

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTU SENSU* EM CIRURGIA

WALYSSON ALVES TOCANTINS DE SOUSA

ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO DAS  
PROTEÍNAS P53 E KI-67 EM ADENOMAS  
COLORRETAIS

FORTALEZA

2010

WALYSSON ALVES TOCANTINS DE SOUSA

ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO  
DAS PROTEÍNAS P53 E KI-67 EM ADENOMAS  
COLORRETAIS

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Cirurgia, da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues

FORTALEZA  
2010

S698a Sousa, Walysson Alves Tocantins de  
Análise imunohistoquímica da expressão das proteínas  
P53 e KI-67 em adenomas colorretais / Walysson Alves  
Tocantins de Sousa. – Fortaleza, 2010.  
62 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do  
Ceará. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia,  
Fortaleza-Ce, 2010

1. Proteína Supressora de Tumor p53 2. Proliferação  
de Células 3. Adenoma 4. Proteínas 5. Pólipos Intestinais  
I. Rodrigues, Lusmar Veras (orient.) II. Título

CDD: 616.9943

WALYSSON ALVES TOCANTINS DE SOUSA

AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DA EXPRESSÃO  
DAS PROTEÍNAS P53 E KI-67 EM ADENOMAS  
COLORRETAIS

Dissertação apresentada à Coordenação do  
Curso de Pós-graduação em *Stricto Sensu*  
em Cirurgia, da Universidade Federal do  
Ceará, como requisito parcial para obtenção  
do grau de Mestre em Cirurgia.

**Aprovada em 08.10.2010**

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Profa. Dra. Sthela Maria Murad Regadas  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr. Sergio Eduardo Alonso Araujo  
Universidade de São Paulo - USP

*À Érika, esposa e companheira, pela sua dedicação e paciência em todos os momentos deste trabalho e da nossa vida.*

*Aos meus pais, Wener e Maria das Dores, por todas as oportunidades a mim oferecidas, sem medir esforço pessoal ou financeiro, e por fundamentar os valores morais que norteiam minha vida.*

*Aos meus irmãos Wener Jr e Alziro que sempre acreditaram no meu sucesso e me incentivam a continuar sempre em busca da realização pessoal.*

*A minha tia “Tica” que sempre nos acolhe como uma “mãe”. Durante a Residência Médica, agora, no mestrado; e, com certeza, nos próximos passos da minha formação acadêmica e de minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. PAULO ROBERTO LEITÃO DE VASCONCELOS, professor associado do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, coordenador do Programa de Pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pela competência e dedicação que desenvolve suas atividades neste programa.

Ao Prof. Dr. LUSMAR VERAS RODRIGUES, professor Livre-Docente do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, orientador desta dissertação, profissional admirável pela sua competência e dedicação não somente para com a pós-graduação, mas também com a graduação e Residência Médica, neste último, onde pude tomar seus primeiros ensinamentos. Sua postura séria e empática tornou-se um sólido alicerce que norteiam muitos dos meus atos como médico.

Ao Prof. Dr. FRANCISCO SÉRGIO PINHEIRO REGADAS, professor titular do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela sua participação em minha formação profissional e seu incentivo em prosseguir na vida acadêmica.

À Profa. Dra. SHELIA MARIA MURAD REGADAS, professora adjunta do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará; a quem sou grato tanto pelos ensinamentos a mim transmitidos durante o período da Residência Médica, como pela sua disponibilidade em participar da banca examinadora.

Ao Prof. Dr. SERGIO EDUARDO ALONSO ARAUJO, professor colaborador do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por aceitar participar da banca examinadora.

Ao Prof. Dr. JOÃO ARAGÃO XIMENES FILHO, professor adjunto do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do

Ceará, pela primeiras orientações durante a fase de confecção deste projeto e disponibilidade em participar do exame de qualificação.

À Profa. Dra. LÚCIA LIBANEZ BESSA CAMPELO BRAGA, professora do Departamento de Medicina Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela sua disponibilidade em participar da banca de qualificação desta dissertação.

Ao Prof. Dr. SÉRGIO BOTELHO GUIMARÃES, professor associado do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, pela sua dedicação ao Programa de Pós-graduação e solicitude aos alunos e pela sua disponibilidade em participar do exame de qualificação.

Ao Dr. RAIMUNDO GERÔNIMO DA SILVA JÚNIOR, mestre em Ciências da Saúde pela Universidade Federal do Piauí, brilhante patologista com admirável espírito científico que esteve profundamente envolvido em todas as etapas deste trabalho, demonstrando inestimável dedicação e profundos conhecimentos de patologia e imunohistoquímica.

Ao Prof. Dr. VICENTE GALBER, professor adjunto da disciplina de estatística da Faculdade Integral Diferencial- FACID, que nos acessorou na avaliação e análise estatística.

Ao Prof. Dr. VILMAR MOURA LEAL, professor adjunto do Departamento de Medicina Comunitária da Universidade Federal do Piauí e egresso do programa de pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pelas orientações durante a fase de confecção do manuscrito dessa dissertação.

Ao Prof. RAIMUNDO DA CUNHA ARAÚJO JÚNIOR, professor auxiliar do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Piauí, mestrando do Programa de Pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará pelo companheirismo demonstrado e vivido em todas as etapas deste trabalho.

Ao Prof. Mestre CARLOS RENATO SALES BEZERRA, egresso do Programa de Pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, que mostrou ser um parceiro, sempre pronto para ajudar nos momentos mais ásperos desta jornada.

À sra. ÂNGELA RAQUEL GALVÃO DE MORAES, técnica em patologia e imunohistoquímica, responsável pelo processamento do material para estudo histopatológico e imunohistoquímico e que sempre se mostrou prestativa e solícita em todos os pedidos e ajuda durante a análise imunohistoquímica do material.

Às secretarias Sra. MARIA LUCIENE VIEIRA DE OLIVEIRA e sra. MAGNA MARIA GOMES FONTENELE pela colaboração, eficiência e compreensão em todo o período da pós-graduação, ajudando a superar as dificuldades de residir em localidade diversa da sede do Programa.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Cirurgia da Universidade Federal do Ceará, pela zelo para com o Programa e solicitude diante de nossas dúvidas e dificuldades.

À todos os funcionários do LAPAC – Laboratório de Patologia Cirúrgica e Citopatologia, onde sempre fui bem recebido por todos que fazem parte da sua equipe de trabalho.

Aos colegas pós-graduandos, que, assim como nós, dedicam parte do seu tempo em busca do aprendizado da pesquisa científica.



## RESUMO

O objetivo deste estudo, é avaliar a expressão das proteínas p53 e Ki-67 em adenomas colorretais, suas relações com características clinico-patológicas e avaliar a relação entre as duas proteínas. A amostra consistiu de 50 pólipos adenomatosos encontrados em pacientes submetidos a exames colonoscópicos. Após a realização de polipectomia, os pólipos eram conservados em solução tamponada de formalina a 10% e submetidos à rotina de preparo de cortes e lâminas e coloração pela hematoxilina-eosina para confirmação da natureza adenomatosa. Realizou-se imunohistoquímica específica para as proteínas p53 e Ki-67 pelo método imunoenzimático da streptoavidina-biotina-peroxidase para cada adenoma. A proteína p53 foi positiva em 18% dos adenomas e a proteína Ki-67, expresso como índice (i.Ki-67), obteve média de 0,49. Houve diferença estatisticamente significativa na expressão de p53 ( $p=0,0003$ ) e Ki-67( $p=0,02$ ) entre os adenomas com alto e baixo grau de displasia, sendo maior no primeiro grupo. Encontrou-se, ainda maior expressão da proteína Ki-67 nos adenomas retais em relação aos de localização cólica ( $p= 0,02$ ). Não houve relação entre a expressão das duas proteínas, na amostra

Palavras-chave: p53, Ki-67, adenoma colorretal, proteínas, pólipos.

## ABSTRACT

The aim of this study therefore is to evaluate the expression of p53 and Ki-67 proteins in colorectal adenomas, its relations with clinicopathological characteristics and assess the relation between the two proteins. The sample consisted of 50 adenomatous polyps found in patients undergoing colonoscopy. After performing polypectomy, polyps were preserved in buffered 10% formalin solution and subjected to routine preparation of sections and slides and stained with hematoxylin-eosin for confirmation the adenomatous condition. Then, we performed immunohistochemistry for specific p53 and Ki-67 proteins by enzyme immunoassay method of streptavidin-biotin peroxidase for each adenoma. The p53 protein was positive in 18% of the adenomas and the Ki-67 protein, expressed as an index (i.Ki-67) had an average of 0,49. It was found statistically significant difference in p53( $p=0,0003$ ) and Ki-67 ( $p=0,02$ ) expression between adenomas with high and low grade dysplasia, greater in the first group. There was greater expression of Ki-67 protein in the rectal adenomas than colic adenomas ( $p=0,02$ ). There was no relation between the expression of the two proteins in the sample.

Keywords: p53, Ki-67, colorectal adenoma, proteins, polyps.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Microfotografia de imunohistoquímica para p53 e Ki-67.....	30
FIGURA 2 - Gráfico da expressão da proteína p53 em adenomas.....	31
FIGURA 3 - Gráfico da distribuição da proteína p53 entre os sexos.....	33
FIGURA 4 - Gráfico da expressão da proteína p53 segundo o tamanho dos adenomas.....	33
FIGURA 5 - Gráfico da expressão da proteína p53 segundo a localização do adenoma.....	34
FIGURA 6 - Gráfico da expressão da proteína p53 segundo o grau de displasia dos adenomas.....	35
FIGURA 7 - Gráfico da expressão da proteína p53 entre adenomas únicos e sincrônicos.....	35
FIGURA 8 - Gráfico com variação do iKi-67 em adenomas p53+ e p53-. Médias e desvio padrão.....	36
FIGURA 9 - Gráfico de dispersão entre idade e iKi-67.....	36
FIGURA 10 - Gráfico da variação da expressão da proteína Ki-67 (iKi-67) entre os sexos.....	37
FIGURA 11 - Gráfico da variação da expressão da proteína Ki-67 (i.Ki-67) de acordo com o tamanho dos adenomas.....	38

FIGURA 12 - Gráfico da variação da expressão da proteína Ki-67 (iKi-67)	
de acordo com a localização dos adenomas.....	39
FIGURA 13 - Gráfico da variação da expressão da proteína Ki-67 (iKi-67)	
de acordo com o grau de displasia dos adenomas.....	40

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Expressão de Ki-67 (iKi-67) em adenomas.....	32
TABELA 2 - Distribuição de idade segundo a expressão da proteína p53 .....	32
TABELA 3 - Expressão de p53 segundo o sexo .....	32
TABELA 4 - Expressão de p53 segundo o tamanho do adenoma.....	33
TABELA 5 - Expressão de p53 segundo localização do adenoma .....	34
TABELA 6 - Expressão de p53 segundo grau de displasia.....	35
TABELA 7- Expressão de Ki-67 (iKi-67) segundo o sexo .....	37
TABELA 8 - Expressão de Ki-67 (iKi-67) segundo o tamanho do adenoma.....	38
TABELA 9 - Expressão de Ki-67 (iKi-67) segundo a localização do adenoma.....	38
TABELA 10 -Expressão de Ki-67 (iKi-67) segundo o grau de displasia do adenoma.....	39
TABELA 11 -Relações com significância estatística .....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APC:	gene ou proteína APC (Adenomatosis polyposis coli)
C:	Carbono. Refere-se a porção carboxil terminal
CDK :	Quinase dependente de ciclinas
DCC:	Gene ou proteína DCC – “delete in colorectal câncer”
DNA:	Ácido desoxiribonucleico
DP:	Desvio Padrão
EGF:	Fator de crescimento epitelial
Fas/APO1:	Gene indutor da apoptose
G0 :	Estado de parada do ciclo celular
G1 :	“Gap1”/ intervalo delimitante entre mitose e síntese de DNA
G2 :	“Gap2”/ intervalo após a síntese do DNA e antes da mitose
Gadd 45 :	Proteína envolvida no reparo do DNA
H2O2:	Água oxigenada
HNPCC:	Câncer colorretal hereditário não-polipose
IGF-1:	Fator de crescimento do tipo insulina 1
IGFBP:	Proteína transportadora de IGF
iKi-67:	Índice de proliferação celular
INCA:	Instituto Nacional do Câncer
KD:	Kilodaltons
KI-67:	Gene ou proteína Ki-67
LAPAC:	Laboratório de Patologia Cirúrgica e Citopatologia
Ltda:	Limitada
M :	Molar (molaridade)
MDM2:	Gene ou proteína MDM2 (murine double minutes)
MIB-1:	Anticorpo monoclonal contra antígeno Ki-67
N:	Nitrogênio. Refere-se a porção amino terminal
p21 :	Proteína de 21 kilodaltons pertencente a família Cip
P53:	Gene ou proteína P53
PAF :	Polipose adenomatosa familiar
PBS:	Solução salina tamponada com fosfatos

PCNA: gene ou proteína PCNA (proliferating cell nuclear antigen)  
PDGF: Fator de crescimento derivado de plaquetas  
ras: gene ou proteína ras  
S: Fase de síntese de DNA da mitose  
Waf1/Cip1 "wild type p53 activated fragment one"/"cyclin inhibitory protein"

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	
LISTA DE TABELAS.....	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>26</b>
<b>3 MÉTODO.....</b>	<b>27</b>
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>49</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>58</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O câncer colorretal está entre os tipos mais freqüentes de neoplasias malignas. Em termos de incidência, é a terceira causa mais comum de câncer no mundo, em ambos os sexos (INCA, 2009). Representa a quarta neoplasia mais comum nos Estados Unidos, com 178.000 casos novos ao ano e mortalidade em torno de 47 para cada 100.000 habitantes (HORNBERG *et al.*, 2009).

Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer – INCA, (2009) o número de casos novos de câncer de colon e reto estimados para o Brasil, em 2010, é de 13310 para homens e 14800 em mulheres. Isso representa um risco estimado de 14 novos casos para cada 100.000 homens e 15 casos para 100.000 mulheres. É o quarto tipo de câncer mais freqüente no sexo masculino e o terceiro entre mulheres (INCA, 2009). Na região Nordeste do Brasil, as estimativas para o ano de 2010 são de 1.310 novos casos em homens e 1.730 em mulheres (INCA, 2009).

