



Artigo Original

CORRELAÇÃO DE FATORES CLÍNICOS E PROGNÓSTICOS, COM A EXPRESSÃO DA PROTEÍNA P53, NO CARCINOMA INVASOR DE COLO UTERINO

CORRELATION OF CLINICAL AND PROGNOSTIC FACTORS, WITH THE P53 PROTEIN EXPRESSION IN INVASIVE CERVICAL CARCINOMA

Resumo

Lúcia Teresa Hinojosa Schäffer¹
Paulo Traiman²
Gilberto Uemura²
Jorge Nahas Neto²
Eliana Aguiar Petri Nahas²
Anaglória Pontes²

¹Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Viótria da Coquistá – Bahia - Brasil

²Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina de Botucatu
Botucatu – São Paulo - Brasil

E-mail:
lucschafer@hotmail.com

A Análise da proteína p53 no carcinoma invasor de colo uterino correlacionada a fatores clínicos e prognósticos foi realizada em estudo retrospectivo, com detecção da expressão da p53 através da técnica imunoistoquímica. Foram utilizadas 120 lâminas de pacientes do Ambulatório de Oncologia Ginecológica, diagnosticadas como carcinoma epidermóide invasor do colo uterino, arquivadas no Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina de Botucatu. Os co-fatores: idade, etnia, paridade, tabagismo, uso de contraceptivo oral, idade da coitarca, histologia, estadió, tratamento e seguimento foram associados à positividade da p53. Testes de Fisher foram realizados na análise de associações entre p53 e as variáveis, sendo considerado significativo o $p < 0,05$. O estudo revelou uma frequência de 43,3% de pacientes no estadió II da doença, cujos tumores p53 positivos tinham $p = 0,001$ e a frequência de 64,2%, com $p = 0,024$ em pacientes com idade da coitarca entre 15 e 20 anos. Os dados obtidos permitem associar o estadió II da doença e a idade da coitarca com a expressão positiva da proteína p53 no câncer de colo uterino invasor. Esses co-fatores mostraram-se estatisticamente significativos pelo teste exato de Fisher e não houve associação da proteína com outros co-fatores analisados e prognósticos. O valor prognóstico da p53 em câncer cervical tem sido examinado concluindo-se que a p53 está associada a prognóstico desfavorável.

Palavras-chave: Neoplasias do Colo do Útero. Genes p53. Genes Supressores de Tumor. Histoquímica.

Abstract

The analysis of p53 protein in cervical carcinoma correlated with clinical and prognostic factors was performed in a retrospective study with p53 expression detection by immunohistochemical technique. 120 slides of patients with squamous cell cancer at the Gynecologic Oncology Clinic and stored in the Department of Pathological Anatom at the School of Medicine of Botucatu were used. Age, ethnicity, parity, smoking habit, oral contraceptive use, age at first intercourse, histology, stage, treatment, and follow-up were the cofactors associated with p53 positivity. Fisher's exact tests were carried out to analyze associations between p53 and variables, with $p < 0.05$ as the significant level. The study revealed a 43.3% frequency of patients with stage II disease and p53 positive rate with $p = 0.001$, and 64.2% frequency with $p = 0.024$ of

patients whose first intercourse occurred between the ages of 15 and 20. These findings show the correlation between stage II disease and age at fir

st intercourse with p53 positive in invasive cervical cancer. Fisher's exact test revealed these cofactors to be statistically significant and there was no association between the protein p53 with others prognostic and analyzed cofactors. The prognostic value of p53 in cervical cancer had been examined, with the conclusion that p53 is correlated to unfavorable prognosis.

Key words: Uterine Cervical Neoplasms; Genes, p53; Genes; Tumor Suppressor Histochemistry.

Introdução

A neoplasia de colo uterino ou câncer cervical tem sido objeto de estudo frequente no meio médico científico, devido à alta mortalidade na mulher e mesmo em face de métodos preventivos promovidos por campanhas e dispondo de moderna tecnologia é considerado um problema de saúde pública.

