

EXPRESSÃO DA PROTEÍNA *p53* NA REPARAÇÃO DO DNA CORRELACIONANDO ONCOGENES EM HUMANOS.

EXPRESSION OF *p53* PROTEIN IN REPAIR OF DNA CORRELATING ONCOGENES IN HUMAN

¹MAGNONI, M. S.; ²FRANCISCO, O.

^{1e2}Departamento de Ciências Biológicas – Faculdades Integradas de Ourinhos FIO/FEMM

RESUMO

A proteína p53 é codificada pelo gene supressor de tumor *p53*, tendo uma importante função no ciclo celular, o qual consiste em reparar o DNA, quando ocorre alguma mutação nas bases da molécula. Quando não consegue completar o reparo, a proteína induz a célula mutada então à apoptose (Morte celular programada). O gene *p53* é encontrado mutado em mais de 50% dos casos de cânceres humanos, sendo que, caso a p53 não exerça a sua função, tal quadro evolui, atuando assim como um oncogene, ativando a expressão de outros genes e reações, influenciando no processo de carcinogênese. A proteína p53 é frequentemente encontrada em diversos tipos de cânceres como mama, colorretal e fígado. A técnica laboratorial mais utilizada para identificação da expressão da proteína p53 em tumores é a Imuno-histoquímica, mas outras técnicas também são utilizadas. Verificou-se que sexo, idade, e fatores ambientais não estão relacionados a expressão da proteína p53, mas as substâncias contidas no cigarro influenciam na expressão da proteína. Foi verificado também que fatores ambientais estão intimamente ligados à formação do câncer. A proteína p53 é vista como um fator de mau prognóstico para o câncer, e muitos estudos mostraram que ela está ligada também ao tratamento do mesmo. Verificou-se que o processo de expressão da proteína p53, assim como os dados de sua ocorrência podem estar correlacionados aos diversos tipos de cânceres, em quadros de oncogênese em humanos..

Palavras-chave: Expressão, proteína p53, Imuno-histoquímica.

ABSTRACT

The p53 protein is encoded by the tumor suppressor p53 gene, being very important to cell cycle function, which acts to repair DNA, when there is some change in bases of molecule. When can not complete the repair, this protein induces the cell to apoptosis (programmed cell death). The p53 gene is found mutating on over 50% of all human cancers, and if p53 does not exercise its function as disease progresses, thus acting as an oncogene, activating the expression of other genes and reactions, influencing process of carcinogenesis. The p53 protein is often found in various types of cancers like breast, colorectal and liver. The most widely used laboratory technique for identifying the expression of p53 protein in tumors is the Immunohistochemistry, but other techniques are also used. It was verified that sex, age, and environmental factors are not related to p53 protein, but the substances in cigarette influence on protein expression. It was also observed that environmental factors are closely correlating to formation of cancer. The p53 protein is seen as a poor prognostic factor for cancer and many studies. have shown that it is also linked to equal treatment. It was found that the process of p53 protein and the data can being correlated to various types of cancers, in humans oncogenesis cases with.

Keywords: Expression, p53, Immunohistochemistry.

INTRODUÇÃO

De uma forma geral, o conceito universal de célula consiste como uma unidade básica de todo ser vivo, sendo que para que um determinado organismo cresça, essas células precisam dividir-se. A divisão celular é conhecida como Mitose, sendo composta por diversas fases denominadas G1, S, G2 e M, havendo entre essas fases inúmeros eventos. (DE ROBERTIS, 2001).

No meio desses eventos, pode ocorrer provável mutação em nível de código genético, embora não ocorra com muita frequência. Tais mutações, são erros ocorrentes durante a replicação do DNA, mais precisamente nas bases da molécula. (KARP, 2005).

Quando tais mutações ocorrem, muitos genes são ativados para que o DNA seja reparado e a normalidade citogenética seja mantida. (THOMPSON, 2002).

