



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR
E MOLECULAR

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE *TP53* EM AMOSTRAS DE
PACIENTES COM CÂNCER COLORRETAL E SUA CORRELAÇÃO
COM FATORES PROGNÓSTICOS

ALÉCIA COURA TOMAZ

JOÃO PESSOA-PB

2023

ALÉCIA COURA TOMAZ

**AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DO GENE *TP53* EM AMOSTRAS
DE PACIENTES COM CÂNCER COLORRETAL E SUA
CORRELAÇÃO COM FATORES PROGNÓSTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Celular e Molecular.

Orientadora:

Profa. Dra. Glaucia Veríssimo Faheina Martins

JOÃO PESSOA

2023

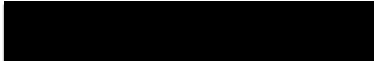


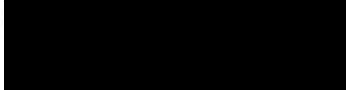
Ata da Sessão Pública da Defesa de Dissertação de Mestrado
da discente **Alecia Coura Tomaz**, candidata ao Título de
Mestre em Biologia Celular e Molecular - Área de
Concentração em Biologia Celular e Molecular.

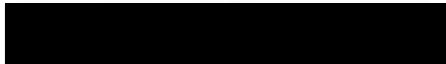
1 Aos trinta e um dias do mês de março de dois mil e vinte e três, às nove horas, reuniram-se,
2 no ambiente virtual, os membros da Banca Examinadora, composta pelos Professores
3 Doutores: Glaucia Veríssimo Faheina Martins (Orientador / Presidente), Ana Pavla Almeida
4 Diniz Gurgel (Examinador interno) e Renata dos Santos Almeida (Examinador externo)
5 constituída para examinar a candidata **Alecia Coura Tomaz** ao grau de Mestre em Biologia
6 Celular e Molecular, área de concentração em Biologia Celular e Molecular. Iniciando a
7 sessão, na qualidade de Presidente, a Professora Doutora Glaucia Veríssimo Faheina Martins
8 comunicou aos presentes a finalidade da reunião. A seguir, concedeu a palavra para que a
9 candidata fizesse, oralmente, a exposição do trabalho intitulado "*AValiação DA*
10 *EXPRESSÃO DO GENE TP53 EM AMOSTRAS DE PACIENTES COM CâNCER*
11 *COLORRETAL E SUA CORRELAÇÃO COM FATORES PROGNÓSTICOS*". Concluída a
12 exposição, a candidata foi arguida pela Banca Examinadora, que avaliou, julgou e proferiu o
13 seguinte parecer: "**aprovada**". Ao final da sessão, a orientadora preencheu a Ficha de
14 Avaliação e emitiu o Relatório Final, para serem encaminhados ao Colegiado deste Programa
15 para homologação. E, para constar, eu, Maria do Socorro de Oliveira Souza, Assistente em
16 Administração, lavrei a presente ata, que assino junto com os membros da Banca
17 Examinadora.


Glaucia Veríssimo Faheina Martins
Orientador / Presidente

-
Coorientador


Ana Pavla Almeida Diniz Gurgel
Examinador Interno


Renata dos Santos Almeida
Examinador Externo


Alecia Coura Tomaz
Discente


Maria do Socorro de Oliveira Souza
Assistente em Administração

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

T655a Tomaz, Alécia Coura.

Avaliação da expressão do gene TP53 em amostras de pacientes com câncer colorretal e sua correlação com fatores prognósticos / Alécia Coura Tomaz. - João Pessoa, 2023.

74 f. : il.

Orientação: Glaucia Verissimo Faheina Martins.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Câncer - Colorretal. 2. Biomarcadores. 3. P53. 4. Expressão gênica. 5. Imunohistoquímica. I. Martins, Glaucia Verissimo Faheina. II. Título.

UFPB/BC

CDU 616-006.6(043)

AGRADECIMENTOS

“Porque dele e por ele, e para ele, são todas as coisas; glória, pois, a ele eternamente. Amém”.

Romanos 11:36

Primeiramente a Deus por me conceder o dom da vida e por ser sempre minha maior inspiração e fortaleza, nunca me deixando desanimar e renovando minhas forças a cada dia para conquistar os propósitos dEle em minha vida.

A minha família, meu pai Antônio Tomaz Neto e minha mãe Lucineide Rodrigues Coura Tomaz. Meus maiores incentivadores, que muitas das vezes não entendia minhas escolhas, mas sempre me apoiava. Falar deles se torna meu ponto fraco, pois sempre dedicaram sua vida a mim e minha irmãs Aline e Alany. Muitas das vezes que pensei em desistir, eu lembrava de todos os ensinamentos, e com isso me incentivava a buscar esse título por eles. E isso é pra eles.

De forma bem especial, a minha orientadora Profa. Dra. Glaucia Veríssimo Faheina Martins, por todo apoio, paciência e dedicação para a realização do nosso trabalho, mesmo sabendo de todas as minhas limitações e dificuldades, sempre buscou me incentivar. Tenho a senhora como grande exemplo de profissional que tomo para a minha vida!

A todos os participantes da pesquisa, bem como aos funcionários do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW), em especial ao Dr. Alexandre, e as suas funcionárias: Denise e Gilvaneide, por terem me ajudado no recrutamento dos pacientes e por todas as demais contribuições valiosas ao meu trabalho. Agradeço também aos funcionários do Hospital Napoleão Laureano em nome do Dr. Péricles, por toda paciente e palavras de incentivos, a toda sua equipe do bloco cirúrgico que aceitaram a contribuir em nosso estudo, a Assistente Social, Mariana Mendes juntamente com sua equipe do NIR, onde auxiliaram nas pesquisas dos pacientes, por todas as contribuições relevantes ao meu trabalho.

À toda equipe do Centro Profissional e Tecnológico Escola Técnica de Saúde, pelo uso do Laboratório de Vigilância Molecular Aplicada (LAVIMAP), especialmente à Profa. Msc. Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo, pela imensa contribuição à minha pesquisa, tanto na parte experimental da expressão gênica, quanto no armazenamento das amostras no freezer -80°C, nas análises de dados e ideias para engrandecer o trabalho. Agradeço a Profa. Msc. Lidiane, por toda contribuição em nossas Análises Estatísticas.

Agradeço também a equipe do CBIOTEC, em nome do Prof. Dr. Demetrius Araújo pelo espaço utilizado durante a fase experimental e especialmente a Yasmin, uma grande companheira que encontrei para dividir as rotinas dos experimentos, sempre ajudou e buscou

o melhor para a pesquisa. A Inaldo, que contribuiu também em nossas análises compartilhando todo seu conhecimento, gratidão pela dedicação de todos.

Agradeço ao meu namorado, Henrick Mendes Pedroza. Pelo incentivo e pela paciência durante esse período. Ele com suas palavras tentava me acalmar em dias difíceis, sempre buscando me mostrar o melhor. E por algumas vezes já à noite, esperava sair do laboratório.

Não poderia deixar de citar aos meus amigos de trabalho que criei um laço familiar, que durante essa fase compartilharam comigo medos e angústias, e sempre me motivaram a persistir e continuar, obrigada a todos torceram por mim, especialmente à Maysa, Tamires, Adelaide, Maria José, Sandra, João Claudino, Jário, Antônio. Às minhas amigas-irmãs que mesmo distante torceram por mim, Ticyanne, Júlia, Eduarda, Emanuely, desde o início comemoram comigo os melhores momentos, assim como são o meu porto seguro nos meus piores dias. A minha irmã de coração, Thalita Andrade, foi meu pilar na mudança de cidade, uma das minhas maiores incentivadoras, sempre com suas mensagens me encorajava a continuar.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ - PB) pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa através do projeto pelo edital PPSUS 2020, pois sem todo o recurso seria impossível realizar o estudo.

E por fim, a todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para realização deste projeto. Muito obrigada!

*“Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso!
Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu
Deus, estará com você por onde você andar.”*

Josué 1:9

RESUMO

O câncer colorretal (CCR) é uma neoplasia que acomete o intestino grosso nos seus segmentos do cólon, reto e ânus. É o terceiro câncer comumente diagnosticado e a segunda principal causa de morte relacionada ao câncer em todo o mundo. Alguns dos fatores de riscos para o câncer colorretal incluem: dieta rica em gordura, sedentarismo, obesidade, tabagismo e consumo excessivo de álcool. Entre os genes que são frequentemente mutados, as alterações no gene TP53 são consideradas uma das principais alterações genéticas relacionadas ao desenvolvimento do CCR. Fatores sociodemográficos, como etnia e nível socioeconômico, são conhecidos por influenciar a incidência, estágio, diagnóstico, sobrevida e mortalidade deste câncer. O trabalho teve como objetivo realizar um estudo de coorte ambispectiva de pacientes com Câncer Colorretal de amostras bloqueadas em parafinas. Assim como, analisar a expressão gênica de TP53 por PCR em tempo real em amostras frescas de pacientes do Hospital Napoleão Laureano em João Pessoa/PB, Brasil. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software SPSS® versão 22.0 e do programa de domínio público OpenEpi, versão 3.01. Foram realizados testes de associação, como Qui-quadrado de Pearson e Teste Exato de Fisher, o valor de P considerado significativo estatisticamente $<0,05$. Foi observada a marcação positiva para p53 em 46,5% das 43 amostras de pacientes analisadas por imunohistoquímica, e 53,5% foram negativos. Das amostras analisadas para imunohistoquímica, verificou-se que 55,8% dos pacientes foram do sexo feminino, com média de idade acima dos 60 anos (79,1%). A cor da pele mais frequente foi de pessoas pardas (81,4%). Com relação a lateralidade do tumor, a região do cólon esquerdo foi mais incidente (60,4%), e o grau histológico mais presente foi o moderadamente diferenciado (88,3%). Quanto ao padrão morfológico, o tubular foi o mais frequente (74,4%). No que diz respeito ao Estágio, o II foi o mais observado na população de estudo (81,4%). A metástase em linfonodos se mostrou ausente na maior parte dos indivíduos analisados (51,1%). Pacientes que apresentaram marcação positiva para o antígeno carcinoembrionário (CEA) corresponderam a 30,2%, considerado positivo quando CEA $> 4,0$ ng/ml. Não foi verificada associação significativa da expressão de p53 com nenhuma das variáveis analisadas (sexo, idade, escolaridade, etnia, localização, grau histológico, padrão histológico, estágio e quantificação positiva para CEA). Nas análises da expressão gênica de TP53 por PCR em tempo real, realizadas em amostras frescas ($n=10$), observou-se uma maior expressão de TP53 em tecidos normais (adjacente ao tumor) em relação ao tecido tumoral ($p < 0,05$). A análise dos dados dessa coorte permitiu conhecer melhor o perfil da doença, destacando os principais fatores sociodemográficos e clínicos associados à enfermidade, possibilitando auxiliar em possíveis práticas preventivas e de manejo ao paciente. Contudo, não foi possível associar a expressão de p53 a outros marcadores como o CEA, nem a outros fatores clínicos patológicos. Estudos mais abrangentes e com maior número de pacientes possivelmente podem esclarecer melhor a contribuição de p53 como biomarcador para câncer colorretal.

Palavras-chave: Câncer Colorretal, biomarcadores, P53, Expressão gênica, Imunohistoquímica.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is a neoplasm that affects the large intestine in its segments of the colon, rectum and anus. It is the third most commonly diagnosed cancer and the second leading cause of cancer-related death worldwide. Some of the risk factors for colorectal cancer include: high fat diet, sedentary lifestyle, obesity, smoking and excessive alcohol consumption. Among the genes that are frequently mutated, alterations in the TP53 gene are considered one of the main genetic alterations related to the development of CRC. Sociodemographic factors such as ethnicity and socioeconomic status are known to influence the incidence, stage, diagnosis, survival and mortality of this cancer. The aim of this study was to carry out an ambispective cohort study of patients with Colorectal Cancer using paraffin-blocked samples. As well as analyzing TP53 gene expression by real-time PCR in fresh samples from patients at Hospital Napoleão Laureano in João Pessoa/PB, Brazil. Statistical analyzes were performed using SPSS® software, version 22.0 and the public domain program OpenEpi, version 3.01. Association tests were performed, such as Pearson's Chi-square and Fisher's Exact Test, the P value considered statistically significant <0.05 . Positive p53 staining was observed in 46.5% of the 43 patient samples analyzed by immunohistochemistry, and 53.5% were negative. Of the samples analyzed for immunohistochemistry, it was found that 55.8% of the patients were female, with a mean age above 60 years (79.1%). The most frequent ethnicity was brown people (81.4%). Regarding the laterality of the tumor, the region of the left colon was more frequent (60.4%), and the most present histological grade was the moderately differentiated (88.3%). As for the morphological pattern, the tubular was the most frequent (74.4%). With regard to Internship, II was the most observed in the study population (81.4%). Metastasis in lymph nodes was absent in most of the individuals analyzed (51.1%). Patients who presented positive marking for carcinoembryonic antigen (CEA) corresponded to 30.2%, considered positive when CEA > 4.0 ng/ml. There was no significant association between p53 expression and any of the analyzed variables (gender, age, education, ethnicity, location, histological grade, histological pattern, stage and positive quantification for CEA). In the analyzes of TP53 gene expression by real-time PCR, performed in fresh samples ($n=10$), a higher expression of TP53 was observed in normal tissues (adjacent to the tumor) in relation to tumor tissue ($p < 0.05$). The analysis of data from this cohort allowed us to better understand the profile of the disease, highlighting the main sociodemographic and clinical factors associated with the disease, making it possible to assist in possible preventive and management practices for the patient. However, it was not possible to associate p53 expression with other markers such as CEA, or with other pathological clinical factors. More comprehensive studies with a larger number of patients may possibly better clarify the contribution of p53 as a biomarker for colorectal cancer.

Keywords: Colorectal Cancer, biomarkers, P53, Gene expression, Immunohistochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Lateralidade do Câncer Colorretal	18
Figura 2. Via Supressora	20
Figura 3. Via Mutadora	21
Figura 4. O estadiamento baseado na classificação de tumor, linfonodo e metástase (TNM)	23
Figura 5. Temperatura e tempos de incubação de DNA complementar (cDNA) no GeneAmp™ PCR System 9700	35
Figura 6. Imagens representativas da coloração de p53 em (a) 0%, (b) $\leq 10\%$, (c) $\leq 50\%$, (d) $\leq 80\%$ e (e) $> 80\%$	45
Figura 7. Amplificação cDNA das amostras. (a) Placa de PCR do gene p53 e endógeno GAPDH. (b) cDNA das amostras do tecido tumoral e saudável (c) Curva de Melt.	51
Figura 8. Expressão do gene <i>TP53</i> em amostras frescas de tecido tumoral e normal pacientes com câncer colorretal.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação do Sistema TNM de acordo com a sétima edição do <i>American Joint Committee on Cancer</i> (AJCC) de 2010	24
Tabela 2. Reagentes e técnicas para a síntese de DNA complementar na primeira etapa	35
Tabela 3. Reagentes e técnicas para a síntese de DNA complementar na segunda etapa	35
Tabela 4. Sequência dos primers utilizados para amplificação dos genes	36
Tabela 5. Reagentes e protocolo para a reação de PCR	37
Tabela 6. Características sociodemográficas e clínicas das amostras emblocadas em parafina de pacientes com CCR, obtidas do HULW	43
Tabela 7. Comparação do nível da Imunoexpressão de P53 de acordo com parâmetros clínicos prognósticos dos casos de câncer colorretal	47
Tabela 8. Distribuição da frequência das variáveis entre os pacientes das amostras frescas com câncer colorretal do estudo	49

LISTA DE ABREVIATURAS

AJCC - *American Joint Committee on Cancer*

AC - Adenocarcinoma clássico

AM - Adenocarcinoma mucinoso

AFP - Alfafetoproteína

CA19-9 - Antígeno de câncer 19-9

CA72-4 - Antígeno de câncer 72-4

CCHNP – Câncer colorretal hereditário não poliposo

CEA - Antígeno carcinoembrionário

CIN - Instabilidade cromossômica

CIMP - Fenótipo metilador de ilhas CpG

CCR - Câncer Colorretal

cDNA - DNA complementar

Ct - Threshold cycle

DEPC - Dietil pirocarbonato

DNA - Ácido desoxirribonucleico

GADD45 - A parada do crescimento e dano induzível ao DNA 45

H2O2 - Peróxido de hidrogênio

IC - Intervalos de confiança

hCG - Gonadotrofina coriônica humana

IHQ - Imunohistoquímica

IHC - Imunohistoquímica convencional

INCA - Instituto José de Alencar

Ki67 - Proteína nuclear

Mdm2 - *Murine Double minute 2*

M - Metástase

nm –nanômetro

NCBI - National Center for Biotechnology Information

N - Gânglios linfáticos acometidos

OMS - Organização mundial da saúde

PAF - Polipose adenomatosa familiar

pb - Pares de bases

PCR - Reação em cadeia da polimerase

qPCR - PCR quantitativa em Tempo Real

RNA - Ácido ribonucleico

RAS/KRAS - Homólogo do oncogene viral do sarcoma do rato de Kirsten RNA Ácido ribonucleico

RP - Razão de prevalência

SRCC - Carcinoma de células em anel de sinete

SPSS® - *Statistical Pacckage for the Social Sciences*

TP53 – gene *TP53*

TNM - Estágio tumor-nódulo-metástase

TM - Temperatura de melting

T -Tumor primário

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Câncer e Definições	17
2.2 Câncer Colorretal	17
2.3 Rastreamento, Diagnóstico e Tratamento	25
2.4 P53 no Câncer Colorretal	28
3. OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo Geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
4. METODOLOGIA	33
4.1 Tipo da Pesquisa	33
4.2 Pacientes e Amostras	33
4.3 Processamento e Análise das Amostras para PCR	34
4.4 Análise da Expressão Gênica	36
4.5 Processamento e Análise das Amostras para Imunohistoquímica	38
4.6 Análises Estatísticas	39
4.7 Critério de Inclusão	40
4.8 Critério de Exclusão	40
4.9 Riscos	41
4.10 Benefícios	41
4.11 Aspectos Éticos	41
5. RESULTADOS	42
5.1 Caracterização das Amostras Bloçadas em Parafina	42
5.2 Resultado da Análise Imunohistoquímica	44
5.3 Relação de p53 com características Clínico Patológicas dos Pacientes	45
5.4 Caracterização das Amostras Frescas	48
5.5 Avaliação da Expressão Gênica de <i>TP53</i> por PCR em tempo real	50
6. DISCUSSÃO	53
7. CONCLUSÃO	61
REFERÊNCIAS	62

APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

69

ANEXO I –

70

1. INTRODUÇÃO

O Câncer Colorretal (CCR) é uma neoplasia que acomete o intestino grosso nos seus segmentos do cólon, reto e ânus. Ocupa a terceira posição no pódio dos tipos de câncer mais incidentes no cenário mundial. Milhares de homens e mulheres morrem vítimas dessa doença todos os anos (FANG et al. 2021). Esse tumor se desenvolve nas células epiteliais que revestem o trato gastrointestinal, sendo a neoplasia mais frequente e o tipo mais comum de malignidade do trato digestivo. Frequentemente, o CCR se desenvolve em uma população a partir dos 50 anos (CHAITRA et al., 2022).

