



IV Mostra de Pesquisa  
da Pós-Graduação  
PUCRS

## **EXPRESSÃO DIFERENCIAL DO FATOR TECIDUAL NO ADENOCARCINOMA COLO-RETAL POR REAÇÃO DA CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (RT-PCR).**

Norlai Alves Azevedo, Vinicius Duval da Silva, (orientador) Co-orientador Eraldo Batista Junior

*Programa de pos-graduacao em Medicina e Ciências da Saude , Faculdade de Medicina PUCRS, Área de  
concentração Clínica Médica*

### **Resumo**

#### **Introdução**

O presente estudo tem como objetivo geral avaliar a expressão diferencial do fator tecidual (Tissue Factor, ou TF) e angiogênese no adenocarcinoma colo-retal, utilizando técnica de quantificação de RNAm por RT-PCR para avaliação da proteína fator tecidual, e contagem de vasos por anticorpo CD34. Objetivos específicos: Relacionar a expressão do fator tecidual com a densidade microvascular dos tumores colo-retais; Correlacionar a expressão do fator tecidual e angiogênese com variáveis demográficas e patológicas.

#### **Metodologia**

Este estudo caracteriza-se por ser uma pesquisa clínica do tipo transversal.

Será desenvolvida no laboratório de Anatomia Patológica do HSL-PUCRS (preparo do material e isolamento do RNAm), as análises por Técnica de Reação em Cadeia de Polimerase serão realizadas no Centro de Pesquisas em Biologia Molecular e Funcional (CP-BMF) sito no TECNOPUC. A amostra já teve analisados os dados clínicos e anátomo-patológicas de 43 pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma do cólon e reto. Neste estudo serão analisados dados anátomo-patológicos e de acompanhamento clínico de blocos de parafina de 15 pacientes (dos 43 já estudados), guiada de tecido neoplásico e de morfologia normal de cada amostra (controles) e de biópsias de cólon de tecido colônico de 15 pacientes sem neoplasias colo-retal (controles externos), realizadas de março de 2007 a março de 2008 no mesmo serviço. **Crítérios de inclusão** Serão incluídos no estudo aqueles

indivíduos submetidos exclusivamente a ressecções intestinais com ou sem anastomose associada, seguindo padrões oncológicos terapêuticos e não paliativos. Os pacientes seguiram acompanhamento clínico, laboratorial e endoscópico no Serviço de Colo-proctologia do Hospital São Lucas da PUCRS, sendo os casos de recidivas tumorais documentados por exame físico, provas laboratoriais (provas de função hepática, marcadores tumorais ou testes específicos do órgão afetado), testes de imagem (ecografia, tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética) e seguimento clínico do desfecho final (óbito ou resolução).

**Critérios de exclusão** Serão excluídos pacientes de cirurgia sem intenção curativa; outras neoplasias concomitantes ou história de tumores prévios; terapia neo-adjuvante (quimio e radioterapia); pacientes cujos dados não possam ser completamente revisados; impossibilidade do estadiamento clínico.

**Critérios de exclusão de controles** pacientes com história clínica e/ou diagnóstico de adenoma ou doença inflamatória intestinal.

**Material e Método** para análise das variáveis principais do estudo (expressão do fator tecidual e densidade microvascular), através da Técnica de Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real (RT – PCR) serão utilizados espécimes dos tumores colorretais armazenados no Laboratório de Anatomia Patológica do HSL-PUCRS sob a forma de blocos de parafina.

**Análise estatística.** Para um  $\alpha = 0,05$  e poder estatístico de 80% e supondo proporção de expressão do fator tecidual em controles (livres de Ca de cólon) não superior a 35% e proporção de expressão de Fator Tecidual (FT) em casos de 85% foi estimado um tamanho de amostra total de **blocos de parafina de 15 pacientes e 15 controles da margem cirúrgica e 15 pacientes livres de tumor colo-retal**. O presente estudo foi apresentado aos Comitês de Ética e de Pesquisa do Hospital São Lucas da PUCRS previamente ao início da coleta dos dados, tendo obtido autorização de ambos para sua realização (Ofícios 373/08-PG e 04165/08-CEP).

## **Resultados**

Estudos imunoistoquímicos realizados em um trabalho anterior dos primeiros vinte espécimes tiveram expressão de fator tecidual em 17 amostras. Esperamos que este dado se confirme pela técnica de RT-PCR.

## **Conclusão**

Frente à frequência e a intensidade da expressão do FT no adenocarcinoma colo-retal, abrem-se inúmeras perspectivas de estudo tanto na avaliação da fisiopatologia da progressão dos

tumores em combinação com a cascata da coagulação, como na possibilidade de novas abordagens terapêuticas, o que será avaliado a partir dos resultados do projeto agora proposto.

### **Referências**

Instituto Nacional do Câncer – Ministério da Saúde do Brasil. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil – 2007. [http:// www.inca.org.br](http://www.inca.org.br), setembro de 2007.

Philips R, Hittinger R, Blesovsky L. Large bowel cancer: surgical pathology and its relationship to survival. Br J Surg 1984; 71:604-17.

Bustin, S.A. (2000). Absolute quantification of Mrna using real-time reverse Transcription polymerase chain reaction assays. J. Mol Endocrinol, 25, 169-193.

Wong, M.L. & Medrano, J. F. (2005). Real - Time PCR for m RNA quantitation Biotechnology, 39, 75-85.

Livak, K. J. & Schmittgen, T.D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real – time quantitative PCR and the 2 ( -Delta Delta C(T) Method. Methods, 25, 402-408.