O câncer cervical é a segunda neoplasia maligna mais comum na mulher. A cada ano, registram-se cerca de 500.000 casos novos no mundo. Nas últimas décadas, sua ocorrência tem aumentado em todas as raças, exceto a branca. A sobrevivência é maior que cinco anos em 49% das mulheres afetadas em países em desenvolvimento, com maior incidência em mulheres multíparas na perimenopausa e em mulheres na faixa etária de 20 a 29 anos. A maior incidência de câncer cervical encontra-se no grupo de mulheres entre 45 e 49 anos.^(1,2)

A neoplasia cervical e suas lesões precursoras são provenientes de dois tipos de epitélio: escamoso e glandular, sendo mais frequente no epitélio escamoso.⁽³⁾

O adenocarcinoma de colo uterino ou carcinoma glandular mostra uma associação mais frequente com o uso de anticoncepcionais orais que o escamoso, também conhecido como carcinoma epidermóide. O tabagismo é um conhecido fator de risco para câncer cervical. Estudos demonstram sua associação com lesões intraepiteliais (SIL) de alto grau em razão da ação direta de metabólitos da nicotina no muco cervical.⁽³⁾

A associação dessa neoplasia com o Papova Vírus Humano (HPV) de alto risco tem sido bem documentada. Vírus de transmissão sexual, o HPV é considerado agente causal das neoplasias de colo uterino e pode ser detectado com técnicas de hibridização molecular na cérvix uterina.⁽⁴⁾

O desenvolvimento do câncer envolve uma sucessão de eventos regulados por padrões genéticos preestabelecidos.⁽⁵⁾ As funções celulares tornam-se desordenadas, resultando na expressão exagerada de proteínas responsáveis pela proliferação celular, como a p53, cuja função é controlar o ciclo celular, a transcrição do gene e o reparo do DNA.^(6, 7, 8) O gene p53, supressor de tumor, pode apresentar-se inativado ou mutado.^(9, 7)

A proteína p53 encontra-se mutada em vários tipos de tumores. O tipo selvagem da p53 (TP53) é mais frequentemente encontrado nos tumores

iniciais do colo uterino.⁽¹⁰⁾ Os métodos mais utilizados para detectar mutações da p53 são a imunohistoquímica (IH) e os métodos de reação em cadeia pela polimerase (PCR).⁽¹¹⁾

A imunohistoquímica é um método prático na detecção da expressão da p53 em lesões pré-cancerosas e carcinomas. Permite precisar a localização e identificar células com alterações da p53, contudo não pode detectar a perda completa da p53 ou mutações pequenas. A mutação do TP53 leva ao acúmulo de proteína no núcleo celular, e esta alteração aumenta a meia vida dessa proteína, o que permite sua detecção pelo método.^(12,13) A superexpressão da proteína p53 mutada encontrada no núcleo das células neoplásicas pode ser detectada por imunohistoquímica em amostras teciduais congeladas ou parafinadas.⁽¹⁴⁾

Apesar da associação frequente do HPV com o câncer cervical, nos casos HPV positivo, não existem mutações frequentes da p53.⁽¹⁵⁾ A mutação é mais frequente em tumores HPV negativos do que em tumores HPV positivos. Para a formação do tumor, procede que a p53 deve ser inativada ou por interação de proteínas virais ou por mutação. Uma pequena proporção de câncer cervical não contém HPV detectável.^(16, 17, 18) As mutações da p53 são importantes para estabelecer relações de causa e efeito em exposição à doença e para “screening” da população exposta antes do início do câncer.⁽²⁾

A mutação da p53 ocorre em estádios clínicos precoces do processo neoplásico em alguns tipos de câncer, mas a fração dos tumores com gene alterado é maior em estádios mais avançados do tumor.⁽¹²⁾

O valor prognóstico da p53 em câncer cervical tem sido examinado, e a conclusão que se tem, até agora,^(19,20) é que a superexpressão da p53 está associada a um prognóstico desfavorável. Existem agentes que restauram ou mimetizam a função da p53 e que estão predispostos a ter uma potente atividade antitumoral, estes ainda encontram-se em estudo.

