

Tamires Goneli Wichert Teodoro

**Estudo Imuno-histoquímico da Expressão de RAD51 e BRCA2 no Carcinoma  
Prostático Canino**

Relatório de Pós-doutorado realizado na  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de  
Mesquita Filho” (UNESP), Faculdade de  
Medicina Veterinária, Botucatu

Supervisor(a): Dra Renee Laufer-Amorim

CAPES PRINT -88887.892026/2023-00

Botucatu

2026

## RESUMO

O presente estudo teve como objetivo caracterizar a expressão das proteínas BRCA2 e RAD51 em carcinoma prostático canino, bem como compará-la com tecidos prostáticos normais, por meio de técnicas histopatológicas e imuno-histoquímicas. Foram utilizadas 29 amostras de próstata canina, incluindo 10 tecidos normais e 19 casos de carcinoma prostático, processadas em formalina e incluídas em parafina. A confirmação diagnóstica e a classificação histopatológica foram realizadas em cortes corados por Hematoxilina e Eosina. Posteriormente, as amostras foram submetidas à imuno-histoquímica utilizando anticorpos específicos para BRCA2 e RAD51.

A análise imuno-histoquímica foi realizada por microscopia óptica, com registro fotográfico de campos representativos e avaliação da área de marcação e do número de células imunopositivas. A expressão proteica foi comparada entre tecidos neoplásicos e não neoplásicos, sendo os dados submetidos à análise estatística descritiva e inferencial. Os resultados demonstraram diferenças na expressão de BRCA2 e RAD51 entre os grupos estudados, sugerindo participação dessas proteínas na biologia do carcinoma prostático canino.

O estudo reforça o potencial dessas proteínas como marcadores moleculares associados ao reparo de DNA e à carcinogênese prostática em cães, contribuindo para a compreensão dos mecanismos tumorais e possíveis aplicações diagnósticas e prognósticas.

**Palavras chaves:** Carcinoma prostático canino; BRCA2; RAD51; oncologia; recombinação homóloga

## **1.Introdução**

O câncer de próstata é o terceiro tipo de câncer mais frequente em homens em todo o mundo e está se tornando a neoplasia maligna não cutânea mais comum que os afeta (Siegel et al., 2019). Segundo relatos, mais de 40% dos homens idosos apresentavam câncer de próstata ao serem autopsiados. No entanto, menos de 9% dos indivíduos terão um tumor prostático detectado em vida ou morrerão em decorrência dessa neoplasia (Landis et al., 1999).

Entre as espécies mamíferas, a ocorrência espontânea de carcinoma prostático (CP) foi relatada em cães (Nascente et al., 2022). O CP é comumente observado em cães idosos, com idade média ao diagnóstico de dez anos (Cornell et al., 2000). O adenocarcinoma prostático e o carcinoma urotelial (de células transicionais) são os tipos mais comuns, originando-se dos ácinos prostáticos e da uretra, respectivamente (Smith et al., 2008).

Embora a prevalência de carcinoma prostático em cães seja baixa, inferior a 0,6% em estudos de necropsia (Weaver, 1981), esse tumor apresenta diversas características semelhantes às observadas em humanos (Waters et al., 1996). Assim como nos humanos, o câncer de próstata ocorre com maior frequência em cães idosos, sendo comum a extensão tumoral para além da próstata, bem como a ocorrência de metástases pulmonares e ósseas (Bell et al., 1991; Leav & Ling, 1968).

Os diagnósticos de neoplasia prostática são muito menos frequentes em cães (0,35%) do que em humanos (Lloyd et al., 2015; Schrank & Romagnoli, 2020; Weaver, 1981). Essa discrepância pode estar relacionada a diversos fatores, como a falta de detecção precoce de casos subclínicos, a dificuldade na realização de biópsias em animais assintomáticos e possíveis erros diagnósticos, especialmente quando metástases avançadas na coluna lombar e/ou pelve se manifestam como dor nos membros posteriores e ataxia (Leav & Ling, 1968; LeRoy & Northrup, 2009).

O diagnóstico em cães baseia-se, principalmente, nos sinais clínicos. Uma próstata aumentada, complexa e irregular à palpação retal é o achado mais comum.

