralmente, a carcinogênese não é causada por uma única mutação em um tipo isolado de gene, mas ocorre a partir de uma cadeia delas (FIELD, 1992; GOLLIN, 2001). Destarte, a ação de oncogenes se soma (ou se multiplica) à inibição de genes supressores. A perda do controle do ciclo celular pode acarretar uma proliferação desenfreada, que pode, então, levar à invasão da membrana basal, estimulação angiogênica e propagação do câncer por vias linfática, hematogênica e perineural (SAMARA *et al.*, 1992; PETRUZZELLI, 1996; SOLIMENE *et al.*, 1999; LOPES *et al.*, 1999).

Assim, foram avaliados, por imunohistoquímica, alguns fatores biológicos relacionados a algumas das possíveis etapas da carcinogênese e da disseminação tumoral. Na pesquisa da literatura correspondente, constatou-se uma surpreendente escassez de publicações específicas sobre a análise, isolada ou conjunta, destes fatores biológicos nos carcinomas cutâneos agressivos em Cabeça e Pescoço. Por esta razão, foram incluídas algumas séries contendo CECs do TADA, que são os cânceres mais comumente encontrados na prática diária do Cirurgião de Cabeça e Pescoço. Alguns mecanismos etiopatogênicos destes tumores são, sem dúvida, diferentes dos CECs cutâneos. Ainda assim, eles são CECs, localizam-se no território cérvico-crânio-facial e possuem vários pontos em comum com os seus correspondentes cutâneos, como origem celular e disseminações por contigüidade, locorregional e perineural. Assim, estes estudos foram utilizados como um referencial mais farto, apesar de ainda repleto de controvérsias.

6.1. CBC

6.1.1. c-erbB-2

O c-erbB-2 é um oncogene localizado no braço curto do cromossomo 17 (LEE, 1992; BECKHARDT *et al.*, 1995). Ele codifica uma glicoproteína de 185 kdaltons (WEINSTEIN *et al.*, 1996), que promove a ativação do receptor para

o fator de crescimento (WEINSTEIN *et al.*, 1996; LOPES *et al.*, 1999). Desencadeia-se, então, um aumento não apenas no ritmo de crescimento celular, que passa a ser desenfreado, como também no potencial metastático da célula tumoral (BECKHARDT *et al.*, 1995).

Em CBCs, LIU *et al.* (1996) encontraram 59% de expressão aumentada em 43 doentes, números muito semelhantes aos 50% notados por AHMED *et al.* (1997), analisando 10 casos. Nenhum deles, porém, mencionou relação com subtipo histológico ou agressividade neoplásica.

No presente estudo, a superexpressão do c-erbB-2 ocorreu em 70,83% dos CBCs do Grupo 1 e em 73,91% dos tumores do Grupo 3, diferença esta não significativa. Estes valores foram superiores àqueles relatados na literatura, sugerindo um papel importante deste oncogene na geração dos CBCs em nosso meio. Entretanto, o estímulo proliferativo participa provavelmente das etapas iniciais desta carcinogênese, pois esta superexpressão foi notada tanto nas lesões iniciais e menos agressivas do Grupo 3 quanto naquelas que invadiam a base do crânio do Grupo 1. Um outro achado deste estudo reforçou esta hipótese: a falta de diferença estatística entre a superexpressão do c-erbB-2 observada nas diferentes variantes histopatológicas de CBC.

Assim, poder-se-ia inferir que a pesquisa imunohistoquímica do produto deste oncogene careceria de valor prognóstico no CBC, pois ela seria positiva na maioria das lesões, tanto iniciais quanto avançadas ou com agressividade exacerbada. Isto, no entanto, não invalidaria possíveis investigações científicas posteriores, visando combater a ativação do receptor para o fator de crescimento que este oncogene causa (WEINSTEIN *et al.*, 1996; LOPES *et al.*, 1999), exatamente pela alta prevalência de sua hiperexpressão nos casos desta série.

6.1.2. TP53

Na década de 1970, dois grupos de pesquisadores (LANE & CRAWFORD, 1979; LINZER & LEVINE, 1979) demonstraram o potencial carcinogênico do gene, que foi então denominado de p53, devido ao seu produto protéico, uma proteína de peso molecular 53 kdaltons (LEVINE *et al.*, 1991; LEVINE, 1994).

O TP53 situa-se no braço curto do cromossomo humano 17, na posição

17p13.1 (OZBUN & BUTEL, 1997). Ele inclui de 16 a 20 kb de DNA (CHARURUKS & VORAVUD, 1996), compreendendo 11 exons (QUON *et al.*, 2001). Sua principal função é promover a formação de uma fosfoproteína nuclear de 393 aminoácidos, com peso molecular de 53 kdaltons (CHEN *et al.*, 1990; LEVINE *et al.*, 1991; HARRIS, 1993; CARSON & LOIS, 1995; CHARURUKS & VORAVUD, 1996; OZBUN & BUTEL, 1997).

A elevação fisiológica de p53 ocorre após o aparecimento de mutações no DNA celular (CARSON & LOIS, 1995), inibindo o processo de divisão (ARROWSMITH & MORIN, 1996; OZBUN & BUTEL, 1997). A síntese celular é retardada, até que o DNA alterado seja reparado (GROSSMAN & WEI, 1995; SHAW, 1996); se, por outro lado, a alteração for irreversível, o ciclo é interrompido e a apoptose celular é induzida, (LEVINE *et al.*, 1991; SHAW, 1996; OZBUN & BUTEL, 1997; OLIVEIRA, 1998). Esta elevação também ocorre quando a célula atinge a sua senescência (LEVINE *et al.*, 1991), participando da "morte celular programada e natural" (OZBUN & BUTEL, 1997).

Portanto, o TP53 nativo foi considerado por muitos como o verdadeiro "guardião do genoma" humano (MARSHALL, 1991; LEVINE *et al.*, 1991; HARRIS, 1993; CARSON & LOIS, 1995; CHARURUKS & VORAVUD, 1996; OZBUN & BUTEL, 1997; LEVINE, 1997); outros o denominaram "policial molecular" (CHANG *et al.*, 1993).

As mutações do TP53 são as mais comuns dentre todas envolvidas com a carcinogênese humana (SAMARA *et al.*, 1992; HARRIS, 1993; LEVINE, 1994). Elas podem ser congênitas (LI *et al.*, 1988; CHANG *et al.*, 1993) ou adquiridas (HINDS *et al.*, 1989; NIGRO *et al.*, 1989; CHEN *et al.*, 1990; SOMERS *et al.*, 1992; ULLRICH *et al.*, 1992; HARRIS & HOLLSTEIN, 1993; CHANG *et al.*, 1993; BOYLE *et al.*, 1993; YIN *et al.*, 1993; LEVINE, 1997).

A meia vida celular da p53 mutante por "missense" é de 3 a 7 horas (OLIVEIRA, 1998), podendo ser detectável por métodos imunohistoquímicos (MONTENARH, 1992; ORAM *et al.*, 1994; BARBARESCHI *et al.*, 1992; PORTER *et al.*, 1992; DEITOS *et al.*, 1993), ao contrário da p53 nativa (OLIVEIRA, 1998). Entretanto, outros tipos de mutação do TP53, ou mesmo uma super-expressão de seu antagonista mdm-2 poderiam dificultar a detecção imunohistoquímica da p53 alterada (MATSUMURA *et al.*, 1996; PAVELIC & GLUCKMAN, 1997;

MINETA *et al.* (1998); LOGULLO *et al.*, 2000; QUON *et al.*, 2001). Dessa forma, alguns autores, que não constataram correlação entre prognóstico e sua hiperexpressão poderiam, na realidade, estar avaliando outras mutações que não necessariamente seriam detectáveis por métodos imunohistoquímicos.

O principal agente carcinogênico exógeno relacionado com os CECs do TADA é o tabaco (FIELD *et al.*, 1991; SAKAI & TSUCHIDA, 1992; FIELD *et al.*, 1993; BRENNAN *et al.*, 1995; IBRAHIM *et al.*, 1999). Já nos tumores cutâneos, o principal fator exógeno envolvido é a radiação ultravioleta (BRASH *et al.*, 1991; MCGREGOR *et al.*, 1992; CAMPBELL *et al.*, 1993; MOLÈS *et al.*, 1993; NAKAZAWA *et al.*, 1994; ORAM *et al.*, 1994). De fato, nos CBCs, alguns autores observaram alterações focais de expressão aumentada de p53 em queratinócitos de pele normal exposta ao sol (BOONCHAI *et al.*, 2000) e adjacente a CBCs (SHEA *et al.*, 1992; URANO *et al.*, 1995; OUHTIT *et al.*, 1998; OLIVEIRA, 1998). Estes achados, somados aos de ABDELSAYED *et al.* (2000), poderiam sugerir a atuação da p53 mutante ainda nas fases mais iniciais do processo carcinogênico do CBC.

Curiosamente, o primeiro estudo encontrado na literatura sobre p53 em CBCs não conseguiu demonstrar a sua presença em nenhum caso (GUSTERSON *et al.*, 1991). Entretanto, a expressão aumentada da p53 foi posteriormente relatada por diversos autores: BARBARESCHI *et al.* (1992): 48%; RADY *et al.* (1992): 50%; SHEA *et al.* (1992): 83%; RO *et al.* (1993): 42%; ZIEGLER *et al.* (1993): 92%; Van der RIET (1994): 44%; UNDEN *et al.* (1997): 56%.

No presente estudo, a hiperexpressão da p53 foi detectada em 70,83% dos CBCs do Grupo 1, situando-se no intervalo que compreendeu os índices acima mencionados. Em contraste, ela ocorreu em somente 43,48% dos carcinomas do Grupo 3. Apesar desta diferença ter sido considerada marginalmente significativa ($p=0,058$), quiçá em decorrência do número limitado de casos, ela foi bastante sugestiva de uma forte tendência para o aumento desta expressão entre os tumores mais agressivos em relação aos de evolução "normal". Não obstante outros estudos não haverem confirmado esta relação entre o comportamento biológico dos CBCs e a expressão da p53 (HEALY *et al.*, 1995; OLIVEIRA, 1998), ela também foi observada por outros pesquisadores, como DeROSA *et al.* (1993), que chegaram a considerá-la uma importante arma na avaliação prognóstica

inicial destes carcinomas. Estes achados sugeririam uma atuação mais tardia da p53 mutante no processo carcinogênico dos CBCs, discordando de outros autores supracitados (SHEA *et al.*, 1992; URANO *et al.*, 1995; OUHTIT *et al.*, 1998; OLIVEIRA, 1998; BOONCHAI *et al.*, 2000; ABDELSAYED *et al.*, 2000).

Algumas pesquisas demonstraram índices maiores de hiperexpressão da p53 nos subtipos considerados mais agressivos de CBC (BARRETT *et al.*, 1997; BOONCHAI *et al.*, 2000). No presente estudo, esta tendência também ficou esboçada, sem, contudo, atingir significância estatística. Fica, porém, a sugestão de um tratamento mais incisivo, seguido de um acompanhamento mais rigoroso, nos tumores com uma configuração anátomo-clínica desfavorável associada à hiperexpressão da p53.

A alta prevalência da hiperexpressão da p53 entre os casos deste estudo, mormente os do Grupo 1, permite ensejar algumas considerações diagnósticas e terapêuticas. Este foi um estudo retrospectivo, razão pela qual a metodologia escolhida foi a análise imunohistoquímica efetuada em material obtido do bloco parafinado. Assim, apenas o produto final da mutação do TP53, ou seja, a proteína p53 alterada, foi detectada. Talvez, porém, esta positividade pudesse ser ainda maior, e o tipo de mutação definido de forma mais específica, se fossem empregados métodos moleculares de seqüenciamento, que necessitam de material não incluído, necessariamente obtido em estudos prospectivos (KONISHI *et al.*, 1994; Van der RIET, 1994; D'ERRICO *et al.*, 1997). Além disso, outras eventuais alterações cromossômicas concomitantes poderiam ser detectadas (Van der RIET, 1994; D'ERRICO *et al.*, 1997). As implicações terapêuticas também são instigantes, como será comentado mais à frente.

6.1.3. Ki-67

A atuação da proteína Ki-67 ocorre durante as fases consideradas "ativas" do ciclo celular (KANITAKIS *et al.*, 1997). Aparentemente, sua expressão é necessária para que a proliferação celular ocorra (HEALEY *et al.*, 1995), possivelmente estabilizando o DNA durante o processo de mitose (SMITH *et al.*, 1995).

A detecção imunohistoquímica do Ki-67 proporcionaria uma quantificação do potencial de proliferação da célula tumoral (BACCHI & GOWN, 1993;

GONZALEZ-MOLES *et al.*, 1996).

No Grupo 1, observou-se uma expressão intensa do antígeno Ki-67 em 37,50% dos CBCs, porcentagem semelhante aos 32,9% encontrados por BAUM *et al.* (1993), mas inferior ao índice de 51% de expressão intensa constatado por ABDELSAYED *et al.* (2000).

O valor do Grupo 1 foi bastante superior aos 13,04% de expressão intensa do Ki-67 constatado no Grupo 3, mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Analogamente, (HORLOCK *et al.*, 1998), usando como parâmetro a expressão de Ki-67, cotejaram 81 doentes portadores de CBCs considerados não agressivos com uma outra população de 22 CBCs "horripilantes", não encontrando diferença significativamente estatística. Entretanto, apesar de não significativa em nosso estudo, esta tendência já havia sido relatada por HEALY *et al.* (1995). Eles encontraram expressão intensa em 12% de 17 CBCs que não apresentaram recidivas (número muito semelhante ao do Grupo 3 deste estudo), proporção estatisticamente inferior aos 25% de expressão intensa dentre os 17 tumores que recidivaram. Talvez esta falta de significância estatística em algumas séries (incluindo este estudo) poderia sugerir que a expressão aumentada de Ki-67 deveria ser encarada mais como um indício de um "estado de proliferação", do que como um indicador do "ritmo de proliferação" (HEALY *et al.*, 1995).

Quanto à variante histopatológica de CBC, alguns autores acharam maior prevalência de expressão intensa do antígeno Ki-67 nos subtipos mais agressivos, mormente no esclerodermiforme (BARRETT *et al.*, 1997; HORLOCK *et al.*, 1997; HORLOCK *et al.*, 1998). Neste estudo, embora não se tenha atingido um grau de significância estatística, houve uma frequência maior de expressão intensa nos tipos esclerodermiforme e metatípico (38,46% e 37,50%), respectivamente, indicando um possível "estado de proliferação" mais acentuado.

Evidentemente, seria desejável que, como no estudo de HEALY *et al.* (1995), fosse possível uma avaliação desta proliferação celular prospectiva nestes CBCs com invasão da base do crânio, com o intuito de se caracterizar, *a priori*, as lesões que posteriormente se mostrariam mais agressivas. Infelizmente, porém, o acesso aos dados histopatológicos referentes às lesões iniciais dos carcinomas do Grupo 1 (e também do Grupo 2) foi possível somente num pequeno contingente de casos, apresentados apenas de forma descritti-

va, devido ao seu número reduzido, por motivos alheios à nossa vontade.

6.1.4. Colágeno tipo IV

A etapa seguinte da disseminação tumoral envolve a ruptura e invasão da membrana basal (LIOTTA *et al.*, 1980; MARTINEZ-HERNANDEZ & AMENTA, 1983). Sua função é separar as células dos tecidos vizinhos (HIROTA *et al.*, 1990). Nos epitélios normais, ela é contínua (KUMAGAI *et al.*, 1994). O colágeno tipo IV tem sido considerado uma de suas proteínas mais importantes, principalmente nos processos de invasão tumoral e de metastatização (NICOLSON & POSTE, 1983; BARSKY *et al.*, 1983; LIOTTA, 1986; NAKAJIMA *et al.*, 1987). Imunohistoquimicamente, sua degradação pode ser demonstrada pela deposição descontínua de corante, evidenciando assim uma solução de continuidade da membrana basal, mais comum em tumores mais indiferenciados e agressivos (STËNBACK *et al.*, 1985; HAVENITH *et al.*, 1988).

No Grupo 1, observou-se uma ruptura da membrana basal pelas células neoplásicas em 33,33% dos CBCs. Este achado foi confirmado por DUMAS *et al.* (1999), que também constataram maior frequência de descontinuidade da membrana basal nos CBCs esclerodermiformes, de comportamento mais agressivo.

Um achado notadamente interessante foi a ausência de membrana basal na interface entre o CBC e o estroma adjacente em 45,85% dos casos deste grupo. Não foi encontrada qualquer referência na literatura sobre este achado em CBCs. Alguns autores, contudo, sugeriram que esta ausência poderia ser fruto de uma verdadeira digestão desta membrana por collagenases (LIOTTA, 1986), e seria fortemente indicativa de uma acentuada capacidade invasiva tumoral (HAVENITH *et al.*, 1988). De fato, SAKR *et al.* (1987) encontraram ausência da membrana basal nas áreas mais indiferenciadas e invasivas de CECs do TADA.

Dentre os CBCs do Grupo 3, a grande maioria (73,91%) exibia uma membrana basal íntegra ao redor dos blocos tumorais, confirmando os achados de RASMUSSEN *et al.* (1991) e de DUMAS *et al.* (1999). Em apenas 17,39% dos carcinomas deste grupo a membrana basal não foi demonstrada pela imunohistoquímica. A diferença entre os achados dos Grupos 1 e 3 foi estatisticamente significativa ($p < 0,001$), ressaltando um possível valor prognóstico para o achado da descontinuidade ou

ausência da membrana basal, mesmo em lesões iniciais.

Quanto à variante histopatológica do CBC, também houve uma correlação estatística entre uma ocorrência maior de ruptura e ausência da membrana basal nos subtipos esclerodermiforme e metatípico, ratificando uma vez mais os achados de DUMAS *et al.* (1999) e reforçando o possível valor prognóstico destes achados imunohistoquímicos.

6.1.5. CD34

A angiogênese consiste na criação de novos vasos a partir de outras estruturas vasculares preexistentes (PETRUZZELLI, 1996; SOLIMENE *et al.*, 1999). Quando patológica, é indefinida e descontrolada (PETRUZZELLI, 1996; FOLKMAN, 1996).

Os pioneiros do estudo da angiogênese foram FOLKMAN *et al.* (1971), embora a busca por um "fator angiogênico tumoral" tivesse principiado em 1968 (PETRUZZELLI, 1996). A angiogênese induzida por um tumor envolveria diversas etapas, relacionadas com diversos fatores (BUSSOLINO *et al.*, 1996; MOUSA, 1996; PETRUZZELLI, 1996; McNAMARA *et al.*, 1998; SOLIMENE *et al.*, 1999).

A medida da quantidade de vasos neoformados, através da análise imunohistoquímica do CD34, é considerada um dos parâmetros mais fiéis da intensidade do processo angiogênico (VERMEULEN *et al.*, 1996). Esta intensidade, por sua vez, guardaria estreita relação com o comportamento biológico de diversos cânceres humanos (PETRUZZELLI, 1996; TOI *et al.*, 1996; GASPARINI, 1996; ELLIS & FIDDLER, 1996; FOLKMAN, 1996; GRIFFIOEN *et al.*, 1998; McNAMARA *et al.*, 1998).

O CBC exibe um padrão de angiogênese mais intenso do que a pele normal adjacente (BEDLOW *et al.*; 1999).

Em 1975, WOLF & HUBLER investigaram um "fator tumoral angiogênico" em tumores cutâneos, incluindo CBCs, que, afinal, não conseguiram identificar.

BASARAB *et al.* (1998) avaliaram a expressão de CD34 em 15 doentes com CBC, encontrando angiogênese intensa em 7% dos tumores.

No Grupo 1, um quarto dos CBCs apresentavam angiogênese intensa, um índice bastante superior ao referido no parágrafo anterior. Já no Grupo 3, ape-

nas 4,35% dos tumores tinham uma angiogênese intensa. A diferença entre os padrões de distribuição dos dois grupos foi considerada marginalmente significativa ($p=0,058$), mas refletiu uma tendência clara, já aventada por STAIBANO *et al.* (1996), que também haviam observado uma prevalência maior de angiogênese intensa em CBCs histologicamente mais agressivos. Segundo estes autores, uma possível deficiência da análise imunohistoquímica do processo de angiogênese seria a dificuldade para se diferenciarem vasos já existentes em neoplasias muito irrigadas daqueles verdadeiramente neoformados, frutos de um autêntico estímulo tumoral. Entretanto, eles avaliaram a IMD pesquisando o antígeno o fator VIII. Em contrapartida, no presente estudo, optou-se pelo emprego do anticorpo anti-CD34, que é mais característico dos vasos realmente neoformados (VERMEULEN *et al.*, 1996).