As principais causas do CCR estão associadas a fatores genéticos e/ou ambientais ocasionadas por meio de um processo de alterações histomorfológicas e genéticas desencadeadas com o tempo. Com isso, vários fatores estão relacionados ao seu desenvolvimento. Dentre eles, os fatores de risco modificáveis incluem dieta, obesidade, sedentarismo, tabagismo e etilismo. E os fatores de risco não modificáveis incluem sexo, etnia, histórico pessoal de doença inflamatória intestinal ou familiar de pólipos colorretais ou CCR, condições hereditárias como a síndrome de Lynch, além de genes envolvidos no processo de carcinogênese do CCR (SANTOS et al., 2021).

A doença inicia-se a partir um pólipó intestinal adenomatoso benigno, que evolui para adenoma avançado com displasia de alto grau, adenocarcinoma invasivo e metástase para órgãos distantes (NAKAYAMA et al., 2018). O pólipó não tratado ou removido, pode desenvolver um tumor agressivo e letal. Desse modo, quanto mais cedo forem detectados os pólipos, maiores serão as chances de prevenir o CCR (DE RENZI et al., 2021).

No Brasil, para o ano de 2023 foram estimados 73.610 casos novos, o que representa uma taxa ajustada de incidência de 41,89 casos por 100.000 mulheres. Dentre os tipos de câncer no país, o tumor maligno mais incidente é o de pele não melanoma (31,3% do total de casos), seguido pelos de mama feminina (10,5%), próstata (10,2%), cólon e reto (6,5%), pulmão (4,6%) e estômago (3,1%) (INSTITUTO JOSÉ DE ALENCAR, 2022).

Alguns programas de rastreamento têm sido inseridos na tentativa de reduzir a incidência e mortalidade associadas ao CCR por meio da retirada dos pólipos não neoplásicos, pré-cancerosos e na detecção de câncer em estágio inicial (SILVA et al., 2019). Alguns biomarcadores e genes prognósticos têm sido analisados, com algum benefício para pacientes com CCR, permitindo a detecção precoce e consequentemente um tratamento adequado (SU et al., 2018).

São inseridos programas de rastreamento, na tentativa de reduzir 50% na incidência e mortalidade associadas ao CCR através da remoção de pólipos pré-cancerosos e detecção de câncer em estágio inicial (SILVA et al., 2019).

A colonoscopia e a biópsia são considerados o padrão ouro para confirmar o diagnóstico de CCR. No entanto, as amostras de biópsia podem não fornecer um diagnóstico definitivo se o tecido tumoral viável for difícil de obter ou se as amostras de tecido estiverem extensamente ulceradas ou necróticas. Além disso, vários marcadores tumorais séricos, incluindo antígeno carcinoembrionário (CEA), antígeno de câncer 19-9 (CA19-9) e CA 72-4, são amplamente utilizados para a triagem, diagnóstico e vigilância pós-operatória do câncer gastrointestinal, porém não possui boa sensibilidade e especificidade em relação à doença (YU et al., 2020).

Nesse sentido, buscamos identificar nesse estudo o papel de P53 como biomarcador do câncer colorretal por imuno-histoquímica (IHQ) e qPCR.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CÂNCER E DEFINIÇÕES

Conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é um termo genérico que designa um amplo grupo de doenças que pode afetar qualquer parte do corpo. Tem como característica a rápida multiplicação de células anormais, que se estendem para além dos seus limites habituais e podem invadir partes adjacentes do corpo ou difundir-se para outros órgãos, em um processo chamado de metástase (SILVA, 2019).

A sintomatologia causada pelo câncer varia para cada paciente, e dependerá do tipo de câncer, localização e estágio, bem como da extensão do envolvimento. A morbidade, que geralmente aumenta com o diagnóstico do câncer em estágio avançado, bem como a progressão da doença, podem estar relacionados aos efeitos generalizados, como deficiências na função do órgão, circulação e outros processos fisiológicos. As morbidades gerais relacionadas ao câncer são: fadiga, febre e perda de peso, e são frequentemente acompanhadas de outras morbidades específicas do tipo de câncer (POURRAHMAT et al., 2021).

O câncer é uma doença heterogênea podendo alcançar diferentes partes do corpo e se espalhar para outros órgãos. Utiliza-se o estadiamento do câncer para contribuir na avaliação do prognóstico e orientar nas decisões de tratamento (POURRAHMAT et al., 2021).

2.2 CÂNCER COLORRETAL

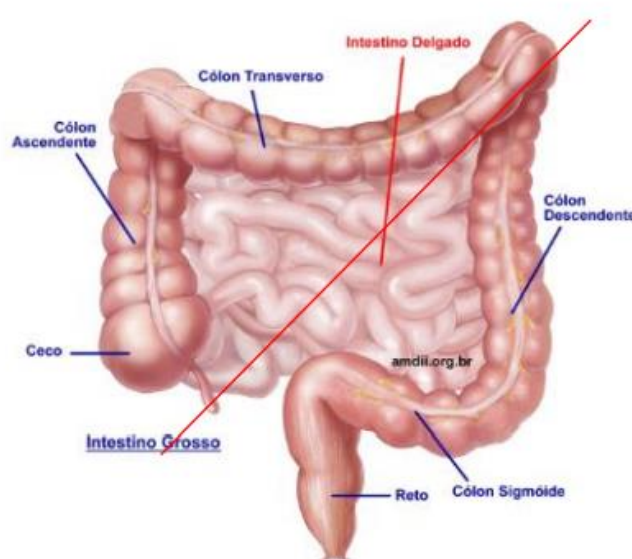
O câncer colorretal (CCR) é classificado como problema de saúde pública mundial (CARVALHO, 2019) sendo caracterizado por ser uma doença complexa, multifatorial e de diversas categorias, definida pela neoplasia maligna do trato digestivo. Considerado o terceiro câncer mais comum do mundo, além de ser a segunda causa mais comum de morte por câncer em ambos os sexos (ZHANG et al., 2021). Milhares de pessoas são diagnosticadas anualmente e a doença gera implicações físicas, psicológicas e socioeconômicas, além da alta taxa de mortalidade (CUNHA, 2018).

Devido a sua função, o cólon possui um alto índice de replicação celular, e quando exposto a agentes físicos, químicos e biológicos, essas condições podem aumentar as chances de ocorrência de alterações genéticas e moleculares envolvidas em processos neoplásicos (LAPORTE., 2019). Em definição, o CCR compreende qualquer tumor que acomete o

intestino grosso até a linha pectínea na junção do reto com o canal anal (INSTITUTO JOSÉ DE ALENCAR, 2017).

Anatomicamente o CCR é dividido em direito e esquerdo, de acordo com localização do tumor pela borda da flexura esplênica (HULTCRANTZ, 2021). É considerado cólon direito a partir do ceco até a flexura esplênica, incluindo o cólon transverso. O cólon esquerdo inicia-se no ângulo esplênico e termina no sigmóide, excluindo o reto, como mostra a figura 1 (BRAGA, 2020).

Figura 1. Lateralidade do Câncer Colorretal



Fonte: Adaptado pelo autor BRAGA, 2020.

Pesquisas apontam e verificaram a relação da localização do tumor com o desenvolvimento, características clínico-patológicas, tratamento e prognóstico. Porém, o efeito da localização do tumor nos marcadores moleculares continua incerto. Atualmente, vários estudos relataram que os biomarcadores clínico patológicos e moleculares do CCR eram divergentes em diferentes regiões (SONG et al., 2020). Os cânceres colorretais ocorrem em todas as partes do cólon, embora a prevalência dos CCRs esteja localizada na parte distal e 50% estejam localizados no sigmóide e no reto (HULTCRANTZ, 2021).

Algumas das manifestações clínicas de um paciente acometido com CCR são caracterizadas por: dor abdominal, hematoquezia e alteração no hábito intestinal, além dos sintomas ocasionados pela metástase à distância quando presente. Alguns desses sintomas evoluem de acordo com o tamanho e localização em que o tumor se encontra, o que muitas vezes resulta em uma terapia cirúrgica, especialmente em casos de obstrução intestinal,

impedindo a evacuação das fezes pelo ânus, sendo necessária a realização de uma colostomia (ASSUNÇÃO et al., 2021).

Os sinais e sintomas ocorrem acordo com a localização do tumor. Entre as características clínicas observadas, os tumores que acometem o lado direito podem destacar a presença de massa na fossa ilíaca direita, anemia, perda ponderal, obstrução intestinal e apendicite em lesões cecais. Enquanto, as lesões do lado esquerdo podem provocar sangramento ou perda de muco pelo reto, alteração do hábito intestinal, dor na parte inferior do abdômen, obstrução intestinal, tenesmo ou dor retal em lesões retais (CARVALHO., 2019).

O processo de Carcinogênese Colônica possui duas vias patogénéticas que são: Via supressora (ou do *Adenomatous Polyposis Coli* / beta-catenina), na qual a instabilidade genômica provoca uma série de mutações sucessivas e ordenadas que leva à formação de adenomas e sua posterior malignização. Via mutadora (ou da instabilidade de microssatélites) associada ao aparecimento do CCR hereditário não poliposo, caracterizada por mutações ou inativações nos genes de reparo do DNA (GUEDES, 2020)

A patogênese do CCR acontece pelo o acúmulo progressivo de alterações genéticas e epigenéticas, algumas das quais responsáveis por ativar oncogenes ou inativar genes supressores, capazes de conduzir a evolução maligna do epitélio normal para lesões neoplásicas precoces (focos de criptas aberrantes, adenomas e adenomas serrilhados) para CCR. Em casos que, este processo de transformação maligna requer até 15 anos, conforme as características da lesão e de outros fatores, tais como, sexo, peso corporal, índice de massa corporal, sedentarismo (DE PALMAS et al., 2019).

Na via supressora, os pólipos formados consistem em dois tipos: pólipos neoplásicos e não-neoplásicos. Dentre os neoplásicos, estão inclusos todos os adenomas, adenocarcinoma ou carcinóide. Em adenomas são classificados em tubular, túbulo-viloso e viloso. Porém, os pólipos não-neoplásicos consistem em hiperplásicos, inflamatórios e hamartomas (GOMES et al., 2018)

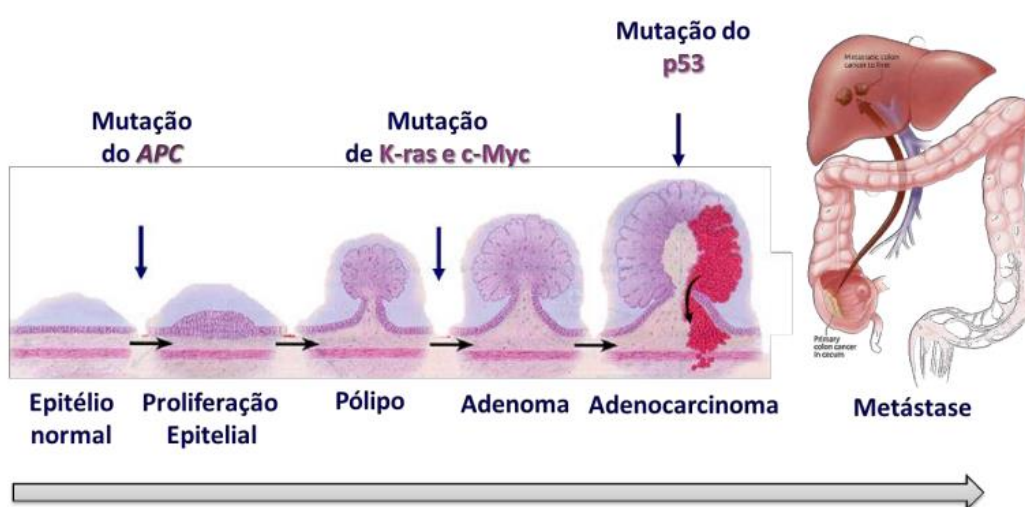
Em casos de pólipos hiperplásicos e pólipos inflamatórios, não são considerados pré-cancerosos, porém, alguns tipos de pólipos hiperplásicos têm maior predisposição para desenvolver adenomas e câncer. Geralmente eles se originam no cólon ascendente (DE LIMA et al., 2019).

Nessa via, o CCR inicia-se como um pólipos intestinal adenomatoso benigno ou não-canceroso, que evolui para adenoma avançado com displasia de alto grau, adenocarcinoma invasivo e metástase para órgãos distantes (figura 2). Esse processo de progressão gradual do

câncer colorretal é denominado como "tumorigênese em várias etapas", e acredita-se que cada etapa esteja associada a alterações genéticas específicas em genes supressores de tumor ou oncogenes (NAKAYAMA et al., 2018). Algumas manifestações morfológicas são observadas, arquitetura glandular, pleomorfismo celular e padrão da secreção de muco. Sendo assim, os adenocarcinomas são categorizados em três graus de diferenciação: bem diferenciado (grau I), moderadamente diferenciado (grau II) e indiferenciado (grau III) (MIYAZAKI., 2020). Os genes comumente afetados por essa via são identificados como grandes precursores, tais como: os genes *APC*, *TP53*, *KRAS*, dentre outros (MELO et al., 2019).

Os graus de diferenciação têm suas características distintas, assim, os tumores altamente diferenciados assemelham-se muito aos tecidos normais, tanto morfológicamente quanto funcionalmente, e são caracterizados por alta maturidade celular, baixo grau de malignidade, progressão lenta e metástase tardia. Contudo, os tumores moderadamente diferenciados se assemelham a uma morfologia de células-tronco, com alta proporção carioplasmática e fraqueza ou perda da função biológica anterior. Assim, os tumores pouco diferenciados são caracterizados por baixa maturidade, alto grau de malignidade, rápida progressão e metástase precoce (QI et al., 2018).

Figura 2. Via supressora.



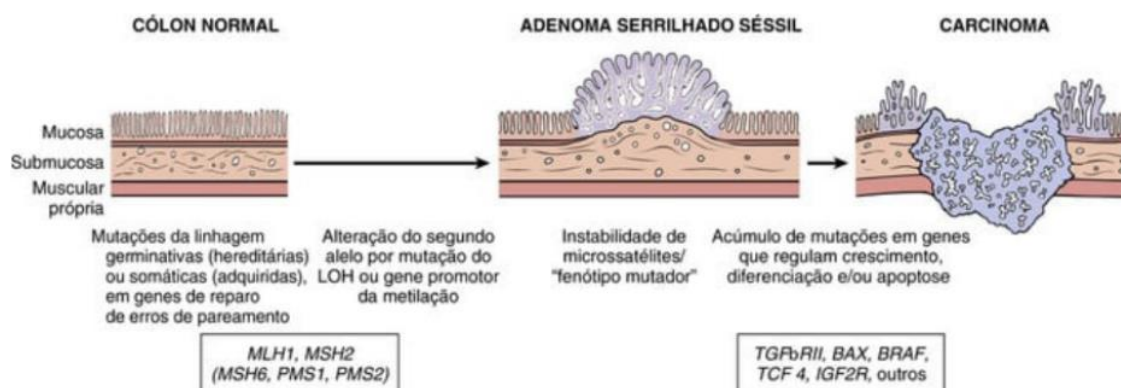
Fonte: (Adaptado de Janne & Mayer, 2000)

A segunda via, (figura 3) considerada via mutadora ou “*serrated pathway*”, evidencia-se pelo aparecimento de adenomas ou pólipos serrilhados como lesões precursoras (10 a 30%

dos casos de CCR esporádicos). Os pólipos serrilhados são definidos por criptas luminiais com arquitetura glandular serrilhada e podem ser marcados em três subtipos principais: pólipos hiperplásicos, adenoma serrilhado séssil com ou sem displasia e adenoma serrilhado tradicional (MIYAZAKI, 2020).

As suas alterações genômicas (mutações e inativação) são caracterizadas por genes de reparo do DNA. O produto destes genes (hMSH2, hMLH1, hMSH6, hPMS1, hPMS2) são revisores do “DNA”, pois eles vão detectar erros ocorridos durante a replicação celular. A grande maioria das mutações envolve o hMSH2 (cromossomo 2p22) e o hMSH1 (cromossomo 3p21). As mutações ocorridas no gene de reparo do DNA correlacionam por vezes a alterações de sequencias repetidas de nucleotídeos chamadas de MSI. Algumas destas sequencias ficam pareadas ou ocorrem em regiões codificadoras de genes envolvidos com a proliferação celular, como TGF β R tipo II, IGF1R, Braf e BAX (GUEDES., 2020).

Figura 3. Via mutadora.



Fonte: (Adaptado por Guedes., 2020)

A sequência do desenvolvimento do CCR ocorre de maneira lenta, permitindo a detecção nesse período, sendo uma oportunidade de prevenir e interromper o desencadeamento da doença por meio do rastreamento. Nesse rastreio busca-se localizar lesões precursoras do CCR logo no início dos estágios com o intuito de reduzir a incidência e mortalidade causada por essa doença (SILVA., 2019).

Em cada tipo de câncer, fatores como tamanho do tumor, envolvimento de linfonodos e presença/ausência de metástase são critérios utilizados para definir o estágio do câncer, sendo o estágio 0 para tumores que não se espalharam para outros locais (ou seja, in situ), os

estágios I, II e III indicando tumores localizados variando em tamanho e com envolvimento linfonodal, e o estágio IV indicando metástase à distância (POURRAHMAT et al., 2021).

O estágio do CCR varia do I a IV. Em alguns países desenvolvidos, a doença é detectada já no estágio V. Considerando que, nesse estágio a metástase acomete à distância, atualmente ainda não há cura. Contudo, no estágio I é provável os pacientes apresentarem grandes chances de serem tratados. Sendo assim, é de total importância que o câncer seja diagnosticado precocemente (HULTCRANTZ, 2021).

