

# Expressão citofotométrica da Caspase-3 no carcinoma papilífero da tireóide e no bócio colóide

## *Citophotometric expression of Caspase-3 in papillary thyroid carcinoma in nodular goiter colloid*

LUCIANA RODRIGUES QUEIROZ DE SOUZA<sup>1</sup>; JURANDIR MARCONDES RIBAS-FILHO, TCBC-PR<sup>2</sup>; OSVALDO MALAFAIA, ECBC-PR<sup>2</sup>; NICOLAU GREGORI CZECKZO, TCBC-PR<sup>2</sup>; CARMEN AUSTRALIA PAREDES MARCONDES RIBAS<sup>2</sup>; GLEIN DIAS DE SOUZA<sup>1</sup>; CARLOS HESPANHA MARINHO-JUNIOR<sup>1</sup>

### R E S U M O

**Objetivo:** Descrever a expressão citofotométrica quantitativa do marcador caspase-3 no bócio colóide e no carcinoma papilífero da tireóide e comparar a imunoposição entre as doenças. **Métodos:** Realizou-se estudo imunoistoquímico da proteína caspase-3 em 17 blocos de parafina de carcinoma papilífero da tireóide e 20 de bócio colóide, através do sistema SAMBA 4000 – (Sistema de análise microscópica de busca automática), objetivando-se analisar duas variáveis: índice de marcação e densidade óptica. **Resultados:** Houve diferença significativa quanto ao índice de marcação da caspase-3, entre o bócio colóide e o carcinoma papilífero, sendo maior no carcinoma, e não foi encontrada diferença significativa quanto à densidade óptica. Para o bócio colóide, o coeficiente de correlação estimado entre o índice de marcação e a densidade óptica foi igual a 0,72, indicando assim, a rejeição da hipótese nula ( $p < 0,001$ ), afirmando-se que existe associação positiva e significativa entre o índice de marcação e a densidade óptica da caspase-3. Para o carcinoma papilífero da tireóide, o coeficiente de correlação estimado entre o índice de marcação e a densidade óptica foi de 0,34. O resultado do teste estatístico indicou que não se pode afirmar que existe associação entre esses parâmetros. **Conclusão:** Para o bócio colóide existe associação positiva e significativa entre as duas variáveis, índice de marcação e a densidade óptica da caspase-3, enquanto que para o carcinoma papilífero não existe essa associação. O estudo comparativo entre a análise quantitativa da caspase-3, demonstrou que a apoptose é mais evidente no carcinoma papilífero do que no bócio colóide.

**Descritores:** Carcinoma papilífero. Tireóide. Bócio colóide. Caspase-3. Imunoistoquímica.

### INTRODUÇÃO

Bócio colóide é o aumento volumétrico da glândula da tireóide, causado por hiperplasia do parênquima, levando ao estado de proliferação folicular excessiva. A classificação de bócio é descrita como difuso e nodular, e este em uni ou multinodular. De acordo com a produção do hormônio tireoideo, é feita a separação anatomoclínica em tóxico (ou hiperfuncionante) e atóxico. A classificação pode ser, ainda, em endêmico ou esporádico, considerando-se endêmico o bócio que acomete mais de 10% da população de determinada área geográfica e o bócio esporádico sendo ocasionado à gama de fatores que interferem com a síntese hormonal - fatores ambientais, imunológicos e genéticos.

O câncer da tireóide é a neoplasia maligna mais comum do sistema endócrino, com predomínio no gênero feminino, entre 25 a 65 anos de idade. Valorizam-se como fatores de risco, a exposição à radiação na cabeça e pes-

coço, a história pessoal de bócio, nódulo tireoideo e a antecedência familiar de câncer de tireóide<sup>1</sup>.

Estes tumores, histologicamente, são constituídos por dois tipos de células epiteliais: células parafoliculares, que originam o carcinoma medular, e as células foliculares, que incluem adenomas, carcinomas diferenciados (carcinoma papilífero e carcinoma folicular) e o carcinoma indiferenciado (carcinoma anaplásico)<sup>2</sup>.