Na América do Norte, quase 60% dos casos de neoplasia cervical uterina são diagnosticados no estadio I; 25% no estadio II; 10% no estadio III; e 5% no estadio IV. Em países menos desenvolvidos, a maioria é diagnosticada no terceiro ou quarto estádios. Para lesões menores (estádios IA e IB1), a classificação é feita em biopsia cônica. O tratamento do carcinoma invasor do colo uterino, nos estádios IB e IIA, de acordo com a Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia (FIGO), pode ser cirúrgico, por histerectomia radical com linfadenectomia pélvica, radioterapia primária ou quimioirradiação. Tais opções apresentam taxas de sobrevida em cinco anos, variando de 87 a 92% em países desenvolvidos. O exame histopatológico da peça cirúrgica é importante para estabelecimento do tipo histológico, estágio, prognóstico e tratamento da doença.⁽²¹⁾ O prognóstico da paciente com câncer de colo uterino depende de fatores, como idade, estadiamento, tipo histológico e grau de diferenciação do tumor.

Este estudo objetivou avaliar a correlação da expressão da proteína p53 com fatores clínicos e prognósticos em pacientes com carcinoma invasor de colo uterino.

Objetivo

Avaliar a correlação da expressão da proteína p53 com fatores clínicos e prognósticos em pacientes com carcinoma invasor de colo uterino.

Métodos

Este é um trabalho retrospectivo realizado com 120 mulheres portadoras de carcinoma epidermóide invasivo, tratadas no Setor de Oncologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina, da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Campus de Botucatu, durante o período de 1985 a 2000. Para este trabalho, foram utilizadas as lâminas dos estudos anatomopatológicos, fornecidas pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da UNESP, campus de Botucatu, e o estudo imunoistoquímico realizado nesse departamento. Excluíram-se as lâminas e os prontuários das pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma de colo uterino.

O preenchimento dos questionários foi realizado com base na análise dos prontuários para a coleta dos dados. Foram estudados os seguintes dados relativos às pacientes: idade, raça, paridade, coitarca, tabagismo, uso de anticoncepcionais orais, classificação citológica, estadió e expressão da proteína p53. Os dados clínicos avaliados foram: idade, cor, paridade, uso de contraceptivos orais, tabagismo, coitarca, grau de diferenciação histológica do tumor, tratamento realizado e follow-up (seguimento).

No presente estudo, utilizou-se a técnica imunohistoquímica, para a pesquisa da proteína p53 e o complexo avidinina-biotina-peroxidase (ABC) com modificações,⁽²²⁾ com o auxílio do método de recuperação antigênica pelo forno de microondas, como descrito a seguir.

Os tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina foram cortados com 3 micra de espessura e mostrados em lâminas de vidro previamente preparadas com o adesivo poli-D-esiva (Segma Chemical Corporation, P-7886, Saint Louis, MO, EVA) para evitar o descolamento dos cortes durante a imunocoloração. Em seguida, os cortes foram desparafinizados em xilol por 5 minutos (3 banhos), hidratados em álcool etílico absoluto (4 banhos) e lavados com solução salina tamponada (SST) em pH 7,4 por 5 minutos. Posteriormente, os cortes foram testados com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3% diluído em SST por 5 minutos para bloqueio da peroxidase endógena.

Utilizou-se o método de recuperação de epítomos pelo calor (SST de citrato com pH 6,4 por 15 minutos em forno de microondas caseiro SHARP, modelo Interactive Touch On a 900 Watts para a pesquisa da proteína p53. Em seguida, os cortes foram incisados com anti corpo primário anti p53 na diluição 1:500 em média por 16 horas, incluindo o período noturno. No dia seguinte, após lavagem em SST, os cortes foram incubados com anticorpo secundário biotilado anti camundongo, na diluição de 1:160 para o anticorpo (Vector, USA). A seguir, realizou-se incubação por 45 minutos com complexo ABC na proporção de 1 gota do reagente A (Avidina) e uma do reagente B (biotina ligada a peroxidase) na diluição de 5ml de solução TRIS. Para visualização da reação, os cortes foram tratados com solução de DAB (3-3) – tetrahydrocloro de diaminabenzidina na concentração de 1 mg/ml de solução tampão de TRIS e solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) por 5 minutos. Os cortes foram

então contracorados com hematoxilina de Harris por 20 segundos. Todos os passos da reação imunohistoquímica foram realizados à temperatura ambiente, com exceção da incubação no forno de microondas. Entre cada passo da reação, as lâminas foram lavadas várias vezes com SST (pH = 7,4).

