

LEVON BADIGLIAN FILHO

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DA VIA WNT EM NEOPLASIAS
EPITELIAIS OVARIANAS E OVÁRIOS NORMAIS.**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista
de Medicina, para obtenção
do título de Doutor em Ciências.

São Paulo

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LEVON BADIGLIAN FILHO

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DA VIA WNT EM NEOPLASIAS
EPITELIAIS OVARIANAS E OVÁRIOS NORMAIS.**

Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo – Escola Paulista
de Medicina, para obtenção
do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Wagner José Gonçalves

Co-orientadora: Dra. Celina Tizuko Fujiyama Oshima

São Paulo

2009

Badiglian Filho, Levon

Análise imuno-histoquímica da via WNT em neoplasias epiteliais ovarianas e ovários normais/ Levon Badiglian Filho. -- São Paulo, 2009.
x, 102f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-graduação em Ginecologia.

Título em inglês: Immuno-histochemical analysis of the WNT pathway in epithelial ovarian tumors and normal ovaries.

1. Ovário. 2. Neoplasias do ovário. 3. Proteínas Wnt. 4. Beta-catenina. 5. Wnt5a.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
CURSO DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA

Chefe do Departamento: Prof. Dr. Afonso Celso Nazário

Coordenador do Curso de Pós-graduação: Prof. Dr. Ismael Dale Cotrim Guerreiro da
Silva

LEVON BADIGLIAN FILHO

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DA VIA WNT EM NEOPLASIAS
EPITELIAIS OVARIANAS E OVÁRIOS NORMAIS.**

Presidente da banca: Prof. Dr. Wagner José Gonçalves

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wagner José Gonçalves

Profa. Dra. Dra. Celina Tizuko Fujiyama Oshima

Prof. Dr. Paulo Kassab

Prof. Dr. Roberto Euzébio dos Santos

Prof. Dr. Paulo Eduardo Ribeiro dos Santos Novaes

SUPLENTES

Prof. Dr. Sérgio Mancini Nicolau

Dr. Robério de Sousa Damião

Aprovada em: ___/___/_____

Dedicatória

À minha esposa,

ANA PAULA

Pelo apoio incondicional e determinado nestes anos de estudo, muitas vezes à custa de sacrifícios pessoais.

Aos meus pais,

VANDA e LEVON

Pela dedicação e empenho na formação de minha base acadêmica desde meus primeiros anos de vida.

Aos meus avós,

SARA e YERVANT *, ALICE * e HOVAKIM *

(* *in memoriam*)

Por me mostrar a importância dos valores familiares.

Aos meus irmãos,

SARITA e LEANDRO

Pelo convívio fraternal.

Ao Prof. Dr. WAGNER JOSÉ GONÇALVES

Pelo exemplo de profissionalismo e ética sempre demonstrados de forma brilhante e pela amizade.

À Dra. CELINA TIZUKO FUJIYAMA OSHIMA

Pela dedicação a este projeto e pela amizade sincera.

Ao Prof. Dr. SÉRGIO MANCINI NICOLAU

Pelos anos de convívio e pelo estímulo constante ao desenvolvimento da Medicina.

À Profa. Dra. CLÁUDIA DE CARVALHO RAMOS BORTOLETTO

Pela amizade e apoio constantes.

Agradecimentos

Os mais sinceros agradecimentos a todos que me auxiliaram na execução deste trabalho:

Prof. Dr. JOÃO NOBERTO STÁVALE, Professor Livre-Docente do Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo, pelas revisões das lâminas deste trabalho.

Dr. FLÁVIO DE OLIVEIRA LIMA, Médico Patologista, Mestre e Doutor em Ciências, pela leitura das lâminas e valiosas contribuições.

Dr. HENRIQUE DE OLIVEIRA COSTA, Médico Patologista, Doutor em Ciências, no auxílio constante na feitura deste trabalho.

Sr. THIAGO SIMÃO GOMES, Biólogo, Mestre em Ciências, pela preparação das lâminas do TMA (tissue micro-array).

Dr. ROBÉRIO DE SOUZA DAMIÃO, Médico, Doutor em Ciências, pela contribuição na obtenção da casuística deste estudo.

Sr. JOAQUIM SOARES DE ALMEIDA, técnico do Laboratório de Patologia da Universidade Federal de São Paulo, pela confecção do bloco de TMA (tissue micro-array).

Prof. Dr. Marcelo Fabiano Franco, Chefe do Departamento de Patologia da UNIFESP-EPM pelo apoio recebido.

A todos os colegas de pós-graduação da Disciplina de Oncologia Ginecológica da UNIFESP-EPM: Dr. PEDRO LUIZ LACORDIA, Dra. CARMEM REGINA NOGUEIRA de CARVALHO, Dr. MARCO ANTONIO PEREIRA, Dr. RENATO MORETTI MARQUES, Dr. RONEY CÉSAR SIGNORINI FILHO, Dra. MARINA DE PÁDUA NOGUEIRA, Dr. ADEMIR NARCISO de OLIVEIRA MENEZES, Dr. ANDRÉ da COSTA VAZ, MILTON SAKANO e Dr. CLÓVIS CARVALHO, pelo auxílio no atendimento às pacientes deste

estudo.

Às secretárias do Departamento de Ginecologia da UNIFES-EPM, KARIM MARTIM DOS SANTOS, ELITA de CÁSSIA ROCHA, VALÉRIA MIRANDA DOS SANTOS MEDINA, ZÉLIA MARIA GOMES MACEDO, MARIA CECÍLIA DA ROCHA SANTOS, pelo auxílio em nossos trabalhos.

À Sra. ISABEL SOARES DA SILVA, funcionária do centro cirúrgico, pelo convívio sempre amistoso e apoio constante.

A todos os demais professores, pós-graduandos, residentes e funcionários do Departamento de Ginecologia da UNIFESP-EPM, que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

Às pacientes, minha eterna gratidão.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento deste trabalho aprovado sob o número 06/51401-1.

Sumário

Dedicatória.....	v
Agradecimentos.....	vii
Listas.....	xii
Resumo.....	xvii
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 A família wnt.....	4
1.2 A via wnt.....	4
1.3 A via canônica.....	5
1.4 A via não canônica	6
1.5 A via wnt-Ca ²⁺	7
1.6 A via da PKA.....	7
1.7 Wnt5a.....	7
2 PROPOSIÇÃO.....	10
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	12
3.1 Pacientes.....	13
3.2 Métodos.....	14
4 RESULTADOS.....	17
4.1 Características das pacientes.....	18
4.2 Expressão das proteínas.....	31
4.3 Grupo de neoplasias epiteliais malignas.....	46
5 DISCUSSÃO.....	55
5.1 Wnt1.....	56
5.2 Frizzled1.....	56
5.3 Wnt5a.....	56
5.4 Frizzled5.....	58
5.5 Beta-catenina.....	58
6 CONCLUSÕES.....	60
7 ANEXOS.....	62
7.1 Anexo 1.....	63
7.2 Anexo 2.....	65
7.3 Anexo 3.....	68
7.4 Anexo 4.....	70

7.5 Anexo 5	72
7.6 Anexo 6.....	74
7.7 Anexo 7.....	76
7.8 Anexo 8.....	77
7.9 Anexo 9.....	78
7.10 Anexo 10.....	79
7.11 Anexo 11.....	80
7.12 Anexo 12.....	81
7.13 Anexo 13.....	82
7.14 Anexo 14.....	83
7.15 Anexo 15.....	84
8 REFERÊNCIAS.....	94
Abstract	
Apêndice	
Bibliografia consultada	

Lista de figuras

Figura 1. A via canônica	5
Figura 2. A via não-canônica.....	6
Figura 3. A via do wnt-Ca ²⁺	7
Figura 4. Inibição da via não-canônica sobre a via canônica através de TCF/LEF.....	8
Figura 5. Inibição da via não-canônica sobre a via canônica através de APC e Siah2.....	9
Figura 6. Média (+/- 1dp) da Idade das pacientes segundo o grupo.....	18
Figura 7. Distribuição da Raça das pacientes segundo o grupo.....	19
Figura 8. Média (+/- 1dp) do IMC das pacientes segundo o grupo.....	20
Figura 9. Distribuição da presença de HAS nas pacientes segundo o grupo.....	21
Figura 10. Distribuição da presença de DM nas pacientes segundo o grupo.....	22
Figura 11. Média (+/- 1dp) da Glicemia das pacientes segundo o grupo.....	23
Figura 12. Média (+/- 1dp) da Hb das pacientes segundo o grupo.....	24
Figura 13. Média (+/- 1dp) do Número de Gestações das pacientes segundo o grupo.....	25
Figura 14. Média (+/- 1dp) da Paridade das pacientes segundo o grupo.....	26
Figura 15. Média (+/- 1dp) da Idade da Menarca das pacientes segundo o grupo.....	27
Figura 16. Distribuição da presença de Menopausa nas pacientes segundo o grupo.....	28
Figura 17. Média (+/- 1dp) da Idade da Menarca das pacientes segundo o grupo.....	29
Figura 18. Distribuição do Tabagismo nas pacientes segundo o grupo.....	30
Figura 19. Distribuição da expressão de Wnt1 nas pacientes segundo o grupo.....	31
Figura 20. Fotomicrografia caso M12.....	32
Figura 21. Fotomicrografia caso B10.....	32
Figura 22. Fotomicrografia caso N9.....	33
Figura 23. Distribuição da expressão de FZD1 nas pacientes segundo o grupo.....	34
Figura 24. Fotomicrografia caso M5.....	35
Figura 25. Fotomicrografia caso B2.....	35
Figura 26. Fotomicrografia caso N12.....	36
Figura 27. Distribuição da expressão de Wnt5a nas pacientes segundo o grupo.....	37
Figura 28. Fotomicrografia caso M10.....	38
Figura 29. Fotomicrografia caso B14.....	38

Figura 30. Fotomicrografia caso N21.....	39
Figura 31. Distribuição da expressão de FZD5 nas pacientes segundo o grupo.....	40
Figura 32. Fotomicrografia caso M38.....	41
Figura 33. Fotomicrografia caso B27.....	41
Figura 34. Fotomicrografia caso N14.....	42
Figura 35. Distribuição da expressão de Beta-catenina nas pacientes segundo o grupo.....	43
Figura 36. Fotomicrografia caso M13.....	44
Figura 37. Fotomicrografia caso B13.....	44
Figura 38. Fotomicrografia caso N10.....	45
Figura 39. Distribuição do tipo de Cirurgia das pacientes do grupo A.....	47
Figura 40. Distribuição do Estadiamento das pacientes do grupo A.....	47
Figura 41. Distribuição do Tipo Histológico das pacientes do grupo A.....	48
Figura 42. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes do grupo A..	48
Figura 43. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo o tipo de cirurgia.....	49
Figura 44. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo o estágio.....	50
Figura 45. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo a expressão da Wnt1.....	51
Figura 46. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo a expressão do Wnt5a.....	52
Figura 47. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo a expressão do FZD5.....	53
Figura 48. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo a expressão da Beta-catenina.....	54

Lista de tabelas

Tabela 1. Medidas descritivas da Idade das pacientes segundo o grupo.....	18
Tabela 2. Distribuição da Raça das pacientes segundo o grupo.....	19
Tabela 3. Medidas descritivas do IMC das pacientes segundo o grupo.....	20
Tabela 4. Distribuição da presença de HAS nas pacientes segundo o grupo.....	21
Tabela 5. Distribuição da presença de DM nas pacientes segundo o grupo.....	22
Tabela 6. Medidas descritivas da Glicemia das pacientes segundo o grupo.....	23
Tabela 7. Medidas descritivas da Hb das pacientes segundo o grupo.....	24
Tabela 8. Medidas descritivas do Número de Gestações das pacientes segundo o grupo.....	25
Tabela 9. Medidas descritivas da Paridade das pacientes segundo o grupo.....	26
Tabela 10. Medidas descritivas da Idade da Menarca das pacientes segundo o grupo.....	27
Tabela 11. Distribuição da presença de Menopausa nas pacientes segundo o grupo.....	28
Tabela 12. Medidas descritivas da Idade da Menopausa das pacientes segundo o grupo.....	29
Tabela 13. Distribuição do Tabagismo nas pacientes segundo o grupo.....	30
Tabela 14. Distribuição da expressão de Wnt1 nas pacientes segundo o grupo.....	31
Tabela 15. Distribuição da expressão de FZD1 nas pacientes segundo o grupo.....	34
Tabela 16. Distribuição da expressão de Wnt5a nas pacientes segundo o grupo.....	37
Tabela 17. Distribuição da expressão de FZD5 nas pacientes segundo o grupo.....	40
Tabela 18. Distribuição da expressão de Beta-catenina nas pacientes segundo o grupo.....	43
Tabela 19. Dados da Cirurgia no grupo A.....	46
Tabela 20. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo o tipo de cirurgia.....	49
Tabela 21. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo o estágio.....	50
Tabela 22. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo a expressão do Wnt1.....	51
Tabela 23. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo a expressão do Wnt5a.....	52

Tabela 24. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo a expressão do FZD5.....	53
Tabela 25. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo a expressão da Beta-catenina.....	54

Lista de abreviaturas e símbolos

dl	Decilitro
DM	Diabetes mellitus
dp	Desvio padrão
FZD1	Frizzled-1
FZD5	Frizzled-5
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
Hb	Hemoglobina
IMC	Índice de massa corpórea
Kg	Kilograma
m ²	Metro ao quadrado
mg	Miligrama
n	Número amostral
NA	Não avaliada

Resumo

Objetivo: Analisar as vias canônica e não-canônicas da família Wnt no ovário normal e na neoplasia benigna e maligna do ovário.

Métodos: Obtiveram-se tecidos ovarianos no período entre 1993 e 2004. As pacientes foram divididas em três grupos: Grupo A, neoplasia ovariana epitelial maligna (N = 38); Grupo B, neoplasia ovariana epitelial benigna (N = 28) e Grupo C, ovários normais (N = 26). A imunexpressão para Wnt1, Frizzled-1 (FZD1), Wnt5a, Frizzled-5 (FZD5) e Beta-catenina foi avaliada em cada grupo.

Resultados: A proporção de pacientes Wnt1-positivas no grupo A (29,4%) foi significativamente maior do que nos grupos B (4,3%) e C (9,1%) ($p = 0,020$). A proporção de mulheres FZD1-positivas no grupo C (54,5%) foi significativamente menor do que nos grupos A (97,1%) e B (90,0%) ($p < 0,001$). A proporção de pacientes wnt5a-positivas foi significativamente maior no grupo A (80,0%) comparado aos grupos B (25,0%) e C (27,3%) ($p < 0,001$). A proporção de pacientes Beta-catenina-positivas no grupo C (95,8%) foi significativamente maior do que no grupo B (52,4%) ($p = 0,004$). A comparação nas curvas de sobrevida no grupo A relacionada à expressão de Wnt5a mostrou diferença significativa entre as pacientes positivas e negativas, sendo que as pacientes Wnt5a-positivas apresentaram resultados piores ($p=0,050$).

Conclusão: Os achados demonstram que as vias relacionadas ao Wnt5a têm papel relevante na neoplasia ovariana maligna. Outrossim, a imunexpressão do Wnt5a revelou ser marcador de mau prognóstico para câncer de ovário.

O câncer de ovário caracteriza-se pelo diagnóstico tardio representando grande desafio na ginecologia (1).

Esta doença apresenta-se com frequência pobre de sintomas destacando-se desconforto abdominal ou dor, aumento de volume abdominal devido a grandes massas e ascite, sintomas gastrointestinais inespecíficos, disúria e o aumento da frequência urinária (2).

Os tumores primitivos do ovário são classificados, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em epiteliais, germinativos e estromais. Os epiteliais representam aproximadamente 70% dos casos e se subclassificam em serosos, mucinosos, endometrióides, tumores de células claras, tumores de células transicionais, carcinoma escamoso, mistos e indiferenciados (2). Os germinativos se subclassificam em teratomas, disgerminomas, tumores do seio endodérmico e coriocarcinomas. Os estromais (também chamados de tumores do cordão sexual) se subclassificam em fibromas, tumores da teca/granulosa e tumores de Sertoly/Leydig (1).

O tratamento padrão da neoplasia maligna consiste na citorredução cirúrgica do tumor e dos implantes tumorais, seguido de quimioterapia na grande maioria dos casos.

A epidemiologia mostra alta incidência destes tumores nos países desenvolvidos e na zona temperada da América do Sul. A sua incidência aumenta com a idade, alcançando o ápice na oitava década de vida; é raro antes da puberdade, começando a incidir, habitualmente, após os 40 anos (3).

Na Disciplina de Oncologia Ginecológica do Departamento de Ginecologia da Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM) observou-se frequência crescente de carcinoma de ovário após os 30 anos, com pico entre 40 e 59 anos (1).

Segundo dados da Fundação Oncocentro de São Paulo (FOSP), o câncer de ovário foi responsável por 4% das mortes por câncer no Estado de São Paulo no biênio 1999-2000 (4). Infelizmente, dados atuais brasileiros não são disponibilizados com regularidade.

A sobrevida em cinco anos é de aproximadamente 50% nos Estados Unidos da América, atingindo taxa de mortalidade de 7,6 por 100.000 mulheres (3). Outrossim, representa a maior taxa de mortalidade dentre as neoplasias ginecológicas nos países ocidentais (5,6).

Há diferenças marcantes na sobrevida de pacientes com câncer de ovário, dependendo de sua idade e do estadiamento da doença. Para mulheres abaixo de 45 anos de idade a taxa de sobrevida em 5 anos é de 70% comparada a 20% para mulheres com 75 anos ou acima (2). Mulheres com estadios avançados de câncer de ovário abaixo de 45 anos de idade têm uma taxa de sobrevida de 45%, sendo que este índice é de 13% para mulheres de 65 a 74 anos de idade. (2).

Existem fatores protetores e de risco para o desenvolvimento de câncer de ovário, sendo que alguns estão bem estabelecidos e outros ainda necessitam estudos complementares.

Sabe-se que mulheres que usam contraceptivos orais por 5 anos apresentam redução de 50% do risco de neoplasia ovariana em relação às que não usam. A maioria dos estudos indica também que cada gestação representa redução do risco em 15 a 20 %. A amamentação parece ser protetora, assim como a histerectomia e a laqueadura tubárea, que parecem diminuir o risco em mais de 80% (3).

Alguns autores relataram que a endometriose, a anovulação crônica e a moléstia inflamatória pélvica estão positivamente correlacionadas ao desenvolvimento de neoplasia de ovário (5). Outros fatores que também se relacionam com a elevação do risco de desenvolvimento do câncer de ovário são nuliparidade, maior consumo de gordura, fatores genéticos entre outros. (2).

Em relação aos fatores de risco genéticos, os genes BRCA1 e BRCA2 estão relacionados com o desenvolvimento do câncer de ovário. As mulheres com mutação no gene BRCA1 têm de 16 a 60% de risco de desenvolver câncer de ovário, enquanto aquelas com mutação no gene BRCA2 têm risco de 16 a 27% de desenvolvê-lo (7-9).

Riman assinalou que houve aumento no risco desta doença em usuárias de terapia de reposição hormonal comparado às não-usuárias (5). Em nosso meio, Damião et al analisaram esta hipótese através do estudo de receptores de estrógeno, progesterona e do COUP-TFI (“chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor I” – uma proteína reguladora do receptor de estrógeno) (10).

Apesar da etiologia do câncer de ovário permanecer obscura, formularam-se várias hipóteses como as das ovulações ininterruptas, secreções excessivas de gonadotrofinas, transporte retrógrado de carcinógeno, desequilíbrio entre estrógeno e progesterona, entre outros (11, 12).

Várias hipóteses tentam explicar este processo, desde teorias sobre o “trauma” da ovulação sobre o epitélio ovariano até influências hormonais. É possível que nas

ovulações possam ocorrer eventos críticos que levem à carcinogênese (2, 13). Todas estas teorias encontram suporte epidemiológico, pois vários destes sugerem que o risco de câncer diminui com os fatores que suprimem a ovulação.

1.1 A família Wnt

Em 1982, Nusse e Varmus, estudando a integração do vírus de tumor mamário em ratos MMTV-mouse mammary tumor virus ao DNA do hospedeiro, descobriram um fragmento de restrição de DNA que chamaram de MMTV int1 (integration 1) e notaram que este fragmento era anormal em 18 de 26 tumores mamários em ratos (14).

A estrutura deste gene Int 1 foi descrita pela primeira vez em 1984 por Van Ooyen e Nusse e em 1991, Nusse et al propuseram que este gene fosse nomeado de Wnt1 porque era tanto um gene Int como homólogo do gene “wingless” da drosófila (15, 16). McMahon e McMahon (17) descreveram a proteína que estava relacionada ao Int-1 murina (murine int-1-related protein-m-irp) e sugeriram função no desenvolvimento fetal da comunicação alantóide.

Os genes Wnt estão presentes em espécies que variam desde a drosófila ao homem. Nos mamíferos foram descritos aproximadamente 19 tipos de Wnt, entre eles Wnt1, Wnt2, Wnt2b/13, Wnt3, Wnt3a, Wnt4, Wnt5a, Wnt5b, Wnt6, Wnt7a, Wnt7b, Wnt8a, Wnt8b, Wnt9a (previamente Wnt14), Wnt9b (previamente Wnt15), Wnt10a, Wnt10b, Wnt11 e Wnt16 (<http://www.stanford.edu/~rnusse/wntgenes/humanwnt.html>). Todos estes genes foram agrupados como a família dos genes Wnt que possui função relevante na embriogênese assim como na carcinogênese de várias neoplasias.

