

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



ROSEMAR PAULO HOCHMÜLLER FOGAÇA

VALOR PROGNÓSTICO DA DETECÇÃO DA PROTEÍNA  
p53 NO CÂNCER DIFERENCIADO DA TIREÓIDE

|                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato(a) <u>Rosemar Paulo Hochmüller Fogaça</u> e aprovada pela Comissão Julgadora. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

23/10/00

Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Mestre em Biologia Celular e Estrutural na área de Biologia Celular.

Orientador: Prof. Dr. Benedito de Campos Vidal

N.º CHAMADA: T / UNICAMP  
F687v

V. \_\_\_\_\_ Ex. \_\_\_\_\_

TOMBO BC/ 44126

PROC. 16-392101

C ☐ D ☒ X

PREC. R\$ 11,00

DATA 25/04/01

N.º CPD \_\_\_\_\_

II

CM-00154654-4

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

~~V687v~~

F687v

**Fogaça, Rosemar Paulo Hochmüller**

Valor prognóstico da detecção da proteína p53 no câncer diferenciado da tireóide/Rosemar Paulo Hochmuller Fogaça. - - Campinas-SP. [s.n.], 2000.  
34f. ilus.

Orientador: Benedicto de Campos Vidal  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.  
Instituto de Biologia.

1. Tireóide. 2. Prognóstico. 3. Estadiamento. I. Vidal, Benedicto de Campos. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



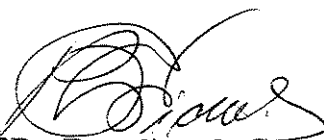
ROSEMAR PAULO HOCHMÜLLER FOGAÇA

VALOR PROGNÓSTICO DA DETECÇÃO DA PROTEÍNA  
p53 NO CÂNCER DIFERENCIADO DA TIREÓIDE

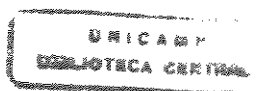
|                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato(a) <u>Rosemar Paulo Hochmüller Fogaça</u> e aprovada pela Comissão Julgadora. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

23/10/00

Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Mestre em Biologia Celular e Estrutural na área de Biologia Celular.



Orientador: Prof. Dr. Benedito de Campos Vidal



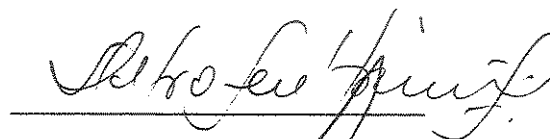
**Data da Defesa: 23/10/2000**

**Banca Examinadora**

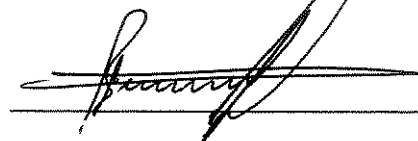
Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal (Orientador)

Handwritten signature of Prof. Dr. Benedicto de Campos Vidal, written in black ink on a horizontal line.

Prof.Dr. Álfio José Tincani

Handwritten signature of Prof.Dr. Álfio José Tincani, written in black ink on a horizontal line.

Prof. Dr. Edson Rosa Pimentel

Handwritten signature of Prof. Dr. Edson Rosa Pimentel, written in black ink on a horizontal line.

Profa. Dra. Shirlei Maria Recco Pimentel

A blank horizontal line, intended for the signature of Profa. Dra. Shirlei Maria Recco Pimentel.

### **Dedicatória**

Para minha esposa **Susana** e  
ao meu filho **Marcelo**,  
companheiros de mais esta  
jornada, fontes estímulo e  
inspiração, os quais nunca  
permitiram o desânimo.

## Agradecimentos

À bióloga Lisiane Becker, pela inestimável ajuda.

Ao Instituto de Patologia de Passo Fundo, na pessoa do Prof. Aventino Agostini, que colocou a estrutura técnica deste serviço à nossa disposição, sem o que, este trabalho teria sido impossível.

Ao Prof. Dr. Hugo Lisboa por suas opiniões, sugestões e auxílio.

À Líliam Panagio, que com sua competência desfez a distância física existente entre Campinas e Passo Fundo.

À todos os professores do Departamento de Biologia Celular da UNICAMP pela oportunidade de poder conviver durante este período.

E em especial ao Prof. Rubem Rodriguez que durante meses encontrou tempo para nos reunirmos, e realizarmos um trabalho que sem a sua participação não teria ocorrido.

## RESUMO

O câncer diferenciado de tireóide (carcinoma folicular e papilífero) geralmente possui bom prognóstico.

O Sistema utilizado para estadiamento destes tumores é o Sistema TNM, proposto pela UICC (*União Internacional Contra o Câncer*). Este Sistema baseia-se na extensão anatómica da doença, dividindo-a em estádios. O prognóstico dos tumores está diretamente relacionado ao estágio: quanto mais avançado, pior o prognóstico. Esta correspondência clínica é observada em todos os tumores da região da cabeça e pescoço onde este Sistema é utilizado. Entretanto, para os tumores diferenciados da tireóide, este sistema é inadequado, pois observa-se que pacientes e tumores em condições similares, com estádios similares e tratamento similares, têm evoluções diferentes.

A detecção da proteína p53 em células tumorais tem sido associada a mau prognóstico em alguns tipos de tumores.

Em células que apresentam o DNA danificado o gene p53 medeia a interrupção do G1 e retarda a entrada na fase S, facilitando o reparo do DNA, e, ao mesmo tempo induz a apoptose, prevenindo desta forma, a propagação de células que apresentem alterações genômicas estáveis. O gene p53 está perdido ou mutado em vários tipos de tumores.

A mutação do gene p53 leva à estabilização e ao aumento da meia-vida da proteína p53 e está associada com o acúmulo desta proteína no núcleo das células tumorais. A marcação imunológica da proteína p53 é desta forma, um meio indireto de detectar o gene p53 mutado.

O presente estudo avaliou o valor do p53 no prognóstico dos tumores diferenciados da tireóide, correlacionando-o com o estadiamento pelo Sistema TNM, estudando os seguintes parâmetros: a) número de procedimentos cirúrgicos necessários para o controle da doença; b) necessidade de associação do esvaziamento cervical à tireoidectomia; c) necessidade de associar a ressecção de estruturas cervicais; d) sobrevida.

Após revisão de lâminas, 43 casos foram levados à imunocoloração com o anticorpo anti-p53 (Novacastra, U.K.), utilizando-se o método de imunoperoxidase indireta (método Avidina-Biotina).

Foram positivos para imunocoloração do p53 25 casos e negativos 18. A distribuição entre os dois grupos quando analisado sexo, idade, tempo de seguimento, tipo histológico e estadiamento pelo Sistema TNM, foi semelhante.

O número de procedimentos cirúrgicos realizados no grupo de pacientes p53(+) foi de 44/25 (média 1,76 por paciente), enquanto que no grupo p53(-) foi de 22/18 (média 1,22 por paciente).

No grupo de pacientes p53(+) foi necessário realizar o esvaziamento cervical em alguma fase do tratamento em 13/25 pacientes (52%), enquanto que no grupo p53(-) foi de 4/18 (22%).

Estruturas cervicais foram ressecadas em 7/25 (28%) pacientes p53(+), enquanto que no grupo p53(-) foi necessário em 3/18 (17%).

Dentre os 43 casos estudados, 2 morreram por outras causas. Nos pacientes p53(+) 8/24 (33%) morreram em consequência ao câncer de tireóide, enquanto que no grupo p53(-) 2/17 (12%).

No presente estudo, a imunocoloração para a proteína p53 foi o fator preditivo mais fidedigno na avaliação do prognóstico do câncer de tireóide.

Os pacientes p53(+) apresentaram doença mais agressiva e mortalidade mais alta do que os pacientes p53(-).

A detecção por coloração imunohistoquímica da proteína p53 em pacientes portadores de câncer diferenciado de tireóide pode se tornar no método mais efetivo para antecipar o prognóstico desta doença, com maior acuracidade inclusive que o Sistema TNM.

## ABSTRACT

The differentiated thyroid cancer (papillary and follicular) usually has good prognosis.

The System used for the staging of these tumors is the TNM System, proposed by the IUAC (International Union Against Cancer). This System is based on the anatomical extension of the disease, dividing it in stages. The prognosis of the tumors is directly related to the stage: how more advanced, worse the prognosis. This clinical correspondence is observed in all the tumors of the head and neck region where this system is used. However, for the thyroid tumors, this system is inadequate, as it is observed that patients and tumors in similar conditions, with similar stages and similar treatment have different evolutions.