Os principais fatores de risco descritos para o câncer colorretal são: idade acima dos 50 anos; história familiar positiva para câncer colorretal, assim como o câncer colorretal hereditário não relacionado à polipose; os pólipos intestinais, bem como a polipose adenomatosa familiar (SANTOS JR, 2007). Também são considerados fatores de risco as doenças inflamatórias intestinais – retocolite ulcerativa e doença de Crohn; diabetes, dieta com alto teor em gordura e carne vermelha e baixo consumo de fibras, folato e cálcio (SANTOS JR, 2007).

Quando detectado em estágios mais precoces, o câncer colorretal apresenta maiores chances de cura e sobrevida (CASTRO *et al.*, 2005). Visando a sua prevenção e detecção precoce, diversos protocolos de rastreamento são utilizados com base na realização de pesquisa de sangue oculto nas fezes e exames endoscópicos - retossigmoidoscopia e colonoscopia. (HELM *et al.*, 2003; KERR *et al.*, 2007). O objetivo destes programas de rastreamento é a detecção precoce de pólipos adenomatosos ou tumores malignos em estágios iniciais.

Os métodos atuais de rastreamento e prevenção do câncer colorretal apresentam deficiências, pois têm baixas taxas de sensibilidade e especificidade, como ocorre na pesquisa de sangue oculto nas fezes (ALTENBURG, BIONDO-

SIMÕES, SANTIAGO, 2007); ou baixa adesão, como no caso da retossigmoidoscopia ou a colonoscopia que, além disso, é bastante onerosa para utilização na população em geral (VERNON, 2007).

Em todos os programas de prevenção, um dos objetivos principais a ser alcançado é a detecção de lesões de caráter benigno, nas quais possam ser instituídas terapias mais simples e eficazes (HELM *et al.*, 2003; KERR *et al.*, 2007). Deste modo, o elemento chave na prevenção é focado sobre os adenomas, tornando-se necessários estudos capazes de determinar novos fatores prognósticos relacionados ao seu desenvolvimento e progressão.

Na etiologia do câncer colorretal há uma interação entre fatores ambientais e genéticos (SANTOS JR, 2007). Neste aspecto, destacam-se o papel dos pólipos adenomatosos como lesões precursoras do câncer (HILL *et al.*, 1978). A conhecida teoria da sequência “adenoma-carcinoma” (HILL *et al.*, 1978) apóia-se em estudos patológicos e epidemiológicos.

LIEBERMAN *et al.*, (2000) observaram maior risco de desenvolvimento de câncer de cólon em pacientes portadores de adenomas cólicos. Outros estudos evidenciaram a diminuição do risco de tumores malignos do cólon com realização de polipectomia (WINAWER *et al.*, 1993; CITARDA *et al.*, 2001).

Pesquisas utilizando estudo histopatológico mostraram focos adenomatosos em peças de adenocarcinomas de colon (LEV *et al.*, 1981). A polipose adenomatosa familiar é outra condição que evidencia a origem dos carcinomas cólicos a partir de adenomas, quando não submetidos a tratamento profilático (KUWADA, 1996).

Os adenomas constituem o tipo de pólipo mais freqüente no intestino grosso. (COSTANTINI *et al.*, 2003; CERATO *et al.*, 2007). São pólipos displásicos por conterem anormalidades na constituição celular (RUBIO *et al.*, 2006). Sua prevalência na população acima dos 50 anos é de 30%, aumentando de acordo com a idade (SANTOS JR, 2007). Macroscopicamente podem ser sésseis, quando sua base de inserção na mucosa possui o mesmo diâmetro do pólipo; ou pediculado quando a sua inserção à mucosa é feita através de um pedículo (COSTANTINI *et al.*, 2003).

Histologicamente, os adenomas são classificados em tubulares, quando maior parte é formada por estruturas tubulares; vilosos, quando apresentam um aspecto

digitiforme; ou são classificados como túbulo-vilosos se apresentarem características mistas (CORMAN, 2005). Os adenomas tubulares são os mais freqüentes, seguidos pelo adenoma túbulo-viloso e adenoma viloso (CORMAN, 2005).

Segundo o grau de displasia, os adenomas são classificados como de baixo grau ou alto grau de displasia (SUGAI *et al.*, 2002; RUBIO *et al.*, 2006). O primeiro grupo inclui as displasias leves e moderadas e o segundo, as displasias graves (SCHLEMPER *et al.*, 2000).

Outros tipos especiais de adenomas também descritos são os adenomas planos e serrilhados. MUTO *et al.*, em 1985, descreveram os adenomas planos como lesões pequenas que apresentam alta incidência de displasia grave ou mesmo câncer invasivo. Os adenomas serrilhados apresentam a arquitetura de um pólipo hiperplásico, mas diferem destes nas suas características citológicas, podendo apresentar displasias acentuadas, características adenomatosas ou carcinoma intramucoso (LI & BURGART, 2007).

A evolução do conhecimento da carcinogênese colorretal deve-se muito ao estudo de alterações genéticas observadas nas células de pólipos e tumores colorretais (PORCELLI *et al.*, 2001; BRINK *et al.*, 2003; LUSTOSA, *et al.*, 2005; FELIN *et al.*, 2008). O conhecimento da biologia molecular do processo neoplásico inicia no estudo do ciclo da célula, que consiste de uma complexa cadeia de eventos metabólicos cujo objetivo final é a duplicação desta. A identificação das alterações moleculares que ocorrem no processo de crescimento tumoral tem evoluído bastante nos últimos anos com vários elementos sendo conhecidos atualmente (PINHO, 2005).

O conhecimento do ciclo celular é de suma importância para o estudo da carcinogênese e dos fatores que influenciam no crescimento celular e tumoral (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003). É dividido em duas etapas principais: a interfase e a mitose.. A interfase é a fase que inicia imediatamente após a divisão celular. Em comparação com a mitose, tem duração muito longa e é subdividida em três fases: G1, S e G2. Durante a fase G1, a célula entra num estado de síntese de RNA e proteínas que serão utilizadas na fase S, onde ocorre a duplicação do DNA em um processo denominado replicação. Na fase G2, todo material genético encontra-se duplicado e intensifica-se o crescimento celular até

que inicie a mitose. Durante a mitose, ocorre a duplicação celular propriamente dita, originando duas células idênticas. É dividida em seis etapas: prófase, prometáfase, metáfase, anáfase, telófase e citocinese. A fase em que uma célula não está em duplicação chama-se G0 (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003; PINHO, 2005).

A regulação do ciclo celular é dada por sinais mitogênicos oriundos do ambiente tecidual, tais como Fator de Crescimento Epitelial (EGF) e Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), dentre outros. Estes fatores são produzidos após mudanças no ambiente externo, como, por exemplo, uma solução de continuidade nos tecidos. Tendo recebido estes sinais via receptores de membrana, a célula utiliza mecanismos intracelulares complexos para traduzí-los e iniciar sua divisão (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003; PINHO, 2005).

Os diferentes tipos de receptores irão variar quanto ao tipo de alteração pelo qual é feita a ativação intracelular. No caso dos receptores dos fatores de crescimento, esta ocorre através de um mecanismo denominado de fosforilação, através da adição de uma proteína de um grupo fosfato, catalizada por uma enzima proteíno-quinase e revertida por uma proteína fosfatase. A partir deste ponto, a célula fica sob influência de fatores reguladores intrínsecos. (PINHO, 2005).

Para que os eventos de divisão celular ocorram de maneira adequada, é necessária a existência de mecanismos controladores do ciclo celular: as cascatas ciclino-dependentes e os pontos de checagem. (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003; PINHO, 2005).

As enzimas proteínas-quinases, ou quinases, necessitam de um processo de ativação para exercerem suas funções. Esta ativação ocorre após sua ligação a outro grupo de proteínas, as ciclinas, sendo conhecidas como quinases dependente de ciclinas (CDK). Assim sendo, a ativação de fato das proteínas responsáveis pelos eventos relacionados ao ciclo celular dar-se-á através de complexos denominados CDK-ciclinas. (PINHO, 2005)

Outros importantes mecanismos de controle do ciclo celular são os denominados pontos de checagem ou “check-points”, cuja função é detectar em momentos estratégicos de mudanças de fases a presença de defeitos que possam

comprometer a formação de células-filhas normais (PINHO, 2005). Existem dois pontos de checagem de maior importância: ao final da fase G1 e ao final da fase G2 (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003; PINHO, 2005). Nestes pontos, são avaliadas condições locais necessárias a replicação celular como o tamanho celular, a presença de condições locais adequadas para replicação e a integridade da replicação do DNA. Uma vez que as condições não sejam favoráveis, o ciclo celular pára até que as condições adequadas estejam presentes. (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003; PINHO, 2005).

Os genes que controlam o ciclo celular tem a função primordial de promover a multiplicação celular de forma organizada e perfeita. Dividem-se basicamente em dois grupos: os genes que estimulam a proliferação celular e os que inibem a proliferação celular. Num estado de equilíbrio tecidual normal a função destes dois grupos de proteínas encontra-se em equivalência (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003).

O grupo de genes que codificam proteínas capazes de estimular a proliferação celular é chamado de proto-oncogenes quando desempenham sua função normal e oncogenes quando sofrem mutação, podendo levar ao desencadeamento do processo proliferativo patológico. Por outro lado, as proteínas inibidoras do ciclo celular são codificadas por genes chamados supressores tumorais. Estes genes atuam de duas formas: agem como genes de reparo, atuando no reparo de erros de replicação do DNA ou promovendo apoptose de células defeituosas (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003; PINHO, 2005).

A progressão da mucosa normal para adenoma e câncer está associada a alterações genéticas herdadas ou adquiridas durante a vida (VERMEULEN, VAN BOCKSTAELE, BERNEMAN, 2003). Diversos genes já são bastante conhecidos e estão diretamente envolvidos no processo da carcinogênese e desenvolvimento de neoplasias. Dentre eles, o gene p53 ocupa papel relevante no desenvolvimento de neoplasias gastrointestinais e colorretais. (MILLER *et al.*, 1986; ISOBE *et al.*, 1986; MAY & MAY, 1999; VOGELSTEIN, 2000).

O gene supressor de tumor p53 em humanos está localizado no loco de subdivisão 13 do braço curto do cromossomo 17 (17p13). Composto por 11 exons intercalados por 10 introns (MILLER *et al.*, 1986; ISOBE *et al.*, 1986), codifica uma

fosfoproteína nuclear de peso molecular equivalente a 53 kD, que contém uma seqüência de 393 aminoácidos (MAY & MAY, 1999).

A proteína p53 é composta por quatro domínios funcionais principais: um domínio amino-terminal (N-terminal), um extenso núcleo hidrófobo central, uma região de oligomerização e uma região carboxil-terminal (C-terminal) (MILNER, 1997; MAY & MAY, 1999).

O núcleo hidrófobo, conhecido como ativador de transcrição seqüência-específica, é responsável por interagir com uma seqüência específica do DNA. (YONISH-ROUACH, 1997). O domínio C-terminal, por outro lado, é capaz de se ligar não especificamente a várias formas danificadas de DNA visando seu reparo. A região de oligomerização parece estabilizar a atividade de ligação específica, sendo essencial para a transativação de seqüência específica em alguns casos. Várias proteínas celulares, sendo a MDM2 o exemplo mais clássico, podem inativar a p53 ao se ligarem ao domínio N-terminal (VOGELSTEIN, 2000).

Deve-se salientar que apenas 5% das mutações podem acometer as porções N-terminal e C-terminal. A maioria, aproximadamente 95%, ocorrem no núcleo hidrófobo (CHO *et al.*, 1994). Logo, essa porção da molécula é a que está mais relacionada com a inativação da sua função.

A principal função da proteína p53 é mediar a resposta celular quando o DNA é danificado, auxiliando na manutenção da estabilidade genômica (SOUSSI; FROMENTEL; MAY, 1990; YONISH-ROUACH, 1997; VOGELSTEIN, 2000). Dessa maneira, muitas formas de estresse genotóxico, incluindo radiações e alguns produtos químicos, induzem rápido aumento nos níveis da proteína p53, promovendo a interrupção do ciclo celular, inibindo a proliferação e participando da morte celular programada ou apoptose (YONISH-ROUACH, 1997; MAY & MAY, 1999).

Há pelo menos três mecanismos pela qual p53 é ativada. O primeiro é através do dano ao DNA, como o causado por radiação ionizante. A segunda via de ativação é desencadeada por fatores de crescimento, como os produtos dos oncogenes ras. O terceiro caminho é induzido por quimioterápicos, luz ultravioleta e inibidores de proteína-quinase (MEEK, 1999). Todas essas vias inibem a degradação de p53, resultando em altas concentrações desta proteína. (VOGELSTEIN, 2000)

O produto de vários genes com função de estacionar o ciclo celular pode ser induzido pela p53. Os principais são as proteínas p21, MDM2 e Gadd45.( XIONG *et al.*, 1993; HAUPT *et al.*, 1997; YONISH-ROUACH, 1997)

O produto do gene Waf1/Cip1, a proteína p21, bloqueia a proliferação celular ao se ligar às CDKs, inibindo suas ações (XIONG *et al.*, 1993).

O gene MDM2, localizado na região cromossômica 12q14.3-q15, codifica uma proteína de mesmo nome que inativa a p53 ao se ligar no seu domínio N-terminal. A transcrição dessa proteína é induzida pela p53, criando um “feedback” autorregulatório que controla, ao mesmo tempo, a atividade de p53 e a expressão da MDM2 (HAUPT *et al.*, 1997)

A Gadd45 é outra proteína mediada pela p53 que pode estacionar o ciclo celular mediante ligação ao PCNA ou a p21 (YONISH-ROUACH, 1997).

Dentre os mediadores da via apoptótica induzidos pela p53, estão o gene bax, o qual acelera a apoptose através da ativação de caspases que alteram a estrutura da mitocôndria, estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio altamente tóxicas (MAY; MAY, 1999) e a Fas/APO-1, da família de receptores do fator de necrose tumoral, que promove transdução de sinal ao se ligar à proteína DR5, resultando na indução da cascata de caspases que levam à apoptose (WU & LEVINE, 1994). Uma terceira via para apoptose é mediada pela IGFBP-3, antagonista do IGF-1, que bloqueia a sinalização do fator de crescimento mitogênico (BASERGA, 1994).

