



Universidade Federal do Maranhão
Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto
Mestrado Acadêmico



**SOMATOTROPINOMAS: ASPECTOS CLÍNICOS E
MARCADORES IMUNOHISTOQUÍMICOS**

Luciana Patrícia Serra Guedelha

São Luís
2020

LUCIANA PATRÍCIA SERRA GUEDELHA

**SOMATOTROPINOMAS: ASPECTOS CLÍNICOS E
MARCADORES IMUNOHISTOQUÍMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

Área de Concentração: Saúde e Metabolismo Humano

Linha de Pesquisa: Alterações endócrinas

Orientador: Prof. Dr. Manuel dos Santos Faria

Coorientador: Prof. Dr. Marcelo Magalhães Silva

Coordenadora: Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

São Luís

2020

GUEDELHA, Luciana Patrícia Serra

Somatotropinomas: aspectos clínicos e marcadores
imunohistoquímicos / Luciana Patrícia Serra GUEDELHA _ 2020.
54 p.

Orientador: Manuel dos Santos Faria

Coorientador: Marcelo Magalhães Silva

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Maranhão,
Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto, 2020.

1. Somatotropinoma. 2. Ki67. 3. p 53. 4. AIP. 5. citoqueratina.

LUCIANA PATRÍCIA SERRA GUEDELHA

**SOMATOTROPINOMAS: ASPECTOS CLÍNICOS E
MARCADORES IMUNOHISTOQUÍMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do Grau de Mestre em Saúde do Adulto.

A Banca Examinadora da Defesa de Mestrado, apresentada em sessão pública, considerou o candidato aprovado em: ____/____/____.

Prof. Dr. Manuel dos Santos Faria (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Marcelo Magalhães Silva (Coorientador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. João Francisco Ribeiro Furtado Neto (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof.^a Dr.^a Adriana Maria Guimarães Sá Beckman (Examinador)
Faculdade Estácio de Sá

Prof.^a Dr.^a Luciane Maria Oliveira Brito (Examinador)
Universidade Federal do Maranhão

Aos meus pais e irmãos, meus verdadeiros amigos.

Ao meu esposo por ser meu maior incentivador.

Ao meu filho, meu maior presente.

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e oportunidade de ter experiências que me fazem crescer espiritualmente e profissionalmente.

Aos médicos e colaboradores do Serviço de Endocrinologia do HUUFMA, em especial ao Dr. Manuel dos Santos Faria, meu maior exemplo de sensibilidade, pontualidade, dinamismo e luta em favor da construção de um serviço de referência em pesquisa. Dra. Maria Honorina Cordeiro Lopes e Dr. João Francisco Ribeiro Furtado Neto pelos conselhos, dedicação e experiência acadêmica compartilhados durante o convívio de residência médica. A Dra Rossana Azulay pelas palavras de incentivo, Dra Sabrina Damianse e Dra Viviane Chaves, pelas excelentes discussões durante os ambulatórios de Neuroendocrinologia. A Dr Gilvan Cortês que discutiu e ajudou na revisão de todos os prontuários e Dra Conceição Veiga pela realização dos exames de ultrassonografia de tireoide e as endocrinologistas: Ana Valéria Carvalho, Joana D' arc Abreu, Taliane Jardim, Débora Lago, Ianik Leal, Luciana Vaz, Maíra Santos, Patrícia Lima, Roberta Duailibe, Carla Sobral e Adriana Caldas pela boa convivência e compartilhar de ensino.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Marcelo Magalhães Silva pela valiosa discussão na construção e dissertação do artigo.

Em especial a patologista Dra. Ana Gisélia Cortês e a bióloga Nadja Gaido pela realização dos exames de imuno-histoquímica e pelo exemplo de dedicação, responsabilidade e empenho em pesquisa.

A Prof. Dra. Adriana Maria Guimarães Sá Beckman, enfermeira que acompanhou muitos pacientes dessa pesquisa, exemplo de organização e resolutividade contribuindo com a formação de um banco de dados clínicos da nossa amostra.

A Dr. Alysson Milhomen Rocha, radiologista, por discutir os exames de ressonância de hipófise.

Ao PPGSAD, representado pela Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento e aos professores, por toda assistência prestada.

RESUMO

Adenomas hipofisários representam cerca de 10 a 15% de todas as neoplasias intracranianas. Adenomas somatotróficos secretam hormônio de crescimento e têm frequência de 15 a 20% de todos os adenomas hipofisários. Embora predominantemente benignos, alguns adenomas possuem recorrência e/ou resistência ao tratamento, sendo considerados clinicamente agressivos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de expressão dos marcadores Ki-67, proteína p53, AIP e citoqueratina nos exames de imuno-histoquímica de somatotropinomas, relacionando esses dados com fatores preditores de agressividade e progressão da doença e com as características sociodemográficas e clínicas desses pacientes. Trata-se de um estudo analítico retrospectivo em que foram selecionados 22 pacientes submetidos a ressecção cirúrgica do tumor com idade superior a 18 anos, de ambos os sexos provenientes do Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão – HUUFMA. A coleta e a seleção dos dados pertinentes foram feitas por meio de revisão de prontuários no período de 2018 a 2019 e os pacientes foram acompanhados e submetidos a ressecção tumoral entre 2008 e 2016. Como resultados, houve maior prevalência do sexo feminino em tumores com Ki-67 \geq 1% (p-valor 0,046), além disso, a proteína p53 esteve associada ao tratamento com análogo de somatostatina pré-cirurgia (p-valor 0,049) e a maioria dos pacientes que tinham feito tratamento com essa medicação eram p53 negativo. Os marcadores Ki-67, p53, AIP e citoqueratina não foram associados com agressividade tumoral. Conclui-se que a interpretação dos resultados da imunohistoquímica deve estar no contexto clínico, radiológico e cirúrgico do paciente, destacando que dentre os marcadores avaliados, não foi possível identificar uma associação entre nenhum dos mesmos com comportamento agressivo do tumor.

Palavras-chave: Somatotropinoma. Ki-67. p-53. AIP. Citoqueratina.

