

Correlação entre as expressões de P-caderina e de receptores de estrógeno no câncer da mama

Recebido em 17/01/02
Aceito para publicação em 05/02/02

Correlation between P-cadherin and estrogen receptor expression in breast cancer

Joana Cancela de Amorim Falcão Paredes¹
Maria Fernanda Grillo Milanezi²
Jorge Sérgio Reis-Filho²
Dina Raquel Aguilera Leitão³
Daniel Abensur Athanazio⁴
Fernando Carlos de Landér Schmitt⁵

unitermos	resumo
P-caderina Receptores de estrógeno Carcinomas invasivos da mama	<p>Introdução: A manutenção da arquitetura dos tecidos adultos depende essencialmente da integridade estrutural e funcional das caderinas, uma superfamília de moléculas de adesão celular dependentes de cálcio, que medeiam normalmente a adesão intercelular homofílica e homotípica. A P-caderina é expressa pelas células mioepiteliais da glândula mamária normal, sendo aberrantemente expressa num pequeno subgrupo de carcinomas da mama. Vários estudos recentes têm demonstrado que a expressão desta proteína está significativamente correlacionada com tumores de alto grau histológico e negativos para os receptores de estrógeno (RE). Objetivos: Investigar a expressão da P-caderina e dos receptores de estrógeno (RE) em carcinomas da mama invasivos e correlacionar os resultados obtidos. Material e método: O padrão de expressão da P-caderina e dos RE foi estudado imunoistoquimicamente em 149 carcinomas invasivos da mama; seguidamente, correlacionou-se estatisticamente a expressão destas duas proteínas. Resultados: A P-caderina foi detectada nas células mioepiteliais do tecido mamário normal e em 46 de 146 (31,5%) casos de carcinoma invasivo da mama. A expressão da P-caderina correlacionou-se inversamente com a expressão dos RE, verificando-se que o subgrupo de tumores P-caderina positivos e RE negativos apresentava alto grau histológico e maior agressividade tumoral. Conclusão: Demonstrou-se que a P-caderina identifica um subgrupo de carcinomas da mama, que não expressa RE e que parece representar um estado mais avançado da progressão tumoral. Estes resultados levantam ainda a hipótese de que a expressão desta proteína possa ser regulada por uma via alternativa, independente de estrógeno.</p>

Rio de Janeiro, v. 38, n. 4, p. 307-313, 2002

307

Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial

abstract

Background: The maintenance of adult tissue architecture largely depends on structural and functional integrity of cadherins, a superfamily of Ca²⁺-dependent cell-cell adhesion molecules that usually mediate homophilic and homotypic intercellular adhesion. P-cadherin is expressed by myoepithelial cells of normal breast tissue, and is aberrantly expressed in a subset of breast carcinomas. In addition, recent studies have demonstrated that the expression of this protein in breast cancer is significantly correlated with high histological grade and negativity for estrogen receptors (ER). Objectives: To investigate the expression of P-cadherin and ER in invasive breast carcinomas and correlate the obtained results. Material and methods: The expression pattern of P-cadherin and ER was immunohistochemically studied in 149 invasive carcinomas of the breast; subsequently, the statistic correlation between ER and P-cadherin immunophenotypes was assessed. Results: P-cadherin was detected in myoepithelial cells of normal breast tissue and in 46 out of 146 (31.5%) cases of invasive breast carcinomas. P-cadherin expression showed a high inverse correlation with ER expression, and it was observed that the subset of P-cadherin positive and ER negative tumours were related to higher histological grade and more aggressive behaviour. Conclusion: We demonstrated that P-cadherin identifies a subgroup of breast carcinomas, which lacks ER expression, and that seems to represent an advanced step of cancer progression. Our data suggests the hypothesis that an alternative estrogen independent pathway regulates P-cadherin expression.

key words

P-cadherin
Estrogen receptor
Invasive breast carcinomas

1. Estudante de doutoramento no Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (Ipatimup), Portugal.
 2. Patologista no Ipatimup.
 3. Técnica superior no Ipatimup.
 4. Médico estagiário em Anatomia Patológica no Hospital Universitário Professor Edgar Santos, Salvador-BA.
 5. Professor de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto e diretor da Unidade de Prestação de Serviços no Ipatimup.
- Este trabalho foi realizado no Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto - Porto, Portugal.