Vários métodos são usados para estimar a atividade proliferativa celular, geralmente medidas em diferentes períodos do ciclo celular, mas a imunodeteção tem sido muito utilizada por causa de sua rapidez e confiabilidade. Assim, biomarcadores como a caspase-3 são uma promessa para a detecção precoce do câncer, propensão, prognóstico e resposta terapêutica da doença. O aumento do conhecimento das alterações moleculares pode ser usado como um objetivo adicional para diagnóstico e deve fornecer a base para novas estratégias terapêuticas<sup>3-5</sup>.

Trabalho realizado no Instituto de Pesquisas Médicas do Hospital Universitário Evangélico de Curitiba/Faculdade Evangélica do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

1. Mestre do Programa de Pós-Graduação em Princípios Da Cirurgia e Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR-BR; 2. Doutor, Professor Permanente do Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia e Instituto de Pesquisas Médicas da Faculdade Evangélica do Paraná/Hospital Universitário Evangélico de Curitiba, Curitiba, PR-BR.

Uma família de cisteína protease, chamada caspase, tem papel central nas fases de iniciação e execução da apoptose. Caspases são cisteinoproteases que possuem uma cisteína no sítio ativo e clivam os seus resíduos após o ácido aspártico, resultando na inativação funcional do substrato ou alterando sua ativação, seja por clivagem de um domínio inibitório na própria molécula ou por inativação de uma molécula inibitória<sup>6</sup>.

Este trabalho tem como objetivo: descrever a expressão citofotométrica quantitativa da caspase-3 no bócio colóide e no carcinoma papilífero da tireóide; comparar os achados da imunexpressão da caspase-3 entre eles.

## MÉTODOS

O material de estudo foi constituído por 37 blocos de parafina, sendo 20 de bócio colóide e 17 de carcinoma papilífero da tireóide.

Os blocos foram cortados em micrótomo rotativo, com cortes histológicos de 5 micra de espessura, confeccionando-se duas lâminas. Uma para a validação do diagnóstico, corada por H/E e outra corada pela técnica imunistoquímica, para estudo da caspase-3. As lâminas foram submetidas à avaliação histopatológica por dois médicos patologistas para validação dos diagnósticos previamente estabelecidos.

### Preparo para a análise com a técnica de imunistoquímica

A análise imunistoquímica teve duração de 48 horas.

As lâminas foram colocadas nas cubetas, para a realização sequencial de dois banhos de xilol por 10 minutos, dois de álcool 100% por três minutos e um de álcool 70% por três minutos e para finalizar dois banhos com água destilada, por um minuto.

Para recuperação antigênica, foi utilizada solução tampão composta de citrato de sódio (0,7 m/mol), ácido cítrico (0,6 m/mol) e 450 mL de água destilada colocada nos frascos contendo as lâminas, levados ao banho-maria até atingir a temperatura superior a 97°C por 20 minutos. Posteriormente foram deixadas à temperatura ambiente por 30 minutos para resfriamento e os frascos foram três vezes lavados em água corrente.

Para o bloqueio da peroxidase endógena, dois banhos de água oxigenada a 2% foram feitos por cinco minutos cada. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água corrente e colocadas em frascos com tampão PBS (tampão fosfato salina) constituído de 5,52 g de fosfato dissódico monobásico, 22,7g de fosfato dissódico bibásico e 1000 mL de água destilada.

Para incubação das lâminas com anticorpo, inicialmente o frasco contendo o 1º anticorpo (caspase-3), foi agitado no aparelho vortex, objetivando-se a homogeneização. A solução deste anticorpo foi colocada nas lâminas e armazenadas na geladeira a 4°C, overnight.

Após 12 horas, as lâminas foram lavadas com água destilada, secadas individualmente e colocadas em tampão PBS, por cinco minutos. Após, foram secadas e alinhadas em bandeja de incubação, objetivando-se hidratar o tecido.