Linfonodos aumentados na região sublombar também podem estar presentes. Além disso, uma massa pode ser palpada caudalmente à bexiga caso o tumor tenha se estendido para a cavidade abdominal. Uma bexiga dolorosa, distendida e firme pode indicar obstrução uretral (Bell et al., 1991; Cornell et al., 2000).

O CP canino apresenta diversas características histológicas importantes para o diagnóstico e compreensão da biologia tumoral. Muitos desses padrões também são observados na próstata humana, incluindo fibroplasia mucinosa, metaplasia escamosa e invasão perineural e linfática (Bell et al., 1991; Humphrey, 2007; Palmieri et al., 2014).

As características histológicas típicas incluem a destruição da arquitetura glandular. A invasão linfática e vascular é frequentemente observada (Palmieri et al., 2019), estando associada a neoplasias agressivas e pouco diferenciadas, com metástases para fígado, pulmões e, especialmente, ossos (Laufer-Amorim et al., 2019). O carcinoma prostático canino apresenta elevada heterogeneidade morfológica, com diferenciação glandular variável, o que dificulta sua classificação histopatológica (Cornell et al., 2000; Lai et al., 2008).

Existem informações limitadas sobre métodos eficazes de tratamento para o CP canino, uma vez que a doença apresenta prognóstico reservado e poucos avanços foram alcançados no seu manejo (Gibson & Culp, 2024). Os objetivos do tratamento são, em geral, paliativos, visando aliviar os sinais clínicos e retardar a progressão da doença, preservando a qualidade de vida do animal (Bennett et al., 2018; Ravicini et al., 2018). Um aumento na sobrevida foi observado em cães submetidos à prostatectomia associada ao uso adjuvante de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e/ou quimioterapia (Bennett et al., 2018).

A castração, seja química ou cirúrgica, promove atrofia e involução apenas das porções não neoplásicas da próstata (Johnston et al., 2000). O uso de AINEs e/ou quimioterapia pode aumentar o tempo médio de sobrevida; no entanto, o prognóstico permanece desfavorável, com sobrevida média de aproximadamente 106 dias (Ravicini

et al., 2018). O carcinoma prostático espontâneo é uma doença multifatorial e complexa, associada a altas taxas de morbidade e mortalidade (Barbieri et al., 2012a).

Dessa forma, o diagnóstico definitivo requer uma abordagem abrangente, incluindo exame físico, exames de imagem, avaliação citopatológica e análise histopatológica. As opções terapêuticas incluem abordagens locais, como prostatectomia e radioterapia, além de terapias sistêmicas; contudo, os resultados em termos de sobrevida ainda são insatisfatórios (Gibson & Culp, 2024). Diferentemente dos humanos, os cães geralmente são diagnosticados em estágios avançados da doença, o que contribui para o prognóstico desfavorável e a curta sobrevida (Nascente et al., 2022). A ausência de métodos eficazes de triagem e a limitação de terapias baseadas em mecanismos andrógeno-dependentes contribuem para esse cenário (Christensen et al., 2019).

A caracterização genômica do câncer de próstata é complexa (Barbieri et al., 2012b). A identificação de perfis genômicos dos subtipos tumorais tem aprimorado a capacidade de prever a resposta ao tratamento e o prognóstico clínico (Schoenborn et al., 2013). Avanços na biologia molecular possibilitaram o estudo de oncogenes e genes supressores tumorais, consolidando essa área como central na compreensão da carcinogênese. Esses avanços também permitiram a identificação de genes e proteínas como potenciais marcadores biológicos (Kumar et al., 2018).

Os genes BRCA1 e BRCA2 regulam a expressão da RAD51, uma proteína essencial nos mecanismos de reparo de danos ao DNA (Venkitaraman, 2002). A proteína BRCA2 participa da recombinação homóloga, interagindo com a recombinase RAD51 por meio das repetições BRC (Roy et al., 2012). Os níveis de expressão da RAD51 podem atuar como moduladores importantes em contextos de deficiência de BRCA2 (Brown & Holt, 2009).

Mutações em BRCA1/2 estão associadas ao aumento do risco de câncer de mama e ovário em mulheres (Kuchenbaecker et al., 2017; Miki et al., 1994). Em homens, essas mutações também foram relacionadas a melanomas, câncer de pâncreas e câncer

de próstata (Castro et al., 2013; Holter et al., 2015; Wong et al., 2019). Mutações germinativas em BRCA2 conferem maior risco para câncer de próstata em comparação às mutações em BRCA1 (Edwards et al., 2003; Kote-Jarai et al., 2011).

