

PROTEÍNA P53: ALGUM VALOR CLÍNICO OU APENAS PESQUISA? UMA REVISÃO DA LITERATURA

MAURO DE SOUZA LEITE PINHO - TSBCP

O recente crescimento do estudo da biologia molecular como um instrumento importante no estudo do câncer colorretal trouxe como um de seus principais elementos a proteína p53, à qual foi atribuído um papel significativo no desenvolvimento da carcinogênese. Desde então, uma vasta literatura tem sido criada visando definir melhor seu valor potencial de aplicabilidade clínica. O objetivo da presente seção será tentar apresentar uma breve análise do estado atual dos conhecimentos sobre o papel da proteína p53 no câncer colorretal. Antes de passarmos a esta análise, entretanto, apresentaremos abaixo uma revisão sobre alguns conceitos emitidos aos longo das seções anteriores sobre a proteína p53:

- Trata-se de uma proteína codificada por um gene situado no cromossomo de número 17, o qual leva o mesmo nome (gene p53), em consequência de seu peso molecular de 53 Kda (quiloDalton);

- Sua principal função está relacionada à preservação da integridade do código genético em cada célula, ou seja, a manutenção da mesma sequência de nucleotídeos ao longo de toda a molécula de DNA igualmente presente em cada célula do nosso corpo;

- Durante o ciclo de divisão celular, a proteína p53 faz uma verificação quanto à eventual ocorrência de uma mutação na sequência do código genético em consequência de uma duplicação defeituosa do DNA (erro de replicação). Caso seja verificada a existência de uma mutação, é função da proteína p53, através do desdobramento de uma cascata de reações, impedir que esta célula entre em processo de mitose e complete a divisão celular. Para isto, dois caminhos poderão ser seguidos: a correção da mutação através da ativação de proteínas de reparo ou a indução da morte celular através da apoptose;

- Apoptose é o processo de morte celular sem reação inflamatória, diferentemente da necrose celular. A apoptose consiste de uma série de eventos intracelulares os quais ocorrem através de uma sequência padrão e idêntica mes-

mo quando desencadeada por fatores bastante distintos como a lesão do DNA e a sepsis, por exemplo.

- Por exercer esta função de detecção de alterações no DNA e consequente correção ou morte celular, a proteína p53 é considerada como uma guardiã do genoma, e é um importante elemento na prevenção do desenvolvimento de tumores, sendo seu gene codificador classificado como gene supressor de tumor.

- A relação entre a proteína p53 e a carcinogênese tem sido amplamente comprovada através do elevado índice de mutações de seu gene em tumores malignos de diferentes tecidos do organismo. Além disto, tem sido estudado seu possível papel como elemento potencializador dos efeitos da terapia adjuvante através de quimioterapia e radioterapia.

- Numerosos estudos têm sido realizados com o objetivo de analisar seu potencial para utilização clínica, em especial como elemento de valor prognóstico.

- A análise laboratorial da proteína p53 pode ser realizada principalmente através de três métodos distintos:

- a. Análise da sequência do gene p53 através da reação em cadeia da polimerase (PCR);
- b. Observação direta da proteína através de imunohistoquímica;
- c. Detecção sorológica de anticorpos circulantes anti-proteína p53 alterada;

- Os efeitos das mutações da proteína sobre o processo de carcinogênese serão diferentes de acordo com a parte do gene comprometida em cada caso.

Nesta seção faremos a análise de um “corte” atual da literatura incluindo dezoito trabalhos publicados sobre este tema ao longo dos últimos dois anos. Estes estudos foram realizados de forma a analisar diversos aspectos, contribuindo para responder às seguintes questões:

1. É viável a realização de estudos sobre a proteína p53 na prática clínica?

Sim. Entre os estudos aqui analisados apenas dois (11%) recorreram à técnica de avaliação do gene p53 através da reação em cadeia da polimerase (PCR), a qual é mais cara, demorada e de difícil aplicabilidade em larga escala. Todos os outros dezesseis trabalhos foram realizados através da análise direta da proteína p53 pela técnica de imunohistoquímica, disponível em grande parte dos laboratórios de anatomia patológica de bom padrão.

2. Há necessidade de preparo especial do material a ser analisado ?

Não. A pesquisa de mutações da proteína p53 através da imunohistoquímica pode ser feita através de biópsias ou espécimes cirúrgicos processados e incluídos em blocos de parafina de forma convencional para o estudo histopatológico. Isto nos permite ainda a realização de estudos retrospectivos com facilidade.