Esses genes reparadores do DNA, geralmente são mutados nas células e produzem uma cascata de outras mutações e reações, fazendo com que as mesmas continuem a se dividir de maneira errada, dando origem a uma linhagem de células, as quais não respondem a maquinaria normal do organismo, formando aglomerados celulares anormais, os tumores, conhecidos como cânceres, sendo que esses tumores possuem a propriedade de invadir tecidos do organismo. (KARP, 2005).

Thompson (2002), ressaltou que o processo de formação de tumores começa apenas por uma célula somática em algum lugar do organismo.

No processo de oncogênese, inúmeros genes estão envolvidos em inúmeras atividades como, progressão de uma célula ao longo do ciclo celular, adesão de uma célula às suas vizinhas, apoptose e o reparo no dano do DNA. (KARP, 2005; THOMPSON, 2002).

A apoptose é a morte celular programada, a qual ocorre sem reação inflamatória, sendo diferente da necrose, sendo que sua função consiste em remover células de tecidos danificadas, envelhecidas, ou potencialmente perigosas como as células tumorais. (PINHO, 2000; DE ROBERTIS, 2001).

Os genes responsáveis pela apoptose e pelo reparo no DNA, são conhecidos como genes supressores de tumor. Esses genes, tem por função bloquear o desenvolvimento do tumor para que haja, crescimento celular normal. Com a mutação e a consequente perda da função da proteína codificada por esses genes, ocorre então uma divisão descontrolada, permitindo assim o crescimento anormal e indução a apoptose deficiente. (THOMPSON et.al., 2002).

Vulgarmente conhecido como Guardiã do Genoma, um dos genes supressores tumorais, mais estudados hoje em dia é o gene *p53*. Tal gene é considerado como de grande importância na gênese do câncer humano. (PINHO, 2000; KARP, 2005).

O gene *p53* está localizado no cromossomo 17 (17p.13.1), conforme citado por Klumb (2002), codificando uma fosfoproteína de 393 aminoácidos, foco de estudo deste trabalho.

O gene da proteína *p53*, tende a ser mutado em eventos tardios, sendo que sua mutação é ocorrente em cerca de mais de 50% dos casos de tumores humanos. A sua ausência é responsável por uma doença conhecida como Síndrome de Li-Fraumeni e as vítimas dessa doença estão acometidas a vários tipos de câncer como mama, cérebro e leucemia. (KARP, 2005).

Para que haja a mutação do gene *p53*, faz-se necessário que exista mutação em ambos os seus alelos, característica dos genes supressores tumorais, sendo que uma célula que está carregando o DNA mutado falha e assim, não é eliminada. (THOMPSON, 2002).

Conforme citam Rocha et al. (2004), o gene *p53*, codifica uma proteína chamada de proteína supressora de tumor *p53*, de peso 53 kDa, derivando daí seu nome, cuja função está associada ao de seu gene, que é preservar a integridade genômica, para que durante a mitose seja preservada a mesma sequência de nucleotídeos de toda molécula de DNA ao longo do ciclo celular.

Quando ocorre uma mutação no gene, a proteína *p53* então torna-se não funcional e colabora para desencadear uma instabilidade genética, iniciando desta forma a transformação maligna. (FELIN et.al., 2008).

A p53 pode levar uma célula à apoptose no final das fases G1 ou G2. (FORONES et. al. 2005).

De acordo com De Robertis (2001), a p53 controla o estado do DNA antes que a célula entre para a fase S do ciclo celular.

A proteína p53 tem a capacidade de por si só ligar a seqüências específicas de DNA, sendo como um fator de transcrição que controla de forma positiva e negativa a expressão de diversos genes, envolvidos em várias vias celulares, e também atuando na apoptose. (KLUMB; CAVALCANTI-JUNIOR, 2002).

Quando ocorre a mutação do gene *p53*, a proteína age então como um oncogene, que além de modificar suas características funcionais, aumenta também sua meia vida, podendo durar até duas horas. (SIROMA; BARACAT, 2006).