A expressão alterada da RAD51, tanto aumentada quanto reduzida, está associada a pior prognóstico em câncer de mama humano, sendo considerada um potencial marcador tumoral (Maacke et al., 2000). Seu papel na carcinogênese de tumores mamários caninos ainda não está completamente elucidado (Nieto et al., 2003), embora já tenha sido demonstrado aumento de sua expressão em carcinomas mamários (Lisby et al., 2003).

Em melanomas metastáticos humanos, observa-se regulação positiva da RAD51 (Makino et al., 2020). Em osteossarcoma humano, sua superexpressão tem sido associada à resistência terapêutica, sugerindo que o silenciamento desse gene possa representar uma estratégia terapêutica promissora (Du et al., 2011). Assim, a RAD51 é considerada um alvo potencial no tratamento de diversos tipos de câncer, motivando o desenvolvimento de novos inibidores e estudos clínicos futuros (Takai et al., 2011).

O principal objetivo deste estudo é caracterizar a expressão das proteínas BRCA2 e RAD51 em amostras de carcinoma prostático canino por meio de técnicas imuno-histoquímicas. Essas expressões serão comparadas às de próstatas caninas não afetadas, com o intuito de avaliar seu potencial como marcadores preditivos. Espera-se que essa abordagem contribua para uma melhor compreensão das alterações genéticas envolvidas e suas associações com a agressividade tumoral. Além disso, o estudo busca aprofundar a caracterização do papel do gene BRCA2 no carcinoma prostático canino, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias diagnósticas e prognósticas mais eficazes.

## **2.Objetivos**

O presente estudo tem como objetivo principal caracterizar a expressão das proteínas BRCA2 e RAD51 em amostras de carcinoma prostático canino, por meio da

técnica de imuno-histoquímica, visando contribuir para a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na carcinogênese prostática nessa espécie.

Para isso, busca-se inicialmente confirmar o diagnóstico das amostras por meio de avaliação histopatológica, bem como realizar a classificação dos tumores de acordo com critérios estabelecidos na literatura. Além disso, pretende-se analisar comparativamente tecidos prostáticos neoplásicos e não neoplásicos, a fim de identificar possíveis diferenças na expressão dessas proteínas.

No âmbito da análise imuno-histoquímica, o estudo tem como objetivo avaliar a presença e a intensidade da imunomarcção para BRCA2 e RAD51, bem como determinar a localização celular dessa expressão (membrana, citoplasma ou núcleo). Adicionalmente, busca-se quantificar a proporção de células imunopositivas nas amostras analisadas.

Por fim, pretende-se realizar análise estatística dos dados obtidos, comparando a expressão das proteínas entre os grupos estudados, com o intuito de investigar o potencial de BRCA2 e RAD51 como possíveis marcadores preditivos no carcinoma prostático canino e sua associação com alterações neoplásicas.

### **3. Materiais e Métodos**

#### **3.1. Coleta de amostras de carcinoma prostático canino**

Foram utilizadas 17 amostras fixadas em formalina a 10% e incluídas em parafina. Para confirmação diagnóstica, cortes histológicos com espessura de 3 µm foram realizados em micrótomo automático (Leica 2155, Wetzlar, Alemanha) e, após desparafinização, as lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (Merk, Darmstadt, Alemanha) para posterior análise em microscópio de luz (Leica, Wetzlar, Alemanha). A classificação histopatológica dos tumores foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos por Palmieri et al. (2019).

Amostras prostáticas com lesões foram obtidas de 10 animais, fixadas em formalina, processadas para histopatologia e incluídas em parafina. As análises foram conduzidas com base nas características histológicas das amostras com epitélio glandular normal.

### 3.2. Imuno-histoquímica

As amostras foram fixadas em formalina tamponada a 10%, desidratadas, incluídas em parafina e seccionadas a uma espessura de 3 µm. Os cortes foram montados em lâminas eletricamente carregadas (Sigma, código A-3648), desparafinados em xilol e reidratados por meio de gradientes alcoólicos. A recuperação antigênica foi realizada em tampão citrato 10 mM, em banho-maria a 95 °C por 50 minutos, mantendo-se as lâminas em temperatura ambiente no mesmo tampão após esse período.