Introdução

O reconhecimento de um papel importante das caderinas na determinação do fenótipo epitelial, na migração e diferenciação celular, e na disseminação tumoral tem estimulado um enorme interesse nesta família de moléculas de adesão. As caderinas clássicas, como a E-(epitelial) e a P-(placentária) caderina, encontram-se preferencialmente localizadas nas junções intercelulares, do tipo aderente, partilhando uma estrutura básica comum, mas apresentando diferentes pesos moleculares, especificidade de ligação e distribuição tecidual.

A P-caderina é expressa por uma grande variedade de tecidos durante a embriogênese, estando principalmente restrita às camadas basais e proliferativas dos epitélios estratificados nos tecidos adultos (7, 11, 21). Na glândula mamária normal, esta proteína é expressa apenas nas células mioepiteliais e nas *cap cells* (putativas células-tronco da glândula mamária), enquanto que a E-caderina é expressa tanto pelas células mioepiteliais como pelas células luminais (5).

O papel da E-caderina na carcinogênese mamária tem sido extensivamente estudado nos últimos anos; os resultados disponíveis sugerem uma correlação entre a perda ou redução da E-caderina e a progressão neoplásica (12). Pelo contrário, como poucos estudos têm sido realizados acerca da P-caderina, a expressão e o papel desta proteína no desenvolvimento tumoral ainda não estão completamente estabelecidos.

Nos últimos cinco anos, alguns estudos têm demonstrado que a P-caderina é expressa aberrantemente num subgrupo de carcinomas da mama, e que esta expressão se correlaciona significativamente com a negatividade para os RE nestes mesmos tumores.

Em 1995, um artigo de Palacios *et al.* (12) demonstrou a expressão de P-caderina em 20% (9/45) dos carcinomas ductais infiltrantes estudados, correlacionando-se significativamente esta expressão com um elevado grau histológico (todos os casos eram tumores grau III), e com a ausência de receptores hormonais (oito dos nove casos eram negativos para RE e para receptores de progesterona [RP]) num subgrupo de tumores com um padrão de crescimento característico. Mais tarde, em 1999, Peralta Soler *et al.* (14) observaram que a expressão da P-caderina em carcinomas da mama estava fortemente associada com uma pior sobrevida para os doentes, constituindo um fator de prognóstico independente, relativamente a todos os outros fatores preditivos analisados. Também neste es-

tudo em carcinomas ductais invasivos, a positividade da P-caderina correlacionou-se com um elevado grau histológico e inversamente com a expressão de RE e RP. Recentemente, outro estudo também em carcinomas ductais invasivos (Gamallo *et al.*) (8) demonstrou que, embora a expressão da P-caderina possa estar envolvida na progressão deste tipo de carcinoma, o seu valor como fator de prognóstico independente tem que ser reavaliado. Entretanto, neste estudo, mais uma vez a expressão da P-caderina relacionou-se significativamente com a negatividade para os RE ($p = 0,0001$) e para os RP ($p = 0,0001$). Finalmente, o nosso grupo demonstrou recentemente que a expressão da P-caderina em carcinomas ductais *in situ* da mama (DCIS) está igualmente correlacionada com elevado grau histológico, perda da polaridade celular e ausência de RE (13).