Não foi encontrada nenhuma referência bibliográfica que incluísse uma análise da intensidade da angiogênese em relação às diferentes variantes histopatológicas de CBC. Neste estudo, houve uma prevalência maior de angiogênese intensa entre os subtipos mais agressivos, mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Esta ausência de significância causou uma certa estranheza, principalmente levando-se em conta a avaliação imunohistoquímica da invasão da membrana basal, que se mostrou estatisticamente diferente entre as variantes de CBC. De fato, STAIBANO *et al.* (1996) ressaltaram que ambos os processos (invasão da matriz extracelular e angiogênese) apresentariam inúmeras similaridades funcionais e seriam, na verdade, usualmente identificados na mesma lesão tumoral.. Por outro lado, talvez a extraordinária capacidade de invasão por contigüidade demonstrada pelos extensos CBCs que comprometeram a base do crânio, certamente associada a uma grande competência na destruição da membrana basal, não se tenha acompanhado de uma angiogênese tão aumentada pela própria história natural do CBC, que só excepcionalmente se propaga pelas vias linfática e hematogênica.

6.1.6. Invasão perineural/proteína S-100

A imunodeteção da proteína S-100 nas células de Schwann, e consequentemente, nos filetes nervosos peritumorais, pode auxiliar na identificação da invasão perineural do carcinoma (FLEURY & BACCHI, 1987). As-

sim, justifica-se o emprego da avaliação imunohistoquímica da proteína S-100 para se tentar melhorar a pesquisa do envolvimento perineural pela neoplasia (FLEURY & BACCHI, 1987).

No Grupo 1, esta análise imunohistoquímica revelou filetes nervosos comprometidos pelo CBC em 50% dos casos, estatisticamente diferentes dos 4,35% observados no Grupo 3 ($p < 0,001$). Curiosamente, a prevalência de filetes nervosos invadidos foi inferior nesta análise àquela encontrada com a coloração convencional com hematoxilina-eosina, de 58,33%. Esta aparente discrepância será debatida mais adiante.

A invasão perineural foi estatisticamente mais freqüente nos subtipos histológicos mais agressivos de CBC. Ficaram, assim, ratificados os achados de RANDLE *et al.* (1993) e MacDONALD III & RIDENOUR (1999), que também a encontraram mais amiúde entre os subtipos esclerodermiforme e metatípico.

6.2. CEC

6.2.1. c-erbB-2

Os dados disponíveis sobre a hiperexpressão do c-erbB-2 em tumores de Cabeça e Pescoço são controversos. Alguns autores relataram uma expressão aumentada deste oncogene em CECs do TADA. BECKHARDT *et al.* (1995): 47%; XIA *et al.* (1997): 53%; PARISE Jr. (1999): 39%. Outros estudos, porém, não confirmaram esta expressão aumentada (SOMERS *et al.*, 1990; LEONARD *et al.*, 1991). Esta mesma controvérsia ocorreu quanto à correlação da hiperexpressão do c-erbB-2 com a agressividade tumoral. Alguns estudos encontraram este oncogene mais expresso em tumores com pior comportamento biológico (WERKMEISTER *et al.*, 1996; WEINSTEIN *et al.*, 1996; ROYCHOWDHURY *et al.*, 1996; XIA *et al.*, 1997; IBRAHIM *et al.*, 1997; SHIGA *et al.*, 2000). Entretanto, outros não conseguiram demonstrar qualquer valor prognóstico relacionado ao aumento da expressão deste oncogene (KEARSLEY *et al.*, 1991; FIELD *et al.*, 1992; GIATROMANOLAKI *et al.*, 2000).

Em CECs cutâneos, as poucas publicações disponíveis mostraram uma prevalência bastante significativa da hiperexpressão do c-erbB-2. LIU *et al.*

(1996) a observaram em 84,6% de 26 doentes com CECs, numa proporção inversa à diferenciação tumoral. AHMED *et al.* (1997) notaram expressão aumentada do c-erbB-2 em 83% de 24 CECs, com maior positividade naquelas lesões que haviam se disseminado para linfonodos.

No presente estudo, a hiperexpressão do c-erbB-2 foi muito prevalente tanto no Grupo 2 quanto no 4, confirmando os estudos acima citados. Entretanto, ela foi observada na totalidade dos casos do Grupo 4, sugerindo que a atuação deste oncogene aconteceria ainda nas fases mais iniciais do processo de carcinogênese do CEC, ao contrário do que foi postulado pelos dois grupos de pesquisadores mencionados no parágrafo anterior.

6.2.2. TP53

Alguns autores afirmaram que a mutação do TP53, traduzida pela expressão aumentada da proteína p53, poder-se-ia situar no início do processo de formação do CEC do TADA (SHIN *et al.*, 1994; SAUTER *et al.*, 1994; PAVELIC & GLUCKMAN, 1997; ROWLEY *et al.*, 1997; CRUZ *et al.*, 1998). Outros, contudo, consideraram esta mutação um fenômeno mais tardio (SHAHNAVAZ *et al.*, 2000).

Percentuais variáveis de hiperexpressão da p53 em CECs do TADA foram relatados: MAESTRO *et al.* (1992) – 60%; OGDEN *et al.* (1992) – 54%; WATLING *et al.* (1992) – 62%; SAKAI *et al.* (1992) – 63%; SAKAI & TSUCHIDA (1992): 90%; SOMERS *et al.* (1992): 100%; BOYLE *et al.* (1993) – 43%; BURNS *et al.* (1993) – 50%; KAUR *et al.* (1994) – 75%; XU *et al.* (1994) – 50%; BRENNAN *et al.* (1995) – 43%; LIPPMAN *et al.* (1995) – 89%; MUNIRAJAN *et al.* (1996) – 21%; MATSUMARA *et al.* (1996) – 53%; ROWLEY *et al.* (1997) – 80%; VAN OIJEN *et al.* (2000) – 90%; LINGEN *et al.* (2000) – 83%. Em nosso meio, três trabalhos mostraram 48% (LOGULLO *et al.*, 1997), 54% (PARISE Jr, 1999) e 45% (DIAS, 1999). O valor prognóstico desta hiperexpressão, contudo, ainda é controverso (SAUTER *et al.*, 1992; BRACHMAN *et al.*, 1993; LEE *et al.*, 1993; GASPARINI *et al.*, 1993; GLUCKMAN *et al.*, 1994; NEES *et al.*, 1993; CHUNG *et al.*, 1993; CLOOS *et al.*, 1994; ZARIWALA *et al.*, 1994; KOCH *et al.*, 1994; LEEDY *et al.*, 1994; NADAL *et al.*, 1995; NYLANDER *et al.*, 1995; SHINTANI *et al.*, 1995; BRADFORD *et al.*, 1995; GALLO *et al.*, 1995; NAKANISHI *et al.*, 1995; SHIN *et al.*, 1996; HÖGMO *et*

al., 1996; RIBEIRO Jr *et al.*, 1996; SPAFFORD *et al.*, 1996; KOCH *et al.*, 1996; RIETHDORF *et al.*, 1997; HIRVIKOSKI *et al.*, 1997; OSAKI *et al.*, 1997; MA *et al.*, 1998; NIBU *et al.*, 1998; PAI *et al.*, 1998; PRUNERI *et al.*, 1998; STOLL *et al.*, 1998; PIFFK *et al.*, 1998; MINETA *et al.*, 1998; GIROD *et al.*, 1998; HEGDE *et al.*, 1998; KANEKAWA *et al.*, 1999; UNAL *et al.*, 1999; CAPACCIO *et al.*, 2000; OBATA *et al.*, 2000; JACKEL *et al.*, 2000).

Numa abrangente meta-análise da literatura, QUON *et al.* (2001) observaram uma tendência para se aceitar um efeito adverso da hiperexpressão do p53 tanto sobre o controle locorregional como na sobrevida de doentes com CEC do TADA.

Especificamente em CECs cutâneos, os resultados dos diversos estudos encontrados também foram bastante díspares (GUSTERSON *et al.*, 1991; BRASH *et al.*, 1991; STEPHENSON *et al.*, 1992; LEE & TEH, 1994; KERSCHMANN *et al.*, 1994; PILCH *et al.*, 1994; ORAM *et al.*, 1994; MCGREGOR *et al.*, 1994; RHIM *et al.*, 1995; MATSUMURA *et al.*, 1995; HUGHES & ROBINSON, 1995; COULTER *et al.*, 1995; SHIMIZU *et al.*, 1996; MANSOOR *et al.*, 1996; MATSUTA *et al.*, 1997; AHMADIAN *et al.*, 1998; AUEPEMKIATE *et al.*, 2000). Curiosamente, dois dentre os menores índices de hiperexpressão da p53 foram notados no estudo mais antigo (GUSTERSON *et al.*, 1991: 15%) e no mais recente (AUEPEMKIATE *et al.*, 2000: 27%). Para a maioria dos outros autores, no entanto, estes níveis excederam os 50%.

Os níveis de hiperexpressão da proteína p53 constatados neste estudo foram surpreendentemente baixos: 9,09% nos CECs do Grupo 2 e 40% no Grupo 4, diferença esta não significativa, apesar de marcante. Estes achados contrariaram alguns outros pesquisadores (STEPHENSON *et al.*, 1992; MATSUMURA *et al.*, 1995; MANSOOR *et al.*, 1996; AUEPEMKIATE *et al.*, 2000), que relataram maiores taxas de hiperexpressão nos cânceres mais agressivos.

Assim, ao contrário dos CBCs deste estudo, a prevalência da hiperexpressão da p53 nos CECs foi muito pequena, mormente nas lesões mais agressivas. Entretanto, é possível que outros tipos de mutação do TP53, não detectáveis pela metodologia utilizada, tenham acontecido. Talvez outras proteínas estáveis, advindas de mutações pontuais, ou mesmo uma ausência de produção da p53, por deleções do gene, possam ter ocorrido. Possivelmente, estas mutações não se traduziriam pela hiperexpressão desta proteína, apesar de também serem capazes de exercer o seu efeito deletério tanto na inibição da apoptose fisiológica

quanto no próprio processo carcinogênico (MATSUMURA *et al.*, 1996; PAVELIC & GLUCKMAN, 1997; MINETA *et al.*, 1998; LOGULLO *et al.*, 2000). De fato, QUON *et al.* (2001) afirmaram que a plêiade de mutações do TP53 poderia ser a responsável pela controvérsia existente na literatura sobre a sua real incidência e o seu valor prognóstico. Outra possível explicação para esta diminuta prevalência da hiperexpressão de p53 seria a atuação concomitante exacerbada de um antagonista natural do TP53, o mdm-2 (MATSUMURA *et al.*, 1996; PAVELIC & GLUCKMAN, 1997; LOGULLO *et al.*, 2000).

Dessa forma, consoante os achados deste estudo, ao contrário do que foi comentado em relação ao CBC, estudos experimentais envolvendo novas técnicas para a transferência da p53 nativa não encontrariam justificativa para sua indicação nestes extensos CECs. Por outro lado, evidentemente, estas evidências mereceriam uma confirmação envolvendo séries prospectivas, empregando técnicas de seqüenciamento genético e incluindo casuísticas maiores.

6.2.3. Ki-67

A expressão aumentada de Ki-67 (mais de 50% das células tumorais com imunorreatividade) em CECs do TADA é bastante comum, oscilando entre 32% e 98% na literatura pesquisada (GONZALEZ-MOLES *et al.*, 1996; NYLANDER *et al.*, 1997; NG *et al.*, 1999; GRZANKA *et al.*, 2000). Entretanto, o valor prognóstico desta proliferação celular exacerbada é controverso. Alguns autores não observaram qualquer correlação entre a expectativa prognóstica e a superexpressão desta proteína (ROLAND *et al.*, 1994; GONZALEZ-MOLES *et al.*, 1996; NYLANDER *et al.*, 1997; SPAFFORD *et al.*, 1997; GRZANKA *et al.*, 2000; STOLL *et al.*, 2000; WONG *et al.*, 2000). Outros, porém, constataram uma piora da sobrevida em portadores de cânceres com expressão intensa de Ki-67 (GIROD *et al.*, 1998; KUROPKAT *et al.*, 1999; VALENTE *et al.*, 1999; XIE *et al.*, 1999).

No Grupo 2, houve expressão intensa do antígeno Ki-67 em 72,73%, estatisticamente superior aos 20% encontrados no Grupo 4. O índice do Grupo 2 também foi maior do que o referido por KERSCHMANN *et al.* (1994), de 46%. Por outro lado, KANITAKIS *et al.* (1997) não observaram esta diferença, comparando dois grupos de pacientes: um com 14 CECs clinicamente agressivos e

outro com 28 CECs não-agressivos. Aliás, é digna de nota a baixa prevalência relatada por estes autores em ambos os grupos (15% e 17,5%, respectivamente).

O encontro tão freqüente da expressão intensa do antígeno Ki-67 entre os extensos CECs do Grupo 2 sugeriu um "estado de proliferação exacerbada" nestes carcinomas, análogo ao que foi proposto por HEALY *et al.* (1995) para o CBC, que poderia ser indicativo de maior agressividade tumoral. Além disso, todos os CECs deste grupo acometiam os planos mais profundos. Este fato iria de encontro ao relato de MANSOOR *et al.* (1996), que encontraram uma relação estatisticamente significativa entre a expressão aumentada de Ki-67 e espessura e profundidade de invasão tumorais ($p=0,026$), numa população de 175 casos de CEC. De fato, SKALOVA & MICHAL (1995) notaram uma expressão aumentada e difusa de Ki-67 nas células localizadas nas regiões mais invasivas dos CECs que analisaram.

Uma das óbvias limitações deste estudo é a não disponibilidade deste dado imunohistoquímico em muitas lesões iniciais do Grupo 2 (já que diversos tumores eram recidivados), em decorrência dos problemas para a sua obtenção já mencionados. Entretanto, a constatação de uma diferença tão importante entre os dois grupos, mesmo com as reduzidas proporções da casuística, poderia sugerir a execução de um estudo prospectivo para acompanhar a evolução clínica de um número expressivo de CECs cutâneos, que tivessem os seus índices de proliferação aquilatados através da pesquisa imunohistoquímica do antígeno Ki-67.

6.2.4. Colágeno tipo IV

Alguns pesquisadores relataram uma correlação entre descontinuidade ou mesmo ausência da membrana basal e características de maior agressividade local em CECs do TADA (SAKR *et al.*, 1987); SHINOHARA *et al.*, 1996). Além disso, outros notaram associação entre o comprometimento desta membrana e a maior incidência de metástases linfonodais (HIROTA *et al.*, 1990; KUSUKAWA *et al.*, 1993; KUMAGAI *et al.*, 1994).

Dentre os CECs do Grupo 2, nenhum exibiu membrana basal íntegra: em 36,36% dos tumores, ela estava rompida e nos restantes 63,64% não foi identificada. Apesar da marcante diferença constatada com os carcinomas do Grupo 4, dos quais 40% não comprometiam a membrana basal, não foi atingida significância estatística

($p=0,075$), provavelmente em decorrência do pequeno número de casos.

OGURO *et al.* (1991) encontraram membrana basal íntegra na maioria dos tumores bem diferenciados, ao contrário das lesões mais indiferenciadas. Este achado divergiu um pouco do presente estudo, em que 60% das neoplasias do Grupo 4 comprometiam a membrana basal, apesar de não haverem recidivado nem metastatizado.

DUMAS *et al.* (1999) comprovaram, pela análise imunohistoquímica do colágeno tipo IV, um comprometimento mais freqüente da membrana basal nas lesões mais invasivas, num grupo de 13 CECs.

Assim, mesmo não se comprovando estatisticamente uma diferença importante entre os dois grupos, foi digna de nota a constatação de uma penetração, ou mesmo destruição, da membrana basal nos CECs com invasão da base do crânio. A constituição bioquímica da membrana basal é complexa, contendo, além do colágeno tipo IV pesquisado, inúmeros outros peptídeos. Alterações constitucionais desta composição poderiam facilitar a sua invasão por estes carcinomas tão agressivos, passo imprescindível para a sua nefasta propagação.

6.2.5. Angiogênese

Algumas pesquisas indicaram uma função importante para a angiogênese no processo carcinogênico dos CECs do TADA (JIN *et al.*, 1995; PAZOUKI *et al.*, 1997; PETRUZZELLI *et al.*, 1997). No entanto, SPAFFORD *et al.* (1996) encontraram expressão imunohistoquímica de CD34 em apenas 1 dentre 70 casos de CEC de laringe, concluindo que a neovascularização seria muito raramente observada neste tipo de neoplasia.

Esta mesma controvérsia foi notada quanto ao valor prognóstico da angiogênese em CECs do TADA. Inúmeros autores relataram uma correlação estatisticamente significativa entre angiogênese intensa e indicadores de pior prognóstico, como metástases linfonodais e sobrevida diminuída (GASPARINI *et al.*, 1993; WILLIAMS *et al.*, 1994; ALBO *et al.*, 1994; ZÄTTERSTRÖM *et al.*, 1995; SHPITZER *et al.*, 1996; ALCALDE *et al.*, 1997; DELLAcono *et al.*, 1997; MURRAY *et al.*, 1997). Outros grupos, ao contrário, não observaram qualquer valor prognóstico relacionado com o aumento da angiogênese

(LEDDY *et al.*, 1994; GLEICH *et al.*, 1996; GLEICH *et al.*, 1997; DRAY *et al.*, 1996; HEGDE *et al.*, 1998).

Em relação ao CEC cutâneo, alguns estudos experimentais postularam que o processo angiogênico ocorreria já nas fases mais precoces da carcinogênese, destarte sem valor prognóstico (LARCHER *et al.*, 1996; , BOLONTRADE *et al.*, 1998).

No Grupo 2, mais da metade dos CECs (54,55%) apresentou angiogênese intensa. Apesar deste valor ter sido quase seis vezes superior aos 10% de angiogênese intensa encontrado no Grupo 4, esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p=0,133$), uma vez mais, pelas reduzidas dimensões da população estudada. Ainda assim, ficou patente uma tendência à intensificação do processo angiogênico nos avançados carcinomas do Grupo 2, confirmando os achados de STRIETH *et al.* (2000). Utilizando CD31, estes pesquisadores demonstraram IMD significativamente elevada apenas nos tumores mais avançados, concluindo que a exacerbação da angiogênese ocorreria apenas naqueles CECs mais agressivos.

6.2.6. Invasão perineural/proteína S-100

A pesquisa imunohistoquímica da invasão perineural pelos CECs do Grupo 2 foi capaz de demonstrá-la em 63,64% dos casos. Apesar desta relação se inverter no Grupo 4, uma vez mais a diferença entre estes dois grupos não foi estatisticamente significativa ($p=0,080$). É interessante salientar, contudo, que, nos *dois grupos* de CECs, esta forma de disseminação foi detectada com mais eficácia pelo método imunohistoquímico do que pela coloração convencional, ao contrário do que ocorreu nos CBCs. Surpreendentemente, apenas a diferença constatada na avaliação convencional foi estatisticamente significativa. Provavelmente, este fenômeno ocorreu pelas diferenças de categorizações das duas variáveis. Na avaliação convencional, não foram observadas fibras invadidas no Grupo 4, que contribuiu para a acentuada diferença (45,45% X 0%). Na pesquisa da proteína S-100, no entanto, foi introduzida uma terceira categoria, de filetes nervosos não demonstrados imunohistoquimicamente, que certamente ocasionou uma "diluição" dessa grande desigualdade. As possíveis implicações diagnósticas serão discutidas mais adiante.

7. RELAÇÃO ENTRE O ACHADO HISTOPATOLÓGICO DE INVASÃO PERINEURAL E A PESQUISA IMUNOHISTOQUÍMICA DA INVASÃO COM A PROTEÍNA S-100

Foi efetuada uma comparação dos dois métodos para todos os 68 casos de carcinomas cutâneos, que não revelou diferença estatística entre a sua eficácia. Entretanto, algumas considerações se impõem.