A proteína p53 é comumente encontrada em diversos tipos de câncer, sendo mais freqüentes o Câncer de mama, de fígado, e colorretal. Alguns estudos de Parise Júnior (2004), mostraram a expressão de p53 em prognóstico no carcinoma de cabeça e pescoço, mas ainda existem controvérsias a seu respeito e a sua função, nesses tumores.

Devido a maior estabilidade de degradação, a proteína p53 mutada, apresenta maior tempo de degradação sendo muito fácil identificar sua expressão em tecidos através de técnicas Imuno-histoquímicas. Assim, quando o gene *p53* é ativado a mesma ativa outros genes e outras proteínas e vice-versa, tanto na reparação do DNA e indução a apoptose quanto no processo de carcinogênese. (PRIOLLI et. al., 2008).

Conforme Karp (2005), a proteína p53 atua como um fator de transcrição, precisa estar ligada a um gene chamado *Bax*, cujo produto codificado inicia a apoptose.

O nível de concentração de gene *p53* na fase G1 do ciclo celular é muito baixo, mas se a célula entra em contato com fatores cancerígenos o nível dessa concentração aumenta rapidamente, havendo assim uma diminuição na degradação da proteína. A degradação da proteína é realizada com a expressão de uma outra proteína chamada de MDM-2, onde a p53 se liga à ela, e vai para o

citosol onde é destruída, assim o tumor tem mais uma chance de se proliferar, ficando também mais resistente as drogas quimioterápicas e a radiação, porque o gene não vai encaminhar a célula mutada para apoptose, ficando resistente a um novo tratamento. (KARP, 2005).

Em relação a ação de outras proteínas atuando em conjunto com p53, Felin (2008), notou que em Adenocarcinomas Intestinais, uma enzima denominada Cox-2 atua junto com p53, onde a mesma inibe a transcrição de tal enzima, sugerindo que o p53 é um determinante para a expressão de Cox-2, que por sua vez pode gerar efeitos na proliferação celular e no prognóstico aumentando o potencial de ocorrer metástases com algumas células destes adenocarcinomas.

Em câncer gástrico e intestinal e metaplasia, existe também o gene *Bcl-2* que codifica uma proteína a KD26, o qual é conhecido como um inibidor da apoptose, podendo ser uma célula generalizada na morte de genes supressores de tumor. A expressão de *Bcl-2* é um mecanismo pela qual células podem escapar da apoptose por p53. (FORONES et al., 2005).

Verificando a incidência de expressão de proteína p53, uma das maiores incidências ocorre no câncer de mama, o qual configura como o segundo tipo mais frequente e o primeiro a causar óbitos entre mulheres. A super expressão de p53 está relacionada em muitos estudos com o pior prognóstico para sobrevida livre da doença global. (SIROMA; BARACAT, 2006).

De acordo com Almeida (2004), a associação de proteína p53 com o grau nuclear e o proto-oncogene HER-2/neu, são fatores associados a proliferação celular e o prognóstico do carcinoma de mama.

O câncer colorretal ocupa a quarta posição entre mortes causadas por câncer e seu prognóstico também está relacionado com a expressão de p53, onde exista o gene mutado de 60 a 80% dos casos descritos por Prolli et.al. (2008). Por outro lado Pinho (2000), ressaltou que a mutação da proteína p53 em tumores retais, traz recidivas no local pela radioterapia pré-operatória e anticorpos séricos anti-p53 estão relacionados com uma menor resposta tumoral à quimioterapia.

No carcinoma hepatocelular, a ocorrência da mutação em p53, ocorre devido à presença de uma toxina que causa intoxicação alimentar a Aflatoxina B1,

a mutação ocorre na terceira base do códon 249, na base G → T. (PANNAIN, 2004; GRIFFTHIS, 2002).

Esse é um dos poucos estudos que discutem a influência de fatores ambientais ligados a mutação de p53. Griffthis (2002) também mostrou que os raios UV causam mutação em p53 nas bases CC → TT, nos cânceres de pele.

