

**Universidade Federal de Goiás
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Biologia**

**IMPLICAÇÕES CLÍNICOPATOLÓGICAS DA PROTEÍNA
EpCAM NO CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE DE MAMA**

GUSTAVO NOGUEIRA CAIXETA

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Celular e Molecular.

Orientador: Dr. Flávio Monteiro Ayres

Co-orientadora: Dra. Vera Aparecida Saddi

**GOIÂNIA
2008**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Candidato(a): Gustavo Nogueira Caixeta.

Dissertação: Implicações clínico-patológicas da proteína EpCAM no carcinoma ductal infiltrante de mama.

Orientador: Flávio Monteiro Ayres.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de apresentação de dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

Aprovado(a)

Reprovado(a)

Examinador(a) Assinatura

Nome

Instituição

Examinador(a) Assinatura

Nome

Instituição

Examinador(a) Assinatura

Nome

Instituição

Presidente Assinatura

Nome

Instituição

**Universidade Federal de Goiás
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de pós-graduação em Biologia**

**IMPLICAÇÕES CLÍNICOPATOLÓGICAS DA PROTEÍNA EPCAM NO
CARCINOMA DUCTAL INFILTRANTE DE MAMA**

GUSTAVO NOGUEIRA CAIXETA

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Celular e Molecular.

Orientador: Dr. Flávio Monteiro Ayres

Co-orientadora: Dra. Vera Aparecida Saddi

**GOIÂNIA
2008**

Para meus pais e meus avós, por todos os esforços exercidos na minha instrução.

Para Clarice Leão Martins, por seu exemplo de amizade.

Para o desenvolvimento das atividades de mestrado, este estudo contou com o apoio indispensável das seguintes instituições: **Departamento de Biologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás; Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Departamento de Biologia (Núcleo Replicon) da Universidade Católica de Goiás; Hospital Araújo Jorge e Associação de Combate ao Câncer em Goiás, além do financiamento obtido junto a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG).**

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Flávio, por ter acreditado em mim desde a nossa primeira entrevista. Pelo seu otimismo e encorajamento, principalmente nos momentos finais do meu trabalho, minha gratidão perene.

A Dra. Vera Saddi, pessoa fundamental durante todas as etapas da minha formação, da graduação até a conclusão deste mestrado, e quem sabe... Nada seria possível sem a presença, colaboração, apoio e, acima de tudo, amizade desta minha sempre professora.

Aos amigos Ângela, Raimundo Júnior, Alessandra, Laryssa, companheiros das cadeiras da Universidade, nos momentos de sufoco, angústia e diversão (sim, nós também nos divertimos muito durante o andamento do mestrado).

Aos amigos Edésio, Dra. Deidimar, Fábio, Willana, Leonardo, Carol, Diego e Fernanda por sua preciosa colaboração na coleta de dados e análises estatísticas.

Às amigas Karla e Rosana, colegas de trabalho do laboratório de imunohistoquímica, essenciais para a execução e conclusão dos experimentos, além do apoio irrestrito em quaisquer circunstâncias.

Aos meus caros colegas do Setor de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge, prof. Dr. João Alves de Araújo Filho e Dr. Ailton Cabral Fraga Júnior, pela colaboração muito importante na análise das amostras e nas discussões sobre os resultados. A Dra. Glória Jabur Bittar Otton, que muito gentilmente aceitou que o nosso projeto fosse desenvolvido em parceria com o setor a que chefiava no momento, e a Dra. Eliane, que lhe sucedendo nos permitiu continuar. A Dra. Rita de Cássia Alencar, que foi a pessoa que me “apresentou” a proteína EpCAM e ao Dr. Élbio Cândido de Paula, que sempre nos auxiliou com discussões sobre o câncer de mama.

A professora Sandra Helena, pessoa que despertou meu interesse por ciências.

Ao Dr. Luiz de Paula Silveira Júnior, que nos auxiliou no início dos trabalhos, norteando o desenvolvimento do projeto.

A toda equipe da Universidade Federal de Goiás, Universidade Católica de Goiás e Associação de Combate ao Câncer em Goiás, que direta ou indiretamente fez parte do meu trabalho.

Enfim, a todos os meus amigos que perdoaram a minha ausência durante o transcorrer do mestrado e que continuam sempre presentes na minha vida.

A todos vocês, muito obrigado!

SUMÁRIO

I – INTRODUÇÃO	1
II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
II.1 – EPIDEMIOLOGIA	3
II.2 – FATORES DE RISCO	4
II.3 – ESTADIAMENTO CLÍNICO	7
II.4 – GRADUAÇÃO HISTOLÓGICA	9
II.5 – FATORES PROGNÓSTICOS	10
II.5.1 – Tamanho do tumor	10
II.5.2 – Linfonodos axilares	10
II.5.3 – Receptores hormonais	11
II.5.4 – Oncogene c-erbB-2	12
II.5.5 – p53	13
II.6 – EpCAM, DO GENE À PROTEÍNA	14
II.6.1 – O gene Ga733-2	14
II.6.2 – A proteína EpCAM	15
II.7 – EpCAM E CÂNCER DE MAMA	19
III – JUSTIFICATIVAS	22
IV – OBJETIVOS.	23
IV . 1 – OBJETIVO GERAL	23
IV . 2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
V – MATERIAIS E MÉTODOS	24
V.1 – SELEÇÃO DE CASOS	24
V.2 – ESPÉCIMES BIOLÓGICOS	25
V.3 – IMUNO-HISTOQUÍMICA	25
V.4 – ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
VI – RESULTADOS	28
VII – DISCUSSÃO	36