Na sequência, o 2º anticorpo (biotina) foi pipetado, fazendo a ligação entre o 1º (caspase-3) e a streptoavidina HRP, e esta à biotina, por 30 minutos de incubação. Para finalizar o processo, colocou-se uma gota do cromógeno (DAB), dióxido de amina-benzidina, que faz a ligação com a streptovidina.

### Análise quantitativa da imunistoquímica

Este processo foi avaliado pelo SAMBA 4000® - Sistema de análise microscópica de busca automática). Utilizou-se o microscópio da marca Axioskop®.

O fluxo luminoso oriundo da lâmpada de xenônio era controlado por um potenciômetro capaz de avaliar com precisão a quantidade de luz. Este feixe atravessa o condensador, a lâmina histológica, a objetiva e então era separado em duas partes: uma via destinada à observação visual através da ocular do microscópio e outra de captação da imagem, pela câmara de vídeo, a qual era enviada ao monitor acoplado ao computador. A câmara de vídeo utilizada foi a DXC-970M3CCD® que padroniza as cores verde, azul e vermelha, de forma que o sistema trabalha com o mesmo nível de captação determinado.

Utilizou-se computador Pentium III®, com 16Mb RAM e disco rígido de 12 gigabytes, que realizou as funções de importação das imagens do microscópio e da câmara de vídeo, de execução de software IMMUNO® do sistema SAMBA 4000 e a transferência dos dados para impressão.

As imagens analógicas foram captadas através da câmera e transformadas em imagens numéricas. A análise objetivou transformar as imagens coradas pelo marcador em matriz numérica e foram calculados parâmetros matemáticos que permitiram a análise das imagens microscópicas. Estas imagens foram processadas pelo sistema SAMBA 4000 e digitalizadas em ponto de imagem (pixels).

A luz absorvida pelo tecido foi quantificada e expressada em escala de variações de níveis de cinza, que variava de 0 (preto) a 255 (branco). Este processo correspondia à numeração da imagem e envolvia duas etapas: geração de matriz em níveis de cinza e a transformação desta em matriz numérica binária.

### Parâmetros analisados pelo sistema Samba 4000

O programa IMMUNO® foi utilizado para analisar duas variáveis que caracterizam quantitativamente as reações de coloração histoquímica: índice de marcação e densidade óptica média.

O índice de marcação caracteriza a porcentagem de área tecidual especificamente marcada pela prova imunistoquímica. A densidade óptica média reflete a intensidade de marcação.

### Análise estatística

Para avaliação da associação entre as expressões do marcador foi estimado o coeficiente de correlação Spearman e para a comparação das duas doenças, em relação às variáveis quantitativas, foi usado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

## RESULTADOS

### Bócio colóide

A média do índice de marcagem nas 20 lâminas de bócio colóide foi de 40,82% e da densidade óptica de 50,03 (Tabela 1).

A frequência de normalidade apresentada pelo índice de marcagem no bócio colóide, preponderou nos intervalos de 25,1 a 50 (25%) e 50,1 a 75 (30%).

A frequência de normalidade apresentada pela densidade óptica no bócio colóide, preponderou nos intervalos de 75,1 a 100 (25%) e 50,1 a 75 (35%).

A figura 1 ilustra a expressão da caspase-3, pela coloração em castanho, em lâminas do bócio colóide.

### Carcinoma papilífero da tireóide

A média do índice de marcagem nas 17 lâminas do carcinoma papilífero foi de 83,38% e da densidade óptica de 64,57 (Tabela 2).