The detection of the p53 in tumorous cells have been associated to a poor prognosis in some kinds of tumors.

In cells that present damaged DNA the p53 gene mediates the interruption of the G1 phase and retards the entrance in the S phase, facilitating the mending of the DNA, and, at the same time, it induces the apoptosis, preventing this way, the propagation of the cells that present stable genomic alterations. The p53 gene is lost or muted in various kinds of tumors.

The mutation of the p53 gene leads to the stabilization and to the increase of the half life of the p53 protein and it is associated with the accumulation of the protein in the nucleus of the tumorous cells. The immunologic coloration of the p53 protein is then indirect means of detecting the muted p53 gene.

The present study analyzed the value of the p53 in the prognosis of the differentiated cancer of the thyroid gland, correlating it to the staging by the TNM system, studying the following parameters: a) number of surgical procedures necessary to control the disease; b) the necessity to associate neck dissection to the thyroidectomy; c) the necessity to associate the resection of the cervical structures; d) Survival.

After reviewing slides, 43 cases were taken to the immunocoloration with the anti-p53 antibody (Novacastra, U. K), using the indirect immunoperoxidase method (Avidina-Biotina).

In these 43 cases, 25 were positive for the immunocoloration of the p53, and 18 were negative. The distribution between the two groups was similar when Sex, age, follow-up time, histological type and staging by the TNM system.

## IX

The number of surgical procedures done in the group of patients p53(+) was of 44/25 (average 1.76), while in the group p53(-), it was of 22/18 (average 1.22).

In the group of patients p53(+), it was necessary to make neck dissection in some phase of the treatment in 13/25 patients (52%), while in the group p53(-), it was made in 4/18 (22%) of the patients.

Resection of cervical structures was necessary in 7/25 (28%) of the patients p53(+), while in the group p53(-), it was made in 3/18 (17%) of the patients.

Among the 43 studied cases, 2 died of other causes. In the patients p53(+), 8/24 (33%) died as a consequence of thyroid cancer, while 2/17 (12%) died of it in the group p53(-).

In this study, the immunocoloration for the p53 protein was the most trustworthy predictive factor in the evaluation of the thyroid cancer prognosis.

The group p53(+) patients presented more aggressive disease and higher mortality than the p53(-) patients.

The detection by immunohistochemical coloration of the p53 protein in patients with differentiated thyroid cancer can become the most effective method to anticipate the prognosis of this disease, with higher accuracy than the TNM System.

## SUMÁRIO

|                                                             |             |
|-------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Resumo.....</b>                                          | <b>VI</b>   |
| <b>Abstract.....</b>                                        | <b>VIII</b> |
| <b>I INTRODUÇÃO.....</b>                                    | <b>01</b>   |
| 1 Gene p53.....                                             | 03          |
| <b>II OBJETIVOS.....</b>                                    | <b>06</b>   |
| <b>III MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                         | <b>07</b>   |
| 1 Seleção de casos.....                                     | 07          |
| 2 Características dos pacientes.....                        | 08          |
| 3 Confecção de lâminas coradas com hematoxilina-eosina..... | 08          |
| 4 Revisão de lâminas.....                                   | 09          |
| 5 Confecção de lâminas para estudo imunohistoquímico.....   | 09          |
| 6 Análise das lâminas imunocoradas com anti-p53.....        | 11          |
| <b>IV RESULTADOS.....</b>                                   | <b>12</b>   |
| 1 p53 versus imunohistoquímica.....                         | 12          |
| 2 p53 versus sexo, idade, tempo de seguimento.....          | 12          |
| 3 p53 versus tipo histológico.....                          | 12          |
| 4 p53 versus estadiamento.....                              | 12          |
| 5 p53 versus número de procedimentos cirúrgicos.....        | 13          |
| 6 p53 versus realização de esvaziamento cervical.....       | 13          |
| 7 p53 versus ressecção de estruturas cervicais.....         | 13          |
| 8 p53 versus sobrevida.....                                 | 13          |
| <b>V DISCUSSÃO.....</b>                                     | <b>16</b>   |
| <b>VI CONCLUSÕES.....</b>                                   | <b>18</b>   |
| <b>VII ANEXO.....</b>                                       | <b>19</b>   |
| <b>VIII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                 | <b>21</b>   |

## I. INTRODUÇÃO

O câncer da glândula tireóide é uma doença relativamente rara, correspondendo a 1% dos tumores que afetam os seres humanos. Histologicamente o câncer de tireóide é classificado em 4 grupos principais: a) papilar, b) folicular, c) medular, d) anaplásico. Os tipos papilar e folicular são também denominados de carcinomas diferenciados da tireóide (CDT) e geralmente possuem excelente prognóstico, embora possam evoluir com recidiva precoce e mau prognóstico (Nishida *et al*, 1996). Representam 80-90% dos tumores malignos da tireóide. O tipo anaplásico também costuma ser denominado de indiferenciado com comportamento muito agressivo e invariavelmente fatal. Felizmente, sua incidência é baixa representando em torno de 5-10% dos tumores que afetam a glândula tireóide

. O carcinoma medular pertenceria a um grupo intermediário aos anteriores quanto ao seu comportamento biológico e seu prognóstico. A incidência deste tumor é em torno de 10%.

O sistema TNM(sigla internacional em inglês onde T= *tumor*, N= *node*, M= *metastasis*) de classificação dos tumores malignos foi desenvolvido a partir de grupos de estudo nomeados pela UICC (*União Internacional Contra o Câncer*). Este sistema baseia-se na extensão anatômica da doença, dividindo-a em estádios. A prática de se dividir os casos de câncer em grupos, de acordo com os chamados estádios, surgiu do fato de que as taxas de sobrevida eram maiores para os casos nos quais a doença era localizada, do que para aqueles nos quais a doença tinha se estendido além do órgão de origem. Esses grupos eram freqüentemente referidos como casos iniciais e casos avançados, inferindo alguma progressão regular com o passar do tempo. O sistema TNM tem como objetivos principais: a) dar alguma indicação do prognóstico do câncer; b) ajudar o profissional no planejamento do tratamento; c) ajudar na avaliação dos resultados de tratamento; d) facilitar a troca de informações entre os centros de tratamento( Sobin LH, Ed. Atlas TNM- classificação dos tumores malignos, 1998).

A classificação do sistema TNM tem sido o fator mais importante na estimativa do prognóstico em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. Entretanto, para os tumores da tireóide, este sistema (Quadro 1) é inadequado , pois observa-se que pacientes e tumores em

**Quadro 1-** Resumo da classificação clínica dos tumores diferenciados da tireóide pelo Sistema TNM. ( Sobin LH, Ed. Atlas TNM classificação dos tumores malignos. Ministério da Saúde, Rio de Janeiro, 1998, pág. 54)

### **TNM- Classificação Clínica- Tireóide**

#### **T- Tumor Primário**

- Tx O tumor primário não pode ser avaliado.  
 T0 Não há evidência de tumor primário.  
 T1 Tumor com 1 cm ou menos em sua maior dimensão, limitado à tireóide.  
 T2 Tumor com mais de 1 cm e até 4 cm em sua maior dimensão, limitado à tireóide.  
 T3 Tumor com mais de 4 cm em sua maior dimensão, limitado à tireóide.  
 T4 Tumor com qualquer dimensão, estendendo-se além da cápsula da tireóide.

#### **N- Linfonodos Regionais**

- Nx Os linfonodos regionais não podem ser avaliados.  
 N0 Ausência de metástase em linfonodos regionais.  
 N1 Metástase em linfonodos regionais  
   N1a Metástase em linfonodo(s) cervical(ais) homolateral(ais).  
   N1b Metástase em linfonodo(s) cervical(ais) bilateral(ais), medial(ais) ou contralateral(ais), ou em linfonodo(s) mediastinal(ais).

#### **M- Metástase à Distância**

- MX A presença de metástase à distância não pode ser avaliada.  
 M0 Ausência de metástase à distância.  
 M1 Metástase à distância.

#### **Papilífero ou Folicular**

##### *Abaixo de 45 anos*

|            |            |            |    |
|------------|------------|------------|----|
| Estádio I  | Qualquer T | Qualquer N | M0 |
| Estádio II | Qualquer T | Qualquer N | M1 |

##### *45 anos ou mais*

|             |            |            |    |
|-------------|------------|------------|----|
| Estádio I   | T1         | N0         | M0 |
| Estádio II  | T2         | N0         | M0 |
|             | T3         | N0         | M0 |
| Estádio III | T4         | N0         | M0 |
|             | Qualquer T | N1         | M0 |
| E           |            |            |    |
| Estádio IV  | Qualquer T | Qualquer N | M1 |

condições similares, com estádios e tratamento similares, tem evoluções diferentes (Caminero *et al.*, 1996).