1.2 A via Wnt

Os genes Wnt codificam uma família de glicoproteínas denominadas proteínas Wnt. As células-alvo das proteínas Wnt expressam membros da família de receptores Frizzled que, quando ativados pela ligação com as proteínas Wnt, ativam uma cadeia de sinalização intracelular chamada via Wnt.

Quando ocorre a ligação do Wnt ao seu receptor, tanto no receptor Frizzled ou no complexo Frizzled-LRP 5/6, o sinal gerado é transmitido à fosfoproteína Dishevelled (Dsh).

As proteínas Frizzled consistem de dez receptores transmembranas que atuam como receptores das proteínas originadas da família Wnt (18). Além destes, existem também os co-receptores LRP 5/6 (“low-density-related lipoprotein receptor”) que

possuem dois membros no genoma humano (18).

As 3 proteínas Dsh dos mamíferos (Dsh-1, Dsh-2 e Dsh-3) contém três domínios altamente conservados sendo um domínio amino-terminal DIX (nomeado pela Dsh e Axin), outro domínio PDZ central (nomeado do inglês “ Postsynaptic density-95, Discs-large and Zonula occludens-1) e, finalmente, o domínio carboxi-terminal DEP (Dsh, Egl-10 e Pleckstrin). Ao nível da Dsh a via do Wnt pode se separar em 3 vias; canônica, não-canônica e do Wnt-Ca²⁺ (18). Alguns autores descrevem a via não canônica e a via do Wnt-Ca²⁺ como única, nomeando somente de via não canônica (19). Outros ainda, descrevem uma quarta via, a via Proteína Quinase A (PKA).

Chen et al demonstraram que a adenil ciclase sinalizando via Proteína Quinase A (PKA) e seu fator de transcrição alvo, CREB (do inglês “cAMP responsive element-binding protein”) são necessários para expressão miogênica Wnt-direcionada. Eles também demonstraram que as proteínas Wnt podem estimular a transcrição CREB-mediada (20, 21).

1.3 A via canônica

Na via canônica, via receptores Frizzled e LRP 5/6, a sinalização do Wnt utiliza os domínios DIX e PDZ da Dsh para induzir a estabilização da Beta-catenina no citoplasma (Figura 1).

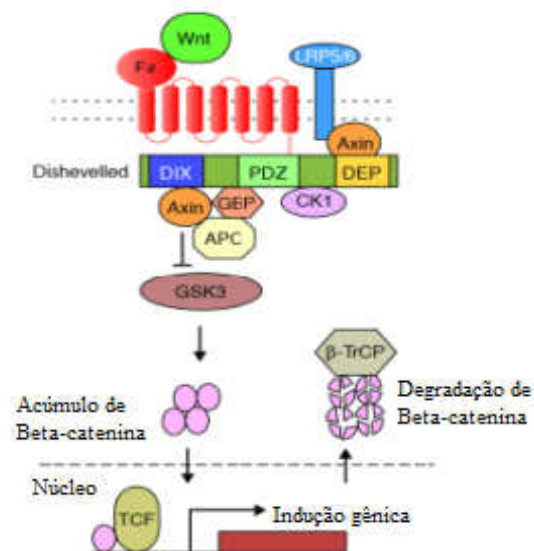


Figura 1. A via canônica. Adaptado de Habas e Dawid, 2005.

Esta regulação da estabilidade é mediada via complexo de proteínas incluindo Axina, glicogênio sintase quinase 3 (GSK3), proteína ligadora do GSK3 e caseína quinase 1 (CK1). Na ausência de estimulação de Wnt, a Beta-catenina é degradada pela b-TrCP (“beta-transducin repeat containing protein”), porém a Beta-catenina é estabilizada quando o sinal Wnt é recebido.

Isto permite o acúmulo e subsequente translocação de Beta-catenina do citoplasma para o núcleo. No núcleo, a Beta-catenina forma complexos com os membros da família de fatores de transcrição LEF/TCF e outros fatores e media a transcrição dos genes alvos do Wnt, como c-myc, Ciclina D, VEGF, endotelina-1 e outros (18).

1.4 A via não-canônica

A via não-canônica é ativada pelos receptores Frizzled, independente do LRP 5/6 e media a polaridade celular, os movimentos celulares durante a gastrulação e outros processos, por transdução do sinal através dos domínios PDZ e DEP da Dsh levando à modificação do citoesqueleto de actina. Ao nível da Dsh, duas vias paralelas e independentes levam à ativação de GTPases Rho e Rac. A ativação do Rho requer a proteína Daam 1 que se liga ao domínio PDZ da Dsh, levando à ativação da quinase Rho-associada, ROCK, e media a re-organização do citoesqueleto. A ativação do Rac é independente do Daam 1, e requer o domínio DEP da Dsh, estimulando a atividade da Jun quinase (JNK) (Figura 2).

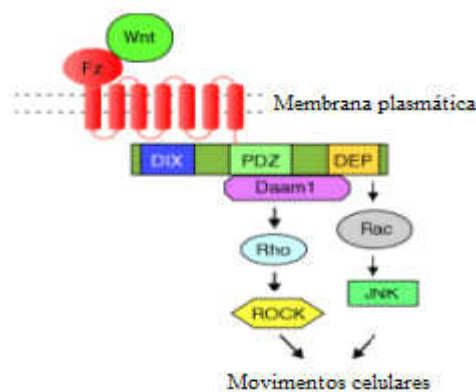


Figura 2. A via não-canônica. Adaptado de Habas e Dawid, 2005.

1.5 A via Wnt-Ca²⁺

A via do Wnt-Ca²⁺ tem possível influência sobre as vias canônica e não-canônica. A sinalização do Wnt via receptores Frizzled levam à liberação de cálcio intracelular em processo mediado por proteínas G heterotrimericas e envolve numerosas outras moléculas, incluindo fosfolipase C (PLC), calcio-calmodulina-dependente quinase 2 (CamK2) e proteína quinase (PKC). Esta via é importante para a adesão celular e movimentos celulares durante a gastrulação (Figura 3).

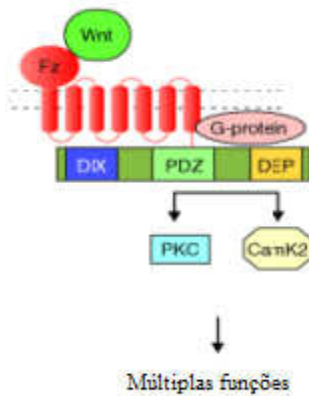


Figura 3. A via do Wnt-Ca²⁺. Adaptado de Habas e Dawid, 2005.

Alguns Wnts podem ativar tanto a via canônica como a não-canônica como o Wnt3a, enquanto que outros, como o Wnt5a, parecem ser específicos à via não-canônica (18).

1.6 A via da PKA

Chen et al demonstraram que a adenil ciclase sinalizando via Proteína Quinase A (PKA) e seu fator de transcrição alvo, CREB (do inglês “cAMP responsive element-binding protein”) são necessários para expressão miogênica Wnt-direcionada. Eles também demonstraram que as proteínas Wnt podem estimular a transcrição CREB-mediada (20, 21). Até o presente momento não temos maiores detalhes sobre o funcionamento desta via.

1.7 Wnt5a

Em 1990, Gavin et al, pesquisando genes relacionados ao Wnt1, identificaram 6

membros da família Wnt, incluindo o Wnt5a.

O gene Wnt5a codifica fator de crescimento rico em cisteína envolvido na sinalização célula a célula pelo mecanismo parácrino durante o crescimento e diferenciação embrionária (22-25). O gene contém cinco exons e está mapeado em 3p14.2-p21.1 (23).

Apesar da função no desenvolvimento embrionário, vários autores descreveram o envolvimento do Wnt5a com diversas neoplasias assinalando-se mama (26-28), rim (29, 30), cólon e reto (31), pulmão, próstata e melanoma (22).

Em 1997 Olson et al (32) sugeriram que o Wnt5a seria gene supressor de tumor e que sua alteração levaria à tumorigênese. Outros autores afirmaram que a via não-canônica teria um efeito antagonista sobre a via canônica através de diferentes mecanismos e desse modo o gene Wnt-5a seria um supressor de tumor (33, 34).

Ishitani et al (33) propuseram um modelo no qual a via não-canônica inibiria a via canônica ao nível de TCF/LEF, ou seja, já no interior do núcleo (Figura 4).

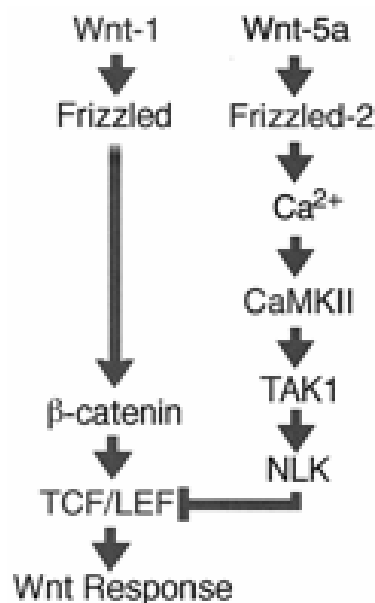


Figura 4. Inibição da via não-canônica sobre a via canônica através de TCF/LEF.

Adaptado de Ishitani et al, 2003.

Já Topol et al descreveram outro modelo para explicar esta influência negativa da via não-canônica sobre a via canônica, no qual a via não-canônica aumentaria a expressão das proteínas APC e Siah2 e estas, em conjunto, levariam à degradação da Beta-catenina (34) (Figura 5).

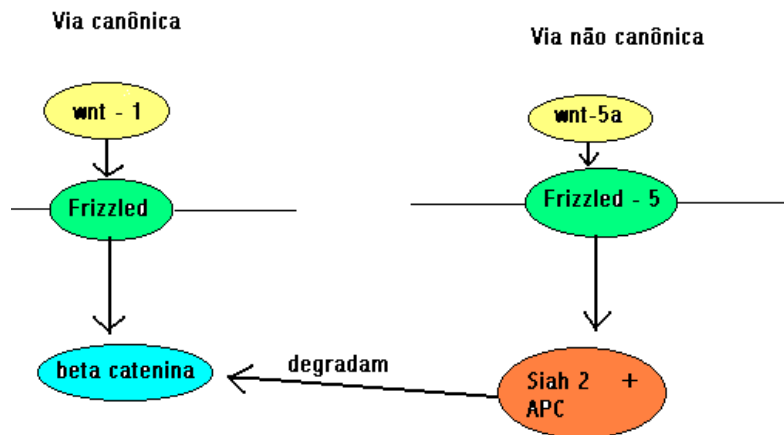


Figura 5. Inibição da via não-canônica sobre a via canônica através de APC e Siah2.

Contrariando a hipótese de que o Wnt5a seria supressor de tumor, outros autores encontraram o gene Wnt5a amplificado em vários tipos de neoplasias (19, 35-37).

Saitoh et al observaram que o gene Wnt5a estava amplificado em tumores de estômago, esôfago e pâncreas (35, 36).

Já Taki et al, pesquisando o gene Wnt5a em 11 linhagens de carcinoma de células escamosas de vulva humana encontraram que o mesmo estava amplificado em todas as linhagens estudadas (37).

No câncer colorretal, Smith et al, demonstraram que o Wnt5a, juntamente com Wnt2, estava significativamente superexpresso na progressão do tecido normal para adenoma e deste para carcinoma (31).

Em 2002, Rickhen et al (38) aventaram a possibilidade de que o gene Wnt5a estaria envolvido na carcinogênese do ovário.

Em relação ao câncer de ovário encontramos escassa literatura sobre a função do gene Wnt5a e da via não-canônica, o que nos motivou efetuar este estudo.

2 PROPOSIÇÃO

3.1 Pacientes

Estudaram-se de forma retrospectiva, pacientes atendidas na Disciplina de Oncologia Ginecológica da Universidade Federal de São Paulo no período de janeiro de 1993 a dezembro de 2004.

As enfermas foram divididas em 3 grupos: Grupo A, com neoplasia ovariana epitelial maligna (N = 38); Grupo B, com neoplasia ovariana epitelial benigna (N = 28) e Grupo C, pacientes que tiveram indicações cirúrgicas por doença uterina benigna e com ovários normais (N = 26).

A amostra de tecido ovariano encontrava-se bloqueada em parafina arquivada no Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM).

Todas as lâminas foram revisadas por segundo patologista docente da instituição para confirmação diagnóstica e para seleção das áreas mais representativas da peça.

Os blocos de parafina utilizados foram provenientes de laparotomias realizadas em pacientes da Disciplina de Oncologia Ginecológica. Tal procedimento cirúrgico foi realizado para terapêutica e confirmação diagnóstica. Verificou-se que grande número de casos ocorreu em estádios avançados da neoplasia ovariana, sendo que muitas destas pacientes já haviam falecido em consequência da doença.

Algumas pacientes oriundas de outras cidades procuraram o serviço para a realização do tratamento, especialmente nas afecções benignas, retornaram após a alta médica ao local de origem. Este conjunto de fatores impossibilitou-nos obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE. Com estes argumentos houve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo sob o número 1416/05 em 11/11/2005.

Os dados clínicos foram obtidos pela revisão dos prontuários das enfermas atendidas no Ambulatório da Disciplina de Oncologia Ginecológica da Universidade Federal de São Paulo.

Anotaram-se dados de anamnese especialmente idade, raça, idade da menarca, número de gestações, partos, abortamentos, idade da menopausa e antecedentes de tabagismo e etilismo e presença de diabetes mellitus.

Os dados do exame físico registrados foram peso, altura, índice de massa corpórea e presença de hipertensão arterial sistêmica.

Entre os exames laboratoriais, anotaram-se o valor da glicemia de jejum e da hemoglobina.

3.1.1 Critérios de inclusão para o estudo

Pacientes que se submeteram a laparotomia exploradora por neoplasia ovariana ou realizaram ooforectomia durante cirurgia para tratamento de afecção benigna do corpo do útero.

3.1.2 Critérios de exclusão para o estudo

Pacientes com neoplasia ovariana não-epitelial ou com qualquer neoplasia maligna em seus antecedentes.

Enfermas com tratamento radioterápico prévio.

Mulheres que fizeram uso de terapia de reposição hormonal.

3.2 Métodos

3.2.1 Imuno-histoquímico

A amostra de tecido obtida na cirurgia foi fixada em formalina 10% e incluso em parafina.

As lâminas, coradas pelo HE (hematoxilina-eosina) foram usadas para o diagnóstico. Foram escolhidas para imuno-histoquímica, lâminas que apresentaram cortes histológicos com boa orientação na incidência de corte e com boa porção representativa do tecido neoplásico e normal após revisão por segundo patologista.

Posteriormente, cortes de 4 μ m de espessura foram aderidos em lâminas tratadas com 3-aminopropiltriétoxissilano (Sigma, Co.-USA-A3648) e deixadas em estufa a 60°C por 24 horas para melhor adesão do tecido.

As lâminas foram desparafinizadas através de dois banhos em xilol a temperatura ambiente por 15 minutos cada e hidratação em concentrações decrescentes de etanol até água corrente. O próximo procedimento foi a recuperação antigênica com a utilização de microondas, em tampão citrato, pH 6,0 em potência alta por 20 minutos. As lâminas foram resfriadas à temperatura ambiente por pelo menos 20 minutos.

Após lavagem em água corrente, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena utilizando-se solução de peróxido de hidrogênio a 3% (H₂O₂ a 10 volumes), em quatro banhos de 5 minutos cada, e posterior lavagem em água corrente por 5 minutos e com solução tampão PBS pH 7,4 também por 5 minutos.

A seguir, foi realizada a incubação com o anticorpo primário diluído em título pré-estabelecido, em solução BSA 1% em PBS, pH 7,4, em câmara úmida a 4°C por 18

horas. Após lavagem em tampão PBS por 3 vezes, foi utilizado o método da estreptavidina ligada à biotina, seguindo com incubação com anticorpo secundário biotilado (kit LSAB-Dako, Glostrup, Denmark) em câmara úmida à temperatura ambiente por 30 minutos. Após nova lavagem em tampão PBS, pH 7,4 por 3 vezes, foi realizada a incubação com o complexo streptavidina-biotina-peroxidase (kit LSAB-Dako, Glostrup, Denmark) em câmara úmida à temperatura ambiente por 20 minutos.

Posteriormente, foi realizada lavagem com solução tampão PBS pH 7,4 três vezes e revelação com 60mg de Diaminobenzidina (DAB-Sigma, USA) diluído em 100mL de PBS pH 7,4, acrescido de 2mL de peróxido de hidrogênio a 3% à temperatura ambiente, por 5 minutos.

Após lavagem em água corrente e contra-coloração utilizando-se hematoxilina de Harris, as lâminas foram desidratadas em três banhos de etanol absoluto e três banhos de xilol. Seguiu-se montagem das lâminas com lamínulas e resina Entellan (Sigma) para análise em microscopia óptica comum.

Foram utilizados controles positivos e negativos respectivos a cada reação realizada. As imunoexpressões corresponderam à coloração acastanhada nuclear, de membrana, núcleo ou citoplasmática dependendo das características de cada proteína.

3.2.2 Anticorpos utilizados

Wnt1 - (1:100) R&D Systems, Minneapolis, MN, USA.

Frizzled-1 (FZD1) - (1:100) R&D Systems, Minneapolis, MN, USA.

Wnt5a - (1:100) R&D Systems, Minneapolis, MN, USA.

Frizzled-5 (FZD5) - (1:100) R&D Systems, Minneapolis, MN, USA.

Beta-catenina - (1:100) Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA.

3.2.3 Avaliação das reações imuno-histoquímicas

A presença de tecido tumoral foi confirmada previamente para cada bloco. A imunorreatividade foi pontuada por dois patologistas independentes e sem o conhecimento prévio dos parâmetros clínico-patológicos. Os casos discordantes foram revistos e acordados antes da análise estatística.

A Imunorreatividade do Wnt1, FZD1, Wnt5a, FZD5 e Beta-catenina foi analisada com escore baseado na proporção na quantidade de células positivas sobre o número total de células (porcentagem de positividade) variando de 0 a 100%. A porcentagem de células positivas foi graduada conforme o seguinte: 0, nenhuma; 1, 1 a 25%; 2, 26 a

50%; 3, 51 a 75% e 4, 76 a 100%. A intensidade da reação foi avaliada como 0 = negativa, 1 = fraca, 2 = moderada e 3 = forte. O escore final foi calculado multiplicando a porcentagem de positividade pela intensidade da reação (39).

Deste escore, valores variando de 0 a 2 (nenhuma ou fraca reação) foram considerados negativos e valores variando de 3 a 9 (reação moderada ou forte) foram considerados positivos.

Devido à presença de poucas células em algumas amostras, 61 de 460 amostras (grupo A = 190, grupo B = 140, grupo C = 130, total = 460) foram consideradas não-interpretáveis. Para estas amostras, foi dado um escore NA (não avaliada).

3.2.4 Análise Estatística

O levantamento dos dados de interesse foi realizado através de fichas individuais das pacientes.

Foi usado o software SPSS ("Statistical Package for the Social Sciences").

As variáveis qualitativas foram representadas por frequência absoluta (n) e relativa (%) e as quantitativas por média, desvio padrão, mediana, valores mínimos e máximos.

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi aplicado para testar a presença de distribuição normal nas variáveis dentro dos grupos de estudo.

Os grupos foram comparados quanto às variáveis quantitativas pela técnica de Análise de Variância (ANOVA) na presença de distribuição normal das variáveis ou pela Prova não paramétrica de Kruskal-Wallis caso contrário.

A presença de associação entre o grupo de estudo e as variáveis qualitativas foi avaliada pelo teste do Qui-quadrado de Pearson (χ^2) ou teste da Razão de Verossimilhança (G^2).

Foi aplicado o método de Kaplan-Meier para avaliar o efeito de cada um dos fatores de interesse na sobrevida das pacientes. O teste do Log Rank foi utilizado para comparar as curvas de sobrevida das categorias de cada um dos fatores.

Adotou-se o nível de significância de 0,05 ($p = 5\%$) e níveis descritivos (p) iguais ou inferiores a esse valor foram considerados significante e representados por *.

4 RESULTADOS

4.1 Características das pacientes

Procurou-se averiguar se os grupos eram homogêneos em relação à idade, raça, índice de massa corpórea, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, valores de glicemia e hemoglobina, número de gestações, paridade, idade da menarca e menopausa e tabagismo.

4.1.1 Idade

Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à média de idade das pacientes ($p = 0,145$).

Esses resultados estão representados na tabela 1 e figura 6.

Tabela 1. Medidas descritivas da Idade das pacientes segundo o grupo.