Em osteoblastomas, tumores de glândulas salivares, a incidência de expressão de p53 existe mais é encontrada em baixas concentrações. (OLIVEIRA, 2007; SOUZA, 2005).

Existem várias técnicas para se identificar a proteína p53 como PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), Imuno-histoquímica e *Microarray*, mas o PCR é uma técnica relativamente cara e demorada, sendo a Imuno-histoquímica uma técnica de fácil acesso e com o mesmo grau de precisão em diagnóstico. (KLUMB e CAVALCANTI JUNIOR 2002; PRIOLLI 2008).

A técnica de *microarray* consiste numa técnica que permite o estudo da expressão de vários genes obtidos numa mesma amostra de tecido. (PRIOLLI, 2008).

A técnica de Imuno-histoquímica compreende numa técnica barata e de diagnóstico preciso. O método da IH consiste na eliminação da parafina dos cortes, exposição antigênica em panela de pressão ou forno de microondas, seguindo por marcação com o Anticorpo Monoclonal (AcMo) e revelação. A IH tem suas limitações e a ausência de marcação não significa ausência de alteração da proteína (falso negativo). Inversamente, o acúmulo da proteína não é sinônimo de mutação. A ausência de expressão da proteína pode ocorrer em virtude de condições adversas de fixação do tecido diminuindo a sensibilidade da técnica. (KLUMB; CAVALCANTI- JUNIOR, 2002).

O anticorpo monoclonal mais utilizado na técnica de Imuno-histoquímica, é o Ac de camundongo anti-p53, clone DO7, na diluição 1:100. (MENEZES et. al., 2006).

A variação da expressão de p53 varia com o anticorpo usado. (LOPES et. al., 2005).

O objetivo do presente trabalho, consistiu em compreender a relação entre gene p53 e proteína supressora de tumor p53, estabelecendo a relação entre proteína supressora de tumor e oncogenes. Também buscou entender a diferença entre proteína supressora de tumor p53 reparadora do DNA e expressão da proteína mutada, assim como o entendimento das novas técnicas laboratoriais para identificação da proteína em tumores.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho de pesquisa foi realizado no Hospital do Câncer A. C. Camargo, na cidade de São Paulo, em 27 de Julho de 2009, a fim de descrever a função e a expressão da proteína p53,

Assim, o presente trabalho foi realizado por meio de dados notificados junto à biblioteca de dados do hospital, onde estão arquivados as pesquisas realizadas em laboratório pelo próprio hospital ou conveniadas a eles.

Desta forma, foram coletados os seguintes dados, sendo: 6 (seis) dissertações de Mestrado, 4 (quatro) Teses de Doutorado, e 6 (seis) artigos científicos totalizando 15 (quinze) trabalhos, todos relacionados à expressão da proteína p53 em diversos tipos de câncer. Também foram pesquisados os tipos de tumores estudados na pesquisa e se os mesmos conferem com a incidência apresentada na Introdução deste trabalho e sua relação com a proteína p53, assim as técnicas laboratoriais mais freqüentemente utilizadas para identificar a proteína p53, com seus respectivos anticorpos utilizados na identificação e também se fatores ambientais estão de fato relacionados com a expressão da proteína, ou se sua expressão é um defeito apenas genético, ocorrido ao nível de DNA, os tipos de mutações freqüentes que ocorrem em p53, a freqüência de casos positivos para p53 nos tumores estudados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados foram retirados de trabalhos relacionados aos seguintes tipos de câncer: Câncer de mama, vesícula biliar, de boca, leucemia, câncer de cabeça e pescoço, linfomas, melanomas, câncer de útero, tireóide, e bexiga.

Assim como Klumb e Cavalcanti Junior et. al. (2002), utilizaram em seus estudos a técnica de Imuno-histoquímica (IH), quatorze dos dezesseis trabalhos analisados aqui, também a utilizaram em larga escala.