Esta deficiência do Sistema TNM gerou inúmeros estudos para identificação dos fatores prognósticos relacionados ao câncer de tireóide. Sistemas escores tem sido conduzidos com o objetivo de obter parâmetros mais acurados para antever a evolução dos CDT (Tubiana *et al.*, 1985; Carcangiu *et al.*, 1985; Simpson *et al.*, 1987; Mazzaferri, 1987; Akslen, 1993; Godballe *et al.*, 1994). Estes sistemas baseiam-se na avaliação da idade, presença ou ausência de doença extra-tiroidiana, presença ou ausência de metástases cervicais, presença ou ausência de metástases à distância, graduação histológica etc...

Quando alguma destas alterações é detectada é dado um escore (1, 2, 3 ou 4 pontos) e assim sucessivamente. Quanto mais alta for a soma destes escores, tanto pior será o prognóstico. Todavia, nenhum destes sistemas conseguiu estabelecer de forma incontestável um método para a avaliação prognóstica do CDT.

O conhecimento prévio da provável evolução de um CDT é crucial pois, permitirá o tratamento seletivo destes tumores, evitando-se condutas terapêuticas agressivas para tumores com provável evolução indolente e benigna, e, em contrapartida, evitar terapias inadequadas para tumores que antecipadamente sabemos que terão evolução agressiva.

Os recentes progressos na imunohistoquímica e nas técnicas para sequenciamento do DNA abrem a perspectiva da obtenção de novos e mais acurados métodos prognósticos (Godballe *et al.*, 1998).

A detecção da proteína p53 em pacientes portadores de tumores de mama e de estômago correlaciona-se com mau prognóstico, ocorrendo diminuição do intervalo livre de doença (Simon *et al.*, 1994).

Dentre um dos possíveis métodos para avaliação do prognóstico do CDT, está a detecção da proteína p53.

### 1 Gene p53

O gene p53 localizado no cromossomo 17 (Setzen *et al.*, 1997), codifica uma fosfoproteína nuclear de 53 kDa. Este gene é responsável pela tradução de uma proteína nuclear que liga-se ao DNA e regula a transcrição e a replicação celular (Koch *et al.*, 1994).

O p53 regula a replicação e o crescimento celular, ativando a tradução de uma proteína de 21 kDa que bloqueia a divisão celular( Evans *et al.*, 1992), bem como a transcrição do gadd45 ( Pan *et al.*,1996), uma proteína que estimula o reparo do DNA. Está bem documentado o seu papel na apoptose (Yonish-Rouach *et al.*, 1993, Bennett *et al.*, 1998), ou seja, na morte celular programada, especialmente na ruptura da cadeia do DNA. Isto gerou a teoria que o papel da proteína p53 em células fisiologicamente normais, é impedir a proliferação de células que tenham sofrido mutação, através da interrupção do ciclo celular, ganhando tempo e fazendo então, o reparo do DNA( Levine, 1997). Esta hipótese ganhou suporte pela observação que linhagens tumorais de gene p53 mutante se superexpressam em proteínas defeituosas e em muitos casos mostram resistência a terapias genotóxicas como por exemplo radiação e quimioterápicos (Pan *et al.*, 1996).

Recentes estudos sugerem que um dos papéis mais críticos da proteína p53 é mediar duas respostas celulares diferentes após a exposição do DNA à estímulos que o danifiquem, tais como radiações ionizantes e os agentes quimioterápicos: após o dano ao DNA, a proteína p53 medeia a interrupção de G1 e retarda a entrada na fase S ( Narimatsu *et al.*,1998) , facilitando o reparo do DNA através do alongamento do tempo para que ocorra o reparo, antes da replicação do DNA, e, ao mesmo tempo, induz à apoptose, prevenindo desta forma, a propagação de células que apresentem alterações genômicas estáveis (Yonish-Rouach *et al.*, 1993; Zedenius *et al.*, 1996; Narimatsu *et al.*, 1998; Krovelde *et al.*,1998).

O desenvolvimento de tumores ocorre em múltiplos passos, seja pela ativação dos oncogenes ou pela inativação dos genes supressores tumorais (Yoshimoto *et al.*, 1992; Simon *et al.*, 1994, Wang *et al.*, 1998). Está bem determinado que estas alterações resultam num incremento da proliferação celular ( Wood *et al.*, 1997). Evidências recentes sugerem que a regulação genética da apoptose tem importância crítica durante a tumorigênese e que os oncogenes e os genes supressores tumorais podem regular a susceptibilidade das células que vão à apoptose. Assim, a proteína p53 pode potencialmente desempenhar diferentes papéis em vários estágios do processo da doença (Nakamura *et al.*, 1993; Pan *et al.*, 1996).

Os genes supressores tumorais tem como função regular negativamente a proliferação celular. Sua inativação seja por deleção ou mutação, resulta em perda da função e a conseqüente replicação celular desenfreada. O papel da proliferação celular no

prognóstico dos tumores de cabeça e pescoço permanece incerto. Alguns estudos mostram que tumores com alto índice de proliferação celular tem bom prognóstico, enquanto que outros estudos demonstram exatamente o oposto (Kropveld *et al.*, 1998).

A alteração genética mais frequentemente encontrada nos tumores de humanos é a do gene supressor tumoral p53 (Yoshimoto *et al.*, 1992; Simon *et al.*, 1994; Pan *et al.*, 1996; Caminero *et al.*, 1996)

A introdução do gene selvagem da p53 em células alteradas, é capaz de reverter o fenótipo tumorogênico e pode bloquear a proliferação destas células. Por outro lado, a introdução do gene p53 mutado em células não-tumorogênicas com deficiência da proteína p53 selvagem, incrementa a capacidade neoplásica destas células (Simon *et al.*, 1994).

O gene p53 está frequentemente perdido ou mutado em tumores de vários órgãos como cólon, mama, pulmão, cérebro e ovários bem como os cânceres que afetam a região da cabeça e pescoço (Fagin *et al.*, 1993; Koch *et al.*, 1994; Nishida *et al.*, 1996; Setzen *et al.*, 1997). A frequência das mutações do p53 aumenta com a progressão do tumor de pré-invasivo para invasivo (Donghi *et al.*, 1993; Boyle *et al.*, 1993; Nogueira *et al.*, 1998).

Os locais do gene onde ocorrem as mutações, são em regiões extensas da molécula do DNA, representadas por centenas de pares de bases, porém, em 95% dos casos estão localizadas nas regiões dos exons 5 ao 8 (Yoshimoto *et al.*, 1992).

A mutação do gene p53 leva à estabilização e ao aumento da meia-vida da proteína p53 e está associada com o acúmulo desta proteína no núcleo de células tumorais (Kropveld *et al.*, 1998). A marcação imunológica da proteína p53 é, desta forma, um meio indireto de detectar o gene p53 mutado (Caminero *et al.*, 1996).

Dobashi *et al.* (1993) relatam que foram positivos para imunomarcação da proteína p53 12% dos casos de carcinomas bem diferenciados de tireóide, 41% dos pouco diferenciados e 64% dos indiferenciados. Nishida *et al.* (1996) encontraram positividade em 18% dos carcinomas bem diferenciados e 56% dos pouco diferenciados.

O papel do p53 no prognóstico do câncer diferenciado da tireóide não está inteiramente claro e permanece para ser completamente estabelecido (Ruter *et al.*, 1996).

## **II OBJETIVOS**

O presente estudo objetivou avaliar o valor da proteína p53 no prognóstico dos tumores diferenciados da tireóide, correlacionando-o com o estadiamento pelo sistema TNM, analisando os seguintes parâmetros: a) número de procedimentos cirúrgicos necessários para o controle da doença; b) necessidade de associação do esvaziamento cervical à tireoidectomia; c) necessidade de associar a ressecção de estruturas cervicais; d) sobrevida.

### III MATERIAIS E MÉTODOS

#### 1. Seleção de casos

Foram revisados os registros da Clínica Fogaça (entidade privada, especializada em cirurgia de cabeça e pescoço) de 260 pacientes tratados cirurgicamente por doenças da tireóide no período de janeiro de 1984 à janeiro de 1998.

