



REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**PAOLA FERNANDES PANSINI**

**PAINEL DE BIOMARCADORES DE PROGRESSÃO TUMORAL  
E PROGNÓSTICO EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL**

VITÓRIA – ES

2021

**PAOLA FERNANDES PANSINI**

**PAINEL DE BIOMARCADORES DE PROGRESSÃO TUMORAL E  
PROGNÓSTICO EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) – Nucleadora Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sandra Lúcia  
Ventorin von Zeidler

VITÓRIA – ES  
2021

**PAOLA FERNANDES PANSINI**

**PAINEL DE BIOMARCADORES DE PROGRESSÃO TUMORAL E  
PROGNÓSTICO EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) da Nucleadora Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Apresentada em: 18/08/2021

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Sandra Ventorin von Zeidler  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientador

---

Profa. Dra. Flavia de Paula  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinador Interno

---

Profa. Dra. Francine Ferreira Padilha  
Universidade Tiradentes  
Examinador Interno

---

Profa. Dra. Flavia Imbroisi Valle Errera  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Examinador Externo

---

Prof. Dr. Fábio de Abreu Alves  
Universidade de São Paulo  
Examinador Externo

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

P196p Pansini, Paola Fernandes, 1992-  
Painel de biomarcadores de progressão tumoral e prognóstico em carcinoma epidermoide oral / Paola Fernandes Pansini. - 2021.  
81 f. : il.

Orientadora: Sandra Ventrin von Zeidler.  
Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Boca - Câncer. 2. Carcinoma de células escamosas. 3. Marcadores biológicos de tumor. 4. Imunohistoquímica. I. von Zeidler, Sandra Ventrin. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

---



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



**REGISTRO DE JULGAMENTO DA TESE DO(A) CANDIDATO(A) AO  
GRAU DE DOUTORA PELO PPGBIOTEC/RENORBIO.**

A Comissão Examinadora da Tese de Doutorado intitulada “PAINEL DE BIOMARCADORES DE PROGRESSÃO TUMORAL E PROGNÓSTICO EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL” elaborada por PAOLA FERNANDES PANSINI, candidato ao Grau de Doutor em Biotecnologia, recomendou, após apresentação da Tese, realizada no dia 18 de agosto de 2021, que a mesma seja (assinale um dos itens abaixo):

Aprovada

Reprovada

Os membros da Comissão deverão indicar a natureza de sua decisão através de sua assinatura na coluna apropriada que segue:

Aprovada

Reprovada

-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----

-----  
-----  
-----  
-----  
-----  
-----



Campus Universitário Maruípe – Av. Maruípe, 1468 – Maruípe, Vitória – ES | 29047-185 |  
Tel. e Fax: (27) 3335-9501 | <http://www.biotecnologia.ufes.br/> | [renorbios@gmail.com](mailto:renorbios@gmail.com)

Este documento foi assinado digitalmente por BIANORABESFORBORTDIBIN VON ZEIDLER  
Para verificar o original visite: <https://apl.leptema.ufes.br/arquivos-assinados/2598887?lpoArquivo=0>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
FLAVIA DE PAULA - SIAPE 2441743  
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN  
Em 20/08/2021 às 16:27

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/253868?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
FLAVIA IMBROISI VALLE - SIAPE 2305782  
Departamento de Ciências Biológicas - DCB/CCHN  
Em 20/08/2021 às 11:38

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/253543?tipoArquivo=O>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
SANDRA LUCIA VENTORIN VON ZEIDLER - SIAPE 2445904  
Departamento de Patologia - DPA/CCS  
Em 30/08/2021 às 16:40

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/258661?tipoArquivo=O>

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter me guiado durante o todo o trabalho;

À minha mãe, minha inspiração, guerreira e responsável por permitir trilhar minha carreira profissional que sempre sonhei;

Aos meus irmãos, por serem meus maiores torcedores e vibradores das conquistas obtidas;

Ao Rodolfo Maia Trindade por acreditar e me dar suporte para o meu crescimento profissional;

Ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFES, vinculado à Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), pela oportunidade de realizar o curso de doutorado;

À Professora Dr<sup>a</sup> Sandra Ventrin von Zeidler por todos os ensinamentos, amparo, orientação e incentivo para o crescimento profissional;

À Gabriela Tonini Peterle por todo apoio técnico, científico e emocional durante todo o estudo;

À Isabella Bittencourt do Valle pelos ensinamentos técnicos e inspiração por todo o profissionalismo;

À toda a equipe do Laboratório de Patologia Molecular pela cooperação e harmonia no trabalho;

Ao Laboratório Multiusuário de Análises Biomoleculares e ao Laboratório de Patologia do HUCAM pela parceria e disponibilidade para as análises biológicas;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo financiamento e recursos necessários ao desenvolvimento do projeto;

Ao Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes e ao Hospital Santa Rita de Cássia pela parceria no recrutamento dos pacientes e na coleta das amostras biológicas;

Ao Serviço de Cirurgia de Cabeça e Pescoço do Hospital Universitário Cassiano Antônio de Moraes e do Hospital Santa Rita de Cássia, pela oportunidade de trocar conhecimento entre a rotina clínica e o desenvolvimento científico.

