

TESTES IMUNOHISTOQUÍMICOS: A PROTEÍNA P53 E SUA FUNÇÃO ONCO-SUPRESSORA

JOÃO AUGUSTO MÜLLER PEREIRA¹; ANNA MÜLLER PEREIRA²; LETÍCIA FISS³

¹Faculdade Anhanguera de Pelotas – joaomuller@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – mulleranna@outlook.com

³Faculdade Anhanguera de Pelotas – tici.fiss@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Desde seu surgimento, os testes que utilizam a reação antígeno-anticorpo para a detecção e caracterização de moléculas no seu local de origem têm sido denominados de Imunohistoquímica (TORLAKOVIC et al., 2010). Este termo é associado a metodologias que usam imunoenaios para co-localizar um epítipo de interesse em cortes de tecido, e também engloba os métodos que recorrem a blocos de células ou de coágulos, preparados a partir de materiais citológicos e hematológicos (HARLOW, 1999).

A imunohistoquímica é o conjunto de metodologias em que se utilizam anticorpos como reagentes específicos capazes de identificar e estabelecer ligação com constituintes tecidulares que funcionam como antígenos (POLAK; VAN NOORDEN 2003). Esta técnica possibilita combinar um marcador com um anticorpo, sem provocar qualquer tipo de dano à ligação específica estabelecida entre anticorpo e antígeno, permitindo situar e identificar a presença de variadas substâncias nas células e tecidos por intermédio da cor que é associada aos complexos antígeno-anticorpo formados (TRUE, 1990).

Pode-se dizer que a Imunohistoquímica se apresenta como um poderoso meio de identificação *in situ* de várias estruturas celulares e tecidulares que podem estar diretamente associadas a patologias, bem como das consequências, a nível funcional e morfológico, da ação desses mesmos elementos (TAYLOR; RUDBECK, 2013).

O crescimento do estudo da biologia molecular como um instrumento importante no estudo do câncer trouxe como um de seus principais elementos a proteína p53, à qual foi atribuído um papel significativo no desenvolvimento da carcinogênese (PINHO, 2000). O objetivo desta revisão de literatura é verificar informações importantes sobre a p53, especialmente sobre sua ação supressora de tumor.

2. METODOLOGIA

Este resumo foi realizado utilizando o método de procedimento de revisão bibliográfica, que consiste em um processo de documentação indireta, tendo como objetivo a obtenção de dados, principalmente através de livros e artigos científicos.

Foram realizadas pesquisas nas bases de dados eletrônicas SciELO, LILACS e PubMed, utilizando as palavras chaves "testes imunohistoquímicos", "P53", "proteína P53", "marcadores de testes imunohistoquímicos", "immunohistochemistry" e "immunohistochemical methods". Foi realizada uma exclusão prévia dos artigos pelo título e selecionado 16 obras para serem utilizadas neste estudo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A p53, uma proteína relacionada ao bloqueio do ciclo celular em caso de dano ao DNA, tornou-se um foco de pesquisas e a sua bioquímica, suas funções biológicas e sua relevância para o câncer, têm proporcionado uma série de conhecimentos para a oncologia. Em 1982 foi feita a primeira descrição dos anticorpos contra a proteína p53 humana. Inicialmente o método de detecção utilizado era imunoprecipitação, mais tarde passou a ser realizado por ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) (CRAWFORD et al., 1982).

Esta proteína tem funções onco-supressoras predominantes na atividade celular, ou seja, possui a capacidade de inibir a transformação de células e é expresso quando o DNA sofre uma injúria. Ainda, a alteração do seu gene pode condicionar a sua estrutura e, conseqüente, o seu funcionamento. A proteína p53 age parando o ciclo e tentando reparar o dano. Se o reparo não é possível, ela induz a apoptose, que é a morte celular programada. A mutação deste gene além de não parar o ciclo, perpetuando o defeito, estimula o oncogene *ras* (DUPRAT, 1999).

