

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL

MARIÂNGELA OTTOBONI BRUNALDI

O estudo do NF- κ B e da Survivina na progressão do
Câncer Colorretal

RIBEIRÃO PRETO

2013

MARIÂNGELA OTTOBONI BRUNALDI

Versão corrigida. Original disponível na secretaria do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- USP.

O estudo do NF- κ B e da Survivina na progressão do Câncer Colorretal

Tese apresentada ao Departamento de Patologia e Medicina Legal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção de Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Patologia

Opção: Patologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Ribeiro-Silva

RIBEIRÃO PRETO

2013

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO OU PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na Publicação

Serviço de Documentação

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Brunaldi, Mariângela Ottoboni.

O estudo do NF- κ B e da Survivina na progressão do Câncer Colorretal. Ribeirão Preto, 2013.

166 f: 61 fig.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de Concentração: Patologia.

Orientador: Ribeiro-Silva, Alfredo.

1. Câncer Colorretal, 2. NF- κ B, 3. Survivina, 4. Carcinogênese Colorretal.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Mariângela Ottoboni Brunaldi

O estudo do NF- κ B e da Survivina na progressão do Câncer Colorretal.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para
a obtenção de título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Patologia

Aprovado em: ____ / ____ / _____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu grande companheiro José Eduardo, pelo apoio constante, generosidade e compreensão.

Aos meus filhos Vítor e Eduardo, razão da minha vida.

Aos meus pais, Dionísio e Sidney, pelo incentivo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Sérgio Zucoloto, “*in memoriam*”, meu grande mestre, minha gratidão pelo apoio constante, generosidade, bondade e minhas saudades.

Ao Prof. Dr. Alfredo Ribeiro-Silva, meu orientador, pelo apoio constante, pelo acolhimento e incentivo.

Ao Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia pelas valiosas contribuições para esse trabalho.

À Prof^a. Dra. Leandra Naíra Zambelli Ramalho pelo suporte na área técnico-científica nesta longa trajetória de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Edson Garcia Soares por ter nos disponibilizado o arquivo do Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da FMRP-USP para efetuarmos nossa pesquisa.

As minhas amigas Margarida M. R. Moraes e Maria Heloisa R. Palermo, pelo carinho e apoio.

Aos meus amigos e parceiros de Laboratório: João Felipe Rito Cardoso, Juliana Zanetti, João Paulo Oliveira da Costa, Giórgia Gobbi da Silveira, Verônica Assalin Zogeto, Célia Cohen por tornarem agradável nosso ambiente de trabalho.

Aos parceiros da Pós Graduação, Danilo Soave pelo apoio na elaboração e arte final de figuras; Jean Gonzales de Menezes pela ajuda valiosa na escolha da população de estudo; Vinicius Kannen e Tassiana Marini, parceiros na elaboração do estudo da survivina.

As técnicas de laboratórios, Laura Midori Kawasse, Márcia A. Ferreira Oliva, Deisy Mara da Silva, Rosangela Orlandin Lopes, Maria Helena Riul e Auristela de Mello Martins Solano pela dedicação, esmero, profissionalismo e amizade.

As secretárias, Neide Terezinha Gonçalves do Departamento de Patologia, Camila de Luca Zambonini da Pós Graduação e Rosângela Mazzucato C. de Paiva da Graduação, Felipe Denipotte Coelho, técnico da Informática e Antônio de Pádua Martins, técnico de laboratório, pela disponibilidade, carinho e paciência.

Aos oficiais administrativos responsáveis pelo Arquivo do Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da FMRPUSP, César Alberto Brigato Júnior e Décio Antonio Barrionovo Filho, atenciosos e prestativos.

As oficiais administrativas do Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da FMRPUSP, Renata Paola Ferraz, Regina Célia Laporti, Rose de Fátima Rehder, Ana Maria M. P. dos Santos e Márcia Correia pela presteza ao nos atender.

À CAPES pelo apoio científico e financeiro.

“A inteligência não é formada somente pelo conhecimento, mas também, e sobretudo, pela habilidade de aplicar os conhecimentos na prática.”

Aristóteles

RESUMO

BRUNALDI, M.O. **O estudo do NF- κ B e da Survivina na progressão do Câncer Colorretal.** 2013. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