Por que, em alguns tumores, a invasão perineural só foi evidenciada pelo método convencional, teoricamente mais rudimentar? Uma explicação plausível é que esta aparente discrepância tenha sido causada pelo grande volume que alguns destes extensos tumores ocupavam. Nestas situações, a heterogeneidade histopatológica é a regra (LEVER & SCHAUMBURG-LEVER, 1983; RUHOY *et al.*, 2001). Devido às grandes dimensões da peça cirúrgica, certamente incluída em diversos blocos, é possível que a distribuição igualmente heterogênea da invasão perineural fosse representada mais em algumas lâminas do que em outras. Dessa forma, poder-se-ia inferir que a pesquisa desta forma de disseminação seria, na verdade, mais eficaz se mais de uma área do tumor fosse analisada e os dois métodos de busca fossem combinados. Seria desejável, porém, que esta afirmativa fosse confirmada por outros estudos, de preferência prospectivos, visto que não foram encontrados análises comparativas desta natureza na literatura pesquisada.

8. ANÁLISE COMPARATIVA DAS VARIÁVEIS NOS DOENTES SUBMETIDOS A DUAS OPERAÇÕES

Em 1971, MENN *et al.* já alertavam para a gravidade da recidiva de um CBC, ao relatar a sua experiência com 100 tumores recorrentes. Eles não conseguiram identificar fatores clínicos ou histopatológicos relacionados com a recidiva. Entretanto, notaram que 47% destes cânceres recidivaram novamente, evidenciando um comportamento biológico mais agressivo.

No presente estudo, infelizmente foi possível a obtenção dos dados referentes ao primeiro tratamento cirúrgico em apenas em seis doentes (cinco CBCs e somente um CEC). Este número tão diminuto impossibilitou qualquer análise estatística mais relevante. Entretanto, alguns achados interessantes merecem um comentário.

O envolvimento da dura-máter e do encéfalo na primeira operação ocorreu em apenas um caso. Observou-se, porém, um "aprofundamento" do câncer na segunda em alguns doentes, sugerindo uma progressão tumoral em profundidade.

A comparação de algumas variáveis histopatológicas, avaliadas apenas no Grupo 1, sugeriu um "fenótipo" mais agressivo para algumas lesões, *já na primeira operação*. De fato, notaram-se, respectivamente: padrão de crescimento infiltrativo em 60% dos CBCs; perfil dos blocos espiculado em 60%; pleomorfismo nuclear moderado ou intenso em 40%; estroma hialinizado em 60%; profundidade de invasão até fáscia/músculo em 60% e invasão perineural em 60%. Além disso, 33,34% das margens cirúrgicas, tanto avaliadas por congelção quanto pela inclusão de parafina, resultaram positivas. É claro que não haveria sentido em comparar estes dados com os correspondentes do Grupo 3, mas é tentadora a suposição que estas lesões já seriam diferentes desde o início (ou, pelo menos, desde a ocasião do primeiro tratamento).

HEALEY *et al.* (1995) publicaram a única pesquisa localizada na literatura comparando fatores biológicos em carcinomas cutâneos iniciais e nas respectivas recorrências. Eles avaliaram imunohistoquimicamente a proteína p53 e o antígeno de proliferação Ki-67 nas peças cirúrgicas correspondentes a três grupos de 17 CBCs: o primeiro, composto por tumores que não recidivaram; o segundo, pelas lesões iniciais que posteriormente apresentaram recidiva; o terceiro, composto pelos correspondentes tumores primários. Os autores encontraram expressão intensa de Ki-67 estatisticamente mais freqüente nos carcinomas recidivados, já na peça correspondente à operação inicial (25%), que foi semelhante à verificada na reoperação (22,5%). Por outro lado, a prevalência de hiperexpressão da p53 foi alta nos três grupos (95%), sem diferença estatística.

A prevalência de alguns fatores biológicos entre as lesões iniciais não foi tão significativa. O encontro de positividade do c-erbB-2 em 66,67% foi, de fato, inferior aos 73,91% e 100% observados nos Grupos 3 e 4, respectivamente. Da mesma forma, a hiperexpressão da p53, constatada em 50% dos tumores, foi inferior aos índices de HEALY *et al.* (1995). Por outro lado, a expressão intensa de Ki-67 foi encontrada em 50% das lesões iniciais, índice este muito acima ao relatado por HEALY *et al.* (1995). Já a angiogênese intensa foi observada em apenas 16,67% dos doentes.

Dois fatores biológicos são dignos de nota, pela sua alta prevalência já nas peças correspondentes aos tumores iniciais: o comprometimento da membrana basal, constatado em 100% dos carcinomas, e a infiltração perineural, que foi verificada em 50% das lesões. Embora estes dados não possam ser comparados, com embasamento científico, com os correspondentes valores dos grupos 3 e 4, as diferenças são inegavelmente acentuadas, sugerindo, dessa forma, a idéia de uma investigação prospectiva bem conduzida para confirmar esta impressão inicial.

9. NOVAS PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS

O impressionante progresso experimentado pelas técnicas de biologia molecular nos últimos anos não se restringiu apenas à esfera propedêutica. Os excelentes artigos de revisão publicados por SAMARA *et al.* (1993) e por CLAYMAN (1995) compilaram diversos relatos sobre novas técnicas de transferência de material genético para o interior da célula tumoral, com o intuito de estancar ou mesmo reverter o processo neoplásico. Entretanto, este último autor alertou para dois importantes aspectos da terapia gênica. Inicialmente, a simples presença do gene na célula cancerosa não seria uma garantia absoluta de sua ação terapêutica. Em segundo lugar, a terapia gênica poderia se acompanhar de riscos potenciais consideráveis, que não deveriam ser negligenciados.

9.1. TERAPIA MOLECULAR COM TRANSFEÇÃO DE p53 NATIVA

Diversos autores propuseram o emprego de transfecção de p53 nativa em tumores do TADA, com resultados ainda muito incipientes (CLAYMAN *et al.*, 1995; CLAYMAN *et al.*, 1996; TAKAHASHI *et al.*, 1996; CLAYMAN *et al.*, 1998; FRANK *et al.*, 1998; EURA *et al.*, 2000, HENDERSON *et al.*, 2000).

Houve uma alta taxa de hiperexpressão da p53 entre os tumores do Grupo 1. O desenvolvimento de novas técnicas para a transferência da p53 nativa poderia encontrar uma indicação nestes avançadíssimos CBCs com acometimento da base do crânio, reproduzindo os estudos ainda embrionários efetuados em outros tipos histológicos. Por outro lado, estes

esforços não encontrariam respaldo, pelos achados deste estudo, em relação aos CECs do Grupo 2, que exibiram uma prevalência desprezível de hiperexpressão da p53.

9.2. TERAPIA MOLECULAR ANTIANGIOGÊNICA

Alguns autores apresentaram propostas terapêuticas com diferentes agentes antiangiogênicos (MOUSA, 1995; GASPARINI, 1996; LINGEN *et al.*, 1996; TEICHER *et al.*, 1996; LIN *et al.*, 1996; FOLKMAN, 1996; PETRUZZELLI, 1996; GRIFFIOEN *et al.*, 1998; McNAMARA *et al.*, 1998).

A possível associação de uma angiogênese intensa com alguns CBCs mais agressivos poderia estimular o uso de terapêuticas antiangiogênicas nestes tumores muito invasivos. STAIBANO *et al.* (1996) mencionaram a possível utilidade de estudos prospectivos com algumas destas drogas, tais como suramina, angiostatina e AGM-470. Mais recentemente, alguns pesquisadores propuseram, ainda de forma muito preliminar, alguns modelos de terapia antiangiogênica para carcinomas cutâneos (STREIT *et al.*, 1999; BIELENBERG *et al.*, 1999; BLEUEL *et al.*, 1999).

Neste estudo, a grande prevalência da angiogênese intensa entre os carcinomas cutâneos com invasão da base do crânio ficou evidente. Dessa forma, seria defensável a tentativa de uso, dentro de protocolos experimentais bem delineados e eticamente respaldados, de algumas dessas novas terapêuticas anti-angiogênicas nestes cânceres tão extensos e invasivos.

—|CONCLUSÕES E INFERÊNCIAS|—

1. CONCLUSÕES

1.1. Os doentes do Grupo 1 apresentaram CBCs com um perfil em que se destacaram algumas características. Na esfera clínica: duração de queixa prolongada, estadiamento avançado, lesões ulceradas e acometimento de mais de uma região. Na esfera histopatológica, os subtipos mais encontrados foram o esclerodermiforme e o metatípico; o padrão de crescimento foi infiltrativo, e os blocos celulares espiculados, com paliçada malformada; houve invasão perineural em 58,33%. Finalmente, na esfera biológica, ocorreu hiperexpressão de c-erbB-2 em 70,83%, de p53 em 70,83%, expressão intensa de Ki-67 em 37,50%, membrana basal rompida ou ausente em 79,16%, angiogênese intensa em 25,00% e invasão perineural demonstrada pela proteína S-100 em 50% dos tumores.

1.2. Os doentes do Grupo 2 apresentaram CECs com um perfil com algumas características principais. Na esfera clínica: estadiamento avançado, acometimento de mais de uma região. Na esfera histopatológica: invasão perineural em 45,45%, desmoplasia em 90,91% e infiltrado inflamatório peritumoral mode-

rado em 63,64%. Na esfera biológica: hiperexpressão de c-erbB-2 em 81,82%, de p53 em 9,09%, expressão intensa de Ki-67 em 72,73%, membrana basal rompida ou ausente em 100%, angiogênese intensa em 54,55% e invasão perineural demonstrada pela proteína S-100 em 63,64% dos tumores.

1.3. Em relação aos CBCs do Grupo 3, houve diferença estatística nas seguintes variáveis: duração da queixa, estadiamento, tipo clínico da lesão, localização, distribuição dos subtipos histológicos, padrão de crescimento, perfil dos blocos celulares, profundidade de invasão, margens de ressecção, invasão da membrana basal e invasão perineural demonstrada pela proteína S-100. Ocorreu diferença marginalmente significativa nas variáveis p53 e CD34.

1.4. Em relação aos CECs do Grupo 4, houve diferença estatística nas seguintes variáveis: estadiamento, profundidade de invasão, invasão perineural, desmoplasia; infiltrado inflamatório peritumoral e expressão intensa de Ki-67. Notou-se diferença marginalmente significativa na distribuição da localização do tumor.

2. INFERÊNCIAS

2.1. Comparando-se os subtipos histológicos dos CBCs com as variáveis biológicas, verificou-se associação estatisticamente significativa entre tumores mais agressivos (esclerodermiforme e metatípico) e as seguintes variáveis: invasão da membrana basal e invasão perineural.

2.2. Apesar do pequeno número de casos com dados referentes à operação inicial e, depois, à correspondente ressecção craniofacial, constataram-se algumas características de agressividade presentes já na análise da peça operatória inicial em diversos doentes: padrão de crescimento infiltrativo, perfil dos blocos espiculado, pleomorfismo nuclear moderado ou intenso, estroma hialinizado, invasão perineural, comprometimento de membrana basal e invasão perineural pesquisada pela proteína S-100.

—| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS |—

- ABDELSAYED, R. A.; GUIJARRO-ROJAS, M.; IBRAHIM, N. A.; *et al.* Immunohistochemical evaluation of basal cell carcinoma and trichoepithelioma using Bcl-2, Ki67, PCNA and P53. **J. Cutan. Pathol.**, v. 27, p. 169-75, 2000.
- ACHEN, M. G.; SATCKER, S. A. The vascular endothelial growth factor family: proteins which guide the development of the vasculature. **Int. J. Exp. Pathol.**, v. 79, p. 255-265, 1998.
- AGRESTI, A., ed. Categorical Data Analysis. New York, John Wiley & Sons, 1990. p. 353-4.
- AHMADIAN, A.; REN, Z. P.; WILLIAMS, C. *et al.* Genetic instability in the 9q22.3 region is a late event in the development of squamous cell carcinoma. **Oncogene**, v. 17, p. 1837-43, 1998.
- AHMED, N. U., UEDA, M.; ICHIHASHI, M. Increased level of c-erb-B2/neu/HER-2 protein in cutaneous squamous cell carcinoma. **Br. J. Dermatol.**, v. 136, p. 908-12, 1997.

- AL-MEFTY, O. Management of the cavernous sinus and carotid siphon. **Otolaryngol. Clin. North. Am.**, v. 24, p. 1523-33, 1991.
- ALBO, D.; GRANICK, M. S.; JHALA, N.; ATKINSON, B.; SOLOMON, M. P. The relationship of angiogenesis to biological activity in human squamous cell carcinoma of the head and neck. **Ann. Plast. Surg.**, v. 32, p. 588-594, 1994.
- ALCALDE, R. E.; TERAKADO, N.; OTSUKI, K. *et al.* Angiogenesis and expression of platelet-derived endothelial growth factor in oral squamous cell carcinoma. **Oncology**, v. 54, p. 324-328, 1997.
- ALEXANDROW, M. G.; MOSES, H. L. Transforming growth factor β and cell cycle regulation. **Cancer Res.**, v. 55, p. 1452-7, 1995.
- ANDERSEN, P. E.; KRAUS, D. H.; ARBIT, E. *et al.* Management of the orbit during anterior fossa craniofacial resection. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 122, p. 1305-7, 1996.
- ARROWSMITH, C. H.; MORIN, P. New insights into p53 function from structural studies. **Oncogene**, v. 12, p. 1379-85, 1996.
- AUEPEMKIATE, S.; BOONYAPHIPHAT, P.; SRIPLUNG, H. p53 protein in cutaneous squamous cell carcinoma. **J. Med. Assoc. Thai.**, v. 83, p. 543-8, 2000.
- AUSTIN, J. R.; STEWART, K. L.; FAWZI, N. Squamous cell carcinoma of the external auditory canal: therapeutic prognosis based on a proposed staging system. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 120, p. 1228-32, 1994.
- BACCHI, C. E.; GOWN, A. M. Detection of cell proliferation in tissue sections. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 26, n. 7, p. 677-87, 1993.
- BAKUL, I. D.; KEOWN, P. A.; GREENBERG, A. H. Immunocytochemical localization of secreted transforming growth factor β 1 to the advancing edges

of primary tumors and to lymph node metastases of human mammary carcinoma. **Am. J. Pathol.**, v. 143, p. 381-389, 1993.

BARBARESCHI, M.; GIRLANDO, S.; CRISTOFOLINI, P. *et al.* p53 protein expression in basal cell carcinoma. **Histopathology**, v. 21, p. 579-81, 1992.

BARRETT, T. L.; SMITH, K. J.; HODGE, J. J. Immunohistochemical nuclear staining for p53, PCNA and Ki67 in different histologic variants of basal cell carcinoma. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 37, p. 430-7, 1997.

BASARAB, T.; ORCHARD, G.; RUSSEL-JONES, R. The use of immunostaining for bcl-2 and CD34 and the lectin peanut agglutinin in differentiating between basal cell carcinomas and trichoepitheliomas. **Am. J. Dermatopathol.**, v. 20, p. 448-52, 1998.

BAUM, H. P.; MEURER, I.; UNTEREGGER, G. Ki-67 antigen expression and growth pattern of basal cell carcinomas. **Arch. Dermatol. Res.**, v. 285, p. 291-5, 1993.

BECKHARDT, R. N.; KIYOKAWA, N.; XI, L. *et al.* HER-2/*neu* oncogene characterization in head and neck squamous cell carcinoma. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 121, p. 1265-70, 1995.

BEDLOW, A. J.; STANTON, A. W.; CLIFF, S. *et al.* Basal cell carcinoma: an *in vivo* model of human tumor microcirculation? **Exp. Dermatol.**, v. 8, p. 222-6, 1999.

BETTI, R.; INSELVINI, E.; CARDUCCI, M. *et al.* Age and site prevalence of histologic subtypes of basal cell carcinomas. **Int. J. Dermatol.**, v. 34, p. 174-6, 1995.

BIANCHINI, R.; WOLTER, M. Fatal outcome in a metatypical, giant, horrifying basal cell carcinoma. **J. Dermatol. Surg. Oncol.**, v. 13, p. 556-7, 1984.

BINDER, S. C.; CADY, B.; CATLIN, D. Epidermoid carcinoma of the skin of the nose. **Am. J. Surg.**, v. 116, p. 506-12, 1968.

- BIELENBERG, D. R.; MCCARTY, M. F.; BUCANA, C. D. *et al.* Expression of interferon-beta is associated with growth arrest of murine and human epidermal cells. **J. Invest. Dermatol.**, v. 112, p. 802-9, 1999.
- BLEUEL, K.; POPP, S.; FUSENIG, N. E. *et al.* Tumor suppression in human skin carcinoma cells by chromosome 15 transfer or thrombospondin-1 overexpression through halted tumor vascularization. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, v. 96USA, p. 2065-70, 1999.
- BOLONTRADE, M. F.; STERNA, M. C.; BINDER, R. L. *et al.* Angiogenesis is an early event in the development of chemically induced skin tumors. **Carcinogenesis**, v. 19, p. 2107-13, 1998.
- BOONCHAI, W.; WALSH, M.; CUMMINGS, M. *et al.* Expression of p53 in arsenic-related and sporadic basal cell carcinoma. **Arch. Dermatol.**, v. 136, p. 195-8, 2000.
- BOREL, D. M. Cutaneous basosquamous carcinoma: review of the literature and report of 35 cases. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 95, p. 293-7, 1973.
- BOSARI, S.; LEE, A. K. C.; DE LELLIS, R. A. *et al.* Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. **Hum. Pathol.**, v. 23, p. 755-761, 1992.
- BOUAZIZ, A.; CHABARDES, E.; LACOURREYE, O. *et al.* Extension a la fosse infra-temporale des tumeurs malignes du massif facial. **Ann. Oto-Laryng. (Paris)**, v. 108, p. 113-8, 1991.
- BOYLE, J. O.; HAKIM, J.; KOCH, W. *et al.* The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. **Cancer Res.**, v. 53, p. 4477-80, 1993.
- BRACHMAN, D. G.; GRAVES, D.; VOKES, E. *et al.* Occurrence of p53 gene deletions and human papilloma virus infection in human head

and neck cancer. **Cancer Res.**, v. 52, p. 4832-6, 1992.

BRACHMAN, D. G.; BECKETT, M.; GRAVES, D. *et al.* p53 mutation does not correlate with radiosensitivity in 24 head and neck cancer cell lines. **Cancer Res.**, v. 53, p. 3667-9, 1993.

BRADFORD, C. R.; ZHU, S.; WOLF, G. T. *et al.* Overexpression of p53 predicts organ preservation using induction chemotherapy and radiation in patients with advanced laryngeal cancer. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 113, p. 408-12, 1995.

BRASH, D. E.; RUDOLPH, J. A.; SOMON, J. A. *et al.* A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 88USA, p. 10124-28, 1991.

BRASIL. Ministério Da Saúde. **O problema do câncer no Brasil**. 4ª ed., Rio de Janeiro, 1997.

BRASIL. Ministério Da Saúde. **Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2000.

BRENNAN, J. A.; BOYLE, J. O.; KOCH, W.M. *et al.* Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous-cell carcinoma of the head and neck. **NE. J. Med.**, v. 332, p. 712-17, 1995.

BRIDGER, G. P.; BALDWIN, M. Anterior craniofacial resection for ethmoid and nasal cancer with free flap reconstruction. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 115, p. 308-12, 1989.

BRIDGER, G. P.; KWOK, B.; BALDWIN, M. *et al.* Craniofacial resection for paranasal sinus cancer. **Head Neck**, v. 22, p. 772-80, 2000.

BRISKIN, K. B.; FADY, C.; MICKEL, R. A. *et al.* Inhibition of head and neck

squamous cell carcinoma cell lines by transforming growth factor beta. **Otolaryngol. Head Neck Surgery**, v. 112, p. 728-34, 1995.

BRODERS, A. C. Squamous-cell epithelioma of the skin. **Ann. Surg.**, v. 73, p. 141-60, 1921.

BROOKS, P. C. Role of integrins in angiogenesis. **Eur. J. Cancer**, v. 32, p. 2423-9, 1996.