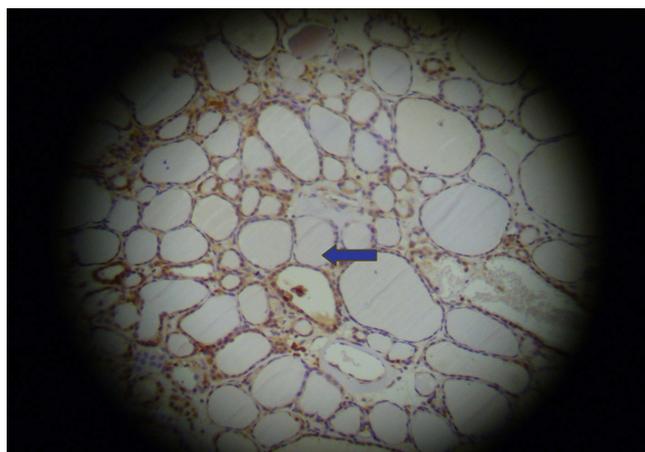
A frequência de normalidade apresentada pelo índice de marcagem no carcinoma papilífero preponderou nos intervalos 80,1 a 90 (17,65%) e 90,1 a 100 (58,82%).

A frequência de normalidade apresentada pela densidade óptica, preponderou nos intervalos 50,1 a 60 (17,65%) e 60,1 a 70 (47,6%).

A figura 2 ilustra a expressão da caspase-3, pela coloração em castanho, em lâminas do carcinoma papilífero da tireóide.

### Correlação do índice de marcagem da caspase-3 entre o bócio colóide e o carcinoma papilífero da tireóide

A correlação da média, mediana, valores mínimos, valores máximos e desvios- padrão, da expressão do



**Figura 1** - Fotomicrografia, da lâmina do bócio colóide (aumento de 100x), com imunomarcagem para caspase-3, em castanho dourado.

Nota: Seta indica o citoplasma imunomarcado pela caspase-3.

**Tabela 1** – Expressão quantitativa das variáveis pela caspase-3 para bócio colóide.

Número de Lâminas	Índice de Marcagem	Densidade Óptica
1	35,51%	65,71
2	46,72%	72,46
3	79,65%	79,59
4	31,50%	66,2
5	0,00%	0
6	63,13%	88,06
7	89,87%	99,24
8	49,92%	100,56
9	0,00%	0
10	0,00%	0
11	67,70%	60,47
12	13,98%	58,91
13	22,23%	31,34
14	17,44%	34,13
15	45,48%	75,86
16	71,92%	38,27
17	59,61%	71,32
18	51,74%	77,29
19	0,00%	0
20	70,09%	61,14
Média	40,82%	50,03

**Tabela 2** – Expressão quantitativa das variáveis pela caspase-3 para carcinoma papilífero

Número de Lâminas	Índice de Marcagem	Densidade Óptica
1	76,82%	82,06
2	95,50%	65,39
3	92,21%	67,22
4	69,81%	68,49
5	98,32%	55,49
6	81,85%	41,53
7	98,56%	83,6
8	91,88%	57,82
9	94,84%	65,65
10	97,21%	77,93
11	73,04%	45,04
12	65,88%	53,38
13	93,22%	67,74
14	93,62%	66,06
15	81,21%	61,48
16	85,91%	68,55
17	95,470%	75,71
Média	83,38%	64,57

índice de marcagem pela caspase-3, entre o bócio colóide e o carcinoma papilífero da tireóide é demonstrada na tabela 3.

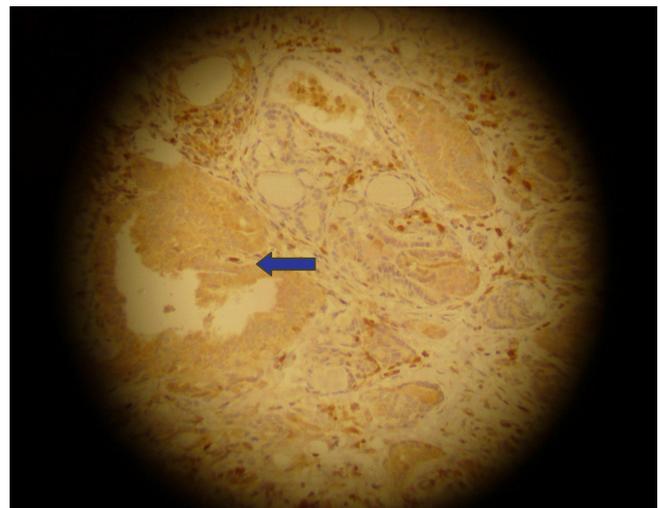
#### **Correlação da densidade óptica da caspase-3 entre o bócio colóide e o carcinoma papilífero da tireóide**

A correlação da média, mediana, valores mínimos, valores máximos e desvios- padrão da expressão da densidade óptica pela caspase-3 entre o bócio colóide e o carcinoma papilífero é demonstrada na tabela 4.