Estes registros estavam armazenados em programa computadorizado (Access-Microsoft) e constavam os seguintes dados: número do registro, número do registro hospitalar (same), idade, sexo, cid, estadiamento, data da cirurgia, tipo de cirurgia, laudo histopatológico, complicações pós-operatórias, data da última consulta, estado atual, recidiva, data da recidiva, óbito-causa, nome, endereço, cidade, número telefone e médico que encaminhou (este banco de dados está parcialmente reproduzido em anexos, páginas).

Dentre estes, 63 pacientes eram portadores de neoplasias malignas da glândula tireóide. Histologicamente estavam divididos em: carcinoma papilífero 30 (48%), carcinoma folicular 18 (29%), anaplásico 10 (16%), medular 3 (5%) e outros 2 (3%).

A conduta cirúrgica usualmente praticada foi a tireoidectomia total para o CDT.

O esvaziamento cervical só foi realizado conjuntamente com a tireoidectomia nos casos em que os linfonodos eram clinicamente positivos à palpação. O tipo de esvaziamento foi o modificado (preservação músculo esterno-cleido-mastoideo, veia jugular interna e nervo espinhal) e com o esvaziamento dos níveis II, III, IV. O esvaziamento da cadeia recorrencial (paratraqueal) sempre foi associado.

Nos pacientes em que havia doença extra-tireoidiana com envolvimento de estruturas anatômicas cervicais (músculo, nervo, pele, etc...), estes também foram ressecados.

Os pacientes que apresentavam doença extra-tireoidiana ou linfonodos comprometidos, o tratamento foi complementado com iodo radioativo.

A rotina para seguimento destes pacientes foi o de duas revisões anuais até completar 5 anos de acompanhamento e, após, uma revisão anual até completar 10 anos de acompanhamento. Alguns pacientes haviam abandonado o seguimento e foram contatados através de telefone ou carta. A maioria retornou ao controle. Outros, o contato foi através de seus médicos assistentes (endocrinologista), que atualizaram as informações.

Foram levados à estudo somente os casos de CDT (papilar e folicular), num total de 48 casos. Dois casos foram excluídos por não serem encontrados os blocos de parafina , um caso por apresentar doença disseminada sendo que o tratamento realizado foi paliativo e não com intenção curativa e outro caso por perda de seguimento. Os restantes 44 casos foram levados à análise, iniciando com a revisão de lâminas pela coloração com hematoxilina-eosina. Destes, um caso foi excluído por mudança no diagnóstico ( papilar para medular), restando portanto 43 casos a serem estudados através da imunocoloração pelo antígeno anti-p53.

## **2. Características dos pacientes**

Trinta e sete (86%) pacientes eram do sexo feminino e 6 (14%) do sexo masculino.

Predominou do tipo histológico papilar com 29 casos (68%) e 14 (32%) do tipo folicular. A média de idade foi de 46,2 anos e os pacientes foram acompanhados , em média, por 5,8 anos.

## **3. Confeccção das lâminas coradas com hematoxilina-eosina**

Os blocos de parafina com material fixado previamente em formol à 10% foram resgatados e realizados novos cortes de 5 micrômetros. Foram confeccionadas 5 lâminas para cada caso, como segue:

- a) desparafinização dos cortes em cinco trocas de xilol (em estufa a 60° C)
- b) hidratação em seis banhos de álcool (5 minutos cada)
  - 2 banhos de álcool absoluto;
  - 1 banho em álcool 90%;
  - 1 banho em álcool 80%;
- c) lavagem em água corrente;
- d) colocação em Hematoxilina de Harris por 3 minutos;
- e) colocação em solução de eosina alcóolica por 1 minuto;
- f) banho em álcool 70%, 80%, 90% e álcool absoluto (desidratação);
- g) clarificação em xilol (2 trocas);
- h) montagem das lâminas em bálsamo do Canadá.

### 3. Revisão das lâminas

Todos os casos foram revisados através de estudo morfológico, seguindo os critérios descritos por Rosai *et al.* (1992). Apenas um caso teve seu diagnóstico modificado de carcinoma folicular para medular. Este caso também foi excluído. Os restantes 43 casos foram para o estudo com imunocoloração com anticorpo anti- p53.

### 4. Confeção das lâminas para estudo imunohistoquímico

Foi utilizado o método da imunoperoxidase indireta (método Avidina-Biotina) com o anticorpo anti-p53 (Novacastra, U.K), como segue:

- 1) cortes de três micrômetros em lâmina “filmada” com silano líquido. Cada lâmina possuía um fragmento controle positivo (Figura 1) para o anticorpo anti-p53 (caso B97 8546-neoplasia maligna de mama- do Instituto de Patologia de Passo Fundo). As lâminas eram deixadas em estufa a 37°C para fixação dos cortes;
- 2) desparafinização em três banhos de xilol- 5 minutos cada;
- 3) hidratação em três banhos de álcool absoluto;
- 4) banhado em água destilada- 10 minutos;
- 5) colocado em álcool amoniacal para retirar pigmento de formol- 10 minutos;
- 6) banhado em água destilada- 10 minutos;
- 7) colocado em tetraborato de sódio 1%- 3 minutos;
- 8) banhado em água destilada- 10 minutos;
- 9) colocad em peridrol (metanol 70%- 80 ml + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> -20 ml) por 40 minutos para inibição da peroxidase endógena;
- 10) banhado em água destilada- 10 minutos;
- 11) recuperação antigênica pelo calor (*Heat Induced Epitope Retrieval*):  
as lâminas eram imersas em tampão citrato-fosfato no forno de microondas, usando 2 ciclos de 5 minutos cada em potência máxima. Após cada ciclo, as lâminas eram deixadas no tampão citrato-fosfato até atingir temperatura ambiente. Após o segundo ciclo, as lâminas eram retiradas e deixadas em tampão PBS por 10 minutos;

- 12) secagem das lâminas ao redor dos cortes. Encubadas em solução de leite em pó 0,03% (leite Molico) em albumina bovina (BSA) 1%. As lâminas eram deixadas em câmara úmida por duas horas em geladeira (+ ou - 4°C);
- 13) drenagem do excesso de solução das lâminas, 1 a 1 e colocado o anticorpo primário diluído. O anticorpo p53 foi usado na diluição 1:50 em solução diluidora de 0,1% de leite em pó em BSA 1%. Incubado "*overnight*" em geladeira (+ ou - 4°C);
- 14) lavagem em tampão PBS em três trocas por 10 minutos;
- 15) drenagem da solução tampão. Incubada em anticorpo secundário biotilado (Kit Novacastra) diluída em solução de 0,1% de leite em pó em BSA 1% por 45 minutos;
- 16) lavagem em tampão PBS em três trocas por 10 minutos;
- 17) drenagem da solução tampão. Incubada com o complexo Avidina-Biotina-Peroxidase (Kit Novacastra) diluído em PBS por 45 minutos;
- 18) lavagem em tampão PBS em três trocas por 10 minutos;
- 19) Revelada em solução de DAB (Diaminobenzidina- pastilha). Acompanhado o desenvolvimento da peroxidase observando as lâminas 1 a 1 ao microscópio;
- 20) lavagem das lâminas em água destilada- três banhos;
- 21) contracoradas com Hematoxilina de Harris por 10 segundos;
- 22) lavagem em água corrente;
- 23) desidratado em álcool absoluto- três trocas;
- 24) clarificado em xilol;
- 25) montagem em bálsamo do Canadá;
- 26) o corte controle foi marcado com caneta de retroprojctor.

### **5. Análise das lâminas imunocoradas com anti p53**

Foram analisados 2 cortes de tireóide com tumor para cada caso.

Quando não ocorria a imunocoloração dos núcleos (fig.2), o caso era considerado p53(-).

Foram considerados p53(+) os casos que apresentaram imunocoloração dos núcleos, sendo que esta variou em intensidade podendo ser fortemente coradas (fig. 3) ou fracamente coradas e difusas (fig.4). Todavia, foi necessário que pelo menos 10% dos núcleos de células tumorais apresentassem corados, independente da intensidade.

## IV. RESULTADOS

### 1. p53 versus imunohistoquímica

Quarenta e três pacientes foram analisados através de estudo imunohistoquímico, após preparo conforme descrito em *material e métodos*.

Foi utilizado microscópio Zeiss modelo Axelphot-2 e fotografado com filme Fujicolor Superia ASA 100.