BURNS, J. E.; BAIRD, M. C.; CLARCK, L. J. *et al.* Gene mutations and increased levels of p53 protein in human squamous cell carcinomas and their cell lines. **Br. J. Cancer**, v. 67, p. 1274-84, 1993.

BUSSOLINO, F.; ALBINI, A.; CAMUSSI, G. *et al.* Role of soluble mediators in angiogenesis. **Eur. J. Cancer**, v. 32A, p. 2401-12, 1996.

BUZELL, R. A. Effects of solar radiation on the skin. **Otolaryngol. Clin. North Am.**, v. 26, p. 1-11, 1993.

BUZELL, R.A. Carcinogenesis of cutaneous malignancies. **Dermatol. Surg.**, v. 22, p. 209-15, 1996.

CAMARGO, A. A.; DIAS NETO, E.; SIMPSON, A. G. Mutação e câncer. In: ROSSI, M. R.; Pinho, M., ed.. **Genética e Biologia Molecular para o Cirurgião**. São Paulo, Lemar – Livraria e Editora Martins, 1999. p. 111-123.

CAMPBELL, C.; QUINN, A. G.; RO, Y. *et al.* p53 mutations are common and early events that precede tumor invasion in squamous cell neoplasia of the skin. **J. Invest. Dermatol.**, v. 100, p. 746-8, 1993.

CANTÙ, G.; SOLERO, C. L.; MARIANI, L. *et al.* Anterior craniofacial resection for malignant tumors – a series of 91 patients. **Head Neck**, v. 21, p. 185-91, 1999.

- CAPACCIO, P.; PRUNERI, G.; CARBONI, N. *et al.* Cyclin D1 expression is predictive of occult metastases in head and neck cancer patients with clinically negative cervical lymph nodes. **Head Neck**, v. 22 p. 234-40, 2000.
- CARSON, D. A.; LOIS, A. Cancer progression and p53. **Lancet**, v. 346, p. 1009-11, 1995.
- CATALANO, P.J.; ECHT, C. S.; BILLER, H. F. *et al.* Craniofacial resection: an analysis of 73 cases. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 120, p. 1203-8, 1994.
- CAULIN, C.; SCHOLL, F. G.; FRONTELO, P. *et al.* Chronic exposure of cultured transformed mouse epidermal cells to transforming growth factor β 1 induces an epithelial-mesenchymal transdifferentiation and a spindle tumoral phenotype. **Cell Growth & Different**, v. 6, p. 1027-35, 1995.
- CERNEA, C. R.; TEIXEIRA, G. V.; MEDINA DOS SANTOS, L. R. *et al.* Indications for, contraindications to, and interruption of craniofacial procedures – **Ann. Otol. Rhinol Laryngol.**, v. 106, p. 927-33, 1997.
- CHANG, F.; SYRJANEN, A.; TERVAHAUTA, A. *et al.* Tumorigenesis associated with the p53 tumor suppressor gene. **Br. J. Cancer**, v. 68 p. 653-61, 1993.
- CHARURUKS, N.; VORAVUD, N. Molecular biology of Head and neck tumorigenesis: the role of p53 expression and genetic instability. **J. Med. Assoc. Thai.**, v 79, p. 3-10, 1996.
- CHEN, P.L.; CHEN, Y.; BOOKSTEIN, R. *et al.* Genetic mechanisms of tumor suppression by the human p53 gene. **Science**, v. 250, p. 1576-9, 1990.
- CHUNG, K. Y.; MUKHOPADHYAY, T.; KIM, J. *et al.* Discordant p53 mutations in primary head and neck cancers and corresponding second primary cancers of upper aerodigestive tract. **Cancer Res.**, v. 53, p. 1676-83, 1993.

- CLAYMAN, G. L.; DEMONTE, F.; JAFFE, D. M. *et al.* Outcome and complications of extended cranial-base resection requiring microvascular free-tissue transfer. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 121, p. 1253-7, 1995.
- CLAYMAN, G. L.; EL-NAGGAR, A. K.; ROTH, J. A. *et al.* In vivomolecular therapy with p53 adenovirus for microscopic residual head and neck carcinoma. **Cancer Research**, v. 55, p. 1-6, 1995.
- CLAYMAN, G. L. Gene therapy for head and neck cancer. **Head Neck**, v. 17, p. 535-41, 1995.
- CLAYMAN, G. L.; LIU, T. J.; OVERHOLT, S. M. *et al.* Gene therapy for head and neck cancer: comparing the tumor suppressor gene p53 and a cell cycle regulator WAF1/C1P1 (p21). **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 122, p. 489-93, 1996.
- CLAYMAN, G. L.; EL-NAGGAR, A. K.; LIPPMAN, S. M. *et al.* Adenovirus-mediated p53 gene transfer in patients with advanced recurrent head and neck squamous cell carcinoma. **J. Clin. Oncol.**, v. 16, p. 2221-32, 1998.
- CLOOS, J.; BRAAKUIS, B. J. M.; STEEN, I. *et al.* Increased mutagen sensitivity in head and neck squamous-cell carcinoma patients, particularly those with multiple primary tumors. **In. J. Cancer**, v. 56, p. 816-9, 1996.
- COULTER, L. K.; WOLBER, R.; TRON, V. A. Site-specific comparison of p53 immunostaining in squamous cell carcinomas. **Hum. Pathol.**, v. 26, p. 531-3, 1995.
- CRUZ, I. B.; SNIJDERS, P. J.; MEIJER, C. J. *et al.* p53 expression above the basal cell layer in oral mucosa is an early event of malignant transformation and has predictive value for developing oral squamous cell carcinoma. **J. Pathol.**, v. 184, p. 360-8, 1998.

- CURTOIS, S. J.; WOODWORTH, C. D.; DEGREEF, H. *et al.* Early ultraviolet-B induced G1 arrest and suppression of the malignant phenotype by wild-type p53 in human squamous cell carcinoma cells. **Exp. Cell. Res.**, v. 233, p. 135-44, 1997.
- D'ERRICO, M.; CALCAGNILE, A. S.; CORONA, R. *et al.* p53 mutations and chromosome instability in basal cell carcinoma developed at an early or late age. **Cancer Res.**, v. 57, p. 747-52, 1997.
- DE ROSA, G.; STAIBANO, S.; BARRA, E. *et al.* p53 protein in aggressive and non-aggressive basal cell carcinoma. **J. Cutan. Pathol.**, v. 20, p. 429-34, 1993.
- DEI TOS, A. P.; DOGLIONI, C.; LAURINO, L. *et al.* p53 protein expression in non-neoplastic lesions and benign and malignant neoplasms of soft tissue. **Histopathology**, v. 22, p. 45-50, 1993.
- DELLACONO, F. R.; SPIRO, J.; EISMA, R. *et al.* Expression of basic fibroblast growth factor and its receptors by head and neck squamous carcinoma tumor and vascular endothelial cells. **Am. J. Surg.**, v. 174, p. 540-44, 1997.
- DENHART, B. C.; GUIDI, A. J.; TOGNAZZI, K. *et al.* Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in oral and laryngeal squamous cell carcinoma and dysplasia. **Lab. Invest.**, v. 77, p. 659-64, 1997.
- DIAS, F. L.; SÁ, G. M.; KLIGERMAN, J. *et al.* - Prognostic factors and outcome in craniofacial surgery for malignant cutaneous tumors involving the anterior skull base – **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 123, p. 738-42, 1997.
- DIAS, F. L.; SÁ, G. M.; KLIGERMAN, J. *et al.* Complications of anterior craniofacial resection. **Head Neck**, v. 21, p. 12-20, 1999.
- DIAS, F. L. **Análise do valor prognóstico de fatores histopatológicos e da expressão da proteína p53 em carcinomas epidermóides estágio I de lín-**

gua e soalho bucal. São Paulo, 1999. 181p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

DOMARUS, H.; STEVENS, P. J. Metastatic basal cell carcinoma: report of five cases and review of 170 cases in the literature. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 10, p. 1043-60, 1984.

DONEHOWER, L. A.; BRADLEY, A. The tumor suppressor p53. **Biochemica et Biophysica Acta**, v. 1155, p. 181-205, 1993.

DRAY, T. G.; HARDIN, N. J.; SOFFERMAN, R. A. Angiogenesis as prognostic marker in early head and neck cancer. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.**, v. 104, p. 724-9, 1995.

DUMAS, V.; KANITAKIS, J.; CHARVAT, S. et al. Expression of basement membrane antigens and matrix metalloproteinases 2 and 9 in cutaneous basal and squamous cell carcinomas. **Anticancer Res.**, v. 19, p. 2929-38, 1999.

DZUBOW, L.; GROSSMAN, D. Squamous cell carcinoma and verrucous carcinoma. In: FRIEDMAN, R. J.; DARRELL, S. R.; KOPF, A. W. ed. **Cancer of the skin**. Philadelphia, USA, Saunders, 1991. p. 74-84.

EISMA, R. J.; SPIRO, J. D.; KREUTZER, D. L. Vascular endothelial growth factor expression in head and neck squamous cell carcinoma. **Am. J. Surg.**, v. 174, p. 513-517, 1997.

ELLIS, L. M.; FIDLER, I. J. Angiogenesis and metastasis. **Eur. J. Cancer**, v. 32A, p. 2451-60, 1996.

EURA, M.; CHIKAMATSU, K.; KATSURA, F. et al. A wild-type sequence p53 peptide presented by HLA-A24 induces cytotoxic T lymphocytes that recognize squamous cell carcinomas of the head and neck. **Clin. Cancer Res.**, v. 6, p. 979-86, 2000.

FARMER, E. R.; HELWIG, E. B. Metastatic basal cell carcinoma: a clinico-pathological study of seventeen cases. **Cancer**, v. 46, p. 748-757, 1980.

FIELD, J. K.; SPANDIDOS, D. A.; MALLIRI, A. Elevated p53 expression correlates with a history of heavy smoking in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Br. J. Cancer**, v. 64, p. 573-77, 1991.

FIELD, J.K. Oncogenes and tumor-suppressor genes in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Oral. Oncol. Eur. J. Cancer**, v. 28B, p. 67-76, 1992.

FIELD, J.K.; SPANDIDOS, D. A.; YAGINISIS, M. *et al.* C-erb-B2 expression in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Anticancer Res.**, v. 12, p. 613-9, 1992.

FIELD, J. K.; PAVELIC, Z. P; SPANDIDOS, D. A. *et al.* The role of p53 tumor suppressor gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 119, p. 1118-22, 1993.

FISCH, U. The infratemporal fossa approach for nasopharyngeal tumors. **Laryngoscope**, v. 93, p. 36-41, 1983.

FITZPATRICK, P.J.; HARWOOD, A. A. Acute epithelioma: an aggressive squamous cell carcinoma of the skin. **Am. J. Clin. Oncol.**, v. 8 p. 468-71, 1985.

FLEURY, R. N.; BACCHI, C. E. S-100 protein and immunoperoxidase technique as an aid in the histopathologic diagnosis of leprosy. **Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.**, v. 55, p. 338-44, 1987.

FOLKMAN, J.; MERLER, E.; ABERNATHY, C. *et al.* Isolation of a tumor factor responsible for angiogenesis. **J. Exp. Med.**, v. 133, p. 275-88, 1971.

FOLKMAN, J.; WATSON, K.; INGBER, D. *et al.* Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. **Nature (Lond.)**, v.

339, p. 59-61, 1989.

FOLKMAN, J. New perspectives in clinical oncology from angiogenesis research. **Eur. J. Cancer**, v. 32A, p. 2534-9, 1996.

FRANCO, L. E.; KOWALSKI, L. P; KANDA, J. L. Risk factors for second cancers of the upper respiratory and digestive systems: a case-control study. **J. Clin. Epidemiol.**, v. 44, p. 615-25, 1991.

FRANCO, L. E. ; KOWALSKI, L. P. Design options for the study of second cancers. **J. Clin. Epidemiol.**, v. 44, p. 629-32, 1991.

FRANK, D. K.; FREDERIK, M. J.; LIU, T. J. *et al.* Bystander effect in the adenovirus-mediated wild-type p53 gene therapy model of human squamous cell carcinoma of the head and neck. **Clin. Cancer Res.**, v. 4, p. 2521-8, 1998.

FRANK, J. L.; BUR, M. E.; GARB, J. L. *et al.* p53 tumor suppressor oncogene expression in squamous cell carcinoma of the hypopharynx. **Cancer**, v. 73, p. 181-6, 1994.

FREDERICK, M. J.; HOLTON, P. R.; HUDSON, M. *et al.* Expression of apoptosis-related genes in human head and neck squamous cell carcinomas undergoing p53-mediated programmed cell death. **Clin. Cancer Res.**, v. 5, p. 361-9, 1999.

FREEMAN, R. G. Histopathologic considerations in the management of skin cancer. **J. Dermatol. Surg.**, v. 2, p. 215-9, 1976.

GALLO, O.; BIANCHI, S.; GIOVANUCCI-UZZIELLI, M. L. *et al.* p53 oncoprotein overexpression correlates with mutagen-induced chromosome fragility in head and neck cancer patients with multiple malignancies. **Br. J. Cancer**, v. 71, p. 1008-12, 1995.

GAPANY, M.; PAVELIC, Z. P; KELLEY, D. J. *et al.* Immunohistochemical de-

tection of c-myc protein in head and neck tumors. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 120, p. 255-9, 1994.

GASPARINI, G.; WEIDNER, N.; MALUTA, S. *et al.* Intratumoral microvessel density and p53 protein: correlation with metastasis in head and neck squamous-cell carcinoma. **Int. J. Cancer**, v. 55, p. 739-44, 1993.

GIATROMANOLAKI, A.; KOUKOURAKIS, M. I. *et al.* c-erbB-2 oncoprotein is overexpressed in poorly vascularised squamous cell carcinomas of the head and neck, but is not associated with response to cytotoxic therapy or survival. **Anticancer Res.**, v. 20, p. 997-1004, 2000.

GIROD, S. C.; PFEIFFER, P.; RIES, J. *et al.* Proliferative activity and loss of function of tumor suppressor genes as "biomarkers" in diagnosis and prognosis of benign and preneoplastic oral lesions and oral squamous cell carcinoma. **Br. J. Oral. Maxillofac. Surg.**, v. 36, p. 252-60, 1998.

GLEICH, L. L.; BIDDINGER, P. W.; PAVELIC, Z. P. *et al.* Tumor angiogenesis in T1 oral cavity squamous cell carcinoma: role of predicting tumor aggressiveness. **Head Neck**, v. 18, p. 343-6, 1996.

GLEICH, L. L.; BIDDINGER, P. W.; PAVELIC, Z. P. *et al.* Tumor angiogenesis as a prognostic indicator in T2-T4 oral cavity squamous cell carcinoma: a clinical-pathologic correlation. **Head Neck**, v. 19, p. 276-80, 1997.

GLICK, A. B.; LEE, M.; DARWICHE, N. *et al.* Targeted deletion of TGF-beta 1 gene causes rapid progression to squamous cell carcinoma. **Genes & Development**, v. 80, p. 2429-40, 1994.

GLOSTER, H. M. J. R.; BRODLAND, D. G. The epidemiology of skin cancer. **Dermatol. Surg.**, v. 22, p. 217-226, 1996.

GLUCKMAN, J. L.; STAMBROOK, P. J.; PAVELIC, Z. P. Prognostic signifi-

cance of p53 protein accumulation in early stage T1 oral cavity cancer. **Eur. J. Cancer**, v. 30B, p. 281, 1994.

GOLLIN, S. M. Chromosomal alterations in squamous cell carcinomas of the head and neck: window to the biology of the disease. **Head Neck**, v. 23, p. 238-53, 2001.

GONZALEZ-MOLES, M. A.; CABALLERO, R.; RODRIGUEZ-ARCHILLA, A. *et al.* Prognostic value of expression of Ki-67 for squamous cell carcinoma of the oral cavity. **Acta Stomatol. Belg.**, v. 93, p. 159-65, 1996.

GOODRICH, J. T. Historical antecedents of skull base surgery. In: JANECKA, I. P.; TIEDEMANN, K. ed. **Skull Base Surgery: Anatomy, Biology and Technology**. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1997. p.17-53

GOWN, A. M.; DE WEVER, N.; BATTIFORA, H. Microwave-based antigenic unmasking: a revolutionary new technique for routine immunohistochemistry. **Appl. Immunohistochemistry**, v. 1, p. 256-266, 1993.

GRIFFIOEN, A. W.; TROMP, S. C.; HILLEN, H. F. P. Angiogenesis modulates the tumor immune response. **Int. J. Exp. Pathol.**, v. 79, p. 363-8, 1998.

GROSSMAN, L.; WEI, Q. DNA repair and epidemiology of basal cell carcinoma. **Clin. Chem.**, v. 41, p. 1854-63, 1995.

GRZANKA, A.; SUJKOWSKA, R.; JANIĄK, A. . Immunogold labeling of PCNA and Ki-67 antigen at the ultrastructural level in laryngeal squamous cell carcinoma and its correlation with lymph node metastasis and histological grade. **Acta Histochem.**, v. 102, p. 139-49, 2000.

GUSTERSON, B.A.; ANBAZHAGAN, R.; WARREN, W. Expression of p53 premalignant and malignant squamous epithelium. **Oncogene**, v. 6, p.1785-9, 1991.

HARRIS, C. C. p53: At the crossroads of molecular carcinogenesis and risk assessment. **Science**, v. 262, p.1980-1, 1993.

HARRIS, C. C.; HOLLSTEIN, M. Clinical implications of the p53 tumor suppressor gene. **N. Engl. J. Med.**, v. 328, p. 1318-25, 1993.

HAVENITH, M. G.; ARENDS, J. W.; SIMON, R.. Type IV collagen immunoreactivity in colorectal cancer: prognostic value of basement membrane deposition. **Cancer**, v. 62, p. 2207-11, 1988.

HAYDON, R. C. III. Cutaneous squamous carcinoma and related lesions. **Otolaryngol. Clin. North. Am.**, v. 26, p. 57-71, 1993.

HEALY, E.; ANGUS, B.; LAWRENCE, C. M. *et al.* Prognostic value of Ki-67 antigen expression in basal cell carcinoma **Br. J. Dermatol.**, v. 133, p. 737-741, 1995.

HEGDE, P. U.; BRENSKI, A. C.; CALDARELLI, D. D. Tumor angiogenesis and p53 mutations: prognosis in head and neck cancer. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 124, p. 80-5, 1998.

HENDERSON, Y. C.; BREAU, R. L.; LIU, T. J. Telomerase activity in head and neck tumors after introduction of wild-type p53, p21, p16 and E2F-1 genes by means of recombinant adenovirus. **Head Neck**, v. 22, p. 347-54, 2000.

HERMEKING, H.; EICK, D. Mediation of c-myc-induced apoptosis by p53. **Science**, v. 265, p. 2091-3, 1994.

HINDS, P.; FINLAY, C.; LEVINE, A. J. Mutation is required to activate the p53 gene for cooperation with the *ras* oncogene and transformation. **J. Virol.**, v. 63, p.739-46, 1989.

HIROTA, J.; YONEDA, K.; OSAKI, T. Basement membrane type IV collagen

in oral squamous cell carcinoma. **Head Neck**, v. 12, p. 400-5, 1990.

HIRVIKOSKI, P.; KUMPULAINEN, E.; VIRTANIEMI, J. p53 and cell proliferation as prognostic factors in laryngeal squamous cell carcinoma. **J. Clin. Oncol.**, v. 15, p. 3111-20, 1997.

HÖGMO, A.; MUNCK-WIKLAND, E.; KUYLENSTIERNA, R. Nuclear DNA content and p53 immunostaining in metachronous preneoplastic lesions and subsequent carcinomas of the oral cavity. **Head Neck**, v. 18, p. 433-40, 1996.

HOLLSTEIN, M.; SIDRANSKY, D.; VOGELSTEIN, B. p53 mutations in human cancers. **Science**, v. 253, p. 49-53, 1991.

HORLOCK, N. M.; WILSON, G. D.; DALEY, F. M. Cellular proliferation characteristics of basal cell carcinoma: relationship to clinical subtype and histopathology. **Eur. J. Surg. Oncol.**, v. 23, p. 247-52, 1997.

HORLOCK, N. M.; WILSON, G. D.; DALEY, F. M. Cellular proliferation characteristics do not account for the behavior of horrifying basal cell carcinoma: a comparison of the growth fraction of horrifying and non horrifying tumors. **Br. J. Plast. Surg.**, v. 51, p. 59-66, 1998.