VIII – CONCLUSÕES	41
IX – BIBLIOGRAFIA	42
X - ANEXOS	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gene <i>GA733-2</i>	14
Figura 2 – Modelos estruturais da proteína EpCAM	16
Figura 3 – Modelo esquemático da proteína EpCAM mostrando os sítios de reconhecimento e ligação dos anticorpos específicos para esta proteína	18
Figura 4 – Níveis de expressão da proteína Ep-CAM em relação à proporção e intensidade de marcação imuno-histoquímica	26
Figura 5 – Fotomicrografia mostrando a detecção imuno-histoquímica da superexpressão da proteína EpCAM em carcinoma ductal infiltrante de mama	29
Figura 6 – Sobrevida global em cinco anos para as pacientes estudadas	30
Figura 7 – Sobrevida global em cinco anos avaliada de acordo com o número e o comprometimento linfonodal axilar	31
Figura 8 – Sobrevida global em cinco anos avaliada de acordo com o estadiamento clínico	32
Figura 9 – Sobrevida global em cinco anos avaliada de acordo com a presença de metástases à distância	33
Figura 10 – Sobrevida global em cinco anos avaliada de acordo com a imunoexpressão da proteína EpCAM	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fatores de risco para câncer de mama	5
Tabela 2 – Classificação dos tumores de mama segundo estágio clínico	7
Tabela 3 – Correlação entre a superexpressão da proteína EpCAM e variáveis prognósticas clinicopatológicas	35

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás	52
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

CDI	Carcinoma ductal infiltrante
c-erbB-2	Oncoproteína c-erbB-2
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EpCAM	Molécula de adesão celular epitelial
INCA	Instituto Nacional do Câncer
p53	Proteína p53
PBS	Tampão Fosfato-Salina
RE	Receptores de estrógenos
RP	Receptores de progesterona
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase em tempo real
TNM	Estadiamento Clínico: T – tamanho do tumor, N – metástase para linfonodo e M – metástase a distância.
WHO	Organização Mundial de Saúde

RESUMO

O câncer de mama é o segundo tipo de câncer mais freqüente no mundo e o primeiro entre as mulheres. Há cerca de duas décadas, diversos estudos sobre câncer de mama enfocaram a expressão e as possíveis rotas de sinalização celular da molécula de adesão celular epitelial (EpCAM). Esta molécula foi encontrada hiperexpressa em vários tecidos neoplásicos de origem epitelial, incluindo o câncer de mama. A importância da proteína EpCAM no suporte celular de tumores é controversa. Por um lado, acredita-se que a função de adesão celular de EpCAM reduza a capacidade de metastatização, mas por outro lado, a substituição da forte adesão celular de caderinas pela fraca adesão homofílica de EpCAM estaria associada à promoção de invasão tumoral e metástase. Nosso estudo consiste na análise das implicações clínico-patológicas da proteína EpCAM no carcinoma ductal infiltrante de mama. Utilizando técnicas de imuno-histoquímica, observamos a ausência da expressão de EpCAM em 10 casos (10,2%), baixa expressão em 45 casos (45,9%) e superexpressão em 43 casos (43,9%). Diferentemente de outros estudos, a superexpressão da proteína EpCAM não se correlacionou com a sobrevida global das pacientes em cinco anos, nem mesmo naquelas com comprometimento de linfonodos axilares. Da mesma forma, não houve correlação da expressão da proteína EpCAM com nenhum dos fatores prognósticos analisados, entre eles tamanho do tumor, linfonodos axilares, receptores hormonais, c-erbB-2 e p53. A presença de metástase à distância, relatada em 26 casos (26,5%) não correlacionou-se significativamente com a superexpressão de EpCAM.

Palavras-chave: câncer de mama, EpCAM, imuno-histoquímica.

ABSTRACT

Breast cancer is the second most common tumor in the world and the first among women. In the past two decades, several breast cancer studies focused on the expression and on the possible routes of cellular signaling for the epithelial cell adhesion molecule (EpCAM). This molecule was found to be overexpressed in various malignant tissues of epithelial origin, including breast cancer. The importance of EpCAM protein in tumor cells is still controversial. First, because it is believed that the cell adhesion role of EpCAM reduces the ability of metastasis. On the other hand, replacing the strong cell adhesion performed by cadherins instead of weak homophilic adhesion of EpCAM may be associated with the promotion of invasion and tumor metastasis. The aim of our study was to analyze the implications of EpCAM in breast ductal carcinoma infiltration. By using immunohistochemistry methods, we noticed the absence of EpCAM expression in 10 cases (10,2%), low EpCAM levels expression in 45 cases (45,9%) and overexpression in 43 cases (43,9%). Unlike other published studies, the overexpression of the EpCAM protein did not correlate with the five-year overall survival of breast cancer patients, even those with axillary lymph node involvement. Similarly, there was no correlation between EpCAM's protein expression and classical prognostic factors, including the size of the tumor, axillary lymph node involvement, hormone receptors, c-erbB-2 overexpression and p53 immunodetection. The presence of distant metastasis , reported in 26 cases (26,5%), did not correlate significantly with the overexpression of EpCAM.

Keywords: breast cancer, EpCAM, immunohistochemistry.