O câncer colorretal (CCR) é importante causa de morte no Brasil, representando a segunda causa de morbimortalidade por câncer nas regiões Sudeste e Sul. Foi uma das primeiras neoplasias malignas a ter modelo de carcinogênese identificado. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a expressão do NF- κ B e da survivina na progressão do CCR, sua relação com alvos moleculares envolvidos na sobrevivência celular [proibitina, fator de necrose tumoral (TNFR1), p53, β catenina]; invasão (metaloproteinasas 2 e 9 - MMP), angiogênese (fator de crescimento endotelial vascular VEGF) e apoptose (caspase 3 e método do Túnel). Trata-se de estudo retrospectivo baseado na análise histopatológica de dezoito casos de adenomas com displasia de alto (AG) e baixo grau (BG), respectivamente; dez casos de adenocarcinoma bem, moderado e pouco diferenciado, respectivamente, nove casos de lesões serrilhadas e nove biópsias colorretais (controle) selecionados aleatoriamente no Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, no período de 2000 a 2009. Foram construídos arranjos de matriz tecidual para representar os casos de adenocarcinomas e cinco casos de adenomas >1 cm de diâmetro. A detecção do NF- κ B foi realizada pelo método de Southwestern imunistoquímica. Avaliou-se a expressão imunistoquímica da survivina, proibitina, TNFR1, p53, β catenina, MMPs 2 e 9, VEGF, caspase 3 e Túnel. Não observamos expressão imunistoquímica do NF- κ B em 70% dos casos de adenocarcinomas, em 72% dos adenomas AG e em 89% das lesões serrilhadas; a marcação foi positiva em 66% e 56% dos casos de adenoma do BG e controle, respectivamente. Expressões da survivina, proibitina citoplasmática, TNFR1, p53, MMP 2 e 9 foram crescentes na seqüência adenoma-carcinoma, sem aparente modulação pelo NF- κ B. A survivina suprimiu ação da caspase 3, exceto nos adenomas BG e controle, com baixos níveis de apoptose ao túnel. Lesões serrilhadas e controle apresentaram baixa expressão do TNFR1 e da proibitina citoplasmática, ausência de marcação da p53 e MMPs 2 e 9, exceto um caso controle. Identificou-se marcação nuclear da proibitina nos adenocarcinomas pouco diferenciados, adenomas AG e BG. A expressão da p53 relacionou-se ao grau de displasia nos adenomas e à desregulação da survivina. Observou-se expressão citoplasmática e nuclear da β catenina nos adenocarcinomas, adenomas AG e BG. As lesões serrilhadas exibiram expressão citoplasmática em 44% dos casos. O grupo controle exibiu expressão preservada da β catenina. Identificou-se expressão do VEGF nos adenocarcinomas, relacionada à perda de diferenciação celular, presença de metástases, não correlacionada ao NF- κ B. Com base nos nossos resultados, sugerimos a desregulação da β catenina como possível responsável pela inibição do NF- κ B; além de sua participação na desregulação da survivina juntamente com a p53. As lesões serrilhadas não exibiram indícios sugestivos de inibição do NF- κ B pela β catenina. A survivina, devido propriedades anti-apoptóticas, emerge como potencial alvo terapêutico no tratamento do CCR, confirmando estudos anteriores.

Palavras chave: Câncer Colorretal, NF- κ B, Survivina, Carcinogênese Colorretal.

ABSTRACT

BRUNALDI, M.O. **The study of NF- κ B and survivin in the progression of colorectal cancer.**2013. [Thesis]. Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

Colorectal cancer (CRC) is an important cause of death in Brazil, representing the second leading cause of cancer mortality in the Southeast and South. It was among the first malignancies that have the carcinogenesis model identified. The aim of this study was to evaluate the expression of NF- κ B and survivin in the progression of CRC, its relationship with molecular targets involved in cell survival [prohibitin, tumor necrosis factor (TNFR1), p53, β catenina], invasion (metalloproteinases 2 and 9 - MMP), angiogenesis (vascular endothelial growth factor VEGF) and apoptosis (caspase 3 and method Tunnel). This is a retrospective study based on the histopathological analyses of eighteen cases of high- (HG) and low- grade dysplastic (LG) adenomas, respectively; ten cases of adenocarcinoma well, moderately and poorly differentiated, respectively, nine cases of serrated lesions e nine biopsies (control); randomly selected in the Pathology Service of the University Hospital of the Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo from 2000 to 2009. Tissue microarray were constructed to represent the cases of adenocarcinomas and five cases of adenomas > 1cm in diameter. Detection of NF- κ B was performed by the Southwestern immunohistochemistry method. We evaluated immunohistochemical expression of survivin, prohibitin, TNFR1, p53, β catenin, MMPs 2 and 9, VEGF, caspase 3 and method Tunnel. We did not observe immunohistochemical expression of NF- κ B in 70% of cases of adenocarcinomas, in 72% of HG adenomas and 89% of lesions serrated; staining was positive in 66% and 56% of cases of LG adenoma and control, respectively. Expressions of survivin, cytoplasmic prohibitin, TNFR1, p53, MMPs 2 and 9 were increasing in adenoma-carcinoma sequence, without apparent modulation by NF- κ B. Survivin suppressed action of caspase 3, except in BG adenomas and control, with low levels of apoptosis to the tunnel. Serrated lesions and control showed low expression of TNFR1 and cytoplasmic prohibitin, the absence of staining of p53 and MMPs2 and 9, except for one control. We identified nuclear staining of prohibitin in poorly differentiated adenocarcinomas, HG and LG adenomas. Expression of p53 was related to the grade of dysplasia in adenomas and deregulation of survivin. The expression of the cytoplasmic and nuclear β catenin was observed in adenocarcinoma, HG and LG adenoma. Serrated lesions exhibited cytoplasmic expression in 44% of cases. Control group exhibited preserved expression of β catenin. It was identified VEGF expression in adenocarcinomas, related to the loss of cellular differentiation, metastasis, not correlated with NF- κ B. According to our results, we suggest that deregulation of β catenin is possible responsible for the inhibition of NF- κ B besides their participation in the deregulation of survivin with p53. Serrated lesions exhibited no evidence suggestive of inhibition of NF- κ B by β catenin. Survivin emerges as a potential therapeutic target in the treatment of CRC due to their anti-apoptotic properties, confirming previous studies.

Key Words: Colorectal Cancer, NF- κ B, Survivin, Colorectal Carcinogenesis.

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