HSU, S. M.; RAINE, L. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 29, p. 577-80, 1981.

HUGHES, J. H.; ROBINSON, R. A. P53 expression in Bowen's disease and in microinvasive squamous cell carcinoma of the skin. **Mol. Pathol.**, v. 8, p. 526-9, 1995.

IBRAHIM, S. O.; VAASTRAND, E. M.; LIAVAAG, P. G. *et al.* Expression of c-erb proto-oncogene family members in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Anticancer Res.**, v. 17, p. 4539-46, 1997.

- IRISH, J. C.; GULLANE, O. J.; GENTILI, F. *et al.* Tumors of the skull base: outcome and survival analysis of 77 cases. **Head Neck**, v. 16, p. 3-10, 1994.
- JÄCKEL, M. C.; SELLMAN, L.; DORUDIAN, M. A. *et al.* Prognostic significance of p53/bcl-2 co-expression in patients with laryngeal squamous cell carcinoma **Laryngoscope**, v. 110, p. 1339-45, 2000.
- JACKSON, R.; ADAMS, R. H. Horrifying basal cell carcinoma: a study of 33 cases and a comparison with non-horror cases and a report on four metastatic cases. **J. Surg. Oncol.**, v. 5, p. 431-63, 1973.
- JACKSON, I. T.; LAWS, E. R.; MARTIN, R. D. A craniofacial approach to advanced recurrent cancer of the central face. **Head Neck Surg.**, v. 5, p. 474-8, 1984.
- JACKSON, I. T.; MARSH, W. R.,; HIDE, T. A. H. Treatment of tumors involving the anterior cranial fossa - **Head Neck Surg.**, v. 6, p. 901-913, 1984.
- JANECKA, I. P.; SEM, C.; SEKHAR, L. *et al.* Treatment of paranasal sinus cancer with cranial base surgery: results. **Laryngoscope**, v. 104, p. 553-5, 1994.
- JANECKA, I. P. Skull base surgery: Introduction. In: JANECKA, I. P.; TIEDEMANN, K. ed. **Skull Base Surgery: Anatomy, Biology and Technology**. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1997. p. 3-15.
- JIN, Y.; TIPOE, G. L.; WHITE, F. H. *et al.* A quantitative investigation of immunocytochemically stained blood vessels in normal, benign, premalignant and malignant human oral cheek epithelium. **Virchows Arch.**, v. 427, p. 145-51, 1995.
- JOHNSON, T. M.; ROWE, D. E.; NELSON, B. R. *et al.* Squamous cell carcinoma of the skin (excluding lip and oral mucosa. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 26, n.3 pt 2, p. 467-84, 1992.

- JONES, N. F.; HARDESTY, R. A.; SWARTZ, W. M. *et al.* Extensive and complex defects of the scalp, middle third of the face and palate: the role of microsurgical reconstruction. **Plast. Reconst. Surg.**, v. 82, p. 937-50, 1988.
- KALDOR, J.; SHUGG, D.; YOUNG, B. *et al.* Non-melanoma skin cancer: ten years of cancer-registry-based surveillance. **In. J. Cancer**, v. 53, p. 886-91, 1993.
- KANEKAWA, A.; TSUJI, T.; OGA, A. *et al.* Chromosome 17 abnormalities in squamous cell carcinoma of the oral cavity and its relationship with p53 and bcl-2 expression. **Anticancer Res.**, v. 19, p. 81-6, 1999.
- KANITAKIS, J.; NARAVAEZ, D.; EUVRARD, S. *et al.* Proliferation markers Ki-67 and PCNA in cutaneous squamous cell carcinomas: lack of prognostic value. **Br. J. Dermatol.**, v. 136, p. 633-53, 1997.
- KAUR, J.; SRIVASTA, A.; RALHAN, R. Overexpression of p53 protein in betal and tobacco-related human oral dysplasia and squamous-cell carcinoma in India. **Int. J. Cancer.**, v. 58, p. 340-5, 1994.
- KEARSLEY, J. H.; LEONARD, J. H.; WALSH, M. D. *et al.* A comparison of epidermal growth factor receptor (EGFR) and c-erb-B2 oncogene expression in head and neck squamous cell carcinomas. **Pathology**, v. 23, p. 189-94, 1991.
- KELLY, M. B.; WATERHOUSE, N.; SLADE, D. E. *et al.* a 5-year review of 71 consecutive anterior skull base tumors. **Br. J. Plast. Surg.**, v. 53, p. 184-90, 2000.
- KERSCHMANN, R. L.; MCCALMONT, T. H.; LEBOWITZ, P. E. p53 oncoprotein and proliferation index in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. **Arch. Dermatol.**, v. 130, p. 181-6, 1994.
- KETCHAM, A. S.; WILKINS, R. H.; VANBUREN, J. M. *et al.* A combined intracranial facial approach to the paranasal sinuses. **Am. J. Surg.**, v. 106, p. 698-703, 1963.

- KETCHAM, A. S.; CHRETIEN, P. B.; VANBUREN, J. M. The ethmoid sinuses: a re-evaluation of surgical resection. **Am. J. Surg.**, v. 126, p. 469-76, 1973.
- KETCHAM, A. S.; VANBUREN, J. M. Tumors of the paranasal sinuses: a therapeutic challenge. **Am. J. Surg.**, v. 150, 406-34, 1985.
- KINNEY, S. E.; WOOD, B. G. Malignancies of the ear canal and temporal bone: surgical techniques and results. **Laryngoscope**, v. 97, p. 158-63, 1987.
- KOCH, W. M.; BOYLE, J. O.; MAO, L. *et al.* p53 gene mutations as markers of tumor spread in synchronous oral cancers. **Acrh. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 120, p. 943-7, 1994.
- KOCH, W. M.; BRENNAN, J. A.; ZAHURAK, M. *et al.* p53 mutation and locoregional treatment failure in head and neck squamous cell carcinoma. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 88, p. 1580-6, 1996.
- KONISHI, K.; YAMANISHI, K.; ISHIZAKI, K. *et al.* Analysis of p53 mutations and loss of heterozygosity for loci on chromosome 9q in basal cell carcinoma. **Cancer Lett.**, v. 79, p. 67-72, 1994.
- KNUDSON, A. Genetics of tumors of the head and neck. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 119, p. 735-7, 1993.
- KRAEMER, K. H.; LEE, M. M.; SCOTTO, J. Xeroderma pigmentosum. **Arch. Dermatol.**, v. 123, p. 241-50, 1987.
- KRAUS, D. H.; SHAH, J. P.; ARBIT, E. *et al.* Complications of craniofacial resection for tumors involving the anterior skull base. **Head Neck**, v. 16, p. 307-12, 1994.
- KRESPI, Y. P.; SISSON, G. A. Skull base surgery in composite resection. **Arch. Otolaryngol.**, v. 108, p. 681-4, 1982.

- KRESPI, Y. P. Lateral skull base surgery for cancer. **Laryngoscope**, v. 99, p. 514-24, 1989.
- KUMAGAI, S.; KOJIMA, S.; IMAI, K. *et al.* Immunohistologic distribution of basement membrane in oral squamous cell carcinoma. **Head Neck**, v. 16, p. 51-7, 1994.
- KUROPKAT, C.; RUDOLPH, P.; FRAHM, S. O. *et al.* Proliferation marker Ki-S11 – a prognostic indicator for squamous cell carcinoma of the hypopharynx. **Virchows. Arch.**, v. 435, p. 590-5, 1999.
- KUSUKAWA, J.; SASAGURI, Y. Expression of matrix metalloproteinase-2 related to lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma. A clinicopathologic study. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 99, p. 18-23, 1993.
- LAKE, D. Worrying about p53. **Current. Biology.**, v. 2, p. 581-3, 1992.
- LANE, D. P.; CRAWFORD, L. V. T-antigen is bound to a host protein in SV40 transformed cells. **Nature**, v. 278, p. 261-3, 1979.
- LANG, P. G.; KENDRICK, J. H.; FLANIGIN, H. *et al.* Surgical management of advanced scalp cancer. **Head Neck Surg.**, v. 5, p. 299-305, 1983.
- LANG, P. G.; MAIZE, J. C. Basal cell carcinoma. In: FRIEDMAN, R. J.; RIGEL, D. S.; KOPF, A. W. ; HARRIS, M. N. BAKER D, ed. **Cancer of the skin**, Philadelphia, USA, W.B. Saunders Company, 1991. p. 35-73.
- LARCHER, F.; ROBLES, A. I.; DURAN, H. *et al.* Up-regulation of vascular endothelial growth factor / vascular permeability factor in mouse skin carcinogenesis correlates with malignant progression state and activated H-ras expression levels. **Cancer. Res.**, v. 56 p. 5391-6, 1996.
- LASSALETTA, L.; BRANDARIZ, J. A. *et al.* p53 expression in locally advanced

pharyngeal squamous cell carcinoma. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 125 p. 1356-9, 1999.

LATTES, R.; KESSLER, R. W. Metastasizing basal-cell epithelioma of the skin: report of two cases. **Cancer**, v. 30, p. 866-78, 1951.

LEE, N. K. Oncogenes. **Head Neck**, v. 14, p. 235-42, 1992.

LEE, N. K.; YEY, W.; CHEN, J. p53, retinoblastoma, and human papillomavirus in squamous cell carcinoma and adjacent normal mucosa of the upper aerodigestive tract. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 119, p. 1125-31, 1993.

LEE, Y. S.; TEH, M.. p53 expression in pseudoepitheliomatous hyperplasia, keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the skin. **Cancer**, v. 73, p. 2317-23, 1994.

LEEDY, D. A.; TRUNE, D. R.; KRONZ, J. D. *et al.* Tumor angiogenesis, the p53 antigen and cervical metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 111, p. 417-22, 1994.

LEONARD, H. L.; KEARSLEY, J. H.; CHENOVIX-TRENCH, G. *et al.* Analysis of gene amplification in head and neck squamous cell carcinomas. **Int. J. Cancer**, v. 48, p. 511-15, 1991.

LEVER, W. F.; SCHAUMBURG –LEVER, G. **Histopathology of the skin**. Philadelphia, USA, J.B. Lippincott Company, 6th ed., 1983. p. 472-521.

LEVINE, A. J.; MOMAND, J.; FINLAY, C. A. The p53 suppressor gene. **Nature**, v. 351, p. 453-6, 1991.

LEVINE, A. J. The road to the discovery of the p53 protein. **Int. J. Cancer**, v. 56, p.775-6, 1994.

- LEVINE, A. J. P53, the cellular gatekeeper for growth and division. **Cell**, v. 88, p. 323-331, 1997.
- LEVINE, P. A.; DEBO, R. F.; MEREDITH, S. D. *et al.* Craniofacial resection at the University of Virginia (1976-1992): survival analysis. **Head Neck**, v. 16, p. 574-77, 1994.
- LI, F. P.; FRAUMENI, JR., J. F.; MULVIHILL, J. J. *et al.* A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. **Cancer Res.**, v. 48, p. 5358-62, 1988.
- LIN, K.; QU-HONG, J. A.; NAGY, I. A. *et al.* Vascular targeting of solid and ascites tumors with antibodies to vascular endothelial growth factor. **Eur. J. Cancer**, v. 32^A, p. 2647-73, 1996.
- LINGEN, M.W.; POLVERINI, O. J.; BOUCK, N. P. Inhibition of squamous cell carcinoma angiogenesis by direct interaction of retinoic acid with endothelial cells. **Laboratory Investigation**, v. 74, p. 476-83, 1996.
- LINGEN, M. W.; CHANG, K. W.; MCMURRAY, S. J. *et al.* Overexpression of p53 in squamous cell carcinoma of the tongue in young patients with no known risk factors is not associated with mutations in exons 5-9. **Head Neck**, v. 22, p. 328-35, 2000.
- LINZER, D. I. H.; LEVINE, A. J. Characterization of a 54 K dalton cellular SV40 tumor antigen in SV40 transformed cells. **Cell**, v. 17, p. 43-52, 1979.
- LIOTTA, L. A.; TRYGGVASON, K.; GARBISA, M. *et al.* Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. **Nature**, v. 284, p. 67-8, 1980.
- LIOTTA, L. A. Tumor invasion and metastases: role of the extracellular matrix. **Cancer Res.**, v. 46, p. 1-7, 1986.

- LIPPMAN, S. M.; SHIN, D. M.; LEE, J. J. *et al.* p53 and retinoid chemoprevention of oral carcinogenesis. **Cancer Res.**, v. 55, p. 16-9, 1995.
- LIU, B.; ZHANG, H.; LI, S. *et al.* The expression of c-erb-B1 and c-erb-B2 oncogenes in basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the skin. **Chin. Med. Sci. J.**, v. 11, p. 106-9, 1996.
- LOGULLO, A. F.; KOWALSKI, L. P.; NONOGAKI, S. *et al.* p53 overexpression in epidermoid carcinoma of the head and neck. **Rev. Paul. Med.**, v. 115, p. 1349-55, 1997.
- LOGULLO, A. F.; DE MOURA, R. P.; NONOGAKI, S. *et al.* A proposal for the integration of immunohistochemical staining and DNA-based techniques for the determination of TP53 mutations in human carcinomas. **Diag. Mol. Pathol.**, v. 9, p. 35-40, 2000.
- LOPES, A.; NAKAGAWA, W. T.; MELLO, C. A. L. Oncogenes e genes supressores de tumor: um equilíbrio necessário. In: ROSSI, M. R.; PINHO, M. ed. **Genética e biologia molecular para o cirurgião**. São Paulo, Lemar – Livraria e Editora Martins, 1999. p. 125-142.
- LUND, V. J.; HOWARD, D. J.; WEI, W. I. *et al.* Craniofacial resection for tumors of the nasal cavity and paranasal sinuses – a 17-year experience. **Head Neck**, v. 20, p. 97-105, 1998.
- MA, L.; RONAI, A.; RIEDE, U. M. *et al.* Clinical implication of screening p53 gene mutations in head and neck squamous carcinoma. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 124, p. 389-96, 1998.
- MACCHIARINI, P.; FONTANINI, G.; HARDIN, M. J. *et al.* Relation of neovascularization to metastasis of non-small-cell lung cancer. **Lancet**, v. 340, p. 145-146, 1992.

- MACCUNE, B. K.; PATTERSON, K.; CHANDRA, R. S. *et al.* Expression of transforming growth factor β isoforms in small round cell tumors of childhood. **Am. J. Pathol.**, v. 142, p. 49-58, 1993.
- MACDONALD III, R. R.; RIDENOUR, B. D. Nonmelanoma skin cancer: biologic behavior and surgical therapy. In: THAWLEY, S. E.; PANJE, W. R.; BATSAKIS, J. G.; LINDBERG, R. D. ed. **Comprehensive management of Head and Neck Tumors** Philadelphia, USA, W.B. Saunders Company, 2nd edition, 1999. p. 1277-92.
- MAESTRO, R.; DOLCETTI, R.; GASPAROTTO, D. *et al.* High frequency of p53 gene alterations associated with protein overexpression in human squamous cell carcinoma of the larynx. **Oncogene**, v. 7, p. 1159-66, 1992.
- MANSOOR, A.; MCKEE, P. H.; SIMPSON, J. A. *et al.* Prognostic significance of Ki-67 and p53 immunoreactivity in cutaneous squamous cell carcinomas. **Am. J. Dermatopathol.**, v. 18, p. 351-357, 1996.
- MARGARINO, G.; SCALA, M.; MEREU, P. *et al.* Combined craniofacial approach to facial tumors involving the anterior skull base. **Eur. J. Surg. Oncol.**, v. 22, p. 361-5, 1996.
- MARSHALL, C. J. Tumor suppressor genes. **Cell**, v. 64, p. 313-26, 1991.
- MARTINEZ-HERNANDEZ, A.; AMENTA, O. S. The basement membrane in pathology. **Lab. Invest.**, v. 48, p. 656-77, 1983.
- MATSUMURA, T.; YOSHIHAMA, Y.; KIMURA, T. *et al.* p53 and mdm2 expression in oral squamous cell carcinoma. **Oncology**, v. 53, p. 308-12, 1996.
- MATSUTA, M.; KON, S.; SASAKI, K. *et al.* Immunohistochemical detection of p21/WAF1/CIP1 and p53 protein in formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections of squamous cell carcinoma of the skin. **J. Dermatol. Sci.**, v. 14, p. 233-9, 1997.

- MCGREGOR, J. M.; YU, C. C.; DUBLIN, E. A. *et al.* Aberrant expression of p53 tumor -suppressor protein in non-melanoma skin cancer. **Br. J. Dermatol.**, v. 127, p. 463-9, 1992.
- MCGREGOR, J. M.; FARTHING, A.; CROOK, T. *et al.* Posttransplant skin cancer: a possible role for p53 gene mutation but not for oncogenic human papillomaviruses. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 30, p. 701-6, 1994.
- MCNAMARA, A.; HARMEY, J. H.; WALSH, T. N. *et al.* Significance of angiogenesis in cancer therapy. **Br. J. Surg.**, v. 85, p. 1044-55, 1998.
- MEDINA, J.; PARK, A. O.; NEELY, J. G. *et al.* Lateral temporal bone resections. **Am. J. Surg.**, v. 160, p. 427-33, 1990.
- MEDINA DOS SANTOS, L. R.; CERNEA, C. R.; BRANDÃO, L. G. *et al.* Results and prognostic factors in skull base surgery. **Am. J. Surg.**, v. 168, p. 481-484, 1994.
- MENN, H.; ROBINS, P.; KOPF, A. W. *et al.* The recurrent basal cell epithelioma. **Arch. Dermatol.**, v. 103, p. 628-631, 1971.
- MINETA, H.; BORG, A.; DICTOR, M. *et al.* p53 mutation, but not p53 overexpression, correlates with survival in head and neck squamous cell carcinoma. **Br. J. Cancer**, v. 78, p. 1084-90, 1998.
- MOLÈS, J. P.; MOYRET, C.; GUILLOT, B. *et al.* p53 mutations in human epithelial skin cancers. **Oncogene**, v. 8, p. 583-8, 1993.
- MONTENARH, M. Biochemical properties of the growth suppressor/oncoprotein p53. **Oncogene**, v. 7, p. 1673-80, 1992.
- MORAIS-BESTEIRO, J.; CERNEA, C. R.; MEDINA DOS SANTOS, L. R.; *et al.* Microvascular Flaps in Head and Neck Reconstruction. **Head Neck**,

v. 12, p. 21-30, 1990.

MOUSA, S. A. Angiogenesis promoters and inhibitors: potential therapeutic implications. **Molec. Med. Today**, v. 9, p. 140-2, 1996.

MUNIRAJAN, A. K.; TSUTSUMI-ISHI, Y.; MOHANPRASAD, K. C. *et al.* p53 gene mutations in oral carcinomas from India. **Int. J. Cancer**, v. 66, p. 297-300, 1996.

MURRAY, J. D.; CARLSON, G. W.; MCLAUGHLIN, K. *et al.* Tumor angiogenesis as a prognostic factor in laryngeal cancer. **Am. J. Surg.**, v. 174, p. 523-6, 1997.

NADAL, A.; CAMPO, E.; PINTO, J. *et al.* . p53 expression in normal, dysplastic, and neoplastic laryngeal epithelium: absence of correlation with prognostic factors. **J. Pathology**, v. 175, p. 181-8, 1995.

NAGAI, M. A.; MEDEIROS, A. C.; BRENTANI, M. M. *et al.* . Five distinct deleted regions on Chromosome 17 defining different subsets of human primary breast tumors. **Oncology**, v. 52, p. 448-53, 1994.

NAGAI, M. A.; MIRACCA, E. C.; YAMAMOTO, L. *et al.* TP53 mutations in upper aerodigestive squamous cell carcinomas from a group of Brazilian patients. **Am. J. Surg.**, v. 170, p. 1-3, 1995.

NAKAJIMA, M.; WELCH, D. R.; BELLONI, P. N. *et al.* Degradation of basement membrane type IV collagen and lung subendothelial matrix by rat mammary adenocarcinoma cell clones of differing metastatic potentials. **Cancer Res.**, v. 15, p. 4869-76, 1987.