ABSTRACT

Pituitary adenomas represent about 10 to 15% of all intracranial neoplasms. Somatotrophic adenomas secrete growth hormone and have a frequency of 15 to 20% of all pituitary adenomas. Although predominantly benign, some adenomas have recurrence and / or resistance to treatment, being considered clinically aggressive. This study aimed to evaluate the expression profile of the Ki-67, p53 protein, AIP and cytokeratin markers in somatotropinoma immunohistochemistry tests, relating these data to factors that predict aggressiveness and disease progression and to the sociodemographic and clinical characteristics of these patients. This is a retrospective analytical study in which 22 patients who underwent surgical resection of the tumor aged over 18 years, of both sexes, were selected from the Endocrinology Service of the University Hospital of the Federal University of Maranhão - HUUFMA. The collection and selection of the pertinent data were made by reviewing medical records from 2018 to 2019 and the patients were followed up and submitted to tumor resection between 2008 and 2016. As a result, there was a higher prevalence of females in tumors with Ki -67 \geq 1% (p-value 0.046), in addition, p53 protein was associated with treatment with pre-surgery somatostatin analogue (p-value 0.049) and most patients who had been treated with this medication were p53 negative . The markers Ki-67, p53, AIP and cytokeratin were not associated with tumor aggressiveness. It is concluded that the interpretation of the immunohistochemistry results must be in the clinical, radiological and surgical context of the patient, highlighting that among the markers evaluated, it was not possible to identify an association between any of them with aggressive tumor behavior.

Keywords: Somatotropinoma. Ki-67. p-53. AIP. Cytokeratin.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinoma. São Luís, MA-2019. (n=22).....	32
Tabela 2	- Características tumorais, marcadores imunohistoquímicos e desfechos de pacientes com somatotropinoma. São Luís, MA-2019. (n=22).....	33
Tabela 3	- Marcadores imunohistoquímicos, características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinoma. São Luís, MA-2019.....	34
Tabela 4	- Marcadores imunohistoquímicos, características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinoma. São Luís, MA-2019.....	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Características clínicas de acromegalia.....	16
Figura 2	- Anatomia normal das regiões selar e paraselar.....	19
Figura 3	- Classificação de Knosp.....	19

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AH	Adenoma hipofisário
AIP	<i>Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein</i>
ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
CAM 5.2	Anticorpo anti-citoqueratina
DA	Agonista da dopamina
DG	Densamente granuloso
EG	Esparsamente granuloso
ESE	Sociedade Europeia de Endocrinologia
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GH	Hormônio de crescimento
GHR	Receptor de GH
HA	Hipertensão arterial
HUUFMA	Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão
IGF-1	Insuline growth fator -1 (fator de crescimento semelhante a insulina 1)
IHQ	Imunohistoquímica
Ki 67	Marcador de proliferação celular Ki67
LH	Hormônio Luteinizante
MIB-1	Anticorpo que liga o antígeno Ki67
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
PRL	Prolactina
p53	Fosfoproteína 53
SRL	Ligante do receptor de somatostatina
TP53	Tumor proteína p53
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
TSH	Hormônio tireoestimulante

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Acromegalia	12
2.1.1	Definição.....	12
2.1.2	Epidemiologia.....	12
2.1.3	Diagnóstico.....	13
2.1.4	Tratamento.....	14
2.1.5	Manifestações clínicas da acromegalia.....	14
2.2	Agressão e Invasão tumoral	17
2.3	Marcadores imunohistoquímicos	20
2.3.1	Proteína p53.....	21
2.3.2	Antígeno Ki-67.....	21
2.3.3	Proteína AIP.....	22
2.3.4	Padrão de expressão de citoqueratina (CAM 5.2).....	23
3	OBJETIVOS	24
3.1	Geral	24
3.2	Específicos	24
4	ARTIGO	25
	REFERÊNCIAS	43
	ANEXOS	47

1 INTRODUÇÃO

A acromegalia é uma doença insidiosa e desfigurante que muitas vezes é reconhecida pelo aumento de partes moles, com crescimento desproporcional dos ossos das mãos, pés e do crânio devido à exposição crônica a altos níveis de hormônio de crescimento (GH) e de seu efetor, fator de crescimento semelhante a insulina -1 (IGF-1) (RICK; JAHANGIRI; FLANIGAN et al., 2018). Trata-se de uma doença rara com incidência estimada de 3-4 casos por milhão/ ano, com prevalência aproximada de 50 casos por milhão (HOSKULDSOTTIR; FJALLDAL; RJONSDOTTIR, 2015).

A fisiopatologia dessa doença também predispõe os pacientes a numerosas comorbidades, incluindo cardiopatias, artropatias, disglícemia, nódulos tireoideanos, síndrome da apneia obstrutiva do sono e, até mesmo, alguns tipos de câncer. RICK; JAHANGIRI; FLANIGAN et al., 2018).

A cirurgia é amplamente considerada como a terapia de primeira linha para acromegalia, com a abordagem transesfenoidal sendo adequada para a maioria dos somatotropinomas (ABU; MOHAMMED; ASI; FARAH; WANG et al. 2014). Os relatos de pacientes com remissão a longo prazo com monoterapia cirúrgica variam de 35% a 74%, em parte devido a definições variáveis de remissão da doença (ABU; MOHAMMED; ASI; FARAH; WANG et al. 2014).

Pacientes que têm doença persistente são tipicamente tratados com análogos de somatostatina, agonistas de dopamina ou antagonistas de GH (KATZNELSON; LAWS; MELMED, et al., 2014). Radiocirurgia ou radioterapia também podem desempenhar um papel importante no tratamento, porém alguns tumores apresentam resistência aos tratamentos convencionais, comportando-se de forma agressiva. A previsão do comportamento do tumor e recorrência da doença após neurocirurgia ainda é um desafio. (KATZNELSON; LAWS; MELMED, et al., 2014).

Com o objetivo de tornar o tratamento mais eficaz, a identificação de marcadores na imuno-histoquímica (IHQ) que possam prever o comportamento agressivo da doença é importante para decisão terapêutica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Acromegalia

2.1.1 Definição

A acromegalia é uma doença causada pelo excesso de níveis circulantes de hormônio de crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), que normalmente resultam de um adenoma hipofisário secretor de GH. (BEN-SHLOMO; MELMED, 2008). Em crianças, onde há crescimento acelerado de placas epifisárias é referida como gigantismo. (KATZNELSON; LAWS; MELMED et al., 2014; BEN-SHLOMO; MELMED, 2008).

O IGF-1 em grande parte medeia os efeitos somáticos e metabólicos do GH, levando a uma doença multissistêmica caracterizada por supercrescimento somático, múltiplas comorbidades, mortalidade prematura e deformidades físicas. (KATZNELSON; LAWS; MELMED et al., 2014).

2.1.2 Epidemiologia

É uma doença rara com incidência estimada de 3-4 casos por milhão/ano, com prevalência aproximada de 50 casos por milhão. Há relatos de aumento da incidência de acromegalia chegando a 7,7 casos por milhão / ano a partir de 1955-2013. Ela ocorre com igual frequência em homens e mulheres comumente entre a quarta e quinta décadas de vida (HOSKULDSDOTTIR; FJALLDAL; RJONSDOTTIR, 2015).