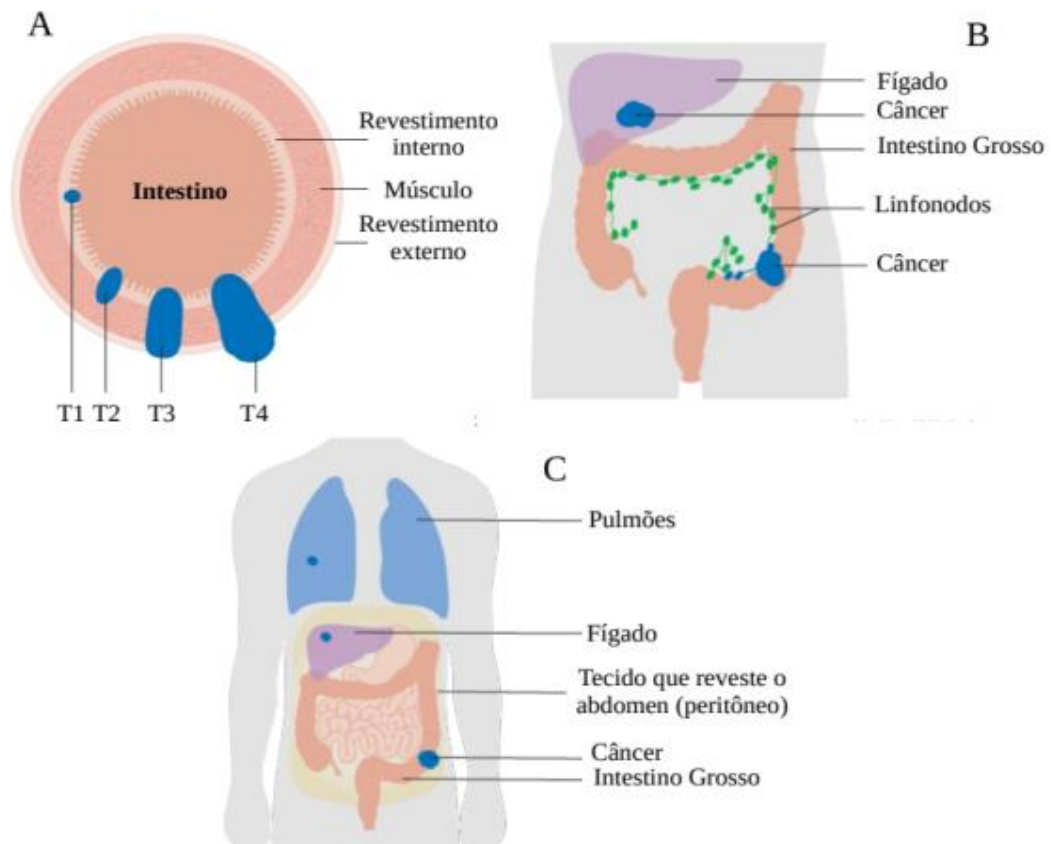
O estágio tumor-nódulo-metástase, ou sistema de classificação TNM, desenvolvido pelo *American Joint Committee on Cancer* e pela *Union for International Cancer Control*, vem sendo o parâmetro prognóstico mais apropriado para estratificar pacientes. O sistema TNM é capaz descrever a profundidade da invasão do tumor em toda a parede do cólon (T), o número de linfonodos afetados (N) e a presença de metástase (M) (SAGAERT et al., 2018)

Na figura 4, (A) T1: tecido tumoral está contido apenas na camada interna do intestino. T2: presença do tecido tumoral na camada muscular da parede intestinal. T3: o tumor inicia seu crescimento para o revestimento externo da parede intestinal, mas não através dele. T4: nesse ponto a metástase acontece, o tumor cresce através do revestimento externo da parede do intestino e se espalha para outras regiões. Nos últimos estágios (T3 e T4), a invasão do câncer nos linfonodos acontece (B), seguida da metástase para órgãos próximos (C) (CALLEGARI et al., 2021).

Com base nos classificadores T, N e M, os tumores são divididos em 4 estágios diferentes com diversas consequências prognósticas e terapêuticas. De acordo com as pesquisas, os tumores de estágio 1 têm uma taxa de sobrevida de 5 anos de 94%. Os tumores do estágio 2 têm uma taxa de sobrevida em 5 anos de 82%, cai para 67% para os pacientes do estágio 3. Os cânceres de cólon metastáticos ou estágio 4 têm uma taxa de sobrevida em 5 anos de apenas 11% (SAGAERT et al., 2018).

Durante décadas, o TNM tem sido o padrão-ouro para estimar o prognóstico do câncer colorretal. No entanto, muitos pacientes no mesmo estágio têm prognósticos clínicos variados, e mesmo pacientes com tumores em estágio IIb tendem a ter um prognóstico pior do que aqueles com tumores em estágio IIIa, sugerindo que o sistema de estadiamento TNM tem deficiências na previsão do prognóstico do CCR (DU et al., 2022). (Tabela 1)

Figura 4. O estadiamento baseado na classificação de tumor, linfonodo e metástase (TNM)



Fonte: (Adaptado de Callegari, 2021)

Tabela 1. Classificação do Sistema TNM de acordo com a sétima edição do *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) de 2010.

Tumor primário (T)	
Tx	Tumor primário inacessível
T0	Sem evidências do tumor primário
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> : intraepitelial ou invasão da lâmina própria
T1	Tumor invadindo a submucosa
T2	Tumor invadindo a muscular própria
T3	Tumor invade através da muscular própria até o tecido pericólorretal
T4a	Tumor que penetra até a superfície do peritônio visceral
T4b	Tumor está invadindo ou aderido diretamente a outro órgão ou estrutura ou que adere a eles
Linfonodos regionais (N)	
Nx	Linfonodos regionais inacessíveis
N0	Ausência de metástases nos linfonodos regionais
N1	Metástases em 1-3 linfonodos regionais
N1a	Metástase em 1 linfonodo regional
N1b	Metástase em 2-3 linfonodos regionais
N1c	Tumor depositado na subserosa, mesentério ou tecido pericólico ou perirretais não peritonizados sem metástase nos linfonodos regionais
N2	Metástases em 4 ou mais linfonodos regionais
N2a	Metástases em 4-6 linfonodos regionais
N2b	Metástases em 7 ou mais linfonodos regionais
Metástase à distância (M)	
M0	Sem metástase à distância
M1	Metástase à distância
M1a	Metástase confirmada em 1 órgão ou sítio
M1b	Metástases em mais do que 1 órgão, sítio ou no peritônio

Fonte: (EDGE; COMPTON, 2010).

Com base no American Joint Committee on Cancer (AJCC) e International Union for Cancer Control (UICC), o Sistema TNM codifica a extensão do tumor primário (T), linfonodos regionais (N) e metástases distantes (M).

Alguns pacientes com doença inflamatória intestinal podem aumentar o risco de desencadear CCR, assim como também, colite ulcerativa ou doença de Crohn, sendo mais provável de ser provocada por inflamação crônica da mucosa intestinal do que por qualquer predisposição genética definitiva. Além de tudo, a inflamação crônica desempenha um papel importante na ocorrência e desenvolvimento de CCR esporádico, e a expressão de interleucina-1 (IL-1), IL-6, IL-17A e IL-23 está aumentada na maioria dos casos esporádicos de CCR (YANG et al., 2019).

Os CCRs são classificados como adenocarcinomas, incluindo três subtipos chave amplamente estudados: adenocarcinoma clássico (AC), adenocarcinoma mucinoso (AM) e carcinoma de células em anel de sinete (SRCC). MA e SRCC são subtipos raros de CCR e

apresentam características distintas da AC, incluindo idade de início mais jovem, estágio mais avançado e maior possibilidade de invasão linfática e infiltração perineural (WU et al., 2021).

O subtipo histológico mais comum de CCR é o adenocarcinoma clássico, onde o adenocarcinoma mucinoso é um subtipo distinto e é caracterizado por componentes mucinosos abundantes que compreendem pelo menos 50% do volume do tumor. Correlacionando à patologia clínica, o adenocarcinoma colorretal mucinoso é detectado com mais frequência no cólon proximal do que no cólon retal ou distal. Além disso, os adenocarcinomas colorretais mucinosos são diagnosticados com maior intensidade quando já estão em estágios avançados e geralmente não apresentam uma resposta satisfatória nas quimioterapias em comparação com os não mucinosos (LUO et al., 2019)

2.3 RASTREAMENTO, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

Conforme a OMS, o rastreamento pode ser realizado em três etapas diferentes. A primeira é o rastreamento organizado, que é dispensado por meio de planejamento ativo a pessoas convidadas da população geral de faixa etária pré-definida, em uma frequência pré-estabelecida. A segunda forma é o rastreamento seletivo, que é oferecido para um subgrupo já propenso como de maior risco de desenvolver a doença. A terceira forma é o rastreamento oportunístico, que é oferecido de forma oportuna, ao indivíduo que por outras razões procura os serviços de saúde (CARVALHO, 2019).

Em anos de estudos e experimentos, existem diversas de técnicas para o rastreamento de pólipos colorretais, incluindo toque retal, enema baritado, colonoscopia e colonografia por tomografia computadorizada. Como a colonoscopia permite a detecção e remoção de pólipos em apenas uma etapa, estudos revelaram que o rastreamento populacional e a remoção de adenomas de alto risco tornaram-se a base da prevenção do CCR (LU et al., 2017).

Os biomarcadores têm conquistado destaque nas aplicações biomédicas e no diagnóstico clínico, principalmente quando se trata de câncer. Esses marcadores tumorais oferecem grandes oportunidades para melhorar o monitoramento da condição de pacientes com câncer, melhorando a eficácia do diagnóstico, tratamento e pós-tratamento (FATTAHI et al., 2020)

Vários estudos se concentram nessa metodologia de biomarcadores, que podem detectar em amostras de plasma sanguíneo ou fezes, devido a sua técnica menos invasiva de obter esse material biológico, e mesmo assim, mantendo sua alta sensibilidade e precisão para

diagnosticar CCR e metástase. Não é tão simples diagnosticar ou prever metástases. Se caracteriza por alterações epigenéticas, como alterações de metilação do DNA que são específicas para metástases, pode ajudar no diagnóstico e prognóstico do CCR. O uso de biomarcadores tornou-se um método robusto e eficiente para avaliar potenciais processos biológicos anormais, como o câncer. O uso de alterações de metilação do DNA como biomarcadores depende da sensibilidade do método de detecção para distinguir entre citosinas não metiladas de citosinas metiladas (GUTIERREZ et al., 2021)

Outros estudos enfatizam na importância dos biomarcadores tumorais, como: CEA; antígenos carboidrato 125 (CA125), 19-9 (CA19-9), 15-3 (CA15-3), 72-4 (CA72-4) e 50 (CA50); gonadotrofina coriônica humana (hCG); alfafetoproteína (AFP), entre outros. Em casos de suspeita de neoplasia, esses marcadores podem sugerir a etiologia maligna do derrame pleural. A análise da concentração do CEA tem se destacado e ser um método mais empregado, possivelmente por se tratar de um processo acessível e de fácil interpretação clínico-laboratorial. Porém, os resultados encontrados são bastante variáveis, sendo questionados por alguns autores (SIMONETTI et al., 2018).

O marcador tumoral CEA é conhecido como uma glicoproteína, capaz de ser detectada no sangue e em células cancerígenas de adenocarcinomas. O CEA é uma molécula de adesão intracelular com meia-vida de 1 a 3 dias, é produzida no tecido intestinal fetal e pelas células tumorais epiteliais que auxilia na angiogênese. O nível sérico de CEA encontra-se aumentado em neoplasias malignas, como câncer colorretal de mama, gástrico, pulmonar, ovariano e pancreático (LAKEMEYER et al., 2021).

Apesar disso, a elevação de CEA também pode ser observada em muitas condições não malignas, como tabagismo, alcoolismo, doença intestinal inflamatória crônica, diverticulite, pancreatite e doença hepática. Alguns estudos mostraram um nível de sensibilidade para o CEA variando de 65% a 74% em pacientes com CCR (LAKEMEYER et al., 2021).

O diagnóstico preciso de tumores benignos ou malignos e a determinação da velocidade de desenvolvimento são de grande importância para o tratamento e prognóstico de pacientes com câncer de cólon. Os tumores altamente diferenciados assemelham-se muito aos tecidos normais, tanto morfológica quanto funcionalmente, e são caracterizados por alta maturidade celular, baixo grau de malignidade, progressão lenta e metástase tardia. Contudo, os tumores pouco diferenciados se assemelham a uma morfologia de células-tronco, com alta proporção carioplasmática e fraqueza ou perda da função biológica anterior. Assim, os

tumores pouco diferenciados são caracterizados por baixa maturidade, alto grau de malignidade, rápida progressão e metástase precoce (QI et al., 2018).

A IHC é considerada um marcador preciso, que reflete o estado mutacional subjacente da p53 e tem efeitos no diagnóstico de tumores. Há muito se reconhece que mutações sem sentido de *TP53* não sinônimas resultam no acúmulo nuclear da proteína p53 que pode ser detectada como superexpressão na forma de positividade nuclear forte difusa envolvendo pelo menos 80% das células tumorais, mas geralmente quase 100%. Além disso, outros padrões anormais da expressão de p53, expressão citoplasmática e perda completa, foram reconhecidos como correlacionados com a presença de uma mutação *TP53* (NAGAO et al., 2022).

É um método de teste auxiliar bastante utilizado em patologia cirúrgica anatômica para classificação e diagnóstico de células. Utiliza-se anticorpos direcionados contra devidos antígenos em tecidos e células específicas para facilitar a definição do tipo de célula e órgão de origem. Essa metodologia é mais realizada em tecido embebido em parafina fixado em formalina, que tem o benefício de ser de fácil armazenamento, embora tenha sido desenvolvido inicialmente em seções congeladas e também possa ser feito em tecido embebido em plástico. A IHQ recentemente se expandiu ainda mais para avaliar biomarcadores preditivos e prognósticos em muitas malignidades, incluindo as da mama, trato gastrointestinal, pulmão, hematolinfóide e sistema nervoso central (MAGAKI et al., 2019).

A imunohistoquímica é uma técnica utilizada como diagnóstico no campo da patologia tecidual, porém ocorrem certas limitações. Uma problemática que a técnica consiste é por que só permite a marcação de um único marcador por seção do tecido. Isto é, resulta em oportunidades perdidas de obter informações importantes de prognóstico e diagnóstico de amostras de pacientes (MALKI et al., 2020).

O método IHQ é caracterizado por sua coloração, capaz de visualizar o núcleo celular. Sob a IHQ, o núcleo da célula apresenta grânulos marrons quando a marcação positiva para p53. A superexpressão da p53 leva a um crescimento acelerado devido à aceleração da fase G1-S (GUEDES et al., 2019)

No processo de estratificação molecular de pacientes com CCR, acontece de forma essencial para identificar os subgrupos homogêneos, assim também para melhorar no direcionamento para tratamento e prognóstico. As tecnologias de sequenciamento de próxima geração permitem o perfil multi-ômico de tumores malignos, mas os dados de mutação e número de cópias têm um impacto limitado no CRC, enquanto análises de RNA mais

informativas são mais caras, difíceis de padronizar e necessitam de armazenamento de dados e experiência em bioinformática (SIRINUKUNWATTANA et al., 2020)

Mesmo com as melhorias nos procedimentos cirúrgicos e avanços nos métodos de quimioterapia e radioterapia, a taxa de sobrevida em 5 anos para pacientes com CCR ainda é insatisfatória. Com as novas atualizações da medicina de precisão, é necessário a identificação urgente de novos fatores prognósticos e priorizar por tratamentos individualizados para melhor prognóstico (WANG et al., 2017)

É importante estabelecer mais conhecimentos e novos métodos para melhorar no rastreamento de malignidades e metástases, existe como alternativa os marcadores tumorais não invasivos e econômicos, se tornando eficaz tanto para a detecção do CCR em seus estágios iniciais quanto para um programa de acompanhamento após o diagnóstico de CCR (LAKEMEYER et al., 2021).

De acordo com o estágio do tumor, a localização e estado do linfonodo, o CCR é tratado por cirurgia, tratamento quimioterápico neoadjuvante (antes da cirurgia) ou adjuvante (após a cirurgia) com ou sem irradiação concomitante. Dessa forma, o tratamento do adenocarcinoma retal representa um exemplo particularmente bom para uma implementação bem-sucedida de conceitos multimodais no manejo do câncer (GÜLLÜLÜ et al., 2021).

A quimioterapia adjuvante também pode ser utilizada, contudo a radioterapia é usada com menor frequência. No câncer de reto, a cirurgia é o principal tratamento e muitas vezes é acompanhada de quimioterapia e radioterapia antes e/ou após a cirurgia para reduzir o risco de disseminação e recorrência (ACS, 2017a). Juntamente com o estadiamento, utiliza-se para direcionar e ajudar na avaliação de um prognóstico eficaz, conduzindo nas decisões de tratamento (POURRAHMAT et al., 2021).

2.4 P53 NO CÂNCER COLORRETAL

A proteína p53 é codificada pelo gene *TP53* e foi descrita pela primeira vez como uma proteína celular que atua com atividade oncogênica. A observação inicial indicou que a superexpressão de p53 induziu a transformação celular, portanto, foi considerado um oncogene. Contudo, em anos seguintes, outros relatórios indicaram um efeito oposto de p53, o p53 de tipo selvagem clonado era desprovido de atividade oncogênica. Logo ficou claro que as formas mutantes de p53 eram responsáveis pelas primeiras observações oncogênicas (SIMABUCO et al., 2018).

O *TP53* é um gene supressor de tumor localizado no braço curto do cromossomo 17 e 18 (WU et al., 2020). Uma das mutações do gene p53 é causada pela perda de alelos no cromossomo no braço curto do cromossomo 17, resultando em distúrbios genômicos que ocorrem na fase posterior da progressão do tumor. A maioria das mutações do *TP53* ocorre nos éxons 5 a 8, que codificam os resíduos 130-286, que são importantes e responsáveis por dobrar e estabilizar estruturas terciárias de proteínas (RACHMAWATI et al., 2019).

A proteína p53, atua suprimindo a formação de câncer. Para mediar a supressão do câncer, p53 se liga a elementos específicos de resposta do DNA e induz a expressão de genes envolvidos em um ou mais processos, como: parada do ciclo celular, reparo do DNA, apoptose, senescência, autofagia, ferroptose ou metabolismo (DUFFY et al., 2017)

Uma vez ativada, p53 induz a parada do ciclo celular na fase G1 ou G2. Após danos ao DNA, ativa p21, um inibidor de cinase dependente de ciclina, que medeia a parada do ciclo celular em fase G1/S, permitindo o reparo do DNA. Por outro lado, p53 pode ativar GADD45, que regula a parada do ciclo celular nas fases G2 M. A presença de p53 funcional é importante para os diferentes pontos de verificação do ciclo celular, permitindo que as células tenham tempo para reparar os danos ao DNA (SANTOS, 2016).

Contudo, caso os danos ao DNA não possa ser reparado, p53 inicia o processo de apoptose, com isso, ativando o gene Bax (pró-apoptótico). Se as mutações na célula se tornarem permanentes, as células neoplásicas passarão a acumular a proteína p53 mutada, esse processo pode ser visualizado por técnicas IHQ (GUEDES et al., 2019)

A partir da identificação do supressor tumoral p53 em 1979, diversos estudos foram desenvolvidos para esclarecer seu real funcionamento. Dentre elas, as funções e características essenciais são consideradas as seguintes: (1) p53 é um fator de transcrição que ativa seus genes alvo específicos; (2) p53 exerce efeitos supressores de tumor por meio de parada do ciclo celular, apoptose, reparo de DNA e antiangiogênes; (3) os níveis suprimidos de p53 participa um papel importante na manutenção dos fenótipos de células-tronco e células-tronco cancerígenas; e (4) p53 é um dos genes mais mutados em uma ampla gama de cânceres humanos. A maioria das mutações *TP53* são mutações de sentido único dentro de seu domínio de ligação ao DNA que levam a um grande espectro de efeitos funcionais. Mutações em *TP53* resultam em diferentes formas com atividade de transcrição variável que resulta em diferentes fenótipos de câncer (NAGAO et al., 2022).