NAKANISHI, Y.; NOGUCHI, M.; MATSUNO, Y. *et al.* p53 expression in multicentric squamous cell carcinoma and surrounding squamous epithelium of the upper aerodigestive tract: immunohistochemical analysis of 95 lesions. **Cancer**, v. 75, p. 1657-62, 1995.

- NAKAZAWA, H.; ENGLISH, D.; RANDELL, P. UV and skin cancer: specific p53 gene mutation in normal skin as a biologically relevant exposure measurement. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 91, p. 360-4, 1994.
- NAYAK, U. K.; DONALD, P. J.; STEVENS, D. Internal carotid artery resection for invasion of malignant tumors. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 121, p. 1029-33, 1995.
- NEES, M.; HOMANN, N.; DISCHER, H.; . Expression of mutated p53 in tumor-distant epithelia of head and neck cancer patients: a possible molecular basis for the development of multiple tumors. **Cancer Res.**, v. 53, p. 4189-96, 1993.
- NIAZI, Z. B. M.; LAMBERTY, B. G. H. Perineural infiltration in basal cell carcinomas. **Br. J. Plast. Surg.**, v. 46, p. 156-7, 1993.
- NIBU, K. I.; YANAGISAWA, A.; NAKAMIZO, M. *et al.* Clinical role of p53 and p21 WAF1/CIP1 in squamous cell carcinoma of the pyriform sinus. **Acta Otolaryngol.**, v. 118, p. 432-7, 1998.
- NICOLSON, G. L.; POSTE, G. Tumor implantation and invasion at metastatic sites. **Int. Ver. Exp. Pathol.**, v. 25, p. 77-81, 1983.
- NIGRO, J. M.; BAKER, S. J.; PREISINGER, A. C. *et al.* Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. **Nature**, v. 342, p. 705-9, 1989.
- NYLANDER, K.; STENLING, R.; GUSTAFSSON, H. *et al.* p53 expression and cell proliferation in squamous cell carcinomas of the head and neck. **Cancer**, v. 75, p. 87-93, 1995.
- OBATA, A.; EURA, M.; SASAKI, J. *et al.* Clinical significance of p53 functional loss in squamous cell carcinoma of the oropharynx. **Int. J. Cancer**, v. 89, p. 187-93, 2000.

- OGDEN, G. R.; KIDDIE, R. A.; LUNNY, D. P. *et al.* Assessment of p53 protein expression in normal, benign and malignant oral mucosa. **J. Pathol.**, v. 166, p. 389-94, 1992.
- OGURO, K.; KAZAMA, T.; ISEMURA, M. *et al.* Immunohistochemical alterations in basement membrane components of squamous cell carcinoma. **J. Invest. Dermatol.**, v. 92, p. 250-4, 1991.
- OLIVEIRA, N. I. M. **Expressão imuno - histoquímica da proteína p53 nos carcinomas basocelulares primários agressivos e não - agressivos.** São Paulo, 1998, 134p. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina
- OLSON, D. C.; LEVINE, A. J. The properties of p53 proteins selected for the loss of suppression of transformation. **Cell Growth Differen.**, v. 5, p. 61-71, 1994.
- ORAM, Y.; ORENGO, I.; BAER, S. C. *et al.* p53 protein expression in squamous cell carcinomas from sun-exposed and non-sun—exposed sites. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 31, p. 417-22, 1994.
- OSAKI, T.; KIMURA, T.; TATEMOTO, Y. *et al.* Risk factors of metastasis in oral squamous cell carcinomas. **Oncology**, v. 58, p. 137-43, 2000.
- OUHTIT, A.; NAKAZAWA, H.; ARMSTRONG, B. K. *et al.* UV – radiation-specific p53 mutation frequency in normal skin as a predictor of risk of basal cell carcinoma. **J. Natl. Cancer. Inst.**, v. 90, p. 523-31, 1998.
- OZBUN, M. A.; BUTEL, J. S. P53 tumor suppressor gene: structure and function. **Encyclopedia of Cancer**, v. 2, p. 1240-57, 1997.
- PAI, H. H.; ROCHON, L.; CLARK, B. *et al.* Overexpression of p53 protein does not predict local-regional control or survival in patients with early-stage squamous cell carcinoma of the glottic larynx treated with radio-

therapy. **Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.**, v. 41, p. 37-42, 1998.

PANJE, W. R.; CEILLEY, R. I. The influence of embriology of the midface on the spread of epithelial malignancies. **Laryngoscope**, v. 89, p. 1914-20, 1979.

PARISE JR, O. Papel prognóstico da expressão imunohistoquímica de p53, c-erb-B2 e EGFR no carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço e mucosa adjacente. São Paulo, 1999, 84p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina - Universidade de São Paulo.

PAVELIC, Z. P.; GLUCKMAN, J. L. The role of p53 tumor suppressor gene in human head and neck tumorigenesis. **Acta Otolaryngol (Stockh)**, v. 527 (Suppl), p. 21-4, 1997.

PAZOUKI, S.; CHRISHOLM, D. M.; ADI, M. M. *et al.* The association between tumor progression and vascularity in the oral mucosa. **J. Pathol.**, v. 183, p. 39-43, 1997.

PELTON, R. W.; SAXENA, B.; JONES, M. *et al.* Immunohistochemical localization of GFβ1, TGFβ2, and TGFβ3 in the mouse embryo: expression patterns suggest multiple roles during embryonic development. **J. Cell Biol.**, v. 115, p. 1091-1105, 1991.

PENSAK, M. L.; GLEICH, L. L.; GLUCKMAN, J. L. *et al.* Temporal bone carcinoma: contemporary perspectives in the skull base surgical era. **Laryngoscope**, v. 106, p. 1234-7, 1996.

PERRY, M. E.; LEVINE, A.; J. Tumor-suppressor p53 and the cell cycle. **Current Op. Gen. Biol.**, v. 3, p. 50-4, 1993.

PETRUZZELLI, G. Tumor angiogenesis. **Head Neck**, v. 18, p.283-91, 1996.

PETRUZZELLI, G.; BENEFIELD, J.; TAITAZ, A. D. *et al.* Heparin-binding

growth factor (s) derived from head and neck squamous cell carcinoma induce endothelial cell proliferation. **Head Neck**, v. 19, p. 576-82, 1997.

PICKSLEY, S. M.; LANE, D. P. p53 and Rb: their cellular roles. **Curr. Op. Gen. Bio.**, v. 6, p. 853-8, 1994.

PIFFKO, J.; BANKFALVI, A.; TORY, K. *et al.* Molecular assessment of p53 abnormalities at the invasive front of oral squamous cell carcinomas. **Head Neck**, v. 20, p. 8-15, 1998.

PILCH, H.; WEISS, J.; HEUBNER, C. *et al.* Differential diagnosis of keratoacanthoma and squamous cell carcinomas: diagnostic value of DNA image cytometry and p53 expression. **J. Cutan. Pathol.**, v. 21, p. 507-13, 1994.

POMERANZ, S.; SEKHAR, L. N.; JANECKA, I. P. *et al.* Classification, technique and results of surgical resection of petrous bone tumors. In: SKHAR, L. N.; JANECKA, I. P. ed. **Surgery of Cranial Base Tumors** New York, Raven Press Ltd., 1993. p.317-35.

PORTER, P. L.; GOWN, A. M.; KRAMP, S. G. *et al.* Widespread p53 overexpression in human malignant tumors. **Am. J. Pathol.**, v. 140, p. 145-53, 1992.

PRUNERI, G.; PIGNATARO, L.; CARBONI, N. *et al.* Clinical relevance of p53 and bcl-2 protein overexpression in laryngeal squamous-cell carcinoma. **Int. J. Cancer**, v. 79, p. 263-8, 1998.

QUON, H.; LIU, F. F.; CUMMINGS, B. J. Potential molecular prognostic markers in head and neck squamous cell carcinomas. **Head Neck.**, v. 23, p. 147-59, 2001.

RADY, P.; SCINICARIELLO, F.; WAGNER, R. F. *et al.* p53 mutations in basal cell carcinomas. **Cancer Res.**, v. 52, p. 3804-6, 1992.

- RANDLE, H. W.; ROENIGK, R. K.; BRODLAND, D. G. Giant basal cell carcinoma (T3). **Cancer**, v. 72, p. 1624-30, 1993.
- RASMUSSEN, H. B.; TEISNER, B.; ANDERSEN, J. A. *et al.* Immunohistochemical studies on the localization of fetal antigen 2 (FA2), laminin and collagen type 4 in basal cell carcinoma. **J. Cutan. Pathol.**, v. 18, p. 215-9, 1991.
- RAY, B. S.; MCLEAN, J. M. Combined intracranial and orbital operations for retinoblastoma. **Arch. Ophthalmol.**, v. 30:437-45, 1943.
- RAYBAUD, H.; FORTIN, A.; BAIRATI, I. *et al.* Nuclear DNA content, na adjunct to p53 and Ki67 as a marker of resistance to radiation therapy in oral cavity and pharyngeal squamous cell carcinoma. **Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.**, v. 29, p. 36-41, 2001.
- REISS, M.; VELLUCCI, V. F.; ZHOU, Z. Mutant p53 tumor suppressor gene causes resistance to transforming growth factor β 1 in murine keratinocytes. **Cancer Res.**, v. 33, p. 899-904, 1993.
- REN, Z. P.; ONTÉN, F.; NISTÉR, M.; *et al.* Two distinct p53 immunohistochemical patterns in human squamous-cell cancer, precursors and normal epidermis. **Int. J. Cancer**, v. 69, p. 174-179, 1996.
- RENNER, G. J.; GASTON II, D. A.; CLARK, D. P. Controversy in the management of tumors of the skin. In: THAWLEY, S. E.; PANJE, W. R.; BATSAKIS, J. G.; LINDBERG, R. D. ed. **Comprehensive management of Head and Neck Tumors**. Philadelphia, USA, W.B. Saunders Company, 2nd edition, 1999. p. 1309-19.
- RHIM, K. J.; HONG, S. I.; HONG, W. S. *et al.* Over-expression of p53 protein in squamous cell carcinoma of the skin. **J. Korean. Med. Sci.**, v. 10, p. 36-41, 1995.
- RIBEIRO JR, U.; SAFATLE-RIBEIRO, A. V.; POSNER, M. *et al.* Comparative

p53 mutational analysis of multiple cancers of the upper aerodigestive tract. **Surgery**, v. 120, p. 45-53, 1996.

RIETHDORF, S.; FRIEDRICH, R. E.; OSTWALD, C. *et al.* p53 gene mutations and HPV infections 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. 315-21, 1997.

RIVIERE, A.; WILCKENS, C. *et al.* Expression of c-erbB2 and c-myc in squamous epithelia and squamous cell carcinomas of the head and neck and the lower female genital tract. **J. Oral. Pathol. Med.**, v. 19, p. 408-13, 1990.

RO, Y. S.; COOPER, P. N.; LEE, J. A. *et al.* p53 protein expression in benign and malignant skin tumors. **Br. J. Dermatol.**, v. 128, p. 237-41, 1993.

ROBERTS, A. B.; SPORN, M. B. The Transforming Growth factor β - **Growth factors**, v. 8, p. 418-72, second edition, 1993.

ROBINSON, J. K.; RADEMAKER, A. W.; GOOLSBY, C. *et al.* DNA ploidy in nonmelanoma skin cancer. **Cancer**, v. 77, p. 284-91, 1996.

ROLAND, N. J.; CASLIN, A. W. *et al.* Has the cellular proliferation marker Ki67 any clinical relevance in squamous cell carcinoma of the head and neck? **Clin. Otolaryngol.**, v. 19, p. 13-8, 1994.

ROSEN, H. M.; SIMEONE, F. A.; BRUCE, D. A. Single stage composite resection and reconstruction of malignant anterior skull base tumors. **Neurosurgery**, v. 18, p. 7-11, 1986.

ROSENSTEIN, B. S.; PHELPS, R. G.; WEINSTOCK, M. A. *et al.* p53 mutations in basal cell carcinomas arising in routine users of sunscreens. **Photochem. Photobiol.**, v. 70, p. 798-806, 1999.

- ROSNER, B. ed. **Fundamentals of Biostatistics**, Massachusetts, USA, PWS Publishers, 2nd Edition, 1986. p. 246-51.
- ROSNER, B. ed. **Fundamentals of Biostatistics**, Massachusetts, USA, PWS Publishers, 2nd Edition, 1986, p. 326-332.
- ROUX, F. X.; BRASNU, D.; MENARD, M. *et al.* Les abords combinés des tumeurs malignes de l'ethmoïde et autres sinus paransaux. **Ann. Oto-Laryng. (Paris)**, v. 108, p. 292-7, 1991.
- ROWE, D. E.; CARROLL R. J.; DAY JR, C. L. Prognostic factors for local recurrence, metastasis and survival rates in squamous cell carcinoma of the skin, ear and lip: implications for the treatment modality selection. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 26, p. 976-90, 1992.
- ROWLEY, H. HELLIWELL, T. R.; JONES, A. S. *et al.* An immunohistochemical analysis of p53 protein expression in pre-malignant and malignant tissues of the oral cavity. **Clin. Otolaryngol.**, v. 22, p. 23-9, 1997.
- ROYCHOWDHURY, D. F.; TSENG JR, A.; FU, K. K. *et al.* New prognostic factors in nasopharyngeal carcinoma. **Cancer**, v. 77, p. 1419-26, 1996.
- RUHOY, S. M.; FLYNN, K. J.; DEGUZMAN, M. J. *et al.* Pathology of selected skin lesions of the Head and Neck. In: BARNES, L. ed. **Surgical Pathology of the Head and Neck**, 2nd ed., 2001. p. 1793-1875.
- SAKAI, E.; TSUCHIDA, N. Most human squamous cell carcinomas in the oral cavity contain mutated p53 tumor-suppressor genes. **Oncogene**, v. 7, p. 927-33, 1992.
- SAKAI, E.; RIKIMARU, K.; UEAD, M. *et al.* The p53 tumor-suppressor gene and *ras* oncogene mutations in oral squamous-cell carcinoma. **Int. J. Cancer**, v. 52, p. 867-72, 1992.

- SAKR, W. A.; ZARBO, R. J. et al. Distribution of basement membrane in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Hum. Pathol.**, v. 18, p. 1043-50, 1987.
- SAMARA, G.; HURWITZ, M.; SAWICKI, M. et al. Molecular mechanisms of tumor formation. **Am. J. Surg.**, v. 164, p. 389-96, 1992.
- SAMPAIO, S. A. P.; RIVITTI, E. A. ed. **Dermatologia** – 2ª ed., São Paulo, Livraria Artes Médicas, 2000. p. 839-845.
- SAITO, K.; FUKUTA, K.; TAKAHASHI, M. et al. Management of the cavernous sinus in en bloc resections of malignant skull base tumors. **Head Neck**, v. 21, p. 734-42, 1999.
- SAUTER, E. R.; RIDGE, J. A.; GORDON, J. et al. p53 overexpression correlates with increased survival in patients with squamous carcinoma of the base of the tongue. **Am. J. Surg.**, v. 164, p. 651-3, 1992.
- SAUTER, E. R.; CLEVELAND, D.; TROCK, B. et al. p53 is overexpressed in fifty percent of pre-invasive lesions of head and neck epithelium. **Carcinogenesis**, v. 15, p. 2269-74, 1994.
- SCHMITT, F. C.; BACCHI, C. E. S-100 protein: is it useful as a tumor marker in diagnostic immunocytochemistry? **Histopathology**, v. 15, p. 281-8, 1989.
- SCHRAMM, V. L.; MYERS, E. M.; MAROON, J. C. Anterior skull base surgery for benign and malignant disease. **Laryngoscope**, v. 89, p. 1077-91, 1991.
- SHAH, J. P.; GALICICH, J. H. Craniofacial resection for malignant tumors of ethmoid and anterior skull base. **Arch. Otolaryngol.**, v. 103, p. 514-7, 1977.
- SHAH, J. P.; SUNDARESAN, N.; GALICICH, J. et al. Craniofacial resections for tumors involving the base of the skull. **Am. J. Surg.**, v. 154, p. 352-8, 1987.

SHAH, J. P.; KRAUS, D. H.; ARBIT, E. *et al.* Craniofacial resection for tumors involving the anterior skull base. **Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 106, p. 387-93, 1992.

SHAHNAVAZ, A. S.; REGEZI, J. Á.; BRADLEY, G. *et al.* p53 gene mutations in sequential oral epithelial dysplasias and squamous cell carcinomas. **J. Pathol.**, v. 190, p. 417-22, 2000.

SHAW, P. H. The role of p53 in cell cycle regulation. **Path. Res. Pract.**, v. 192, p. 669-75, 1996.

SCHULLER, D. E.; GOODMAN, J. H.; MILLER, C. A. Reconstruction of the skull base. **Laryngoscope**, v. 94, p. 1359-64, 1984.

SHEA, C. R.; MCNUTT, N. S.; VOLKENANDT, M. *et al.* Overexpression of p53 protein in basal cell carcinomas of human skin. **Am. J. Pathol.**, v. 141, p. 25-9, 1992.

SHI, S. R.; KEY, M. E.; KALRA, K. L. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 39, p. 741-8, 1991.

SHIGA, H.; HEATH, E. I. *et al.* Prognostic value of p53, glutathione S-transferase pi, and thymidylate synthase for neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy in head and neck cancer. **Clin. Cancer Res.**, v. 5, p. 4097-104, 1999.

SHIGA, H.; RASMUSSEN, A. A.; JOHNSTON, P. G. *et al.* Prognostic value of c-erb-B2 and other markers in patients treated with chemotherapy for recurrent head and neck cancer. **Head Neck**, v. 22, p. 599-608, 2000.

SHIMIZU, T.; MUTO, M.; MURAKAMI, T. *et al.* Overexpression of p53 protein associated with proliferative activity as evaluated by Ki-67

immunostaining in well-differentiated squamous cell carcinoma of the skin. **Dermatology**, v. 195, p. 224-7, 1997.

SHIN, D. M.; KIM, J.; RO, J. Y. *et al.* Activation of p53 gene expression in premalignant lesions during head and neck tumorigenesis. **Cancer Res.**, v. 54, p. 321-6, 1994.

SHIN, D. M.; LEE, J. S.; LIPPMAN, S. M.; *et al.* p53 expressions: predicting recurrence and second primary tumors in head and neck squamous cell carcinomas. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 88, p. 519-29, 1996.

SHINOHARA, M.; NAKAMURA, S.; HARADA, T. *et al.* Mode of tumor invasion in oral squamous cell carcinoma: improved grading based on immunohistochemical examination of extracellular matrices. **Head Neck**, v. 18, p. 153-9, 1996.

SHINTANI, S.; YOSHIHAMA, Y.; EMILIO, A. R. *et al.* Overexpression of p53 is an early event in the tumorigenesis of oral squamous cell carcinoma. **Anticancer Res.**, v. 15, p. 305-8, 1995.

SHPITZER, T.; CHAIMOFF, M.; GAL, R. *et al.* Tumor angiogenesis as a prognostic factor in early oral tongue cancer. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 122, p. 865-8, 1996.

SKALOVA, A.; MICHAL, M. Patterns of cell proliferation in actinic keratoacanthomas and squamous cell carcinomas of the skin. Immunohistochemical study using the MIB1 antibody in formalin-fixed paraffin sections. **Am. J. Dermatopathol.**, v. 17, p. 332-4, 1995.

SLAUGHTER, D. P.; SOUTHWICK, H. W.; SMEJKAL, W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium. **Cancer (Phila.)**, v. 6, p. 963-68, 1953.

SLOOTWG, P. J.; KOOLE, R.; HORDJIK, G. J. The presence of p53 protein in

relation to Ki-67 as cellular proliferation marker in head and neck squamous cell carcinoma and adjacent dysplastic mucosa. **Eur. J. Cancer B. Oral. Oncol.**, v. 30B, p. 138-41, 1994.

SMITH, R. R.; KLOPP, C. T.; WILLIAMS, J. M. Surgical treatment of cancer of the frontal sinus and adjacent areas. **Cancer**, v. 7, p. 991-8, 1954.

SMITH, M. D.; HEALEY, E.; THOMPSON, V. *et al.* Use of *in situ* detection of histone mRNA in the assessment of epidermal proliferation: comparison with the Ki67 antigen and BrDU incorporation. **Br. J. Dermatol.**, v. 132, p. 359-66, 1995.