O diagnóstico é frequentemente precedido por cerca de 5-10 anos de doença ativa, mas não reconhecida (MELMED, 2006; GADELHA, KASUKI; LIM et al., 2019), e muitos somatotropinomas são maiores que 1 cm (macroadenomas) quando descobertos, podendo ter efeito de massa nas estruturas adjacentes ou até mesmo invadi-las (HOSKULDSDOTTIR; FJALLDAL; RJONSDOTTIR, 2015).

Em menos de 5% dos casos, o excesso de GH é decorrente de tumor hipotalâmico ou tumor neuroendócrino (geralmente de origem pulmonar ou

pancreática) levando a hiperplasia somatotrófica e a acromegalia (DAL; FELDT-RASMUSSEN; ANDERSEN et al., 2016).

2.1.3 Diagnóstico

Devido a grandes flutuações dos níveis séricos de GH, este não é um teste sensível nem específico para o diagnóstico de acromegalia (SUBBARAYAN; FLESERIU; GORDON et al., 2012). Para fins de diagnóstico, o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) parece ser um método mais confiável, revelando um efeito diminuído ou até mesmo reverso do aumento da glicose sérica sobre os valores de GH (SUBBARAYAN; FLESERIU; GORDON et al., 2012; LUGO; PENA; CORDIDO, 2012).

O fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1), sintetizado no fígado, é o principal mediador do GH para exercer seus efeitos biológicos. O nível sérico elevado de IGF-1 é amplamente aceito como o teste de triagem de primeira linha para avaliação de pacientes com suspeita de acromegalia. É um teste de triagem ideal, pois tem uma meia-vida longa de 18-20 horas e os níveis séricos permanecem estáveis ao longo do dia. O nível de IGF-1 é afetado por idade e gênero, diminuindo em aproximadamente 14% por década durante a vida adulta (LUGO; PENA; CORDIDO, 2012).

Um nível sérico de nadir de GH $<1 \mu\text{g} / \text{L}$ dentro de 2 horas após 75 g de glicose oral geralmente exclui o diagnóstico. No entanto, embora os ensaios atuais de GH tenham melhorado a sensibilidade, muitos ensaios não têm precisão suficiente em níveis de GH $<1 \mu\text{g} / \text{L}$, e sugerimos que um ponto de corte GH $<1 \mu\text{g} / \text{L}$ após a carga de glicose seja suficiente para excluir o diagnóstico. É importante medir os níveis de glicose antes e depois de uma carga oral de glicose para verificar se a hiperglicemia foi alcançada. O TOTG não é indicado para pacientes com diabetes mellitus (KATZNELSON; LAWS; MELMED et al., 2014; LUGO; PENA; CORDIDO, 2012).

Recomenda-se a medição dos níveis de IGF-1 em pacientes com manifestações clínicas típicas da acromegalia, especialmente aqueles com aumento de extremidade e características faciais da doença. Sugere-se a medida do IGF-1 em pacientes sem manifestações típicas de acromegalia, mas que apresentem: síndrome da apneia do sono, diabetes mellitus tipo 2, artrite debilitante, síndrome do

túnel do carpo, hiperidrose e hipertensão (KATZNELSON; LAWS; MELMED et al., 2014).

2.1.4 Tratamento

O tratamento da acromegalia evoluiu bastante nas últimas décadas, com novas opções disponíveis. A cirurgia é a primeira escolha de tratamento para a maioria dos pacientes, pois é o único tratamento que resulta no controle imediato da doença (remissão), exceto em pacientes com alto risco cirúrgico, aqueles que recusam a cirurgia ou cujos tumores estão quase completamente localizados no seio cavernoso. A experiência do neurocirurgião tem grande impacto nas taxas de sucesso cirúrgico. Assim, em geral, metade dos pacientes necessitará de tratamento adjuvante (MELMED; BRONSTEIN; CHANSON et al., 2018).

O tratamento medicamentoso envolve três classes de medicamentos: ligantes do receptor de somatostatina (SRL), agonistas da dopamina (DA) e antagonista do receptor de GH (GHR). (MELMED; BRONSTEIN; CHANSON et al., 2018). Recomenda-se terapia medicamentosa para pacientes com doença persistente, apesar da ressecção cirúrgica do adenoma bem como para pacientes nos quais a cirurgia não é apropriada.

Controle bioquímico da doença é definido como nadir de GH $<0,4 \mu\text{g} / \text{l}$ após TOTG usando ensaios ultrassensíveis. De acordo com o consenso de 2018 sobre manejo terapêutico em acromegalia (MELMED; BRONSTEIN; CHANSON et al., 2018), deve-se aguardar pelo menos 12 semanas após a cirurgia para avaliar níveis de IGF-1.

2.1.5 Manifestações clínicas da acromegalia

O excesso de hormônio de crescimento a longo prazo (GH) e do fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1) resultam em crescimento excessivo de muitos tecidos, incluindo tecido conjuntivo, cartilagem, ossos, pele e órgãos viscerais (RICK; JAHANGIRI; FLANIGAN, 2018). Praticamente todos os pacientes com acromegalia têm supercrescimento de tecidos moles e de extremidades, além de espessamento da pele. Os achados característicos são uma mandíbula aumentada

(macrognatia) e mãos e pés aumentados, que resultam no aumento do tamanho do sapato e na necessidade de ampliar os anéis (KATZNELSON; LAWS; MELMED et al., 2014).

As características faciais tornam-se grosseiras, com aumento do nariz e dos ossos frontais, bem como da mandíbula, e os dentes se afastam (Figura 1). Apesar da proeminência desses achados no momento do diagnóstico, a taxa de mudança é tão lenta que poucos pacientes procuram atendimento pela aparência ou outros sintomas relacionados ao aumento de extremidades (JENKINS; SOHAIB; AKKER, et al., 2000). O intervalo médio desde o início da percepção de sinais e sintomas até o diagnóstico é de aproximadamente 5-10 anos (COLAO; VANDEVA; PIVONELLO et al., 2014). No momento do diagnóstico, aproximadamente 75% dos pacientes têm macroadenomas (diâmetro do tumor igual ou maior a 1 cm) e podem apresentar sintomas devido efeitos compressivos da massa tumoral, como cefaleia, aproximadamente 60% dos casos e, cerca de 10% apresentam sintomas visuais (hemianopsia classicamente bitemporal) (RIBEIRO-OLIVEIRA A., BARKAN, 2012).

Além disso, um macroadenoma pode causar diminuição da secreção de outros hormônios hipofisários, mais comumente gonadotrofinas. Muitas mulheres com acromegalia têm disfunção menstrual, com ou sem galactorreia, e algumas apresentam ondas de calor e atrofia vaginal como resultado da deficiência de estrogênio. Os homens podem ter disfunção erétil, perda de libido, diminuição do crescimento de pelos faciais e diminuição do volume testicular (COLAO; VANDEVA; PIVONELLO et al., 2014).