A técnica de IH, se subdivide em várias técnicas como: Streptavidina-biotina-peroxidase (usada em 8 trabalhos), APAAP (um trabalho), Imunoperoxidase Convencional em conjunto com IH com Amplificação de Sinais (usada em apenas um trabalho), e ABC-Peroxidase (um trabalho).

As outras técnicas utilizadas foram a técnica de *Microarray*, PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), Citometria de Fluxo em conjunto com Imunocitoquímica, no trabalho estudado verificou que essas técnicas são as mais aptas a identificar a expressão de p53 nas leucemias.

O anticorpo monoclonal (AcMo) mais utilizado foi anti-p53 de camundongo, clone DO7, e a diluição variou bastante entre os trabalhos analisados (1:50, 1:100, 1:4000, 1:10).

Em relação aos anticorpos utilizados, assim como Lopes et.al. (2005), verificou-se que os resultados de expressão de p53 realmente variam com o anticorpo utilizado.

As mutações em p53 verificadas nos estudos, são dos tipos *missense* e *nonsense*, e a *missense* obteve uma coloração positiva para p53, sendo mais freqüente que a *nonsense* em tumores positivos para p53.

Na técnica de IH o núcleo das células positivas para a expressão de p53 se coram de castanho e marrom, como observada na figura a seguir (Ex.: Figura 1.)

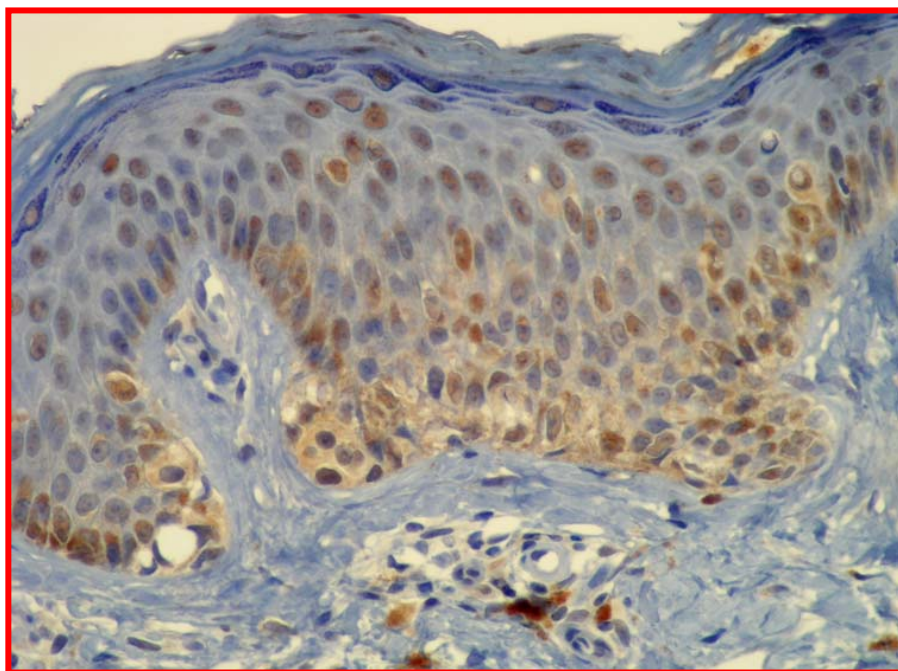


Figura 1: Melanoma *in situ* as células coradas em marrom são positivas para expressão de proteína p53, através da técnica de IH (Streptavidina-biotina peroxidase).

A mutação *missense* ocorre quando há uma troca de nucleotídeo e conseqüentemente ocorre alteração da expressão da proteína p53. Já a mutação *nonsense* ocorre quando há deleções de porções do gene ou inserção de nucleotídeos. (KLUMB; CAVALCANTI – JÚNIOR, 2002).

De acordo com Karp et. al. (2005), foi verificado também que a frequência de positividade para p53 em diversos tipos de tumores, foi maior que 50% na maioria dos casos, como 58% de positividade de p53 no câncer de tireóide, 57,1% em carcinoma *in situ* da boca, 83,1% em câncer de mama, 67,7% em câncer da bexiga, 91% para melanomas, 55% em câncer de cabeça e pescoço, 86,7% para câncer de visícula biliar, 50% em neoplasias intra-epitelial vulvar, 70% no colorretal.