A expressão aberrante da P-caderina nos carcinomas de mama tem sido explicada como um reflexo da histogênese, a partir da diferenciação de uma célula precursora num fenótipo mioepitelial (14), ou pela aquisição, pelas células tumorais (8, 12, 20), de uma capacidade proliferativa ou mesmo devido a um fenómeno oncofetal (12, 20). No entanto, embora ainda não se conheça o mecanismo que induz a expressão da P-caderina em carcinomas da mama, todos estes estudos têm demonstrado uma correlação fortemente significativa entre a expressão desta proteína e a negatividade para os receptores hormonais (8, 12, 13, 14).

A superexpressão de P-caderina em células tumorais negativas para RE sugere que a expressão desta proteína provavelmente é regulada por uma via independente de hormônios, ao contrário do que acontece com outras caderinas, cuja expressão é regulada por estrógenos (1, 8).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi comparar grupos moleculares, classificados pela sua expressão de P-caderina e RE, em carcinomas invasivos de mama, e observar se existe ou não uma possível ligação entre a expressão da P-caderina e a via de transdução de sinais mediada pelo estrógeno.

Material e métodos

Material

Este estudo foi realizado em 149 casos de carcinoma da mama fixados em formol e incluídos em parafina, selecionados do arquivo do nosso instituto. Todos os casos foram classificados e graduados em secções histológicas coradas por

hematoxilina e eosina (HE), de acordo com os critérios de Bloom e Richardson modificados por Elston & Ellis (1991) (6) para carcinomas invasivos. Vinte e um casos (14,1%) foram classificados como carcinomas grau I, 44 (29,5%) como grau II e 84 (56,4%) como grau III.

Os resultados da expressão de um marcador de proliferação celular, o MIB-1, obtidos num estudo anterior com esta mesma série de casos, encontravam-se disponíveis. Os casos foram então divididos em três grupos: baixa proliferação (< 10% de células positivas), proliferação moderada (10% a 20% de células positivas) e proliferação elevada (> 20% de células positivas).

Imunoistoquímica

Os estudos de imunoistoquímica foram realizados em secções representativas, através de métodos *standard*. Cortaram-se secções de 3µm dos blocos de parafina, e procedeu-se à sua desparafinação e hidratação. A peroxidase endógena foi bloqueada com peróxido de hidrogênio a 3% em metanol, durante 10 minutos. Seguidamente, as lâminas foram submetidas ao bloqueio protéico com um soro específico (Ultravision block, LabVision Corporation, Fremont, CA, USA) e incubadas com o anticorpo monoclonal para a P-caderina (clone 56, Transduction Laboratories, Lexington, Ky., USA). A coloração foi realizada num sistema automático, LabVision Autostainer (Lab Vision Corporation, Fremont, CA, USA), utilizando protocolos padronizados, com uma diluição de 1:25 de anticorpo primário e o método de estreptavidina-biotina-peroxidase. A recuperação antigénica foi realizada por um tratamento com tampão citrato 10µM, pH 6 (Dako Corporation, Carpinteria, Calif., USA), a 100°C, durante 30 minutos. Seguidamente, as lâminas foram contrastadas com hematoxilina de Mayer, desidratadas e montadas.

Para o anticorpo de receptores de estrógeno (diluição 1:20, clone 6F11, Novocastra, Newcastle, England), as lâminas foram submersas na mesma solução para recuperação antigénica a 100°C, durante 20 minutos, tendo sido a coloração também realizada no mesmo sistema automático.

Os controlos positivos e negativos foram sempre incluídos em cada corrida, de modo a permitir fidelidade entre corridas consecutivas. Secções de parafina de tecido mamário normal foram utilizadas como controle positivo para a P-caderina, uma vez que as células mioepiteliais são positivas para esta proteína.

Em três casos não obtivemos resultados de imunoistoquímica para a P-caderina, uma vez que já não existia mais tecido neoplásico disponível no bloco.