A hiperprolactinemia ocorre em aproximadamente 30% dos pacientes. Em alguns pacientes, é devido à secreção de prolactina e GH por um adenoma somatomamotrófico, caso em que a concentração de prolactina no soro pode ser superior a 200 ng / mL. Em outros pacientes, a causa provavelmente é a interferência no fluxo sanguíneo hipotalâmico-hipofisário, caso em que a concentração sérica de prolactina provavelmente será menor que 200 ng / ml. A deficiência de hormônio estimulante da tireoide (TSH) e de corticotropina (ACTH) ocorre menos comumente que outras deficiências hormonais hipofisárias (BRUE; CASTINETTI; LUNDGREN, 2009).

Figura 1. Manifestações clínicas de acromegalia.



Paciente descobriu diagnóstico de acromegalia aos 45 anos e percebeu aparecimento de sinais e sintomas há mais de 5 anos. Na primeira foto observamos aumento do nariz, dos ossos frontais, dos lábios, além de pronunciamento do sulco naso-labial e prognatismo. Na segunda e terceira fotografias, evidenciamos a diferença no tamanho das mãos e pés entre um paciente sem diagnóstico de acromegalia daquele com anos de doença.

Fonte: fotos do arquivo do Serviço de Endocrinologia do HUUFMA

Uma comorbidade frequente em acromegalia é a hipertensão arterial (HA). A prevalência varia de 18 a 60% (média de cerca de 35%) e não é influenciada pela duração da doença (MOSCA; PAOLILLO; COLAO, et al., 2013). Provavelmente tem uma etiologia multifatorial. Um dos mecanismos mais aceitos é o aumento do volume plasmático, secundário à retenção de sódio e água no rim. Em pacientes com acromegalia, ela ocorre precocemente, envolve predominantemente pressão diastólica e é menos frequentemente relacionada a uma história familiar da doença em comparação com a população em geral (MOSCA; PAOLILLO; COLAO, et al., 2013; COLAO; FERONE; MARZULLO et al., 2004).

O papel do sistema GH/IGF-1 na carcinogênese e na promoção da progressão tumoral tem sido motivo de preocupação. A acromegalia não controlada está associada a um risco aumentado de várias doenças malignas (COLAO; FERONE; MARZULLO et al., 2004). Com base em estudos retrospectivos de

mortalidade, 15-24% das mortes por acromegalia eram atribuíveis ao câncer, mais comumente ao câncer colorretal e, em menor grau, ao câncer de mama, tireoide, próstata e outros tipos de câncer (SAMANI; YAKAR; LEROITH et al., 2007). Dados mais recentes sugerem que o câncer pode ser a causa mais comum de mortalidade na acromegalia (MERCADO M, GONZALEZ B, VARGAS et al., 2014).

O aumento do volume tireoidiano ocorre em 25% a 92% dos pacientes. Os mecanismos que envolvem hiperplasia de tecido tireoideano são dependentes de efeitos sinérgicos do excesso de GH/IGF-1 e de TSH sobre a célula folicular (COLAO; FERONE; MARZULLO et al., 2004). O volume da glândula tireoide e o desenvolvimento de nódulos foram associados em vários estudos com duração da doença e com os níveis de GH e IGF-I (DOGAN;, ATMACA; DAGDELEN et al., 2014; UCHOA;, LIMA; CORREA et al., 2013). No entanto, nenhuma ligação definitiva foi encontrada entre o câncer de tireoide e a atividade ou duração da doença em si. O bócio nodular foi relatado em 43-75,6% dos pacientes com acromegalia. Curiosamente, ao contrário da população em geral, onde os nódulos tireoidianos são 3-4 vezes mais comuns em mulheres a prevalência é comparável em homens e mulheres (WOLINSKI; CZARNYWOJTEK; RUCHALA, 2014; HAUGEN; ALEXANDER; BIBLE et al., 2016).

Embora o controle bioquímico seja o objetivo principal de tratamento de acromegalia, deve-se, também, considerar o efeito da terapia na morbidade relacionadas à doença. Implementando-se estratégias para prevenir, abordar e gerenciar as complicações (MELMED; BRONSTEIN; CHANSON et al., 2018).

2.2 Agressão e Invasão tumoral

A definição de agressividade para tumores hipofisários varia na literatura e engloba desde um tumor invasivo de grande crescimento, até um tumor com recidiva precoce (apesar da ressecção total) ou aqueles resistentes ao tratamento convencional (RAVEROT; CASTINETTI; JOUANNEAU et al., 2012; ZAIDI; COTE, DUNN et al., 2016). Além disso, apesar de agressivo e invasivo serem frequentemente considerados sinônimos, a invasividade do tumor hipofisário nem sempre se correlaciona com a agressividade (PRIOLA; ESPOSITO; CANNAVÒ et al, 2016).

A invasividade pode ser uma das característica de agressividade tumoral, pois, tumores agressivos comumente apresentam dificuldade no manejo devido seu tamanho, invasividade, rápido crescimento, recorrência e resistência a múltiplas modalidades terapêuticas (THAPAR; KOVACS; SCHEITHAUER et al., 1996; KNOSP; STEINER; KITZ, 1993).

Apesar de tumores hipofisários serem na sua maioria benignos, 25% a 55% apresentam invasão local, o que dificulta a remissão com o tratamento cirúrgico (THAPAR; KOVACS; SCHEITHAUER et al., 1996). O critério de invasão, avaliado por exame de imagem, como a ressonância magnética, possibilita avaliar a relação entre o tumor e estruturas vizinhas (KNOSP; STEINER; KITZ, 1993).