Grupo	Idade (anos)				n
	Média	dp	Mínimo	Máximo	
Maligno (A)	54,8	17,2	19	89	38
Benigno (B)	47,4	17,3	13	76	28
Normal (C)	53,4	9,1	38	73	26
ANOVA	$p = 0,145$				

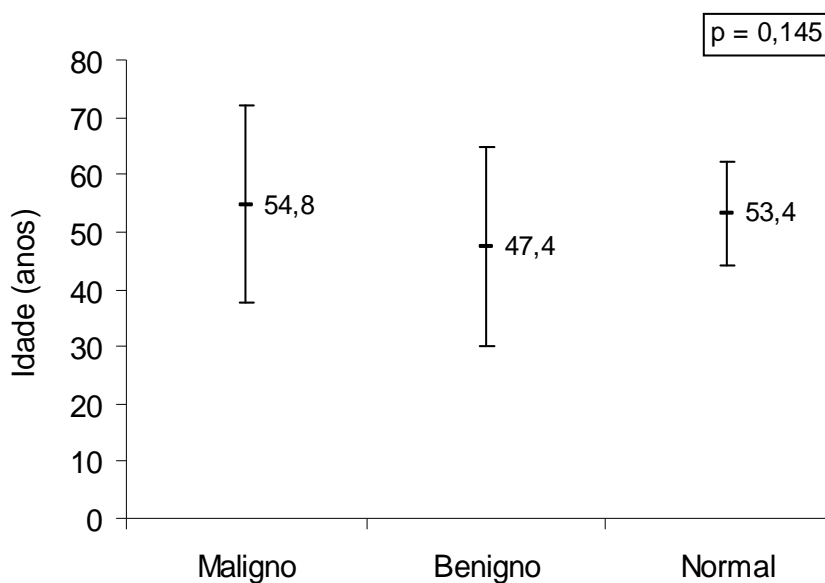


Figura 6. Média (+/- 1dp) da Idade das pacientes segundo o grupo.

4.1.2 Raça

Não encontramos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à distribuição da raça das pacientes ($p = 0,479$).

Esses resultados estão representados na tabela 2 e figura 7.

Tabela 2. Distribuição da Raça das pacientes segundo o grupo.

Raça	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n = 38)	Benigno (B) (n = 28)	Normal (C) (n = 26)
Amarela	0 (0,0%)	1 (3,6%)	0 (0,0%)
Branca	28 (73,7%)	18 (64,3%)	16 (61,5%)
Negra	10 (26,3%)	9 (32,1%)	10 (38,5%)
Teste G ²	$p = 0,479$		

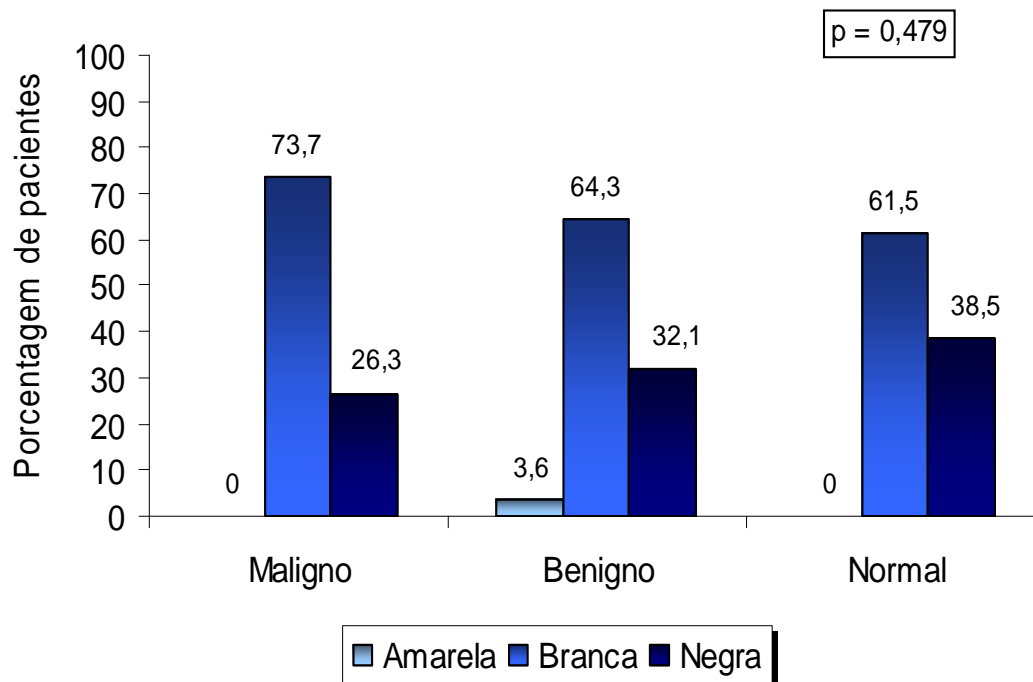


Figura 7. Distribuição da Raça das pacientes segundo o grupo.

4.1.3 Índice de massa corpórea (IMC)

Não verificamos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à média de IMC das pacientes ($p = 0,454$).

Esses resultados estão representados na tabela 3 e figura 8.

Tabela 3. Medidas descritivas do índice de massa corpórea das pacientes segundo o grupo.

Grupo	IMC (kg/m ²)				
	Média	dp	Mínimo	Máximo	n
Maligno (A)	25,6	4,5	16,6	38,1	38
Benigno (B)	24,8	3,1	17,7	29,7	28
Normal (C)	26,1	3,6	18,7	36,8	26
ANOVA	$p = 0,454$				

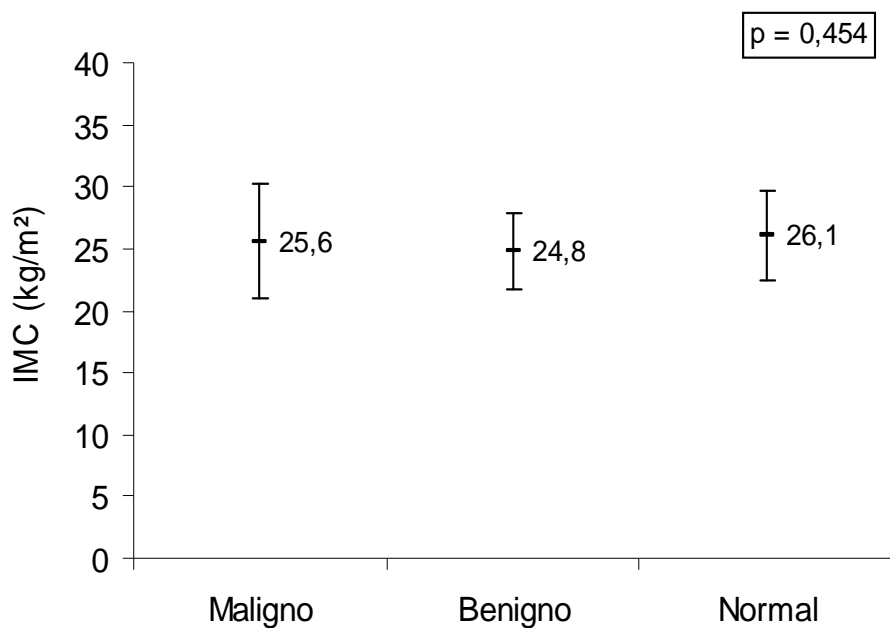


Figura 8. Média (+/- 1dp) do índice de massa corpórea das pacientes segundo o grupo.

4.1.4 Hipertensão arterial sistêmica (HAS)

Não observamos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à presença de HAS nas pacientes ($p = 0,816$).

Esses resultados estão representados na tabela 4 e figura 9.

Tabela 4. Distribuição da presença de hipertensão arterial sistêmica nas pacientes segundo o grupo.

HAS	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n = 38)	Benigno (B) (n = 28)	Normal (C) (n = 26)
Não	23 (60,5%)	19 (67,9%)	16 (61,5%)
Sim	15 (39,5%)	9 (32,1%)	10 (38,5%)
Teste χ^2	$p = 0,816$		

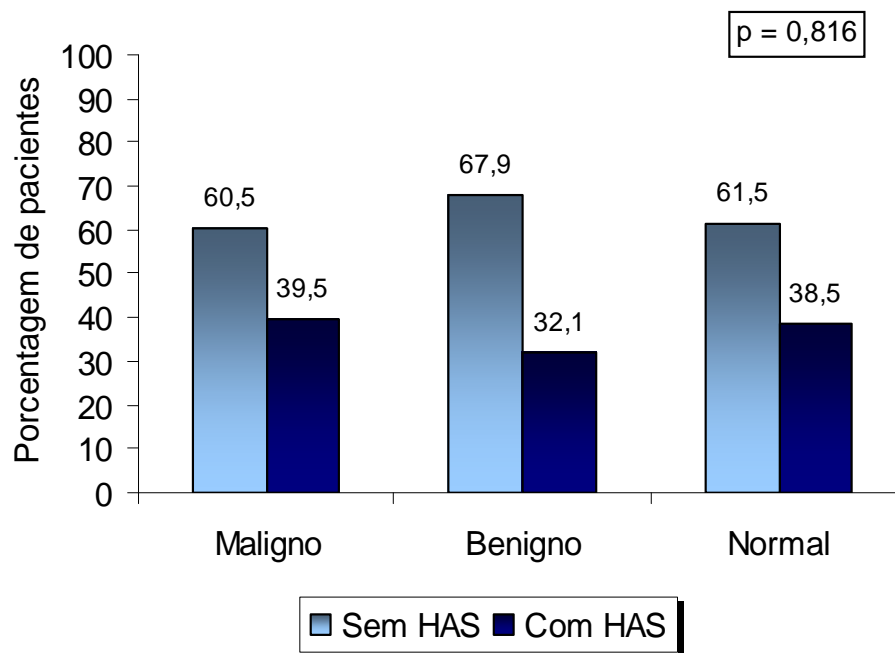


Figura 9. Distribuição da presença de hipertensão arterial sistêmica nas pacientes segundo o grupo.

4.1.5 Diabetes mellitus (DM)

Não encontramos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à presença de diabetes mellitus nas pacientes ($p = 0,786$).

Esses resultados estão representados na tabela 5 e figura 10.

Tabela 5. Distribuição da presença de diabetes mellitus nas pacientes segundo o grupo.

DM	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n = 38)	Benigno (B) (n = 28)	Normal (C) (n = 26)
Não	35 (92,1%)	26 (92,9%)	25 (96,2%)
Sim	3 (7,9%)	2 (7,1%)	1 (3,8%)
Teste G ²	$p = 0,786$		

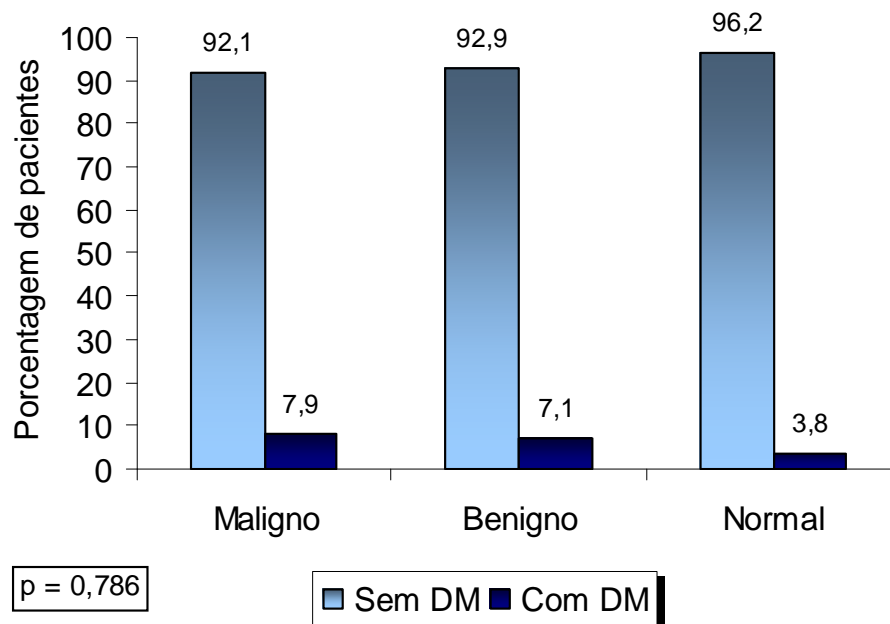


Figura 10. Distribuição da presença de diabetes mellitus nas pacientes segundo o grupo.

4.1.6 Glicemia

Não verificamos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à média de Glicemia das pacientes ($p = 0,222$).

Esses resultados estão representados na tabela 6 e figura 11.

Tabela 6. Medidas descritivas da Glicemia das pacientes segundo o grupo.

Grupo	Glicemia (mg/dl)				
	Média	dp	Mínimo	Máximo	n
Maligno (A)	100,1	19,4	73	166	38
Benigno (B)	110,0	38,1	69	266	28
Normal (C)	99,9	11,3	78	121	26
ANOVA	$p = 0,222$				

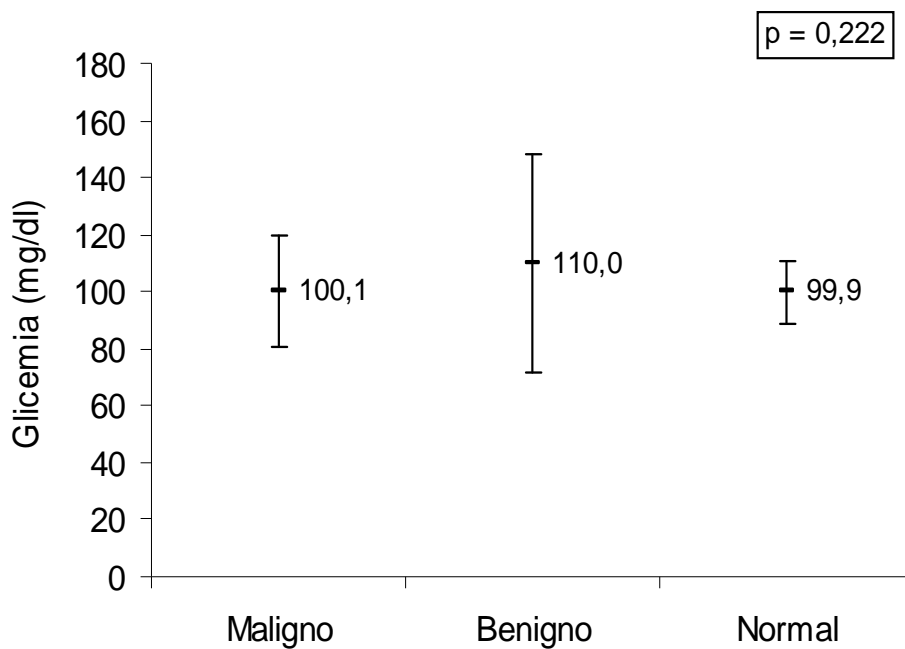


Figura 11. Média (+/- 1dp) da Glicemia das pacientes segundo o grupo.

4.1.7 Hemoglobina (Hb)

Houve diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à média de hemoglobina das pacientes ($p = 0,008$).

O grupo Maligno apresentou média de hemoglobina significativamente menor do que a do grupo Benigno ($p = 0,010$). O grupo Normal não se diferenciou significativamente dos demais grupos ($p = 0,079$ na comparação com o grupo Maligno e $p = 1,000$ na comparação com o grupo Benigno).

Esses resultados estão representados na tabela 7 e figura 12.

Tabela 7. Medidas descritivas da hemoglobina das pacientes segundo o grupo.

Grupo	Hb (mg/dl)				
	Média	dp	Mínimo	Máximo	n
Maligno (A)	11,7	1,9	8,5	16,4	38
Benigno (B)	12,9	1,3	9,5	15,0	28
Normal (C)	12,6	1,4	8,9	15,8	26
ANOVA	$p = 0,008 *$				

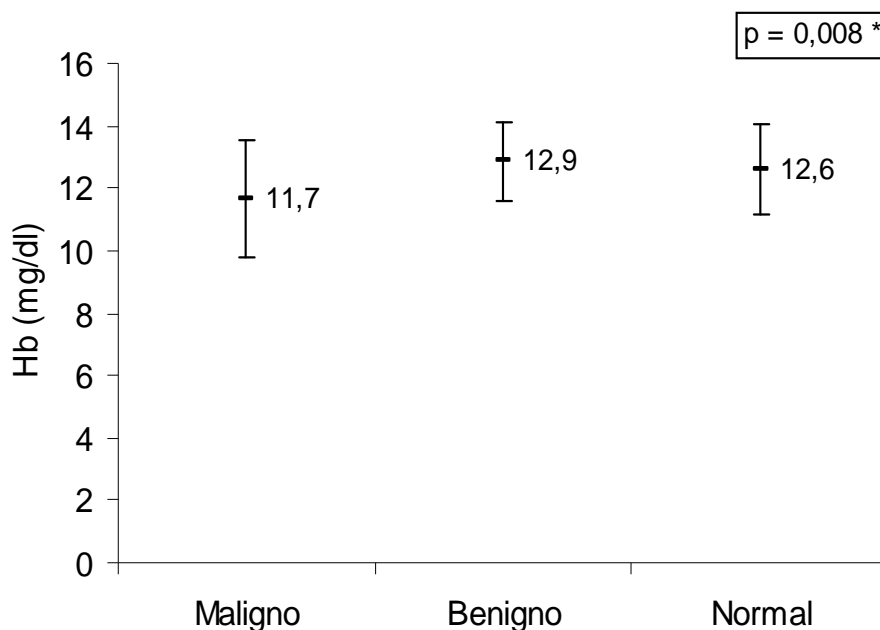


Figura 12. Média ($\pm 1dp$) da hemoglobina das pacientes segundo o grupo.

4.1.8 Número de gestações

Não verificamos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à distribuição do número de gestações das pacientes ($p = 0,061$).

Esses resultados estão representados na tabela 8 e figura 13.

Tabela 8. Medidas descritivas do número de gestações das pacientes segundo o grupo.

Grupo	Número de gestações					n
	Média	dp	Mínimo	Mediana	Máximo	
Maligno (A)	3,0	3,1	0	2	14	38
Benigno (B)	3,9	2,8	0	3	12	28
Normal (C)	3,5	2,1	0	3,5	10	26

Teste de
Kruskal-Wallis $p = 0,061$

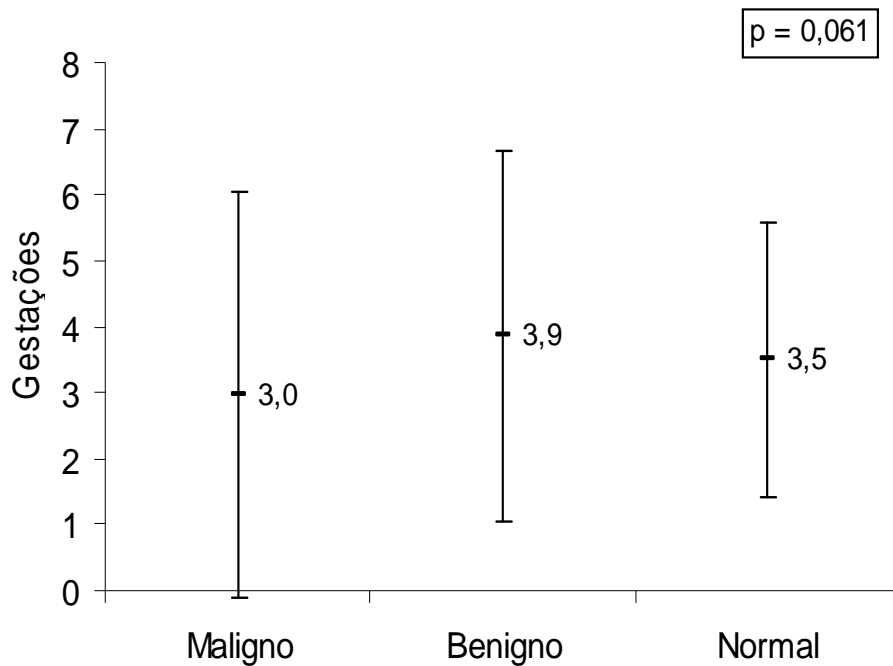


Figura 13. Média (+/- 1dp) do número de gestações das pacientes segundo o grupo.

4.1.9 Paridade

Não observamos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à distribuição da paridade das pacientes ($p = 0,069$).

Esses resultados estão representados na tabela 9 e figura 14.

Tabela 9. Medidas descritivas da paridade das pacientes segundo o grupo.

Grupo	Paridade					
	Média	dp	Mínimo	Mediana	Máximo	n
Maligno (A)	2,6	2,9	0	2	14	38
Benigno (B)	3,2	2,1	0	3	9	28
Normal (C)	2,8	1,8	0	2	9	26

Teste de
Kruskal-Wallis $p = 0,069$

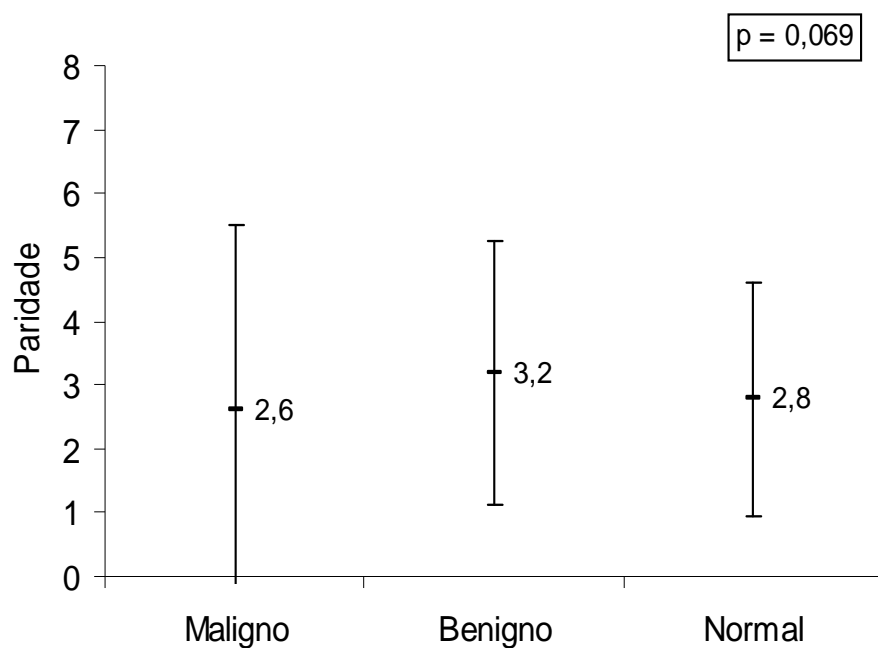


Figura 14. Média (+/- 1dp) da paridade das pacientes segundo o grupo.