A proteína normal é denominada wild-type, enquanto a mutada é denominada mutant-type. Apesar dos anticorpos utilizados para a sua detecção não discriminarem entre os dois tipos de proteína. Sabe-se que a proteína p53 natural tem meia vida curta (20 min), não sendo detectada pelos métodos de imunohistoquímica. Somente a mutant-type possui uma sobrevivência de 24h em ambiente celular, o que lhe permite atingir quantidades detectáveis pela técnica (SOUSSI, 2003; DUPRAT et al., 1999).

A imunohistoquímica tem sido utilizada na detecção da proteína p53mutante em diversos tipos de neoplasias. O anticorpo anti p53 reconhece antígenos que são expressos pelas células neoplásicas, permitindo conhecer melhor a biologia do câncer e obter informações como imunorreatividade de receptores de membrana e características proliferativas do tumor (DE NARDI, 2007).

Na literatura, há diversas citações relacionando o aparecimento da p53 com diferentes tipos de câncer. Os estudos mostram alta expressão da p53 associado a comportamentos biológicos mais agressivos, ou seja, tumores malignos.

LIMA et al., (2006), em um estudo que verificou o desenvolvimento do câncer colorretal (CRC), observaram uma sequência de eventos que contribuem para o aparecimento desta doença, onde o epitélio passa por transformações invasivas, correlacionadas com a progressão da neoplasia. As vias específicas para o seu desenvolvimento resultam em mutação e diferenciação de genes que regulam o crescimento celular. Estas alterações genéticas levam à inativação de genes supressores de tumor, como o TP53. A p53 mutante transforma a divisão celular em um processo descontrolado e induz a formação do CRC.

MENEZES et al. (2010) avaliaram a expressão imunohistoquímica da proteína p53 em 82 casos de CRC, correlacionando-a com fatores prognósticos. A expressão de p53 foi positiva em 70 tumores (85,4%) e negativa em 12 (14,6%), sendo positiva em 84,6% dos tumores de baixo grau e 100% positiva entre os tumores de alto grau.

Para identificação dos fatores de risco para o desenvolvimento de lesões mais agressivas de carcinoma basocelular (CBC), com maior potencial de recidiva e metástases, CORREA et al. (2009) avaliaram a expressão de p53 em 15 casos de CBC com diagnóstico histopatológico confirmado, comparando com amostras de indivíduos normais do grupo controle. Nenhum dos pacientes do grupo controle apresentou expressão desse marcador e, de acordo com os resultados

encontrados neste estudo, a expressão da p53 pode indicar uma tendência à gravidade do carcinoma basocelular.

Além de servir como marcador para o prognóstico de câncer, a proteína p53 é considerada como uma oportunidade de opção para terapias seletivas contra o câncer, proporcionando um direcionamento para as células neoplásicas e poupando o tecido normal não afetado pelo câncer. Em linhagens celulares e em modelos experimentais utilizando animais, é possível estabelecer que a reconstituição da atividade de p53 pode levar à morte de células tumorais e a regressão de tumores já estabelecidos. Estes resultados têm estimulado a ideia de desenvolver meios para restaurar a função da p53 selvagem nas células neoplásicas, fazendo uma ativação excessiva (OREN, 2003; FOSTER et al., 1999; ANDREOTTI et al., 2011).

4. CONCLUSÕES

Os testes imunohistoquímicos são importantes para disponibilizar dados mais precisos a respeito do melhor tratamento e provável evolução dos cânceres, além de auxiliar em diagnósticos de tumores indiferenciados, como carcinomas, linfomas, melanomas ou sarcomas (SHEFFIELD, 2016).

Levando em consideração todas as informações recolhidas sobre a proteína p53, é visível que o estudo sobre ela é de extrema importância, devendo manter-se sempre atualizado sobre as novas descobertas, para que se possa interpretar os resultados da sua expressão nos diferentes tipos de câncer. Sua avaliação pode ser útil na identificação precoce do câncer, em indivíduos com exposição a agentes cancerígenos, em situações clínicas onde as lesões não malignas podem ser detectadas antes da progressão para o câncer e para determinar o prognóstico de neoplasias já existentes.