3. A proteína p53 está sempre mutada no câncer colorretal?

Não. A incidência de mutações detectadas na proteína p53 no câncer colorretal situa-se entre 40 e 70% dos casos. Sendo esta apenas um elemento dentro da cascata supressora de tumor, outros componentes estão sendo identificados com resultados semelhantes, como as proteínas p21, Bcl-2, entre outras. É possível que a avaliação da coexistência destas mutações venha a determinar uma melhor forma de avaliação biomolecular dos tumores colorretais.

4. A detecção de proteína p53 alterada em um câncer colorretal representa um indicador de piores resultados quanto a níveis de cura e sobrevida?

Sim. Nove dentre os trabalhos aqui analisados buscaram confrontar o prognóstico dos pacientes portadores de câncer colorretal com a presença ou não de mutações da proteína p53 pesquisada diretamente no tecido tumoral (n=7), através da detecção de anticorpos séricos (n=1) ou em linfonodos (n=1). Dentre estes, apenas dois estudos falharam em confirmar um valor prognóstico à mutação da proteína p53. Nos outros sete trabalhos foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre a sobrevida dos pacientes operados por câncer colorretal contendo ou não proteína p53 alterada. Kahlenberg e cols, por exemplo, encontraram uma sobrevida de quatro anos de 71% em tumores com a proteína p53 normal comparada com 54% para os casos com proteína p53 mutante, enquanto Wang e cols relataram sobrevidas de 5 anos de 87% e 50%, respectivamente.

5. Existe alguma relação entre a presença de proteína p53 mutante e a resposta à terapia adjuvante?

Sim. Este é um aspecto muito importante, pois existem fortes evidências de que a ação supressora de tumor da proteína p53 é essencial para uma boa resposta à terapia adjuvante, induzindo à apoptose células lesadas pela quimioterapia e radioterapia. Neste grupo de trabalhos analisados, por exemplo, Adell e cols observaram que tumores retais contendo proteína p53 mutada apresentaram um maior índice de recidivas locais após radioterapia pré-operatória. Takeda e cols demonstraram que a detecção de anticorpos séricos anti-proteína p53 mutante em pacientes portadores de câncer colorretal está relacionada a uma menor resposta tumoral à quimioterapia, podendo servir como elemento importante para a escolha da terapêutica a ser instituída. Paradiso e cols relataram também um valor preditivo de resposta à quimioterapia através da pesquisa de proteína p53 mutante diretamente do tecido tumoral, porém associada à análise da timidilato sintetase.

6. As alterações da proteína p53 podem também ser observadas em adenomas?

Sim. Em um estudo bastante interessante, Triantafyllou e cols demonstram que a presença de proteína p53 mutante em polipos ressecados por colonoscopia está relacionada a um significativo aumento na incidência de pólipos metacrônicos e recorrentes.

7. A presença de proteína p53 mutante está relacionada ao prognóstico após ressecção de metástases hepáticas de tumores colorretais?

Aparentemente não. Heisterkamp e cols analisaram espécimes de 45 ressecções hepáticas por metástases colorretais quanto à presença de proteína p53 mutante e não observaram diferença significativa quanto ao prognóstico dos pacientes dos grupos positivo ou negativo para esta mutação.

8. A pesquisa de proteína p53 mutante já está aceita como elemento a ser utilizado na rotina clínica no tratamento do câncer colorretal?