Ocorreu a imunocoloração em 25 casos e este grupo foi denominado p53(+), nos 18 casos restantes não ocorreu a coloração dos núcleos com o antígeno anti-p53 e este grupo foi denominado p53(-).

### 2. p53 versus sexo, idade e tempo de seguimento

Três pacientes dentre 25 p53(+) eram do sexo masculino (12%) e 22 do sexo feminino (88%). Nos casos p53(-) 3 (17%) eram do sexo masculino e 15 (83%) do sexo feminino.

A média de idade para os pacientes p53(+) foi de 49,2 anos e para os pacientes p53(-) foi de 43,3 anos.

O tempo médio de seguimento para os pacientes vivos p53(+) foi de 5,93 anos (min. 2, máx. 12) e para os pacientes p53(-) foi de 5,7 anos (min. 2, máx. 10). (Tabela 1).

### 3. p53 versus tipo histológico

No grupo p53(+), 16/25 casos (64%) eram do tipo papilar e 9/25 (36%) eram do tipo folicular. No grupo p53(-) 13/18 casos (72%) eram do tipo papilar e 5/18 (28%) eram do tipo folicular (Tabela 2).

### 4. p53 versus estadiamento

Seis pacientes haviam sido submetidos à algum tipo de tratamento cirúrgico prévio (TxNxMx), os 37 restantes apresentavam o seguinte estadiamento (Tabela 2).

Grupo p53(+): estágio I 9 (43%), II 3 (14%), III 7 (33%) e IV 2 (10%).

Grupo p53(-): estágio I 6 (39%), II 4 (25%), III 5 (31%) e IV 1 (7%).

### **5. p53 versus número de procedimentos cirúrgicos**

O número de procedimentos cirúrgicos realizados no grupo de pacientes p53(+) foi de 44/25 (média de 1,76 procedimentos por paciente), enquanto que no grupo de pacientes p53(-) foi de 22/18 (média de 1,22 procedimentos por paciente), (Tabela 2).

### **5. p53 versus realização de esvaziamento cervical**

No grupo de pacientes p53(+) foi necessário realizar o esvaziamento cervical em alguma fase do tratamento em 13/25 pacientes (52%), enquanto que no grupo de pacientes p53(-) foi de 4/18 (22%), (Tabela 2).

### **6. p53 versus ressecção de estruturas cervicais**

Em alguns pacientes a tireoidectomia associada ou não ao esvaziamento cervical, teve que ser complementada com a ressecção de outras estruturas cervicais como segmentos musculares, pele etc.

No grupo de pacientes p53(+) este procedimento foi necessário em 7/25 casos (28%), enquanto que no grupo p53(-) foi necessário em 3/18 (17%).

### **7. p53 versus sobrevida**

Dentre os 43 casos estudados, 2 pacientes morreram por outras causas. Um paciente morreu em consequência à cirrose hepática de origem biliar – p53(-) e outro em decorrência de complicações de bronquite asmática-p53(+). Dos pacientes restantes, 8/24 p53(+) (33%) morreram em decorrência do câncer de tireóide. Nos pacientes p53(-), 2/17 (12%) morreram em consequência do câncer de tireóide.

No grupo de pacientes p53(+), 4 casos eram do tipo histológico folicular e 4 do tipo papilar. No grupo p53(-) ambos os casos eram do tipo folicular.

Quanto ao estadiamento pelo sistema TNM: p53(+) estágio I= 1, II= 1, III= 2, IV= 2 e dois casos haviam sido submetidos à tratamento prévio. Nos pacientes p53(-), estágio I=0, II= 0, III= 0, IV= 1 e um paciente com tratamento prévio.

**Figura 1:** Neoplasia maligna de mama utilizada como controle. Núcleos intensamente corados( positivos) para o anticorpo anti-p53 (aumento 400x).

**Figura 2:** Carcinoma papilar de tireóide negativo para o anticorpo anti-p53 (aumento 200x)

**Figura 3:** Carcinoma folicular de tireóide positivo para o anticorpo anti-p53. Os núcleos apresentam-se fortemente corados (400x).

**Figura 4:** Carcinoma folicular de tireóide positivo para o anticorpo anti-p53. Os núcleos apresentam-se com coloração de intensidade fraca e difusa (400x).

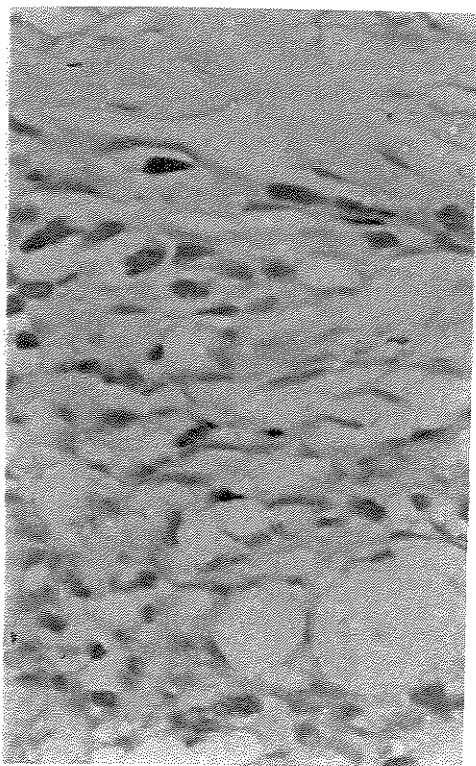


FIG. 1

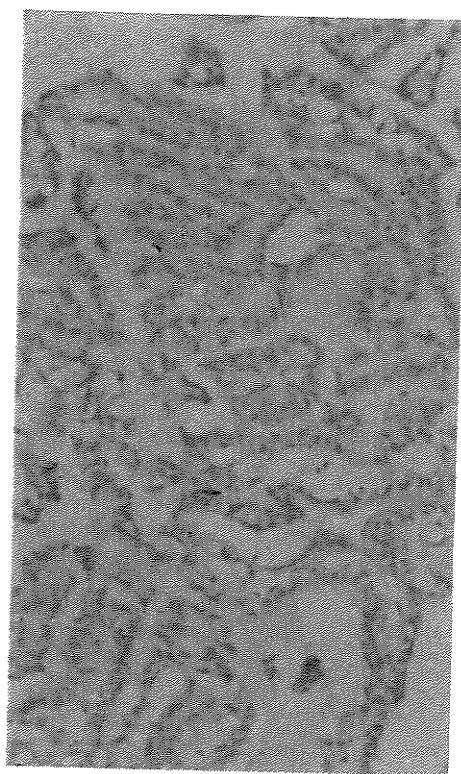


FIG. 2

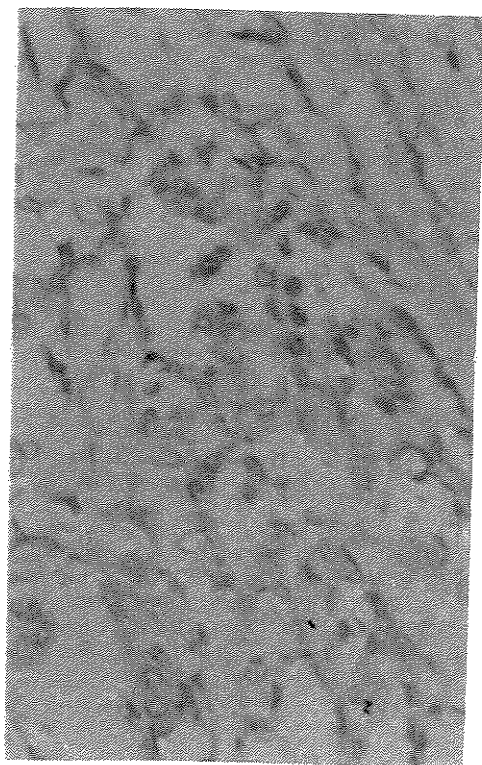


FIG. 3

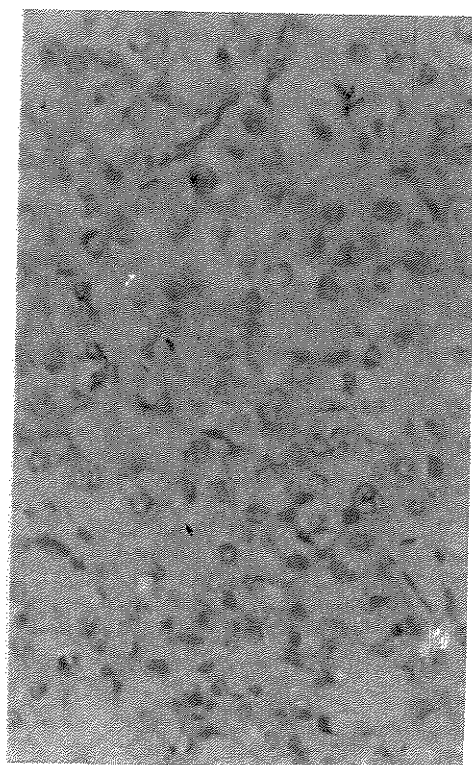


FIG. 4

**Tabela 1-** Características dos pacientes com câncer de tireóide quanto ao sexo, média de idade, e tempo médio de seguimento, de acordo com a coloração ou não da p53 na imunohistoquímica.