A proteína p53 pode, ainda, ser responsável pela ativação de genes que mantêm a estabilidade genômica através de reparo no DNA e recombinação cromossomal. Também esta relacionada com a inibição de neoformação vascular (VOGELSTEIN, 2000).

A pesquisa da proteína p53 em neoplasias colorretais através de técnicas de imunohistoquímica tem sido amplamente utilizada. Pelo fato da forma mutante dessa proteína ter uma meia-vida longa quando comparada à sua forma normal, também chamada de “selvagem”, essa técnica quase exclusivamente detecta a primeira forma, ou seja, a mutante (PORCELLI, 2001; HORIUCHI *et al.*, 2004) .

Estudos com a proteína p53 em processos neoplásicos colorretais utilizando a imunohistoquímica tentam estabelecer relações entre a sua detecção e fatores

diagnósticos ou prognósticos. (KRESSNER et al., 1999; KIM et al., 2001; LAN et al., 2006; SHANMUGAM, et al., 2008; FELIN et al., 2008). Estas pesquisas sobre a detecção de p53 em adenomas e carcinomas colorretais mostram resultados variáveis.

KIM *et al.* (2001), estudando 23 espécimes de câncer de reto, obtiveram imunopositividade para a proteína p53 em 16 casos.

PORCELI *et al* (2001) encontraram 72% de positividade para p53 em espécimes de adenocarcinoma colorretal.

LUSTOSA *et al.*(2005), conduziram estudo no Brasil com 125 pacientes com adenocarcinoma colorretal. A imunohistoquímica foi positiva para p53 em 11,8% dos casos. Outro trabalho brasileiro pesquisando a expressão de p53 em 40 amostras de adenocarcinoma intestinal encontrou 70% de hiperexpressão desta proteína (FELIN *et al*, 2008)

THEODOROPOULOS *et al.* (2009) obtiveram 63% de positividade para p53 em estudo de 164 casos de adenocarcinoma colorretal.

Os estudos de p53 em adenomas colorretais revelam resultados variáveis, com taxas de positividade entre 10 e 58%. (ENOMOTO *et al*, 2000)(VOSKUIL *et al*, 2000)(PORCELI *et al*, 2001) (SHEIKH *et al*, 2003)

Quando os adenomas são analisados segundo o grau de displasia, há diferenças significativas nos achados da proteína p53 nos adenomas de baixo e alto grau de displasia (WATATANI *et al*, 1999).

NOMURA *et al* (2000) encontraram positividade para p53 significativamente maior em adenomas com alto grau de displasia quando comparados com adenomas de baixo grau de displasia.

A expressão da proteína Ki-67, no humano, é estritamente associada com a proliferação celular, sendo essa detectada nas fases G1, S, G2 e mitose. Dessa maneira, o Ki-67 é um excelente marcador para células em proliferação. Além disso, apresenta biologia peculiar, não tendo semelhança com nenhuma das outras proteínas envolvidas no ciclo celular. (SCHOLZEN & GERDES, 2000).

VAN DIERENDONCK *et al.* (1989) postularam dois critérios necessários para um marcador de proliferação celular, que são a presença contínua do antígeno



durante o ciclo celular em todos os tipos de células, e o desaparecimento deste quando a célula passa para um estado não proliferativo. Em relação a estes critérios, o Ki-67 encontra-se presente em todas as fases do ciclo celular, com exceção de G<sub>0</sub>, e em todos os tipos de células com capacidade proliferativa

Em relação à detecção do Ki-67, o maior empecilho para os estudos referentes a esta proteína era a incapacidade do anticorpo original detectar materiais em blocos de parafina. Este fato foi superado com o surgimento do anticorpo monoclonal MIB-1, que tem mais sensibilidade e facilidade metodológica, quando comparado à contagem do número de células em mitose (índice mitótico), e mais especificidade, quando comparado com o PCNA, outro marcador de proliferação celular conhecido (SCHOLZEN & GERDES, 2000). Este último, de acordo com PROSPERI (1997), não é recomendado como marcador de proliferação celular porque se apresenta positivo mesmo em células em G<sub>0</sub>.

A proteína Ki-67 é considerada o marcador de proliferação celular de maior acurácia, sendo utilizado muitas vezes como fator prognóstico em tumores cuja evolução é de difícil previsão quando baseada somente em critérios histológicos (SCHOLZEN & GERDES, 2000).

O gene Ki-67 atua na síntese de duas isoformas da proteína Ki-67, uma com 320 kD e outra com 359kD, relacionadas com a presença ou a ausência, respectivamente, do exon 7 deste gene. Contém uma região central com 16 repetitivos elementos codificados por um exon simples de 6845 pares de bases. (SCHOLZEN & GERDES, 2000).

A função da proteína Ki-67 ainda é pouco conhecida. Segundo STARBORG *et al.* (1996) são sugeridos três possíveis papéis para Ki-67:envolvimento no processo de condensação e descondensação dos cromossomos, na proteção e estabilização dos cromossomos e na distribuição simétrica de proteínas nucleolares para as células-filhas.

Atualmente, tem sido sugerido que Ki-67 tem um papel crucial na proliferação celular porque a injeção de anticorpos contra este antígeno tem diminuído a taxa de divisão celular (SCHOLZEN & GERDES, 2000; KAUSCH *et al.*, 2003).

Em relação à expressão da proteína Ki-67 dentro do ciclo celular, GERDES *et al.* (1984), analisando detalhadamente a estimulação do ciclo celular de leucócitos mononucleares pela fitohemaglutinina, verificou que o antígeno Ki-67 estava presente no final da fase G1 e durante o período total das fases S, G2 e M, estando ausente na fase G0.

ENOMOTO *et al.*, (2000) realizaram imunohistoquímica para Ki-67 em 80 adenomas colorretais. O índice de expressão de Ki-67 foi tão maior quanto maior o grau de displasia dos adenomas.

KIM *et al.*, (2001) avaliaram a expressão de Ki-67 em 23 casos de câncer retal submetidos a rádio e quimioterapia pré-operatórias. Foi observada uma correlação positiva entre o índice de proliferação celular representado pelo Ki-67 e a regressão tumoral após a radioquimioterapia.

ISHIDA *et al.*, (2004) estudaram casos de câncer colorretal em estágio Dukes C, divididos em dois grupos: sobrevida curta (dentro dos primeiros dois anos após a cirurgia), e sobrevida longa (acima de dez anos de sobrevida). Investigaram fatores clinicopatológicos e expressão imunohistoquímica de p53, Ki-67 e CEA no tumor primário e linfonodos metastáticos, encontrando imunoexpressão de Ki-67 e CEA nos linfonodos metastáticos significativamente maiores no grupo de pacientes de sobrevida curta.

SOUSA-JÚNIOR, ALENCAR, SILVA, (2009) incluíram em sua pesquisa a expressão de Ki-67, cujo objetivo foi detectar a sua expressão e de bcl-2 em mucosa colorretal normal de pacientes com câncer de mama, onde concluíram por haver diferenças significantes entre a expressão de Ki-67 entre o grupo de estudo e um grupo controle.

SOUSA-JÚNIOR, ALENCAR, SILVA, (2010) avaliando a expressão de Ki-67 em adenomas colorretais de pacientes com e sem câncer de mama, concluíram que há uma maior expressão de Ki-67 em adenomas provenientes de paciente com câncer de mama.

Vê-se, portanto, que as expressões imunohistoquímicas de p53 e Ki-67 são parâmetros importantes no estudo da carcinogênese colorretal. Em relação aos adenomas colorretais, porém, ainda são poucos os trabalhos que fazem semelhante

estudo, associando a características clinico-patológicas. Embora, algumas relações já estejam bem estabelecidas, outras ainda necessitam ser melhor avaliadas, inclusive a existência de relação entre as duas proteínas. Estes fatos incentivaram a presente pesquisa e espera-se, com isso, obter-se novos conhecimentos acerca deste tema.

## **2 OBJETIVO**

Os objetivos da presente investigação são:

Determinar a expressão imunohistoquímica das proteínas p53 e Ki-67 em adenomas colorretais.

Verificar se a expressão das proteínas p53 e Ki-67 tem relação com a idade e sexo dos pacientes; tamanho, sincronicidade, localização e grau de displasia dos adenomas.

Verificar a relação entre si da expressão das proteínas p53 e Ki-67 nos adenomas.

### 3 MÉTODO

O estudo foi realizado no Serviço de Coloproctologia do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará e Serviço de Endoscopia Digestiva do Hospital Santa Maria Ltda, em Teresina-PI, após ter sido aprovado por Comitê de Ética local sob o protocolo No 596/09 (APÊNDICE B).

#### 3.1 AMOSTRA

A amostra consistiu de 50 adenomas provenientes de 44 pacientes submetidos a exames rotineiros de colonoscopia, no qual foi feito o diagnóstico de pólipos adenomatosos. As principais indicações para os exames colonoscópicos foram: alteração de hábito intestinal (15 casos), hematoquezia (14 casos), prevenção de câncer colorretal (9 casos) dor abdominal persistente (6 casos). Vinte e cinco adenomas eram provenientes de 23 pacientes do sexo feminino e 25 eram provenientes de 21 pacientes do sexo masculino. A idade média dos pacientes foi de 62,7 anos ( 41 – 89) .

#### 3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Adenomas colorretais confirmados por exame histopatológico.

Assinatura de termo de consentimento informado. ( APÊNDICE A)

#### 3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Pacientes portadores de neoplasias malignas atual ou pregressa, poliposes cólicas, radioterapia prévia e doença inflamatória intestinal.

#### 3.4 DELINEAMENTO

Estudo transversal, não-controlado, realizado entre os meses de abril de 2009 e abril de 2010.

Os pacientes foram provenientes do ambulatório de Coloproctologia do Hospital Santa Maria LTDA , em Teresina-PI, os quais tiveram indicação para realizar exame colonoscópico.

Os pacientes foram submetidos à realização de videocolonosopia e ao serem diagnosticados pólipos colorretais, realizou-se polipectomia endoscópica.

Posteriormente, os pólipos foram submetidos à análise histopatológica para confirmação da sua natureza adenomatosa e inclusão no estudo. Foram colhidos dados relativos aos adenomas( quantidade, tamanho, localização, grau de displasia) e aos pacientes( idade, sexo) e realizado imunohistoquímica para as proteínas p53 e Ki-67 em cada adenoma . Para comparação entre grupos e análise estatística os adenomas foram categorizados: quanto à localização, em retais e cólicos; quanto ao tamanho, em <10mm ou ≥10mm; quanto ao grau de displasia em baixo e alto. Nos casos de pacientes com adenomas múltiplos, foi realizado estudo anatomopatológico e imunohistoquímica separadamente em cada adenoma.

### 3.5 PROCEDIMENTO ENDOSCÓPICO

Os pacientes foram submetidos à videocolonosopia até o ceco após preparo mecânico do colon com solução de Manitol a 10%. Todos os exames foram realizados pelo mesmo profissional. Foi utilizado aparelho de videocolonosopia marca Olympus, série 145 HE. Todos os pólipos foram ressecados com utilização de alça diatérmica; em seguida, era realizada mensuração a fresco dos pólipos com auxílio de paquímetro e colocados em solução de formalina a 10% com tampão fosfato.

### 3.6 ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

Os pólipos foram encaminhados para o Laboratório de Patologia Cirúrgica e Citopatologia (LAPAC), na cidade de Teresina-PI, para rotina de exame anatomopatológico.

Após análise macroscópica, o espécime foi submetido à rotina para preparo de cortes histológicos e coloração pela hematoxilina-eosina, onde era confirmada a natureza adenomatosa do pólipo, determinado o tipo histológico e grau de displasia. Todos os casos foram avaliados independentemente por dois patologistas para obter-se confirmação das características histopatológicas.

### 3.7 ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA

Foi realizada análise imunohistoquímica para detecção da expressão das proteínas p53 e Ki-67. Foi obtida através do método imunoenzimático da streptoavidina-biotina-peroxidase. Este consiste nas seguintes etapas: 1 – desparafinização a 60°C (20 minutos); 2 – desparafinização à temperatura ambiente

(30 minutos); 3 – re-hidratação com álcool e água; 4– recuperação antigênica: aquecimento das lâminas em solução de ácido cítrico 0,01 M/pH = 6,0 em forno microondas (potência máxima) para o P53 (10 minutos), e em panela de pressão para o Ki67 (5 minutos); 5 – bloqueio da peroxidase endógena em dois banhos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% (10 minutos cada) e lavagem com água e em tampão PBS (solução salina tamponada com fosfatos); 6 – incubação em câmara úmida a 4°C (18 horas) com anticorpo específico primário MIB-1(DAKO) na titulação de 1:100 para o Ki67 e DO-7 (DAKO) na titulação de 1:800 para o p53; 7 – incubação com anticorpo biotilado (secundário) em câmara úmida a 37°C (30 minutos), mais lavagens em PBS; 8 – incubação com complexo estreptavidina-biotina-peroxidase em câmara úmida (37°C) por 30 minutos, mais lavagens em PBS; 9 – revelação por imersão em solução de diaminobenzidina 60mg% em tampão PBS contendo 0,06% de peróxido de hidrogênio, mais lavagens em água destilada; 10 – contracoloração em hematoxilina de Harris, desidratação em álcool e montagem em lamínula com Entellan. Os núcleos positivos para cada um dos marcadores apresentam típica coloração marrom.

### 3.8 ANÁLISE QUANTITATIVA DA EXPRESSÃO DE P53 E KI-67

A determinação quantitativa da expressão dos marcadores p53 e Ki-67 foi realizada utilizando-se um sistema computadorizado constituído por um microscópio de luz marca Nikon acoplado a uma videocâmera colorida (Samsung Digital Câmera SCC-131, Seul, Coréia do Sul) com captura de imagem em microcomputador Pentium IV, com disco rígido de 80 Gigabyte, processador de 3.0 GHz, 1024 de memória RAM e placa gráfica digitalizadora, em ambiente Windows XP.

A contagem de células positivas e negativas para a expressão do p53 e Ki-67 foi realizada em aumento de 400x nas áreas mais intensamente coradas.