Após lavagem em água corrente por 10 minutos e enxágue em água destilada, bloqueou-se a peroxidase endógena com solução de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 30% diluída em metanol (50 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 50 mL de metanol), por 30 minutos. As lâminas foram então lavadas em tampão TRIS (pH 7,4) e incubadas com os anticorpos primários BRCA2 policlonal (Bio-Rad, EUA) e RAD51 policlonal (Invitrogen, EUA), em câmara úmida, por 60 minutos à temperatura ambiente. Ambos os anticorpos foram utilizados na diluição 1:500.

Em seguida, as lâminas foram lavadas em TRIS por 5 minutos e incubadas com o sistema polimerizado EnVision™ FLEX/HRP (Dako, EUA), também em câmara úmida, por 1 hora à temperatura ambiente. O desenvolvimento da reação foi realizado com 3,3'-diaminobenzidina tetrahydroclorato (DAB – Sigma, 5637, EUA), em tampão Tris-HCl. Após esse procedimento, as lâminas foram lavadas, contracoradas com hematoxilina, desidratadas em concentrações crescentes de álcool e xilol, e montadas com Permount™.

Utilizaram-se amostras de testículo canino em parafina (FFPE) como controle positivo. Para o controle negativo, as lâminas foram incubadas com soro de coelho.

## Análise imuno-histoquímica dos tecidos

As amostras foram analisadas quanto à área e à quantidade de células imunopositivas para os anticorpos anti-BRCA2 e anti-RAD51. A imunomarcação foi avaliada conforme a localização da expressão (membrana, citoplasma ou núcleo), sendo categorizada como expressão positiva ou negativa.

### 3.3. Análises estatísticas

Foi realizada análise descritiva dos resultados, com apresentação dos dados em média, quartis e desvio padrão. Para avaliar estatisticamente o número de células positivas entre as amostras de próstata normal e as acometidas, utilizou-se teste não paramétrico.

## 4.Resultados

Um total de 27 amostras prostáticas de cães foram avaliadas histologicamente, sendo o diagnóstico de carcinoma prostático realizado com base nos critérios descritos por Palmieri et al. (2014) para esse tipo de neoplasia em cães. Animais sem lesões prostáticas foram utilizados como grupo controle ( $n = 10$ ). As amostras diagnosticadas com carcinoma prostático ( $n = 17$ ) foram separadas e submetidas à análise imuno-histoquímica visando à marcação das proteínas BRCA2 e RAD51.

Para a proteína BRCA2, o número mediano de células imunopositivas foi de 6.478 nas amostras com carcinoma prostático, em comparação com 81,5 na próstata normal ( $P < 0,0001$ ). Para a proteína RAD51, observou-se uma mediana de 7.089 células nas amostras com carcinoma prostático e 923 células nas amostras da próstata normal ( $P < 0,0001$ ).

Com relação à porcentagem da área afetada, foi aplicado um teste paramétrico. As médias e desvios padrão para as amostras normais e com carcinoma prostático foram, respectivamente: BRCA2:  $0,1638 \pm 0,287$  (normal) e  $1,25 \pm 7,968$  (carcinoma) ( $P < 0,0001$ ) e RAD51:  $2,177 \pm 3,419$  (normal) e  $12,02 \pm 8,177$  (carcinoma) ( $P < 0,0001$ ).

Tabela 1. Análises descritiva, teste de Mann-Whitney e teste t para avaliação do número de células positivas nas amostras de próstata normal e com carcinoma.

| Variável                      | Grupo             | Percentil 25% | Mediana | Percentil 75% | Média ± DP                                          | P-valor  |
|-------------------------------|-------------------|---------------|---------|---------------|-----------------------------------------------------|----------|
| Número de células positivas   | BRCA2 (Normal)    | 24,25         | 81,5    | 239           |                                                     | < 0,0001 |
|                               | BRCA2 (Carcinoma) | 4031          | 6478    | 9628          |                                                     |          |
|                               | RAD51 (Normal)    | 91            | 923,5   | 2706          |                                                     | < 0,0001 |
|                               | RAD51 (Carcinoma) | 4437          | 7089    | 9621          |                                                     |          |
| Área (%) de células positivas | BRCA2             |               |         |               | 0,1638 ± 0,287 (normal)<br>1,25 ± 7,968 (carcinoma) | < 0,0001 |
|                               | RAD51             |               |         |               | 2,177 ± 3,419 (normal)<br>12,02 ± 8,177 (carcinoma) | < 0,0001 |

Figura 1. Gráficos de Mann-Whitney para BRCA2 e RAD51.