| <i>p53</i> | <i>Feminino</i> | <i>Masculino</i> | <i>Média Idade</i> | <i>T. Seguimento</i> |
|------------|-----------------|------------------|--------------------|----------------------|
|            | <i>n(%)</i>     | <i>n(%)</i>      | <i>(anos)</i>      | <i>(anos)</i>        |
| (+)        | 22 (88)         | 3 (12)           | 49,2 (S=17,05)     | 5,93 (S=3,51)        |
| (-)        | 15 (83)         | 3 (17)           | 43,3 (S=15,43)     | 6,10 (S=2,68)        |

S= desvio padrão

**Tabela 2-** Resultados da comparação entre pacientes p53(+) e p53(-) com relação a proporção de tipos histológicos, estadiamento pelo sistema TNM, necessidade de procedimentos cirúrgicos adicionais, necessidade de esvaziamento cervical e necessidade de ressecção de outras estruturas cervicais.

| Proporção                          | p53(+)      | p53(-)     | Estatística                    |
|------------------------------------|-------------|------------|--------------------------------|
|                                    | (%)         | (%)        |                                |
| Papilífero/Folicular               | 64/36       | 72/28      | qui quadrado=1,47<br>p=0,22    |
| TNM I/II/III/IV                    | 43/14/33/10 | 38/25/31/7 | qui quadrado=4,0<br>p=0,26     |
| Proc. Cir. Adicionais<br>(Sim/Não) | 43/57       | 18/82      | qui quadrado=14<br>p < 0,001   |
| Esv. Cervical<br>(Sim/Não)         | 52/48       | 22/78      | qui quadrado=14.3<br>p < 0,001 |
| Res. Estr. Cervicais<br>(Sim/Não)  | 28/72       | 17/83      | qui quadrado=3,47<br>p< 0,06   |

## V DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi correlacionar a presença da imunocoloração do p53 com o estadiamento pelo Sistema TNM e desta maneira procurar estabelecer a existência de fatores prognósticos para o câncer diferenciado da tireóide.

Observou-se com frequência que pacientes portadores de tumores com estádios semelhantes submetidos a tratamentos semelhantes podem ter evolução completamente diferentes. O conhecimento antecipado destas características tem enorme importância prática, pois permite o tratamento cirúrgico mais alargado dos pacientes portadores de tumores que antecipadamente sabemos que terão comportamento agressivo e, tratamento mais conservador dos pacientes portadores de tumores com tendência de comportamento mais indolente.

Não ocorreram diferenças significativas entre os grupos de pacientes p53(+) e p53(-) quando consideramos sexo, tempo de seguimento e tipo histológico. A maior diferença foi quanto à média de idade, sendo que no grupo de pacientes p53(+) ela está próxima dos 50 anos enquanto que no grupo p53(-) foi de 42,7 anos.

O grande impacto que idade tem no prognóstico do câncer diferenciado da tireóide está bem estabelecido desde as publicações de Tubiana *et al* (1985) e de Simpson *et al* (1987). O prognóstico é expressivamente melhor quando o diagnóstico é feito antes dos 45 anos de idade. Esta importância inclusive, está traduzida no Sistema TNM que inclui os 45 anos como o ponto de corte no estadiamento.

Este fator poderá ter influenciado o pior prognóstico apresentado por este grupo e não somente a presença do p53(+). Entretanto, esta média alta se deve basicamente à existência de uma paciente com idade de 84 anos.

É extremamente importante observar que no item estadiamento TNM, a distribuição nos grupos p53(+) e p53(-) é semelhante, a qual fica mais reforçada nos estádios de doença mais avançada (III e IV) onde é praticamente igual. Se este sistema fosse realmente efetivo para antecipar o prognóstico da doença, os dois grupos teriam que evoluir de maneira semelhante, como aliás, ocorre em praticamente todos os outros órgãos onde este Sistema é utilizado.

A análise do parâmetro *número de procedimentos cirúrgicos* mostrou que o grupo de paciente p53(+) evoluiu com doença muito mais agressiva que o grupo p53(-) ( $p < 0,001$  tabela 2), embora apresentassem estadiamento pelo sistema TNM semelhantes. A maioria dos estudos costuma avaliar apenas dois pontos: o momento do estadiamento pelo sistema TNM e o final, ou seja, a sobrevida. Não existe a preocupação em saber se no decorrer do tratamento, alguns pacientes geraram maior número de intervenções para o controle da doença. Da mesma forma, quando se analisa o parâmetro, *esvaziamento cervical* isto fica mais evidente, pois a diferença entre os dois grupos foi altamente significativa ( $p < 0,001$ ), sendo que no grupo p53(+) mais da metade dos pacientes apresentaram metástases cervicais em alguma fase do tratamento, tendo sido necessário associar o esvaziamento cervical em 52% dos pacientes. No grupo de pacientes p53(-), 22% desenvolveram metástases cervicais. Nishida *et al* (1996) relata achados semelhantes onde em um grupo de 83 pacientes analisados, 21% dos pacientes p53(-) apresentaram algum tipo de recidiva, enquanto que esta ocorreu em 44% dos pacientes p53(+).

Na literatura, há um relato de Sauter *et al* (1995) que discorda dos dados do presente trabalho, já que este autor não observou diferença entre os casos p53(+) e p53(-) quando analisado o parâmetro metástases cervicais. Entretanto, os pacientes analisados eram portadores de outros tipos de tumores de cabeça e pescoço onde não estão incluídos os cânceres diferenciados de tireóide.

No parâmetro *resseção de estruturas cervicais*, embora tenha sido mais freqüente no grupo p53(+), não apresenta a mesma expressividade ( $p < 0,06$ ) dos itens anteriormente comentados.

Na análise da sobrevida, o grupo p53(+) apresentou mortalidade de 33% de seus componentes, corroborando os achados dos parâmetros anteriormente discutidos, contra apenas 12% dos pacientes do grupo p53(-), embora os dois grupos apresentassem estadiamento pelo sistema TNM semelhantes. Estes achados são próximos aos relatados por Nishida *et al* (1996) que observou mortalidade de 5% (7/58) nos pacientes p53(-) e de 32% (8/25) nos pacientes p53(+).

Entretanto, devido ao limitado número de pacientes e natureza retrospectiva deste estudo, faz-se necessário um estudo prospectivo com um maior número de pacientes para estabelecer de forma definitiva o real significado clínico da imunocoloração pelo p53.

## VI. CONCLUSÕES

1- A imunocoloração para a proteína p53 é um fator preditivo fidedigno para avaliação do prognóstico do câncer diferenciado da tireóide.

2- Os pacientes p53(+) evoluem com doença mais agressiva que o grupo de pacientes com p53(-), embora ambos os grupos apresentem semelhanças quanto ao estadiamento pelo sistema TNM.

3- O grupo de pacientes p53(+) exige um maior número de procedimentos cirúrgicos para o controle da doença, quando comparado com o grupo p53(-). A mortalidade por doença neste grupo foi de 33% enquanto que no grupo p53(-) foi de 12%.

4- A detecção por coloração imunohistoquímica da proteína p53 em pacientes portadores de câncer diferenciado de tireóide pode se tornar no método mais efetivo para antecipar o prognóstico desta doença, com maior acuracidade inclusive que o sistema TNM.