Após digitalização das imagens, foram contadas 500 células do epitélio mucoso em campos aleatórios (SCOPA *et al*, 2003) com o auxílio do software de Processamento e Análise de Imagem - ImageJ. Foram consideradas positivas as células com coloração nuclear marrom-escuro bem evidente. (FIGURA 1)

Não foi utilizado qualquer recurso adicional do programa ImageJ para quantificar a intensidade da coloração das células.

O cálculo do índice de expressão das proteínas foi realizado por meio da seguinte fórmula:  $i = (\text{número de núcleos corados} / \text{número de núcleos contados})$ .

No caso do p53 foram considerados positivos os casos em que existia pelo menos 10% das células com esta coloração nuclear. (PORCELLI *et al.*, 2001; LUSTOSA *et al.*, 2005)

Quanto a proteína Ki-67, o índice de proliferação celular (i.Ki-67) foi calculado pela mesma fórmula, sendo expresso em valores absolutos.

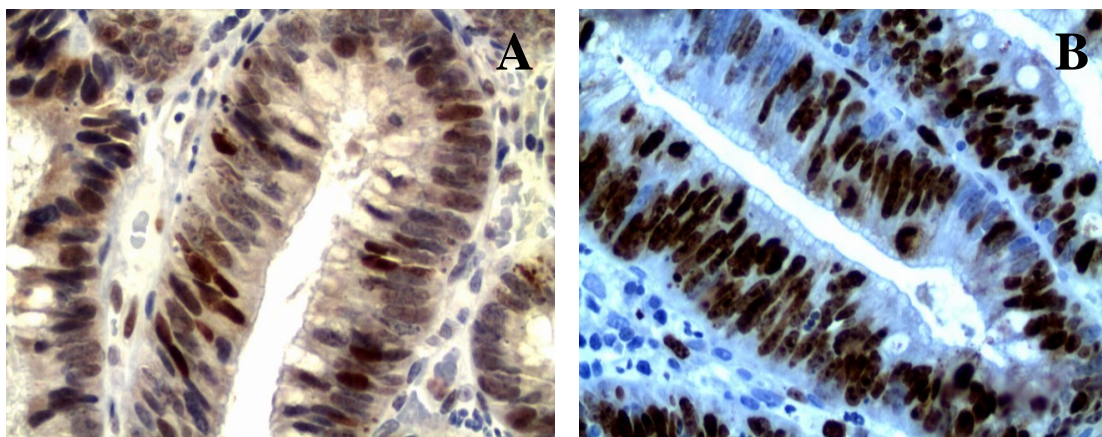


FIGURA 1 - Microfotografia de imunohistoquímica positiva para p53 (A) e Ki-67 (B) (aumento 400x) (caso No 13).

### 3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos em média, desvio padrão, valores mínimo e máximo para as variáveis numéricas e em frequência e porcentagem para variáveis categóricas e ordenativas.

Na análise estatística entre as variáveis foram utilizados o teste “exato de Fischer” para as variáveis ordenativas e categóricas e o “Teste t de Student” ou a “Correlação Linear de Pearson” foi utilizado na associação entre as variáveis numéricas. Um valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo. Utilizou-se como auxiliar o programa estatístico Bioestat 5.0.



## 4 RESULTADOS

### 4.1 ACHADOS ENDOSCÓPICOS

A localização dos pólipos foi assim distribuída: 15 (30%) localizavam-se no reto e 35 (70%) nos colons. (TABELA 5)

Cinco pacientes apresentaram pólipos sincrônicos, totalizando 11 adenomas. Um paciente apresentou três adenomas e os demais apresentavam dois cada. (FIGURA 7)

### 4.3 ACHADOS MACROSCÓPICOS

O tamanho dos pólipos variou entre 3mm e 25mm com média de 6,5mm (DP= 4,7). Em 36 casos (72%) eram menores que 10mm e em 14 (28%) maiores que 10mm. (TABELA 4)

### 4.4 ACHADOS MICROSCÓPICOS

A exceção de 1 caso de adenoma túbulo-viloso, todos os demais casos foram classificados histologicamente com adenoma tubular. Em relação ao grau de displasia, 33(66%) foram classificados como de baixo grau e 17(34%) como de alto grau. (TABELA 6)

### 4.5 IMUNOHISTOQUÍMICA

A proteína p53 foi positiva em 9 casos(18%). (FIGURA 2). Já a expressão de Ki-67 obteve média de 0,49 (0,19-0,95) (DP= 0,17). (TABELA 1)

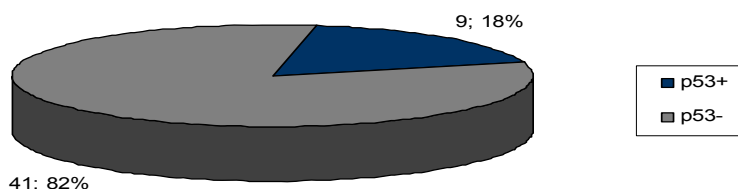


FIGURA 2: Gráfico da expressão da proteína p53 em adenomas colorretais.

TABELA 1 - Expressão da proteína Ki-67 (iKi-67) em adenomas

<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>EP</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Máximo</b>
50	0,49	0,17	0,02	0,19	0,46	0,95

DP: desvio padrão EP: erro padrão

Dos casos positivos para p53, a média de idade foi de 65,2 anos (DP= 9,1), com idade mínima de 52 e máxima de 80 anos. Nos casos negativos para p53 a média de idade foi de 62,2 anos (DP= 10,9), com mínima de 41 e máxima de 89 anos. ( $p= 0,42$ ) (TABELA 2)

TABELA 2 - Distribuição de idade segundo a expressão da proteína p53( $p=0,42$ )

<b>Idade (anos)</b>	<b>p53+</b>	<b>p53-</b>
Média	65,2	62,2
Mínima	52	41
Máxima	80	89
Desvio padrão	9,4	10,4

A expressão de p53 em relação ao sexo mostrou positividade em 3 pacientes do sexo masculino e em 6 do sexo feminino. ( $p=0,46$ ) (TABELA 3, FIGURA 3)

TABELA 3 - Expressão de p53 segundo o sexo

<b>Sexo</b>	<b>p53 +, n (%)</b>	<b>p53 -, n (%)</b>	<b>TOTAL , n (%)</b>
<b>Masculino</b>	3(12)	22(88)	25 (100)
<b>Feminino</b>	6(24)	19(76)	25(100)

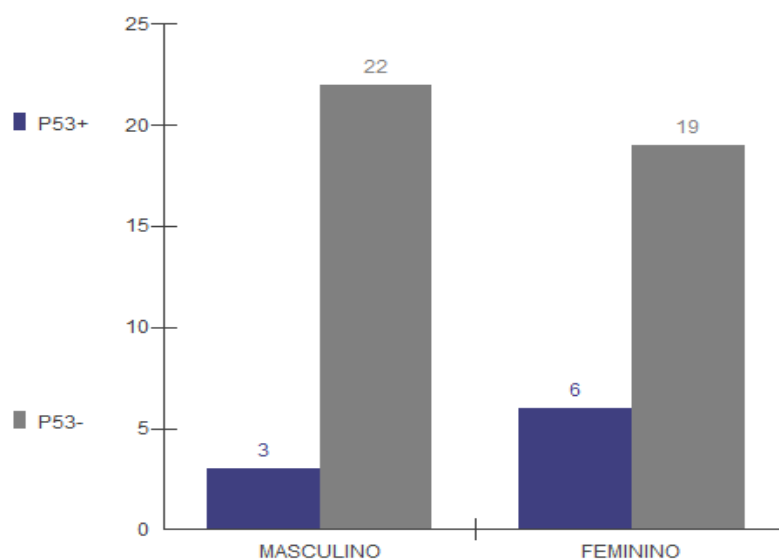


FIGURA 3 - Gráfico da distribuição da proteína p53 entre os sexos ( $p=0,46$ )

Em relação ao tamanho, os pólipos abaixo de 10mm tiveram 5 casos(13,8%) de positividade para p53 enquanto o grupo maior ou igual a 10mm tiveram 4 casos (28,5%). ( $p= 0,41$ ) (TABELA 4, FIGURA 4)

TABELA 4 - Expressão de p53 segundo o tamanho do adenoma ( $p=0,41$ )

Tamanho	p53+, n (%)	p53-,n (%)	Total,n (%)
<10mm	5 (13,8)	31 (86,2)	36 (100)
$\geq 10$ mm	4 (28,5)	10 (71,5)	14 (100)

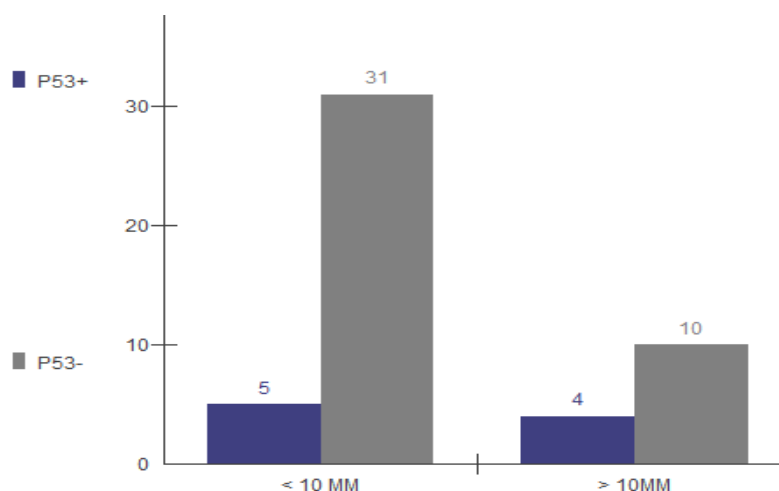


FIGURA 4 - Gráfico da expressão da proteína p53 segundo o tamanho do adenoma ( $p=0,41$ )

Quanto a localização, dos pólipos situados no reto, 2 casos (13,3%) foram positivos para p53, enquanto no colon encontrou-se 7 casos (20%) de positividade. ( $p=0,7$ ) (TABELA 5, FIGURA 5)

TABELA 5 - Expressão de p53 segundo localização do adenoma ( $p= 0,7$ )

Localização	p53 +, n (%)	p53 -, n (%)	Total, n
<b>Reto</b>	2 (13,3)	13 (86,7)	15
<b>Colon</b>	7 (20)	28 (80)	35

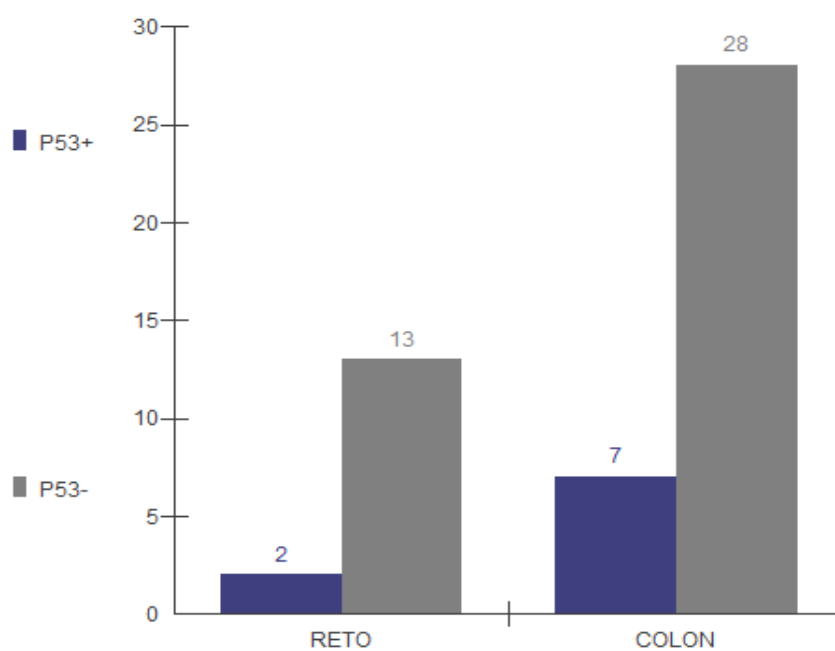


FIGURA 5 - Gráfico da expressão da proteína p53 segundo a localização do adenoma( $p=0,7$ )

Em relação ao grau de displasia, em 33 casos de baixo grau foi encontrado 1 caso positivo para p53 enquanto em 17 casos com alto grau de displasia obtiveram-se 8 casos com p53 positivo. ( $p =0,0003$  ) (TABELA 6, FIGURA 6)

TABELA 6 - Expressão de p53 segundo grau de displasia(p=0,0003)

<b>Grau displasia</b>	<b>p53 +, n (%)</b>	<b>p53-, n (%)</b>	<b>Total, n (%)</b>
<b>Baixo</b>	1 (3)	32 (97)	33 (100)
<b>Alto</b>	8 (47)	9 (53)	17 (100)

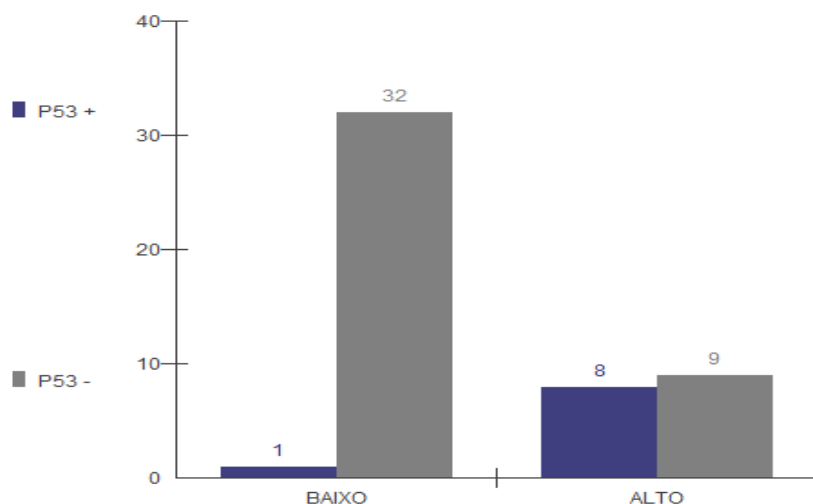


FIGURA 6 - Gráfico da expressão da proteína p53 segundo o grau de displasia dos adenomas.(p=0,0003)

Entre os pólipos sincrônicos(11 casos), houve um caso de positividade para a proteína p53, enquanto nos pólipos únicos(39 casos) houveram 8 casos positivos para a proteína p53(p=0,66). (FIGURA 7)