Ainda não. Embora o grande número de evidências sugira que este exame venha a ser em breve utilizado na prática clínica, não existe ainda um consenso sobre uma metodologia padrão a ser aplicada como procedimento de rotina na avaliação do câncer colorretal. Há necessidade de uma melhor definição quanto aos métodos de imunohistoquímica ou na pesquisa de anticorpos séricos. Outro importante aspecto a ser analisado é a variabilidade dos efeitos da mutação da proteína p53 de acordo com o segmento comprometido no gene.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Khan ZA, Jonas SK, Le-Marer N, Patel H, Wharton RQ, Tarragona A, Ivison A, Allen-Mersh TG. P53 mutations in primary and metastatic tumors and circulating tumor cells from colorectal carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2000 Sep;6(9):3499-504
- (2) Gallego MG, Acenero MJ, Ortega S, Delgado AA, Cantero JL. Prognostic influence of p53 nuclear overexpression in colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 2000 Jul;43(7):971-5
- (3) Bouzourene H, Gervaz P, Cerottini JP, Benhattar J, Chaubert P, Saraga E, Pampallona S, Bosman FF, Givel JC. p53 and Ki-ras as prognostic factors for Dukes' stage B colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2000 May;36(8):1008-15
- (4) Kahlenberg MS, Stoler DL, Rodriguez-Bigas MA, Weber TK, Driscoll DL, Anderson GR, Petrelli NJ. p53 tumor suppressor gene mutations predict decreased survival of patients with sporadic colorectal carcinoma. *Cancer* 2000 Apr 15;88(8):1814-9
- (5) Triantafyllou K, Paspatis GA, Zizi A, Papatheodoridis GV, Tzouvala M, Chlouverakis GJ, Elemenoglou I, Karamanolis DG. p53 protein accumulation and colonic adenoma recurrence. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999 May;11(5):547-52
- (6) Logullo AF, de Moura RP, Nonogaki S, Kowalski LP, Nagai MA, Simpson AJ. A proposal for the integration of immunohistochemical staining and DNA-based techniques for the determination of TP53 mutations in human carcinomas. *Diagn Mol Pathol* 2000 Mar;9(1):35-40
- (7) Schwandner O, Schiedeck TH, Bruch HP, Duchrow M, Windhoevel U, Broll R. p53 and Bcl-2 as significant predictors of recurrence and survival in rectal cancer. *Eur J Cancer* 2000 Feb;36(3):348-56
- (8) Shiota G, Ishida M, Noguchi N, Oyama K, Takano Y, Okubo M, Katayama S, Tomie Y, et al. Circulating p53 antibody in patients with colorectal cancer: relation to clinicopathologic features and survival. *Dig Dis Sci* 2000 Jan;45(1):122-8
- (9) Wang Q, Zhao P, Hu Y, Yang G. Prognostic significance of P53 protein expression in patients with colorectal adenocarcinoma. *Hua Hsi I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao* 1998 Jun;29(2): 182-4
- (10) Paradiso A, Simone G, Petroni S, Leone B, Vallejo C, Lacava J, et al. Thymidilate synthase and p53 primary tumour expression as predictive factors for advanced colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2000 Feb;82(3):560-7
- (11) Clarke G, Ryan E, Crowe J, O'Keane JC, MacMathuna P. Immunohistochemical detection of mutant p53 protein in regional lymph nodes is associated with adverse outcome in stage II colorectal cancer. *Eur J Histochem* 1999;43(4):311-6
- (12) Elsaleh H, Powell B, Soontrapomchai P, Joseph D, Gorla F, Spry N, Iacopetta B. p53 gene mutation, microsatellite instability and adjuvant chemotherapy: impact on survival of 388 patients with Dukes' C colon carcinoma. *Oncology* 2000;58(1):52-9
- (13) Zhang Hong. Evaluation of four antibodies in detecting p53 protein for predicting clinicopathological and prognostic significance in colorectal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 1999 Dec;5(12):4126-32
- (14) Heisterkamp J, van Bommel J, Hop WC, Tilanus HW, Zondervan PE, Uzermans JN. P53 overexpression in colorectal metastases confined to the liver and outcome of liver resection. *Hepatogastroenterology* 1999 Nov-Dec;46(30):3109-14
- (15) Elsaleh H, Soontrapomchai P, Grieu F, Joseph D, Iacopetta B. P53 alterations have no prognostic or predictive significance in Dukes' C rectal carcinomas. *Int J Oncol* 1999 Dec; 15(6): 1239-43
- (16) Adrover E, Maestro ML, Sanz-Casla MT, del Barco V, Cerdan J, Fernandez C, Balibrea JL. Expression of high p53 levels in colorectal cancer: a favourable prognostic factor. *Br J Cancer* 1999 Sep;81(1):122-6
- (17) Adell G, Sun XF, Stal O, Klintonberg C, Sjobahl R, Nordenskjold B. p53 status: an indicator for the effect of preoperative radiotherapy of rectal cancer. *Radiother Oncol* 1999 May;51(2):169-74
- (18) He Q, Ohaki Y, Tanaka N, Asano G. The relationship between p53 protein and c-erb B-2 expression and apoptosis in colorectal cancer. *Nippon Ika Daigaku Zasshi* 1999 Jun;66(3): 181-7
- (19) Takeda A, Nakajima K, Shimada H, Imaseki H, Takayama W, Hayashi H, Suzuki T, Ochiai T, Isono K. Clinical significance of serum p53 antibody detection on chemosensitivity assay in human colorectal cancer. *J Surg Oncol.* 1999 Jun;71(2):112-6