4.1.10 Idade da menarca

Não encontramos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à média de idade da menarca das pacientes ($p = 0,236$).

Esses resultados estão representados na tabela 10 e figura 15.

Tabela 10. Medidas descritivas da Idade da menarca das pacientes segundo o grupo.

Grupo	Idade da menarca (anos)				
	Média	dp	Mínimo	Máximo	n
Maligno (A)	13,1	1,7	10	17	38
Benigno (B)	13,0	1,9	10	18	28
Normal (C)	12,4	1,2	11	15	26
ANOVA	$p = 0,236$				

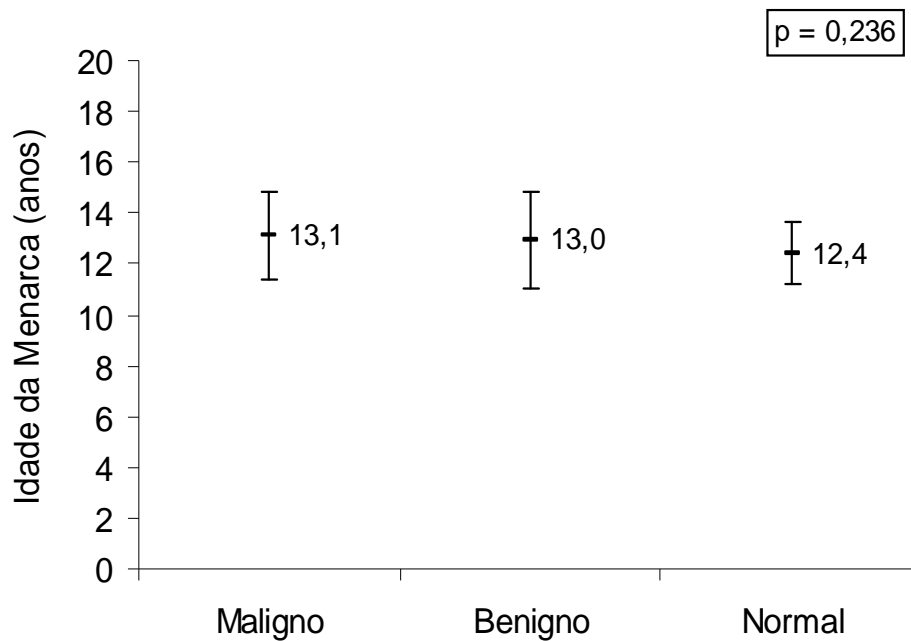


Figura 15. Média (+/- 1dp) da Idade da menarca das pacientes segundo o grupo.

4.1.11 Menopausa

Não houve diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à presença ou ausência de menopausa nas pacientes ($p = 0,070$).

Esses resultados estão representados na tabela 11 e figura 16.

Tabela 11. Distribuição da presença de menopausa nas pacientes segundo o grupo.

Menopausa	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n = 38)	Benigno (B) (n = 28)	Normal (C) (n = 26)
Não	16 (42,1%)	15 (53,6%)	6 (23,1%)
Sim	22 (57,9%)	13 (46,4%)	20 (76,9%)
Teste χ^2	$p = 0,070$		

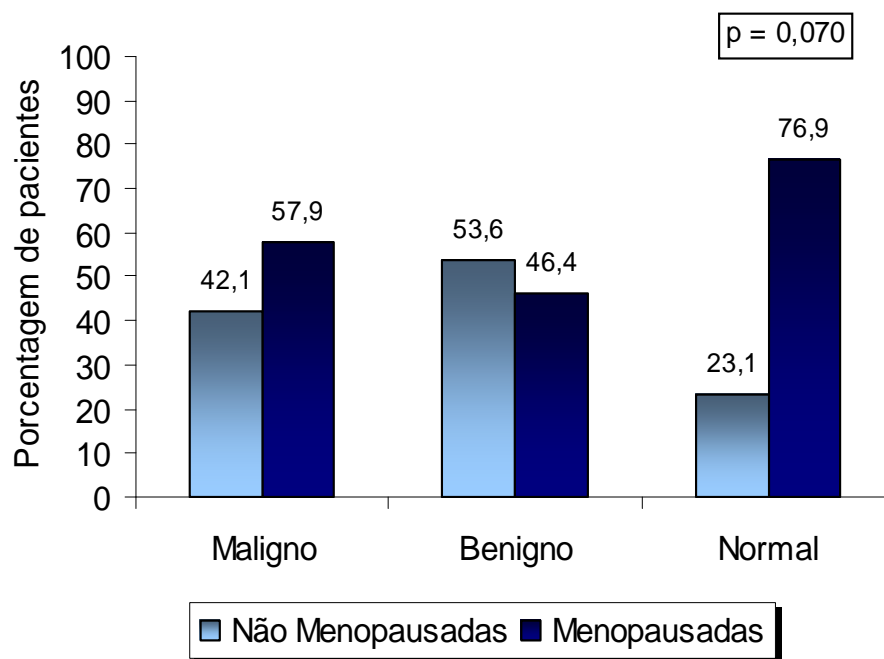


Figura 16. Distribuição da presença de menopausa nas pacientes segundo o grupo.

4.1.12 Idade da menopausa

Não verificamos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à média de idade da menopausa das pacientes menopausadas ($p = 0,603$).

Esses resultados estão representados na tabela 12 e figura 17.

Tabela 12. Medidas descritivas da Idade da menopausa das pacientes segundo o grupo.

Grupo	Idade da Menopausa (anos)				
	Média	dp	Mínimo	Máximo	n
Maligno (A)	48,3	4,9	33	55	22
Benigno (B)	48,8	4,0	38	52	13
Normal (C)	47,2	5,4	35	58	20
ANOVA	$p = 0,603$				

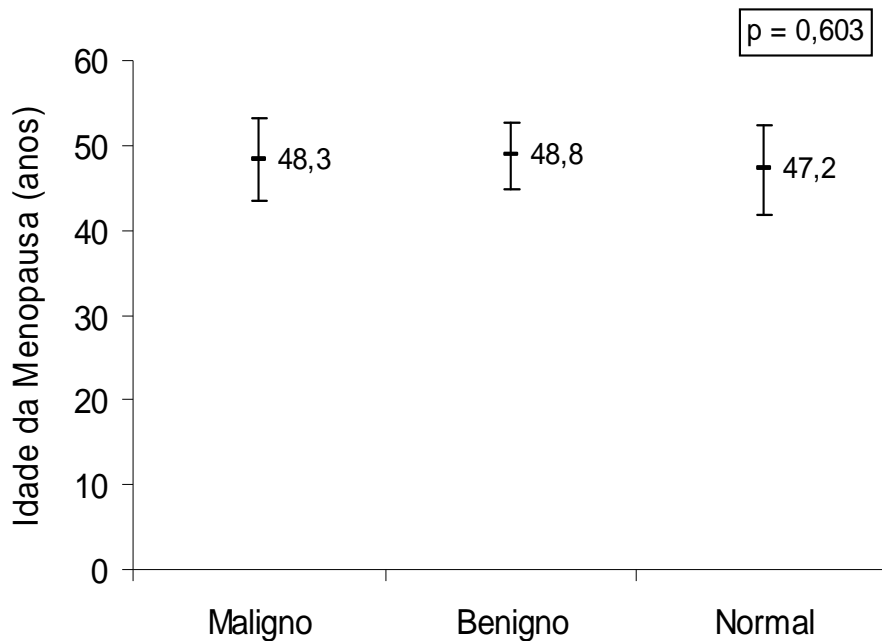


Figura 17. Média (+/- 1dp) da Idade da menopausa das pacientes segundo o grupo.

4.1.13 Tabagismo

Não observamos diferença significativa entre os grupos de estudo quanto ao tabagismo nas pacientes ($p = 0,443$).

Esses resultados estão representados na tabela 13 e figura 18.

Tabela 13. Distribuição do tabagismo nas pacientes segundo o grupo.

Tabagismo	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n = 38)	Benigno (B) (n = 28)	Normal (C) (n = 26)
Não	31 (81,6%)	20 (71,4%)	22 (84,6%)
Sim	7 (18,4%)	8 (28,6%)	4 (15,4%)
Teste χ^2	$p = 0,443$		

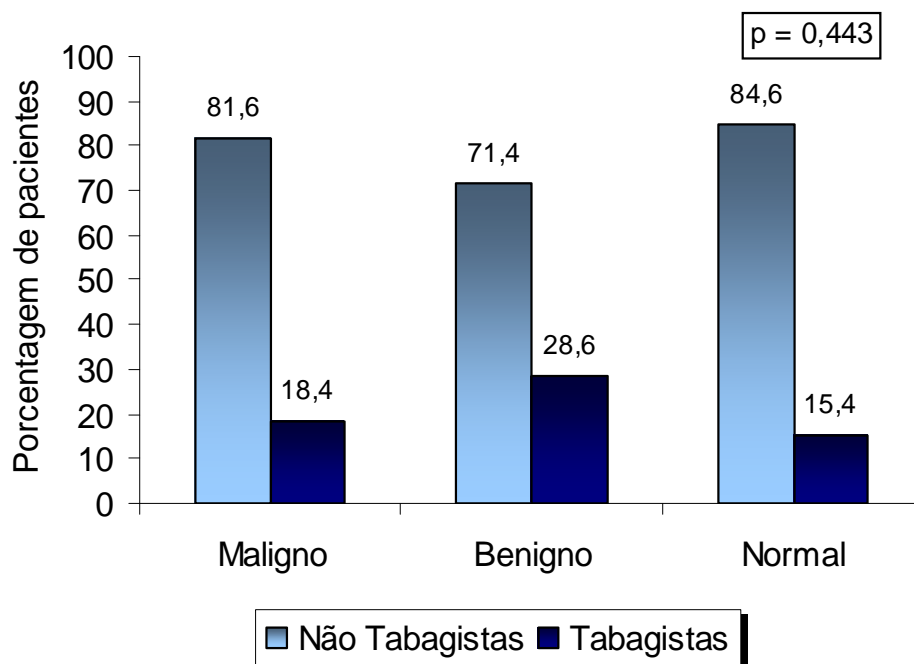


Figura 18. Distribuição do Tabagismo nas pacientes segundo o grupo.

4.2 Expressão das proteínas

Estudaram-se a imunexpressão das proteínas Wnt1, Frizzled-1, Wnt5a, Frizzled-5 e Beta-catenina.

4.2.1 Wnt1

Houve diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à expressão de Wnt1 nas pacientes ($p = 0,020$).

A proporção de pacientes no grupo Maligno (29,4%) com escore positivo foi significativamente maior do que nos demais grupos (4,3% no grupo Benigno e 9,1% no grupo Normal).

Esses resultados estão representados na tabela 14 e figuras 19 a 22.

Tabela 14. Distribuição da Expressão de Wnt1 nas pacientes segundo o grupo.

Escore de Wnt1	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n = 34)	Benigno (B) (n = 23)	Normal (C) (n = 22)
Negativo	24 (70,6%)	22 (95,7%)	20 (90,9%)
Positivo	10 (29,4%)	1 (4,3%)	2 (9,1%)
Teste G ²	$p = 0,020$ *		

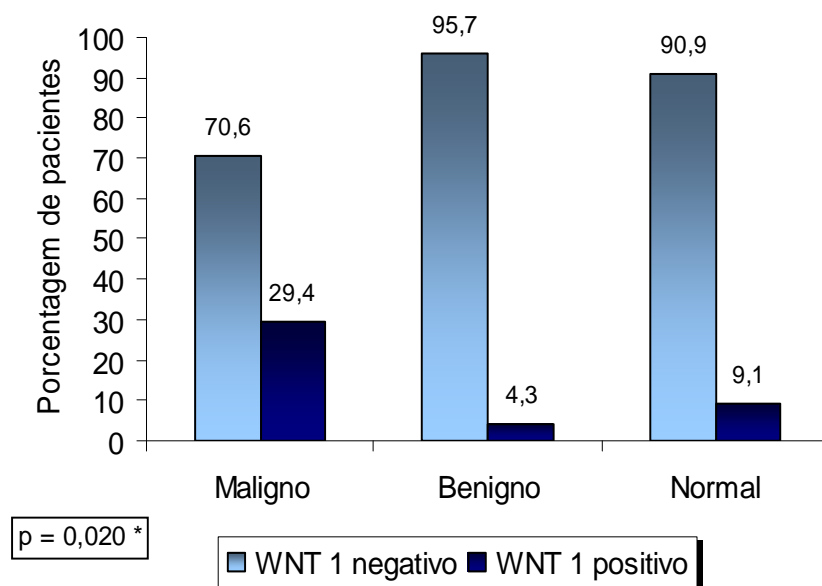


Figura 19. Distribuição da expressão de Wnt1 nas pacientes segundo o grupo.

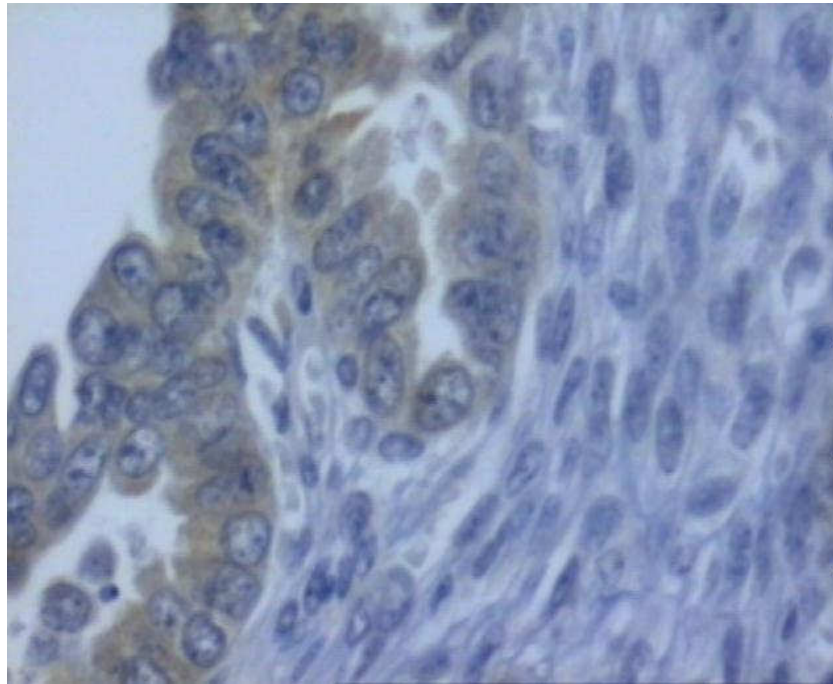


Figura 20. Fotomicrografia de neoplasia ovariana maligna; imunohistoquímica Wnt1, aumento de 400X. Caso n^o M12, lâmina B97-20383. Observa-se forte coloração castanho-escuro no citoplasma.

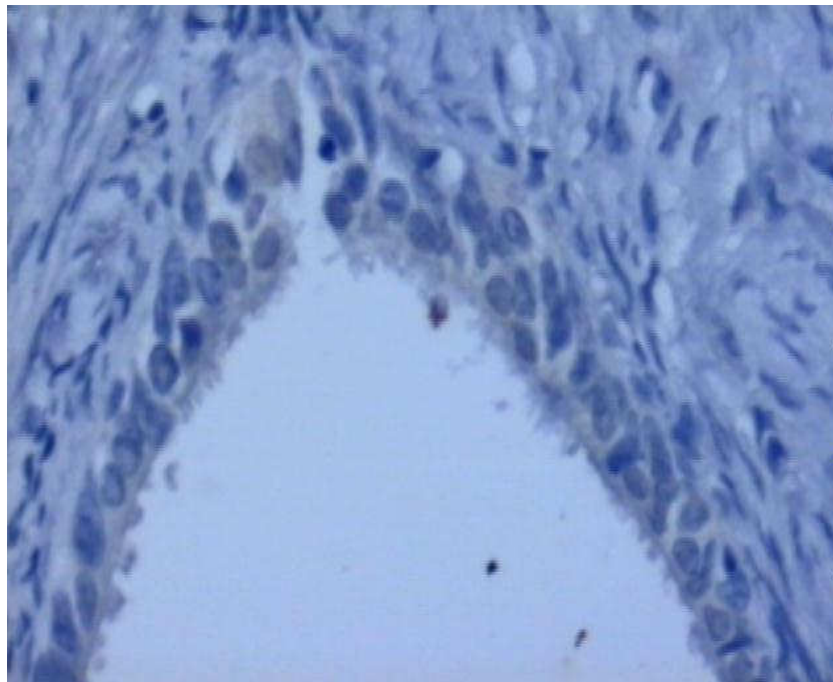


Figura 21. Fotomicrografia de neoplasia ovariana benigna; imunohistoquímica Wnt1, aumento de 400X. Caso n^o B10, lâmina B00-14297. Não se observa coloração acastanhada característica.

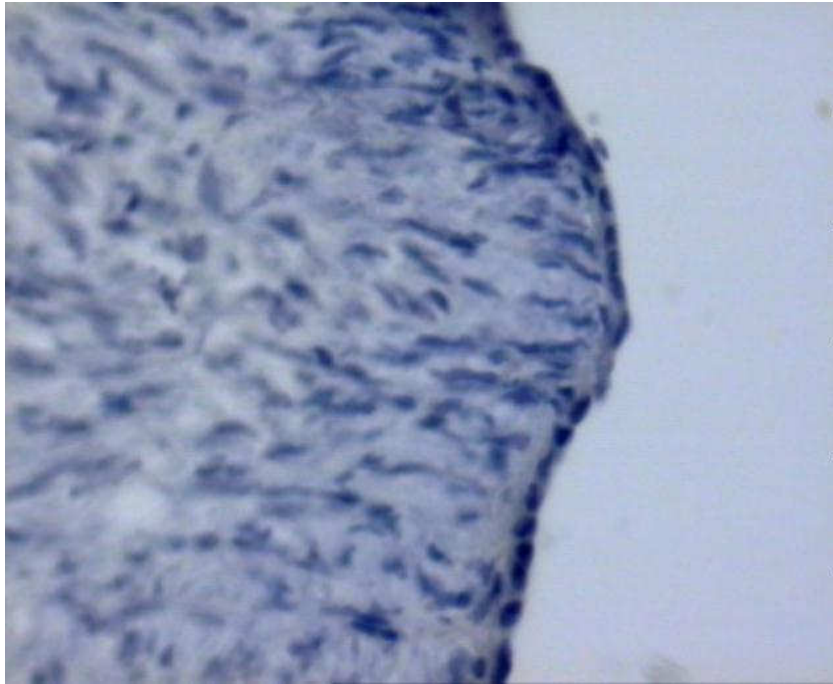


Figura 22. Fotomicrografia de ovário normal; imunohistoquímica Wnt1, aumento de 400X. Caso n° N9, lâmina B01-06629. Não há coloração das células.

4.2.2 Frizzled-1 (FZD1)

Observou-se diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à expressão de FZD1 nas pacientes ($p < 0,001$).

A proporção de pacientes no grupo Normal (54,5%) com escore positivo foi significativamente menor do que nos demais grupos (97,1% no grupo Maligno e 90,0% no grupo Benigno).

Esses resultados estão representados na tabela 15 e figuras 23 a 26.

Tabela 15. Distribuição da expressão de FZD1 nas pacientes segundo o grupo.

Escore de FZD1	Grupo – n (%)		
	Maligno (n = 34)	Benigno (n = 20)	Normal (n = 22)
Negativo	1 (2,9%)	2 (10,0%)	10 (45,5%)
Positivo	33 (97,1%)	18 (90,0%)	12 (54,5%)
Teste G ²	$p < 0,001$ *		

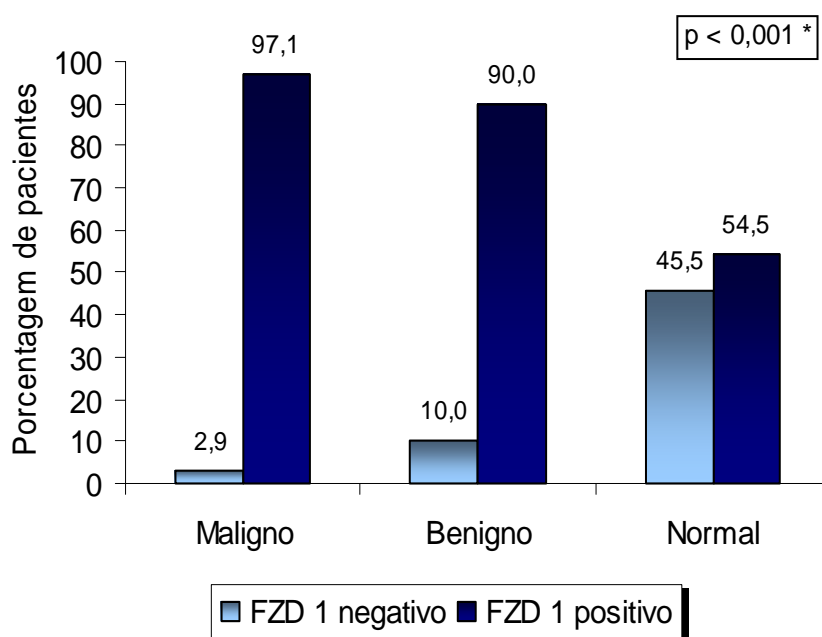


Figura 23. Distribuição da expressão de FZD1 nas pacientes segundo o grupo.