SNOW, S. N.; SAHL, W.; LO, J. S. *et al.* Metastatic basal cell carcinoma: report of 5 cases. **Cancer**, v. 73, p. 328-35, 1994.

SOBER, A. J.; BURSTEIN, J. M. Precursors to skin cancer. **Cancer**, v. 75, supl. 2, p. 645-50, 1995.

SOLIMENE, A. C. C.; BOSCARDIN, S. B.; FERRAZ, M. G. M. C. *et al.* Angiogênese em tumores sólidos. **Rev. SBOC**, v. 1, p. 9-20, 1999.

SOMERS, K. D.; CARTWRIGHT, S. L.; SCHECHTER, G. L. Amplification of the int-2 gene in human head and neck squamous cell carcinomas. **Oncogene**, v. 5, p. 915-20, 1990.

SOMERS, K. D.; MERRICK, M. A.; LOPEZ, M. E. *et al.* Frequent p53 mutations in head and neck cancer. **Cancer Res.**, v. 52, p. 5997-6000, 1992.

SOTO, M. N. Carcinoma basocelular da pele. In: BACCHI, C. E.; ALMEIDA, P. C. C.; FRANCO, M. ed. **Manual de padronização de laudos histopatológicos – Sociedade Brasileira de Patologia**, Rio de Janeiro, Reihmann & Affonso Editores, 2ª edição, 1999. p. 1-4.

- SOTTO, M. N. Carcinoma espinocelular da pele. In: BACCHI, C. E.; ALMEIDA, P. C. C.; FRANCO, M. ed. **Manual de padronização de laudos histopatológicos – Sociedade Brasileira de Patologia**, Rio de Janeiro, Reihmann & Affonso Editores, 2ª edição, 1999. p. 5-8
- SPAFFORD, M. F.; KOEPPE, J.; PAN, Z. *et al.* Correlation of tumor markers p53, bcl-2, CD-34, CD44H, CD44v6 and Ki-67 with survival and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma. **Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.**, v. 122, p. 637-32, 1996.
- SPENCER, C. A.; GROUDINE, M. Control of c-myc regulation in normal and neoplastic cells. **Adv. Cancer Res.**, v. 57, p. 1-47, 1991.
- SPIESSL, B.; BEHARS, O. H.; HERMANEK, P. *et al.*, ed. Carcinoma de pele. In: **Union Internationale Contre le Cancer – Atlas TNM – Fundação Oncocentro**, São Paulo, 1ª ed. Brasileira, 1993. p. 171-4.
- SRIVASTAVA, A.; LAIDLER, P.; DAVIES, R. P. *et al.* The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate thickness (0.76 – 4.0 mm thick) skin melanoma: a quantitative histologic study. **Am. J. Pathol.**, v. 133, p. 419-423, 1988.
- STAIBANO, S.; BOSCAINO, A.; SALVATORE, G. *et al.* The prognostic significance of tumor angiogenesis in non-aggressive and aggressive basal cell carcinoma of the human skin. **Hum. Pathol.**, v. 27, p. 695-700, 1996.
- STAMP, G. W. H.; NASIM, M.; CARDILLO, M. *et al.* Transforming growth factor β distribution in basal cell carcinomas: relationship to proliferation index. **Br. J. Dermatol.**, v. 129, p. 57-64, 1993.
- STËNBACK, F.; RISTELI, J.; RISTELI, L. *et al.* Basement membrane laminin and type IV collagen in endometrial adenocarcinoma: relation to differentiation and treatment. **Oncology**, v. 42, p. 370-6, 1985.

- STEPHENSON, T. J.; ROYDS, J.; SILCOCKS, P. B. *et al.* Mutant p53 oncogene expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. **Br. J. Dermatol.**, v. 127, p. 566-70, 1992.
- STOLL, C.; BARETTON, G.; LOHRS, U. The influence of p53 and associated factors on the outcome of patients with oral squamous cell carcinoma. **Virchows. Arch.**, v. 433, p. 427-33, 1998.
- STOLL, C.; BARETTON, G.; AHRENS, C. *et al.* Prognostic significance of apoptosis and associated factors in oral squamous cell carcinoma. **Virchows. Arch.**, v. 436, p. 102-8, 2000.
- STREIT, M.; VELASCO, P.; BROWN, L. F. *et al.* Overexpression of thrombospondin-1 decreases angiogenesis and inhibits the growth of human cutaneous squamous cell carcinomas. **Am. J. Pathol.**, v. 155, p. 441-52, 1999.
- STRIETH, S.; HARTSCHUH, W.; PITZ, L. *et al.* Angiogenic switch occurs late in squamous cell carcinomas of human skin. **Br. J. Cancer**, v. 82:591-600, 2000.
- SUO, Z.; HOLM, R. *et al.* Squamous cell carcinomas, an immunohistochemical and ultrastructural study. **Anticancer Res.**, v. 12, p. 2025-31, 1992.
- TAKAHASHI, R.; INAGAKI, T.; MATSUWARI, S. *et al.* Transfection of wild-type TP53 induces differentiation in human gingival carcinoma cells. **Eur. J. Cancer**, v. 32^A, p. 533-9, 1996.
- TAYLOR, W. T.; EGAN, S. E.; MOWAT, M. *et al.* Evidence for synergistic interactions between ras, myc and a mutant form of p53 in cellular transformation and tumor dissemination. **Oncogene**, v. 7, p. 1383-90, 1992.
- TEICHER, B. A.; EMI, Y.; KAKEJI, Y. *et al.* TNP-470/mynocicline/cytotoxic therapy: a system approach to cancer therapy. **Eur. J. Cancer**, v. 32A, p. 2461-6, 1996.

- TERZ, J. J.; YOUNG, H. F.; LAWRENCE JR., W. Combined craniofacial resection for locally advanced carcinoma of the head and neck: I. Tumors of the skin and soft tissues. **Am. J. Surg.**, v. 140, p. 613-17, 1980.
- TERZ, J. J.; YOUNG, H. F.; LAWRENCE JR., W. Combined craniofacial resection for locally advanced carcinoma of the head and neck: II. Carcinoma of the paranasal sinuses. **Am. J. Surg.**, v. 140, p. 618-24, 1980.
- ULLRICH, S. J.; ANDERSON, C. W.; MERCER, W. E. *et al.* The p53 tumor suppressor protein, a modulator of cell proliferation. **J. Biol. Chem.**, v. 267, p. 1559-62, 1992.
- ÜNAL, O. F.; AYHAN, A.; HOSAL, A. S. Prognostic value of p53 expression and histopathological parameters in squamous cell carcinoma of oral tongue. **J. Laryngol. Otol.**, v. 113, p. 446-50, 1999.
- UNDÉN, A. B.; ZAPHIROPOULOS, P. G.; BRUCE, K. *et al.* Human patched mRNAs is overexpressed consistently in tumor cells of both familial and sporadic basal cell carcinomas. **Cancer Res.**, v. 57, p. 2336-40, 1997.
- URANO, Y.; ASANO, T.; YOSHIMOTO, K. *et al.* Frequent p53 accumulation in the chronically sun-exposed epidermis and clonal expansion of p53 mutant cells in the epidermis adjacent to basal cell carcinoma. **J. Invest. Dermatol.**, v. 104, p. 928-32, 1995.
- VALENTE, G.; GIUSTI, U.; KERIM, S. *et al.* High prognostic impact of growth fraction parameters in advanced stage laryngeal squamous cell carcinoma. **Oncol. Rep.**, v. 6, p. 289-93, 1999.
- VAN DER RIET, P.; KARP, D.; FARMER, E. *et al.* Progression of basal cell carcinoma through loss of chromosome 9q and inactivation of a single p53 allele. **Cancer Res.**, v. 54, p. 25-7, 1994.

- VAN OIJEN, M. G.; LEPPERS VD STRAAT, F. G.; TILANUS, M. G. *et al.* The origins of multiple squamous cell carcinomas in the aerodigestive tract. **Cancer**, v. 88, p. 884-93, 2000.
- VAN TUYL, R.; GUSSACK, G. S. Prognostic factors in craniofacial surgery. **Laryngoscope**, v. 101, p. 240-4, 1991.
- VERMEULEN, P. B.; GASPARINI, G.; FOX, S. B. *et al.* Quantification of angiogenesis in solid human tumours: an international consensus on the methodology and criteria of evaluation. **Eur. J. Cancer**, v. 32A, p. 2474-2484, 1996.
- VOJTESEK, B.; KOVARIK, J.; DOLEZALOVA, H. *et al.* Absence of p53 autoantibodies in a significant proportion of breast cancer patients. **Br. J. Cancer**, v. 71, p. 1253-6, 1995.
- WATLING, D. L.; GOWN, A. M.; COLTRERA, M. D. Overexpression of p53 in head and neck cancer. **Head Neck**, v. 14, p. 437-44, 1992.
- WEIDNER, N.; CARROLL, P. R.; FLAX, J. *et al.* Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate cancer. **Am. J. Pathol.**, v. 143, p. 1-9, 1993.
- WEINBERG, W. C.; AZZOLI, C. G.; CHAPMAN, K. *et al.* p53-mediated transcriptional activity increases in differentiating epidermal keratinocytes in association with decreased p53 protein. **Oncogene**, v. 10, p. 2271-9, 1995.
- WEINSTEIN, G. S.; NUAMAH, I. F.; TUCKER, J. *et al.* Evaluation of HER-2/*neu* (c-erbB2-2) oncogene expression in whole organ sections of supraglottic squamous cell carcinoma. **Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.**, v. 105, p. 275-279, 1996.
- WERKMEISTER, R.; BRANDT, B.; JOOS, U. The erbB oncogenes as prognostic markers in oral squamous cell carcinomas. **Am. J. Surg.**, v. 172, p. 681-3, 1996.

WESTBURY, G.; WILSON, J. S. P; RICHARDSON, A. Combined craniofacial resection for malignant disease. **Am. J. Surg.**, v. 130, p. 463-9, 1975.

WILLIAMS, J. K.; CARLSON, G. W; COHEN, C. *et al.* Tumor angiogenesis as a prognostic factor in oral cavity tumors. **Am. J. Surg.**, v. 168, p. 373-80, 1994.

WOLF JR., J. E.; HUBLER JR., W. R. Tumor angiogenic factor and human skin tumors. **Arch. Dermatol.**, v. 111, p. 321-7, 1975.

WONG, R. J.; KEEL, S. B.; GLYNN, R. J. *et al.* Histological pattern of mandibular invasion by oral squamous cell carcinoma. **Laryngoscope**, v. 110, p. 65-72, 2000.

XIA, W.; LAU, Y. K.; ZHANG, H. Z. *et al.* Strong correlation between c-erb-B2 overexpression and overall survival of patients with oral squamous cell carcinoma. **Clin. Cancer Res.**, v. 3, p. 3-9, 1997.

XIE, X.; DE ANGELIS, P; CLAUSEN, O. P *et al.* Prognostic significance of proliferative and apoptotic markers in oral tongue squamous cell carcinomas. **Oral. Oncol.**, v. 35, p. 502-9, 1999.

XU, L.; DAVIDSON, B. J.; MURTY, V. V. V. S. *et al.* TP53 gene mutations and *CCND1* gene amplification in head and neck squamous cell carcinoma cell lines. **Int. J. Cancer**, v. 59, p. 383-7, 1994.

YIN, X. Y.; SMITH, M. L.; WITHESSIDE, T. L. *et al.* Abnormalities in the p53 gene in tumors and cell lines of human squamous-cell carcinomas of the head and neck. **Int. J. Cancer**, v. 54, p. 322-7, 1993.

ZARIWALA, M.; SCHMID, S.; PFALTZ, M. *et al.* p53 gene mutations in oropharyngeal carcinomas: a comparison of solitary and multiple primary tumors and lymph-node metastases. **Int. J. Cancer**, v. 56, p. 807-11, 1994.

ZÄTTERSTRÖM, U. K.; BRUN, E.; WILLÉN, R. *et al.* Tumor angiogenesis and prognosis in squamous cell carcinoma of the head and neck. **Head Neck**, v. 17, p. 312-8, 1995.

ZHANG, B.; TU, G.; XU, G. *et al.* Squamous cell carcinoma of the temporal bone: report on 33 patients. **Head Neck**, v. 21, p. 461-6, 1999.

ZIEGLER, A.; LEFFELL, D. J.; KUNALA, S. *et al.* Mutation hotspots due to sunlight in the p53 gene of non-melanoma skin cancer. **Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)**, v. 90, p. 4216-20, 1993.

| APÊNDICES |

Apêndice A - Protocolo

Carcinomas cutâneos com acometimento suspeito ou comprovado da base do crânio: fatores clínicos, histopatológicos e biológicos

Grupo:

Número:

NOME:

Registro:

Sexo

1.masc___ 2.fem___

Idade ___ anos

Cor

1.branca___ 2.preta___ 3.parda___ 4.amarela___

Duração da queixa: ___ meses

Tumor: ___ cm (maior diâmetro)

T___

Local

1. região frontal ___ 2. região têmporo-parietal ___ 3. região orbitária ___

4. região malar ___ 5. nariz ___ 6. orelha ___ 7. + de 1 região ___

Tipo de lesão

1.ulcerada___ 2.vegetante___ 3.outro_____

Lado da lesão

1.esq___ 2.dir___ 3.med___ 4.+ de um___

Linfonodos (número, tamanho em cm e lado) _____

N___

Estadiamento:

1. I ___ 2. II ___ 3. III ___ 4. IV ___

DATA(S) DA(S) CIRURGIA(S)**1ª operação (tus recidiv.): (mês/dia/ano) __/__/__ #AP: _____**

Tamanho da lesão _____ cm

Tipo de fechamento

1. primário ____ 2. enxerto de pele ____ 3. retalhos ____

Última operação: (mês/dia/ano) __/__/__ #AP: _____

Tamanho da lesão _____ cm

Invasão de dura-máter

1. sim ____ 2. não ____

Invasão de parênquima cerebral

1. sim ____ 2. não ____

Invasão de órbita

1. sim ____ 2. não ____

Invasão óssea

1. sim ____ 2. não ____

RECONSTRUÇÃO

1. Sem reconstrução ____ 2. Fechamento primário ____ 3. Enxerto ____

4. Retalho de vizinhança ____ 5. Retalho à distância pediculado ____

6. Retalho microcirúrgico ____ Qual? _____

7. Prótese _____

STATUS: 1. vivo __ 2. morto tu __ 3. morto outr __ 9. perda _____**SEGUIMENTO:**

1. SEM EVIDÊNCIAS DE DOENÇA ____ Tempo do último retorno: _____ meses

2. VIVO COM RECIDIVA ____

3. ÓBITO PELA DOENÇA ____

DATA RECIDIVA: mês/dia/ano __/__/__

SEGUNDO PRIMÁRIO: 1. não __ 2. pele __ 3. outro _____

ANATOMIA PATOLÓGICA

Grupo ____ **Número do caso** ____

1ª operação - Data (mês/dia/ano) ____/____/____ **# AP** ____

CARCINOMA BASOCELULAR

Exame macroscópico

Dimensão da lesão: ____ x ____ x ____ cm

Exame microscópico

Variedade histológica: 1. sólido ____ 2. micronodular ____ 3. cístico ____
4. adenóide ____ 5. superficial ou multicêntrico ____
6. esclerodermiforme ____ 7. metatípico ____ 8. Outra ____

Características histológicas de agressividade

Padrão de crescimento do tumor

1. expansivo ____ 2. infiltrativo ____ 3. misto ____

Perfil dos blocos celulares

1. arredondados ____ 2. espiculados ____

Blocos celulares com paliçada periférica

1. bem formada ____ 2. malformada ____ 3. ausente ____

Pleomorfismo nuclear

1. ausente ____ 2. discreto ____ 3. moderado ____ 4. intenso ____

Estroma do tumor

1. fibroso ____ 2. hialinizado ____

Profundidade de invasão do tumor

1. derme ____ 2. subcutâneo ____ 3. fáscia/músculo ____ 4. cartilagem/
osso ____

Invasão perineural

1. sim ____ 2. não ____

Invasão vascular

1. sim ____ 2. não ____

Em base de crânio:

Invasão de calota craniana/órbita

1. sim ____ 2. não ____

Invasão de dura-máter

1. sim ____ 2. não ____

Invasão de parênquima cerebral

1. sim ____ 2. não ____

Invasão de periorbita

1. sim ____ 2. não ____

Margens ao exame de congelação

1. livres ____ 2. comprometidas ____

Margens cirúrgicas finais:

1. livres__ 2. comprometidas__

LINFONODOS ACOMETIDOS (ANAT.PATOL.):

CARCINOMA ESPINOCELULAR**Exame macroscópico**

Dimensão da lesão: ____ x ____ x ____ cm

Exame microscópico

Graduação (Broders)

1. I ____ 2. II ____ 3. III ____ 4. IV ____

Profundidade de invasão tumoral

1. derme ____ 2. subcutâneo ____ 3. fáscia/músculo ____
4. cartilagem/osso ____ 5. outros ____

Invasão perineural

1. sim__ 2. não__

Invasão vascular

1. sim__ 2. não__

Desmoplasia

1. sim__ 2. não__

Infiltrado inflamatório peritumoral

1. leve ____ 2. moderado ____ 3. intenso ____

ANATOMIA PATOLÓGICA (casos recidivados)

Grupo ____ Número do caso ____

Última operação - Data (mês/dia/ano) __/__/__ # AP _____

CARCINOMA BASOCELULAR

Exame macroscópico

Dimensão da lesão: ____ x ____ x ____ cm

Exame microscópico

Variedade histológica: 1. sólido ____ 2. micronodular ____ 3. cístico ____
4. adenóide ____ 5. superficial ou multicêntrico ____
6. esclerodermiforme ____ 7. ulcerado ____ 8. Outra ____

Características histológicas de agressividade

Padrão de crescimento do tumor

1. expansivo ____ 2. infiltrativo ____ 3. misto ____

Perfil dos blocos celulares

1. arredondados ____ 2. espiculados ____

Blocos celulares com paliçada periférica

1. bem formada ____ 2. malformada ____ 3. ausente ____

Pleomorfismo nuclear

1. ausente ____ 2. discreto ____ 3. moderado ____ 4. intenso ____

Estroma do tumor

1. fibroso ____ 2. hialinizado ____

Profundidade de invasão do tumor

1. derme ____ 2. subcutâneo ____ 3. fáscia/músculo ____ 4. cartilagem/
osso ____

Invasão perineural

1. sim ____ 2. não ____

Invasão vascular

1. sim ____ 2. não ____

Em base de crânio:

Invasão de calota craniana

1. sim ____ 2. não ____

Invasão de dura-máter

1. sim ____ 2. não ____

Invasão de parênquima cerebral

1. sim ____ 2. não ____

Invasão de periorbita

1. sim ____ 2. não ____

Margens cirúrgicas à congelação

1. livres ____ 2. comprometidas ____

Margens cirúrgicas finais:

1. livres__ 2. comprometidas__

LINFONODOS ACOMETIDOS (ANAT.PATOL.):

CARCINOMA ESPINOCELULAR**Exame macroscópico**

Dimensão da lesão: ____ x ____ x ____ cm

Tipo de lesão: 1. elevada ____ 2. deprimida ____ 3. ulcerada ____
4. crateriforme ____ 5. outro ____

Exame microscópico

Gradação (Broders)

1. I ____ 2. II ____ 3. III ____ 4. IV ____

Profundidade de invasão tumoral

1. derme ____ 2. subcutâneo ____ 3. fáscia/músculo ____
4. cartilagem/osso ____ 5. outros ____

Invasão perineural

1. sim__ 2. não__

Invasão vascular

1. sim__ 2. não__

Desmoplasia

1. sim__ 2. não__

Infiltrado inflamatório peritumoral

1. leve ____ 2. moderado ____ 3. intenso ____

Avaliação imunohistoquímica

p53

1. positivo__
2. negativo__

CD-31

1. discreta angiogênese__
2. moderada angiogênese__
3. intensa angiogênese____

CD-34

1. discreta angiogênese__
2. moderada angiogênese__
3. intensa angiogênese____

c-erbB2

1. positivo__
2. negativo__

Proteína S-100

1. filetes nervosos sem infiltração__
2. filetes nervosos com infiltração neoplásica __
3. ausência de terminações nervosas
4. inconclusivo