Table 1. Descriptive, Mann-Whitney and t-test statistical analyses evaluated the results regarding the number of positive cells in the samples between the normal prostate and the affected tissue.

|                                |       |               | Normal<br>Prostate (n=10) | Prostatic<br>carcinoma (n=17) | P    |
|--------------------------------|-------|---------------|---------------------------|-------------------------------|------|
| Number of positive<br>cells    | BRCA2 | 25% Percentil | 24.25                     | 4031                          | <0.0 |
|                                |       | Median        | 81,5                      | 6478                          |      |
|                                |       | 75% Percentil | 239                       | 9628                          |      |
|                                | RAD51 | 25% Percentil | 91                        | 4437                          | <0.0 |
|                                |       | Median        | 923,5                     | 7089                          |      |
|                                |       | 75% Percentil | 2706                      | 9621                          |      |
| Area % of<br>positive<br>cells | BRCA2 | Mean and sd   | 0.1638±0.287              | 1.25±7.968                    | <0.0 |
|                                | RAD51 | Mean and sd   | 2.177±3.419               | 12.02±8.177                   | <0.0 |

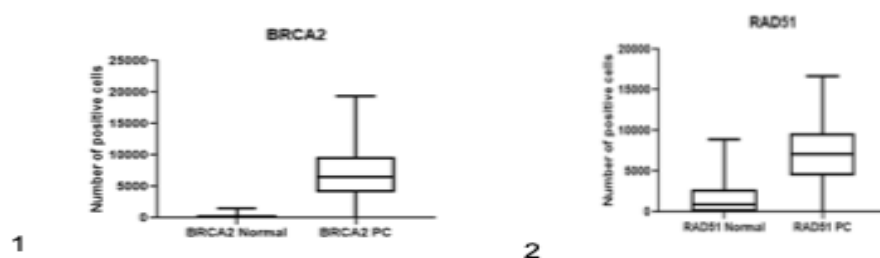


Figure 1. Graphs images of Mann-Whitney statistics for BRCA2 (1) and RAD51 (2).

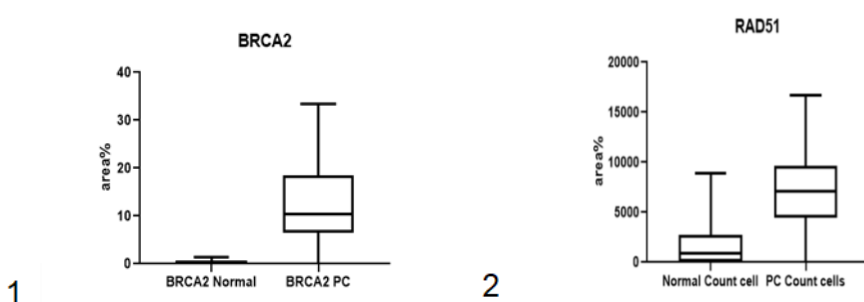
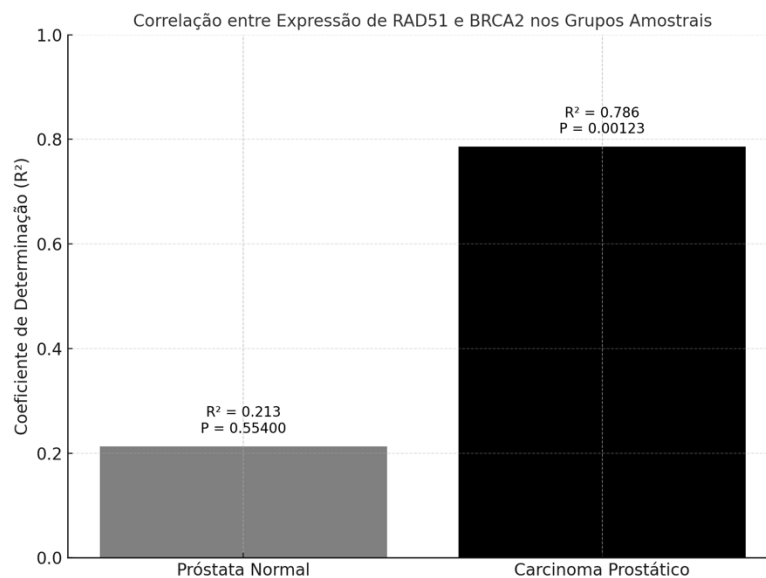


Figura 2. Gráficos das imagens das estatísticas do teste t para BRCA2 (1) e RAD51 (2).