Quantificação e análise estatística dos resultados da imunoistoquímica

Todos os casos que mostraram uma coloração membranar inequívoca para a P-caderina, em pelo menos 10% das células neoplásicas, foram considerados positivos. Casos apresentando exclusivamente imunorreatividade citoplasmática não foram considerados. A interpretação dos resultados imunoistoquímicos baseou-se numa avaliação semiquantitativa, a qual não incluiu a intensidade de coloração, como previamente descrito (13).

A interpretação da expressão dos RE foi baseada numa avaliação semiquantitativa da intensidade (moderada/forte) e da extensão (<1/3 a 2/3 e >2/3 de células neoplásicas) da coloração, como descrito em estudos prévios (17, 19).

Para a análise estatística, os carcinomas de mama foram subclassificados em casos com ou sem expressão de P-caderina. Uma vez que a sua expressão é apenas observada nas células mioepiteliais da glândula mamária normal, qualquer nível de expressão da P-caderina deve ser considerado anormal e aberrante nos carcinomas de mama.

Os carcinomas invasivos foram divididos em quatro grupos principais, baseados na expressão de P-caderina e RE. Tabelas de contingência e o teste do χ -quadrado foram realizados utilizando-se o *software* StatView 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA), de modo a estimar a correlação entre a expressão de P-caderina e de RE. Dois valores foram considerados significativamente diferentes quando $p < 0,05$.

Resultados

No tecido mamário normal, a expressão da P-caderina foi observada apenas nas células mioepiteliais (**Figura 1**), aparecendo uma coloração membranar linear em redor das células. Quarenta e seis (46) dos 146 casos analisados (31,5%) (**Tabela 1**) demonstraram uma coloração membranar para a P-caderina, normalmente associada a uma expressão citoplasmática, por vezes focalmente distribuída (**Figura 2**).

Trinta (30) dos 46 casos positivos para a P-caderina (65,2%) eram negativos para os RE, demonstrando uma forte correlação inversa entre estas proteínas. Esta correlação foi confirmada pelo teste do χ -quadrado ($p < 0,0001$), sendo estatisticamente significativa (Tabela 1).

Foi encontrada também uma correlação significativa entre a expressão de P-caderina e o grau histológico, uma vez

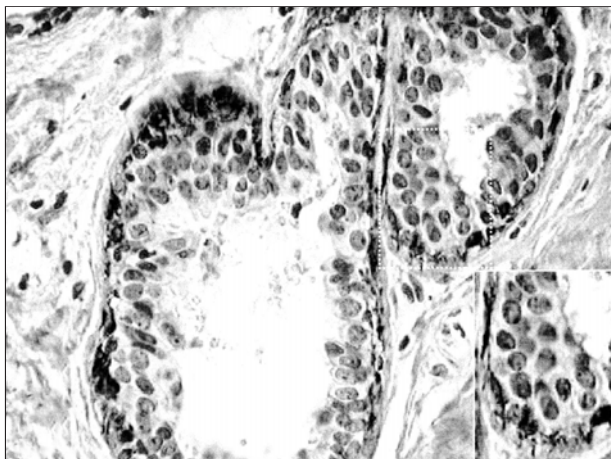


Figura 1 – Padrão de expressão membranar da P-caderina no tecido mamário normal (células mioepiteliais) (400x)

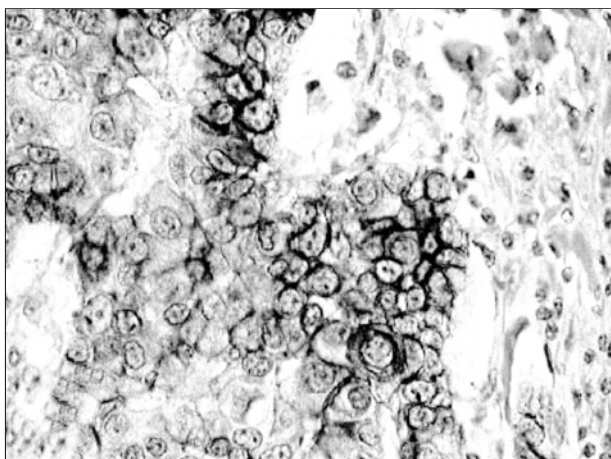


Figura 2 – Expressão da P-caderina num carcinoma invasivo da mama de alto grau histológico (grau III) (400x)