A reação foi considerada positiva quando a imunorreatividade em padrão nuclear esteve presente.

Os cortes histológicos de câncer de colo uterino invasor foram avaliados pelo examinador por microscópio óptico com 200 vezes de aumento. Para o marcador pesquisado, foi feita análise semiquantitativa após a imunohistoquímica. Os resultados da expressão protéica foram registrados como positivos ou negativos. Quando positivos, a expressão protéica foi graduada 1+ a 4+, o que corresponde aos graus de 1 a 4, tendo por base análises encontradas em estudos anteriores.⁽²³⁾

Sendo assim considerada: +/4+: expressão da proteína em menos de 10% das células; ++/4+: expressão da proteína em 11-25% das células; +++/4+: expressão da proteína em 26-50% das células; ++++/4+: expressão da proteína em mais de 50% das células.

A quantificação foi realizada pelo estudo de, pelo menos, 1.000 células em 10 campos com 200 vezes de aumento.

A análise estatística foi apresentada em tabelas de frequência das variáveis e foram realizados testes de Fisher para examinar associações entre os co-fatores e a expressão da proteína p53. Consideraram-se estatisticamente significativos os resultados cujos valores da p53 foram inferiores a 0,05.^(24, 25)

Para a realização deste estudo foi necessária a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina, da Universidade Estadual de São Paulo (UNESP), Campus de Botucatu, obedecendo todas as normas deste comitê, incluindo o Termo de Consentimento Livre Esclarecido previamente assinado pelas pacientes envolvidas no estudo. Protocolo de aprovação: 351/2007-CEP em 03/09/2007.

Resultados

A análise dos dados encontrados em nosso estudo nos mostrou a média de idade das mulheres com câncer epidermóide de 46,5 anos com uma frequência de 52,5%. A idade mais precoce de diagnóstico da neoplasia ocorreu na faixa etária de 20-30 anos. O p53 esteve positivo mais frequentemente na faixa etária de 40 a 49 anos (46,67%), porém sem correlação estatística significativa ($p > 0,10$) (Tabela 1).

Quanto à etnia, obtivemos uma maior frequência da positividade da p53 em pacientes brancas (71,67%), mulatas (10,83%) e negras (6,67%). A análise demonstrou não haver associação estatística significativa entre a p53 e etnia com o $p > 0,10$ (Tabela 1).

A Análise dos dados mostrou-nos que no fator paridade associado ao câncer de colo uterino, houve uma frequência da doença em 64,2 % das múltiparas analisadas com uma positividade de 56,67% da expressão da p53 ($p > 0,10$). Não se encontrou associação estatística entre multiparidade e a expressão da p53 (Tabela 1).

Quanto à associação entre a p53 e a idade da coitarca, a faixa etária em que a p53 teve expressão positiva foi entre 15 a 19 anos, ($p = 0,024$), demonstrando haver associação estatística significativa entre a p53 e idade da coitarca (Tabela 1, Gráfico 1).

Na análise da correlação entre mulheres tabagistas e a expressão da p53, observou-se que a expressão foi positiva em 36,7% dessas mulheres, com o $p > 0,10$. Não se obteve correlação significativa entre a p53 e o uso de tabaco (Tabela 1).

Em pacientes usuárias de anticoncepcional oral a expressão da p53 foi positiva em 53,3% das mulheres que não utilizavam anticoncepcional e em 35,8% das mulheres que utilizavam esse método (Tabela 1). Do ponto de vista estatístico, não obtivemos correlação entre p53 e uso de anticoncepcional oral ($p > 0,10$).