Pode-se verificar que Idade, sexo, raça e fatores ambientais não influenciam no processo de expressão de p53, mas sim na carcinogênese, diferente do que Griffthis (2002), verificou que a Aflatoxina B1, e os raios Ultravioleta, causam mutação no gene *p53* nos pares de base G→T, e CC→TT, respectivamente, exceto o cigarro no estudo de câncer de boca que obteve, a

superexpressão de p53 altamente correlativa com o hábito de fumar, sendo que o cigarro contém 60 substâncias carcinogênicas.

Em um estudo relacionando expressão de p53 e tratamento quimioterápico, foi verificado que a quimioterapia modificou a expressão de p53 em 20%, sendo que a quimioterapia pode ter seu efeito influenciado pelo p53, mas ainda há contradições sobre a associação entre p53 e quimioterapia. (PINHO, 2002).

Em estudos relacionando a expressão de p53 em câncer de mama em estágios avançados, e quimioterapia o que foi verificado foi uma baixa resposta à quimioterapia.

Foi detectado também que a expressão de proteína p53 é mais ocorrente em tumores sólidos do que tecidos liquefeitos, como leucemia e linfomas, ocorrentes no sangue e na circulação linfática

CONCLUSÃO

Com o presente trabalho, foi descrito o processo de expressão da proteína p53, assim como foram levantados os dados de sua ocorrência. Também, pôde ser verificado que a associação de expressão de proteína p53 e os tipos de cânceres onde a mesma foi localizada. A p53 é um fator de mau prognóstico e quando encontrada está associada as piores taxas de sobrevivência dos pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, O. J.; ZEFERINO, L.C.; ALVARENGA, M.; SOUZA, G.A.; PINTO, G.A.; CESTARI, A.L.O. Carcinoma ductal *in situ* associado a carcinoma invasivo na mesma mama: análise do grau nuclear e da expressão das proteínas p53 e C-erbB-2 e dos receptores de estrógeno; **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**; v. 26; n. 6; p. 435 – 439., 2004.
- DE ROBERTIS, E. M. F. ; HIB, J. **Base da Biologia Celular e Molecular**; 2ª Edição; Rio de Janeiro; Guanabara Koogan; 418p.
- FELIN, C. R.; ROCHA, A. B.; FELIN I. P. D., REGNER, A., GRIVICICH, I. Expressão das proteínas p53 e Cox-2 em Adenocarcinoma Intestinal e Mucosa Adjacente; **Revista Brasileira de Coloproctologia**, v.28, n.1; p. 19-25., 2008.