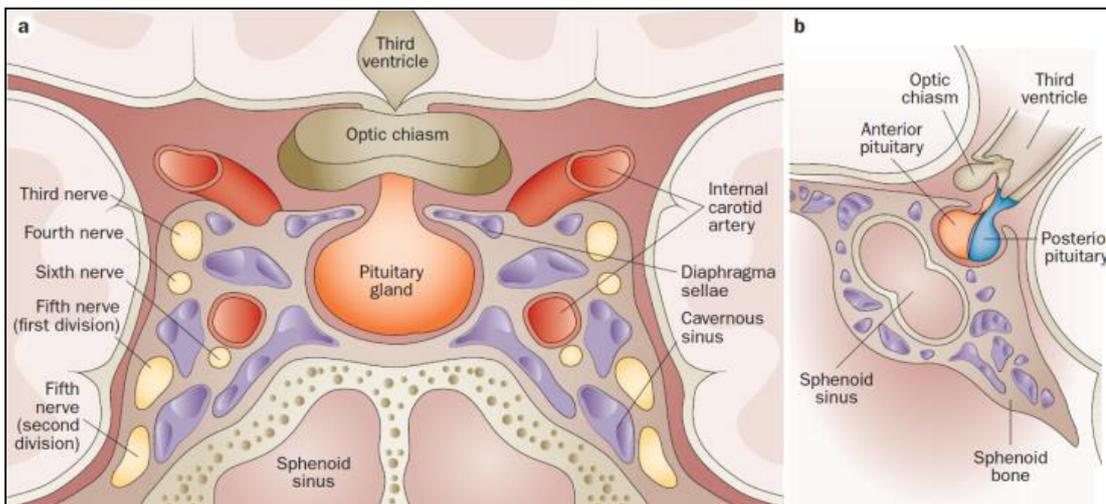
A terceira edição da classificação dos tumores hipofisários da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 2004 dividia os tumores em típicos, atípicos e carcinomas de acordo com a presença de marcadores de proliferação celular (Ki-67 e índice mitótico) e positividade nuclear para p53. Por essa classificação, adenomas atípicos - caracterizados por pelo menos dois dos seguintes critérios: elevado índice mitótico > 2 mitoses por campo, Ki-67 acima de 3% e intensa positividade para p53- apresentam maior potencial de agressividade, quando comparado aos adenomas típicos (AL-SHRAIM; ASA, 2006). Em 2017 a OMS elaborou a quarta edição da classificação de tumores endócrinos da hipófise anterior, eliminando o termo “adenoma atípico”, contudo, a avaliação do potencial de proliferação tumoral permaneceu com a utilização do índice mitótico e do Ki-67 para identificação de casos mais agressivos. Atualmente, considera-se que a combinação de sinais de invasividade (em exames de imagem), avaliação do comportamento clínico tumoral e a presença de marcadores de proliferação celular, como o Ki-67, seriam mais específicos e sensíveis na predição de agressividade tumoral. Independente dos critérios histopatológicos, também ficou evidente, após mais de 10 anos, que nem todos os adenomas atípicos apresentam comportamento clinicamente agressivo. (WORLD HEALTH..., 2017; LOPES, 2017).

Nas Diretrizes da Sociedade Europeia de Endocrinologia (ESE) os autores definem o diagnóstico de um tumor hipofisário agressivo em pacientes com tumor radiologicamente invasivo e taxa de crescimento tumoral extraordinariamente rápida ou clinicamente relevante, apesar das terapias padrão ideais (cirurgia, medicamentos e radioterapia). Para quantificação de dimensões tumorais, invasão e crescimento, sugeriram ressonância magnética de hipófise como escolha, além

disso, é necessária avaliação do perfil hormonal em todos esses casos com análise de sintomas específicos de cada expressão tumoral e triagem para doença metastática para diferenciação com os carcinomas (RAVEROT; BURMAN; MCCORMACK et al., 2018).

Knosp, Steiner e Kitz (1993), propuseram um sistema de classificação comparando achados intra-operatórios e de imagem, por ressonância nuclear magnética de hipófise, de invasão de seios cavernosos. Para compreendê-lo é necessário conhecer a anatomia hipofisária e das regiões adjacentes a essa glândula (Figura 2).

Figura 2 - Anatomia normal das regiões selar e paraselar. a. visão coronal. b. visão lateral.



Uma visão da anatomia normal das regiões selar e paraselar é necessária para entender os padrões de extensão e/ou invasão dos adenomas hipofisários que, da região selar pode invadir o osso circundante, expandindo-se inferiormente para o seio esfenoidal (*sphenoidal sinus*), superiormente para a cisterna supra-selar, comprimindo e / ou deslocando o quiasma óptico (*optic chiasm*) e se desenvolvendo em direção ao cérebro e terceiro ventrículo (*third ventricule*), ou lateralmente aos seios cavernosos (*cavernous sinus*).

Fonte: Adaptado de Di LEVA (2014)

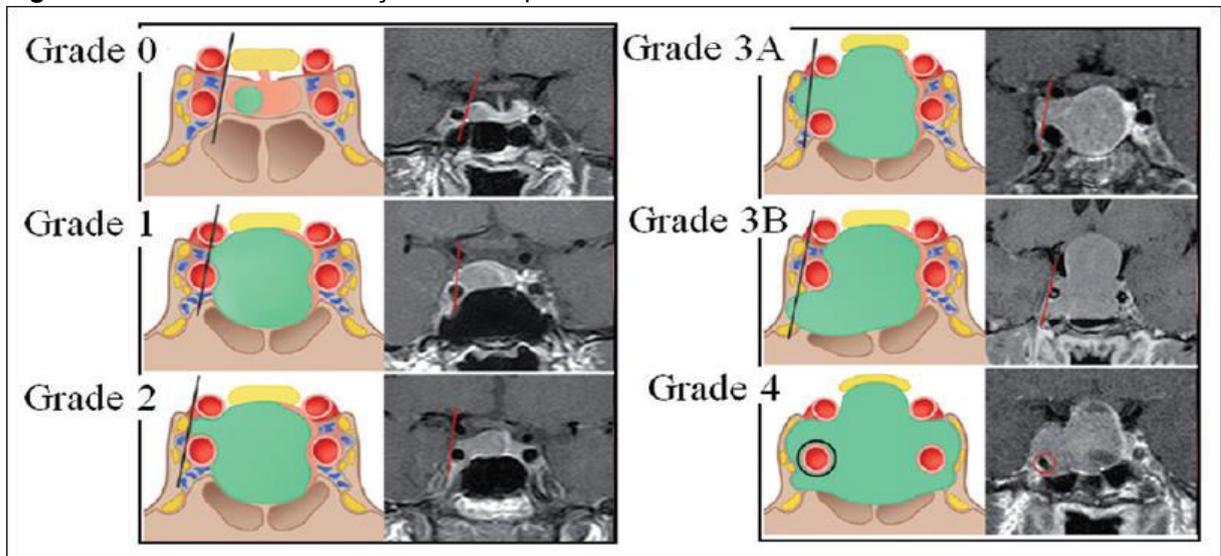
A classificação de Knosp et al. (1993) foi modificada em 2015 por Micko et al. (Figura 3) que subdividiram o grau 3 em 3 A e 3B dessa forma:

- Grau 0 - o adenoma não estende a linha medial da carótida.
- Grau 1 - o adenoma estende a linha medial, mas não alcança a linha mediana, denominada linha “Intercarotídea” (o tumor empurra a parede medial do seio cavernoso, mas não ultrapassa o limite da linha intercarotídea)

- Grau 2 - o adenoma se estende além da linha mediana, mas não se estende além ou é tangente à linha lateral (o tumor ultrapassa o limite da linha intercarotídea, mas não excede as margens laterais da artéria carótida interna)
- Grau 3 - tumor se estende além da linha lateral (extensão tumoral lateralmente à artéria carótida interna)
 - 3A - o tumor se estende para a linha lateral superiormente (sobre carótida interna)
 - 3B - o tumor se estende para a linha lateral inferiormente (sob a carótida interna)
- Grau 4 - tumor envolve totalmente a artéria carótida.