A diferenciação histológica dos tumores foi classificada em: bem diferenciado, moderadamente diferenciado e pouco diferenciado, com expressão positiva da p53 de 23,33%; 43,33% e 22,50% respectivamente, com o $p > 0,10$. Demonstrando não haver associação entre a diferenciação histológica e a expressão da proteína, não houve, portanto, diferença estatística significativa (Tabela 1).

Referente ao estadiamento proposto pela FIGO, nosso estudo mostrou o percentual de positividade da p53 de 25,83% no estágio I; 43,3% no estágio II; 15,3% no estágio III e 4,17 % no estágio IV da doença. Desse modo, o percentual de positividade da p 53 foi maior nas pacientes que estavam no estágio II ($p = 0,001$). Essa associação foi estatisticamente significativa, o que pode ser visualizado no Gráfico 2 e Tabela 1.

A radioterapia exclusiva foi o tratamento mais utilizado (52,5%) devido ao estágio da doença, seguido do cirúrgico, pela técnica de Wertheim Meigs (24,2%) (Tabela 1).

Quanto ao seguimento, neste estudo foi possível concluir que o maior tempo de seguimento em pacientes com expressão da p53 positivas foi de 1 a 5 anos; correspondendo a 43,3% das pacientes. Não se observou, assim, associação estatística significativa entre tempo de seguimento e positividade da p53 (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição de frequências relativas dos dados clínicos estudados nas pacientes com expressão da p53.

ASPECTO CLÍNICO	PERCENTUAL (%)
Idade – 40 a 49 anos	52,5
Etnia – Branca	82,5
Paridade – Multípara	64,2
Idade da Coitarca – 15 a 20 anos	68,3
Tabagismo – Não	60,8
Anticoncepcional oral – Não	59,2
Histologia – Moderadamente diferenciado	49,2
Estadio (Figo, 1994) – grau II	44,2
Tratamento – Radioterapia	52,5
Seguimento – acima de 10 anos	74,3

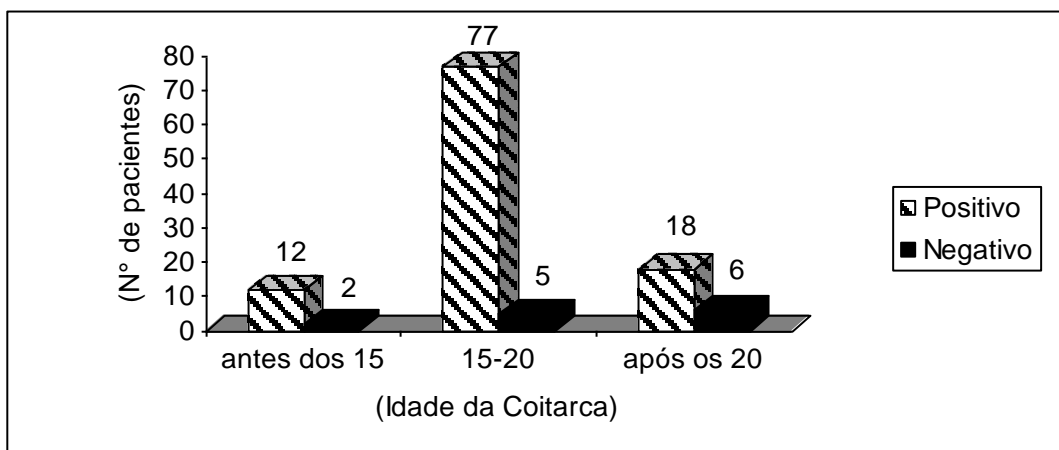


Gráfico 1 - Distribuição quanto à associação da p53 e a idade da coitarca.