que a maioria dos casos com reatividade para a P-caderina eram carcinomas grau III (36/46; 78,3%; $p = 0,0021$) e com uma elevada taxa de proliferação, estimada pela expressão de MIB-1 (27/46; 58,7%; $p = 0,0002$) (Tabela 1). Estes tumores positivos para a P-caderina foram essencialmente carcinomas ductais invasivos e carcinomas medulares, embora não se tenha encontrado uma diferença com significado estatístico para o tipo histológico do tumor.

Para avaliar uma possível associação entre a expressão da P-caderina, a regulação mediada por estrógenos e a agressividade tumoral, decidimos agrupar os carcinomas invasivos em quatro grupos, com base na expressão de P-caderina e RE. Sendo assim, 30 casos formaram o grupo de tumores P-caderina positivos/RE negativos (P-cad+/RE-); 16 casos, o grupo P-cad+/RE+; 80 casos, o grupo P-cad-/RE+; e 20 casos, o grupo P-cad-/RE-.

O grupo de tumores P-caderina positivos e RE negativos apresentaram um grau histológico mais elevado do que todos os outros grupos (25/30; 83,3%; $p = 0,0118$)

Correlação entre a expressão da P-caderina e outros parâmetros, como a expressão de receptores de estrógeno (RE), grau histológico e níveis de expressão de MIB-1

Tabela 1

n	P-caderina		p
	Positiva 46	Negativa 100	
Expressão de RE			
Positiva	16	80	< 0,0001
Negativa	30	20	
Grau histológico			
I	2	18	0,0021
II	8	34	
III	36	48	
Expressão de MIB-1			
Baixa (< 10%)	4	40	0,0002
Moderada (10% a 20%)	15	26	
Elevada (> 20%)	27	31	

(Tabela 2, Figura 3). Se analisarmos a Figura 3, embora observemos esta mesma distribuição nos grupos P-cad+/RE+ e P-cad-/RE-, a diferença não foi significativa, demonstrando assim que a combinação da positividade para a P-caderina e da negatividade para os RE permite selecionar os tumores mais agressivos. Este grupo também se relacionou significativamente com elevados níveis de proliferação (20/30; 66,7%; $p < 0,0001$) (Tabela 2).

Quando relacionamos os diferentes subgrupos com o tipo histológico, verificamos que a maioria dos casos era de carcinomas ductais invasivos sem outra especificação em todos os grupos, não havendo por isso correlação com significado estatístico; no entanto, no caso dos tumores P-caderina positivos e RE negativos, verificou-se que também existia um pequeno número de carcinomas do tipo medular, enquanto que no subgrupo de tumores P-caderina negativos e RE positivos se encontraram tumores de todos os tipos histológicos.

Discussão

Existem várias evidências que demonstram que a expressão de moléculas restritas do mioepitélio da glândula mamária normal, como a P-caderina, podem ser expressas aberrantemente em carcinomas da mama e estão correlacionadas com a ausência de RE, agressividade e mau prognóstico (8, 9, 10, 12, 13, 14, 25).