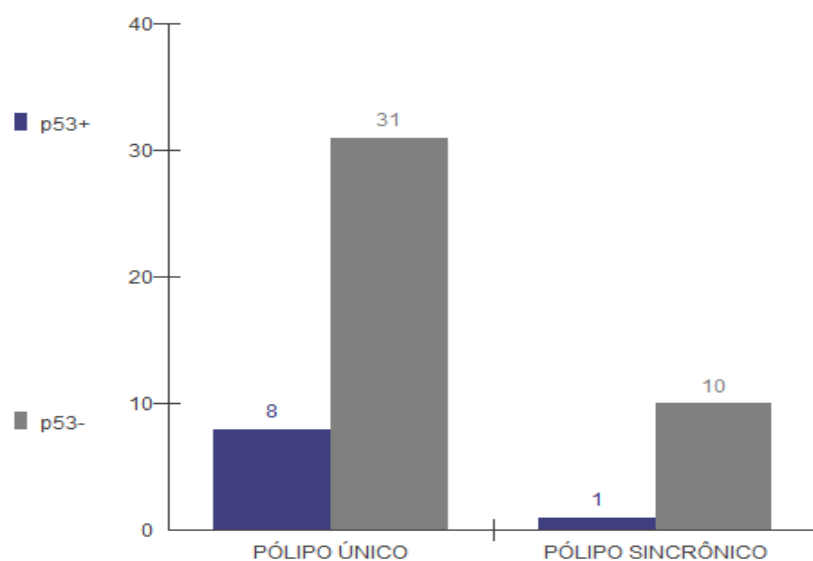


FIGURA 7 - Gráfico da expressão da proteína p53 em pólipos únicos e sincrônicos. (p=0,66)

Avaliando-se a relação entre expressão de p53 e Ki-67; nos casos positivos para p53, o iKi-67 obteve média de 0,53 (DP=0,1) com mínimo de 0,36 e máximo de 0,71. Entre os casos negativos, a média do iKi-67 foi de 0,48 (DP=0,18) com mínimo de 0,19 e máximo de 0,95. ( $p=0,4$ ) (FIGURA 8)

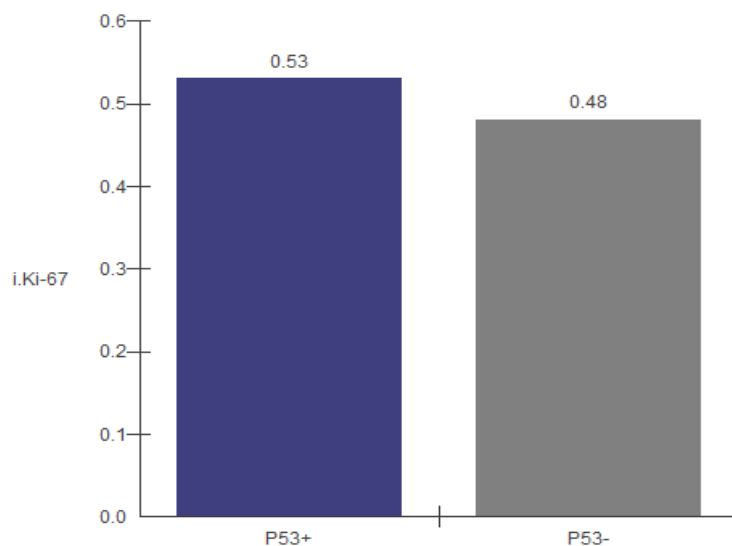


FIGURA 8 – Gráfico da expressão da proteína Ki-67 (médias) em adenomas p53+ e p53-.

Na associação entre a idade e expressão de Ki-67 foi utilizada a correlação linear de Pearson onde foi determinado um valor de  $r= -0,04$  ( $p=0,67$ ) (FIGURA 9)

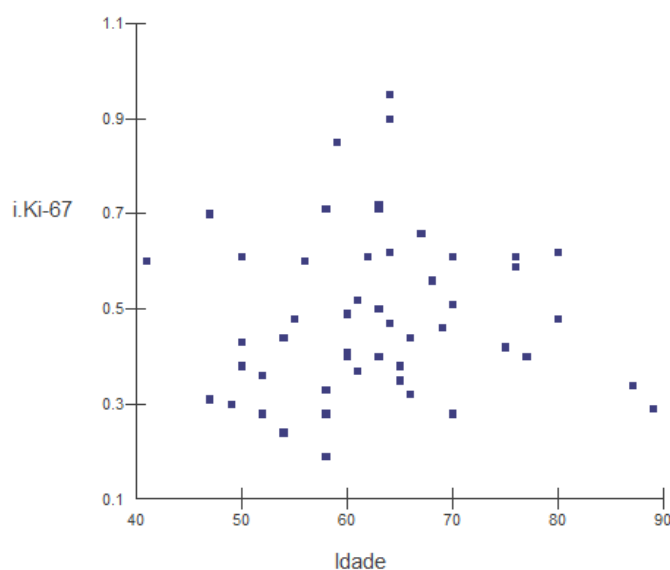


FIGURA 9 - Gráfico de dispersão entre idade (eixo x) e iKi-67 (eixo y)

Para a expressão da proteína Ki-67, a média encontrada no sexo feminino foi de 0,46 (DP= 0,14) e de 0,51 no sexo masculino (DP= 0,19) ( $p= 0,35$ ) (TABELA 7, FIGURA 10)

TABELA 7 - Expressão de Ki-67 (iKi-67) segundo o sexo ( $p=0,35$ )

Sexo	Masculino	Feminino
<b>Média</b>	0,51	0,45
<b>Minimo</b>	0,24	0,19
<b>Máximo</b>	0,95	0,71
<b>Desvio padrão</b>	0,19	0,14

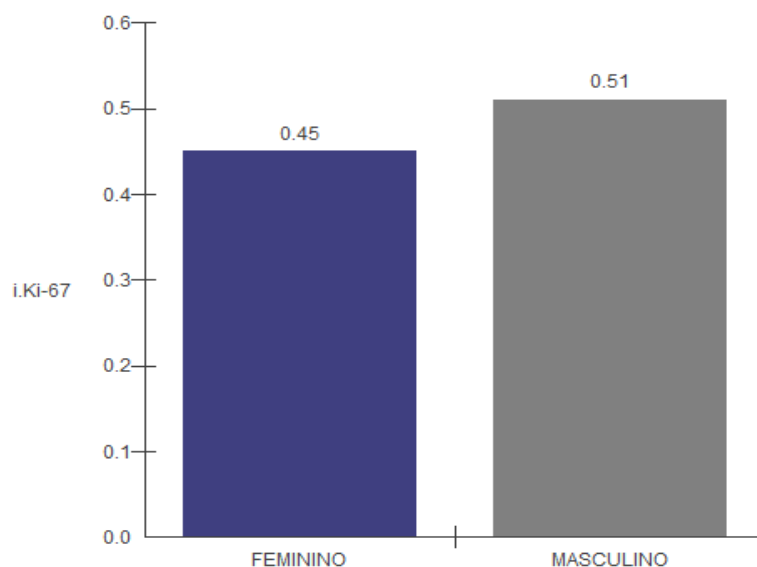


FIGURA 10 - Gráfico da expressão da proteína Ki-67 (média) entre os sexos. ( $p=0,35$ )

Em relação ao tamanho, nos pólipos menores de 10mm a média da expressão de Ki-67 foi de 0,49 (DP= 0,19), e 0,47 (DP= 0,11) no grupo maior ou igual a 10mm. ( $p= 0,7$ ) (TABELA 8, FIGURA 11)

TABELA 8 - Expressão de Ki-67 (iKi-67) segundo o tamanho do adenoma

<b>Tamanho</b>	<b>&lt;10mm</b>	<b>≥10mm</b>
<b>Média</b>	0,49	0,47
<b>Mínimo</b>	0,19	0,29
<b>Máximo</b>	0,95	0,62
<b>Desvio padrão</b>	0,19	0,11

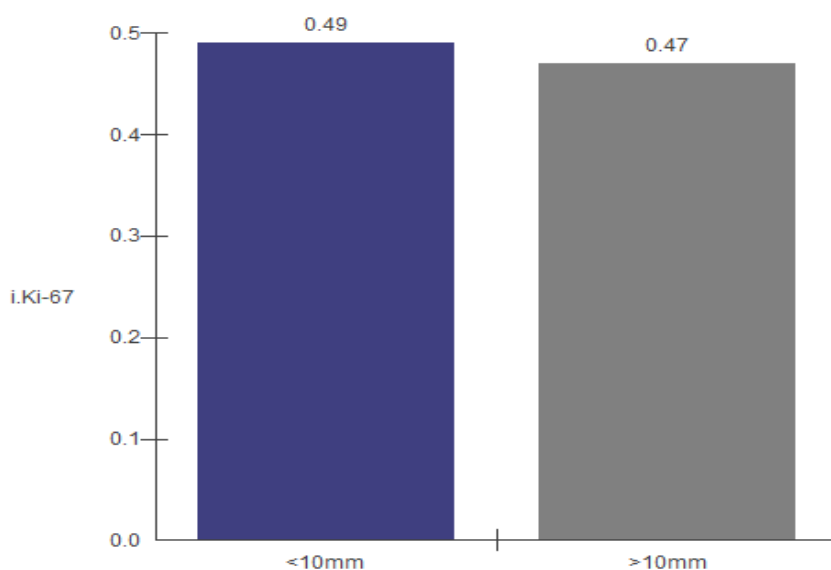


FIGURA 11 – Gráfico da expressão da proteína Ki-67 (média) de acordo com o tamanho dos adenomas. (p=0,7)

Nos pólipos localizados no reto a média de expressão do Ki-67 foi de 0,57 (DP=0,19) enquanto nos pólipos cólicos foi de 0,45 (DP= 0,15). (p=0.02) (TABELA 9, FIGURA 12)

TABELA 9 - Expressão de Ki-67 (iKi-67) segundo a localização do adenoma(p=0,02)

	<b>Reto</b>	<b>Cólon</b>
<b>i.Ki-67</b>		
<b>Média</b>	0,57	0,45
<b>Mínimo</b>	0,28	0,19
<b>Máximo</b>	0,95	0,90
<b>Desvio padrão</b>	0,19	0,15



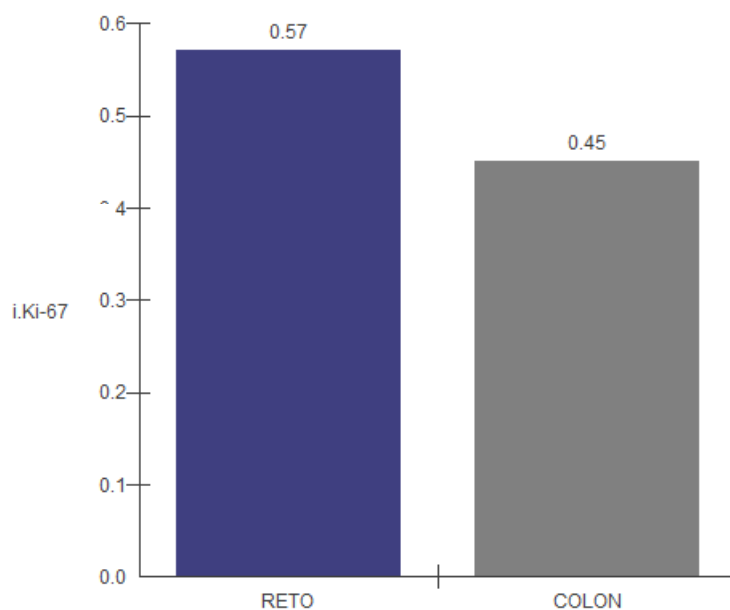


FIGURA 12 – Gráfico da expressão da proteína Ki-67 (média) de acordo com a localização dos adenomas. ( $p= 0,02$ )

Em relação ao grau de displasia, os pólipos com baixo grau de displasia tiveram média do índice de expressão de Ki-67 de 0,45 (DP= 0,16) e aqueles com alto grau de displasia tiveram média de 0,56 (DP= 0,17) ( $p= 0,02$ ) (TABELA 10, FIGURA 13)

TABELA 10 - Expressão de Ki-67 (iKi-67) segundo o grau de displasia do adenoma( $p=0,02$ )

Grau de displasia	Baixo grau	Alto grau
<b>Média</b>	0,45	0,56
<b>Mínimo</b>	0,19	0,29
<b>Máximo</b>	0,85	0,95
<b>Desvio padrão</b>	0,16	0,17

Na tabela 11 estão listadas todas as relações das proteínas p53 e Ki-67, destacando aquelas com significância estatística.

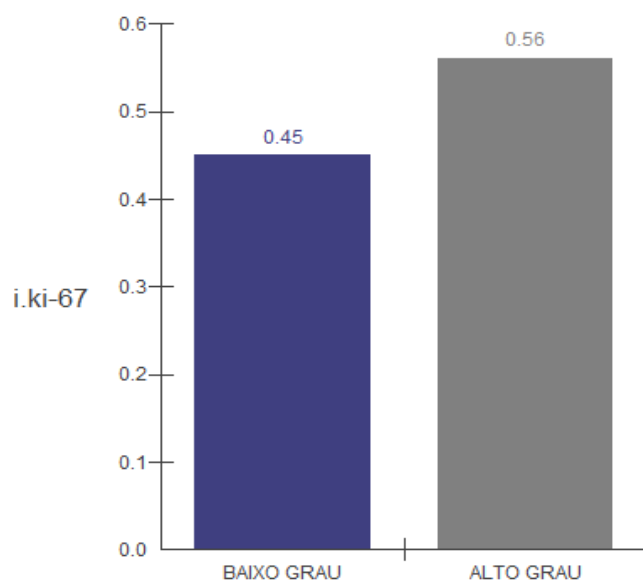


FIGURA 13 – Gráfico da expressão da proteína Ki-67 (média) de acordo com o grau de displasia dos adenomas. ( $p=0,02$ )

TABELA 11 - Relações com significância estatística

Relações	p value
p53 X idade	$p=0,42$
p53 X sexo	$p=0,46$
p53 X tamanho	$p=0,41$
p53 X pólipos sincrônicos	$p=0,66$
p53 X grau de displasia	$p=0,0003^*$
p53 X localização	$p=0,7$
p53 X Ki-67	$p=0,4$
Ki-67 X idade	$p=0,67$
Ki-67 X sexo	$p=0,35$
Ki-67 X tamanho	$p=0,7$
Ki-67 X grau de displasia	$p=0,02^*$
Ki-67 X localização	$p=0,02^*$

\* estatisticamente significante

## 5 DISCUSSÃO

O conhecimento de fatores associados à gênese e à progressão do câncer colorretal é de grande importância para elaboração de estratégias de prevenção e tratamento. Neste contexto, a polipectomia constitui-se na melhor estratégia de prevenção do câncer colorretal (CITARDA *et al*, 2001).