Esse gene supressor tumoral, considerado frequentemente mutado no CCR, também conhecido como o guardião do genoma. *TP53* é ativado por vários sinais de estresse, incluindo danos ao DNA ou ativação de oncogenes, e conduz uma infinidade de respostas a jusante, como reparo de DNA, parada do ciclo celular, senescência, metabolismo e morte celular. *P53* Atua principalmente como um fator de transcrição controlando a expressão de centenas de genes alvo (LIEBL et al., 2021).

A expressão aberrante de *p53* está intimamente relacionada a diversas doenças: *p53* superativada induz envelhecimento prematuro e doença por radiação; enquanto sua mutação pode ser encontrada em aproximadamente 50% dos pacientes com câncer. Além disso, *p53* é frequentemente infra regulado mesmo em pacientes com tumor com o gene do tipo selvagem, indicando que sua expressão alterada é crítica na carcinogênese. Apesar de sua importância, o mecanismo regulador da expressão de *p53* não foi totalmente elucidado (HUANG et al., 2019).

Pesquisas recentes evidenciam que *p53* anormal se encontra detectável em mais de 50% dos pacientes com CCR e estava intimamente associado à ocorrência, desenvolvimento, infiltração e metástase do CCR. A proteína *p53*, codificada pelo gene *TP53* anormal, tinha um período de meia-vida mais longo, e pode ser detectada por imunohistoquímica (IHC). Diversos estudos clínicos apontam o valor prognóstico do *p53* positivo (superexpressão ou positividade) em pacientes com carcinoma espinocelular de esôfago, câncer gástrico, câncer de vesícula biliar, câncer pancreático e câncer de pulmão de células não pequenas. Mas o valor prognóstico do *p53* positivo no CCR permanece incerto (WANG et al., 2017).

Cerca de 50%-70% das mutações do CRC em *TP53*, que são genes supressores de tumor, estão positivamente correlacionadas com mau prognóstico. Com isso, quando o *TP53* perder sua função, facilitará a proliferação do DNA danificado para as células filhas e o desenvolvimento maligno do CCR. Ao mesmo tempo, o gene *TP53* também é considerado como o gene prognóstico do CCR (WU et al., 2020). Em pacientes com estágio de metástase, a taxa de alterações de *TP53* é relatada em até 80%. As variações do tipo missense em *TP53* são relatadas como associadas à quimiorresistência em CCRs (KIM et al., 2022)

O regulador do *TP53* é o *Murine Double minute 2* (Mdm2), uma proteína que pode se ligar ao *TP53* em condições instáveis ou inativadas. O gene *TP53* pode ser ativado pelo destacamento de *TP53* de Mdm2. Essa condição faz com que esse gene pare o ciclo celular e repare a quebra do DNA e envolva a apoptose e o envelhecimento (RACHMAWATI et al., 2019).

A expressão do *TP53* está relacionada principalmente as características patológicas, metástases linfonodais, metástases distantes e resposta à terapia CCR. Esse marcador é amplamente utilizado como preditor de prognóstico da terapia CCR. A avaliação do anticorpo anti p53 com métodos de IHQ é de menor custo, porém, resultados demonstram mais eficiente e eficaz (RACHMAWATI et al., 2019).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar possíveis fatores prognósticos e diagnósticos a partir das análises de expressão da p53 em amostras de pacientes com câncer colorretal e relacionando com as características clínicas patológicas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a caracterização sociodemográfica de pacientes com Câncer colorretal do Hospital Universitário Lauro Wanderley em João Pessoa - PB;
- Avaliar a expressão da proteína p53 por imunohistoquímica, em amostras de câncer colorretal;
- Correlacionar a imunoexpressão da proteína p53 com as características clínico-patológicas dos pacientes.
- Verificar a relação dos níveis do CEA com a imunoexpressão de p53;
- Avaliar a expressão do gene *TP53* em amostras frescas obtidas de pacientes com câncer colorretal no Hospital Napoleão Laureano em João Pessoa - PB;
- Comparar a expressão do gene *TP53* na amostra tumoral e no tecido da margem do tumor.

4. METODOLOGIA

4.1 TIPO DA PESQUISA

O presente trata-se de um estudo ambispectivo: retrospectivo e prospectivo. Tem como análise de amostras pareadas (tecido tumoral x tecido saudável adjacente) sobre a expressão alterada da p53 em amostras de pacientes com câncer comparando com amostras saudáveis do mesmo paciente. Os dados foram obtidos após o processamento das amostras de pacientes selecionados para o estudo do Hospital Napoleão Laureno em João Pessoa/PB, no ano de 2022. Também foi realizado um estudo retrospectivo da expressão da P53 em amostras fixadas e parafinadas por imunohistoquímica, obtidas no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Lauro Wanderley localizado na Universidade Federal da Paraíba em João Pessoa/PB entre o ano de 2018 a 2022.

4.2 PACIENTES E AMOSTRAS

Para a expressão do gene *TP53*, foram coletadas 20 amostras de tecido dos pacientes com CCR para PCR em tempo real. Sendo 1 amostra de tecido saudável (margem do tumor) e 1 amostra de tecido tumoral de CCR, ou seja, duas amostras por paciente. As amostras foram obtidas pelo Centro Cirúrgico do Hospital Napoleão Laureano, no período de Abril a Outubro de 2022, com a colaboração do cirurgião do aparelho digestivo, Dr. Péricles Oliveira. Após ressecção cirúrgica, as amostras eram imediatamente em criotubos contendo a solução de tiocianato de guanidina e fenol (Trizol) e congeladas a -80°C até o momento do processamento.

Para análise imunohistoquímica da proteína p53, 43 amostras emblocadas em parafinas foram obtidas. Sendo realizado um estudo retrospectivo com os pacientes provenientes do Hospital Universitário Lauro Wanderley pertencente a Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares, localizado na Universidade Federal da Paraíba. Essas amostras de tecido colorretal foram obtidas do setor de Anatomia Patológica, onde foi diagnosticado CCR. A coorte retrospectiva foi constituída pelos laudos dos pacientes com CCR diagnosticados entre os anos 2018 a 2022.

4.3 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS PARA PCR

Uma pequena porção de fragmento do espécime cirúrgico foi separada como amostra, foram armazenadas em criotubos imersos com 1mL de Trizol. As amostras de tecido tumoral e normal foram submetidas à microscopia para análise histopatológica para certificação respectivamente da presença e ausência de tecido tumoral. Somente as amostras tumorais que apresentaram pelo menos 90% de malignidade e amostras normais que apresentaram 0% de malignidade foram utilizadas neste trabalho para análise da expressão gênica por PCR em tempo real.

As amostras teciduais, obtidas logo após ressecção cirúrgica foram conservados no TRIzol ® Reagent, até o momento da realização da extração de RNA das mesmas. A extração de RNA das amostras foi realizada usando protocolo de extração de TRIZOL (INVITROGEN, Brasil). O tecido congelado foi homogeneizado em um tubo eppendorf, contendo 1 ml TRIzol ® Reagent para cada 50 mg de tecido; O espécime cirúrgico foi recortado em pequenos fragmentos e homogeneizado em vórtex.

Foi adicionado 200 µl de clorofórmio. Os tubos foram vigorosamente agitados por 15 seg e incubamos por 3 min, em temperatura ambiente. Após isso, as soluções foram centrifugadas por 12.000 x *g* durante 15 min à 4 °C. A fase aquosa obtida (superior), contendo o RNA foi transferido para um tubo de microcentrífuga estéril (livre de DNase e RNase) e purificou-se com 0,5 mL de isopropanol.

A solução foi misturada virando o eppendorf três vezes, sem agitar, e deixando o RNA precipitasse por 15 min em temperatura ambiente. Foi centrifugado por 12.000 x *g*, durante 15 min a 4 °C, removendo o sobrenadante e o pellet contendo precipitado de RNA foi lavado duas vezes usando 1 mL de etanol a 75%.

Para cada lavagem foi adicionado etanol 75%, e centrifugado a 7.500 x *g* durante 3 min a 4 °C, para garantir que o pellet fosse precipitado antes que o etanol seja removido. Na última lavagem deixamos o tubo virado em cima de um papel toalha para que o etanol residual seja absorvido por capilaridade por 1-2 horas.

Após essa secagem, os pellets de RNA foram ressuspensos com 50 µl de água tratada com DEPC. Na avaliação da concentração e pureza de RNA nas amostras extraídas foi realizada usando um espectrofotômetro Nanodrop® em absorbância 260/280 nm. A absorbância em 260 nm (A260) fornece uma medida específica da concentração de ácido nucleico, e a absorbância em 280 nm (A280) e 230 nm (A 230) mede a absorção de proteína e de fundo, respectivamente, como uma indicação de possíveis contaminantes.

O comprimento de onda de 260 nm detecta tanto RNA quanto DNA, e a presença de contaminação de DNA genômico pode levar a uma superestimativa da concentração de RNA (KUANG et al., 2018).

A partir das amostras de RNA extraídas, o cDNA foi sintetizado. Utilizando-se o protocolo do kit SuperScript III First-Strand conforme descrito pelo fabricante (Invitrogen). Na primeira etapa, foram adicionados os reagentes em tubo livre de nuclease estéril e no gelo, pela ordem indicada da tabela 2. Na segunda etapa, foram adicionados os reagentes na ordem indicada pela tabela 3. Logo após, misturamos delicadamente e centrifugado. Condições de ciclagem para construção do cDNA mostradas em figura 5.

Tabela 2. Reagentes e técnicas para a síntese de DNA complementar na primeira etapa.

Amostra de RNA	RNA total	0.1 ng – 0.5 µg
Primer	Random hezamer primer	1 µl
Água, livre de nuclease		12
	Volume total	12

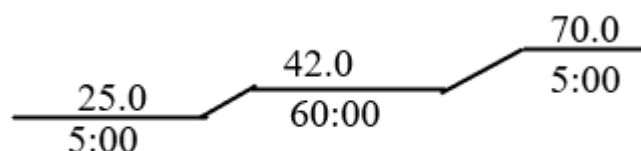
Fonte: Dados da pesquisa, 2022

Tabela 3. Reagentes e técnicas para a síntese de DNA complementar na segunda etapa:

5x Tampão de Reação	4 µl
Inibidor de RNase	1 µl
10 mM dNTP Mix	2 µl
Transcriptase reversa	1 µl
Volume total	20 µl

Fonte: Dados da pesquisa, 2022

Figura 5. Temperatura e tempos de incubação de DNA complementar (cDNA) no GeneAmp™ PCR System 9700.



Fonte: Dados da pesquisa, 2022

4.4 ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA

Os primers foram desenhados usando a ferramenta do NCBI (Nucleotide search), pela busca do gene de interesse e escolha da sequência do organismo. Neste caso humano, a escolha do NM (sequência transcrita), obtenção da sequência no formato FASTA e em seguida obtendo-se os primers. Os primers (tabela 4) foram escolhidos após análise da especificidade, usando a ferramenta de alinhamento de sequências do programa BLAST. O conteúdo Citosina/Guanina não foi superior a 55 % e a $T_m \pm 60$ °C para todos os primers testados.

Tabela 4. Sequência dos primers utilizados para amplificação dos genes.

Gene	Sequência dos primers	Tamanho do fragmento
<i>TP53</i>	F: 5'-ACACGCTTCCCTGGATTGG-3' R: 5'-CTGGCATTCTGGGAGCTTCA-3'	249 pb
<i>GAPDH</i>	F: 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3' R: 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'	249 pb

Fonte: Dados da pesquisa, 2022

Para amplificação da PCR em tempo real foi utilizada a mistura de Master Mix SYBR Green. O *GAPDH* foi utilizado como gene de referência enquanto o gene *TP53* foi o gene alvo. A reação foi realizada em triplicata. O QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System foi o equipamento utilizado para a PCR. Os reagentes e a receita estão descritos abaixo em tabela 5.

Tabela 5. Reagentes para a reação de PCR.

Componentes	Volume	Concentração final
Master Mix	4 µl	1x
Primer Forward	0.2-0.4 µl	100-200 nM
Primer Reverse	0.2-0.4 µl	100-200 nM
cDNA	3 µl	Variável
H ₂ O PCR GRADE	variável	Variável
Total	20 µl	

Fonte: Dados da pesquisa, 2022

A PCR foi realizada usando as seguintes condições: ativação térmica pré-ciclagem a 50 °C por 2 min e 50 ciclos de desnaturação a 95 °C por 12min/15s, anelamento a 64°C por 30s, extensão a 72 °C por 30 s, e uma extensão final de 65 °C por 5s, seguida de uma análise da curva de melting 95 °C por 5s. Os experimentos foram realizados em triplicatas. Os níveis de expressão gênica de *TP53* foram normalizados pelo GAPDH. Utilizamos o GAPDH, como controle. O gene de controle endógeno é o método mais comumente utilizado, pois exclui a variação associada às diferenças nas quantidades de RNA/cDNA molde (BRAGA 2020).

Calculamos pelo método de $2^{-\Delta\Delta C_t}$. Para o cálculo do $2^{-\Delta\Delta C_t}$ primeiramente, calcula-se para cada gene, a diferença nos valores de C_t entre amostra tratada e controle e assim, obtivemos o valor de ΔC_t para o respectivo gene. Em seguida, foi calculado o $-\Delta\Delta C_t$, que é a correção do ΔC_t das amostras tumorais pelo ΔC_t do grupo controle, no qual se subtraiu o ΔC_t da amostra pela média dos ΔC_t s dos seus controles. Resultando no número de vezes que esses genes alvos estavam expressos nos tecidos tumorais em relação aos respectivos tecidos adjacentes normais (ALMEIDA, 2018). Os dados obtidos foram expressos como mediana e analisados pelo teste-T.

4.5 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS PARA IMUNOHISTOQUÍMICA

Após a seleção dos laudos utilizando pelos seguintes filtros: Adenocarcinoma colônico, adenocarcinoma retal e adenocarcinoma intestinal. Os resultados sócio-demográficos e clínicos foram registrados em nosso banco de dados em Excel: sexo, idade, etnia, localização do tumor, tamanho do tumor, grau histopatológico, padrão morfológico, estadiamento patológico (TNM), linfonodos acometidos, metástase à distância e tipo histológico. Um total de 7 pacientes foram excluídos deste estudo, pelos seguintes motivos: a localização do tumor não corresponde aos critérios da pesquisa e registros duplicados. Totalizando 43 pacientes incluídos no estudo.

Na obtenção dos blocos de parafinas que contém o tumor primário dos pacientes selecionados foram realizados cortes de 4 μ m. Os cortes foram adicionados em lâminas pré-tratadas com poli-L-lisina 10% e deixados a 60°C por 24 h. Para retirar a parafina do tecido foram realizados 3 banhos com xilol por 10 min, seguidos por rehidratação com concentrações decrescentes com etanol (90, 80, 70%) por 3 min cada. Em seguida as secções foram lavadas por 3 vezes com água destilada.

A recuperação antigênica foi realizada com a digestão com tripsina e realizada depois do aquecimento a 37°C em uma solução de 0,1% de tripsina com 0,1% de cloreto de cálcio em pH 7,8. As lâminas foram incubadas na solução por 30 min a 37°C e em seguida foram lavadas com água destilada. A exposição ao antígeno em alta temperatura foi realizada por incubação em berço de vidro, com um tampão contendo 1mM de EDTA disposto em um ângulo de 45°, em potência média por cinco minutos e cinquenta segundos, seguido por oito minutos em baixa potência (Panasonic, forno de microondas de 1.500W). Após a recuperação dos sítios antigênicos, o bloqueio da peroxidase endógena foi continuado com H₂O₂ a 3%. Após 10 minutos de incubação, as lâminas foram lavadas três vezes com água destilada e uma vez com PBS pH 7,2. Os cortes foram incubados por uma hora com antígeno primário, anti-p53 biotinilados (Dako) por 10 minutos, seguido de lavagem com PBS e incubação posterior com estreptavidina conjugada com peroxidase. Após 10 minutos de incubação, as lâminas foram lavadas em PBS e uma solução com diaminobenzidina (DAB). Após a lavagem em água destilada, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina de Harris por 15 segundos, lavadas em três banhos de água e imersas em uma solução de amônia a 37 mM. Após o contra-coloração, as lâminas foram lavadas em três banhos de água morna, seguidas de desidratação em concentrações crescentes de etanol (80%, 90% e puro, respectivamente) por

três minutos em cada diluição. Após dois tratamentos por cinco minutos em xileno, as seções foram cobertas por finas lâminas montadas em bálsamo do Canadá. As lâminas foram analisadas em microscopia óptica com o objetivo de avaliar a expressão da proteína p53.

As amostras de tecido foram observadas com um microscópio de luz (REF. Olympus B46) pelo Médico Patologista Dr. Alexandre Rolim com conhecimento prévio dos dados do paciente. A visualização foi utilizada a objetiva panorâmica (10x), observando o percentual das células coradas, a intensidade inicia com a de 10x e aumentando para 20x a 40x para definição de grande aumento. Os resultados da coloração IHC receberam uma pontuação na porcentagem de células positivas. A porcentagem de células foi dividida em quatro grupos: 0, 1, 2, 3 e 4 pontos que indicam 0: 0%; 1: $\leq 10\%$; 2: $\leq 50\%$; 3: $\leq 80\%$; 4: $>80\%$ de células positivas.

4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para análise dos dados de imunohistoquímica, considerou-se como desfecho a positividade para p53. Em concordância com WANG et al., 2017 os níveis de expressão de p53 foram classificados em cinco graus divididos conforme a porcentagem positiva (0: 0%, 1: $\leq 10\%$, 2: $\leq 50\%$, 3: $\leq 80\%$, 4: $>80\%$). P53 positivo foi definido como uma coloração de mais de 10% das células tumorais. De acordo com os dados obtidos por meio da análise descritiva do banco de dados, as variáveis de exposição foram: sexo, idade, etnia, escolaridade, localização, grau histológico, padrão morfológico, estágio, presença ou ausência de metástase em linfonodos e nível do CEA.

Na análise univariada, foram estimadas as frequências absolutas e relativas para variáveis categóricas, média e desvio padrão para as variáveis quantitativas. Na análise bivariada foram realizados testes de associação, como Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fisher, também foi calculada a razão de prevalência (RP), com os respectivos intervalos de confiança (IC) de 95%.

A correlação entre os níveis de expressão do gene alvo foi avaliada pelo método do Coeficiente de Correlação de Pearson. Os dados de expressão relativa do cDNAs nos tecidos normais e tumorais, a partir dos valores de ΔCT (CT médio do gene alvo - CT médio do gene endógeno), sofreram normalização ($2^{-\Delta Ct}$) e transformação logarítmica, para melhor apresentação gráfica dos resultados (ALMEIDA, 2018). Todos os dados extraídos foram armazenados no nosso banco de dados, em uma planilha do Software Microsoft Excel® junto com os dados clinico-patológicos obtidos dos laudos patológicos dos pacientes. Os dados

foram processados através do software IBM Statistical Pacckage for the Social Sciences (SPSS®) versão 22.0 e do programa de domínio público OpenEpi, versão 3.01.