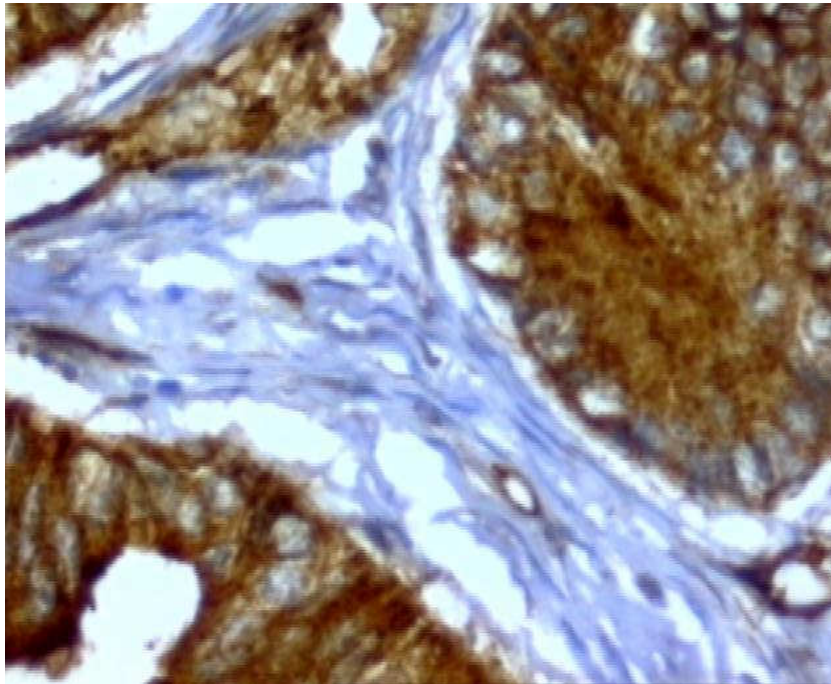


Figura 24. Fotomicrografia de neoplasia ovariana maligna; imunohistoquímica FZD1, aumento de 400X. Caso n° M5, lâmina B95-12902. Observa-se forte coloração castanho-escuro no citoplasma.

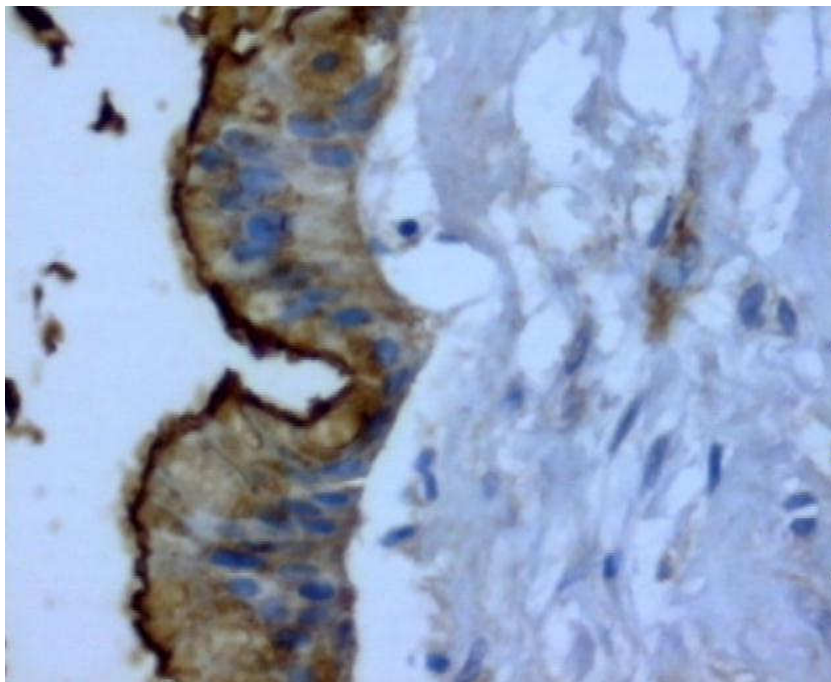


Figura 25. Fotomicrografia de neoplasia ovariana benigna; imunohistoquímica FZD1, aumento de 400X. Caso n° B2, lâmina B96-03307. Denotam-se células positivas com citoplasma exibindo coloração acastanhada característica.

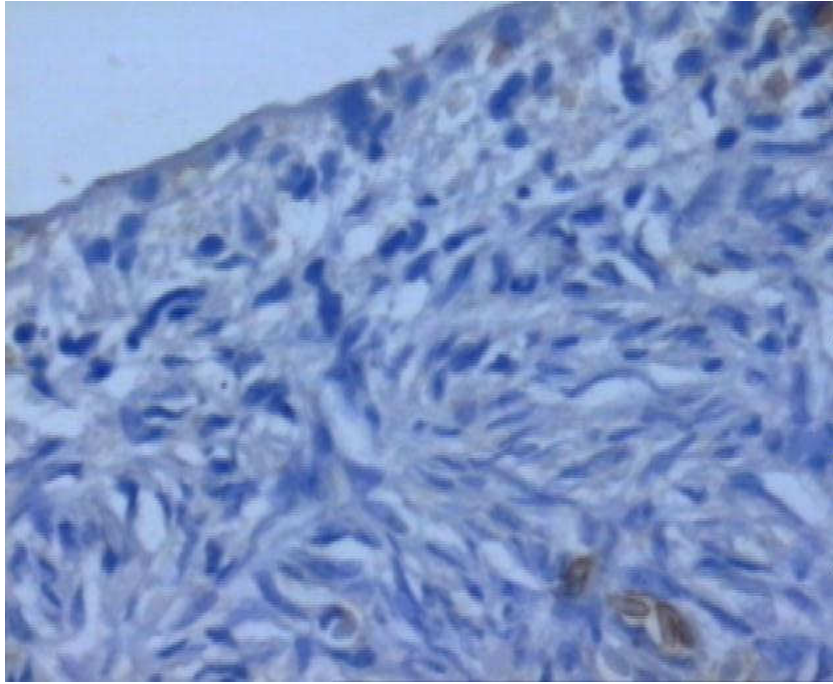


Figura 26. Fotomicrografia de ovário normal; imunohistoquímica FZD1, aumento de 400X. Caso n^o N12, lâmina B01-31561. Não houve coloração nas células.

4.2.3 Wnt5a

Observou-se diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à expressão de Wnt5a nas pacientes ($p < 0,001$).

A proporção de pacientes no grupo Maligno (80,0%) com escore positivo foi significativamente maior do que nos demais grupos (25,0% no grupo Benigno e 27,3% no grupo Normal).

Esses resultados estão representados na tabela 16 e figuras 27 a 30.

Tabela 16. Distribuição da expressão de Wnt5a nas pacientes segundo o grupo.

Escore de Wnt5a	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n = 35)	Benigno (B) (n = 24)	Normal (C) (n = 22)
Negativo	7 (20,0%)	18 (75,0%)	16 (72,7%)
Positivo	28 (80,0%)	6 (25,0%)	6 (27,3%)
Teste χ^2	$p < 0,001$ *		

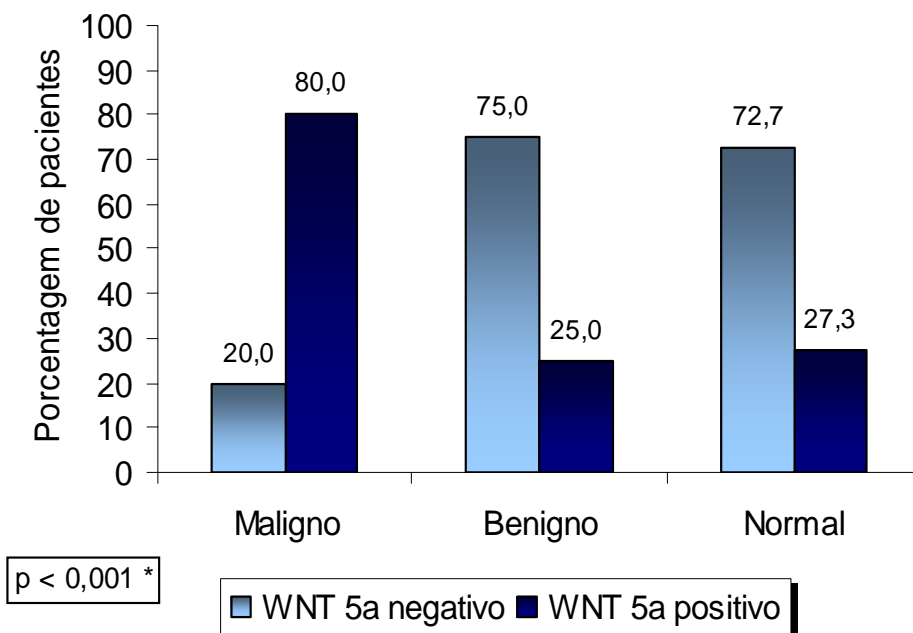


Figura 27. Distribuição da expressão de Wnt5a nas pacientes segundo o grupo.

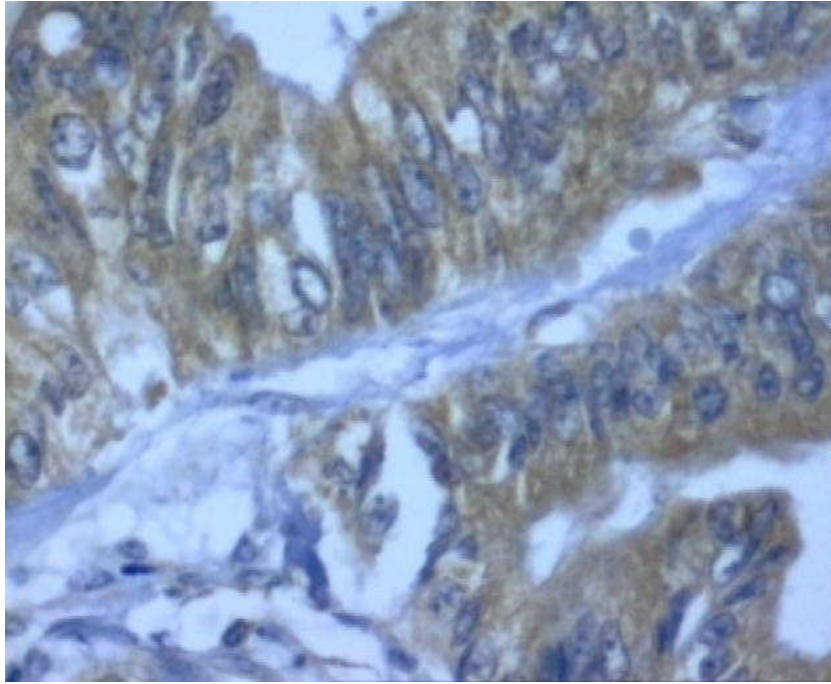


Figura 28. Fotomicrografia de neoplasia ovariana maligna; imunohistoquímica Wnt5a, aumento de 400 X. Caso n° M10, lâmina B97-12370. Observa-se forte coloração castanho-escuro nas células neoplásicas.

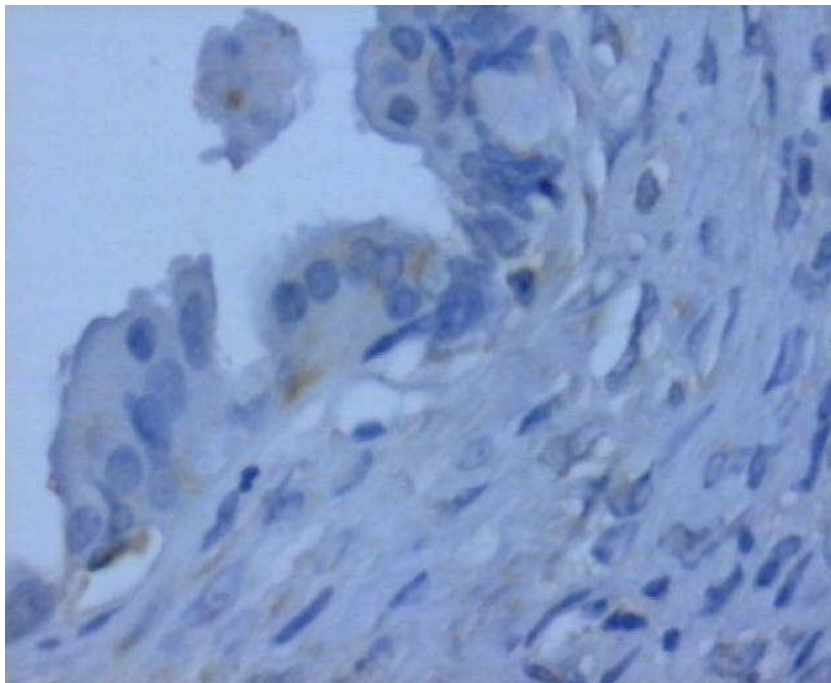


Figura 29. Fotomicrografia de neoplasia ovariana benigna; imunohistoquímica Wnt5a, aumento de 400 X. Caso n° B14, lâmina B00-21554. Não há coloração das células.

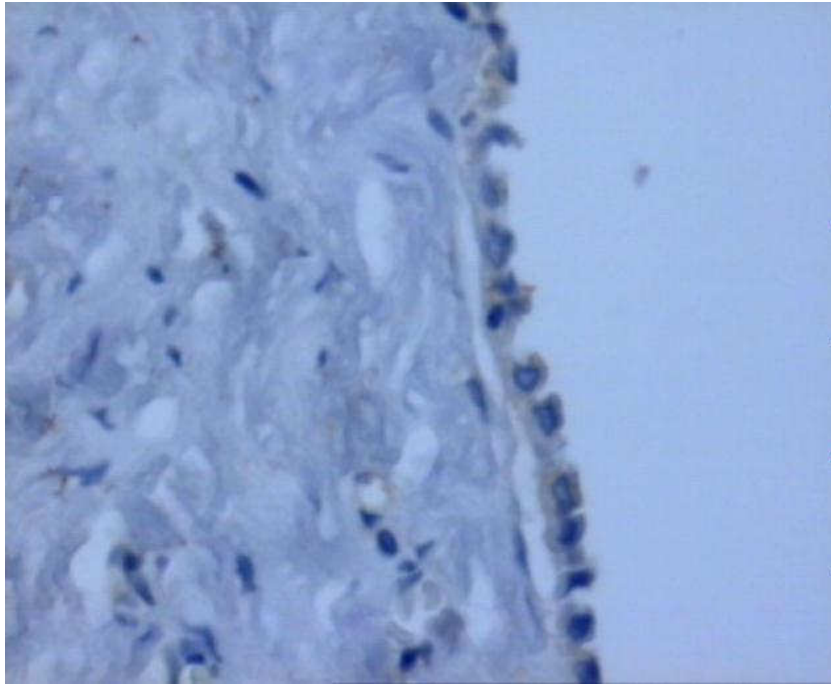


Figura 30. Fotomicrografia de ovário normal; imunohistoquímica Wnt5a, aumento de 400 X. Caso n° N21, lâmina B00-16481. Não se observa coloração acastanhada.

4.2.4 Frizzled-5 (FZD5)

Não houve diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à expressão de FZD5 nas pacientes ($p = 0,380$).

Esses resultados estão representados na tabela 17 e figuras 31 a 34.

Tabela 17. Distribuição da expressão de FZD5 nas pacientes segundo o grupo.

Escore de FZD5	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n=35)	Benigno (B) (n = 25)	Normal (C) (n = 23)
Negativo	30 (85,7%)	24 (96,0%)	21 (91,3%)
Positivo	5 (14,3%)	1 (4,0%)	2 (8,7%)
Teste G ²	$p = 0,380$		

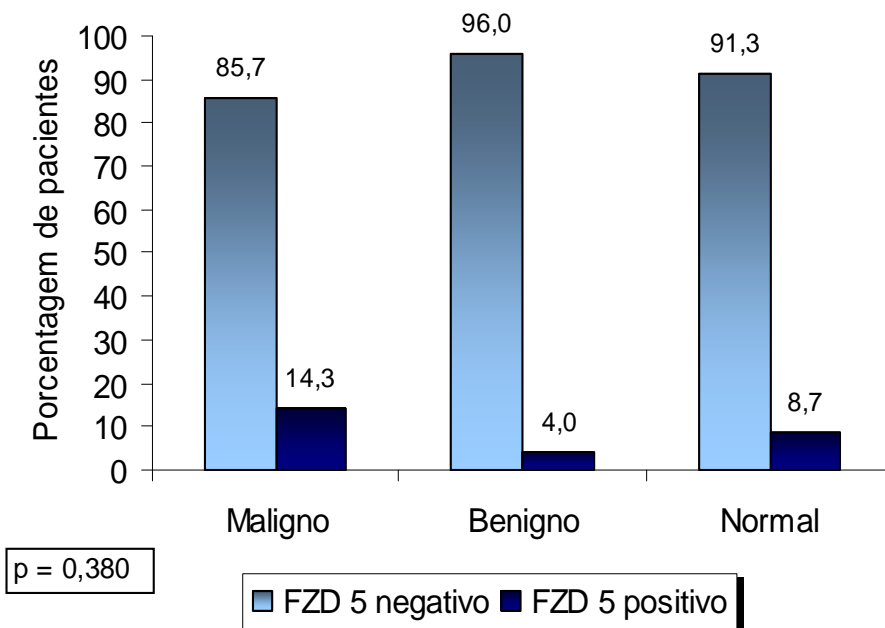


Figura 31. Distribuição da expressão de FZD5 nas pacientes segundo o grupo.

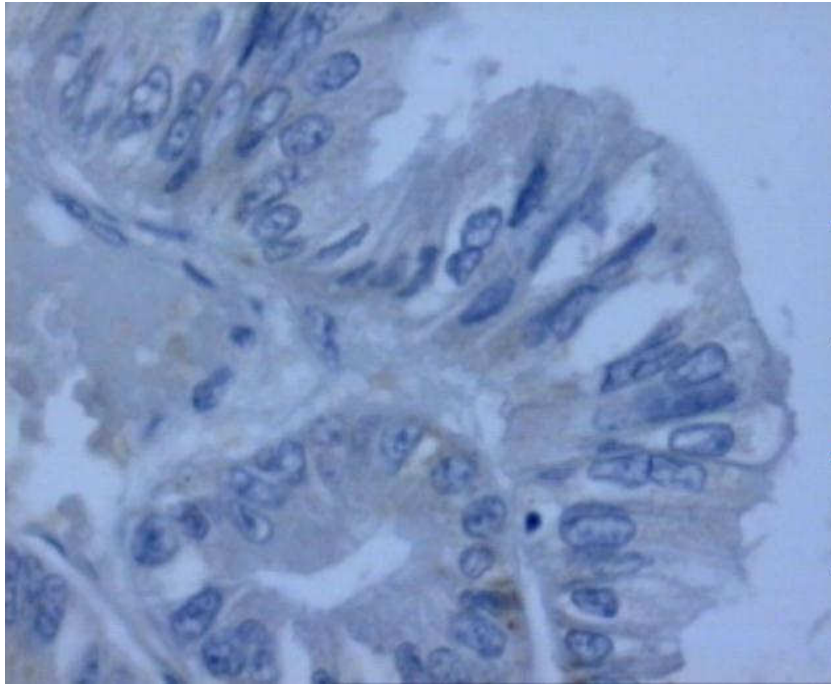


Figura 32. Fotomicrografia de neoplasia ovariana maligna; imunohistoquímica FZD5, aumento de 400X. Caso n^o M38, lâmina B03-31758. Observa-se fraca coloração castanho-escuro no citoplasma.

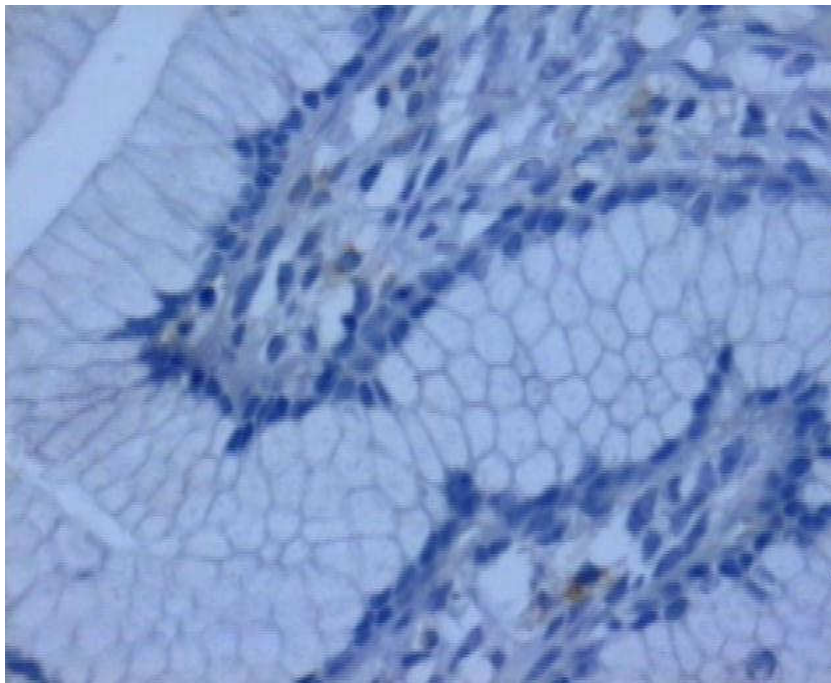


Figura 33. Fotomicrografia de neoplasia ovariana benigna; imunohistoquímica FZD5, aumento de 400X. Caso n^o B27, lâmina B02-32596. Não há coloração das células.