A identificação de parâmetros que reflitam o comportamento biológico dos tumores, correlacionando com a sua agressividade e grau evolutivo é um determinante fundamental do prognóstico e do incremento da terapia oncológica. Apesar dos recentes progressos na definição dos mecanismos moleculares de desenvolvimento e progressão do câncer, somente alguns marcadores biológicos foram identificados como tendo algum valor prognóstico (MATOS *et al*, 2005).

A proteína p53, considerada a “guardiã do genoma”, tem sido pesquisada exaustivamente em diversos tipos de neoplasias, onde são encontradas mutações em cerca de 50% de todos os cânceres humanos, ou mais de 50 tipos de tumores (MATOS *et al*, 2005).

A associação da pesquisa da proteína Ki-67 tem sua importância no fato de mensurar a atividade proliferativa celular que pode estar exacerbada em células neoplásicas ou em células que perderam a capacidade de auto-regulação. A medida do índice de proliferação celular pode revelar um comportamento mais agressivo por parte das neoplasias com implicações prognósticas importantes (SCHOLZEN & GERDES, 2000).

A literatura mostra que vários autores já realizaram estudos com as proteínas p53 e Ki-67 em diversos tipos de neoplasias, tanto gastrointestinais como extra-intestinais (VIALE *et al*, 1997; ESPOSITO *et al* 2000; FORONES *et al*, 2005; THEODOROPOULOS *et al*, 2009; NEVES *et al*, 2009).

A escolha por se realizar um estudo a partir de pólipos ressecados em exames colonoscópicos ao invés de utilizar peças estocadas em laboratório de patologia teve como objetivo uma melhor recuperação antigênica durante o processamento imunohistoquímico do material (WERNER *et al.*, 2000). Além disso, a medida dos pólipos logo após a sua remoção é mais fidedigna do seu real

tamanho, pois, após serem imersos em formol, há uma retração nas suas dimensões.

Merece destaque, também, uma melhor obtenção de dados clínicos, visto que os pacientes doadores dos pólipos eram atendidos em ambulatório em momento contemporâneo ao período da pesquisa, o que também permitiu a retirada do estudo de casos em que os critérios de exclusão estavam presentes. No entanto, mesmo com as vantagens citadas, ainda persistem dificuldades de avaliação de outros fatores clínicos, como a história progressiva de adenomas, pois nem todos os pacientes tinham essa informação, ou quando a tinha, não havia como se confirmar a condição histológica, se tratava-se de adenomas ou não. Também a história familiar de neoplasia ficou prejudicada pela fragilidade das informações prestadas pelos pacientes deste estudo.

A população avaliada neste estudo tinha média de idade de 62,7 anos e distribuição entre sexo de forma quase igualitária. Estes dados são semelhantes ao encontrado na literatura, mostrando prevalência dos pólipos acima dos 50 anos e que não há predileção por sexo (WILLIAMS *et al.*, 1982; LOEVE *et al.*, 2004; MANSMANN U *et al.*, 2008; PETROIANU *et al.*, 2009). Os dados também reforçam o conceito de que a idade dos pacientes portadores de adenomas e câncer colorretal é a mesma, geralmente após os 50 anos de idade (BRENNER *et al.*, 2008; MANSMANN *et al.*, 2008).

A proteína p53 foi considerada positiva em 9 casos, o que representou 18% do total de casos (FIGURA 2). WATATANI *et al.*, (1999), analisando a expressão de p53 em adenomas, encontrou taxas de expressão variáveis em se tratando de adenomas iniciais (12%), adenomas sincrônicos com carcinoma (20%), adenoma metacrônico após adenoma inicial (8%) ou adenoma metacrônico após carcinoma (30%). Outros autores encontraram taxas variáveis entre 10% e 60% de positividade (ENOMOTO, 2000; VOSKUIL, 2000; NOMURA, 2000; SHEIKH, 2003).

As taxas de expressão de p53 dependem dos critérios utilizados na metodologia da pesquisa. No presente estudo, foram considerados positivos apenas os casos em que o índice de expressão (No. de células coradas/No. total de células contadas) fosse superior a 10%. A escolha deste ponto de corte para classificar a expressão de p53 deve-se ao fato de que este valor é o que mostra a mais alta

concordância entre a detecção imunohistoquímica e pontos de mutação do gene p53 (GRIZZLE *et al.*, 1998; SHANMUGAM *et al.*, 2008).

É sabido que os níveis celulares da proteína p53 são muito baixos em condições normais, devido a uma meia-vida muito curta (5-45 minutos) não sendo possível sua detecção por imunohistoquímica (HORIUCHI, 2004). Porém, mutações no gene p53, levam a produção de uma proteína p53 com grande estabilidade, sendo possível sua detecção por imunohistoquímica (PORCELLI *et al.*, 2001).

Em células normais, os níveis da proteína p53 são controlados de maneira mediada através da proteína MDM2. P53 liga-se a MDM2 e é levada para fora do núcleo, onde é degradada por proteases. As mutações no gene p53 incluem, principalmente, uma substituição aminoácida que muda a conformação do DNA-ligante de p53 e cessa sua atividade transcriptacional com conseqüente queda nos níveis dos genes-alvos de p53, incluindo o MDM2. Além disso, com a mutação, a proteína p53 não pode ligar-se aos seus ligantes naturais, formando complexos estáveis com ligantes aberrantes que lhe conferem estabilidade nuclear (HORIUCHI, 2004).

Por outro lado, alguns trabalhos mostram que uma imunohistoquímica negativa para p53 nem sempre reflete ausência de mutação no gene p53, pois certos tipos de mutações no gene p53 não promovem um acúmulo da proteína no núcleo celular. (SMITH *et al.*, 1996; KRESSNER *et al.*, 1999; HORIUCHI, 2004).

Da mesma forma o acúmulo da proteína não significa sempre mutação, podendo a proteína se detectada mesmo em tecidos normais em situações de indução fisiológica frente a alterações acidentais do genoma ou mesmo em situações diversa que podem promover uma maior estabilidade da proteína com a sua ligação a outras proteínas do ciclo celular ou proteínas virais. (KLUMB & CAVALCANTI JR, 2002). Cabe salientar que uma forte positividade na imunohistoquímica para p53 indica uma disfunção da proteína, seja por mutação ou sua estabilização por outro mecanismo.

Avaliando-se a expressão de p53 em relação às características clinico-patológicas: sexo, idade, localização, sincronicidade, tamanho e grau de displasia, obteve-se diferença estatisticamente significativa quando avaliada a expressão de p53 segundo o grau de displasia dos pólipos. Este último achado é semelhante ao

encontrado em estudos anteriores, os quais mostraram uma relação positiva e significativa entre o grau de displasia de um tumor e a imunohistoquímica positiva para a proteína p53 (WATATANI *et al.*, 1999; PORCELLI *et al.*, 2001; SHEIKH *et al.*, 2003; VERNILLO *et al.*, 2008).

Quanto aos demais parâmetros clínico-patológicos estudados em relação à proteína p53 (sexo, idade, localização e tamanho), não observou-se relações com significância estatística. Estes achados estão em concordância com os resultados obtidos por VERNILLO *et al.*, 2008.

Também não foi encontrado relação entre a presença de adenomas sincrônicos e a detecção da proteína p53. Observa-se ainda que no único caso de adenoma sincrônico que apresentou positividade de p53, ocorreu em paciente que apresentava dois adenomas e a proteína p53 foi expressa em apenas um deles. De fato, acredita-se que pode haver outro fator em jogo e que possa explicar o motivo de um adenoma expressar a proteína e o outro não, mesmo sendo provenientes de uma mesmo paciente. Observando outras características destes dois adenomas, existem diferenças entre eles no tamanho e no grau de displasia, onde o adenoma que expressou a proteína p53 é maior que 10mm e com alto grau de displasia.

Relações entre a proteína p53 e características clínico-patológicas dos adenomas são pouco exploradas nos estudos sobre este tema. Além dos resultados de VERNILLO *et al.*, 2008; um estudo realizado por VOSKUIL *et al.* (2000) avaliou pela imunohistoquímica a expressão de p53 em adenomas esporádicos e em adenomas provenientes de famílias portadoras de câncer colorretal hereditário não-polipóide (HNPCC). Os resultados foram confrontados entre os dois grupos (esporádicos x hereditários) e dentro de cada grupo. No grupo dos adenomas esporádicos foi observada uma maior frequência de p53 em adenomas acima de 10mm. Os demais aspectos clínico-patológicos, incluindo o grau de displasia, não mostraram resultados estatisticamente significantes.

FEARON & VOGELSTEIN (1990) sugeriram um modelo evolutivo do surgimento de tumores colorretais. A sequência adenoma-carcinoma é o resultado de um acúmulo de mutações genéticas distintas que envolvem uma sequência: a mutação do gene APC, hipometilação do DNA, ativação da proteína k-ras, mutação da proteína DCC e, por fim, a mutação da proteína p53. Segundo estes autores,

esta última etapa é vista somente em carcinomas, sendo infreqüente nos adenomas de qualquer estágio. No presente estudo, um achado de 18% de positividade para a proteína p53 mutada não pode ser considerado como infreqüente; porém, fica evidente que, a expressão de p53 é mais freqüente à medida que o adenoma acumula mais displasias.

A proteína Ki-67 foi expressa em todos os adenomas, como esperado, pois, sendo um marcador de células em proliferação, é detectado em todos os tecidos que apresentem estado de multiplicação celular, como é o caso das células da mucosa intestinal (SHINOZAKI *et al.*, 1999; MUNHEYUKI *et al.*, 2000 ; VERNILLO *et al.*, 2008; RADONOVANOVIC-DINIC *et al.*, 2009). Este achado foi constatado no início deste estudo, quando foi realizado, no projeto piloto, imunohistoquímica para a proteína Ki-67 em amostras de mucosa normal e foi detectada expressão em todos os casos realizados.

Houve maior expressão da proteína Ki-67, com diferença estatisticamente significativa, nos adenomas com alto grau de displasia em relação aos de baixo grau de displasia. Estes resultados foram semelhantes aos de RADONOVANOVIC-DINIC *et al* (2009) .

Também foi encontrado uma maior expressão da proteína Ki-67 nos adenomas localizados no reto em relação aos adenomas cólicos. Em estudos anteriores, não foi encontrado referências sobre a avaliação da expressão de ki-67 em relação à localização dos adenomas. Desta forma, estes resultados nos levam a supor que as células neoplásicas da mucosa retal apresentam maior poder de proliferação celular. Este fato poderia explicar um comportamento peculiar das neoplasias retais em relação às de localização cólica e também uma maior freqüência relativa de neoplasias neste segmento do intestino grosso.

Quanto aos demais parâmetros avaliados em relação à proteína Ki-67 ( sexo, idade e tamanho), não foram encontradas diferenças significantes. Resultados semelhantes foram encontrados por VERNILLO *et al.*, (2008). Em outro estudo, RADONOVANOVIC-DINIC *et al* (2009) encontraram maior expressão de Ki-67 em adenomas maiores que 10mm.

Não foi possível avaliar a relação da expressão da proteína Ki-67 com a presença de adenomas sincrônicos em face da grande variabilidade da taxa de expressão não permitindo, dessa forma, uma análise estatística adequada.

De fato, a atividade proliferativa das células da mucosa colorretal, bem como de todo trato gastrointestinal é constante, porém encontra-se elevada em determinadas situações, como em processos inflamatórios e neoplásicos (SHINOZAKI *et al.*, 1999; MUNHEYUKI *et al.*, 2000; SHEIK *et al.*, 2003; NEVES *et al.*, 2009). SHINOZAKI *et al.* (1999), em um estudo com pacientes com retocolite ulcerativa encontraram maior expressão de Ki-67 em áreas displásicas da mucosa em comparação com áreas sem displasia. MUNHEYUKI *et al.* (2000) realizaram avaliação da expressão de diversas proteínas em neoplasias do intestino delgado, onde o i.Ki-67 foi significativamente maior em áreas de neoplasia que em áreas de mucosa sem neoplasia. SHEIK *et al.* (2003) avaliaram a expressão de Ki-67 em adenomas colorretais encontrando expressão em todos, sendo mais intensa nas áreas com maior displasia. NEVES *et al.* (2009) em estudo com p53 e Ki-67 em tumores de estroma gastrointestinal, encontraram maiores valores de Ki-67 em pacientes com tumores de médio e alto risco.

Não houve relação estatisticamente significativa entre as expressões das proteínas p53 e Ki-67, corroborando o trabalho de VERNILLO, *et al.*, (2008) onde não foi encontrada associação entre p53 e Ki-67 em um grupo de 68 adenomas pesquisados. Já em relação a tumores em outros órgãos e mesmo em tumores malignos colorretais, alguns trabalhos mostram uma associação positiva entre a mutação de p53 e o aumento no iKi-67 (FORONES *et al.*, 1999; ESPOSITO *et al.*, 2000). Poder-se-ia imaginar que a perda da função de p53 e de sua atividade supressora permitisse a atividade celular descontrolada com conseqüente acúmulo de Ki-67; porém ainda não se pode afirmar ser este o raciocínio mais adequado visto que muitos trabalhos científicos envolvendo estas proteínas não fazem correlação entre estas variáveis, atendo-se somente à avaliação individualizada de cada. E ainda há o fato de haver outros fatores e proteínas que atuam concomitantemente seja estimulando ou suprimindo a atividade proliferativa celular.