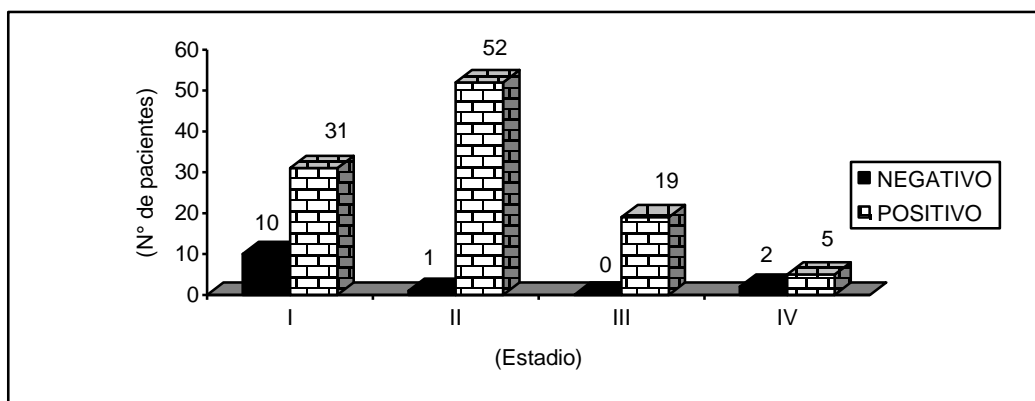


Gráfico 2 - Distribuição quanto à associação da p53 e estadiamento.

Discussão

A detecção de anormalidades da p53 pode ter implicações diagnósticas, prognósticas e terapêuticas no câncer do colo uterino. Existe um sinergismo dos fatores de risco ditos como clássicos para câncer cervical, entre eles a perda da função do gene supressor de tumor, p53, o qual se encontra inativado ou mutado. A identificação de mutações da p53 nos tumores pode tornar-se um importante fator nas decisões de tratamento. Neste estudo a imunohistoquímica foi utilizada por ser este um método prático na detecção da expressão da p53 em lesões pré-cancerosas e carcinomas. ⁽²⁶⁾

Neste estudo, encontrou-se a média de idade de 46,5 anos, indicando uma idade mais precoce de diagnóstico da neoplasia. A expressão positiva da p53 foi mais frequente na faixa etária de 40 a 50 anos, porém sem correlação estatística significativa.

Várias estatísticas apontam maior número de casos de câncer cervical uterino nas populações negras e latino-americanas que vivem no território norte-americano.⁽²⁴⁾ Este estudo mostrou maior incidência em pacientes brancas (82,5%) em relação às mulatas (10,8%) e à negra (8,0%), talvez explicada pela realidade socioeconômica nos diferentes grupos étnicos. Porém sem diferença estatística significativa de positividade da p53 em relação à cor.

A mulher múltipara é considerada como paciente típica para desenvolver o câncer cervical.⁽²⁴⁾ A multiparidade tem sido relatada na literatura por estar muito associada ao câncer de colo uterino, o que foi confirmado neste estudo, cujo resultado mostrou uma frequência de 77,0% de câncer em múltiparas (acima de três filhos), sem, no entanto, haver associação estatística significativa com a positividade da proteína p53.

Há evidências indiretas de que os contraceptivos hormonais promovem infecção pelo HPV e, conseqüentemente, câncer cervical. Dois estudos de caso-controle da relação entre largo uso de anticoncepcional oral e câncer cervical demonstraram aumento de 2,0% no risco da neoplasia.⁽²⁷⁾ Do ponto de vista estatístico, não se obteve correlação entre a expressão da p53 e uso de anticoncepcional oral.

Em mulheres tabagistas, a nicotina tem sido encontrada no muco cervical dessas mulheres em concentrações mais altas do que no plasma. Esses metabólitos não são carcinogênicos por si próprios, mas diminuem os mecanismos de defesa locais, tais como as células de Langerhans. Estudos de caso-controle demonstraram aumento aproximado de 2,0% no risco de câncer cervical por fumantes.⁽⁹⁾ No nosso estudo, não houve correlação significativa quanto à presença da p53 positivo e tabagismo.

O sistema de estadiamento proposto pela FIGO espelha nitidamente a evolução da doença e representa a melhor maneira para avaliar o fator prognóstico para o câncer cervical.⁽²⁷⁾ Este estudo mostrou um percentual de 43,3% das mulheres em estágio II da doença. Puderam-se observar correlações estatisticamente significativas entre a p53 positiva e estadiamento.

Além do estadiamento, outros fatores são apontados como importantes na avaliação prognóstica. A gradação histológica tem significação controversa no prognóstico. A gradação histológica do carcinoma epidermóide baseia-se na quantidade de ceratinização, pleomorfismo e atividade mitótica das células e permite que seja classificado em bem diferenciado, moderadamente diferenciado e pouco diferenciado.