Na classificação de Knosp, apenas os adenomas grau 3 (especialmente 3B) e 4 são considerados verdadeiramente invasivos (KNOSP; STEINER; KITZ, 1993; DI IEVA ROTONDO; SYRO et al., 2014; MICKO; WOHRER; WOLFSBERGER et al., 2015).

Figura 3- Sistema de classificação de Knosp.



Fonte: Modificado de Dworakowska D, Grossman AB (2018).

2.3 Marcadores imunohistoquímicos

O estudo de marcadores imunohistoquímicos que possam prever o comportamento e prognóstico tumoral tem sido utilizado devido desenvolvimento de

técnicas de detecção imunológica de antígenos em tecidos (SAEGER, 2004). Isso revolucionou o estudo dos adenomas hipofisários, já que a imuno-histoquímica, através de marcadores de proliferação celular, pode determinar grandes mudanças no manejo terapêutico.

2.3.1 Proteína p53

A proteína p53 é um produto do gene supressor tumoral, o *TP53*. Ele participa na regulação do ciclo celular, tendo fundamental importância na manutenção da integridade do genoma ao permitir ações de mecanismos de reparo do DNA ou a remoção de células danificadas através do processo de apoptose (SAEGER, 2004).

O valor prognóstico da sua expressão foi previamente avaliado em muitos tipos de câncer. Embora mutações no p53 tenham sido raramente documentada em adenomas hipofisários, a imunorreatividade à p53 tem sido descrita com boa correlação à invasividade tumoral (SAEGER, 2004). Thapar et al. (1996) evidenciaram expressão positiva da p53 em 100% dos carcinomas hipofisários, 15% dos adenomas invasivos e negativa nos tumores não invasivos, demonstraram ainda que a expressão aumentada de p53 em tumores hipofisários poderia ser um indicador independente de recorrência local, sugerindo que o status do p53 pode estar associado a progressão tumoral (THAPAR; KOVACS; SCHEITHAUER et al., 1996).

A confiabilidade do p53 como um marcador de agressividade clínica em tumores da hipófise ainda é um assunto de discussões.

Por essa razão, a nova classificação da OMS alerta que a proteína p53 não é um marcador útil de agressividade para uso rotineiro, embora em algumas circunstâncias clínicas possa auxiliar na tomada de decisão (OSAMURA, 2017; NISHIOKA; INOSHITA, 2018).

2.3.2 Antígeno Ki-67

O Ki-67 é um antígeno nuclear expresso em todas as fases do ciclo celular, exceto G₀; portanto, é reconhecido como um marcador de proliferação. (WALIGORSKA; WIERZBICKA; SOKOLOWSKI et al., 2018).

O anticorpo monoclonal chamado MIB-1 (*Molecular Immunology Borstel*) que identifica um antígeno nuclear associado à proliferação celular, por meio de imunohistoquímica, cora para o antígeno Ki-67. (WALIGORSKA; WIERZBICKA; SOKOLOWSKI et al., 2018).

Thapar et al. (1996). sugeriram que o valor de corte de 3% distingue adenomas invasivos de não invasivos com especificidade de 97% e sensibilidade de 73% ; esse valor de corte foi, portanto, adotado nos critérios prévios da OMS em 2004. Entretanto, vários grupos demonstraram resultados discordantes, apoiando o uso deste marcador como um preditor de recorrência do tumor hipofisário ou argumentando contra sua utilidade (ZAIDI; COTE; DUNN et al., 2016; WALIGORSKA; WIERZBICKA, 2018; SALEHI, 2009). Salehi, Agur e Scheithauer et al. (2009) consideraram que os relatos contraditórios sobre o papel do índice Ki-67 são provavelmente o resultado da variação na definição de recorrência, bem como as diferentes técnicas de imunohistoquímica empregadas.

As diretrizes da Sociedade Europeia de Endocrinologia recomendam a análise histopatológica, que deve incluir, painel imuno-histoquímico de expressão de hormônios hipofisários e avaliação do índice proliferativo Ki-67. Adicionalmente a imunodeteção de p53 é realizada quando o índice Ki-67 é $\geq 3\%$, sugerindo que a interpretação dos resultados histopatológicos deve estar no contexto clínico, radiológico e cirúrgico do paciente, destacando que nenhum marcador é suficiente para prever o comportamento do tumor (RAVEROT; CASTINETTI; JOUANNEAU et al., 2012; LOPES, 2017; DI IEVA; ROTONDO; SYRO et al., 2014).

2.3.3 Proteína AIP

O gene *AIP* (*Aryl hydrocarbon receptor – interacting protein*) é composto de 6 éxons que codificam uma proteína com 330 aminoácidos. A proteína resultante é um supressor tumoral localizado no citoplasma celular e expressa em diferentes tecidos com níveis particularmente altos de expressão em células somatotróficas, lactotróficas e mamossomatotróficas mistas (CHAHAL, et al., 2009).

Os somatotropinomas são o tipo mais frequente de adenomas da hipófise que apresentam positividade para AIP (cerca de 70% dos casos), embora todos os tipos de adenomas tenham sido relatados associação com mutações de *AIP* na linha germinativa. (CHAHAL et al., 2009).

A baixa expressão da AIP parece ser uma característica dos adenomas hipofisários mais agressivos, além de parecer ser um preditor de fraca resposta aos análogos de somatostatina, independente da presença de mutações no gene (*JAFFRAIN-REA*; ANGELINI; GARGANO et al., 2009; VIERIMAA; GEORGITSI; LEHTONEN, 2006).

Em uma população não selecionada de adenomas hipofisários, a triagem genética para mutações no *AIP* não deve ser recomendada, pois são raras (0-4%) (BARLIER et al., 2007; CAZABAT, et al., 2012).

2.3.4 Padrão de expressão de citoqueratina (CAM 5.2)

Os somatotropinomas podem ser classificados através de microscopia eletrônica ou da imuno-histoquímica, em esparsamente (EG) ou densamente granulados (DG). (LOPES, 2017).

De acordo com a IHQ os tumores DG apresentam um padrão perinuclear e difuso da expressão de citoqueratina, enquanto os EG apresentam pontos paranucleares (corpos fibrosos), que são agregados concêntricos de filamentos de citoqueratina. (KATO; INOSHITA; SUGIYAMA, 2012).