O conhecimento de mais fatores prognósticos ou preditivos relacionados ao desenvolvimento do câncer colorretal é de fundamental importância para os programas de prevenção primária. A imunohistoquímica poderá vir a ser método



auxiliar utilizado no estudo dos adenomas colorretais favorecendo a prevenção e tratamento dessas afecções e de outras a eles associadas. Desta forma, a determinação da expressão das proteínas p53 e Ki-67 pode ser útil como fator prognóstico para os adenomas em associação com outras características histopatológicas conhecidas, modificando o acompanhamento destes pacientes.

## 6 CONCLUSÃO

Nas condições em que a pesquisa foi realizada, conclui-se que:

1. As proteínas p53 e Ki-67 têm expressão significativa nos adenomas colorretais.
2. Há diferença significativa na expressão da proteína p53 nos adenomas com alto grau de displasia, em relação aos de baixo grau.
3. A expressão da p53 não tem relação com sexo dos pacientes, idade, localização, tamanho e sincronicidade dos adenomas.
4. A proteína Ki-67 tem expressão significativa nos adenomas retais e com alto grau de displasia.
5. A expressão da proteína Ki-67 não tem relação com sexo, idade e tamanho dos adenomas.
6. As proteínas p53 e Ki-67 não mostram relação entre si nos adenomas.

## 7 REFERÊNCIAS

ALTENBURG, F.L.; BIONDO-SIMÕES, M.L.P.; SANTIAGO, A. Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes e Correlação com Alterações nas Colonoscopias. **Rev bras Coloproct.** 27(3): 304-309; 2007.

BASERGA, R. Oncogene and the strategy of growth. **Cell**, Cambridge, v.79, p.927-939, 1994.

BRENNER, H.; HOFFMEISTER, M.; HAUG, U. Should colorectal cancer screening start at same age in European countries? Contributions from descriptive epidemiology. **Br J Cancer**; 99(3): 532-5, 2008.

CASTRO, L. S.; CORRÊA, J. H. S.; ANGHINONI, M; MALI JR, J; DE CARVALHO A. L. L. Câncer colônico. In: Castro L. S.; Corrêa J. H. S. - (eds) **Tratamento cirúrgico do câncer gastrointestinal**. Leonaldson dos Santos Castro, Rio de Janeiro , pp 320-416. 2005.

CERATO, M.M.; CERATO, N.L.; MEURER, L.; EDELWEISS, M.I.; PÜTTEN, A.C.; GOLBSPAN, L. Variabilidade Interobservador no Diagnóstico Histológico dos Pólipos Colorretais. **Rev bras Coloproct**, 2007;27(1): 007-015.

CITARDA, F.; TOMASELLI, G.; CAPOCACCIA, R.; BARCERINI, S.; CRESPI, M.; Italian Multicenter Study Group. Efficacy in standard clinical practice of colonoscopic polypectomy in reducing colorectal cancer incidence. **Gut**; 48(6):812-5. 2001.

CORMAN, M. L. **Colon and rectal surgery**. 5<sup>th</sup> ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, cap 21; pp 701-766, 2005.

COSTANTINI M, SCIALLERO S, GIANNINI A, GATTESCHI B, RINALDI P, LANZANOVA G. Interobserver agreement in the histologic diagnosis of colorectal polyps: the experience of the multicenter adenoma colorectal study (SMAC). **Journal of Clinical Epidemiology**; 56:209-14. 2003.

ENOMOTO, T.; KURANAMI, M.; KAKITA, A. Variations in the expression of platelet-derived endothelial cell growth factor in human colorectal polyps. **Surg Today**; 30(8): 711-7, 2000.

ESPOSITO, JP, CAMARGO RS, LONGATTO FILHO A DI LORETO, C.; KANAMURA, C.T.; TOLOSA, E.M.C. Expressão imuno-histoquímica dos marcadores pcna, KI67 e p53 em carcinomas epidermóides do trato aerodigestivo superior. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 5, Oct. 2000.

FEARON, E.R.; VOLGELSTEIN, B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. **Cell** 61:759-767, 1990

FELIN, C.R.; ROCHA, A.B.; FELIN, I.P.D.; REGNER, A.; GRIVICICH, I. Expressão das Proteínas p53 e Cox-2 em Adenocarcinoma Intestinal e Mucosa Adjacente. **Rev bras Coloproct**;;28(1): 019-025. 2008

FORONES, N.M.; CARVALHO, A.P.S.; GIANNOTTI-FILHO, O.; LOURENÇO, L.G.; OSHIMA, C.T.F.; A proliferação celular e apoptose em câncer gástrico e metaplasia intestinal. **Arq Gastroenterol**, vol 42, no 1, jan/mar 2005.

GERDES, J.; LEMKE.H.; BAISCH, H.; WACKER H-H.; SCWAB, U.; STEIN, H. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by monoclonal antibody Ki-67. **J. Immunol.**, Baltimore, v.133, p.1710-1715, 1984.

GRIZZLE, W.E.; MYERS, R.B.; MANNE, U.; SRIVASTAVA, S. Immunohistochemical evaluation of biomarkers in prostatic and colorectal neoplasia. In Hanausek M, Walaszek Z Eds. **John Walker's Methods in Molecular Medicine-Tumor Marker Protocols**. Ttowa, NJ, Humana Press, 143-160.

HAUPT, Y.; MAYA, R.; KAZAZ, A.; OREN, M. Mdm2 promotes the rapid degradation of p53. **Nature**; 387(6630): 296-9, May 15. 1997

HELM, J.; CHOI, J.; STUPHEN, R.; ALBRECHT, T.; CHIRIKOS, T. Current and evolving strategies for colorectal cancer screening. **Cancer control**. 10(3):193-204. 2003.

HILL, M.J.; MORSON, B.C.; BUSSEY, H.J.; A etiology of adenoma-carcinoma sequence in large bowel. **Lancet**.1:245-47. 1978

HORIUCHI, H.; KAWAMATA, H.; OMOTEHARA, F.; FUJJI, S.; FUJIMORE, T. Negative Immunohistochemical staining of P53 protein does not always reflect wild-type p53 gene in cancer cells. **J Gastroenterol**; 39:801-806. 2004

HORNER, M.J.; RIES, L.A.G.; KRAPCHO, M.; NEYMAN, N.; AMINOU, R.; HOWLADER, N.; ALTEKRUSE, S.F.; FEUER, E.J.; HUANG, L.; MARIOTTO, A.; MILLER, B.A.; LEWIS, D.R.; EISNER, M.P.; STINCHCOMB, D.G.; EDWARDS, B.K.; (eds). **SEER Cancer Statistics Review, 1975-2006**, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2006/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2006/), based on November 2008 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). MINISTÉRIO DA SAÚDE. BRASIL. **Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer**. – Rio de Janeiro: INCA, 2009.

ISHIDA, H.; MIWA, H.; TATSUTA, M.; MASUTANI, S.; IMAMURA, H.; SHIMIZU, J.; EZUMI, K.; KATO, H.; KAWASAKI, T.; FURUKAWA, H.; KAWAKAMI, H. Ki-67 and CEA expression as prognostic markers in Dukes' C colorectal cancer. **Cancer Lett**; 207(1): 109-15, 2004.

ISOBE, M. EMMANUEL, B. S.; GIVOL, D. Localization of gene for human p53 tumor antigen to band 17p13. **Nature**, London, v.320, p.84-85, 1986.

KAUSCH, K. LINGNAU, A.; ENDL, E.; SELLMANN, K.; DEINERT, I.; RATLIFF, T. L.; JOCHAM, D.; SCZAKIEL, G.; GERDES, J.; BÖHLE, A. Anti-sense treatment against Ki-67 mRNA inhibits proliferation and tumor growth in vitro and in vivo. **Int. J. Cancer** 105(5)p. 710-716, 2003.

KERR, J.; DAY, P.; BROADSTOCK, M.; WEIR, R.; BIDWELL, S. Systematic review of the effectiveness of population screening for colorectal cancer. **N Z Med J**. Jul 20;120(1258):U2629. 2007.

KIM, N.K.; PARK, J.K.; LEE, K.Y.; YANG, W.I.; YUN, S.H.; SUNG, J.; MIN, J.S. P53, BCL-2, and Ki-67 expression according to tumor response after concurrent chemoradiotherapy for advanced rectal cancer. **Ann Surg Oncol**; 8(5): 418-24, 2001.

KLUMB, C.E.; CAVALCANTI JÚNIOR, G.B. Avaliação dos métodos de detecção das alterações do gene e proteína p53 nas neoplasias linfóides. **Rev Bras Hematol Hemoter**. 24:111-25. 2002.

KRESSNER U; INGANAS M; BYDING S; BLIKSTAD I; PAHLMAN L; GLIMELIUS B; LINDMARK G. Prognostic value of p53 genetic changes in colorectal cancer. **J Clin Oncol**; 17(2): 593-9, 1999 Feb.

KUWADA, S.K.; BRUT, R.W. The clinical features of hereditary and nonhereditary polyposis syndromes. **Surg Oncol Clin N Am**;5:553-67. 1996.

LAN, Y. T.; CHANG, S. C. ; LI, A. F. Y. ; LIN, T. C. ; CHEN, W. S. P53 protein accumulation as a prognostic marker in sporadic colorectal cancer. **Int J Colorectal Dis**. 22:499:506, 2007.

LEV, R.; GROVER, R. Precursors of human colon carcinoma: a serial section study of colectomy specimens. **Cancer**;47: 2007-15. 1981

LI, S.C.; BURGART, L. Histopathology of serrated adenoma, its variants, and differentiation from conventional adenomatous and hyperplastic polyps. **Arch Pathol Lab Med**. Mar;131(3):440-5 . 2007.

LIEBERMAN, D.A.; WEISS, D.G.; BOND, J.H.; AHNEN, D.J.; GAREWAL, H.; CHEJFEC, G. Use colonoscopy to screen asymptomatic adult for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. **N Eng J Med**, 20, 343(3):162-68. 2000.

LOEVE, F.; BOER, R.; ZAUBER, A.G.; VAN BALLEGOOIJEN M.; VAN OORTMARSSSEN, G.J.; WINAMER, S.J.; HABBEMA, J.D. National polyp study data: evidence for regression of adenomas. **Int J cancer**; 111(4): 633-9, 2004.

LUSTOSA, S.A.S.; LOGULLO, A.; ARTIGIANI, R.; SAAD, S.S.; GOLDENBERG, A.; MATOS, D. Analysis of the correlation between p53 and bcl-2 expression with staging and prognosis of the colorectal adenocarcinoma **Acta Cir Bras**; 20(5): 353-357, Sept.-Oct. 2005.

MANSMANN, U.; CRISPIN, A.; HENSCHER, V.; ADRION, C.; AUGUSTIN, V.; BIRKNER, B.; MUNTE, A. Epidemiology and quality of control of 245000 outpatient colonoscopies. **Dtsch Arztebl Int**; 105(24): 434-40, 2008.

MATOS, L.L.; MACHADO, L.N.; SUGIYAMA, M.M.; BOZZETTI, R.M.; PINHAL, A.S. Tecnologia aplicada na detecção de marcadores tumorais. **Arq Med. ABC**, v 30 no 1, jan/jun 2005.

MAY, P.; MAY, E. Twenty years of p53 research: structural and functions aspects of the protein. **Oncogene**, London, v.18, p.7621-738, 1999.

MEEK, D.W. Mechanisms of switching on p53: a role for covalent modification? **Oncogene**; 18(53): 7666-75, 1999.

MILLER, C.; MOHANDAS, T.; WOLF, D.; PROKOCIMER, M.; ROTTER, V.; KOEFFLER, H. P. Human p53 gene localized to short arm of chromosome 17. **Nature**, London, v.319, p.783-784, 1986.

MILNER, J. Structures and functions of the tumor suppressor p53. **Pathol. Biol.**, Paris, v.45, p.797-803, 1997.

MUNEYUKI, T.; WATANABE, M.; YAMANAKA, M.; ISAJI, S.; KAWARADA, Y.; YATANI, R. Combination analysis of genetic alterations and cell proliferation in small intestinal carcinomas. **Dig Dis Sci** Oct;45(10):2022-8; 2000.

NEVES, L.R.O.; OSHIMA, C.T.F.; ARTINGIANI-NETO, R.; YANAGUIBASHI, G.; LOURENÇO, L.G.; FORONES, N.M.. Ki-67 and P53 in gastrointestinal stromal tumors – GIST. **Arq Gastroenterol**, v. 46, no 2, abr/jun. 2009.

NOMURA, M.; WATARI, J.; YOKOTA, K.; SAITOH, Y.; OBARA, T.; KOHGO. Morphogenesis of nonpolypoid colorectal adenomas and early carcinomas assessed by cell proliferation and apoptosis. **Virchows Arch**; 437(1): 17-24, 2000 .

PETROIANU, A.; ALBERTI, L. R.; LIMA, D. C. A.; MENDES J.C.A. Achados colonoscópicos em pessoas sem quadro clínico de doença colorretal/ Colonoscopic findings in asymptomatic people . **Arq Gastroenterol**; 46(3): 173-178, jul.-set. 2009.

PINHO, M. **Biologia molecular do câncer – fundamentos para a prática médica. 2005.** Ed revinter. Rio de janeiro.

PORCELLI, B.; FROSI, B.; TERZUOLI, L.; AREZZINI, L.; MARINELLO, E.; VERNILLO, R.; DE MARTINO, A.; VATTI, R.; MINACCI, C. Expression of p185 and p53 in benign and malignant colorectal lesions. **Histochem J**; 33(1): 51-7, Jan. 2001.

PROSPERI, E. Multiple roles of the proliferating cell nuclear antigen: DNA replication, repair and cell cycle control. Prog. **Cell Cycle Res.**, New York, v.3, p.193-210, 1997.

RADOVANOVIC-DINIC, B.; NAGORNIA, A.; KATIC, V.; SATMENKOVIC, I.; ZLATIC, A. An immunohistochemical study of Ki-67 in colorectal adenoma. **Med Arh**; 63(1): 16-8, 2009

RUBIO, C.A.; NESI, G.; MESSERINI, L.; ZAMPI, G.C.; MANDAI, K.; ITABASHI, M.; TABUKO, K. The Vienna classification applied to colorectal adenomas. **Journal of Gastroenterology and Hepatology** 21, 1697–1703, 2006.

SANTOS JR. J.C.M. Câncer Ano-Reto-Cólico: Aspectos Atuais II – Câncer Colorretal – Fatores de Riscos e Prevenção. **Rev bras Coloproct**, 27(4): 459-473. 2007.