#### **Correlação das variáveis da caspase-3 para cada doença**

A correlação entre a densidade óptica e o índice de marcagem para a caspase-3, no bócio colóide, está demonstrada na figura 3.

A correlação entre a densidade óptica e o índice de marcagem para a caspase-3, no carcinoma papilífero, está demonstrada na figura 4.



**Figura 2** - Fotomicrografia, da lâmina do carcinoma papilífero da tireóide (aumento de 100x), com imunomarcagem para caspase-3, em castanho dourado.

Nota: Seta indica o citoplasma imunomarcado pela caspase-3.

**Tabela 3** - Correlação do índice de marcagem pela caspase-3 entre o bócio colóide e o carcinoma papilífero

Índice de Marcagem	Bócio Colóide	Carcinoma Papilífero
Número de lâminas	20	17
Média	40,82%	87,37%
Mediana	46,10%	92,21%
Valor mínimo	0%	65,88%
Valor máximo	89,87%	98,56%
Desvio padrão	28,98+/- %	10,62+/- %
Valor do p		<0,001

**Tabela 4** - Correlação da densidade óptica pela caspase-3 entre o bócio colóide e o carcinoma papilífero.

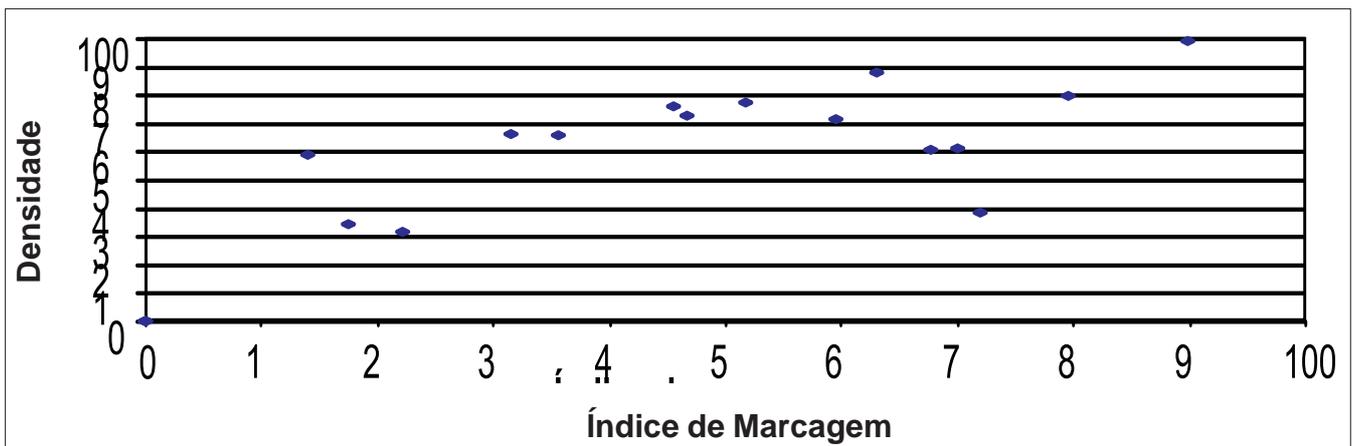
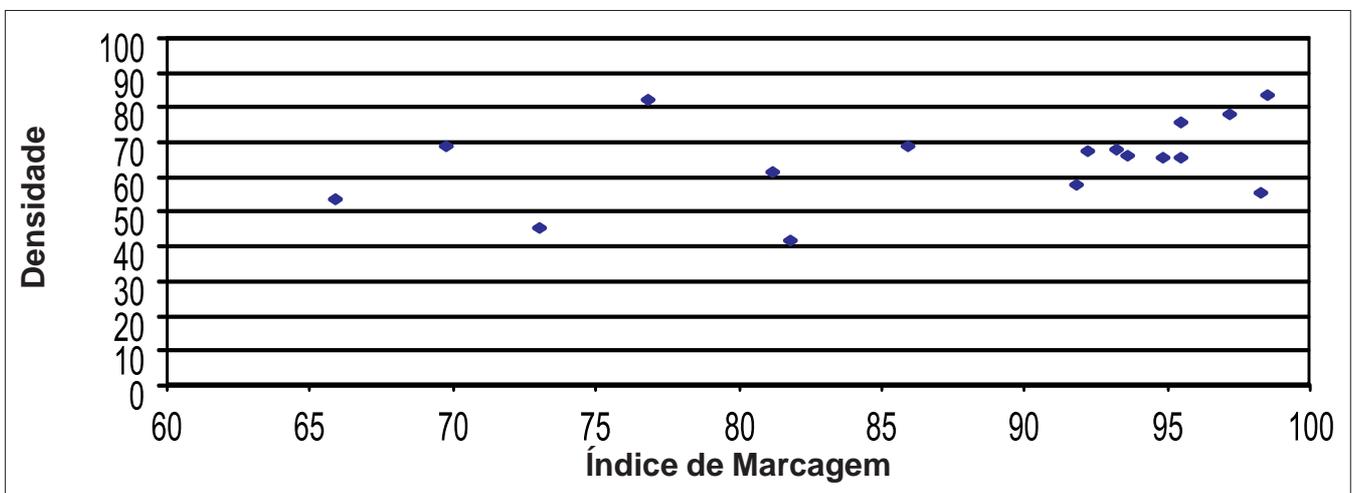
Densidade Óptica	Bócio Colóide	Carcinoma Papilífero
Número de lâminas	20	17
Média	54,03%	64,89%
Mediana	63,43%	66,06%
Valor mínimo	0%	41,53%
Valor máximo	100,56%	83,60%
Desvio padrão	33,18+/-	11,72+/-
Valor do p		0,598