## VII. ANEXO

## ANEXO- BASE DE DADOS UTILIZADA NO PRESENTE ESTUDO(PARCIAL)

| CID | REGISTRO   | SAME   | IDADE | SEXO | LAUDO HISTOL              | ESTADIAM   | CIRURGIA    | DATAS      |
|-----|------------|--------|-------|------|---------------------------|------------|-------------|------------|
| 193 | 0184048    |        | 83    | F    | Fibrossarcoma             | T4N0M0 IV  | 44.04.005.9 | 841019     |
| 193 | 1796087    | 106774 | 78    | F    | Carcinoma Tipo Insular    | T3N1M0     | 44.04.006.7 | 960408     |
| 193 | 3188169    |        | 57    | F    | Carcinoma Medular         |            | 44.04.005.9 | 880810     |
| 193 | 6588159    |        | 23    | F    | Carcinoma Medular         |            | 12.003.5    | 880527     |
| 193 | 4693020    |        | 47    | M    | Carcinoma Medular         |            |             |            |
| 193 | 1485166    |        | 71    | M    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N1M0 IV  | 44.04.006.8 | 850411     |
| 193 | 1626983138 |        | 68    | M    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N0M0 IV  | 44.04.005.9 | 840627     |
| 193 | 201289     |        | 51    | M    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N0M0 IV  | 44.04.005.9 | 891220     |
| 193 | 2896333    | 223854 | 68    | F    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N0M0 IV  | 44.04.005.9 | 961203     |
| 193 | 3494192    | 198990 | 60    | F    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N0M0 IV  | 44.04.003.3 | 940915     |
| 193 | 1488023    |        | 73    | F    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N1M0 IV  | 44.04.001.1 | 880404     |
| 193 | 4284108    |        | 42    | M    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N3M1 IV  | 44.04.001.1 | 840901     |
| 193 | 2899150    |        | 71    | M    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N0M1 IV  | 44.04.001.1 | 990709     |
| 193 | 3589247    |        | 54    | F    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N1M0 IV  | 44.04.001.1 | 890707     |
| 193 | 5591065    |        | 36    | F    | Carcinoma Indiferenciado  | TXNXMX     | 44.04.001.1 | 910620     |
| 193 | 3894184    |        | 61    | M    | Carcinoma Indiferenciado  | T4N0M0 IV  | 44.04.003.2 | 940901     |
| 193 | 1094224    | 200382 | 84    | M    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N1M1 IV  | 44.04.007.6 | 941031/940 |
| 193 | 6290174    | 155663 | 28    | M    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N1bM0    | 44.04.007.5 | 900705 950 |
| 193 | 8298234    | 130334 | 16    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T3N1bM0    | 44.04.007.5 | 980806     |
| 193 | 6596202    | 220180 | 31    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N1M0 III | 44.04.007.5 | 960802     |
| 193 | 4784085    |        | 37    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T2N1aM0    | 44.04.006.8 | 840919 850 |
| 193 | 2193040    |        | 72    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N1M0 III | 44.04.006.8 | 930317     |
| 193 | 5189045    |        | 32    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T2N0M0 II  | 44.04.005.9 | 890317 890 |
| 193 | 6688106    |        | 22    | M    | Adenocarcinoma Papilífero | T1N0M0 I   | 44.04.005.9 | 880518 900 |
| 193 | 1795288    | 211722 | 75    | M    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N1M1 IV  | 44.04.005.9 | 951030     |
| 193 | 3497247    | 233419 | 63    | M    | Adenocarcinoma Papilífero | T2N0M0 II  | 44.04.005.9 | 971022     |
| 193 | 4392041    |        | 49    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N0M0 III | 44.04.005.9 | 910620     |
| 193 | 4589232    |        | 44    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T2N0M0 II  | 44.04.005.9 | 890728     |
| 193 | 5787102    |        | 29    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | TXNXMX     | 44.04.005.9 | 870924     |
| 193 | 7296133    | 218330 | 24    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T2N0M0 II  | 44.04.005.9 | 960604     |
| 193 | 6197310    | 236238 | 36    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T1bN0M0 I  | 44.04.005.9 | 980114     |
| 193 | 4796191    | 220134 | 49    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N0M0 III | 44.04.005.9 | 960801     |
| 193 | 3094203    | 196136 | 64    | M    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N1M0 III | 44.04.005.9 | 940919     |
| 193 | 4796011    | 169929 | 48    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T2N0M0 II  | 44.04.005.9 | 960324     |
| 193 | 4096167    | 220073 | 56    | M    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N0M0 III | 44.04.004.1 | 960730/970 |
| 193 | 7595244    | 210994 | 20    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | TXNXMX     | 44.04.004.1 | 951004     |
| 193 | 3997275    |        | 58    | M    | Adenocarcinoma Papilífero | T1N0M0 I   | 44.04.004   | 980414     |
| 193 | 5688212    |        | 32    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T1N0M0 I   | 44.04.003.3 | 880924     |
| 193 | 5298292    | 245336 | 46    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T2N0M0 II  | 44.04.003.3 | 981103     |
| 193 | 5196002    | 176832 | 45    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T1N0M0 I   | 44.04.003.3 | 960115     |
| 193 | 7091033    |        | 21    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T2N0M0 II  | 44.04.003.2 | 910210 91  |
| 193 | 2392178    | 090322 | 69    | F    | Adenocarcinoma Papilífero | T4N0M0 III | 44.04.003.2 | 921122     |

|     |         |        |    |   |                             |            |              |             |
|-----|---------|--------|----|---|-----------------------------|------------|--------------|-------------|
| 193 | 6586008 |        | 21 | F | Adenocarcinoma Papilífero   | T1N0M0 I   | 44.04.003.2  | 870220      |
| 193 | 4294089 |        | 52 | F | Adenocarcinoma Papilífero   | T1N0M0 I   | 44.04.003.2  | 940603      |
| 193 | 5892191 |        | 34 | F | Adenocarcinoma Papilífero   | T2N0M0 II  | 44.04.003.2  | 920908      |
| 193 | 7799109 | 251400 | 21 | F | Adenocarcinoma Papilífero   | T1N0M0 I   | 44.04.003.   | 990707      |
| 193 | 2594050 | 194180 | 69 | F | Adenocarcinoma Papilífero   | T3N0M0 II  | 44.04.005.9  | 940412 970  |
| 193 | 4696280 | 099540 | 50 | F | Adenocarcinoma Papilífero   | T2N1M0 III | 44.004.006.7 | 961106      |
| 193 | 3498151 | 241172 | 64 | F | Adenocarcinoma Papilífero   | T1N1M0 III | 12.006.0     | 980602      |
| 193 | 2190081 |        | 69 | F | Adenocarcinoma Folicular    | TXNXMX     | 44.04.006.8  | 900512 9210 |
| 193 | 3995045 | 204851 | 55 | F | Adenocarcinoma Folicular    | T3N0M0 II  | 44.04.005.9  | 950315      |
| 193 | 4398014 | 077418 | 55 | F | Adenocarcinoma Folicular    | T1N0M0 I   | 44.04.005.9  | 980126      |
| 193 | 3890034 |        | 52 | F | Adenocarcinoma Folicular    | TXNXMX     | 44.04.005.9  | 901124      |
| 193 | 4689050 |        | 43 | M | Adenocarcinoma Folicular    | T4N0M0 IV  | 44.04.005.9  | 891228      |
| 193 | 2990027 |        | 61 | F | Adenocarcinoma Folicular    | T1N0M0 I   | 44.04.005.9  | 900606      |
| 193 | 4294307 | 198899 | 51 | F | Adenocarcinoma Folicular    | TXNXMX     | 44.04.004.1  | 941007      |
| 193 | 5591157 |        | 36 | F | Adenocarcinoma Folicular    | TXNXMX     | 44.04.004.1  | 911030      |
| 193 | 5889222 |        | 31 | F | Adenocarcinoma Folicular    | T2N0M0 II  | 44.04.003.2  | 891118      |
| 193 | 3792155 |        | 55 | M | Adenocarcinoma Folicular    | T2N0M1 IV  | 44.04.003.2  | 921020 9210 |
| 193 | 3688205 |        | 52 | M | Adenocarcinoma Folicular    | T4N1M1     | 44.04.001.1  | 880321      |
| 193 | 3695136 | 207490 | 59 | F | Adenocarcinoma Céls. Hurtle | T4N0M0 III | 44.04.007.6  | 950607 970  |
| 193 | 4896024 | 063044 | 47 | F | Adenocarcinoma Céls. Hurtle | T2N1M0 III | 44.04.006.7  | 951215      |
| 193 | 5195077 | 205094 | 44 | F | Adenocarcinoma Céls. Hurtle | T4N1M1 IV  | 44.04.006.7  | 950322      |
| 193 | 5198169 | 241900 | 46 | F | Adenocarcinoma Céls. Hurtle | T2N0M0 II  | 44.04.005.9  | 980718      |
| 193 | 3090218 |        | 60 | F | Adenocarcinoma Céls. Hurtle | T3N0M0 II  | 44.04.005.9  | 900120      |
| 193 | 3085063 |        | 55 | F | Adenocarcinoma Céls. Hurtle | TxNxMx     | 44.04.005.9  | 850121      |
| 193 | 6596058 | 216148 | 31 | F | Adenocarcinoma Céls. Hurtle | T3N0M0 II  | 44.04.003.3  | 960324      |
| 193 | 5185161 |        | 34 | F | Adenocarcinoma Folicular    | T1N0M0 I   | 44.04.006.8  | 920825 8500 |