SCHLEMPER, R.J.; RIDDELL, R.H.; KATO, Y. *ET AL.* The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. **Gut**, 2000; 47: 251–5.

SCHOLZEN, T.; GERDES, J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. **J. Cell Physiol.**, New York, v.182, p.311-322, 2000.



SCOPA, C.D.; TSAMANDAS, A.C.; ZOLOTA, V.; KALOFONOS, H.P.; BATISTATOU, A.; VAGIANOS, C. Potential Role of bcl-2 and Ki-67 Expression and Apoptosis in Colorectal Carcinoma. A Clinicopathologic Study. **Digestive Diseases and Sciences**, Vol. 48, No. 10; 1990–1997. 2003.

SHANMUGAM, C.; KATKOORI, V.R.; JHALA, N.C.; GRIZZLE, W.E.; SIEGAL, G.P.; MANNE, U. P53 nuclear accumulation and Bcl-2 expression in contiguous adenomatous components of colorectal adenocarcinomas predict aggressive tumor behavior. **Journal of Histochemistry and cytochemistry**, volume 56(3): 305-312, 2008.

SHEIKH, R.A.; MIN, B.H.; YASMEEN, S.; TEPLITZ, R.; TESLUK, H.; RUEBNER, B.H.; TOBI, M.; HATFIELD, J.; FLIGIEL, S.; LAWSON, M.J. Correlation of Ki-67, p53, and Adnab-9 immunohistochemical staining and ploidy with clinical and histopathologic features of severely dysplastic colorectal adenomas. **Dig Dis Sci**; 48(1): 223-9, 2003.

SHINOZAKI, M.; WATANABE, T.; KUTOBA, Y.; SAWADA, T.; NAGAWA, H.; MUTO, T. High proliferative activity is associated with dysplasia in ulcerative colitis. **Dis Colon Rectum**. Oct;43(10 Suppl):S34-9. 2000

SMITH, D.R.; JI, C.Y.; GOHS, H.S. Prognostic significance of P53 overexpression and mutation in colorectal carcinomas. **Br J Cancer**. 74:216-223,1996.

SOUSA-JÚNIOR, E.; ALENCAR, A.P.; DA SILVA, B.B. Analysis of Ki-67 and Bcl-2 protein expression in normal colorectal mucosa of women with breast cancer. **Eur J Cancer** (45):3081-3086. 2009.

SOUSA-JÚNIOR, E.; ALENCAR, A.P.; DA SILVA, B.B. Ki-67 and Bcl-2 antigen expression in adenomatous colorectal polyps from women with breast cancer. **Ann Surg Oncol**, published online 16 Feb 2010.

SOUSSI, T.; FROMENTEL, C.C.; MAY, P. Structural aspects of p53 protein in relation to gene evolution. **Oncogene**, London, v.5, p.945-952, 1990.

STARBORG, M.; GELL, K.; BRUNDELL, E.; HÖÖG, C. The murine Ki-67 cell proliferation antigen accumulates in the nucleolar and heterochromatic regions of interphase cells and at the periphery of the mitotic chromosomes in a process essential for cell cycle progression. **J. Cell Sci.**, Cambridge, v.109, p.43-153, 1996.

SUGAI, T.; HABANO, W.; UESUGI, N.; JIAO, Y.; NAKAMURA, S.; SATO, K.; CHIBA, T.; ISHII, M. Molecular Validation of the Modified Vienna Classification of Colorectal Tumors **J Mol Diagn** 4: 191-200. 2002

THEODOROPOULOS, G.E.; KARAFOKA, E.; PAPAILIOU, J.G.; STAMOPOULOS, P.; ZAMBIRINIS, C.P.; BRAMIS, K.; PANOUSSOPOULOS, S.G.; LEANDROS, E.; BRAMIS, J. P53 and EGFR expression in colorectal cancer: a reappraisal of 'old' tissue markers in patients with long follow-up. **Anticancer Res**; 29(2): 785-91, 2009.

VAN DIERENDONCK, J.H.; KEIJZER, R.; VAN DE VELDE, C. J. H.; CORNELISSE, C. J. Nuclear distribution of the Ki-67 antigen during the cell cycle: comparison with growth fraction in human breast cancer cells. **Cancer Res.**, Baltimore, v.49, p.2999-3006, 1989.

VAN OIJEN, M.G. MEDEMA, R.H.; SLOOTWEG, P.J.; RIJKSEN, G.. Positivity of the proliferation marker Ki-67 in noncycling cells. **Am. J. Clin. Pathol.**, Chicago, v.110, p.24-31, 1998.

VERMEULEN, K.; VAN BOCKSTAELE, D. R.; BERNEMAN, Z. N. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. **Cell Prolif.**, 36, 131–149. 2003.

VERNILLO, R.; LORENZI, B.; BANDUCCI, T.; MINACCI, C.; VINDIGNI, C.; LUCENTI FEI, A.; LORENZI, M. Immunohistochemical expression of p53 and Ki67 in colorectal adenomas and prediction of malignancy and development of new polyps. **Int J Biol Markers**. Apr-Jun;23(2):89-95. 2008.

VERNON, S.W. Participation in colorectal cancer screening: a review. **J Natl Cancer Inst.** 89:1406-22. 1997.

VIALE, G.; MAISONNEUVE, P.; BONOLDI, E.; DI BACCO, A.; BEVILACQUA, P.; PANIZZONI, G. A.; RADAELLI, U.; GASPARINI, G. The combined evaluation of p53 accumulation and of Ki-67 (MIB1) labeling index provides independent information on overall survival of ovarian carcinoma patients. **Annals of Oncology** 8: 469-476, 1997.

VOGELSTEIN, B.; LANE, D.; LEVINE, A.J. Surfing the p53 network. **Nature**; 408(6810): 307-10, 2000.

VOSKUIL, D.W.; KAMPMAN, E.; VAN GELOOF, W.; GRUBBEN, M.; KOK, F.; VAN MUIJEN, G.; NAGENGAST, F.; VASEN, H.; VAN'T VEER, P. No major difference in K-ras and p53 abnormalities in sporadic and hereditary nonpolyposis colorectal adenomas. **Dig Dis Sci**; 45(11): 2187-94, 2000.

WATATANI, M.; IEDA, S.; KURODA, K.; INUI, H.; NISHIMURA, K.; YASUTOMI. Comparison of p53 and bcl-2 expression in initial, synchronous, and metachronous colorectal adenomas. **Surg Today**; 29(8): 707-12, 1999.

WERNER, M.; CHOTT, A.; FABIANO, A.; BATTIFORA, H. Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. **Am J Surg Pathol**, v. 24, n. 7, p. 1016-9, 2000.

WINAWER, S.J.; ZAUBER, A.G.; HO, M.N.; O'BRIEN, M.J.; GOTTLIEB, L.S.; STERNBERG, S.S. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. **N Eng J Med**. 329:1977-81. 1993.

WU, X.; LEVINE, A.J. p53 and E2F-1 cooperate to mediate apoptosis. **Proc. Natl. Acad. Sci.USA**, Washington, v.91, p.3602-3606, 1994.

XIONG, Y.; HANNON, G.J.; ZHANG, H.; CASSO D.; KOBAYASHI R.; BEACH D.. p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases. **Nature**.; 366: 701-704. 1993.

YONISH-ROUACH, E. A question of lie or death: the p53 tumor suppressor gene. **Pathol. Biol.**, Paris, v.45, p.815-823, 1997.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1 – Eu , Walysson Alves Tocantins de Sousa, médico, estou realizando um projeto de pesquisa chamado “Avaliação da Expressão Imunohistoquímica das proteínas P53 e Ki67 em Adenomas Colorretais “, que tem como objetivo determinar a expressão das proteínas P53 e Ki67 em adenomas colorretais através de técnicas de imunohistoquímica.

2 – Após o diagnóstico e ressecção de polipos adenomatosos do colon e reto,procedimentos necessários e consagrados pela comunidade médica,serão submetidos os pólipos a avaliação imunohistoquímica para determinar-se expressão das proteínas P53 e Ki67. A realização da imunohistoquímica em pólipos é um procedimento experimental e não rotineiro.

3 – Serão realizados os seguintes procedimentos rotineiros: colonoscopia com polipectomia, envio do pólipos para diagnóstico histológico.

4 – A realização do exame imunohistoquímico é um procedimento sem nenhum desconforto ou risco para o participante.

5 –Não há benefício direto para o participante. Trata-se de estudo experimental testando a hipótese de que adenomas expressam proteínas responsáveis pela carcinogênese.Somente no final do estudo poderemos concluir a presença de algum benefício para o estudo da evolução dos tumores malignos.

7 – “É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição”;

8 – Direito de confidencialidade – “As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente”;

9 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

10 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

11 – Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (exame de Imunohistoquímica) (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

12 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

13 - Garantia de acesso: “em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é o Dr Walysson Alves Tocantins de Sousa que pode ser encontrado no endereço Rua 1º de Maio 575-sul, Centro; telefone(s)(86)3221-5968; (86)9929-2881”

“Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FACID situado a rua Rio Poty 2381 Horto Florestal Teresina-Pi tel: 3216-7900 ramal: 233 e-mail: cep@facid.com.br

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim sobre o estudo acima. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

-----  
Assinatura do paciente/representante legal . Data

-----  
Assinatura da testemunha Data / /

-----  
Assinatura do responsável pelo estudo. Data

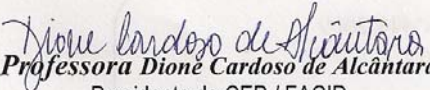
## APÊNDICE B - Aprovação do comitê de ética em pesquisa



### DECLARAÇÃO

DECLARO, para os devidos fins que se fizerem necessários, que o pesquisador *Walysson Alves Tocantins de Sousa*, orientando do professor *Lusmar Veras Rodrigues* deu entrada no Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/FACID com o projeto intitulado *Avaliação da Expressão Imunohistoquímica das Proteínas P53 e Ki-67 em Adenomas Colorretais*, protocolo nº. 596 tendo obtido **APROVAÇÃO** no dia *20/03/09* assim podendo dar início à pesquisa de Mestrado.

Teresina, 23 de março de 2009

  
**Professora Dione Cardoso de Alcântara**  
Presidente do CEP / FACID

## APÊNDICE C - Planilha de Consolidação de Dados Brutos

PACIENTE	CASO	SEXO	IDADE (anos)	TAMANHO (mm)	LOCALIZAÇÃO	LOCAL	HISTOPATOLÓGICO	GRAU DISPLASIA	P53	P53	Ki-67	TIPO
1	1	F	68	3	ASCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	POSITIVO	0.18	0.56	SÉSSIL
2	2	M	69	6	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0.05	0.46	SÉSSIL
3	3	F	47	3	TRANSVERSO	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.02	0.7	SÉSSIL
4	4	F	60	5	TRANSVERSO	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.02	0.49	SÉSSIL
5	5	F	89	25	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0.008	0.29	PEDICULADO
6	6	M	54	10	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	POSITIVO	0.28	0.44	PEDICULADO
7	7	F	58	5	DESCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.33	SÉSSIL
7	8	F	58	5	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.19	SÉSSIL
8	9	F	63	10	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0	0.5	PEDICULADO
9	10	M	41	20	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULO-VILOSO	BAIXO	NEGATIVO	0	0.6	PEDICULADO
10	11	M	50	6	TRANSVERSO	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.38	SÉSSIL
11	12	F	65	10	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.35	SÉSSIL
12	13	F	63	10	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	ALTO	POSITIVO	0.13	0.4	SÉSSIL
13	14	M	77	5	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.4	SÉSSIL
14	15	F	87	3	DESCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.004	0.34	SÉSSIL
15	16	M	54	3	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.24	SÉSSIL
16	17	M	63	5	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.71	SÉSSIL
16	18	M	63	5	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.72	SÉSSIL
17	19	F	75	5	DESCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	POSITIVO	1	0.42	SÉSSIL
18	20	M	50	10	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.61	SÉSSIL
19	21	M	62	3	TRANSVERSO	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0	0.61	SÉSSIL
20	22	F	64	3	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.62	SÉSSIL
21	23	M	52	3	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	POSITIVO	0.49	0.36	SÉSSIL
22	24	F	76	15	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.61	SÉSSIL
23	25	M	61	3	DESCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.37	SÉSSIL
24	26	M	49	3	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMATUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.02	0.3	SÉSSIL
25	27	F	70	3	ASCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.06	0.51	SÉSSIL
26	28	F	70	3	TRANSVERSO	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.28	SÉSSIL
26	29	F	70	12	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	POSITIVO	0.1	0.61	PEDICULADO

27	30	M	66	5	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.44	SÉSSIL
27	31	M	66	15	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.32	SÉSSIL
28	32	M	64	3	CECO	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0.02	0.47	SÉSSIL
28	33	M	64	5	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0.05	0.9	SÉSSIL
28	34	M	64	3	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0.02	0.95	SÉSSIL
29	35	F	58	6	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	ALTO	POSITIVO	0.15	0.71	SÉSSIL
30	36	F	80	10	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	POSITIVO	0,18	0.62	SÉSSIL
31	37	F	80	3	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0.06	0.48	SÉSSIL
32	38	F	56	3	DESCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	NEGATIVO	0.012	0.6	SÉSSIL
33	39	M	67	5	TRANSVERSO	COLON	ADENOMA TUBULAR	ALTO	POSITIVO	0,18	0.66	SÉSSIL
34	40	M	55	10	TRANSVERSO	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.006	0.48	SÉSSIL
35	41	F	52	3	DESCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.28	SÉSSIL
36	42	M	60	10	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.41	PEDICULADO
37	43	F	76	5	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.59	SÉSSIL
38	44	M	65	3	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.006	0.38	SÉSSIL
39	45	M	58	5	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.008	0.28	SÉSSIL
40	46	F	61	5	DESCENDENTE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.006	0.52	SÉSSIL
41	47	M	59	5	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.04	0.85	SÉSSIL
42	48	F	60	3	TRANSVERSO	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0.02	0.4	SÉSSIL
43	49	F	47	5	SIGMÓIDE	COLON	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0	0.31	SÉSSIL
44	50	M	50	15	RETO	RETO	ADENOMA TUBULAR	BAIXO	NEGATIVO	0,05	0.43	SÉSSIL