## **ESTRUTURA DA TESE**

Para melhor compreensão sobre a descrição do trabalho foi priorizado o modelo de tese em formato de artigo, de acordo com as exigências do regimento do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - RENORBIO. Os elementos textuais obrigatórios são compostos de introdução, revisão bibliográfica, capítulos contendo os artigos científicos e conclusão. Como requisito para defesa da tese é exigida a produção técnico-científica correspondente à comprovação de submissão de, no mínimo, dois artigos em periódico Qualis B1 ou superior em Biotecnologia ou um artigo aceito em revista classificada, no mínimo, como Qualis A2 na área de Biotecnologia ou Fator de Impacto (JCR) correspondente, com comprovante de aceite pela editora da revista. Neste caso o aluno deverá ser o primeiro autor e não poderá ser um artigo de revisão de literatura.



## RESUMO

O carcinoma epidermoide de cabeça e pescoço é o sexto tipo de câncer mais comum em todo o mundo. Diversos genes e moléculas sinalizadoras estão envolvidos no desenvolvimento do carcinoma epidermoide oral. O estudo objetivou analisar a potencial aplicabilidade de um painel de biomarcadores tumorais como indicadores de progressão tumoral e prognóstico em carcinoma epidermoide oral. Foram avaliados o perfil de expressão das proteínas survivina, CDKN2A, EGFR, PLK1, p63, p40, ciclina D1, BCL2 e *CDK1* de 109 amostras de tecido tumoral parafinizado para análise por imuno-histoquímica e 40 amostras de tecido fresco para a execução da técnica reação em cadeia da polimerase em tempo real após transcrição reversa. Superexpressão da proteína survivina nos segmentos tumorais ( $p < 0,001$ ) e forte correlação com a expressão das proteínas PLK1 ( $r = 0,742$ ,  $p \leq 0,001$ ) e ciclina D1 ( $r = 0,669$ ,  $p < 0,001$ ). Validando estes resultados, o gene codificante para a survivina mostrou superexpressão em 53,12% dos tecidos tumorais congelados e forte correlação quanto à expressão com o gene *CDK1* ( $r = 0,8573$ ,  $p < 0,0001$ ), quando avaliado pela técnica da reação em cadeia da polimerase em tempo real após transcrição reversa, reforçando seu potencial papel biológico para a estabilização da survivina em carcinoma epidermoide oral. A survivina destacou-se como promissor biomarcador da progressão de tecido epitelial a epitélio displásico e CEO, pela expressão limitada ao tecido tumoral e correlação com proteínas-chaves envolvidas com a transição do ciclo celular, como PLK1, p63, p40, portanto, fortes candidatas para a construção de um painel de biomarcadores com potencial aplicabilidade na rotina clínica.

**Palavras-chave:** Survivina, *CDK1*, imunohistoquímica, reação em cadeia da polimerase em tempo real, microarranjos teciduais, câncer oral.

## ABSTRACT

Squamous cell carcinoma of the head and neck is the sixth most common type of cancer worldwide. Several genes and signaling molecules are involved in the development of oral squamous cell carcinoma. The study aimed to analyze the potential applicability of a panel of tumor biomarkers as indicators of tumor progression and prognosis in oral squamous cell carcinoma. The expression profile of the proteins survivin, CDKN2A, EGFR, PLK1, p63, p40, cyclin D1, BCL2 and CDK1 of 109 paraffinized tumor tissue samples for immunohistochemical analysis and 40 fresh tissue samples for the execution of the technique were evaluated. real-time polymerase chain reaction after reverse transcription. Survivin protein overexpression in tumor segments ( $p < 0.001$ ) and strong correlation with the expression of PLK1 ( $r = 0.742$ ,  $p \leq 0.001$ ) and cyclin D1 ( $r = 0.669$ ,  $p < 0.001$ ) proteins. Validating these results, the survivin coding gene showed overexpression in 53.12% of frozen tumor tissues and a strong correlation as to expression with the CDK1 gene ( $r = 0.8573$ ,  $p < 0.0001$ ), when evaluated by the technique of real-time polymerase chain reaction after reverse transcription, reinforcing its potential biological role for the stabilization of survivin in oral squamous cell carcinoma. Survivin stood out as a promising biomarker of progression from epithelial tissue to dysplastic epithelium and OSCC, due to its limited expression to tumor tissue and its correlation with key proteins involved in cell cycle transition, such as PLK1, p63, p40, therefore, strong candidates for the construction of a panel of biomarkers with potential applicability in clinical routine.