4.7 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma colorretal submetidos à ressecção cirúrgica no período de fevereiro de 2020 a agosto de 2022 e cujas amostras de tecido (tecidos tumoral e normal) foram armazenadas provisoriamente no Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular do Cbiotec/UFPB e/ou no Laboratório de Vigilância Molecular Aplicada (Lavimap) da Escola Técnica de Saúde da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Para análise imunohistoquímica foram avaliados retrospectivamente blocos de tumores parafinados de pacientes que tiveram cirurgia eletiva ou cirurgias de urgência entre o ano de 2018 e 2022 armazenados no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4.8 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foi excluído do estudo paciente com história de polipose adenomatosa familiar (PAF), Câncer Colorretal Hereditário não Poliposo (CCHNP), doença inflamatória intestinal (retocolite ulcerativa ou doença de Crohn, história de CCR sincrônico ou prévio, câncer de reto, submetido à rádio e/ou quimioterapia neoadjuvantes, com indisponibilidade de dados completos em prontuário médico ou com ausência da expressão do gene normalizador, neste caso o GAPDH).

4.9 RISCOS

Não ocorreram riscos adicionais ao procedimento cirúrgico previsto, pois o mesmo ocorreria independente deste projeto, estamos apenas solicitando sua permissão para armazenar e utilizar parte deste material. Os riscos da coleta de material foram avaliados e explicados pelo médico antes do procedimento, e foram os mesmos inerentes ao procedimento cirúrgico que o paciente iria se submeter.

4.10 BENEFÍCIOS

Não houve benefício pessoal através deste projeto para os pacientes, porém os dados da pesquisa poderão auxiliar novos estudos sobre diagnósticos e tratamentos avançados.

4.11 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo utilizou amostras teciduais coletadas de pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico de CCR, bem como amostras parafinadas confirmadas para câncer colorretal. Todos os pacientes cujas amostras foram analisadas consentiram com a coleta e o armazenamento das mesmas, conforme documento anexo I (Termo de Consentimento Livre Esclarecido). As amostras parafinadas foram obtidas de laboratórios de Patologia do Hospital Universitário Lauro Wanderley da UFPB, bem como de outros locais da Paraíba e foram liberadas com o consentimento do médico patologista responsável pelo setor. O presente estudo foi apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em humanos da UFCG (ANEXO I). O projeto foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Campina Grande, sob CAAE: 5.017.299.

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS BLOCADAS EM PARAFINAS

Foram selecionados 43 casos de CCR para compor as amostras desta pesquisa, diagnosticados entre setembro de 2018 a abril de 2022, no Hospital Universitário Lauro Wanderley – João Pessoa/PB. Durante esse período, foram selecionados 50 casos de CCR, obedecendo aos critérios de inclusão estabelecidos para este estudo, foram eliminados 7 casos nos quais a localização do tumor não corresponde aos parâmetros da pesquisa e registros duplicados. Totalizando 43 pacientes incluídos no estudo.

As características das amostras emblocadas em parafina inseridas na pesquisa foram baseadas na idade, sexo, etnia, escolaridade, tamanho do tumor, localização do tumor, grau histológico, padrão morfológico, marcador do CEA, estágio da doença e presença de metástase em linfonodos conforme mencionado na tabela 6 e 7.

Do total de casos avaliados neste estudo, verificou-se que a maioria era sexo feminino, correspondendo a 55,81 % (n = 24), enquanto 44,20 % era do sexo masculino (n = 19). A faixa etária dos pacientes com CCR no momento da coleta da amostra, compreendeu os pacientes em sua maioria com idade > 60 anos, 79,1 % (n = 34) e 16,3 % com idade < 60 anos (n = 7). Quanto à variável etnia/cor, foi demonstrado que a maioria dos pacientes eram pardos, correspondendo a 81,4 % (n = 35) e apenas 4,7 % eram brancos (n = 2).

Em relação ao nível de escolaridade, a doença foi mais frequente entre pessoas que possuíam o 1º grau incompleto, correspondendo a 34,8 % (n = 15), seguido do 2º grau completo, com 23,26 % (n=10).

Com relação a variável localização do tumor, referente ao cólon esquerdo/direito a região do cólon esquerdo apresentou maior frequência percentual no estudo com 60,47% (n = 26), seguido da região cólon direito com 39,53% (n = 17). Foi realizada a avaliação do grau histológico determinado para as amostras, e as categóricas mais frequentes: moderadamente diferenciado – G2 (n = 38; 88,37%), seguido pela categoria de tumor pouco diferenciado - Grau 3 (n = 4; 9,3%).

Dentre as análises avaliadas, observamos que o padrão morfológico tubular apresentou (n = 32; 74,42%) e misto (n = 11; 25,58%). Em seguida, o estágio II (n = 35; 81,4 %) foi mais frequente entre os pacientes, em seguida o estágio I (n = 4; 9,3%), apenas (n = 1; 2,33%) em estágio 0. Em conjunto com esses resultados, metástase em linfonodos apresentou ausentes (n = 22; 51,16%) e presentes com (n = 18; 41,86%), aos demais, esses dados não constavam em

seus respectivos laudos (n = 3; 6,98%). Quanto ao marcador CEA, (n = 13; 30,23% apresentaram >4,0 ng/ml e (n = 11; 25,58%) com <4,0 ng/ml, destes, (n = 19; 44,19%) constam esse dado ausente.

Tabela 6. Características sociodemográficas e clínicas das amostras emblocadas em parafina de pacientes com CCR, obtidas do HULW.

CARACTERÍSTICAS	N	%
SEXO		
FEMININO	24	55,81%
MASCULINO	19	44,19%
IDADE		
> 60	34	79,07%
< 60	7	16,28%
NI	2	4,65%
ESCOLARIDADE		
1º GRAU COM/INCO	15	34,88%
2º GRAU COMPLETO	10	23,26%
SUPERIOR	3	6,98%
N.I	15	34,88%
ETNIA		
BRANCA	2	4,65%
PARDA	35	81,40%
N.I	6	13,95%
LOCALIZAÇÃO		
CÓLON ESQUERDO	26	60,47%
CÓLON DIREITO	17	39,53%
GRAU HISTOLÓGICO		
POUCO DIFERENCIADO	4	9,30%
MODERADAMENTE DIFERENCIADO	38	88,37%
ALTAMENTE DIFERENCIADO	1	2,33%
PADRÃO MORFOLÓGICO		
TUBULAR	32	74,42%
MISTO	11	25,58%
ESTÁGIO		
ESTÁGIO 0	1	2,33%
ESTÁGIO I	4	9,30%
ESTÁGIO II	35	81,40%
N.I	3	6,98%
METÁSTASE EM LINFONODOS		
AUSENTE	22	51,16%
PRESENTE	18	41,86%
N.I	3	6,98%
MARCADOR CEA		
>4,0 NG/ML	13	30,23%
<4,0 NG/ML	11	25,58%

N.I	19	44,19%
-----	----	--------

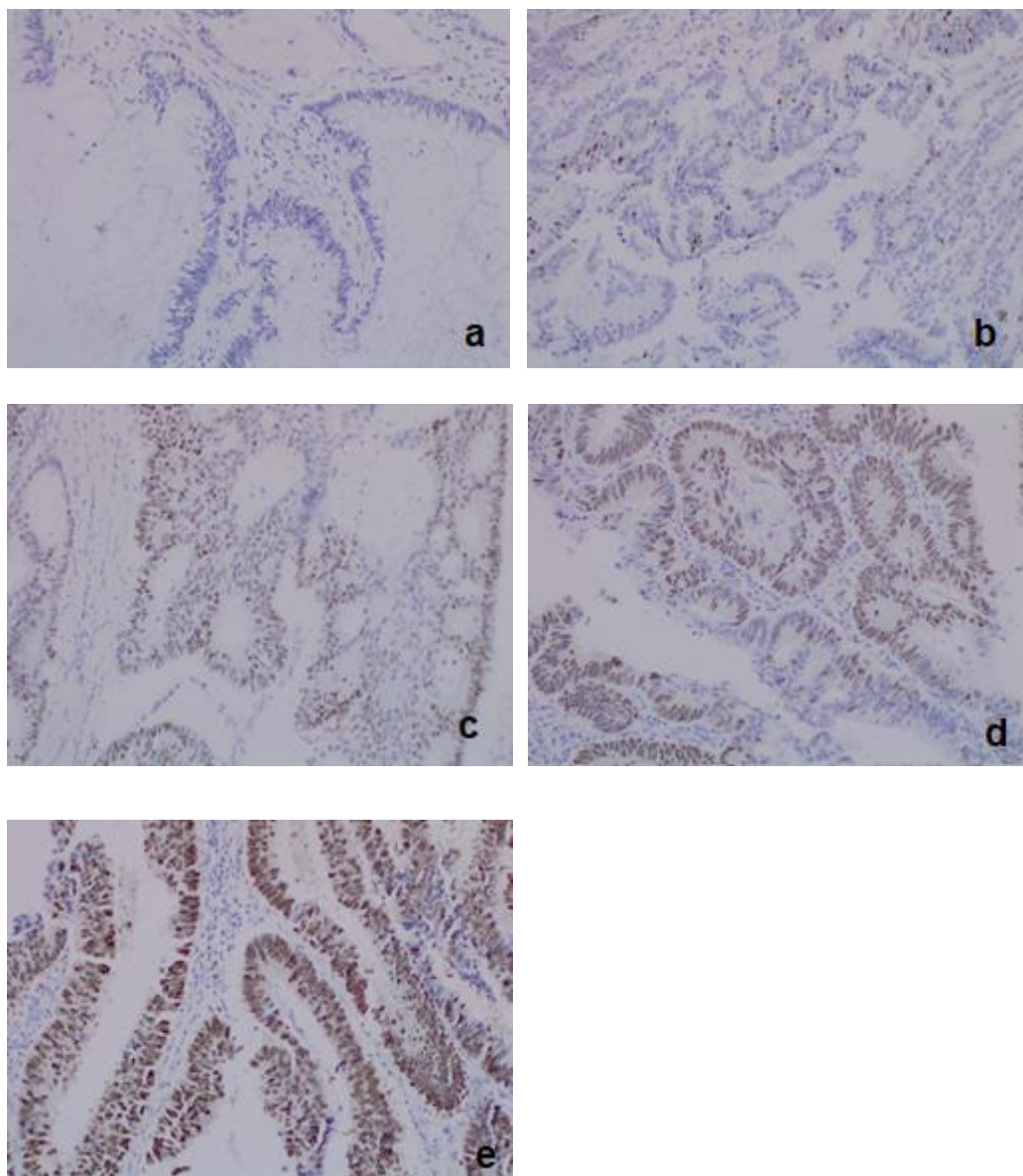
Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

N.I.= Não informado

5.2 RESULTADO DA ANÁLISE IMUNOHISTOQUÍMICA

A análise imunohistoquímica das 43 amostras emblocadas em parafina foi realizada para avaliação da expressão de p53. Verificou-se que a marcação foi predominantemente nuclear. Foram considerados positivos as amostras acima de 10% de marcação e negativo as marcações inferiores, assim como, WANG et al., 2017. A marcação de p53 foi categorizada calculando a partir da coloração marrom do núcleo da célula tumoral. O escore de distribuição foi explicado como 0% = negativo; $\leq 10\%$ = negativo; $\leq 50\%$ = positivo; $\leq 80\%$ = positivo e $> 80\%$ = positivo. A figura abaixo mostra a distribuição de p53 em células tumorais de CCR. Nossos dados demonstraram que 53,49% dos pacientes foram negativos para marcação com p53 e 46,51% foram positivos.

Figura 6. Expressão imunohistoquímica de p53 em amostras de paciente com CCR. Imagens representativas da coloração de p53 em (a) 0%, (b) $\leq 10\%$, (c) $\leq 50\%$, (d) $\leq 80\%$ e (e) $> 80\%$. Aumento final 100 x.



Legenda: A coloração marrom representa a marcação de p53 nas amostras.

5.3 RELAÇÃO DE P53 COM CARACTERÍSTICAS CLÍNICO PATOLÓGICAS DOS PACIENTES

Neste estudo, pacientes foram divididos em um grupo p53 positivo e um grupo p53 negativo, respectivamente, com base em seus níveis de expressão. A análise estatística univariada foi usada, e foram estimadas as frequências absolutas e relativas para variáveis

categóricas, média e desvio padrão para as variáveis numéricas. Na análise bivariada foram realizados testes de associação, como Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fisher também foram calculados a razão de prevalência (RP), com os respectivos intervalos de confiança (IC) de 95%. Para analisar a relação entre a imunoeexpressão na presença p53 em pacientes com CCR. As comparações dos fatores patológicos em relação à presença e ausência da p53 dos 43 pacientes inseridos na pesquisa foram apresentadas na tabela 7. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os desfechos retratados. Ao gênero ($p = 0,920$); idade <60 anos e >60 anos ($p=0,754$); escolaridade 1º grau completo/incompleto ($p=0,461$), 2º grau completo ($p=0,602$); etnia ($p=0,918$). No local do tumor foi dividido entre os dois grupos, cólon esquerdo e cólon direito ($p=0,379$). Grau de diferenciação, pouco diferenciado ($p = 0,759$) e moderadamente diferenciado ($p= 0,800$); padrão morfológico ($p= 0,434$); estágio 0 ($p= 0,800$) e estágio I ($p = 0,555$), respectivamente; metástase em linfonodos ($p = 0,726$); e marcador CEA ($p= 0.219$).

Tabela 7. Comparação do nível da Imunoexpressão de P53 de acordo com parâmetros clínicos prognósticos dos casos de câncer colorretal.

Variáveis	Presença de P53				
	Sim n (%)	Não n (%)	RP	IC 95%	p-valor
Sexo					
Masculino	09 (20,9)	10 (23,3)	1,03	0,54-1,96	0,920*
Feminino	11 (25,6)	13 (30,2)			
Idade					
≥60 anos	17 (41,5)	17 (41,5)	1,16	0,46-2,92	0,754 [†]
<60 anos	03 (7,3)	04 (9,8)			
Escolaridade					
1º grau completo/incompleto	08 (28,6)	07 (25,0)	1,77	0,61-5,12	0,461 [†]
2º grau completo	03 (10,7)	07 (25,0)	1,60	0,30-8,48	0,602 [†]
Superior	01 (3,6)	02 (7,1)			
Etnia					
Branca	01 (2,7)	01 (2,7)	1,09	0,26-4,58	0,918 [†]
Parda	16 (43,2)	19 (51,4)			
Localização					
Cólon esquerdo	14 (32,6)	12 (27,9)	1,52	0,73-3,18	0,379*
Cólon direito	06 (14,0)	11 (25,6)			0,733 [†]
Grau histológico					
Pouco diferenciado	01 (2,3)	03 (7,0)	0,52	0,09-2,97	0,759 [†]
Moderadamente diferenciado	18 (41,9)	20 (46,5)	0,25	0,04-1,36	0,800 [†]
Altamente diferenciado	01 (2,3)	00 (0,0)			
Padrão morfológico					
Tubular	16 (37,2)	16 (37,2)	1,37	0,58-3,23	0,434*
Misto	04 (9,3)	07 (16,3)			
Estágio					
Estágio 0	00 (0,0)	01 (2,5)	0,75	0,03-8,35	0,800 [†]
Estágio I	03 (7,5)	01 (2,5)	0,83	0,04-6,18	0,555 [†]
Estágio II	16 (40,0)	19 (47,5)			
Metástase em linfonodos					
Ausente	11 (27,5)	11 (27,5)	1,12	0,57-2,18	0,726*
Presente	08 (20,0)	10 (25,0)			
Marcador CEA					
>4,0 ng/ml	08 (33,3)	05 (20,8)	1,69	0,69-4,12	0,219*
<4,0 ng/ml	04 (16,7)	07 (29,2)			

*Qui-quadrado de Pearson.

[†]Exato de Fisher.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS FRESCAS

As amostras frescas foram obtidas a partir do espécime cirúrgico, sendo tecido tumoral e normal do mesmo paciente, registrados no Hospital Napoleão Laureano, João Pessoa – PB. Diagnosticado com CCR entre 2021 e 2022. As amostras foram obtidas após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em humanos da UFCG (ANEXO I). O projeto foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Campina Grande, sob número de parecer: 5.017.299. Em seguida, sorteadas de acordo com os critérios de inclusão.

Um total de 13 amostras foram coletadas dos respectivos pacientes, eliminamos os casos nos quais o material genético não estava adequado para seguir nas análises (n=3). Sendo assim, inclusos 10 casos, obedecendo aos critérios de inclusão estabelecidos para este estudo e com amostra aprovada para nossas análises.

As análises foram realizadas com os 10 pacientes de amostras frescas portadores de CCR. A frequência entre os gêneros foi (n = 6; 60%) pertencente ao sexo feminino e (n= 4; 40% pertencente ao sexo masculino. A localização do tumor relacionado ao lado, corresponde a (n= 5; 50%) na porção do cólon esquerdo, (n = 5; 50%) no cólon direito. A média de idade encontrada nos pacientes portadores de CCR foi maior de 60 anos. Em relação à faixa etária, 90% dos indivíduos possuíam idade superior a 60 anos (9 casos), apenas 10% com idade inferior aos 60 anos (1 caso).

A maioria dos pacientes apresentou a diferenciação moderadamente (n = 8; 80%), a avaliação de presença de metástase para outros órgãos foi negativa para 6 casos (60%) e positiva para 4 casos (40%) e em metástase para órgãos linfáticos 5 (50%) foram positivas e 5 (50%) negativas (Tabela 8). No estágio do tumor, 6 casos (60%) foram classificados como estágio II e 3 casos (30%) com estágio I. Quando avaliamos o tipo histológico (n=9; 90%) do tipo tubular. As características clínico-patológicas dos pacientes estudados estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8. Distribuição da frequência das variáveis entre os pacientes das amostras frescas com câncer colorretal do estudo.