## DISCUSSÃO

Na análise da frequência de normalidade apresentada pelo índice marcagem e densidade óptica no bócio colóide observou-se que o padrão apresentado em ambos foi anormal, demonstrando-se, dessa forma, a variabilidade de respostas apoptóticas. Assim, o padrão de anormalidade apresentado nas duas variáveis utilizadas demonstra que a resposta à apoptose ocorre com um padrão não homogêneo, com variabilidade nas respostas apoptóticas,

conforme descrito por El May *et al.*<sup>7</sup>. Esses autores referem a apoptose e a necrose como processos intrínsecos no desenvolvimento do bócio.

Brix *et al.*<sup>8</sup> relatam que o bócio colóide foi caracterizado por uma variação clínica, funcional e morfológica, sendo a razão de sua heterogeneidade desconhecida. Assim, o aumento do conhecimento das alterações moleculares pode ser usado como um objetivo adicional para diagnóstico e deve fornecer a base para novas estratégias terapêuticas.

**Figura 3** - Correlação das variáveis da caspase-3 no bócio colóide.**Figura 4** - Correlação das variáveis da caspase-3 no carcinoma papilífero.

Seguindo a análise do teste estatístico, houve a rejeição da hipótese nula ( $p < 0,001$ ), ou seja, pode-se afirmar que para o bócio colóide existe a associação positiva e significativa entre o índice de marcagem e a densidade óptica pela caspase-3.

Thomas *et al.*<sup>9</sup> descreveram o bócio colóide como um aumento da tireóide não associado ao hipertireoidismo ou hipotireoidismo e não resultante de processo inflamatório ou neoplasia. Isso corrobora o achado dos valores do índice de marcagem para a caspase-3 serem mais baixos quando comparados ao do carcinoma papilífero.

Na análise da frequência de normalidade apresentada pelo índice de marcagem e pela densidade óptica no carcinoma papilífero, observou-se que o padrão apresentado em ambos teve comportamento normal, fato esse que demonstra padrão homogêneo na sua resposta.