Foi demonstrado por vários grupos que os adenomas somatotróficos esparsamente granulados são mais invasivos que outras variantes e, portanto, têm taxas de cura reduzida (KATO; INOSHITA; SUGIYAMA, 2012; LEE; VANCE; LOPES et al., 2015). O subtipo EG está relacionado com maior grau de recorrência e agressividade. (LOPES, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Analisar a expressão imuno-histoquímica dos marcadores Ki-67, p53, AIP e citoqueratina e sua relevância prognóstica em somatotropinomas.

3.2 Específicos

- a) Descrever as características sociodemográficas e clínicas dos pacientes diagnosticados com somatotropinomas.
- b) Avaliar as características tumorais dos somatotropinomas.
- c) Analisar a expressão dos marcadores imunohistoquímicos: Ki-67, p-53, AIP e citoqueratina.
- d) Analisar a associação da expressão imuno-histoquímica dos marcadores Ki-67, p53, AIP e citoqueratina com as características de agressividade e invasividade tumoral.

4 ARTIGO

PROPOSTA DE ARTIGO PARA SUBMISSÃO A *INTERNATIONAL JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY*

SOMATOTROPINOMAS: ASPECTOS CLÍNICOS E MARCADORES IMUNOHISTOQUÍMICOS

Luciana P. S. Guedelha,¹ Ana G. P. A. C. Nascimento,² Nadja C. Gaido,² Gilvan C. Nascimento,³ Marcelo S. Magalhães⁴ e Manuel S. Faria⁴

¹ Programa de pós-graduação em Saúde do Adulto da Universidade Federal do Maranhão (PPGSAD-UFMA), 65080-805, São Luís / Brasil

² Laboratório de patologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA), São Luís / 65020-070 Brasil

³ Serviço de Endocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA), São Luís / 65020-070 Brasil

⁴ Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão – CEPEC, São Luís, MA / 65020-070 Brasil

Correspondente: Luciana P. S Guedelha; lupguedelha@gmail.com

Resumo

Adenomas hipofisários representam cerca de 10 a 15% de todas as neoplasias intracranianas. Adenomas somatotróficos secretam hormônio do crescimento e têm frequência de 15 a 20% de todos os adenomas hipofisários. Embora predominantemente benignos, alguns adenomas possuem recorrência e/ou resistência ao tratamento, sendo considerados clinicamente agressivos. Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de expressão dos marcadores Ki-67, proteína p53, AIP e citoqueratina nos exames de imuno-histoquímica de somatotropinomas, relacionando esses dados com fatores preditores de agressividade e progressão da doença e com as características sociodemográficas e clínicas desses pacientes. Trata-se de um estudo analítico retrospectivo em que foram selecionados 22 pacientes submetidos a ressecção cirúrgica do tumor com idade superior a 18 anos, de ambos os sexos provenientes do Serviço de

Endocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão – HUUFMA. A coleta e a seleção dos dados pertinentes foram feitas por meio de revisão de prontuários no período de 2018 a 2019 e os pacientes foram acompanhados e submetidos a ressecção tumoral entre 2008 a 2016. Como resultados, houve maior prevalência do sexo feminino em tumores com Ki-67 $\geq 1\%$ (p-valor 0,046), além disso, a proteína p53 esteve associada ao tratamento com análogo de somatostatina pré-cirurgia (p-valor 0,049) e a maioria dos pacientes que tinham feito tratamento com essa medicação eram p53 negativo. Os marcadores Ki-67, p53, AIP e citoqueratina não foram associados com agressividade tumoral. Conclui-se que a interpretação dos resultados da imunohistoquímica deve estar no contexto clínico, radiológico e cirúrgico do paciente, destacando que dentre os marcadores avaliados, não foi possível identificar uma associação entre nenhum dos mesmos com comportamento agressivo do tumor.

Introdução

Adenomas hipofisários (AH) representam cerca de 10-15% de todas as neoplasias intracranianas [1]. Adenomas somatotróficos apresentam uma frequência de 15-20% de todos os AH [2].

Embora predominantemente benignos, alguns AH exibem recorrência e/ou resistência ao tratamento, sendo assim, considerados clinicamente agressivos [3,4]. Apesar de agressivo e invasivo serem comumente considerados sinônimos, a invasão do tumor - definida por critérios de imagem e cirúrgicos – nem sempre se correlaciona com agressividade [5].

A proliferação e a invasão tumorais parecem ser características relacionadas a um comportamento clínico mais agressivo dos tumores. A identificação de marcadores imunohistoquímicos que possam prever agressividade

tumoral é importante no manejo dos pacientes, melhorando as previsões prognósticas e a eficácia do tratamento [6].

Dentre os marcadores mais utilizados está o Ki-67, uma proteína (antígeno) nuclear reconhecida como um marcador de proliferação que é expresso em todas as fases do ciclo celular, exceto G0 [7].

Outro marcador utilizado para prever o comportamento tumoral é a proteína p53, ela é um produto do gene supressor tumoral *TP53* que desempenha um importante papel na apoptose, inibição da angiogênese e estabilidade genômica [8,9,10].

A AIP (*Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein*) é uma proteína presente em diferentes tecidos, mas com níveis particularmente altos de expressão em células somatotróficas [11]. A baixa expressão de AIP na imunohistoquímica (IHQ) parece ser uma característica dos AH mais agressivos [11,12].

Além disso, os somatotropinomas são classificados pela microscopia eletrônica ou imunohistoquímica em densamente (DG) ou esparsamente granulados (EG). Os EG apresentam maior grau de recorrência e agressividades [13].

A previsão do comportamento do tumor e recorrência da doença após neurocirurgia ainda é um desafio. Com o intuito de tornar o tratamento mais eficaz, a identificação de marcadores que possam prever agressividade é importante no auxílio de condutas terapêuticas.

Este estudo tem como objetivo avaliar o perfil de expressão dos marcadores Ki-67, p53, AIP e citoqueratina nos exames de imuno-histoquímica desses tumores, relacionando esses dados com fatores preditores de agressividade e com as características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinomas.

Materiais e métodos

Trata-se de um estudo analítico, retrospectivo conduzido no Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (HUUFMA). A coleta e a seleção dos dados pertinentes foram feitas por meio de revisão de prontuários realizadas no período de 2018 a 2019. Os pacientes foram acompanhados e submetidos a ressecção tumoral entre os anos 2008 a 2016.

Seleção de pacientes

Foram incluídos no estudo pacientes com diagnóstico confirmado de somatotropinoma, de ambos os sexos que já haviam sido submetidos a ressecção cirúrgica por via transesfenoidal e/ou transcraniana. A cirurgia foi realizada nos pacientes com idade superior a 18 anos. O seguimento dos pacientes foi de no mínimo 1 ano.