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akslen LA. Prognostic importance of histologic grading in papillary thyroid carcinomas. *Cancer* 1993; 72: 2680-5.
- Bennett M, Macdonald K, Chan SW, Luzio JP, Simari R, Weissberg P. Cell surface trafficking of faz: a rapid mechanism of p53-mediated apoptosis. *Science* 1998; 282:290-293.
- Boyle JO, Hakim J, Koch W, van der Riet P, Hruban RH, Roa RA, Correo R, Eby YJ, Ruppert JM, Sidransky D. The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Res.* 1993;53(19):4477-80.
- Caminero MJ, Nuñez F, Suárez C, Ablanado P, Riera JR, Dominguez F. Detection of p53 protein in oropharyngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996; 122: 769-772.
- Carcangiu ML, Zampi G, Pupi A, Castagnoli A, Rosai J. Papillary carcinoma of thyroid. A clinicopathologic study of 241 cases treated at the University of Florence, Italy. *Cancer* 1985; 55:805-828.
- Dobashi Y, Sakamoto A, Sugimura H et al. Overexpression of p53 as possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1993;17:375-381.
- Dobashi Y, Sugimura H, Sakamoto A, Mernyei M, Mori M, Oyama T, Machinami R. Stewise participation of p53 gene mutation during dedifferentiation of human thyroid carcinomas. *Diagn Mol Pathol.* 1994; 3(1):9-14.
- Donghi R, Longoni A, Pilotti S, Michieli P, Della Porta G, Pierotti MA. Gene p53 mutations are restricted to poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid gland. *J Clin Invest.* 1993;91(4):1753-60.
- Evans HJ, Prosser J. Tumor-supressor genes: cardinal factors in inherited predisposition to Human cancers. *Env Health Persp.* 1992;98:25-37.
- Fagin JA, Matsuo K, Karmakar A, Chen DL, Tang SH, Koeffler HP. High prevalence of mutations of the p53 Gene in poorly differentiated human thyroid carcinomas. *J Clin Invest.* 1993; 91(1):179-84.
- Godballe C, Asschenfeldt P, Jorgensen KE, Bastholt L, Clausen PP, Hansen TP, Hansen O, Bentzen SM. Prognostic factors in papillary and follicular thyroid carcinomas: p53 expression is a significant indicator of prognosis. *Laryngoscope.* 1998; 108:243-9.

- Godballe C, Asschenfeldt P, Sorensen JA, Sorensen MW, Jorgensen K. Papillary thyroid carcinoma: correlations between prognosis, age, and clinicopathological and histomorphological findings. *Laryngoscope* 1994; 104:747-51.
- Koch WM, Boyle JO, Mao L, Hakim J, Hruban RH, Sidransky D. p53 gene mutations as markers of tumor spread in synchronous oral cancers. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994;120:943-947.
- Kropveld A, Slootweg PJ, Blankenstein MA, Terhaard CHJ, Hordijk GJ. Ki-67 and p53 in T2 laryngeal cancer. *Laryngoscope* 1998;108:1548-1552.
- Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; 88:323-331.
- Mazzaferri EL. Papillary thyroid carcinoma: factors influencing prognosis and current therapy. *Semin Oncol* 1988; 14:315-32.
- Nakamura T, Yana I, Kobayashi T, Shin E, Karakawa K, Fujita S, Miya A, Mori T, Nishisho I, Takai S. p53 gene mutations associated with anaplastic transformations of human thyroid carcinomas. *Jpn J Cancer Res.* 1992;83(12):1293-8.
- Narimatsu M, Nagayama Y, Akino K, Yasuda M, Yamamoto T, Yang TT, Ohtsuru A, Namba H, Yamashita S, Ayabe H, Niwa M. Therapeutic usefulness of wild-type p53 gene introduction in a p53-null anaplastic thyroid carcinoma cell line. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3668-72.
- Nishida T, Nakao K, Hamaji M, Nakahara MA, Tsujimoto M. Overexpression of p53 protein and DNA content are important biologic prognostic factors for thyroid cancer. *Surgery* 1996;119:568-75.
- Nogueira CP, Dolan RW, Gooley J, Byahatti S, Vaughan CW, Fuleihan NS, Grillone G, Baker E, Domanowski G. Inactivation of p53 and amplification of cyclin D1 correlate with clinical outcome in head and neck cancer. *Laryngoscope* 1998;108:345-350.
- Pan Z, Archer PG, Meyers AD, Franklin WA. Correlation of tumor markers p53, bcl-2, CD34, CD44H, CD44v6, and Ki-67 with survival and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996;627-632.
- Rosai J, Carcangiu ML, Delellis RA. Atlas of tumor pathology. Tumors of thyroid gland. Fascicle 5. Armed Forces Institute of Pathology. Washington. 1992, 343 pages.
- Ruter A, Dreifus J, Jones M, Nishiyama R, Lennquist S. Overexpression of p53 in tall cell variants of papillary thyroid carcinoma. *Surgery* 1996;120:1046-50.
- Sauter ER, Ridge JA, Trock B, Cleveland D, Whitley KV, Mohr RM, Klein-Szanto A. Overexpression of the p53 gene in primary and metastatic head and neck carcinomas. *Laryngoscope* 1995; 108:

- Scheumann GFW, Gimm O, Wegener G, Hundeshagen H, Dralle H. Prognostic significance and surgical management of locoregional lymph node metastasis in papillary thyroid cancer. *World J Surg* 1994; 18:559-568.
- Setzen G, Koltai PJ, Monte D, Pastore J, Jennings TA. p53 protein expression in benign lesions of the upper respiratory tract. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1997; 123:297-300.
- Simon D, Goretzki PE, Gorelev V, Ebling B, Reishaus E, Lyons J, Haubruckl H, Rher HD. Significance of p53 in human thyroid tumors. *World J Surg*. 1994; 535-540, discussion 540-1.
- Simpson WJ, McKinney SE, Carruthers JS, Gospodarowicz MK, Sutcliffe SB, Panzarella T. Papillary and follicular thyroid cancer. prognostic factors in 1,578 patients. *Am J Med* 1987;83:479-488.
- Sobin LH, Ed. Atlas TNM classificação dos tumores malignos. Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer. Rio de Janeiro. 1998- tradução da 5ª edição, 1997. Total de páginas: 235.
- Tubiana M, Schlumberger M, Rougier P, Laplanche A, Benhamou E, Gardet P, Caillou B, Travagli JP, Parmentier C. Long-Term results and prognostic factors in patients with differentiated thyroid carcinoma. *Cancer* 1985; 55:794-804.
- Wang DG, Liu WH, Johnston CF, Sloan JM, Buchanan KD. Bcl-2 and c-Myc, but not bax and p53, are expressed during human medullary thyroid tumorigenesis. *Am J Pathol*. 1998;152:1407-13.
- Wood NB, Kotelnikov V, Caldarelli D, Hutchinson J, Panje WR, Hegde P, Leurgans S, LaFollette S, Taylor SG, Preisler HD, Coon JS. Mutation of p53 in squamous cell cancer of the head and neck: relationship to tumor cell proliferation. *Laryngoscope* 1997;107:827-833.
- Yonish-Rouach E, Grunwald D, Wilder S, Kimchi A, May E, Lawrence JJ, May P, Oren M. p53-Mediated cell death: relationship to cell cycle control. *Mol Cell Biol*. 1993; 13 (3):1415-23.
- Yoshimoto K, Iwahana H, Fukuda A, Sano T, Saito S, Itakura M. Role of p53 Mutations in Endocrine Tumorigenesis: mutation detection by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism. *Cancer Res*. 1992; 52(18):5061-4.
- Zedenius J, Larsson C, Wallin G, Backdahl M, Aspenblad U, Hoog A, Borresen AL, Auer G. Alterations of p53 and expression of WAF1/p21 in human thyroid tumors. *Thyroid* 1996;6:1-9.