Neste tumor o coeficiente de correlação estimado entre o índice de marcagem e a densidade óptica da caspase-3 foi de 0,34; assim a análise estatística indicou a não rejeição da hipótese nula ( $p = 0,117$ ). Portanto, não se pode afirmar que para o carcinoma papilífero exista associação entre o índice de marcagem e a densidade óptica da caspase-3.

Existe correlação positiva entre a apoptose e a proliferação celular, associando-se com a piora do prognóstico em vários tipos de carcinomas. Mader *et al.*<sup>10</sup>, por exemplo, relataram que a apoptose por meio de suas proteínas indutoras, como a caspase-3, mostrou correlação positiva entre a expressão das mesmas com o tamanho da neoplasia, a presença de metástase e, conseqüentemente, pior prognóstico.

Rath *et al.*<sup>11</sup> analisaram drogas anticâncer, que exerciam efeito citotóxico induzindo a apoptose, pela atividade da caspase-3 em células com carcinoma da tireóide, à semelhança de Spalletti-Cernia *et al.*<sup>12</sup> que descreveram

as Rnases como indutoras da apoptose no tumor de tireóide, associadas com a atividade de caspase-8 e caspase-9, seguido pela ativação da caspase-3, demonstrando assim a importância desta no processo apoptótico no câncer da tireóide e à semelhança de Soung *et al.*<sup>13</sup> que relataram a observação de mutações nos carcinomas de diversos tecidos, como no gene CASP3 em tumores humanos, sugerindo a importância do gene que codifica a caspase-3 no processo cancerígeno.

A correlação da imunomarcagem pela caspase-3 através do percentual do índice de marcagem e a densidade óptica no bócio colóide e no carcinoma papilífero resultaram na diferença estatisticamente significativa entre o primeiro ( $p < 0,001$ ) e a não diferença significativa quanto ao segundo ( $p = 0,598$ ). Desta forma, pode-se afirmar que existe diferença significativa entre o bócio colóide e o carcinoma papilífero quanto ao índice de marcagem da caspase-3, os quais se apresentaram maiores nos carcinomas papilíferos da tireóide.

Correlacionando-se os dados estatísticos com a caspase-3, o estudo caracteriza que tanto o bócio colóide quanto o carcinoma papilífero da tireóide, apresentaram apoptose. Entretanto, a expressão no carcinoma é maior e mais homogênea do que no bócio, caracterizando maior grau de agressividade do carcinoma em relação ao bócio colóide. Este, por sua vez, apresentou comportamento heterogêneo e pouco proliferativo, demonstrando comportamento de baixa agressividade.

Com este estudo, pôde-se concluir que para o bócio colóide existe associação positiva e significativa entre as duas variáveis - índice de marcagem e a densidade óptica - da caspase-3, enquanto que para o carcinoma papilífero não existe associação entre elas. O estudo comparativo entre a análise quantitativa da caspase-3, demonstrou que a apoptose é mais evidente no carcinoma papilífero do que no bócio colóide.

## A B S T R A C T

**Objective:** To describe quantitative cytophotometric expression of the marker caspase-3 in colloid goiter and in papillary carcinoma of the thyroid, comparing the immunexpression between them. **Methods:** An immunohistochemistry study has been made on the protein caspase-3 in 17 of paraffin blocks of papillary carcinoma of the thyroid and 20 cases of colloid goiter, using SAMBA 4000 ® (System of Microscopic Analysis of Automatic Search), aiming analysis of the two variables: marker index and optical density.

**Results:** Statistic analysis indicated a significant difference for marker index between colloid goiter and papillary carcinoma, being this difference larger in the carcinoma. It hasn't been found significant difference in optical density. For colloid goiter, the estimated correlation coefficient between the marker index and optical density was 0,72, indicating the rejection of the null hypothesis ( $p < 0,001$ ), affirming that positive and significant association exists between them. For the papillary carcinoma of the thyroid, the same correlation was 0,34 and so, it is not possible to affirm that there's an association between them. **Conclusion:** For colloid goiter there is a positive and significant association between the two variables - marker index and optical density -, while for the papillary carcinoma, this is not proved. The quantitative analysis for caspase-3 demonstrates that apoptosis is larger in the papillary carcinoma of the thyroid than in colloid goiter.