Ki-67

1. + em < 30% das céls. tumorais
2. + em 30-50% das céls. tumorais
3. + em > 50% das céls. tumorais

Colágeno tipo IV

1. presença de membrana basal íntegra ao redor de blocos de células neoplásicas
2. presença de membrana basal com rupturas pelas células neoplásicas
3. ausência de membrana basal
4. inconclusivo

Apêndice B - Banco de dados da Casuística

Nº do caso	Grupo	Iniciais	RG	Sexo	Idade	Cor	Temp queixa	Tam. Tu	T	Região	Tipo lesão	Linfon.	Estadium.	Data oper.	#AP
1	1	LB	2478965E	2	44	1	240	8	4	7	2		4	24/7/87	B87-5269
2	1	JFA	3117939F	1	70	1	96	5,5	4	7	1		4	15/4/96	25-1900-3
3	1	AAV	2229266B	1	51	1	144	8	4	2	1		4	9/4/1988	B88-6460
4	1	JAG	3151273A	1	68	3	120	8	4	6	1		4	14/9/98	355269-1
5	1	ESP	2761866C	1	60	1	12	3,5	4	5	1		4	11/9/1990	B90-10423
6	1	DFB	2428812J	2	51	1	180	8	4	7	1		4	13/11/90	B90-10409
7	1	EP	3198105I	1	66	1	180	3,4	4	3	1		4	1/8/1998	324007-0
8	1	MVP	2649855H	2	70	1	36	2,5	4	3	1		4	18/10/90	B90-9685
9	1	ICB	2816264E	1	47	1	60	6	4	1	1		4	12/2/1991	Derma 4462-91
9b	1						25	2,5	4	1	1		4	3/10/1995	20-5641-0
10	1	ASQ	3138069E	1	47	1	12	10	4	1	1		4	7/12/1996	26-2759-0
11	1	GMM	2960381B	1	52	1	60	6	4	3	1		4	3/6/1995	20-4871-0
12	1	MCJ	3025852K	2	62	1	96	7,5	4	7	2		4	30/6/95	21-7799-4
13	1	NA	2455864A	1	62	1	36	6	4	3	1		4	22/3/90	B90-2220
14	1	EPR	3285979J	1	63	1	120	9,5	4	7	1		4	11/5/1999	40-8304-0
15	1	ZM	3228031J	1	35	1	72	2,5	2	2	1		2	30/7/98	34-8937-0
15b	1						7	3	4	2	1		4	2/4/1999	37-2403-4
16	1	LBW	2730325D	2	53	1	24	3,5	2	2	2		2	14/2/91	B91-1522
16b	1						29	12	4	2	2		4	7/1/1993	14-0632-9
17	1	SSA	2699551E	2	38	1	36	7	4	1	1	1	4	14/5/90	B90-4307
18	1	IRS	2780163E	2	75	1	48	3	2	3	2		3	5/7/1991	B91-4444

Nº do caso	Grupo	Iniciais	RG	Sexo	Idade	Cor	Temp queixa	Tam. Tu	T	Região	Tipo lesão	Linfon.	Estadiam.	Data oper.	#AP
39	3	PG	2880530E	1	71	1	12	0,5	1	3	1		1	27/8/1993	2790/93
40	3	IOC	5000803D	2	58	1	2	0,7	1	4	2		1	3/7/1994	830/94
41	3	ISA	3127400E	1	66	1	12	4	2	7	2		2	20/3/1996	1222/96
42	3	PBSM	2706660F	2	88	1	24	1,5	1	4	1		1	31/3/1995	1362/95
43	3	TJFP	7017990E	2	43	1	30	2,9	2	4	1		2	8/12/1994	3042/94
44	3	MLS	2157718E	2	52	1	112	0,6	1	5	2		1	30/1/1995	421/95
45	3	ASJ	2791694H	1	58	1	12	7,9	3	7	3		3	5/9/1992	1583/92
46	3	MBS	2754833F	2	82	1	18	1,2	1	2	1		1	6/12/1994	675/94
47	3	JCC	2995171C	1	50	1	21	0,5	1	4	2		1	16/5/1994	1721/94
48	3	FGS	2981030B	2	78	1	24	2	1	6	2		1	4/6/1994	1294/94
49	3	ICM	2296727J	2	49	1	24	0,8	1	5	1		1	1/6/1995	108/95
50	3	MAP	3006454J	1	38	1	8	1,2	1	5	2		1	7/6/1994	2485/94
51	3	HP	2767417C	1	64	1	8	1	1	1	2		1	15/5/1996	1980/96
52	3	MS	2972517D	2	60	1	6	2	1	2	1		1	17/4/1996	1629/96
53	3	AJS	2488128D	2	53	1	48	1	1	3	1		1	18/3/1996	1175/96
54	3	TJLM	3116780B	2	48	1	60	2	1	4	2		1	22/3/1996	1219/96
55	3	DAM	2553263G	2	57	1	12	1,5	1	2	2		1	27/2/1996	837/96
56	3	HS	4004169E	2	70	1	36	1,6	1	6	2		1	19/6/1996	2639/96
57	3	BFA	2778391K	2	68	1	12	1,4	1	5	2		1	5/3/1996	1903/96
58	3	DMF	2162218K	1	81	1	6	1	1	4	3		1	3/8/1996	1025/96
59	4	EB	2708191F	1	55	1	12	2	1	6	1		1	10/11/1990	3944/90
60	4	MZ	3168102H	1	64	1	24	3	2	4	1		2	29/11/1996	5221/96
61	4	EFA	2888454C	2	77	1	2	2	1	6	1		1	2/1/1993	382/93

Nº do caso	Grupo	Iniciais	RG	Sexo	Idade	Cor	Temp queixa	Tam. Tu	T	Região	Tipo lesão	Linfon.	Estadium.	Data oper.	#AP
62	4	GMM	2840023E	1	64	1	8	0,9	1	6	1		1	24/4/1996	1775/96
63	4	JPS	2425657E	1	61	1	60	1,5	1	4	3		1	20/5/1994	283/94
64	4	ASS	2587993J	1	63	1	6	1	1	6	1		1	21/11/1995	4666/95
65	4	JFA	2901453C	1	74	1	12	1,1	1	6	2		1	21/9/1994	3552/94
66	4	LMF	3021512K	2	86	1	5	5	3	1	2		3	21/10/1994	4028/94
67	4	MAL	2772100K	2	67	1	60	3,2	2	2	3		2	18/10/1993	3413/93
68	4	MLC	2326314A	2	83	1	24	1,5	1	4	1		1	16/11/1994	4348/94

Caso	Inv. Dura	Inv. Encéf.	Inv. Órb.	Inv. Óssea	Reconstr.	Status	Tempo seguim.
1	1	1	1	1	6	2	50
2	2	2	1	1	4	1	36
3	1	2	2	1	4	1	60
4	2	2	2	1	4	1	24
5	2	2	2	1	4	1	84
6	2	2	1	1	6	2	16
7	2	2	1	1	4	1	28
8	2	2	1	1	3	2	24
9	2	2	2	2	4	1	52
9b	2	2	1	1	4	1	52
10	1	2	1	1	6	2	56
11	2	2	1	1	4	1	50
12	2	2	1	1	6	2	48
13	2	2	1	1	4	1	54
14	2	2	2	1	6	2	16
15	2	2	2	2	1	1	29
15b	2	2	2	1	4	1	
16	2	2	2	2	3	1	24
16b	1	2	2	1	6	2	15
17	1	2	2	1	6	2	22
18	2	2	2	2	4	1	52
18b	2	2	1	1	4	1	41
19	2	2	2	2	3	1	46

Caso	Inv. Dura	Inv. Encéf.	Inv. Órb.	Inv. Óssea	Reconstr.	Status	Tempo seguim.
20	1	1	1	2	4	2	1
20b	1	1	1	1	6	2	1
21	2	2	1	1	4	1	24
22	2	2	2	1	4	1	12
23	2	2	1	1	4	1	14
24	1	2	1	1	6	1	3
25	2	2	2	1	5	1	24
26	1	1	1	1	6	2	10
27	1	2	1	1	6	2	1
28	1	2	1	1	4	1	26
29	1	2	2	1	4	2	14
30	2	2	2	1	4	1	18
31	2	2	2	1	6	1	56
32	2	2	1	1	6	3	12
33	2	2	1	1	6	1	36
33a	1	1	2	1	5	2	25
34	1	1	2	1	4	2	1
35	2	2	1	1	4	2	1
36	2	2	2	2	1	1	97
37	2	2	2	2	4	1	24
38	2	2	2	2	4	1	32
39	2	2	2	2	4	1	44
40	2	2	2	2	2	1	25

Caso	Inv. Dura	Inv. Encéf.	Inv. Órb.	Inv. Óssea	Reconstr.	Status	Tempo seguim.
41	2	2	2	2	4	1	27
42	2	2	2	2	2	1	41
43	2	2	2	2	2	1	60
44	2	2	2	2	4	1	48
45	2	2	2	2	4	1	82
46	2	2	2	2	2	1	24
47	2	2	2	2	2	1	36
48	2	2	2	2	2	1	60
49	2	2	2	2	4	1	39
50	2	2	2	2	3	1	44
51	2	2	2	2	2	1	29
52	2	2	2	2	2	1	35
53	2	2	2	2	2	1	36
54	2	2	2	2	2	1	27

Caso	Inv. Dura	Inv. Encéf.	Inv. Órb.	Inv. Óssea	Reconstr.	Status	Tempo seguim.
55	2	2	2	2	2	1	28
56	2	2	2	2	2	1	38
57	2	2	2	2	1	1	35
58	2	2	2	2	2	1	24
59	2	2	2	2	2	1	84
60	2	2	2	2	4	1	33
61	2	2	2	2	1	1	41
62	2	2	2	2	2	1	26
63	2	2	2	2	4	1	32
64	2	2	2	2	2	1	24
65	2	2	2	2	1	1	48
66	2	2	2	2	3	1	32
67	2	2	2	2	3	1	66
68	2	2	2	2	4	1	26

Caso	Tipo histol.	Padrão de crescim.	Perfil dos blocos	Paliçada	Pleomorf. Nucl.	Estroma
1	7	3	2	3	1	1
2	7	2	2	2	3	1
3	7	2	2	2	3	1
4	6	2	1	1	3	1
5	6	2	2	3	3	1
6	4	2	1	2	3	1
7	7	1	1	1	3	1
8	1	2	2	2	3	2
9	6	2	2	3	2	2
9b	6	2	2	3	4	2
10	6	2	2	3	3	2
11	6	2	2	2	3	1
12	6	2	2	3	3	1
13	1	3	1	1	2	1
14	6	2	2	2	3	2
15	6	2	2	2	3	2
15b	1	3	1	1	3	2
16	7	2	2	2	4	2
16b	7	2	2	2	4	2
17	7	2	2	3	4	1
18	1	3	1	1	2	1
18b	1	2	1	2	3	1

Caso	Tipo histol.	Padrão de crescim.	Perfil dos blocos	Paliçada	Pleomorf. Nucl.	Estroma
19	1	2	1	2	3	1
20	6	2	2	2	2	1
20b	6	2	2	3	4	2
21	4	2	2	1	2	1
22	6	2	2	1	3	1
23	1	2	2	1	3	1
24	6	2	2	2	3	1
25	9					
26	9					
27	9					
28	9					
29	9					
30	9					
31	9					
32	9					
33	9					
33a	9					
34	9					
35	9					
36	1	1	1	1	2	1
37	1	1	1	1	1	1
38	6	2	2	2	3	2

Caso	Tipo histol.	Padrão de crescim.	Perfil dos blocos	Paliçada	Pleomorf. Nucl.	Estroma
39	1	2	2	3	3	2
40	4	1	1	1	2	1
41	7	2	2	3	4	2
42	1	1	1	1	2	1
43	5	3	2	2	2	1
44	1	3	2	2	3	1
45	4	1	1	1	2	1
46	1	3	1	1	2	1
47	1	1	1	1	3	1
48	1	3	1	2	3	1
49	1	2	2	2	3	1
50	1	2	2	2	3	1
51	1	2	2	2	3	1
52	1	1	1	1	2	1
53	2	1	1	2	3	1
54	4	3	1	1	3	1

Caso	Tipo histol.	Padrão de crescim.	Perfil dos blocos	Paliçada	Pleomorf. Nucl.	Estroma
55	1	3	1	2	3	1
56	6	2	2	3	3	1
57	1	1	1	1	2	1
58	7	2	2	2	3	4
59	9					
60	9					
61	9					
62	9					
63	9					
64	9					
65	9					
66	9					
67	9					
68	9					

Caso	Profundid. Invasão	Inv. Perineural	Inv. Calota cr./órb.	Inv. Dura	Inv. Encéf.	Margens cong.	Margens paraf.	Broders	Profundid. de invasão	Inv. Perineural	Inv. Vasc.	Desmoplasia	Infiltr. Inflat. Peritumoral
1	4	2	1	1	1	2	2						
2	4	2	1	2	2	1	1						
3	4	2	1	1	2	1	1						
4	4	1	1	2	2	1	1						
5	4	1	1	2	2	1	1						
6	4	2	1	2	2	2	2						
7	4	1	2	2	2	1	1						
8	4	1	1	2	2	1	1						
9	1	1	2	2	2	2	2						
9b	4	1	1	2	2	1	1						
10	4	1	1	1	2	1	1						
11	4	1	2	2	2	1	1						
12	4	1	1	2	2	1	1						
13	4	2	2	2	2	1	1						
14	4	1	1	2	2	1	1						
15	3	1	2	2	2	1	1						
15b	4	1	1	2	2	1	1						
16	3	2	2	2	2	1	1						
16b	4	2	1	1	2	2	2						
17	4	1	1	1	2	2	2						
18	2	2	2	2	2	1	1						
18b	4	1	1	2	2	1	1						
19	4	2	1	2	2	1	1						

Caso	Profundid. Invasão	Inv. Perineural	Inv. Calota cr./órb.	Inv. Dura	Inv. Encéf.	Margens cong.	Margens paraf.	Broders	Profundid. de invasão	Inv. Perineural	Inv. Vasc.	Desmoplasia	Infiltr. Inflat. Peritumoral
20	3	1	1	1	1	2	2						
20b	4	1	1	1	1	2	2						
21	4	2	1	2	2	1	1						
22	4	1	1	2	2	2	2						
23	4	2	1	2	2	1	1						
24	4	1	1	1	2	1	2						
25			1	2	2	1	1	2	4	1	2	2	2
26			1	1	1	1	1	1	4	2	2	1	1
27			1	1	2	1	1	2	4	2	2	1	1
28			1	1	2	1	1	2	4	1	2	1	3
29			1	1	2	1	1	2	4	1	2	1	2
30			1	2	2	1	1	2	4	2	2	1	2
31			1	2	2	1	1	3	4	1	2	1	2
32			1	2	2	1	1	2	4	2	2	1	2
33			1	2	2	1	1	2	4	1	2	1	2
33a			1	1	1	1	1	2	4	1	2	1	2
34			1	1	2	2	2	2	4	2	2	1	3
35			1	2	2	1	1	1	4	2	2	1	2
36	1	2	2	2	2	1	1						
37	1	2	2	2	2	1	1						
38	1	2	2	2	2	1	1						
39	1	2	2	2	2	1	1						
40	1	2	2	2	2	1	1						

Caso	Profundid. Invasão	Inv. Perineural	Inv. Calota cr./órb.	Inv. Dura	Inv. Encéf.	Margens cong.	Margens paraf.	Broders	Profundid. de invasão	Inv. Perineural	Inv. Vasc.	Desmoplasia	Infiltr. Inflat. Peritumoral
41	3	2	2	2	2	1	1						
42	1	2	2	2	2	1	1						
43	1	2	2	2	2	1	1						
44	1	2	2	2	2	1	1						
45	1	2	2	2	2	1	1						
46	1	2	2	2	2	1	1						
47	1	2	2	2	2	1	1						
48	1	2	2	2	2	1	1						
49	1	2	2	2	2	1	1						
50	1	2	2	2	2	1	1						
51	1	2	2	2	2	1	1						
52	1	2	2	2	2	1	1						
53	1	2	2	2	2	1	1						
54	1	2	2	2	2	1	1						
55	1	2	2	2	2	1	1						
56	1	2	2	2	2	1	1						
57	1	2	2	2	2	1	1						
58	2	1	2	2	2	1	1						
59			2	2	2	1	1	3	4	2	2	2	2
60			2	2	2	1	1	2	1	2	2	2	3
61			2	2	2	1	1	1	4	2	2	1	3
62			2	2	2	1	1	2	1	2	2	2	1
63			2	2	2	1	1	3	1	2	2	2	3

Caso	Profundid. Invasão	Inv. Perineural	Inv. Calota cr./órb.	Inv. Dura	Inv. Encéf.	Margens cong.	Margens paraf.	Broders	Profundid. de invasão	Inv. Perineural	Inv. Vasc.	Desmoplasia	Infiltr. Inflat. Peritumoral
64			2	2	2	1	1	3	4	2	2	2	3
65			2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	3
66			2	2	2	1	1	1	1	2	2	1	2
67			2	2	2	1	1	2	1	2	2	2	3
68			2	2	2	1	1	2	1	2	2	2	3

Caso	p53	Ki-67	c-erbB2	Proteína S-100	CD-34	Colágeno tipo IV
1	1	3	1	3	2	3
2	1	2	1	2	3	2
3	1	1	1	2	2	3
4	1	3	1	1	3	3
5	1	1	1	3	3	3
6	1	1	1	1	1	1
7	2	2	2	1	2	2
8	2	3	1	2	2	3
9	2	3	2	2	2	3
9b	1	3	1	2	3	3
10	1	2	1	2	1	3
11	1	1	1	2	2	1
12	1	3	1	1	1	3
13	1	1	1	1	2	2
14	1	3	1	1	3	1
15	1	2	1	3	1	3
15b	1	2	1	2	2	3
16	2	2	1	2	1	2
16b	1	2	1	2	1	2
17	1	3	1	2	3	2
18	1	3	1	1	1	3
18b	1	1	1	1	1	3
19	1	1	1	3	3	3

Caso	p53	Ki-67	c-erbB2	Proteína S-100	CD-34	Colágeno tipo IV
20	1	1	2	1	2	2
20b	1	2	2	2	3	2
21	1	2	2	1	2	1
22	2	2	2	2	2	2
23	2	1	2	2	1	4
24	2	3	2	2	2	2
25	2	3	1	2	2	2
26	1	3	1	1	3	2
27	2	1	1	2	1	3
28	2	3	1	1	2	2
29	2	3	1	1	3	2
30	2	3	1	1	3	3
31	2	3	1	2	2	3
32	2	3	1	2	2	3
33	2	3	1	2	3	3
33a	2	3	1	1	3	2
34	2	1	2	2	3	3
35	2	2	2	2	3	3
36	1	1	1	1	1	1
37	1	1	1	1	1	1
38	1	1	1	1	2	1
39	2	2	1	1	1	1
40	2	2	1	1	1	1

Caso	p53	Ki-67	c-erbB2	Proteína S-100	CD-34	Colágeno tipo IV
41	2	3	1	1	1	1
42	1	1	1	1	1	1
43	2	1	2	1	2	2
44	1	2	1	1	2	1
45	1	1	2	1	2	1
46	2	3	2	1	2	1
47	1	2	2	1	1	1
48	2	2	1	1	3	1
49	2	3	1	1	1	2
50	1	1	1	1	2	1
51	2	1	1	1	1	3
52	2	2	1	3	1	1
53	1	1	1	1	1	1
54	2	1	2	1	1	1

Caso	p53	Ki-67	c-erbB2	Proteína S-100	CD-34	Colágeno tipo IV
55	2	2	1	1	2	3
56	2	2	1	1	2	3
57	2	2	1	1	2	1
58	1	2	2	2	1	3
59	2	1	1	3	2	3
60	1	3	1	1	1	1
61	2	2	1	2	3	2
62	2	2	1	1	2	1
63	1	3	1	2	2	1
64	1	2	1	1	1	3
65	1	1	1	1	2	1
66	2	1	1	1	2	2
67	2	2	1	1	1	2
68	2	2	1	1	2	3