CARACTERÍSTICAS	N	%	Desvio padrão
SEXO			
MASCULINO	4	40%	1
FEMININO	6	60%	
TOTAL	10		
LOCALIZAÇÃO			
DIREITO	5	50%	0
ESQUERDO	5	50%	
TOTAL	10		
IDADE			
>60	9	90%	4
<60	1	10%	
TOTAL	10		
DIFERENCIAÇÃO			
BAIXA	1	10%	3,299831646
MODERADAMENTE	8	80%	
ALTA	1	10%	
TOTAL	10		
METÁSTASE PARA OUTROS ÓRGÃOS			
SIM	4	40%	1
NÃO	6	60%	
TOTAL	10		
METÁSTASE PARA ÓRGÃOS LINEÁTICOS			
SIM	5	50%	0
NÃO	5	50%	
TOTAL	10		
ESTÁGIO			
ESTÁGIO I	3	30%	2,054804668
ESTÁGIO II	6	60%	
N.I	1	10%	
TOTAL	10		
TIPO HISTOLÓGICO			
TUBULAR	9	90%	4
MISTO	1	10%	
TOTAL	10		

Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

N.I.= Não informado

5. 5 AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE *TP53* POR PCR EM TEMPO REAL

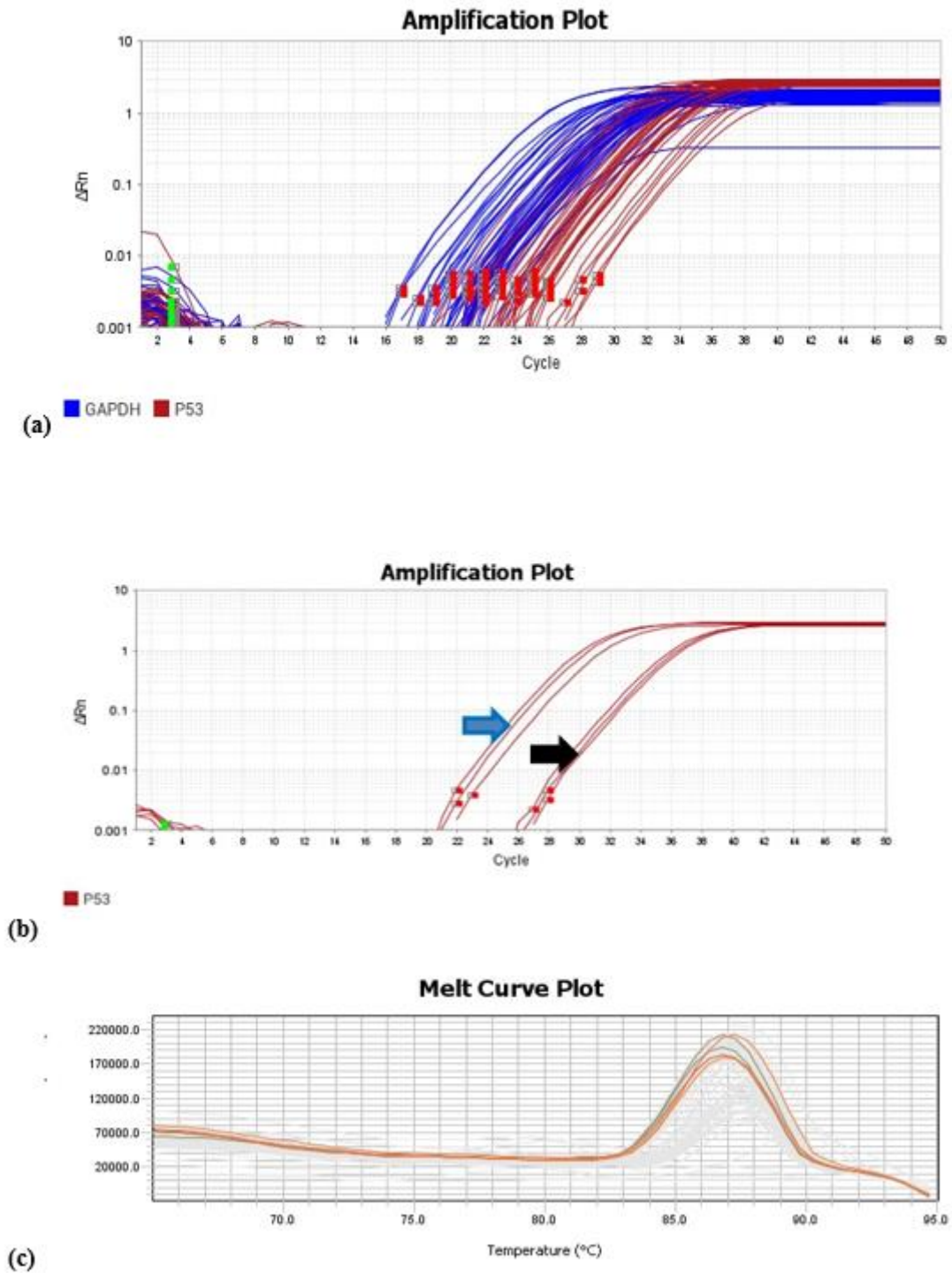
A técnica de qPCR permite quantificar diferenças no nível de expressão de um marcador específico (gene) entre as diferentes amostras (BRAGA, 2020). Para a análise de expressão gênica, utilizamos os cDNAs extraídos ($n = 13$) das amostras normais e tumorais. As amostras que não apresentaram uma variação da razão 260/280 nm entre 1,8 e 2,1, indicando que os cDNAs não estavam em condições adequadas para os testes de transcrição reversa, e então foram excluídos do estudo ($n = 3$).

Das amostras analisadas ($n = 10$), os dados obtidos são expressos como desvio padrão e analisados pelo teste-T. Utilizando o método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$, os níveis de expressão de *TP53* variaram de 0,01 a 5,37.

Nas análises da expressão gênica de *TP53* por PCR em tempo real, realizadas em amostras frescas ($n=10$), observou-se uma maior expressão de *TP53* em tecidos normais (adjacente ao tumor) em relação ao tecido tumoral ($p < 0,05$), mostrado na figura 8.

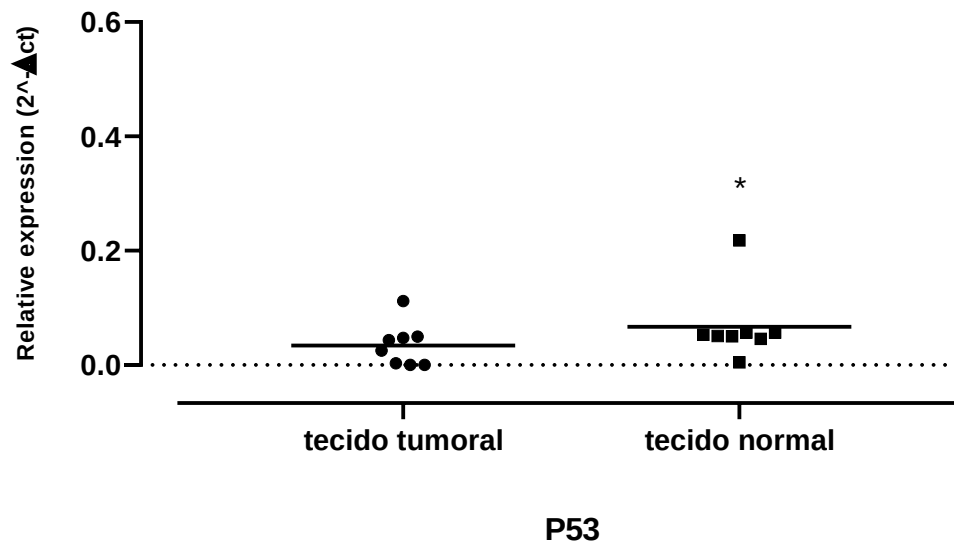
Associando com a expressão gênica, de acordo com dados de acompanhamento obtidos por meio de formulários e laudo patológico dos pacientes, mostrado na tabela 8. Caracteriza um público feminino e idoso, como apontado em estudos anteriores. Os casos apresentam uma maior parte dos pacientes em estágios avançados (Estágio II) e uma diferenciação moderada. Porém, parcialmente sem metástases em outros órgãos e acometimento dos linfonodos.

Figura 7. Amplificação cDNA das amostras. (a) Placa de PCR do gene p53 e endógeno GAPDH. (b) cDNA das amostras do tecido tumoral e saudável (c) Curva de Melt.



Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Figura 8. Expressão do gene *TP53* em amostras frescas de tecido tumoral e normal pacientes com câncer colorretal.



Legenda: Os dados são expressos como desvio padrão de 10 amostras de tecido tumoral e 10 amostras de tecido normal. * $p < 0,05$ foi considerado significativo. Foi realizado o Teste t-student.

6. DISCUSSÃO

A relação entre a expressão de p53 com as características clínico-patológicas e sociodemográficos dos adenocarcinomas colorretais tem sido abordada, contudo não foi possível confirmar a sua utilidade como biomarcador. P53 apresenta um papel importante no que diz respeito ao desenvolvimento e progressão do câncer, assim como a resposta à quimioterapia (SANTOS, 2016).

A expressão de p53 é muito significativa no CCR, podendo auxiliar para a uma decisão no tratamento da doença, considerando um marcador de prognóstico. Quanto menor a diferenciação do tumor, maior a expressão de p53, portanto a proteína pode indicar o comportamento e malignidade do CCR. A sua expressão, intensifica o maior risco de morte e recidiva, contudo não interfere no desfecho clínico do tratamento quimioterápico (GUEDES, 2019).

Existem diversos fatores que estão relacionados ao prognóstico do CCR, tais como, idade avançada, performance status, diagnóstico a partir de uma situação de urgência, estágio tumoral, invasão linfovascular, margens cirúrgicas positivas e níveis de antígeno carcinoembrionário (CEA) (CUNHA et al., 2018). O presente estudo abordou algumas características associadas com o fator prognóstico do CCR, demonstrando através de dados sociodemográficos juntamente com fatores clínicos patológicos.

Em nossos resultados foi verificado que a maior incidência no número de casos de CCR ocorreu no gênero feminino, assim como Du e colaboradores (2022) destacaram na sua pesquisa uma maior proporção em mulheres do que em homens com câncer colorretal. YU e colaboradores (2020) citaram que o câncer colorretal foi classificado como a segunda neoplasia mais comum em mulheres e a terceira mais comum em homens, em todo o mundo. Gomes e colaboradores (2018) no período de setembro de 2015 a setembro de 2016, avaliaram 104 exames de colonoscopia com seus respectivos laudos histopatológicos no serviço de Endoscopia do HU-UFPI, sendo maioria (60,6%) do sexo feminino.

Em sua pesquisa, Hultcrantz (2021), relatou que as mulheres têm menor incidência de CCRs, e os estudos de colonoscopia mencionaram que elas têm menos adenomas colorretais do que os homens. Esse mesmo estudo cita que as mulheres têm mais cânceres do lado direito, visto que, são mais difíceis de localizar na triagem, e esses cânceres também mostram mais instabilidade de microssatélites, típico de cânceres do lado direito. O sangramento nas lesões do cólon difere entre homens e mulheres, foi ressaltado um fato bem importante, onde as mulheres têm menos hemoglobina nas fezes do que os homens.

Liu e colaboradores (2017) observaram em seus estudos, que pacientes idosos e mulheres se mostraram mais propensos a desenvolver CCR. Hormônios relacionados ao sexo também podem afetar a frequência relativa de CCRs entre mulheres. Braga (2020), discordou e descreveu que, para os homens, existem maiores riscos para o CCR e há condições em que os hormônios femininos exerçam uma proteção para as mulheres.

Petersson e colaboradores (2020) argumentaram que o CCR frequentemente afeta os idosos, e apenas 4% a 5% dos casos são diagnosticados em pacientes com menos de 50 anos. Porém, um aumento de casos de câncer colorretal nos pacientes mais jovens tem sido relatado em literaturas recentes, embora poucos deles sejam estudos populacionais. Curiosamente, pacientes com idade inferior a 50 anos também são mais propensos a apresentar estágios tumorais mais avançados.

Campos et al., 2017 em seu estudo retrospectivo, destacou o autor O'Connell et al. o qual, analisaram dados de 6425 pacientes em 55 trabalhos na literatura. Enquanto a maioria dos artigos (n=37) definiram casos mais jovens, aqueles abaixo de 40 anos de idade, quatro artigos (7%) pacientes com menos de 35 anos, 14 artigos (25%) observaram pacientes antes dos 30 anos e apenas um trabalho levou em conta pacientes com menos de 25 anos.

Dalla Valle e pesquisadores (2017), demonstra que alguns aspectos sócio-culturais interferem no processo de busca precoce por tratamento. A literatura demonstra que minância existe predominância deste tipo de câncer entre indivíduos do sexo masculino, consumidores de álcool e tabaco, com baixo nível educacional, estão associados a demora na busca pelo início do tratamento.

Em associação à escolaridade, o estudo De Lima Sardinha (2021), no estado do Maranhão em 2018, apontou a terceira maior taxa de analfabetismo do país, condição a qual, interfere em todas as fases da vida da pessoa. O analfabetismo torna o indivíduo vulnerável socialmente a continuar na pobreza, o que facilita ter problemas de saúde e não reconhecer a doença. Sendo assim, a falta de conhecimentos sobre prevenção, sintomatologia, e diagnóstico do CCR apresenta diferenças consideráveis quando comparada ao menor e maior nível educacional, em relação ao reconhecimento precoce dos sinais de alerta, identificação dos fatores de risco, adesão ao tratamento e taxa de sobrevida global.

Maciel et al., (2019), enfatizou em sua pesquisa aspectos sobre a escolaridade em pessoas com câncer colorretal, e em comparação com nossos achados, foi demonstrado que 40% dos pacientes possuem Fundamental Incompleto, seguido de 20% com Fundamental Completo e 11,4% sem nenhum nível educacional, sendo que os 28,6% restantes apresentando os demais níveis educacionais. A maioria dos pacientes tem nível fundamental

incompleto, e apresentam dificuldades em relação à adesão dos tratamentos e compreensão do diagnóstico. Foi demonstrado nesse estudo, que existe essa semelhança em relação ao nível educacional dos participantes. Visto que, apresentam uma prevalência maior de pessoas analfabetas ou semianalfabetas. Por isso, a escolaridade é considerada atualmente, um aspecto relevante para o entendimento das diretrizes para o cuidado com o estoma, dispositivos com a coleta de resíduos, o acompanhamento regular da saúde, nutrição e higiene, bem como as diversas condições estabelecidas a partir da cirurgia.

Sobre a etnia, De Santis e colaboradores (2016), relataram taxas de incidência de CCR sendo 27% maiores em homens negros do que em homens brancos, e 22% maiores em mulheres negras do que em mulheres brancas. O que se destaca são as taxas de mortalidade, que são 52% maiores em homens negros do que em homens brancos e 41% maiores em mulheres negras do que em mulheres brancas.

Acredita-se que taxas mais baixas de rastreamento e consequentemente taxas mais altas de incidência de CCR, em estágio avançado, durante o diagnóstico entre afro-americanos contribuem para altas taxas de mortalidade, além de baixa qualidade de vida. Porém, as disparidades raciais/étnicas na sobrevida de pacientes com CCR também podem refletir diferenças no status socioeconômico, tratamentos recebidos e comorbidades (BELACHEW et al., 2020).

É importante destacar que em análises da localização do tumor, o câncer colorretal do lado direito (CCR originado do ceco, cólon ascendente, flexura hepática) e CCR do lado esquerdo (originado da flexura esplênica, cólon descendente, cólon sigmóide) representam entidades clinicamente distintas com diferenças significativas em seus prognósticos e resultados do tratamento. Foi relatado que o CCR do lado direito tem pior prognóstico do que o CCR do lado esquerdo (GUO et al., 2022).

Quando avaliamos a lateralidade no nosso estudo, o cólon esquerdo demonstrou maior percentual. Braga (2020) destacou em seu estudo, que o perfil dos pacientes com câncer de cólon direito são pessoas mais velhas, sendo mais frequentes em mulheres, e com lesões mais avançadas no diagnóstico.

Liu et al., 2017, citou que, a localização do tumor revela um risco aumentado de mortalidade para pacientes com tumor no lado direito, em comparação com aqueles lado esquerdo, em relação a todos os estágios. Em seus resultados, observou-se que os casos de CCR eram mais prováveis de mulheres (46,60% vs. 40,37% e 40,43%) e idosos (idade > 65 anos: 35,81% vs. 31,36% e 26,17%, respectivamente). Os casos de CCR apresentaram menor

frequência de tumores estágio I (11,54% vs. 15,01% e 24,40%, respectivamente) e maior frequência de tumores pouco diferenciados (28,69% vs. 18,63% e 19,23%, respectivamente).

Silva (2016) descreveu que o câncer localizado do lado direito é mais propenso a ser diploide, do tipo mucinoso, ter alta instabilidade de microssatélites e metilação em ilhas CpG. No entanto, os localizados do lado esquerdo são muitas vezes lesões infiltrativas, com sintomas obstrutivos, apresentam instabilidade cromossômica, e mais frequentemente aneuploidia. Em outros estudos citados pela autora, concluiu-se que cânceres do lado direito teriam um pior prognóstico, sendo realizados estudos para confirmar essa hipótese e viram que na análise incluindo múltiplas variáveis não houve diferença na sobrevida de 5 anos entre as localizações do tumor. Porém, ao investigar sobre a doença em seus estágios houve uma maior sobrevida nos cânceres do lado direito no estágio II, e uma menor sobrevida nos cânceres do mesmo lado, sendo no estágio III.

Deng (2017) citou em seu estudo que a etiologia do câncer retal é diferente dos outros tumores do intestino grosso, pois o tumor de reto e cólon distais estão associados com a ingestão de água proveniente de fontes poluídas, alcoolismo e tabagismo. Por outra parte, os tumores de cólon proximal e transversal estão correlacionados com dietas ricas em gorduras e alimentos de origem animal, sedentarismo e obesidade.

Sobre o grau de diferenciação do tumor, este se caracteriza pela capacidade de diferenciação entre o tumor e os tecidos normais (QI et al., 2018).

De acordo com as atualizações da OMS, Souto Maior (2017) complementou em seu estudo sobre as classificações do grau de diferenciação, as neoplasias classificadas bem diferenciadas caracterizam com mais de 95% na massa tumoral composta por formações glandulares, moderadamente diferenciadas 50% a 95% de formações glandulares, mal diferenciadas entre 5% e 50% de formações glandulares e indiferenciadas <5 de formações glandulares.

Siregar e colaboradores (2019) em seus achados histopatológicos, analisaram amostras com grau histológico em sua maioria do tipo bem diferenciados (41,3%), enquanto a maioria dos carcinomas colorretais em nosso estudo os moderadamente diferenciados apresentaram maior número de casos.

Fuini e colaboradores (2018) discorreu que os tumores típicos do CCR em jovens têm mostrados características a pouca diferenciação, apresentando o aspecto mucinoso e a presença de células em anel de sinete, considerando todos tidos como sinais de gravidade desse câncer.

Em comparação aos nossos achados, Postiglioni e pesquisadores (2020) analisaram 122 pacientes cujo blocos de parafina confirmaram o diagnóstico com adenocarcinoma colorretal e submetidos ao tratamento no período entre 2010 e 2015 do Hospital Universitário Evangélico Mackenzie em Curitiba – PR. Incluindo ambos os gêneros e sendo maiores de 18 anos. Em relação ao grau de diferenciação, a classificação predominante no estudo foi o tumor moderadamente diferenciado em 101 amostras com a porcentagem de 82,8%, logo após, o pouco diferenciado em 10 amostras (8,2%) e bem diferenciado com apenas 8 amostras (6,6%), apresentou-se 3 amostras com resultado indeterminado (2,4%).

Bremer e colaboradores (2020) estudaram 122 pacientes em distribuição de gêneros, 63 eram homens (51,6%) e 59 mulheres (48,4%). Em maioria dos casos possuía entre 50-70 anos de idade no momento do diagnóstico (n=69, 56,6%); concordando com o nosso estudo, o grau de diferenciação, o moderadamente diferenciado também apresentou maior número de casos (n=101, 82,8%).