Outros estudos encontraram maior frequência de metástases em linfonodos pélvicos e óbito em pacientes com tumores bem diferenciados, em comparação com os poucos diferenciados. Evidenciaram, assim, que o índice de metástase em linfonodos pélvicos aumenta com a diferenciação. Pacientes com carcinoma cervical estágio IB, encontraram sobrevida de 5 anos em 95,0 % das pacientes com tumores bem diferenciados e 82,0% naquelas com tumores pouco diferenciados.⁽²⁴⁾

Quanto à histologia, observou-se, neste estudo, predomínio do tipo moderadamente diferenciado (49,2%). Não houve correlação estatística significativa entre a p53 positiva e grau de diferenciação do tumor.

A análise da sobrevida das pacientes não foi realizada porque vários seguimentos foram perdidos por motivos diversos. Porém, foi possível concluir

que as pacientes em estádios de câncer mais avançados tiveram um tempo de seguimento menor.

Após o diagnóstico de câncer cervical invasivo ser estabelecido, a questão é como melhor tratar a paciente. As medidas terapêuticas específicas são geralmente guiadas pela idade, estado geral da paciente, extensão do câncer, presença e natureza de qualquer anormalidade que complique.⁽²⁵⁾

A radioterapia, exclusiva neste estudo, foi a terapêutica mais utilizada (52,5%) em razão do diagnóstico da doença em estádios mais avançados, seguida da cirurgia de Wertheim Meigs (24,2%). Tais dados não foram correlacionados à positividade da p53.

A expressão alterada da p53 foi demonstrada, em nosso estudo em 89,2% das pacientes, por meio do método de imunistoquímica, que, segundo a literatura, detecta a p53 mutante em razão da sua meia vida mais prolongada. A expressão da p53 foi negativa em 10,8% dos casos. Segundo a literatura, a imunistoquímica pode indicar o estado da p53 tipo selvagem, ou seja, p53 com função normal ou p53 inativada, resultado da ação de oncogenes virais.

Muitos estudos examinam o valor prognóstico de mutações da p53 em uma variedade de câncer. Esses dados concluem que tumores com mutações da p53 são piores do que aqueles sem mutações da p53, em termos de sobrevida total da paciente, livre da doença.

Conclusões

Este estudo permite concluir que a expressão positiva da p53 está associada a um prognóstico pouco favorável em pacientes com câncer invasivo de colo de útero, pois o estágio em que a doença encontrou uma maior frequência dessa expressão foi o estágio II segundo a classificação da FIGO. Entre os co-fatores analisados, o estadiamento e a coitarca tiveram associação significativa com a expressão positiva da p53. As formas de tratamento não se evidenciaram como fator prognóstico quando relacionadas com a expressão da p53.

Referências

1. Inca. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas, recomendações para profissionais de saúde, 2a ed. Rio de Janeiro: Inca; 2006.
2. Semenza JC, Weasel LH. Molecular Epidemiology and Environmental Health: The Potential of Tumor Suppressor Gene p53 as a Biomarker. *Environmental Health Perspect.* 1997; 105:155-63.
3. Franco EL, Schlecht NF, FS, Saslow D. The Epidemiology of Cervical Cancer. *The Cancer Journal.* 2003; Sept./Oct. 9(5).
4. Munger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res.* 2002; 89:213-28.
5. Stewart BW, Kleihues P, Eds. World cancer report. Lyon: IARC Press. 2003.
6. Harris CC. p-53 Tumor Suppressor Gene: At The Crossroads of Molecular Carcinogenesis, Molecular Epidemiology and Cancer Risk Assessment. *Environmental Health Persp.* 1996; 104:435-9.