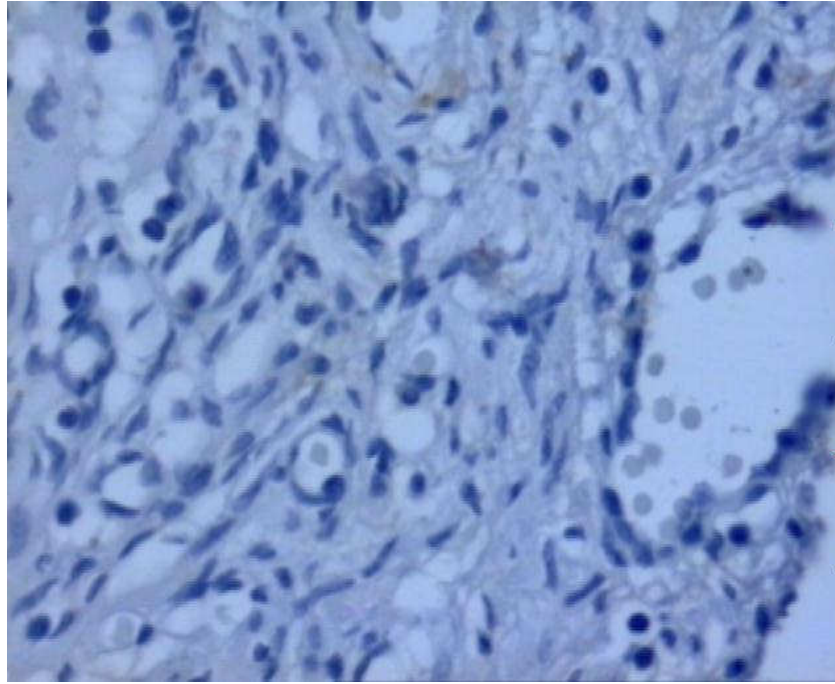


Figura 34. Fotomicrografia de ovário normal; imunohistoquímica FZD5, aumento de 400X. Caso nº N14, lâmina B01-12340. Não há coloração no epitélio nem no estroma.

4.2.5 Beta-catenina

Verificou-se diferença significativa entre os grupos de estudo quanto à expressão de Beta-catenina nas pacientes ($p = 0,004$).

A proporção de pacientes no grupo Normal (95,8%) com escore positivo foi significativamente maior do que no grupo Benigno (52,4%). O grupo Maligno (com 74,3% de casos positivos) não se diferenciou significativamente dos demais grupos. Esses resultados estão representados na tabela 18 e figuras 35 a 38.

Tabela 18. Distribuição da expressão de beta catenina nas pacientes segundo o grupo.

Escore de Beta catenina	Grupo – n (%)		
	Maligno (A) (n = 35)	Benigno (B) (n = 21)	Normal (C) (n = 24)
Negativo	9 (25,7%)	10 (47,6%)	1 (4,2%)
Positivo	26 (74,3%)	11 (52,4%)	23 (95,8%)
Teste χ^2	$p = 0,004 *$		

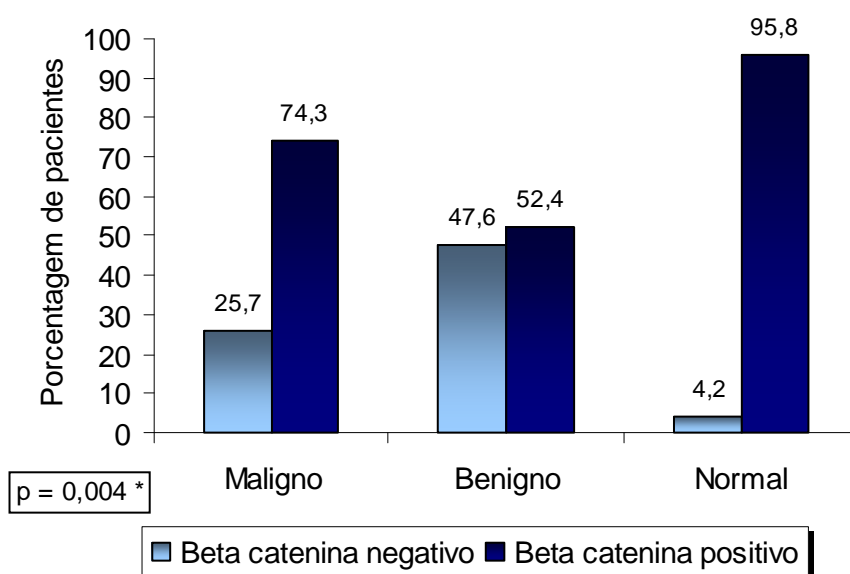


Figura 35. Distribuição da expressão de Beta catenina nas pacientes segundo o grupo.

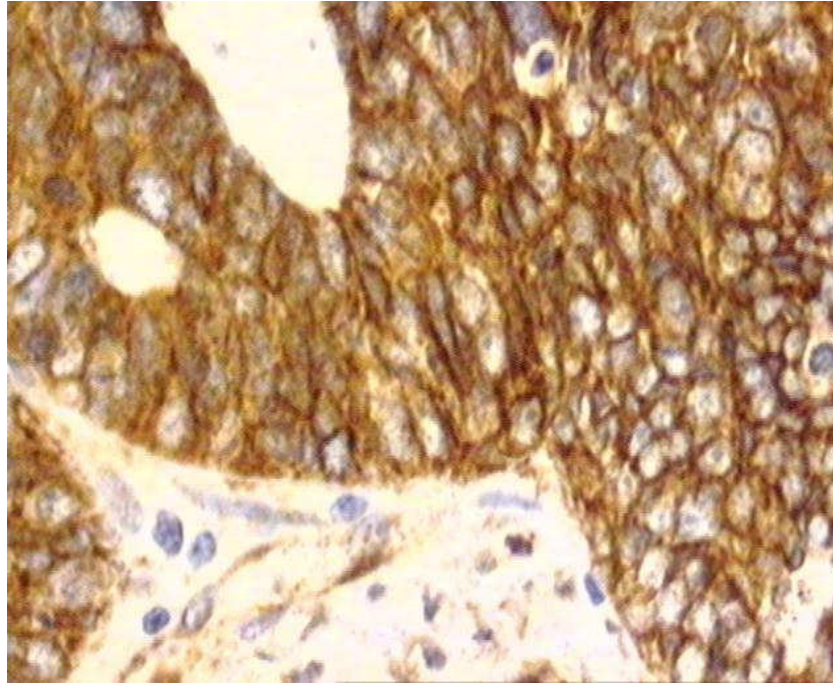


Figura 36. Fotomicrografia de neoplasia ovariana maligna; imunohistoquímica Beta-catenina, aumento de 400 X. Caso nº M13, lâmina B98-11359. Observa-se forte coloração castanho-escuro no citoplasma.

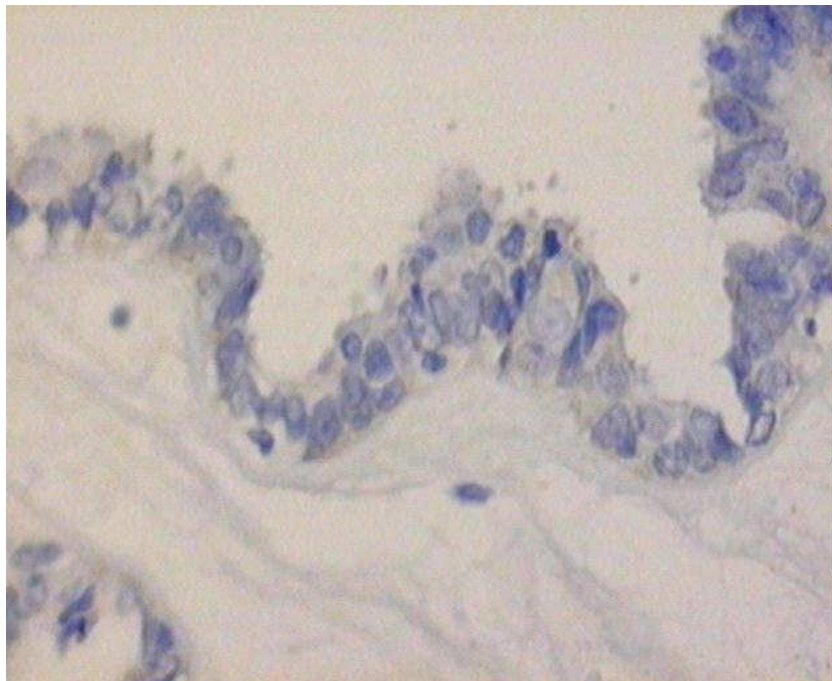


Figura 37. Fotomicrografia de neoplasia ovariana benigna; imunohistoquímica Beta-catenina, aumento de 400 X. Caso nº B13, lâmina B00-20904. Não há coloração das células.

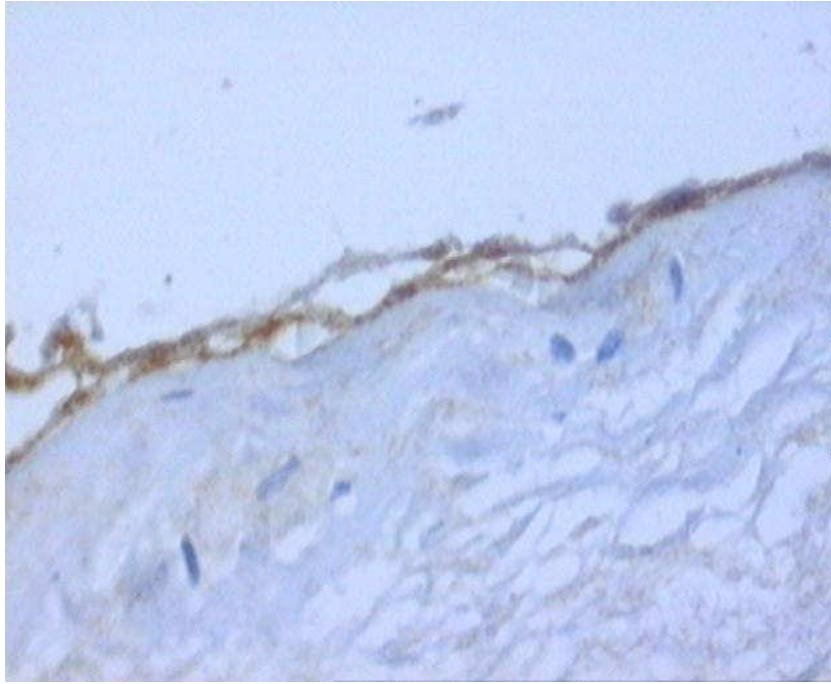


Figura 38. Fotomicrografia de ovário normal; imunohistoquímica Beta-catenina, aumento de 400 X. Caso n° N10, lâmina B01-9165. Observa-se forte coloração acastanhada característica em células do epitélio ovariano.

4.3 Análise do grupo com neoplasia epitelial maligna (grupo A)

Estudou-se este grupo quanto à sobrevida em relação ao tipo de cirurgia, estadiamento e expressão das proteínas Beta-catenina, FZD1, Wnt1, FZD5 e Wnt5a.

O resumo das variáveis cirúrgicas das pacientes do grupo Maligno está representado na tabela 19 e figuras 39, 40 e 41.

Tabela 19. Dados da Cirurgia no grupo A.

Variáveis	(n = 38)
Cirurgia	n (%)
Ótima	22 (57,9%)
Não ótima	16 (42,1%)
Estadiamento	n (%)
I	10 (26,3%)
II	2 (5,3%)
III	16 (42,1%)
IV	10 (26,3%)
Estadiamento	n (%)
I / II	12 (31,6%)
III / IV	26 (68,4%)
Tipo Histológico	n (%)
Seroso	22 (57,9%)
Mucinoso	7 (18,4%)
Endometrióide	4 (10,5%)
Células claras	1 (2,6%)
Indiferenciado	4 (10,5%)

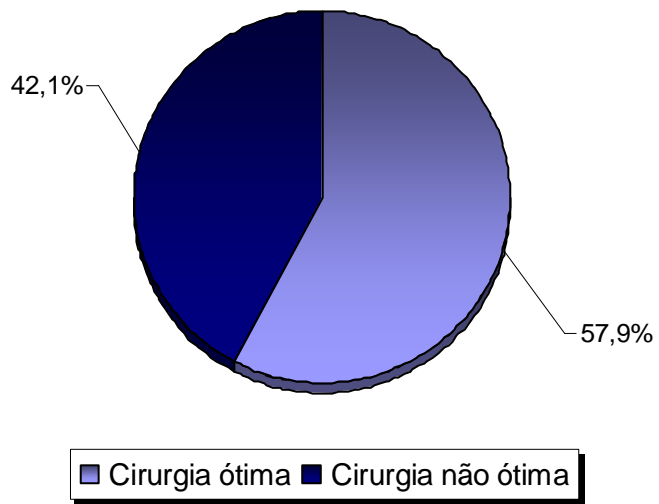


Figura 39. Distribuição do tipo de cirurgia das pacientes do grupo A.

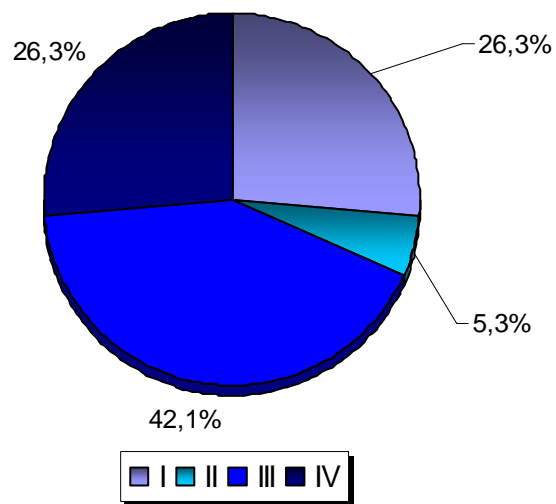


Figura 40. Distribuição do estadiamento das pacientes do grupo A.

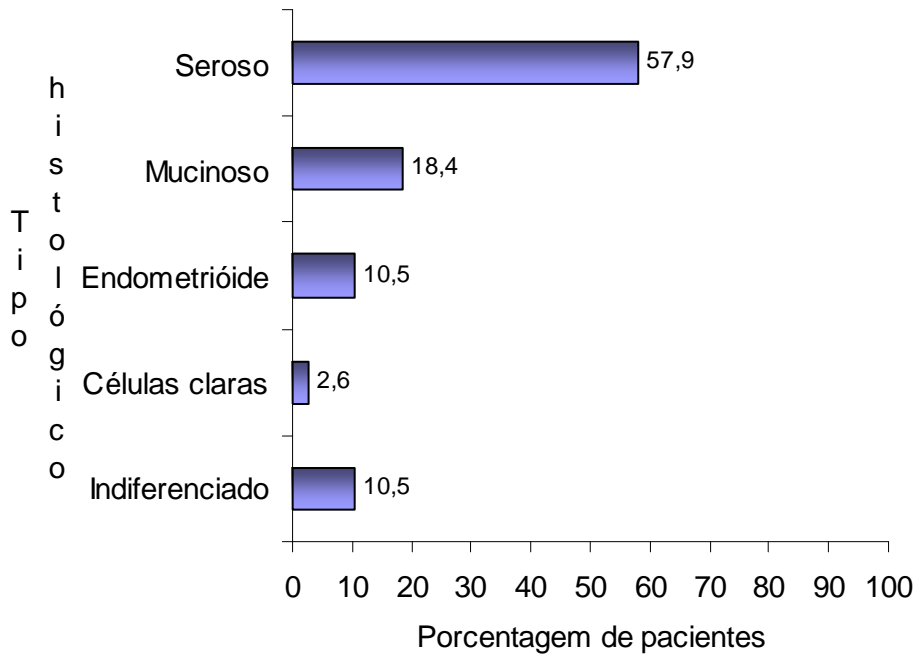


Figura 41. Distribuição do tipo histológico das pacientes do grupo A.

Na amostra de 38 pacientes, ocorreram 21 (55,3%) óbitos e 17 (44,7%) sobrevidas sendo 13 (34,2%) sobrevidas por tempo superior a 60 meses.

O tempo médio de sobrevida estimado por Kaplan-Meier foi de 35 meses (ep = 4 meses; IC95%: [27; 43]) e o tempo mediano foi de 43 meses (ep = 4 meses; IC95%: [36; 50]). A figura 42 representa a curva de sobrevida global para a amostra total do grupo A.

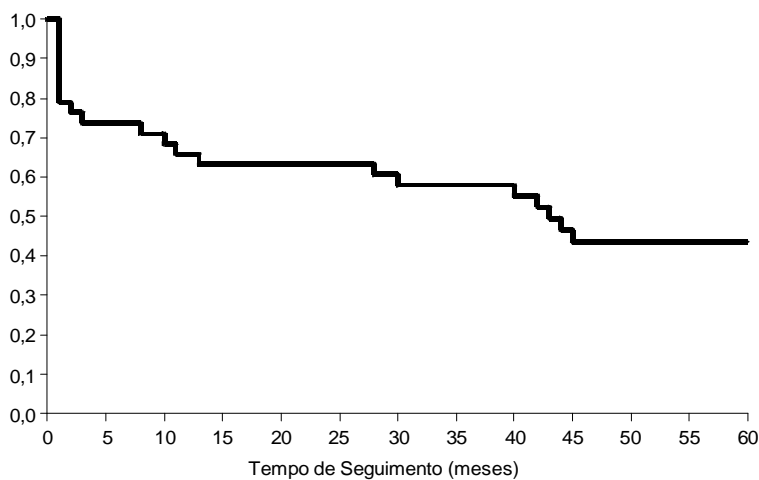


Figura 42. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes do grupo A.

Houve diferença significativa entre as curvas de sobrevida das pacientes divididas segundo o tipo de cirurgia ($p < 0,001$), onde o grupo de cirurgia ótima mostrou melhores resultados.

Esses resultados estão representados na tabela 20 e figura 43.

Tabela 20. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo o tipo de cirurgia.

Cirurgia	Casos	Eventos	Tempo de sobrevida			Teste do Log rank
			Média	ep	IC _{95%}	
Ótima	22	5 22,7%	51	4	[44; 59]	$p < 0,001^*$
Não ótima	16	16 100,0%	14	4	[5; 22]	

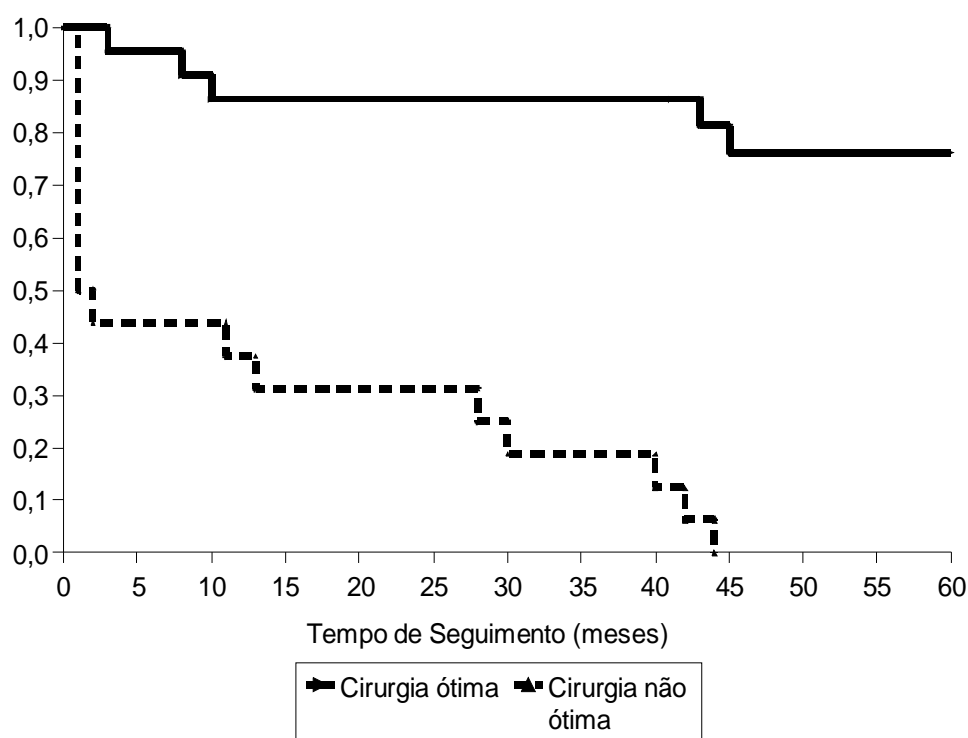


Figura 43. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo o tipo de cirurgia ($p < 0,001^*$).