Tabela 2

Comparação entre os diferentes tumores, classificados de acordo com a expressão de P-caderina e RE, relativamente ao grau histológico e aos níveis de proliferação, estimados pela expressão de MIB-1

n	P-cad+/RE-	P-cad-/RE+	P-cad+/RE+	P-cad-/RE-	p
Grau histológico					
I	1	16	1	2	0,0118
II	4	29	4	5	
III	25	35	11	13	
Expressão de MIB-1					
Baixa (< 10%)	3	35	1	5	< 0,0001
Moderada (10% a 20%)	7	24	8	2	
Elevada (> 20%)	20	18	7	13	

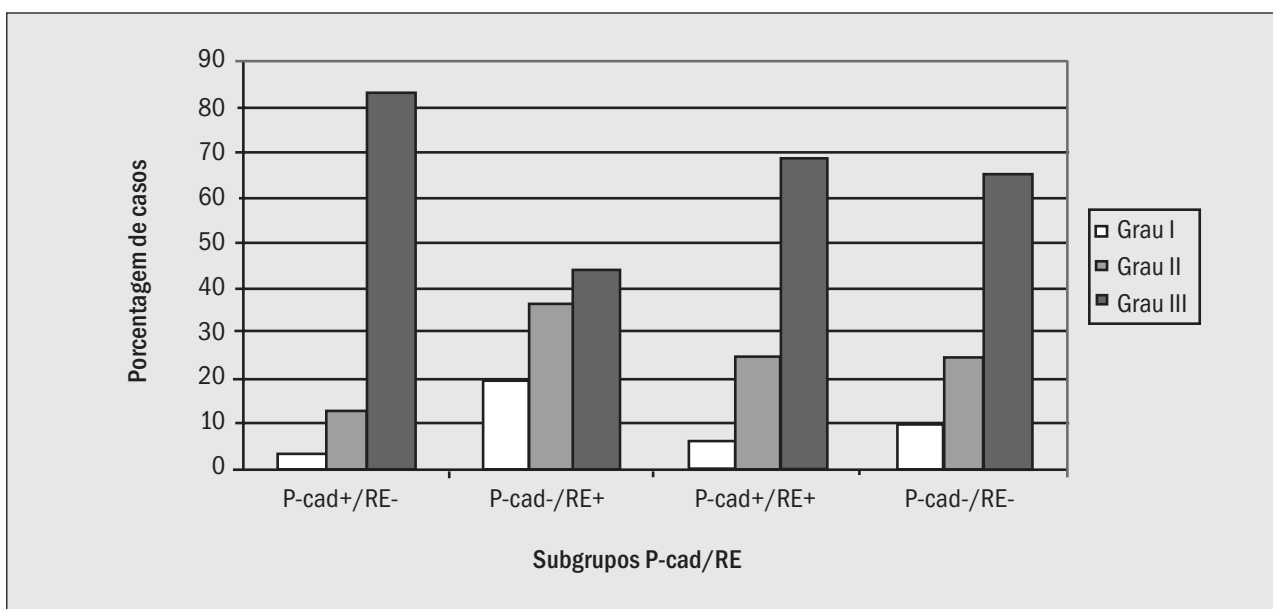


Figura 3 – Comparação entre os vários subgrupos de carcinomas da mama invasivos, classificados de acordo com a expressão de P-cad/RE, relativamente ao grau histológico

Num estudo prévio, o nosso grupo demonstrou que em hiperplasias da mama (com ou sem atipia), os casos RE positivos tinham maior taxa de proliferação do que os casos negativos para os RE. Contrariamente, em carcinomas ductais (*in situ* e invasivos), os casos RE negativos apresentavam taxas de proliferação maiores do que os casos RE positivos, sugerindo que a progressão do câncer da mama é acompanhada por uma via independente de hormônios (18).

A P-caderina é sempre expressa em células que necessitam se dividir e se manter num estado indiferenciado, uma vez que esta, ao contrário da E-caderina, proporciona uma adesão menos estável entre as células, favorecen-

do a proliferação celular (26). Este fato é facilmente observável nas camadas basais e proliferativas dos epitélios estratificados que, em condições fisiológicas, expressam intensamente P-caderina (5, 7, 12, 20). Interessantemente, em outros estudos, a expressão da P-caderina tem sido relacionada com a desregulação da E-caderina (12), a qual possui um papel supressor de crescimento no epitélio normal (24).

