

Resumo de Tese / Thesis

Avaliação das proteínas reguladoras do ciclo celular e apoptose nos Linfomas não-Hodgkin agressivos e influência na resposta ao tratamento
Evaluation of cell cycle and apoptosis-regulating proteins in aggressive non-Hodgkin's lymphomas and influence in response to treatment

Katia B. B. Pagnano

Orientadora:

Sara Teresinha Olalla Saad

Co-orientador:

José Vassalo

Resumo

Os linfomas não-Hodgkin (LNH) agressivos constituem um grupo heterogêneo de neoplasias hematológicas. Os LNH difusos de grandes células B compreendem cerca de 20-25% dos LNH. O tratamento quimioterápico pode curar apenas 40%-50% dos pacientes adultos com linfomas agressivos. São considerados indicadores prognósticos: idade, número de sítios extranodais, LDH, performance status e estadiamento clínico.

Além desses fatores, anormalidades das proteínas reguladoras do ciclo celular e da apoptose parecem ser um importante mecanismo de desenvolvimento de neoplasias e podem ter um papel no prognóstico dos linfomas agressivos.

A expressão das proteínas reguladoras do ciclo celular, p53, p21/WAF-1, Mdm2, c-Myc e PCNA (proliferating cell nuclear antigen) foram avaliadas através da análise imunohistoquímica de biópsias de gânglio, fixadas em formol e embebidas em parafina de 113 casos de LNH de

alto grau de malignidade histológica, sendo que em 62 pacientes com LNH agressivos a expressão das proteínas foi correlacionada com dados clínicos e de sobrevida. Expressão de p53, p21/WAF-1, Mdm2 e c-Myc foi observada em 17/62 (30%), 25/60 (42%), 13/44 (30%) e 39/51 (76.5%) dos casos, respectivamente. O fenótipo p53+/p21WAF-1 negativo, que é mais frequentemente encontrado nos casos com mutações do p53, foi associado com menor sobrevida global (SG), ($P=0.04$) e uma menor taxa de remissão completa (RC) ($P=0.01$). Expressão negativa de p53 e c-Myc foram relacionadas a uma melhor resposta à quimioterapia ($P=0.005$ e 0.035 , respectivamente). A expressão de p53, c-Myc e Mdm2 foi associada a uma menor SG ($P < 0.001$, 0.05 e 0.037 respectivamente), sugerindo que a expressão dessas proteínas poderia estar associada a um pior prognóstico nesses pacientes.

Além da análise da expressão da p53, pesquisamos a presença de mutações do gene p53 nos casos com hiperexpressão da proteína ($n=17$). Foi possível extrair DNA de 15 casos. A amplificação dos exons 5-9 do p53 teve êxito em sete casos, com o achado de uma mutação de ponto no éxon 6 (Val→Glu; T→A), num paciente com hiperexpressão da p53 e expressão negativada p21/WAF-1.

Avaliamos também a expressão de proteínas reguladoras da apoptose (p53, Bcl-2, Bax, Bak e Mcl-1) de 33 pacientes com LNH difusos de grandes células B e analisamos a relação entre a expressão dessas proteínas com dados clínicos e resposta à quimioterapia.

Nossos resultados mostraram que a expressão da p53 foi considerada um parâmetro imunohistoquímico independente relacionado a um pior prognóstico nesses linfomas. Apesar da alta expressão observada das proteínas Bcl-2, Bax, Bak e Mcl-1, não foi encontrado associação com prognóstico ou resposta ao tratamento.

Tese de Dissertação de Doutorado em Clínica Médica.

Faculdade de Ciências Médicas – Universidade Estadual de Campinas-SP – Brasil.

Correspondência para: Katia B. B. Pagnano

Departamento de Clínica Médica – Faculdade de Ciências Médicas – Unicamp – Cidade Universitária “Zeferino Vaz”

Rua Alexandre Fleming, 181 – Distrito de Barão Geraldo

13083-970 – Campinas, SP – Brazil

Summary

Aggressive non-Hodgkin's lymphomas (NHL) form a heterogeneous group in terms of clinical presentation, histology, immunophenotype, response to treatment and prognosis. Diffuse large B-cell NHL (DLCL) constitute up to 20-25% of NHL in many series. Combination chemotherapy may cure 40-50% of adult patients. Several clinical prognostic factors have been described to predict clinical outcome, as age, LDH, performance status and stage and are useful for identifying high-risk patients, who would benefit from a more intensive approach.

Abnormalities of cell cycle and apoptosis regulating proteins seem to be an important mechanism of tumorigenesis and may play a role in the prognosis of aggressive NHL.

The expression of p53, p21/WAF-1, Mdm2, c-Myc and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) proteins were examined by the immunohistochemistry of paraffin embedded samples of 113 high grade non-Hodgkin's lymphomas (NHL) and in 62 patients with aggressive NHL correlated to clinical data. Expression of p53, p21/WAF-1, Mdm2 and c-Myc protein was observed in 17 out of 62 cases (30%), 25 out of 60 (42%), 13 out of 44 (30%) and 39 out of 51 (76.5%), respectively. The p53+/p21 WAF-1 phenotype, which is more frequently found in p53 mutations, was associated with a worse overall survival rate ($P=0.04$) and with a lower rate of complete response (CR) ($PF=0.01$). p53 and c-Myc negative expression was related to a better response to chemotherapy ($PF=0.005$ and 0.035 , respectively). The expression of p53, c-Myc and Mdm2 was related to a shortened overall survival ($P < 0.001$, 0.05 and 0.037 respectively), suggesting that the

expression of these proteins could be associated with a poor outcomes in these patients.

We looked for mutations of p53 gene in aggressive NHL patients with a hyper-expression of p53 protein ($n=17$). DNA extraction was performed in 15 patients and PCR amplification of exons 5-9 was possible in 7 cases. We found a point mutation in exon 6 (Val→Glu;T→A), in a patient with a p53 hyper-expression and p21 negative expression.

We also evaluated the expression of apoptosis-regulating proteins (p53, Bcl-2, Bax, Bak and Mcl-1) of paraffin-embedded samples of 33 patients with diffuse large B-cell NHL, and assessed the relationship of these proteins to clinical outcome and response to chemotherapy.

Our results showed that p53 expression was an independent immunohistochemical parameter related to a poor prognosis in these lymphomas. Bcl-2, Bax, Bak and Mcl-1 proteins, though highly expressed in almost all cases were not associated with prognosis or response to treatment.

Avaliação: A Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia publica os resumos e abstracts de teses da área apresentados em universidades que tenham programas de pós-graduação reconhecidos pelo MEC/CAPES e considere a obtenção do título suficiente para sua publicação na forma como se propõe a seção.

Recebido: 25/05/2004

Aceito: 15/06/2004