A análise da correlação entre os grupos amostrais e as proteínas BRCA2 e RAD51 revelou diferenças significativas no perfil de expressão entre os tecidos normais e os acometidos por carcinoma prostático. Nas amostras de próstata normal, observou-se uma maior quantidade de células imunopositivas para RAD51 em comparação à BRCA2, embora haja correlação estatística não significativa ( $R^2 = 0,213$ ;  $P = 0,554$ ). Em contrapartida, nas amostras de carcinoma prostático, a expressão de RAD51 também superou a de BRCA2, com uma correlação mais robusta e estatisticamente significativa ( $R^2 = 0,786$ ;  $P = 0,00123$ ). Esses achados reforçam o potencial da proteína RAD51 como um marcador mais sensível na diferenciação entre tecido prostático normal e neoplásico, especialmente em contextos de alta agressividade tumoral.

Figura 3. Correlação entre a Expressão de BRCA2 e RAD51 nos Grupos de Próstata Normal e Carcinoma Prostático



## 5. Discussão

A análise da correlação entre os grupos amostrais e as proteínas BRCA2 e RAD51 revelou diferenças significativas no perfil de expressão entre os tecidos normais e os acometidos por carcinoma prostático. Nas amostras de próstata normal, observou-se uma maior quantidade de células imunopositivas para RAD51 em comparação à BRCA2,

embora com correlação estatística não significativa ( $R^2 = 0,213$ ;  $P = 0,554$ ). Em contrapartida, nas amostras de carcinoma prostático, a expressão de RAD51 também superou a de BRCA2, com uma correlação mais robusta e estatisticamente significativa ( $R^2 = 0,786$ ;  $P = 0,00123$ ). Esses achados reforçam o potencial da proteína RAD51 como um marcador mais sensível na diferenciação entre tecido prostático normal e neoplásico, especialmente em contextos de alta agressividade tumoral.

Este estudo caracterizou a expressão das proteínas BRCA2 e RAD51 em amostras de carcinoma prostático canino utilizando técnicas de imuno-histoquímica. A diferença nos valores medianos entre os dois grupos foi significativa e estatisticamente relevante, permitindo afirmar que, nos tecidos acometidos por carcinoma prostático, as células apresentam maior imunorreatividade para BRCA2 e RAD51.

Além disso, a diferença observada nas médias entre os grupos reforça a possibilidade de um aumento na porcentagem da área afetada nas amostras diagnosticadas histologicamente com carcinoma prostático. A distinção observada entre as expressões dessas proteínas nas próstatas caninas não acometidas permite sugerir BRCA2 e RAD51 como alvos preditivos para esta neoplasia.

Nossos achados são compatíveis com os resultados observados em câncer de próstata humano, nos quais já é conhecida a associação entre mutações em BRCA e o aumento do risco para o desenvolvimento da doença. O aumento da expressão dessas proteínas em tecidos com carcinoma prostático, observado neste estudo, fortalece a hipótese de que essas mutações também estejam presentes em cães (Castro et al., 2013; Holter et al., 2015; Wong et al., 2019; Edwards et al., 2003; Kote-Jarai et al., 2011).

As correlações entre os grupos amostrais e as proteínas estudadas (BRCA2 e RAD51) demonstraram que, em amostras de próstata normal, houve maior número de células imunopositivas para RAD51 em comparação à BRCA2. Padrão semelhante foi observado nas amostras com carcinoma prostático, com maior número de células positivas para RAD51 do que para BRCA2. Tal resultado pode ser explicado pelo efeito modulador da RAD51 sobre o genótipo deficiente em BRCA2, conforme já descrito na

literatura (Roy et al., 2012). Acredita-se, de forma geral, que a RAD51 pode compensar, ao menos parcialmente, algumas anormalidades do gene BRCA2 (Brown & Holt, 2009).