Neste estudo, demonstramos que o grupo de carcinomas da mama que não expressam RE e que são positivos para a P-caderina está correlacionado com características tumorais mais agressivas. Estes tumores são frequentemente de alto grau histológico, ao contrário dos tumores

P-cad-/RE+, que são preferencialmente tumores graus I e II. Relativamente às taxas de proliferação celular, os tumores negativos para os RE apresentaram valores muito superiores de expressão do marcador MIB-1, quando comparados com os tumores dependentes de regulação hormonal.

Sendo assim, uma vez que já foi demonstrado que o estrógeno é capaz de estimular a expressão da E-caderina *in vivo* (1), o nosso estudo permite levantar a hipótese de que provavelmente a expressão da P-caderina em carcinomas da mama está relacionada com um fenótipo insensível a hormônios circulantes, como foi sugerido recentemente por Gamallo *et al.* em carcinomas ductais invasivos da mama (8) e por Peralta Soler *et al.* no câncer da próstata (23).

Cada vez existem mais evidências de que o modelo linear da patogênese mamária deve ser alterado e modificado, uma vez que devem existir vias genéticas completamente distintas, que podem originar tipos diferentes de neoplasias da mama (2). Provavelmente, alguns tumores originam-se a partir de um crescimento epitelial dependente de estrógeno, enquanto outros, que não possuem

RE e expressam P-caderina, apresentam um crescimento autônomo, por ativação de uma via alternativa independente de hormônios esteróides. Esta via pode assim representar o estado mais avançado da progressão do câncer da mama, sendo completamente insensível aos efeitos do estrógeno e independente das vias que induzem o aparecimento de outros tipos de tumores mamários menos agressivos.

Conclusão

Em conclusão, sugerimos que a P-caderina identifica um grupo de carcinomas da mama que não expressam RE e que são predominantemente de alto grau histológico, com níveis de proliferação elevados e com um comportamento tumoral mais agressivo.

Os padrões distintos de expressão da E-caderina e da P-caderina, que têm sido observados em vários estudos recentes, têm sugerido um papel diferencial para estas caderinas na carcinogênese mamária, as quais podem ser reguladas por vias celulares completamente opostas.

Referências

- Blaschuk, O.W. & Farookhi, R. Estradiol stimulates cadherin expression in rat granulosa cells. *Dev. Biol.*, 136(2): 564-7, 1989.
- Buerger, H. *et al.* Ductal invasive G2 and G3 carcinomas of the breast are the end stages of at least two different lines of genetic evolution. *J. Pathol.*, 194(2): 165-70, 2001.
- Dairkee, S.H. *et al.* Immunolocalization of a human basal epithelium specific keratin in benign and malignant breast disease. *Breast Cancer Res. Treat.*, 10(1): 11-20, 1987.
- Dall, P. *et al.* Comparison of immunohistochemistry and RT-PCR for detection of CD44v-expression, a new prognostic factor in human breast cancer. *Int. J. Cancer*, 60(4): 471-7, 1995.
- Daniel, C.W.; Strickland, P. & Friedmann, Y. Expression and functional role of E- and P-cadherins in mouse mammary ductal morphogenesis and growth. *Dev. Biol.*, 169(2): 511-9, 1995.
- Elston, C.W. & Ellis, I.O. Pathological prognostic factors in breast cancer: I-The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*, 19(5): 403-10, 1991.
- Fujita, M. *et al.* Expression of cadherin cell adhesion molecules during human skin development: morphogenesis of epidermis, hair follicles and eccrine sweat ducts. *Arch. Dermatol. Res.*, 284(3): 159-66, 1992.
- Gamallo, C. *et al.* The prognostic significance of P-cadherin in infiltrating ductal breast carcinoma. *Mod. Pathol.*, 14(7): 650-4, 2001.
- Koutselini, H. *et al.* Relationship of epidermal growth factor receptor (EGFR), proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and vimentin expression and various prognostic factors in breast cancer patients. *Cytopathology*, 6(1): 14-21, 1995.
- Malzahn, K. *et al.* Biological and prognostic significance of stratified epithelial cytokeratins in infiltrating ductal breast carcinomas. *Virchows Arch.*, 433(2): 119-29, 1998.
- Nose, A. & Takeichi, M. A novel cadherin cell adhesion molecule: its expression patterns associated with implantation and organogenesis of mouse embryos. *J. Cell. Biol.*, 103(6 Pt 2): 2649-58, 1986.
- Palacios, J. *et al.* Anomalous expression of P-cadherin in breast carcinoma. Correlation with E-cadherin expression and pathological features. *Am. J. Pathol.*, 146(3): 605-12, 1995.
- Paredes, J. *et al.* P-cadherin expression is associated with high-grade ductal carcinoma *in situ* of the breast. *Virchows Arch.*, 440: 16-21, 2002.
- Peralta Soler, A. *et al.* P-cadherin expression in breast carcinoma indicates poor survival. *Cancer*, 86(7): 1263-72, 1999.
- Perou, C.M. *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 406(6797): 747-52, 2000.
- Sahin, A.A. Biologic and clinical significance of HER-2/neu (c-erbB-2) in breast cancer. *Adv. Anat. Pathol.*, 7(3): 158-66, 2000.