7. Harris CC. Structure and Functions of the p-53 tumor suppressor gene: Clues for Rational Cancer Therapeutic Strategies. *J. National Cancer Inst.* 1996; 88:1442-5.
8. Klumb CE, Cavalcanti Jr GB. Avaliação dos métodos de detecção das alterações do gene e proteína p53 nas neoplasias linfonodais. *Rev Bras Hematol. Hemoter.* 2002; 24 (Pt 2):111-25.
9. Chiarugi V, Ruggiero M. Role of the cancer "master genes" p53, BCL 2 and C, Myc on the apoptotic process, *Tumori.* 1996; 82:205-9.
10. Min-Min H, Min-rong X, Ze-yi C, Kai-xuan Y, Zhi-lin S. Analysis of p53 codon 72 polymorphism and its association with human papillomavirus 16 and 18 E6 in Chinese cervical lesions. *Int J Gynecol Cancer.* 2006; 16:2004-8.
11. Lu FA. Phenotypic features with p53 alterations related to human papillomavirus and prognostic evaluation in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2006; 16:708-17.
12. Chang F, Syrjanen S, Syrjanen K. Implications of the p53 Tumor Suppressor Gene in Clinical Oncology. *Journal Clinical Oncology.* 1995; 13:1009-22.
13. Nakamura S, Gomyo Y, Ro JA. C- terminus of p53 is required for G(2) arrest. *Oncogene.* 2002; 27:2102-7.
14. Berchuck A, Kohler MF, Marks JR, Wislman R, Boyd J, Bast Jr. RC, The p53 tumor suppressor gene frequently is altered in gynecologic cancers. *American J Obstet Gynecol.* 1994; 170:246-52.
15. Akasi M, Koeffler HP. Li Fraumeni Syndrome and Role of the p53 Tumor Suppressor Gene in Cancer Susceptibility, *Clinical Obstetrics and Gynecology.* 1998; 41:172-99.
16. Swan DC, Vernon SD, Icenogle JP. Cellular Proteins Involved in papillomavirus – induced transformation *Arch Viro.* 1994; 138:105-15.
17. Arends MJ, Buckley CH, Wells MA. etiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia, *J Clin Pathol.* 1998; 51:96-103.
18. Vousden K. Interactions of human papillomavirus transforming proteins of tumor suppressor genes. *The FASEB Journal.* 1993; 7:872-9.
19. Diamandou EP. Clinical applications of the p53 tumor suppressor gene. *Clinica Chimica Acta.* 1995; 237:79-90.
20. Lowe SW. Cancer Therapy and p53. *Current Opinion in Oncology.* 1995; 7:547-53.
21. Waggoner SE. O cancer cervical. *The Lancet.* 2003; 361:2217-25.
22. Hsu, SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and Unlabeled (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem.* 1981; 4 (Pt 29):577-80.
23. Silva Filho AL da. Expressão das Proteínas p53, Ki-67 e CD31 no tumor e nas margens vaginais após histerectomia radical em pacientes com carcinoma invasor do colo uterino. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu; 2004.
24. Halbe HW. Tratado de Ginecologia. 2a ed. Roca. 1995; 2:1807-54.
25. Disaia PJ, Creasman WT. *Clinical Gynecologic Oncology* fifth ed., Mosby. 1997; 51-106.
26. Rocha, AD et al. Expressão imunohistoquímica e valor prognóstico da proteína e valor prognóstico da proteína p53 no carcinoma de ves. biliar. *J Bras Patol Med Lab.* 2004; 40 (Pt 6):403-10.
27. Bornstein J, Rahat MA, Abramovici, 4 Etiology of Cervical Cancer; Current concepts, *Obstet Gynecol Surv.* 1995; 50:146-54.

Colaboradores:

Concepção e projeto: Lúcia Teresa Hinojosa Schäffer e Paulo Traiman. Análise e interpretação dos dados: Gilberto Uemura, Jorge Nahas Neto e Lúcia Teresa Hinojosa Schäffer. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual: Lúcia Teresa Hinojosa Schäffer e Paulo Traiman. Aprovação final da versão a ser publicada: Eliana Aguiar Petri Nahas e Anaglória Pontes.

Endereço para correspondência

Av. Otávio Santos, 261, sala 107 Centro. Vitória da
Conquista – BA. Brasil.
CEP: 45.020-750

Recebido em 07/10/2010

Aprovado em 25/06/2012