Além disso, o seu potencial como uso terapêutico deve ser melhor explorado, pois de acordo com os resultados desse estudo, restaurar a função da p53 wild-type pode ser uma esperança na busca de terapias seletivas contra o câncer.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREOTTI, V.; CIRIBILLI, Y.; MONTI, P.; BISIO, A.; LION, M.; JORDAN, J.; FRONZA, G.; MENICHINI, P.; RESNICK, M. A.; INGA, A. p53 transactivation and the impact of mutations, cofactors and small molecules using a simplified yeastbased screening system. **PLoS One**, São Francisco, v. 6, n. 6, p. e20643, 2011.

CORREA, M.; FERREIRA, A.; GOLLNER, A.; RODRIGUES, M.; GUERRA, M. Expressão de marcadores de proliferação celular e apoptose em carcinoma basocelular. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 84, n. p. 606-614, 2009.

CRAWFORD, L. V.; PIM, D. C.; BULBROOK, R. D. Detection of antibodies against the cellular protein p53 in sera from patients with breast cancer. **Internacional Journal of Cancer**, Heidelberg, v. 30, n. 4, p. 403-408, 1982.

DE NARDI, A. **Correlação da Ciclooxygenase-2 com Ki-67, p53 e caspase-3 nas neoplasias de mama em cadelas**. 2007. 110 f. Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) - Universidade de São Paulo, Jaboticabal.

DUPRAT, J ; BEVILACQUA, R. G. ; NEVES, Rogério Izar ; MELLOTTI, C. ; REZZE, G. G. . Expressão imunoistoquímica do p53 no melanoma estágio iii: diferença entre melanoma acral e não acral. In: 54 congresso brasileiro de dermatologia, 1999, Belo Horizonte. **Anais do congresso**, 1999.

FOSTER, B. A.; COFFEY, H. A.; MORIN, M. J.; RASTINEJAD, F. Pharmacological rescue of mutant p53 conformation and function. **Science**, New York, v. 286, n. 5449, p. 2507-2510, 1999.

HARLOW, Edward; LANE, David. Using Antibodies: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, N.Y: **Cold Spring Harbor Laboratory Press**; 1999.

LIMA, J. M.; SERAFIM, P. V.; SILVA, I. D.; FORONES, N. M. Role of the genetic polymorphism of p53 (codon 72) gene in colorectal cancer. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 8-13, 2006.

MENEZES, H. L.; JUCÁ, M. J.; GOMES, E. G.; NUNES, B. L.; COSTA, H. O.; MATOS, D. Analysis of the immunohistochemical expressions of p53, bcl-2 and Ki-67 in colorectal adenocarcinoma and their correlations with the prognostic factors. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 47, n. 2, p. 141-147, 2010.

OREN, M. Decision making by p53: life, death and cancer. **Cell Death and Differentiation**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 431-442, 2003.

PINHO-TSBCP, MAURO DE SOUZA LEITE. Proteína p53: algum valor clínico ou apenas pesquisa? Uma revisão da literatura. **Rev bras. Coloproct**, v. 20, n. 4, 2000.

POLAK, Julia Margaret; VAN NOORDEN, Susan. **Introduction to Immunocytochemistry**. Oxford: BIOS Scientific Publishers; 2003.

SHEFFIELD, Brandon S.; Immunohistochemistry as a Practical Tool in Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2016; 140(8): 766–769.

SOUSSI, T. Focus on the p53 gene and cancer: Advances in TP53 mutation research. **Hum. Mutat**. 2003;21(3):173-175.

TAYLOR, Clive R.; RUDBECK, Lars. **Immunohistochemical Staining Methods - Education Guide**. 6a edição. Dako; 2013.

TORLAKOVIC, Emina; RIDDELL, Robert; BANERJEE, Diponkar; et al. Canadian Association of Pathologists. Best Practice Recommendations for Standardization of Immunohistochemistry Tests. **Am. J. Clin. Pathol**. 2010;133(3):354-365.

TRUE, Lawrence D. Atlas of Diagnostic Immunohistopathology. Philadelphia; New York: Lippincott ; **Gower Medical Pub.**; 1990