17. Sannino, P. & Shousha, S. Demonstration of oestrogen receptors in paraffin wax sections of breast carcinoma using the monoclonal antibody ID5 and microwave oven processing. *J. Clin. Pathol.*, 47(1): 90-2, 1994.
18. Schmitt, F.C. Multistep progression from an oestrogen-dependent growth towards an autonomous growth in breast carcinogenesis. *Eur. J. Cancer.*, 31(12): 2049-52, 1995.
19. Schmitt, F.C.; Bento, M.J. & Amendoeira, I. Estimation of estrogen receptor content in fine-needle aspirates from breast cancer using the monoclonal antibody ID5 and microwave oven processing: correlation with paraffin embedded and frozen sections determinations. *Diagn. Cytopathol.*, 13(4): 347-51, 1995.
20. Shimoyama, Y. & Hirohashi, S. Expression of E- and P-cadherin in gastric carcinomas. *Cancer Res.*, 51(8): 2185-92, 1991.
21. Shimoyama, Y. et al. Cadherin cell-adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas. *Cancer Res.*, 49(8): 2128-33, 1989.
22. Silverstein, M.J. et al. A prognostic index for ductal carcinoma *in situ* of the breast. *Cancer*, 77(11): 2267-74, 1996.
23. Soler, A.P. et al. Expression of P-cadherin identifies prostate-specific-antigen-negative cells in epithelial tissues of male sexual accessory organs and in prostatic carcinomas. Implications for prostate cancer biology. *Am. J. Pathol.*, 151(2): 471-8, 1997.
24. Takahashi, K. & Suzuki, K. Density-dependent inhibition of growth involves prevention of EGF receptor activation by E-cadherin-mediated cell-cell adhesion. *Exp. Cell Res.*, 226(1): 214-22, 1996.
25. Tsuda, H. et al. Large, central acellular zones indicating myoepithelial tumor differentiation in high-grade invasive ductal carcinomas as markers of predisposition to lung and brain metastases. *Am. J. Surg. Pathol.*, 24(2): 197-202, 2000.
26. Wu, J.C.; Gregory, C.W. & De Philip, R.M. P-cadherin and E-cadherin are co-expressed in MDCK cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 195(3): 1329-35, 1993.

Endereço para correspondência

Fernando Schmitt
Instituto de Patologia e Imunologia Molecular
da Universidade do Porto (Ipatimup)
Rua Roberto Frias s/n, 4200 Porto, Portugal
Tel.: +351-22-5570700
Fax: +351-22-5570799
e-mail: fernando.schmitt@ipatimup.pt