Verificou-se diferença significativa entre as curvas de sobrevida das pacientes divididas segundo o estágio ($p < 0,001$), onde o grupo com estágio I/II mostrou melhores resultados.

Esses resultados estão representados na tabela 21 e figura 44.

Tabela 21. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo o estágio.

Estádio	Casos	Eventos	Tempo de sobrevida			Teste do Log rank
			Média	ep	IC _{95%}	
I / II	12	0 0,0%	---	---	---	p < 0,001 *
III / IV	26	21 80,8%	24	5	[15; 33]	

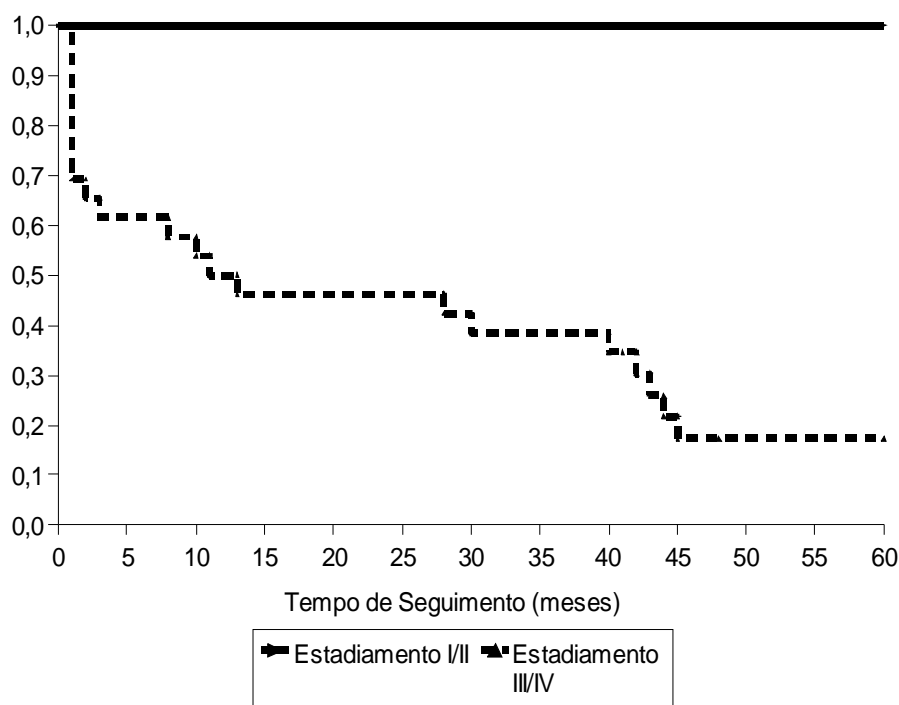


Figura 44. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo o estágio ($p < 0,001^*$).

Não houve diferença significativa entre as curvas de sobrevida das pacientes divididas segundo a expressão do Wnt1 ($p = 0,497$).

Esses resultados estão representados na tabela 22 e figura 45.

Tabela 22. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo a expressão do Wnt1.

Wnt1	Casos	Eventos	Tempo de sobrevida			Teste do Log rank
			Média	ep	IC _{95%}	
negativo	24	11 45,8%	39	5	[29; 49]	$p = 0,497$
positivo	10	6 60,0%	35	8	[20; 50]	

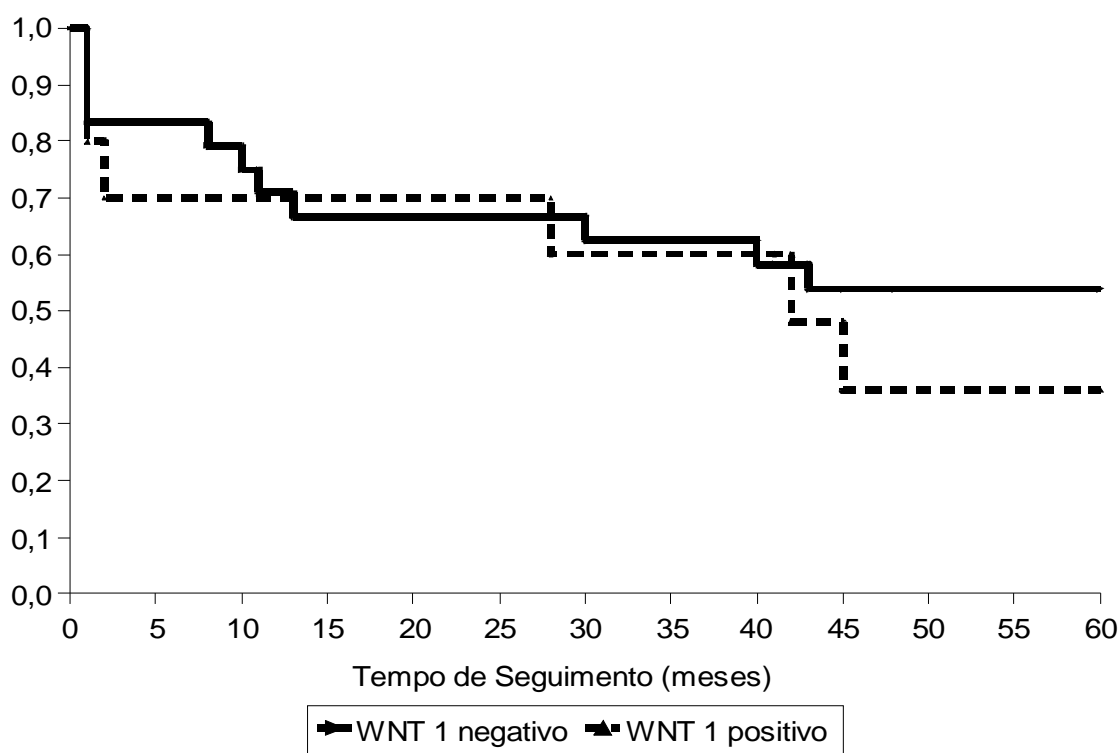


Figura 45. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo a expressão do Wnt1 ($p = 0,497$).

A curva de sobrevida para FZD1 não pôde ser calculada porque somente uma paciente apresentou imunexpressão negativa para esta proteína no grupo A.

Observou-se diferença significativa entre as curvas de sobrevida das pacientes divididas segundo a expressão do Wnt5a ($p = 0,050$), onde o grupo com expressão negativa mostrou melhores resultados.

Esses resultados estão representados na tabela 23 e figura 46.

Tabela 23. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo a expressão do Wnt5a.

Wnt5a	Casos	Eventos	Tempo de sobrevida			Teste do Log rank
			Média	ep	IC _{95%}	
negativo	7	1 14,3%	52	8	[36; 67]	$p = 0,050^*$
positivo	28	17 60,7%	32	5	[23; 42]	

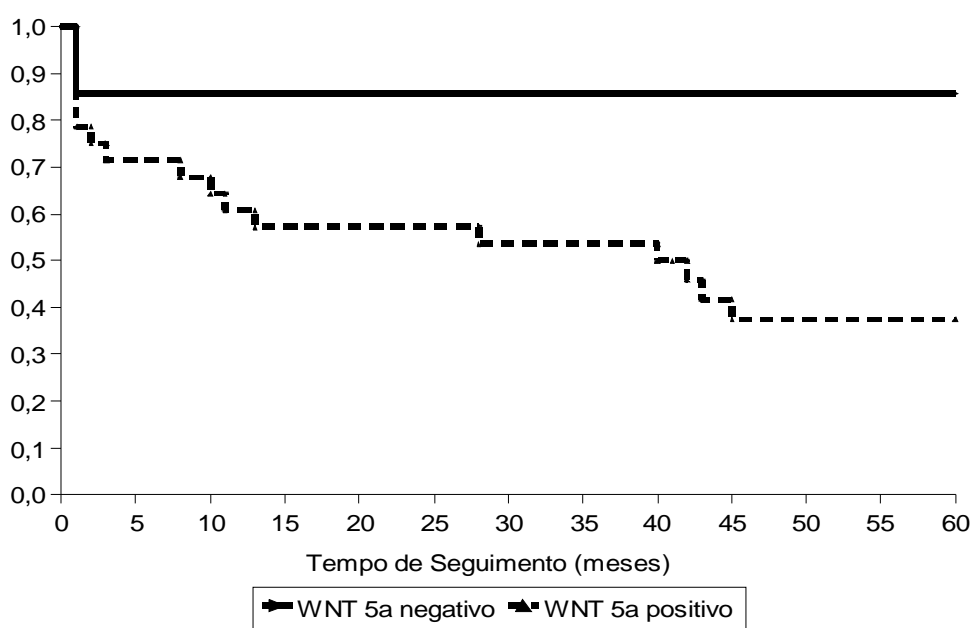


Figura 46. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo a expressão do Wnt5a ($p = 0,050^*$).

Não encontramos diferença significativa entre as curvas de sobrevida das pacientes divididas segundo a expressão do FZD5 ($p = 0,550$).

Esses resultados estão representados na tabela 24 e figura 47.

Tabela 24. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo a expressão do FZD5.

FZD5	Casos	Eventos	Tempo de sobrevida			Teste do Log rank
			Média	ep	IC _{95%}	
negativo	30	14 46,7%	36	5	[26; 46]	$p = 0,550$
positivo	5	4 80,0%	44	5	[35; 53]	

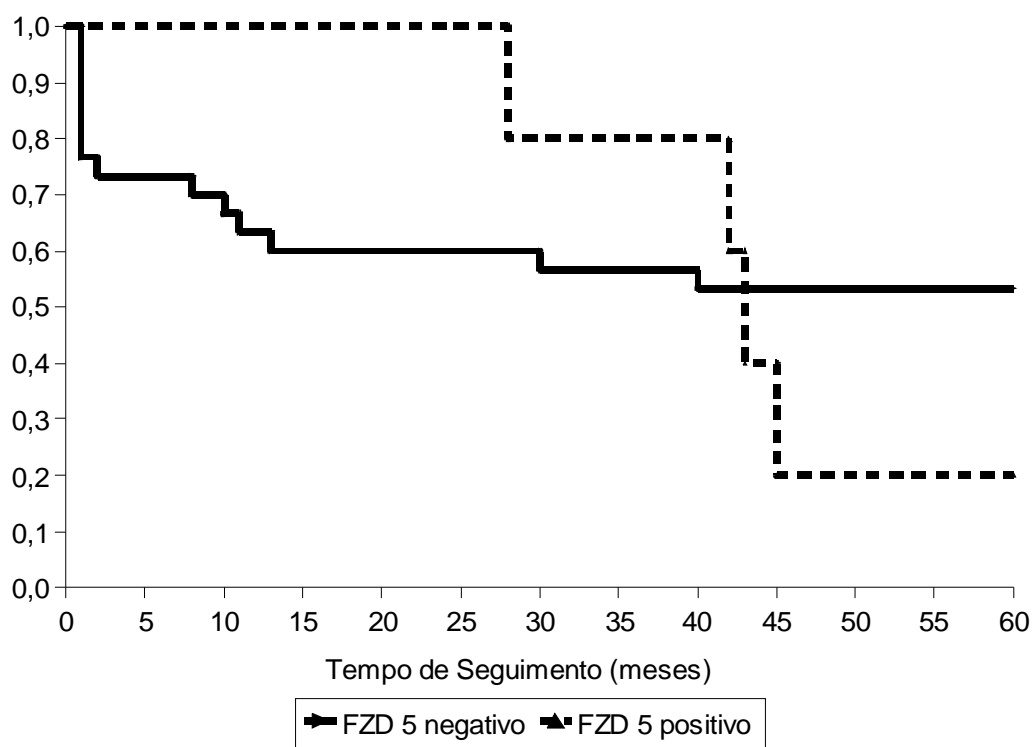


Figura 47. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo a expressão do FZD5 ($p = 0,550$).

Não observamos diferença significativa entre as curvas de sobrevida das pacientes divididas segundo a expressão da Beta-catenina ($p = 0,062$).

Esses resultados estão representados na tabela 25 e figura 48.

Tabela 25. Medidas descritivas da sobrevida estimada por Kaplan-Meier das pacientes segundo a expressão da Beta-catenina.

Beta-catenina	Casos	Eventos	Tempo de sobrevida			Teste do Log rank
			Média	ep	IC _{95%}	
negativo	9	2 22,2%	51	6	[39; 64]	$p = 0,062$
positivo	26	16 61,5%	32	5	[22; 42]	

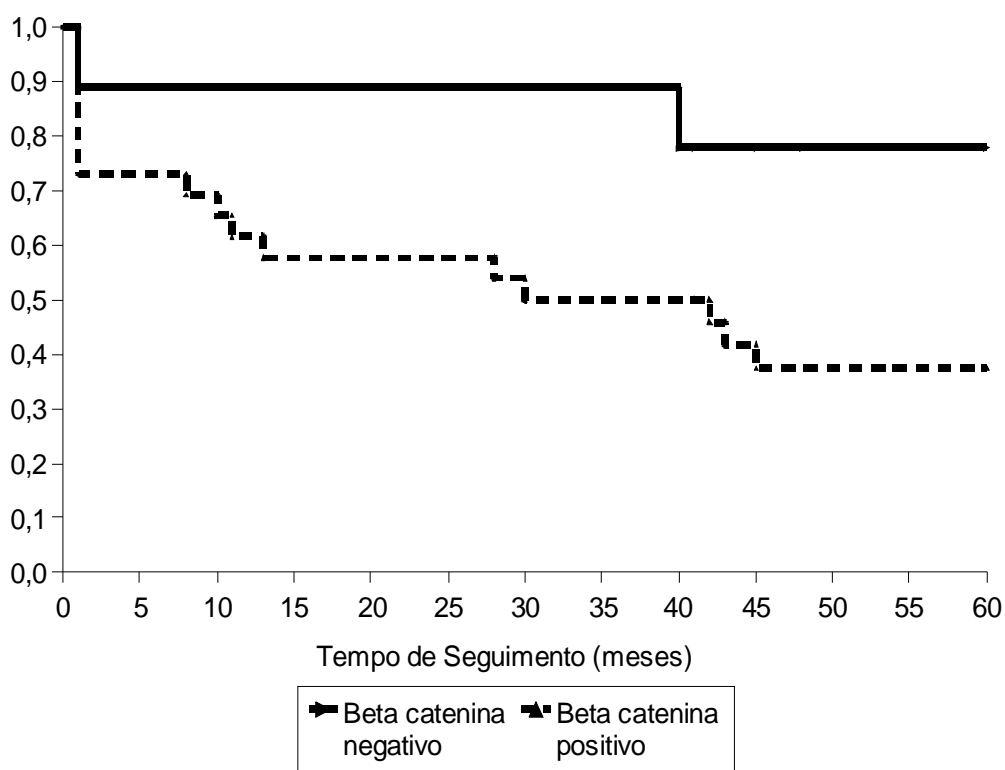


Figura 48. Curva de Kaplan-Meier para a sobrevida global das pacientes segundo a expressão da Beta-catenina ($p = 0,062$).

6 CONCLUSÕES

6.1.1 A imunexpressão da proteína Wnt1 nas neoplasias epiteliais malignas foi significativamente maior do que nas neoplasias epiteliais benignas e nos ovários normais.

6.1.2 A imunexpressão da proteína FZD1 nas neoplasias epiteliais malignas e benignas foi significativamente maior do que nos ovários normais.

6.1.3 A imunexpressão do Wnt5a nas neoplasias epiteliais malignas foi significativamente maior do que nas neoplasias epiteliais benignas e nos ovários normais.

6.1.4 Não houve associação significativa entre os três grupos estudados quanto à expressão da proteína FZD5.

6.1.5 A proporção de pacientes positivas para Beta-catenina foi significativamente maior no grupo dos ovário normais em comparação aos grupo das neoplasias epiteliais benignas. O grupo das neoplasias epiteliais malignas não se diferenciou dos demais grupos.

6.2.1 Nas pacientes com neoplasia epitelial maligna, as enfermas com imunexpressão do Wnt5a tiveram sobrevida significativamente pior do que as Wnt5a-negativas.

6.2.2 Nas pacientes com neoplasia epitelial maligna, não houve diferença de sobrevida em relação à expressão de Wnt1, FZD5 e Beta-catenina. A curva de sobrevida para FZD1 não pôde ser avaliada pelo fato de que somente uma paciente foi negativa para esta proteína neste grupo.

7 ANEXOS

7.1 Anexo 1

Aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo para realização do projeto.

7.2 Anexo 2

Aprovação da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) para o fomento do projeto.

7.3 Anexo 3 – Identificação das pacientes do grupo A (neoplasias ovarianas epiteliais malignas).

Caso No	Nome (iniciais)	Identificação (RG-HSP) *	Número da lâmina**	Idade	Raça
M1	ZBA	875083	B94-9205	65	Branca
M2	MJMB	891438	B95-1400	54	Negra
M3	ASC	903587	B95-9069	72	Negra
M4	MJFSM	914571	B95-12557	30	Branca
M5	VPRS	824272	B95-12902	38	Negra
M6	MA	884776	B96-2883	76	Branca
M7	ILC	774468	B96-3285	70	Branca
M8	NLF	956211	B97-1289	72	Branca
M9	Excluído (IGUAL M8)				
M10	APS	971763	B97-12370	74	Branca
M11	LFM	767940	B97-13241	87	Branca
M12	RFS	980442	B97-20383	82	Branca
M13	MGT	889962	B98-11359	50	Branca
M14	UPR	473098	B99-01432	66	Branca
M15	MGD	46543	B99-14760	52	Branca
M16	QPL	1039715	B99-30810	43	Branca
M17	EAA	1031104	B00-9092	64	Negra
M18	Excluído (tipo histológico não-epitelial)				
M19	MCPG	1068286	B00-30537	26	Branca
M20	AMC	1073808	B00-36363	70	Branca

continua

7.3 Anexo 3 – Continuação

Caso No	Nome (iniciais)	Identificação (RG-HSP) *	Número da lâmina**	Idade	Raça
M21	FOS	1077092	B00-38248	48	Branca
M22	MAS	1079725	B01-08382	63	Branca
M23	AMSM	1132496	B01-12042	44	Branca
M24	MIP	1163638	B01-12658	61	Branca
M25	Excluído (IGUAL M24)				
M26	JNS	654737	B01-24266	24	Negra
M27	MRA	10007912	B01-34321	19	Branca
M28	JANF	733671	B01-38553	60	Branca
M29	DF	1077851	B01-41717	49	Branca
M30	MFAC	797776	B02-3272	43	Branca
M31	ZMS	10016026	B02-14980	55	Branca
M32	MSL	403100	B02-16447	51	Branca
M33	CMS	10029080	B03-11799	56	Branca
M34	AMM	10015851	B03-19111	43	Negra
M35	GAF	10060394	B03-26520	33	Branca
M36	MLFD	10061201	B03-27167	62	Negra
M37	MCSP	1109992	B03-29819	50	Branca
M38	JCS	10059562	B03-31758	61	Negra
M39	ASC	10081686	B04-02445	37	Negra
M40	MVLS	10089019	B04-134444	43	Branca
M41	EEC	484547	B04-13469	89	Negra

* Número do Registro Geral do Prontuário de Pacientes do Hospital São Paulo.

** Número de Registro do Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.

7.4 Anexo 4 – Dados clínicos e laboratoriais das pacientes do grupo A (neoplasias ovarianas epiteliais malignas): índice de massa corpórea (IMC, expresso em Kg/m²), hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), tabagismo, valor da glicemia de jejum (mg/dl) e da hemoglobina (mg/dl).

Caso No	IMC	HAS	DM	Tabagista	Glicemia	Hb
M1	32,8	Não	Não	Não	116	13,2
M2	34,2	Não	Não	Não	94	11,2
M3	20,4	Sim	Não	Não	106	9,7
M4	26,2	Não	Não	Sim	90	13,9
M5	27,5	Não	Não	Não	88	11
M6	28,9	Sim	Sim	Não	130	12,9
M7	29,6	Sim	Não	Não	103	10,9
M8	27,8	Sim	Não	Não	114	16,4
M9						
M10	16,6	Não	Não	Não	90	9,7
M11	25,5	Sim	Não	Não	102	11,7
M12	32,4	Sim	Sim	Não	149	8,9
M13	24,7	Não	Não	Sim	88	10,2
M14	21	Sim	Não	Sim	105	11,7
M15	24	Não	Não	Não	103	12
M16	25	Não	Não	Não	90	12,4
M17	25,8	Não	Não	Não	93	11,9
M18						
M19	24,1	Não	Não	Não	103	12,1
M20	27	Não	Não	Não	102	9,4

continua

7.4 Anexo 4 – Continuação

Caso No	IMC	HAS	DM	Tabagista	Glicemia	Hb
M21	25,4	Sim	Não	Não	166	11
M22	24	Não	Não	Sim	82	13,3
M23	28,1	Não	Não	Sim	90	11,3
M24	21,5	Não	Não	Não	118	8,5
M25						
M26	32	Sim	Não	Não	80	11,8
M27	24	Não	Não	Não	81	14,3
M28	26	Não	Não	Não	80	13,1
M29	25,3	Sim	Não	Não	109	9,3
M30	24	Não	Não	Não	102	11
M31	20,7	Não	Sim	Não	105	12,7
M32	21,2	Não	Não	Não	73	12,5
M33	21,1	Sim	Não	Não	90	9,7
M34	29,5	Não	Não	Não	118	9,8
M35	20,8	Não	Não	Não	78	12,1
M36	28,6	Não	Não	Sim	80	14,8
M37	18,8	Não	Não	Não	100	9,3
M38	22,7	Sim	Não	Não	119	13,4
M39	27	Sim	Não	Sim	75	14,3
M40	38,1	Sim	Não	Não	96	9
M41	20,8	Sim	Não	Não	97	13,3

7.5 Anexo 5 – Antecedentes ginecológicos e obstétricos das pacientes do grupo A (neoplasias ovarianas epiteliais malignas): número de gestações (G), número de partos (P), número de abortamentos (A), idade da menarca e idade da menopausa (anos).