Dessa forma, este estudo permitiu a caracterização e avaliação da expressão do gene BRCA2 no carcinoma prostático canino, abrindo caminho para o estabelecimento de alvos preditivos por meio de técnicas imuno-histoquímicas. Acreditamos que nossa abordagem possibilitou antecipar e oferecer uma compreensão abrangente sobre variações genéticas e suas associações com tumores prostáticos e sua malignidade.

### 5.1. Conclusão

Os achados deste estudo demonstram que as proteínas BRCA2 e RAD51 apresentam expressão significativamente aumentada em tecidos prostáticos caninos acometidos por carcinoma, em comparação com tecidos prostáticos normais. Através da imunohistoquímica, foi possível identificar padrões distintos de marcação que corroboram a participação dessas proteínas nos mecanismos de instabilidade genômica associados à oncogênese prostática. A correlação positiva observada entre a expressão de RAD51 e a presença de carcinoma, inclusive em maior magnitude que BRCA2, sugere um possível papel compensatório da RAD51 frente à disfunção de BRCA2, conforme descrito em modelos humanos. Esses dados reforçam a aplicabilidade do cão como modelo translacional em oncologia comparada e sustentam o potencial de BRCA2 e RAD51 como biomarcadores moleculares e alvos terapêuticos no carcinoma prostático canino. Estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos regulatórios envolvidos e para avaliar a aplicabilidade clínica desses marcadores em abordagens diagnósticas e prognósticas futuras.

## 6. Orientações

Durante o período de realização do pós-doutorado na FMVZ/UNESP – Botucatu, foram desenvolvidas atividades na área de Oncologia Molecular, vinculadas ao projeto intitulado “*Characterizing RAD51 and BRCA2 Protein Expression in Prostatic Carcinoma in Canine: A Comprehensive Study*”, proposto para esta etapa de pesquisa.

As atividades experimentais foram conduzidas no laboratório coordenado pela Professora Dra. Renée Laufer-Amorim. Inicialmente, foram selecionadas amostras de tecidos prostáticos caninos normais e com carcinoma, seguidas da revisão histopatológica das lâminas correspondentes. A partir dessas amostras, foram confeccionados novos cortes histológicos para realização de imunomarcção de duas proteínas-chave envolvidas no reparo de DNA: BRCA2 e RAD51.

A imunomarcção dessas proteínas teve como objetivo identificar e quantificar sua expressão tecidual, permitindo inferir a atividade funcional dos respectivos genes nos processos de manutenção da estabilidade genômica. O gene RAD51 e seus homólogos são reconhecidos como reguladores centrais da fidelidade genômica, com participação essencial no reparo de quebras de fita dupla de DNA, no estresse replicativo e em eventos meióticos. Trata-se de uma ATPase que forma filamentos nucleoproteicos em DNA de fita simples, promovendo a busca e invasão de sequências homólogas, etapa fundamental para o reparo preciso do DNA. Já os genes da família BRCA, envolvidos na via de recombinação homóloga, atuam de forma complementar, sendo que mutações nesses genes comprometem a funcionalidade desse sistema de reparo.

Foram incluídas no estudo 10 amostras de próstata canina normal e 19 amostras de carcinoma prostático canino. Cada lâmina foi analisada em microscopia óptica, com registro fotográfico de três campos distintos por amostra. Em cada imagem, foram avaliados o número de células imunomarcadas e a área total de positividade para cada uma das proteínas.

Com os dados obtidos, foram realizadas análises estatísticas que permitiram comparações quantitativas entre tecidos normais e neoplásicos, tanto em relação à área imunomarcada quanto ao número de células positivas. Parte dos resultados foi apresentada na forma de pôster no congresso internacional *67th Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (AAVLD)*, em 2024.

Todas as etapas experimentais e análises estatísticas foram devidamente concluídas. O estudo encontra-se atualmente em fase de redação para submissão a periódico científico internacional.

Além das atividades diretamente relacionadas ao projeto de pós-doutorado, houve participação ativa em outras iniciativas acadêmicas e científicas do grupo de pesquisa da Professora Renée. Foram prestados apoio a projetos desenvolvidos por alunos de residência em Patologia Veterinária, com colaboração na leitura e discussão de lâminas histológicas conforme os critérios estabelecidos pelo American College of Veterinary Pathologists. Também houve contribuição em atividades didáticas, incluindo auxílio a docentes em aulas práticas e outras demandas do departamento.