Um estudo recente sobre os fatores prognósticos de sobrevida em pacientes com metástase peritoneal de câncer colorretal, Mendonza-Moreno e colaboradores (2022) verificaram que o baixo grau de diferenciação e a presença de um componente mucoso como preditores de pior prognóstico. A associação foi previamente descrita com a adição de tumores com células em anel de sinete. Nesse estudo, os pacientes com histologia de adenocarcinoma não mucinoso com grau de diferenciação bom ou moderado tiveram maior sobrevida.

Em concordâncias nas análises de Liu e pesquisadores (2017), baseada em estágios revelou que os CCRs consistiam em uma proporção maior de tumores em estágio II, cânceres em estágio T alto, porém os carcinomas apontaram pouco diferenciados e tumores com componentes celulares mucinosos ou em anel de sinete.

Na contagem mais alta de linfonodos envolvidos e uma produção diminuída de linfonodos (<12) está relacionada a um pior prognóstico. A recorrência em pacientes com CCR linfonodo positivo são de cerca de 30 a 35%, com a maioria das recorrências ocorrendo nos primeiros três anos após a ressecção cirúrgica. Em pesquisas, onde avaliam a sobrevida global de cinco anos, os pacientes com linfonodo positivo variam de 30 a 60%, em comparação com 70 a 90% na doença de linfonodo negativo (CHEN et al., 2021).

Baqar em seu estudo juntamente com seus pesquisadores (2019), avaliaram os níveis elevados de CEA, correlacionando-se com o aumento da idade e estágios T mais altos. Ainda descobriram que a inclusão de vários níveis de CEA no sistema TNM poderia prognosticamente causar migração de estágio. Especificamente, os pacientes que tinham

estágios TNM mais baixos (por exemplo, I/II), porém apresentavam níveis mais altos de CEA, tinham um prognóstico semelhante ou pior em comparação com os estágios TNM mais altos correspondentes (III), mas com níveis normais de CEA. No estudo atual, os estágios II e III do TNM foram preditores independentes para as taxas de sobrevida global e livre de doença. Os pacientes tiveram uma melhor sobrevida global com baixo CEA ($<2,5$ ng/ml) e TNM estágio III, mas não houve diferença na sobrevida global e livre de doença para pacientes com níveis mais altos de CEA (≥ 5 ng/ml) e estágios II e III.

Cunha (2018), relatou que, nos estágios iniciais do CCR, algumas das características clínicas e patológicas associadas ao pior prognóstico são tumores T4, tumores pouco diferenciados, presença de linfonodos acometidos ou número de linfonodos ≥ 27 analisados inferior a 12, invasão vascular e perineal, quadros de obstrução ou perfuração e margens de ressecção cirúrgica acometidas.

Guedes (2020) destacou a importância do exame de IHQ. A p53 é essencial para a diferenciação dos tipos de tumor, e na avaliação de sua agressividade e identificação da origem de metástases. Com isso, nas análises do exame de um IHQ para p53, o núcleo da célula apresenta vários 35 grânulos marrons, quando é positivo, e possibilita assim sua visualização no núcleo celular.

Não foram encontradas diferenças estatísticas nos testes utilizados em nosso estudo, os números de amostras incluídos no trabalho podem ter limitado nossos resultados. Kim et al., (2022), em sua pesquisa analisou o total de 204 pacientes com CCR que foram operados no Jeonbuk National University Hospital na Coreia do Sul, entre maio de 2018 e maio de 2019, associou entre os fatores clínico-patológicos da variação de *TP53* e a expressão de p53. Nos dados obtidos no estudo, apontaram que os pacientes com CCR com expressão negativa de p53 têm melhor sobrevida global do que os pacientes com CCR com expressão positiva de p53. Além de que, a análise multivariada confirmou que o IHC de p53 positivo é um fator independente de mau prognóstico para pacientes com CCR. Contudo, nenhum outro critério para p53 IHC (padrão de tipo selvagem/padrão de tipo aberrante) ou estado variacional de *TP53* impactou no prognóstico de pacientes com CCR. A IHC da expressão de p53 revela não apenas o estado variacional de *TP53*, mas também o estado pós-transcricional da proteína p53.

Wang et al., 2022 explorou as correlações entre as mutações do KRAS e a expressão do p53 e avaliando possíveis valores prognósticos no CCR, utilizado a técnica por PCR e a coloração IHC. Um total de 266 pacientes participaram do estudo 154 homens (55,6%) e 112 mulheres (40,4%) com idade variando de 23 a 87 anos e média de 63 anos. Houve 113 casos

(40,8%) com alta expressão de p53 e 153 casos (55,2%) com expressão normal. Foi visto que, pacientes com câncer colorretal com mutações KRAS com alta expressão de p53 têm um prognóstico ruim.

Lu et al., (2017) explorou 677 pacientes acometidos com adenomas de pólipos colorretais, com objetivo de associar a importância na detecção precoce e prognóstico, afim de investigar o percentual de CCR associando com suas características clínico-patológicas. Foi avaliado a expressão de Ki-67, p53 e *K-ras* na mucosa intestinal desses pacientes com pólipos colorretais. Na expressão relativa a p53 estava diminuída em pacientes com neoplasia intraepitelial de alto grau em comparação com pacientes com pólipos hiperplásicos e controles saudáveis. Finalizou com análise sistemática revelando que 1,03% dos pacientes foram submetidos à polipectomia e o exame histológico confirmou ser o estágio inicial do CCR.

Braga (2020) A quantificação por qPCR avalia as amostras durante a fase exponencial da reação de PCR, é esperado que a quantidade de cópias de um gene marcador venha a multiplicar caso a eficiência da reação seja de cem por cento, em cada ciclo. A análise do ciclo limiar (Ct), ou seja, o número do ciclo no qual os sinais são detectados acima da fluorescência de fundo (ruído), pode ser empregada para classificar os níveis de expressão gênica, relacionando os valores de Ct para um gene de controle (quantificação relativa). A quantificação relativa é a abordagem mais amplamente utilizada, onde baseia-se na análise de um determinado marcador. Para a eficiência dos resultados obtidos, além de outros fatores, é necessária a seleção de genes normalizadores (também chamados de genes de referência interna, genes endógenos, ou de 'housekeeping genes) adequados (DA FONSECA et al., 2022).

Sadia e pesquisadores (2020) investigou o perfil de expressão do gene *TP53* usando PCR em tempo real em diferentes graus de tecidos de câncer de mama, visto que, nenhum estudo desse tipo foi documentado anteriormente. O estudo analisou 30 amostras frescas e conclui que houve uma expressão anormal do gene *TP53* em todos os graus dos tumores de mama.

Almeida (2018), em seu estudo avaliou os níveis de expressão gênica de P300 e CITED-1 em tecido saudável e tumoral no carcinoma de tireóide, utilizando o cálculo do $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Nos resultados, a expressão de P300 foi maior nos tecidos normais em relação aos tecidos tumorais e já na expressão relativa de CITED-1, a expressão foi maior nos tecidos tumorais em relação aos tecidos normais ($2^{-\Delta\Delta Ct} > 1$).

Por isso, os dados epidemiológicos refletem impactos no rastreamento do câncer, principalmente devido ao aumento de casos de CCR nos últimos 30 anos. Esta realidade é atribuída a fatores ambientais, que estão relacionados ao estilo de vida (sedentarismo, desnutrição, obesidade, tabagismo) e com o envelhecimento da população. Contudo, a triagem é baseada nos fatores de risco. A idade foi considerada uma das principais características da doença. Porém, ao longo dos anos, foi visto o surgimento de novos casos de CCR em indivíduos com menos de 50 anos. Portanto, o rastreamento se tornou cada vez mais prematuro. O rastreio deve iniciar aos 45 anos, pois a detecção precoce do CCR pode reduzir significativamente as taxas de mortalidade (MOTA et al., 2021)

7. CONCLUSÃO

O presente estudo investigou as principais características sociodemográficas, bem como as clínicas patológicas de pacientes com CCR no Hospital Universitário da Paraíba e Hospital Napoleão Laureano em João Pessoa- PB. A análise dos dados dessa coorte permitiu conhecer melhor o perfil da doença nestes hospitais, destacando as principais características mencionadas em literaturas anteriores, tais como: idade superior a 60 anos e o gênero feminino. Aproximadamente 46,5% das amostras analisadas apresentaram marcação positiva para P53, que significa expressão da proteína p53, contudo não foi possível relacionar significativamente a expressão deste marcador com os fatores prognósticos em estudo.

Esse trabalho demonstrou que o gene *TP53* estava menos expresso nas amostras de tecido tumoral, comparado ao tecido normal do mesmo paciente.

Apesar de ser um trabalho piloto, nosso trabalho evidencia que estudos de base epidemiológica juntamente com as informações clínico-patológica e estudo de biomarcadores como p53 são importantes, pois permitem conhecer os fatores envolvidos numa dada população buscando otimizar estratégias de prevenção, diagnóstico e prognóstico de doenças como CCR.

REFERÊNCIAS

ACS. American Cancer Society | Information and Resources about for Cancer: Breast, Colon, Lung, Prostate, Skin.

ASSUNÇÃO, Murilo Biato et al. Câncer colorretal e as dificuldades do paciente ostomizado. **Anais da Semana Universitária e Encontro de Iniciação Científica** (ISSN: 2316-8226), v. 1, n. 1, 2021.

AKIMOTO, Naohiko et al. Rising incidence of early-onset colorectal cancer—A call to action. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 18, n. 4, p. 230-243, 2021.

ALMEIDA, Thais Aparecida Gomes. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE P300 E CITED-1 EM CARCINOMAS PAPILÍFEROS DE TIREÓIDE. (Ciências Ambientais e Saúde) – PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS p. 75. 2018. **Dissertação de Mestrado**.

BAQAR, Ali Riaz et al. The role of preoperative CEA in the management of colorectal cancer: A cohort study from two cancer centres. **International Journal of Surgery**, v. 64, p. 10-15, 2019.

BELACHEW, Alem A. et al. Patterns of racial/ethnic disparities in baseline health-related quality of life and relationship with overall survival in patients with colorectal cancer. **Quality of Life Research**, v. 29, n. 11, p. 2977-2986, 2020.

BHULLAR, D. S. et al. Biomarker concordance between primary colorectal cancer and its metastases. **EBioMedicine**, v. 40, p. 363-374, 2019.

BRAGA, Lucélia Antunes Coutinho. Avaliação do perfil de expressão gênica na lateralidade do câncer colorretal humano para um painel de marcadores e produção da proteína recombinante e anticorpos para tetraspanina. (Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS p.112. 2020. **Dissertação de Mestrado**.

BREMER, Fabiola Pabst et al. OS IMUNOMARCADORES CDX2, BETA-CATENINA E WNT SÃO ÚTEIS PARA AVALIAR A CHANCE DE PROGRESSÃO DE DOENÇA OU A EVOLUÇÃO PARA ÓBITO EM PACIENTES COM CÂNCER COLORRETAL?. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 33, 2020

BUSKERMOLLEN, Maaïke et al. Colorectal cancer screening with faecal immunochemical testing, sigmoidoscopy or colonoscopy: a microsimulation modelling study. **Bmj**, v. 367, 2019.

CAMPOS, FÁBIO GUILHERME et al. Incidência de câncer colorretal em pacientes jovens. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 44, p. 208-215, 2017.

CALLEGARI, Diogo Pessuto. Desacetilases de histonas no câncer colorretal: expressão gênica, indicadores prognósticos e perspectivas para a terapia epigenética. (Ciências Biológicas – Genética) - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE

MESQUITA FILHO” INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU. p. 34. 2021. **Dissertação de Mestrado.**

CHEN, Kabytto et al. Pathological features and prognostication in colorectal cancer. **Current Oncology**, v. 28, n. 6, p. 5356-5383, 2021.

DA CUNHA, LORENA PIRES. IMPACTO DA SARCOPENIA NO PROGNÓSTICO DO CÂNCER COLORRETAL METASTÁTICO. (Ciências - Oncologia). UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS. p. 73. 2018. **Dissertação de Mestrado.**

DA FONSECA, RENATA NOBRE et al. AVALIAÇÃO DE GENES DE CONTROLE ENDÓGENO PARA PCR EM TEMPO REAL PARA ANÁLISE DA TRANSCRIÇÃO GÊNICA DE CITOCINAS. (XXIV ENPÓS). UFPEL. p. 4. 2022.

DALLA VALLE, Thaína; TURRINI, Ruth Natalia Teresa; DE BRITO POVEDA, Vanessa. Fatores intervenientes para o início do tratamento de pacientes com câncer de estômago e colorretal. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 25, p. e2879, 2017.

DENG, Yanhong. Rectal cancer in Asian vs. Western countries: why the variation in incidence?. **Current treatment options in oncology**, v. 18, n. 10, p. 1-8, 2017.

DE LIMA, Jéssica Ferreira et al. CÂNCER COLORRETAL, DIAGNÓSTICO E ESTADIAMENTO: REVISÃO DE LITERATURA. **Arquivos do MUDI**, v. 23, n. 3, p. 315-329, 2019.

DE LIMA SARDINHA, Hélia; NUNES, Priscila Praseres; DOS SANTOS ALMEIDA, Joelson. Perfil epidemiológico de casos do câncer colorretal em hospital de referência no Maranhão, Brasil. **O Mundo da Saúde**, v. 45, n. s/n, p. 606-614, 2021.

DE PALMA, Fatima Domenica Elisa et al. The molecular hallmarks of the serrated pathway in colorectal cancer. **Cancers**, v. 11, n. 7, p. 1017, 2019.

DE SANTIS, CE, Siegel, Rl, Sauer, Ag, Miller, Kd, Fedewa, Sa, Alcaraz, Ki E Jemal, A. Estatísticas de câncer para afro-americanos, 2016: Progresso e oportunidades na redução das disparidades raciais. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, 66: 290-308, 2016.

DE RENZI, Gianluigi et al. Molecular biomarkers according to primary tumor location in colorectal cancer: current standard and new insights. **Oncology**, v. 99, n. 3, p. 135-143, 2021.

DU, Songtao et al. Prognostic and therapeutic significance of a novel ferroptosis related signature in colorectal cancer patients. **Bioengineered**, v. 13, n. 2, p. 2498-2512, 2022.

DU, Xianglin L.; SONG, Lulu. Racial disparities in treatments and mortality among a large population-based cohort of older men and women with colorectal cancer. **Cancer treatment and research communications**, v. 32, p. 100619, 2022.

DUFFY, Michael J.; SYNNOTT, Naoise C.; CROWN, John. Mutant p53 as a target for cancer treatment. **European journal of cancer**, v. 83, p. 258-265, 2017.

EDGE, Stephen B.; COMPTON, Carolyn C. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. **Annals of surgical oncology**, v. 17, n. 6, p. 1471-1474, 2010.

FANG, Y. et al. The roles of microbial products in the development of colorectal cancer: a review. **BIOENGINEERED**. VOL. 12, Nº. 1, 720–735, 2021.

FARFOUR, E. et al. Increase in sexually transmitted infections in a cohort of outpatient HIV-positive men who have sex with men in the Parisian region. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 47, n. 7, p. 490-493, 2017.

FATTAHI, Zahra; KHOSROUSHAHI, Ahmad Yari; HASANZADEH, Mohammad. Recent progress on developing of plasmon biosensing of tumor biomarkers: efficient method towards early stage recognition of cancer. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 132, p. 110850, 2020.

GUEDES, Virgílio Ribeiro et al. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA P53 NO ADENOCARCINOMA COLORRETAL-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 6, GUEDES, Virgílio Ribeiro. Avaliação da Expressão das Proteínas Cerb-B2, P53 e Instabilidade de Microssatélites no Adenocarcinoma Colorretal no Estado do Tocantins. 2020.. 1, p. 47-49, 2019.

GOMES, Nara Maria Ribeiro Soares Ferreira et al. Associação entre localização, aspecto morfológico e padrão histológico de pólipos colorretais avaliados no Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí. **Jornal de Ciências da Saúde do Hospital Universitário da Universidade Federal do Piauí**, v. 1, n. 2, p. 29-41, 2018.

GÜLLÜLÜ, Ömer et al. Tumor Suppressor Protein p53 and Inhibitor of Apoptosis Proteins in Colorectal Cancer—A Promising Signaling Network for Therapeutic Interventions. **Cancers**, v. 13, n. 4, p. 624, 2021.

GUTIERREZ, Alvaro et al. Novel Methylation Biomarkers for Colorectal Cancer Prognosis. **Biomolecules**, v. 11, n. 11, p. 1722, 2021.

HUANG, Can et al. Zinc-finger protein p52-ZER6 accelerates colorectal cancer cell proliferation and tumour progression through promoting p53 ubiquitination. **EBioMedicine**, v. 48, p. 248-263, 2019.

HULTCRANTZ, R. Aspects of colorectal cancer screening, methods, age and gender. **Journal of Internal Medicine**, v. 289, n. 4, p. 493-507, 2021.

JUNG, Gerhard et al. Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 17, n. 2, p. 111-130, 2020. JÄNNE PA; MAYER, RJ. Chemoprevention of colorectal cancer The New England **Journal of Medicine**. 342; 26, pg. 1960-68, 2000.

KIM, Kyoung Min et al. Clinical significance of p53 protein expression and *TP53* variation status in colorectal cancer. **BMC cancer**, v. 22, n. 1, p. 940, 2022.

KUANG, Jujiao et al. Uma visão geral das considerações técnicas ao usar a análise quantitativa de PCR em tempo real da expressão gênica na pesquisa de exercícios humanos. **PloS um**, v. 13, n. 5, pág. e0196438, 2018.

LAKEMEYER, Leilani et al. Diagnostic and prognostic value of CEA and CA19-9 in colorectal cancer. **Diseases**, v. 9, n. 1, p. 21, 2021.

LAPORTE, Gustavo Andreazza. Influência do reparo do DNA nos aspectos clinicopatológicos e prognósticos do câncer colorretal esporádico. (Ciências da Saúde) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE – UFCSPA. p. 216. 2019. **Tese de Doutorado**.

LIEBL, Magdalena C.; HOFMANN, Thomas G. The role of p53 signaling in colorectal cancer. **Cancers**, v. 13, n. 9, p. 2125, 2021.

LIU, Fangqi et al. Is there a prognostic value of tumor location among Chinese patients with colorectal cancer?. **Oncotarget**, v. 8, n. 24, p. 38682, 2017.

LUO, Xiao-Jing et al. Novel genetic and epigenetic biomarkers of prognostic and predictive significance in stage II/III colorectal cancer. **Molecular Therapy**, v. 29, n. 2, p. 587-596, 2021.

LU, Hui-Ying et al. Critical Role of p53 and K-ras in the Diagnosis of Early Colorectal Cancer: a One-year, Single-center Analysis. **International journal of medical sciences**, v. 14, n. 11, p. 1154, 2017.

MACIEL, Daniele Brito Valladão et al. Perfil sociodemográfico de pacientes com estomia definitiva por câncer colorretal: interferência na qualidade de vida. **Nursing (São Paulo)**, v. 22, n. 258, p. 3325-3330, 2019.