**Keywords:** Survivin, *CDK1*, immunohistochemistry, quantitative real time polymerase chain reaction, tissue microarray, oral cancer.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS**

**UFES**

**Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações Eletrônicas.**

Na qualidade de titular dos direitos de autor da publicação, autorizo a Universidade Federal do Espírito Santo a publicar em ambiente digital institucional, sem ressarcimento dos direitos autorais previstos na Lei nº 9.610/98 e em outras que regulem ou vierem a regular a matéria, o texto integral da obra abaixo citada, conforme permissões assinaladas, para fins de leitura e/ou impressão, a título de divulgação da produção científica brasileira.

Tipo de documento: ( ) Dissertação (x) Tese
Nome autor: PAOLA FERNANDES PANSINI
Vínculo empregatício: SEM VÍNCULO
Identificador único de autor ( <a href="https://orcid.org/signin">https://orcid.org/signin</a> - cadastramento gratuito): ORCID 0000-0002-5008-3081
Telefone para contato:
E-mail: 27996491882 Pode ser disponibilizado? ( ) sim (x) não
Título: PAINEL DE BIOMARCADORES DE PROGRESSÃO TUMORAL E PROGNÓSTICO EM CARCINOMA EPIDERMÓIDE ORAL
Nome do programa de pós-graduação: PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DA REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA - RENORBIO
Nome Orientador: SANDRA VENTORIN VON ZEIDLER ORCID: 0000-0002-8897-5747
Nome Co-orientador: ORCID:
Nome Co-orientador: ORCID:
Membro da banca: FLÁVIA DE PAULA
Membro da banca: FRANCINE FERREIRA PADILHA
Membro da banca: FLAVIA IMBROISI VALLE ERRERA
Membro da banca: FÁBIO DE ABREU ALVES
Membro da banca: SANDRA VENTORIN VON ZEIDLER
Data de Defesa: 18 /08 /2021
Área do conhecimento (conforme tabela do CNPq - <a href="http://www.cnpq.br/documents/10157/186158/TabeladeAreasdoConhecimento.pdf">http://www.cnpq.br/documents/10157/186158/TabeladeAreasdoConhecimento.pdf</a> ) 4.00.00.00-1 ciências da saúde
Palavras-chave (máximo 5): Survivina, CDK1, imunohistoquímica, reação em cadeia da polimerase, microarranjos teciduais



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS**

**UFES**

**Termo de Autorização para Publicação de Teses e Dissertações Eletrônicas.**

Agência de Financiamento:

( ) CAPES ( ) CNPq (x) FAPES ( ) Outra: \_\_\_\_\_

Tipo de acesso:

( ) Livre<sup>1</sup> ( ) Restrito<sup>2</sup> (x) Embargo<sup>3</sup> – 2 anos.

**Orientações:**






1 Não existe restrições quanto ao acesso.

2 O acesso está condicionado à identificação (login) no repositório.

3 Documentos com acesso embargado por tempo determinado. Informe o período de embargo na lacuna.

Tipo de Licença Creative Commons (CC). Este tipo de licença permite que o próprio autor sem intervenção de intermediários (ex.: advogados) informe às pessoas como elas devem utilizar a sua obra sem pedir autorização prévia.

Se você adotar a Licença Creative Commons marque uma das opções abaixo:

X	ESQUEMA	CONTEÚDO
	 BY	Atribuição – CC BY. Sem reservas em relação ao uso, inclusive para comercialização.
	 BY SA	Atribuição-Compartilha Igual – BY-SA. Permite a remixagem, adaptação e criação a partir do seu trabalho. Para fins comerciais e não comerciais deve ser atribuído crédito e licença sob termos idênticos do original.
	 BY ND	Atribuição- SemDerivações – CC BY-ND. Permite a redistribuição comercial e não comercial desde que não seja alterado no seu todo e o crédito seja atribuído ao autor.
	 BY NC	Atribuição-NãoComercial – CC BY NC. Permite remixagem, adaptação e criação para fins não comerciais, com atribuição de crédito aos novos trabalhos que não precisam ser licenciados nos mesmos termos.
	 BY NC SA	Atribuições-SemDerivações-SemDerivados – CC BY-NC-ND. Mais restritiva da licenças, só permite o download dos trabalhos e o compartilhamento com atribuição de crédito do autor.

Local: VITÓRIA

Data: 08 / 09 / 2021.

Assinatura do autor:

Paula Pamini