Caso No	G	P	A	Menarca	Menopausa
M1	2	2	0	10	42
M2	2	2	0	12	Não se aplica
M3	1	0	1	16	46
M4	2	2	0	15	Não se aplica
M5	6	1	5	14	Não se aplica
M6	0	0	0	10	55
M7	1	1	0	14	52
M8	3	3	0	11	49
M9					
M10	0	0	0	15	54
M11	2	2	0	15	50
M12	12	10	2	12	50
M13	3	2	1	13	47
M14	14	14	0	11	48
M15	3	2	1	13	48
M16	2	2	0	15	Não se aplica
M17	3	2	1	14	50
M18					
M19	1	1	0	14	Não se aplica
M20	3	3	0	11	48

continua

7.5 Anexo 5 – Continuação

Caso No	G	P	A	Menarca	Menopausa
M21	2	2	0	13	Não se aplica
M22	1	1	0	13	52
M23	1	1	0	13	Não se aplica
M24	3	2	1	13	33
M25					
M26	1	1	0	15	Não se aplica
M27	0	0	0	12	Não se aplica
M28	0	0	0	12	47
M29	4	4	0	12	Não se aplica
M30	3	2	1	12	Não se aplica
M31	5	5	0	12	40
M32	1	1	0	15	Não se aplica
M33	3	3	0	16	54
M34	7	7	0	14	Não se aplica
M35	0	0	0	17	Não se aplica
M36	1	1	0	14	50
M37	3	3	0	13	48
M38	2	2	0	13	50
M39	3	3	0	13	Não se aplica
M40	4	4	0	10	Não se aplica
M41	9	8	1	12	50

7.6 Anexo 6 – Data da cirurgia, estadiamento clínico-cirúrgico, tipo de citorredução realizada, diagnóstico anátomo-patológico e sobrevida (meses) das pacientes do grupo A (neoplasias ovarianas epiteliais malignas).

Caso No	Data	Estadiamento	Citorredução	Anátomo-patológico	Sobrevida
M1	18/07/1994	IV	SUBÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	11
M2	03/02/1995	II	ÓTIMA	TU EPITELIAL MISTO MALIGNO COM PREDOMÍNIO DE CARCINOMA DE CÉLULAS CLARAS	>60
M3	30/06/1995	IIIB	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	44
M4	25/08/1995	IA	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA MUCINOSO	>60
M5	12/04/1993	IIIC	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	30
M6	28/02/1996	IV	SUBÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	13
M7	06/03/1996	IV	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	1
M8	29/01/1997	IIIC	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	1
M9					
M10	08/08/1997	IV	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	2
M11	22/08/1997	IIIB	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA PAPILÍFERO	8
M12	10/12/1997	IV	SUBÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	1
M13	01/07/1998	IIIC	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	45
M14	27/01/1999	IIB	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	>60
M15	01/07/1999	IIIC	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	>60
M16	22/12/1999	IA	ÓTIMA	ADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	>60
M17	29/03/2000	IV	SUBÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	28
M18					
M19	11/10/2000	IA	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA MUCINOSO	>60
M20	06/12/2000	IV	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	1

continua

7.6 Anexo 6 – Continuação

Caso No	Data	Estadiamento	Citorredução	AP	Sobrevida
M21	22/12/2000	IV	SUBÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	1
M22	22/03/2001	IIIC	ÓTIMA	CISTODENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	>60
M23	25/04/2001	IV	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA	1
M24	02/05/2001	IIIC	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA MUCOSSECRETOR	1
M25					
M26	08/08/2001	IA	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	>60
M27	25/10/2001	IA	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA MUCINOSO	>60
M28	28/11/2001	IA	ÓTIMA	CARCINOMA ENDOMETRIÓIDE	>60
M29	19/12/2001	IIIB	ÓTIMA	ADENOCARCINOMA ENDOMETRIÓIDE	3
M30	31/01/2002	IIIC	SUBÓTIMA	CARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	40
M31	02/05/2002	IV	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	1
M32	14/05/2002	IA	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA SEROSO	>60
M33	17/05/2003	IIIC	ÓTIMA	CARCINOMA ENDOMETRIÓIDE	>60
M34	30/01/2002	IIIB	SUBÓTIMA	ADENOCARCINOMA	42
M35	08/10/2003	IIIA	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA MUCINOSO	43
M36	15/10/2003	IA	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA MUCINOSO	>60
M37	12/11/2003	IIIC	ÓTIMA	CARCINOMA ENDOMETRIÓIDE	10
M38	03/12/2003	IIIA	ÓTIMA	CARCINOMA SEROSO PAPILÍFERO	48*
M39	02/02/2004	IA	ÓTIMA	CISTOADENOCARCINOMA MUCINOSO	45*
M40	09/06/2004	IA	ÓTIMA	CARCINOMA	41*
M41	09/06/2004	IIIB	ÓTIMA	CARCINOMA MUCINOSO	41*

* Viva até a data de coleta de dados e ainda não completo 60 meses pós-tratamento inicial.

7.7 Anexo 7 – Identificação das pacientes do Grupo B (neoplasias ovarianas epiteliais benignas).

Caso No	Nome (iniciais)	Identificação (RG-HSP) *	Número da lâmina**	Idade	Raça
B1	FSM	931687	B96-1522	76	Branca
B2	LAGD	559887	B96-03307	58	Branca
B3	ALGA	956922	B97-1328	22	Branca
B4	LT	966374	B97-13085	53	Negra
B5	MJS	643090	B98-21081	43	Branca
B6	NFM	346912	B99-1951	72	Branca
B7	CN	716339	B99-26849	58	Branca
B8	JDM	989496	B00-01513	65	Negra
B9	RCS	1031866	B00-03636	45	Branca
B10	JMLV	525693	B00-14297	62	Branca
B11	CMS	1053395	B00-14943	66	Branca
B12	ECSC	1061708	B00-18438	13	Negra
B13	AOAS	1052165	B00-20904	48	Negra
B14	MGO	1032480	B00-21554	26	Branca
B15	MAAL	480749	B00-26505	72	Branca
B16	MCS	1039453	B00-27042	39	Amarela
B17	MP	1063051	B00-33008	28	Branca
B18	JJS	1057792	B00-33009	44	Negra
B19	CPP	16584	B00-35004	40	Negra
B20	MLC	646178	B01-01418	69	Branca
B21	MJA	1074161	B01-02813	35	Negra
B22	MGSS	1078930	B01-04522	40	Negra
B23	DCFC	1187470	B01-14637	55	Branca
B24	MLAB	1163525	B01-17498	51	Branca
B25	FEFM	1152127	B01-18167	30	Branca
B26	MAS	546589	B01-28755	39	Branca
B27	CAV	10023622	B02-32596	60	Branca
B28	LAL	1131811	B01-13368	18	Negra

* Número do Registro Geral do Prontuário de Pacientes do Hospital São Paulo.

** Número de Registro do Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.

7.8 Anexo 8 – Dados clínicos e laboratoriais das pacientes do grupo B (neoplasias ovarianas epiteliais benignas): índice de massa corpórea (IMC, expresso em Kg/m²), hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), tabagismo, valor da glicemia de jejum (mg/dl) e da hemoglobina (mg/dl).

Caso No	IMC	HAS	DM	Tabagista	Glicemia	Hb
B1	28,4	Sim	Sim	Não	150	13,7
B2	27,4	Sim	Não	Não	162	13,5
B3	22,3	Não	Não	Sim	94	13,2
B4	23,4	Sim	Não	Não	113	11,9
B5	22,9	Sim	Não	Não	97	13,3
B6	26	Sim	Não	Não	100	11
B7	29,2	Não	Não	Não	103	13,2
B8	21,1	Sim	Não	Sim	95	12,2
B9	29,1	Não	Não	Não	94	13,4
B10	25,3	Não	Não	Não	103	13,4
B11	29,7	Sim	Não	Não	134	9,5
B12	24	Não	Não	Não	103	12,5
B13	25,4	Não	Não	Sim	69	15
B14	21,1	Não	Não	Sim	84	12,9
B15	25,5	Sim	Sim	Não	266	14
B16	26,9	Não	Não	Sim	83	13,6
B17	25,3	Não	Não	Sim	106	12,4
B18	26	Não	Não	Não	104	12
B19	23	Não	Não	Não	99	13
B20	22,9	Sim	Não	Não	116	13,9
B21	28,3	Não	Não	Não	154	13,1
B22	25,3	Não	Não	Sim	76	13
B23	26,2	Não	Não	Não	91	13,8
B24	22,4	Não	Não	Não	80	14,3
B25	18	Não	Não	Não	104	10,3
B26	17,7	Não	Não	Sim	78	14,9
B27	25,4	Não	Não	Não	120	11,9
B28	25,5	Não	Não	Não	102	11,3

7.9 Anexo 9 – Antecedentes ginecológicos e obstétricos das pacientes do grupo B (neoplasias ovarianas epiteliais benignas): número de gestações (G), número de partos (P), número de abortamentos (A), idade da menarca e idade da menopausa (anos).

Caso No	G	P	A	Menarca	Menopausa
B1	7	7	0	14	50
B2	8	4	4	12	50
B3	1	1	0	16	Não se aplica
B4	4	3	1	11	52
B5	12	9	3	14	Não se aplica
B6	3	3	0	11	48
B7	6	6	0	12	52
B8	9	3	4	12	50
B9	6	5	1	14	Não se aplica
B10	3	2	1	11	52
B11	3	3	0	12	45
B12	0	0	0	10	Não se aplica
B13	3	3	0	15	Não se aplica
B14	4	3	1	12	Não se aplica
B15	1	1	0	16	52
B16	5	5	0	11	38
B17	1	1	0	12	Não se aplica
B18	3	3	0	13	Não se aplica
B19	3	3	0	11	Não se aplica
B20	3	3	0	11	51
B21	4	3	1	18	Não se aplica
B22	4	4	0	13	Não se aplica
B23	3	3	0	13	48
B24	0	0	0	15	Não se aplica
B25	5	5	0	14	Não se aplica
B26	5	4	1	14	Não se aplica
B27	2	2	0	13	46
B28	0	0	0	13	Não se aplica

7.10 Anexo 10 – Data da cirurgia e diagnóstico anátomo-patológico das pacientes do grupo B (neoplasias ovarianas epiteliais benignas).

Caso No	Data	Anátomo-patológico
B1	05/02/1996	CISTOADENOMA SEROSO PAPILÍFERO
B2	08/03/1996	CISTOADENOMA MUCINOSO
B3	31/01/1997	CISTOADENOMA MUCINOSO
B4	20/08/1997	CISTOADENOMA SEROMUCINOSO
B5	04/11/1998	CISTO SEROSO SIMPLES
B6	03/02/1999	CISTOADENOMA SEROSO
B7	17/11/1999	CISTOADENOMA MUCINOSO
B8	20/01/2000	CISTOADENOMA SEROSO
B9	09/02/2000	CISTOADENOMA SEROSO
B10	17/05/2000	CISTOADENOMA SEROSO PAPILÍFERO
B11	24/05/2000	CISTOADENOFIBROMA PAPILÍFERO
B12	28/06/2000	CISTOADENOMA MUCINOSO
B13	18/06/2000	CISTOADENOMA SEROSO PAPILÍFERO
B14	26/07/2000	CISTOADENOMA MUCINOSO
B15	06/09/2000	CISTOADENOMA SEROSO
B16	13/09/2000	CISTOADENOMA SEROSO
B17	08/11/2000	CISTOADENOMA MUCINOSO
B18	09/11/2000	CISTOADENOMA SEROSO
B19	27/11/2000	CISTOADENOMA SEROSO
B20	16/01/2001	CISTOADENOMA SEROSO
B21	31/01/2001	CISTOADENOMA SEROSO
B22	14/02/2001	CISTOADENOMA SEROSO
B23	18/05/2001	CISTOADENOMA MUCINOSO
B24	13/06/2001	CISTOADENOMA SEROSO
B25	05/07/2001	CISTO SEROSO SIMPLES
B26	12/09/2001	CISTOADENOMA MUCINOSO
B27	01/10/2002	CISTOADENOMA MUCINOSO
B28	09/05/2001	CISTOADENOMA MUCINOSO

7.11 Anexo 11 – Identificação das pacientes do grupo C (Ovários normais).

Caso No	Nome (iniciais)	Identificação (RG-HSP) *	Número da lâmina**	Idade	Raça
N1	JRS	568055	B97-3761	53	Branca
N2	RCV	1001932	B00-19969	48	Branca
N3	MEF	462407	B00-35391	58	Branca
N4	ECS	27217	B01-1087	51	Negra
N5	RFA	13549	B01-1817	54	Branca
N6	RSS	26674	B01-2921	38	Negra
N7	CPF	1067152	B01-01845	51	Branca
N8	CPS	1101078	B01-03733	41	Negra
N9	EJB	1126483	B01-06629	51	Branca
N10	LAS	766391	B01-9165	64	Negra
N11	MGPCP	1194400	B01-28840	48	Branca
N12	MMM	1072016	B01-31561	40	Branca
N13	IMC	64854	B99-10541	53	Branca
N14	RPS	1046851	B01-12340	54	Negra
N15	AMG	551086	B98-10911	53	Negra
N16	MJS	408671	B01-25335	44	Branca
N17	EQS	10034836	B03-01506	52	Negra
N18	ZCO	10017539	B02-23378	47	Branca
N19	MAS	27847	B01-2922	54	Branca
N20	MHPP	13538	B01-1825	62	Negra
N21	EGF	888459	B00-16481	69	Negra
N22	BGS	201562	B96-3592	72	Branca
N23	JAS	1058121	B00-19971	47	Branca
N24	VRS	1057331	B00-24657	60	Branca
N25	RVR	1070663	B01-7362	73	Negra
N26	RBS	1047435	B00-23048	50	Branca

* Número do Registro Geral do Prontuário de Pacientes do Hospital São Paulo.

** Número de Registro do Departamento de Patologia da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.

7.12 Anexo 12 – Dados clínicos e laboratoriais das pacientes do grupo C (ovários normais): índice de massa corpórea (IMC, expresso em Kg/m²), hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), tabagismo, valor da glicemia de jejum (mg/dl) e da hemoglobina (mg/dl).

Caso No	IMC	HAS	DM	Tabagista	Glicemia	Hb
N1	25	Sim	Não	Não	99	11,4
N2	29,9	Não	Não	Não	78	12
N3	26	Não	Não	Não	100	12,3
N4	27	Não	Não	Não	101	13,5
N5	25	Sim	Não	Não	99	11
N6	26,5	Não	Não	Não	103	12,4
N7	22,2	Sim	Não	Sim	95	10,3
N8	21,5	Não	Não	Não	103	8,9
N9	26,4	Não	Não	Não	104	14
N10	25,3	Sim	Não	Não	121	13,6
N11	24	Não	Não	Sim	90	14,9
N12	25,4	Não	Não	Não	89	13,3
N13	27	Não	Não	Não	98	13,1
N14	23,2	Não	Não	Não	87	11,7
N15	25	Não	Não	Não	102	11
N16	36,8	Sim	Sim	Não	121	14,1
N17	31,5	Sim	Não	Não	108	13,1
N18	24	Não	Não	Não	90	12,8
N19	26	Não	Não	Não	97	12
N20	26,5	Sim	Não	Não	104	13
N21	24,7	Sim	Não	Não	106	12,6
N22	32	Sim	Não	Não	90	12,3
N23	24	Não	Não	Não	121	13,6
N24	18,7	Não	Não	Sim	82	12,1
N25	25,3	Sim	Não	Não	115	15,8
N26	29,3	Não	Não	Sim	94	12,5

7.13 Anexo 13 – Antecedentes ginecológicos e obstétricos das pacientes do grupo C (ovários normais): número de gestações (G), número de partos (P), número de abortamentos (A), idade da menarca e idade da menopausa (anos).

Caso No	G	P	A	Menarca	Menopausa
N1	3	2	1	12	48
N2	3	3	0	14	Não se aplica
N3	4	3	1	11	47
N4	2	2	0	13	48
N5	3	2	1	12	46
N6	2	2	0	11	Não se aplica
N7	4	4	0	11	Não se aplica
N8	4	2	2	12	Não se aplica
N9	5	2	3	13	48
N10	5	3	2	12	58
N11	1	1	0	13	35
N12	0	0	0	12	38
N13	3	2	1	12	49
N14	0	0	0	15	54
N15	4	3	1	13	50
N16	5	4	1	14	41
N17	2	2	0	11	Não se aplica
N18	5	4	1	13	Não se aplica
N19	3	2	1	11	47
N20	4	3	1	12	49
N21	10	9	1	11	47
N22	4	4	0	14	52
N23	2	1	1	11	46
N24	2	2	0	13	50
N25	7	6	1	15	50
N26	4	4	0	12	40

7.14 Anexo 14 – Data da cirurgia e diagnóstico anátomo-patológico das pacientes do grupo C (ovários normais).

Caso No	Data	Anátomo-patológico
N1	01/07/1997	OVÁRIO NORMAL
N2	18/07/2000	OVÁRIO NORMAL
N3	29/11/2000	OVÁRIO NORMAL
N4	15/01/2001	OVÁRIO NORMAL
N5	22/01/2001	OVÁRIO NORMAL
N6	01/02/2001	OVÁRIO NORMAL
N7	19/01/2001	OVÁRIO NORMAL
N8	06/02/2001	OVÁRIO NORMAL
N9	06/03/2001	OVÁRIO NORMAL
N10	28/03/2001	OVÁRIO NORMAL
N11	12/09/2001	OVÁRIO NORMAL
N12	03/10/2001	OVÁRIO NORMAL
N13	20/05/1999	OVÁRIO NORMAL
N14	26/04/2001	OVÁRIO NORMAL
N15	25/06/1998	OVÁRIO NORMAL
N16	15/08/2001	OVÁRIO NORMAL
N17	22/01/2003	OVÁRIO NORMAL
N18	17/07/2002	OVÁRIO NORMAL
N19	01/02/2001	OVÁRIO NORMAL
N20	22/01/2001	OVÁRIO NORMAL
N21	07/06/2000	OVÁRIO NORMAL
N22	13/03/1996	OVÁRIO NORMAL
N23	12/07/2000	OVÁRIO NORMAL
N24	23/08/2000	OVÁRIO NORMAL
N25	14/03/2001	OVÁRIO NORMAL
N26	09/08/2000	OVÁRIO NORMAL

7.15 Anexo 15 - Carta de aceite da revista – Oncology Reports e artigo publicado.

Data:	10/11/08 05:46
De:	contact@spandidos-publications.com Bloquear endereço
Para:	dr.levon@terra.com.br
Assunto:	D.A. Spandidos

contact@spandidos-publications.com www.spandidos-publications.com

International Journal of Oncology
International Journal of Molecular Medicine
Oncology Reports
Molecular Medicine Reports
10 Vriaxidos Street, Athens 116 35, Greece

10th
November 2008

Dr L. Badiglian

MS No. 683/957-OR: Canonical and ...

The above manuscript has been accepted for publication in the
Oncology Reports.
This article includes one color figure.
Proofs will be provided before publication.

Yours sincerely,

Demetrios A.
Spandidos

8 REFERÊNCIAS

Abstract

Objectives: To analyze the canonical and noncanonical Wnt pathway in normal ovary, benign ovarian tumor and ovarian cancer.

Methods: Ovarian specimens were obtained from surgeries performed between 1993 and 2004. The patients were divided in three groups: Group A, epithelial ovarian cancer (N = 38); Group B, benign epithelial neoplasia (N = 27) and Group C, normal ovaries (N = 26). Immunoreactivity for Wnt1, FZD1, Wnt5a, FZD5 and β -catenin was scored for each group.

Results: The proportion of Wnt1 positive women at the group A (29.4%) was significantly higher than the group B (4.3%) and C (9.1%) ($p = 0.020$). The proportion of FZD1 positive patients in group C (54.5%) was significantly lower than the group A (97.1%) and B (90.0%) ($p < 0.001$). The proportion of Wnt5a positive women was significantly higher for group A (80.0%) compared to the group B (25.0%) and C (27.3%) ($p < 0.001$). The proportion of β -catenin positive patients in the group C (95.8%) was significantly higher than the group B (52.4%) ($p = 0.004$). Comparison of the survival curves in group A according to Wnt5a expression showed a significant difference between positive and negative patients, whereas the Wnt5a positive women showed worse results ($p=0.050$).

Conclusion: Our findings suggest that the pathways related to Wnt5a have an important role in ovarian malignant neoplasia. Furthermore, Wnt5a was found to be a predictor of poor prognosis for ovarian cancer.

Bibliografia consultada

- 1) Rother ET, Braga MER. Como elaborar sua tese: Estrutura e referências. São Paulo; 2001.
- 2) Callegari-Jacques SM. Bioestatística: princípios e aplicações. Porto Alegre: Artmed; 2003.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)