MAGAKI, Shino et al. Uma introdução ao desempenho da imunohistoquímica. **Biobanco**, pág. 289-298, 2019.

MALKI, Ahmed et al. Molecular mechanisms of colon cancer progression and metastasis: recent insights and advancements. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 1, p. 130, 2020.

MENDOZA-MORENO, Fernando et al. Prognostic Factors of Survival in Patients with Peritoneal Metastasis from Colorectal Cancer. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 16, p. 4922, 2022.

NIIDA, A. et al. Modeling colorectal cancer evolution. **Journal of Human Genetics**. p. 869–878, 2021.

MELO, Iury Jorge Ramos et al. Colonoscopia: prevenção do câncer colorretal. **Revista Científica Hospital Santa Izabel**, v. 3, n. 4, p. 218-225, 2019.

NAGAO, Kazuhiro et al. The Complete Loss of p53 Expression Uniquely Predicts Worse Prognosis in Colorectal Cancer. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 6, p. 3252, 2022.

MIYAZAKI, Kauan Yuki Rigoni. Mutações no gene KRAS e seu prognóstico no câncer colorretal. CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE. p. 15 2020. **Trabalho de conclusão de curso**.

NAKAYAMA, Mizuho; OSHIMA, Masanobu. Mutant p53 in colon cancer. **Journal of molecular cell biology**, v. 11, n. 4, p. 267-276, 2019.

NILOOFA, Roshan et al. Autoantibodies in the diagnosis, prognosis, and prediction of colorectal cancer. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 17, n. 4, p. 819, 2021.

NILOOFA, Roshan; DE ZOYSA, M. Ishan; SENEVIRATNE, Suranjith L. Autoantibodies in the diagnosis, prognosis, and prediction of colorectal cancer. **Journal of Cancer Research and Therapeutics**, v. 17, n. 4, p. 819-833, 2021.

NGUYEN, Long H.; GOEL, Ajay; CHUNG, Daniel C. Pathways of colorectal carcinogenesis. **Gastroenterology**, v. 158, n. 2, p. 291-302, 2020.

PETERSSON, J. et al. Increasing incidence of colorectal cancer among the younger population in Sweden. **BJS open**, v. 4, n. 4, p. 645-658, 2020. POURRAHMAT, Mir-Masoud et al. Health state utility values by cancer stage: a systematic literature review. **The European Journal of Health Economics**, v. 22, n. 8, p. 1275-1288, 2021.

MOTA, Lennara Pereira et al. Importância do rastreamento do câncer colorretal: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e472101321360-e472101321360, 2021.

POSTIGLIONI, Cecilia VASCONCELOS. HÁ CORRELAÇÃO CLÍNICOPATOLÓGICA DO ADENOCARCINOMA COLORRETAL COM A EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO OPN E ABCB5?. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**. p. 5. 2020.

RACHMAWATI, Meike et al. The correlation of KRAS gene expression and P53 immunoexpression in colorectal adenocarcinoma. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 12, p. 1940, 2019.

SADIA, Haleema et al. Determinação do perfil de expressão do gene p53 em diferentes graus de tecidos de câncer de mama por PCR em tempo real. **African Health Sciences**, v. 20, n. 3, pág. 1273-1282, 2020.

SAGAERT, Xavier; VANSTAPEL, Arno; VERBEEK, Sanne. Tumor heterogeneity in colorectal cancer: what do we know so far?. **Pathobiology**, v. 85, n. 1-2, p. 72-84, 2018.

SANTOS, Nataly Melo dos. Análise do perfil de expressão e papel fisiopatológico de isoformas da p53 e da osteopontina em linhagens celulares de carcinoma de endométrio.

(Ciências Biomédicas - Fisiologia e Farmacologia) - UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE. p. 65 2016. **Dissertação de Mesrado.**

SHABANI, Samira et al. Characterization of pathways involved in colorectal cancer using real-time RT-PCR gene expression data. **Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench**, v. 14, n. 2, p. 123, 2021.

SIREGAR, Gontar Alamsyah; SIBARANI, Henry. Comparison of carcinoembryonic antigen levels among degree of differentiation and colorectal cancer's location in medan. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 7, n. 20, p. 3447, 2019.

SILVA, Yury Sena. Etiologia do câncer colorretal e a importância do diagnóstico preventivo. CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE. p. 16. 2020. **Trabalho de Conclusão de Curso.**

SIMABUCO, Fernando M. et al. p53 e metabolismo: do mecanismo à terapêutica. **Oncotarget**, v. 9, n. 34, pág. 23780, 2018.

SIRINUKUNWATTANA, Korsuk et al. Image-based consensus molecular subtype (imCMS) classification of colorectal cancer using deep learning. **Gut**, v. 70, n. 3, p. 544-554, 2021.

SIMONETTI, Ana Catarina et al. Variações dos valores séricos do CEA, bilirrubinas e aminotransferases em indivíduos oncológicos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 50, p. 44-49, 2018.

SONG, Yaolin et al. Effect of tumor location on clinicopathological and molecular markers in colorectal cancer in Eastern China patients: an analysis of 2,356 cases. **Frontiers in Genetics**, v. 11, p. 96, 2020.

SU, Tzu-Cheng et al. Cytoplasmic, nuclear, and total PBK/TOPK expression is associated with prognosis in colorectal cancer patients: A retrospective analysis based on immunohistochemistry stain of tissue microarrays. **PLoS One**, v. 13, n. 10, p. e0204866, 2018.

WANG, Peng et al. The prognostic value of p53 positive in colorectal cancer: A retrospective cohort study. **Tumor Biology**, v. 39, n. 5, p. 1010428317703651, 2017.

WANG, Cassia B. et al. Impact of tumor location and variables associated with overall survival in patients with colorectal cancer: a mayo clinic colon and rectal cancer registry study. **Frontiers in Oncology**, v. 9, p. 76, 2019.

WANG, Lingfeng et al. Effect of KRAS mutations and p53 expression on the postoperative prognosis of patients with colorectal cancer. **Molecular Genetics & Genomic Medicine**, v. 10, n. 7, p. e1905, 2022.

WU, Renyi et al. Epigenetics/epigenomics and prevention by curcumin of early stages of inflammatory-driven colon cancer. **Molecular carcinogenesis**, v. 59, n. 2, p. 227-236, 2020.

WU, Ziwei et al. Colorectal cancer screening methods and molecular markers for early detection. **Technology in Cancer Research & Treatment**, v. 19, p. 1533033820980426, 2020.

WU, Meijuan et al. Risk of Second Primary Malignancies Based on the Histological Subtypes of Colorectal Cancer. **Frontiers in oncology**, v. 11, p. 614, 2021.

YANG, Zhen-Hua; DANG, Yan-Qi; JI, Guang. Role of epigenetics in transformation of inflammation into colorectal cancer. **World journal of gastroenterology**, v. 25, n. 23, p. 2863, 2019.

YU, Chaoran; ZHANG, Yujie. Establishment of prognostic nomogram for elderly colorectal cancer patients: a SEER database analysis. **BMC gastroenterology**, v. 20, n. 1, p. 1-13, 2020.

YU, Haijiao et al. Significant diagnostic value of circulating tumour cells in colorectal cancer. **Oncology Letters**, v. 20, n. 1, p. 317-325, 2020.

ZHANG, Xiaolin; DONG, Zhen; CUI, Hongjuan. Interplay between Epigenetics and Cellular Metabolism in Colorectal Cancer. **Biomolecules**, v. 11, n. 10, p. 1406, 2021.

APÊNDICE A – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

PROJETO: “PROSPECÇÃO DE NOVOS MARCADORES DIAGNÓSTICOS PARA O CÂNCER COLORRETAL E CONTRIBUIÇÃO NA PREVENÇÃO DA MORTALIDADE POR ESTA DOENÇA NO SUS”

Pesquisadora responsável: Prof.^a Dra. Glaucia Veríssimo Faheina Martins

1. Data da cirurgia: ____/____/____
2. Nome do paciente: _____
3. CAD: _____
4. Numeração da amostra (PAC): _____
5. Sexo do paciente: F (☒) M (☐)
6. Idade do paciente: _____
7. Localização do tumor:
 - Reto (☒) - cólon esquerdo (☐) - cólon transversal (☐) - cólon direito (☐)
8. Diferenciação do tumor:
 - Alta (☒) - moderada (☐) - baixa (☐) - não-diferenciado (☐)
9. Tamanho do tumor (cm)
 - maior que 5 cm (☒) - menor que 5 cm (☐)
10. Metástase para órgãos linfáticos
 - Sim (☒) - Não (☐)
11. Metástase para outros órgãos:
 - Sim (☒) - Não (☐)

Médico responsável pela coleta de dados

ANEXO I

UFCG - CENTRO DE
FORMAÇÃO DE
PROFESSORES - CAMPUS DE
CAJAZEIRAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: PROSPECÇÃO DE NOVOS MARCADORES DIAGNÓSTICOS PARA O CÂNCER COLORRETAL E CONTRIBUIÇÃO NA PREVENÇÃO DA MORTALIDADE POR ESTA DOENÇA NO SUS

Pesquisador: Glaucia Veríssimo Faheina Martins

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 5

CAAE: 38330920.0.1001.5575

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE APOIO A PESQUISA DO ESTADO DA PARAIBA - FAPES

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.017.299

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAJAZEIRAS, 04 de Outubro de 2021

Assinado por:
Paulo Roberto de Medeiros
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Sérgio Moreira de Figueiredo, s/n

Bairro: Casas Populares

UF: PB

Município: CAJAZEIRAS

CEP: 58.900-000

Telefone: (83)3532-2075

E-mail: cepcfufcgcz@gmail.com

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado a participar como voluntário (a) no estudo “**PROSPECÇÃO DE NOVOS MARCADORES DIAGNÓSTICOS PARA O CÂNCER COLORRETAL E CONTRIBUIÇÃO NA PREVENÇÃO DA MORTALIDADE POR ESTA DOENÇA NO SUS**”, coordenado pela professora Dra. Glaucia Veríssimo Faheina Martins e vinculado a UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE do CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE da UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE.

Sua participação é voluntária e você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade. Este estudo tem por objetivo coletar um pequeno fragmento de tecido que será retirado durante a cirurgia para identificação de marcadores moleculares tumorais que auxiliarão em diagnósticos mais rápidos e precisos, bem como a descoberta de novos tratamentos para câncer colorretal. Seu material ficará armazenado provisoriamente por tempo determinado apenas para realização dos ensaios propostos por esta pesquisa no Laboratório de Ensaio Toxicológicos e Genética do Câncer-TOXGEN da Universidade Federal de Campina Grande e se faz necessário porque o câncer colorretal tem grande incidência no Brasil e no mundo e apesar de existirem quimioterápicos efetivos, eles são muito tóxicos e não tem ação em alguns tumores, pois as células dos tumores se tornaram resistentes. Além disso, o diagnóstico inicial desta patologia está diretamente relacionado a grandes taxas de sobrevivência ao tratamento. A descoberta de novos alvos farmacológicos para esta patologia, como os canais iônicos Kv, que já são alvos farmacológicos para outras doenças, pode proporcionar a descoberta de nova terapias, bem como, diagnósticos moleculares diferenciais.

Caso decida aceitar o convite, você será submetido (a) ao(s) seguinte(s) procedimentos: Após a remoção de seu tecido durante a cirurgia, conforme já estava previsto pelo seu médico, vamos precisar de sua autorização para armazenar o tecido e possivelmente coletar uma amostra de qualquer outro material biológico conforme seu médico achar necessário. Os riscos envolvidos com sua participação são os mesmos já previstos no procedimento cirúrgico que já estava prescrito pelo seu médico, pois o mesmo ocorreria independente deste projeto, estamos apenas solicitando sua permissão para armazenar e utilizar parte deste material. Esse estudo tem o intuito de descobrir novos diagnósticos e tratamentos, com a sua participação sendo totalmente voluntária, podendo desistir a qualquer momento, sem penalidades, danos e

prejuízos. Quanto aos riscos adicionais referentes ao constrangimento na abordagem, coleta de material ou vazamentos de informações de dados coletados, estes são possíveis, mas pretendemos minimizá-los, pois o projeto não visa constranger, inibir, desrespeitar, afrontar, mas sim contribuir com os novos diagnósticos e tratamento do câncer colorretal. Os pesquisadores se propõem a realizar identificação numérica das amostras evitando exposição de dados dos pacientes no manuseio das amostras em laboratório. Os benefícios da pesquisa serão: Os pacientes que cederão as amostras para o presente estudo receberão orientações sobre o que é o câncer colorretal, métodos de rastreamento e fatores de risco. Os participantes da pesquisa poderão contribuir para o desenvolvimento de testes diagnósticos mais eficientes e desenvolvimento de novos tratamentos. Os participantes não terão benefício pessoal direto através deste projeto, sendo sua participação voluntária e não-remunerada.

Todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será identificado em nenhum momento. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de maneira que não permita a identificação de nenhum voluntário.

Se você tiver algum gasto decorrente de sua participação na pesquisa, você será ressarcido, caso solicite. Em qualquer momento, se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você poderá buscar o direito de ser indenizado.

Esta pesquisa atende às exigências das resoluções 466/2012 e 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), as quais estabelecem diretrizes e normas regulamentadoras para pesquisas envolvendo seres humanos.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Centro de Formação de Professores (CFP) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) é um colegiado interdisciplinar e independente de caráter consultivo, deliberativo e educativo, que tem como foco central defender os interesses e a integridade dos participantes voluntários de pesquisas envolvendo seres humanos e, conseqüentemente, contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos.

Você ficará com uma via rubricada e assinada deste termo e qualquer dúvida a respeito desta pesquisa, poderá ser requisitada a Profa. Dra. Glaucia Veríssimo Faheina Martins, ou ao Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos - CEP/CFP/UFCG, cujos dados para contato estão especificados abaixo.

Dados para contato com o responsável pela pesquisa

Nome: Glaucia Veríssimo Faheina Martins

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

Endereço Pessoal: Rua: Elvira Cecília dos Santos, 190, Planalto das mansões, Cuité-PB.

Endereço Profissional: Sítio Olho D'água da Bica, bloco dos Professores, sala F19, térreo – Centro de Educação e Saúde (CES), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus Cuité.

Dados do CEP

Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Formação de Professores da Universidade Federal de Campina Grande- CEP/CFP/UFCG, situado a rua Sergio Moreira de Figueiredo, s/n, Bairro: Casas Populares, Cajazeiras - PB; CEP: 58.900-000.

Email: cepcfpufcgcz@gmail.com

Declaro que estou ciente dos objetivos e da importância desta pesquisa, bem como a forma como esta será conduzida, incluindo os riscos e benefícios relacionados com a minha participação, e concordo em participar voluntariamente deste estudo.

LOCAL E DATA

Assinatura ou impressão datiloscópica do
voluntário ou responsável legal

Nome e assinatura do responsável pelo
estudo



A participação dos canais de potássio Kv11.1 na progressão do câncer colorretal: uma revisão integrativa de literatura

Kv11.1 potassium channels participation in colorectal cancer progression: an integrative literature review

DOI:10.34117/bjdv7n11-215

Recebimento dos originais: 12/10/2021

Aceitação para publicação: 13/11/2021

Diogo Leonardo Santos Silva

Graduando em Ciências Biológicas, Centro de Educação e Saúde-UFCG, Campus Cuité-PB, CEP: 58175-000

E-mail: diogo.leonardo@estudante.ufcg.edu.br

Alécia Coura Tomaz

Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza-UFPB, Campus I, João Pessoa-PB, CEP: 58051-900

E-mail: aleciatomaz@hotmail.com

Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo

Professor Ensino Básico, Técnico e Tecnológico da Escola Técnica de Saúde - Centro de Ciências da Saúde - UFPB, Campus I, João Pessoa-PB, CEP: 58051-900

E-mail: carmem.figueiredo@academico.ufpb.br

Glaucia Veríssimo Fabelina Martins

Professora Adjunta da Unidade Acadêmica de Saúde, Centro de Educação em Saúde-UFCG, Campus Cuité-PB, CEP: 58175-000

E-mail: glaucia.verissimo@professor.ufcg.edu.br

RESUMO

O câncer colorretal, em nível mundial, é um dos tipos de neoplasias malignas mais frequentes que acometem homens e mulheres. Alguns tipos de canais iônicos são desregulados no câncer colorretal, incluindo o canal de potássio, subtipo Kv11.1. A superexpressão destes canais ocorre em casos de câncer colorretal. Além disso, vários estudos registrados na literatura demonstraram que estes canais iônicos estão associados com a promoção de diversos eventos carcinogênicos. Sendo assim, foi objetivo deste trabalho identificar o papel dos canais Kv11.1 no processo de progressão do câncer colorretal. Metodologicamente, foi realizada uma revisão integrativa de literatura, fundamentada em artigos selecionados no portal de dados do PubMed, utilizando simultaneamente os seguintes descritores em Ciências da Saúde: "potassium channel" e "colorectal cancer", sendo conectados pelo operador booleano "AND". Os filtros de busca aplicados foram: artigos com estruturas textuais completas e gratuitas, publicados no período de 2010 a 2020. A partir disso, foram selecionados 07 artigos, publicados na língua inglesa, com relação direta com a temática para o processo de síntese qualitativa

CÂNCER COLORRETAL: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS EM UM HOSPITAL
DA PARAÍBA

CAPÍTULO 11

**CÂNCER COLORRETAL: ASPECTOS
EPIDEMIOLÓGICOS EM UM HOSPITAL DA
PARAÍBA**

Alécia Coura Tomaz ¹

Inaldo dos Santos Casado Cândido ¹

Michelle Valeriano de Lima ²

Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo ³

Glaucia Veríssimo Faheina Martins ⁴

¹ Pós-graduandos em Biologia Celular e Molecular, CCEN/UFPB; ² Discente do Curso Técnico em Análises Clínicas do CPT/ UFPB; ³ Professora do CPT/ UFPB; ⁴ Orientadora/Professora do DBM/CCEN/UFPB e docente do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

glaucia.faheina@academico.ufpb.br

RESUMO: O câncer colorretal (CCR) é uma neoplasia que acomete o intestino grosso nos seus segmentos do cólon, reto e ânus. Fatores sociodemográficos, como raça, etnia e nível socioeconômico, são conhecidos por influenciar a incidência de CCR, estágio ao diagnóstico, sobrevida e mortalidade. Alguns dos fatores riscos de CCR incluem, dieta rica em gordura, exercícios físicos inadequados, obesidade, tabagismo e consumo excessivo de álcool. O trabalho teve como objetivo analisar os fatores sociodemográficos e clínicos de uma coorte retrospectiva de pacientes com CCR oriundos de um Hospital Universitário da Paraíba/PB. Para construção do banco de dados, foram analisados os laudos de pacientes com câncer colorretal entre os anos de 2018 a 2022. Idade, sexo, etnia, grau histológico, tamanho e localização do tumor foram algumas das variáveis da pesquisa. Dos 43 pacientes deste estudo 55,3% foram do sexo masculino e 94,7% pardos, com média de idade em anos de aproximadamente 69 anos. Com relação ao