**Key words:** Papillary carcinoma. Thyroid. Colloid goiter. Caspase-3. Immunohistochemistry.

## REFERÊNCIAS

1. Coeli CM, Brito AS, Barbosa FS, Ribeiro MG, Sieiro AP, Vaisman M. [Incidence and mortality from thyroid cancer in Brazil]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2005;49(4):503-9. Epub 2005 Oct 19.
2. Matsuo SE, Martins I, Leoni SG, Hajjar D, Ricarte-Filho JC, Ebina Kimura ET. Marcadores biológicos tireoideanos. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2004;48:115-25.
3. Bravo R, Frank R, Blundell PA, Macdonald-Bravo H. Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase- $\alpha$ . *Nature.* 1987;326:515-7.
4. Aebersold R, Anderson L, Caprioli R, Druker B, Hartwell L, Smith R. Perspective: a program to improve protein biomarker discovery for cancer. *J Proteome Res.* 2005;4(4):1104-9.
5. Canevari AR, Rogatto RS. Câncer de cabeça e pescoço. In: Ferreira CG, Rocha JC. *Oncologia molecular.* São Paulo: Atheneu; 2004. p. 198-200.
6. Kumar S. Mechanisms mediating caspase activation in cell death. *Cell Death Differ.* 1999;6(11):1060-6.
7. El May MV, Zekri S, Boubaker S, Ladgham A, El May A. Chronic iodine overload and apoptosis in cold nodules from endemic multinodular goiters. *Arch Inst Pasteur Tunis.* 2005;82(1-4):69-74.
8. Brix TH, Kyvik KO, Hegedüs L. Major role of genes in the etiology of simple goiter in females: a population-based twin study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(9):3071-5.
9. Thomas GA, Williams ED. A etiology of simple goiter. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1988;2(3):703-18.
10. Mader AMA, Patrício FRS, Rigueiro MP, Lourenço LG. Estudo clínico-patológico, da proliferação celular e da apoptose no adenocarcinoma gástrico da cárdia. *Arq Gastroenterol.* 2006;43(3): 184-90.
11. Rath GM, Schneider C, Dedieu S, Rothhut B, Soula-Rothhut M, Ghoneim C, Sid B, Morjani H, El Btaouri H, Martiny L. The C-terminal CD47/IAP-binding domain of thrombospondin-1 prevents camptothecin- and doxorubicin-induced apoptosis in human thyroid carcinoma cells. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1763(10): 1125-34.
12. Spalletti-Cernia D, Sorrentino R, Di Gaetano S, Arciello A, Garbi C, Piccoli R, D'Alessio G, Vecchio G, Laccetti P, Santoro M. Antineoplastic ribonucleases selectively kill thyroid carcinoma cells via caspase-mediated induction of apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(6): 2900-7.
13. Soung YH, Lee JW, Kim SY, Park WS, Nam SW, Lee JY, Yoo NJ, Lee SH. Somatic mutations of CASP3 gene in human cancers. *Hum Genet.* 2004;115:112-5.

Recebido em 15/09/2009

Aceito para publicação em 17/11/2009

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: nenhuma

### Como citar esse artigo:

Souza LRQ, Ribas-Filho JM, Malafaia O, Czezczko NG, Ribas CAP, Souza GD, Marinho Júnior CH. Expressão citofotométrica da caspase-3 no carcinoma papilífero da tireoide e no bócio colóide. *Rev Col Bras Cir.* [periódico na Internet] 2010; 37(5). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/rcbc>

### Endereço para correspondência:

Luciana Rodrigues Queiroz de Souza

E-mail: [ipem@evangelico.org.br](mailto:ipem@evangelico.org.br)