- FELIN, I. P. D. Expressão de p53, p16 E COX-2 em carcinoma escamoso de esôfago e associação histopatológica; **Arquivos de Gastroenterologia**; v. 45; n. 4; p. 308 – 312., 2008.
- FORONES, N. M. ; CARVALHO, A. P. S. ; GIANNOTTI-FILHO, O. ; LOURENÇO, L. G. ; OJIMA, L. T. F. Cell proliferation and apoptosis in gastric cancer and intestinal metaplasia; **Arquivos de Gastroenterologia**; v. 42, n.1; p. 30-34.; 2005.
- GRIFFITHS, A. J. F.; MILLER, J. H.; SUZUKI, D. T.; LEWONTEM, R. C.; GILBART, W. M. **Introdução à Genética**; 7ª Edição; Rio de Janeiro; 2002; Guanabara Koogan; 794p.
- KARP, G. **Biologia Celular e Molecular – Conceitos e Experimentos**; 3ª Edição; São Paulo; 2005; Manole; 786p.
- KLUMB, C. E.; CAVALCANTI JUNIOR, G.B. Avaliação dos métodos de detecção das alterações do gene e proteína p53 nas neoplasias linfóides; **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**; v. 24; n. 2; p. 115- 125., 2002.
- LOPES, C. V.; PEREIRA-LIMA, J.C.; HARTMANN, A. A.; TONELOTTO, E.; SALGADO, K. O critério de positividade para a análise imuno-histoquímica da p53 na confirmação da displasia do Esôfago de Barret faz diferença? ; **Arquivo de Gastroenterologia**; v. 42,n. 4; p. 233-238.; 2005.
- MARTINEZ, C. A. R., PRIOLLI, D. G.; CARDINALLI, I. A.; PEREIRA, J. A.; PORTES, A. V.; MARGARIDO, N. F. Influência da localização do tumor na expressão tecidual da proteína p53 em doentes com câncer colorretal. Estudo de 100 casos; **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**; v. 35, n.4; p. 235-243., 2008.
- MENEZES, M. V. ; OLIVEIRA, A. L. C. ; ALMEIDA, O. ; ALVARENGA, M. ; PINTO, G. A. ; GURGEL, M. S. ; SOUZA, G. A. ; ZEFERINO, L. C. Protein expression of c-erbB-2 and p53 in normal ducts, ductal carcinoma *in situ* and invasive carcinoma of the same breast; **Jornal de Médicos de São Paulo**; v.124; n. 3; p. 121-124.; 2006.
- OLIVEIRA, C. R. G. C. M. ; MENDONÇA, B. B. ; CAMARGO, H. P. ; NASCIMENTO, S. A. B. ; LATORRE, M. R. D. O. ; ZERBINI, M. C. N. Classical osteoblastoma, atypical osteoblastoma and osteosarcoma: a comparative study base don clinical, hystological, and biological parameters; **Clínicas**; v.62; n. 2; p. 167-174.; 2007.
- PANNAIN, V. L. N.; BOTTINO, A. C.; SANTOS, R. T. M.; COELHO, H. S. M.; RIBEIRO-FILHO, J.; ALVES, V. A. F. Detecção Imuno-histoquímica das oncoproteínas p21, c-myc e p53 no carcinoma hepatocelular e no tecido hepático não-neoplásico; **Arquivo de Gastroenterologia**, v. 41, n.4; p. 225-228.; 2004.
- PARISE – JUNIOR, O. ; CARVALHO, L. V. ; MIGUEL, R. E. V. ; KOWALSKI, L . P. Prognostic impact of p53, c-erbB-2 and epidermal growth factor receptor on head and neck carcinoma; **Jornal de Médicos de São Paulo**; v.122, n. 6; p. 264-268.; 2004.
- PINHO, M. S. L.; Proteína p53: Algum valor clínico ou apenas pesquisa? Uma Revisão da Literatura; **Revista Brasileira de Coloproctologia**; v. 20; n. 4; p. 258 – 260., 2000.
- ROCHA, F. T. R.; LOURENÇO, L.G.; LEAL, A.T.; PAZ, A.M.D.C. Expressão da proteína p53 no adenocarcinoma gástrico: correlação clínica, anatomopatológica e

significância prognostica; **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**; v. 31; n. 3; p. 186-193., 2004.

SILVA-FILHO, A. L., SILVA, L. B., TRAIMAN, P., CASTRO E SILVA, J. G.; TRIGINELLI, S. A. Associação entre a expressão das proteínas p53 e Ki-67 e os achados clínico-patológicos em pacientes com carcinoma invasor do colo uterino; **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.27, n.5, p.243-247., 2005.

SIROMA, M. S.; BARACAT, F. F. Associação entre a presença da proteína p53 e o grau de diferenciação em carcinomas ductais invasivos da mama; **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.28, n.5; p. 298-303., 2006.

SOUZA, K. C. N.; FARIA, P. R.; CARDOSO, S. V.; DIB, L. L.; LOYOLA, A. M. Expressão imuno-histoquímica de p53 na discriminação do comportamento biológico dos tumores de glândulas salivares; **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**; v. 41, n. 3; p. 189-195.; 2005.