Avaliação clínica e demográfica

Variáveis como idade ao diagnóstico, gênero, modalidade e número de intervenções terapêuticas (medicamentos, cirurgias, radioterapia), comorbidades foram coletadas por meio de revisão de prontuários. Variáveis sobre as características da lesão tumoral, grau de invasão pré-cirurgia (baseados na classificação de Knosp) [14] e evolução do crescimento da lesão, após ressecção tumoral, foram armazenadas em um banco de dados. As imagens de Ressonância Nuclear Magnética da hipófise foram analisadas pelo mesmo radiologista.

Nesse estudo, somatotropinomas com comportamento clinicamente agressivo, foram definidos como aqueles que tiveram recorrência do tumor e / ou

foram menos responsivos ao tratamento pós-operatório.

As principais comorbidades relacionadas a acromegalia como: disglycemia (glicemia em jejum entre 100 e 125 mg/d), diabetes tipo 2, hipertensão arterial, cardiopatia, alterações tireoidianas, além das complicações relatadas em prontuário, após a cirurgia, também foram analisadas.

O comprometimento hormonal de outros eixos hipofisários pré e pós cirurgia (pan-hipopituitarismo) foi avaliado tendo-se como base exames laboratorias pela coleta de sangue e dosagem dos hormônios: fator de crescimento semelhante a insulina1 (IGF-1), folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH), tiroxina livre (T4L), prolactina (PRL), adrenocorticotrófico (ACTH), além de testosterona e estradiol.

Avaliação imuno-histoquímica/ anatomopatológica

Foi realizado um banco de dados com resultados do perfil imunohistoquímico dos somatotropinomas contendo os marcadores: Ki-67, p-53, AIP e citoqueratina (CAM 5.2). Algumas amostras foram excluídas por apresentarem necrose tumoral, tecido escasso, hipófise normal.

Toda casuística submetida à IHQ foi analisada por um único patologista.

A expressão dos anticorpos (Ac) Ki-67 (clone, SP6®; ABCAM, cod. P46013), p53 (clone, DO7®; DAKO, cod. M7001), anti-citoqueratina (clone, CAM 5.2; diluído, BD Biosciences, cod. 349205), AIP /ARA9 (clone 35-2; NB 100-127), e hormônio (GH; cod. AB940) foram rotineiramente obtidos por imunohistoquímica conforme metodologia previamente descrita por Avancini et al e Kasuki et al [15,16].

A obtenção das imagens foi realizada através da captura em microscopia de luz em objetiva de grande aumento, 40X (ampliação 40 vezes) acoplado a um sistema de câmera (Micro Axion Cam MRC-Zeiss®) fotografando os campos com

áreas de maior positividade (*hot spots*). As imagens foram transferidas para um sistema de computação, viabilizando a análise da expressão dos marcadores Ki-67 e p53. Para Ki -67 foram fotografados 5 a 10 campos e realizada a quantificação dos núcleos imunomarcados de 1000 células. Em relação ao p53, quantificou-se 10 núcleos fortemente positivos por 10 campos.

Para estimativa da expressão citoplasmática do AIP, foram pontuados: padrão difuso (escore 2) ou irregular (escore 1) e, para intensidade, forte (escore 3), moderado (escore 2) e fraco (escore 1). O escore final foi calculado multiplicando os dois escores (padrão e intensidade), considerando escore 0 (sem expressão), 1 e 2 baixa expressão de AIP e acima de 3, alta expressão.

Somatotropinomas com padrão de distribuição da citoqueratina perinuclear e difuso foram classificados como densamente granulados, enquanto os esparsamente granulados apresentam pontos paranucleares (corpos fibrosos).

Metodologia Estatística

Os dados foram tabulados e analisados no software Data Analysis and Statistical Software (STATA®) versão 14.0. As variáveis categóricas foram descritas em tabelas contendo frequências absolutas e relativas e as variáveis numéricas por mediana (intervalo interquartil), média \pm desvio padrão, valor mínimo e valor máximo. A normalidade dos dados foi verificada através do teste de Shapiro Wilk.

Para avaliar a diferença de proporção das variáveis categóricas entre os marcadores celulares foram utilizados os testes Exato de Fisher ou Qui-quadrado. O Test-T de student para amostras independentes ou o Mann-Whitney foram usados para analisar as variáveis numéricas. O nível de significância estabelecido para todas as análises foi de 5% ($p < 0,05$).

Aspectos éticos

Foram obedecidos os preceitos da Declaração de Helsinque e do Código de Nuremberg, respeitadas as Normas de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Res. CNS 466/12) do Conselho Nacional de Saúde com parecer nº 2.926.376 CAAE 95157818.9.0000.5086 aprovado no Comitê de ética e pesquisa.

Todos os participantes da presente pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

Resultados

- Características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinoma

A amostra constituiu-se inicialmente de 28 pacientes, sendo que 3 perderam seguimento, 2 apresentaram ao exame histopatológico hipófise normal e 1 paciente faleceu, restando 22 pacientes. Dentre os 22 somatotropinomas, 21 pacientes tinham diagnóstico de acromegalia e 1 paciente tinha gigantismo.

A média da idade ao diagnóstico de todos os pacientes foi de $37,68 \pm 11,03$ anos. Considerando apenas os pacientes com acromegalia a média de idade foi de 38,76 anos.

Em relação ao gênero, 13 (59,09%) foram do sexo feminino. No quesito comorbidade: 13 (59,09%) pacientes apresentaram dislipidemia, 12 (54,55%) hipertensão arterial, 9 (40,91%) disglícemia e 6 (27,27%) casos de diabetes tipo 2. Além disso, bócio uni-nodular foi encontrado na ultrassonografia de 6 (27,27%) dos pacientes com igual número de casos para bócio multinodular. Em 1 (4,5%) dos participantes foi detectado câncer papilífero de tireoide. O tempo de relato de percepção de sinais e sintomas de acromegalia até o diagnóstico foi igual ou maior que 5 anos em 13 (59,09%) dos pacientes (Tabela 1).

Tabela 1. Características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinoma. São Luís, MA-2019. (n=22)

VARIÁVEIS	N	%
Idade ao diagnóstico		
Média		37,68
Desvio padrão		11,03
Valor máximo		59
Valor mínimo		15
Mediana		40
Sexo		
Feminino	13	59,09
Masculino	9	40,91
Hipertensão arterial		
Sim	12	54,55
Não	10	45,45
Disglicemia*		
Sim	9	40,91
Não	7	31,82
Diabetes presente	6	27,27
Dislipidemia		
Sim	13	59,09
Não	9	40,91
Cardiopatía		
Presente	10	45,45
Ausente	11	50,00
Sem informação	1	4,55
Alteração na tireoide		
Não	9	40,91
Bócio uni-nodular	6	27,27
Bócio multinodular	6	27,27
Câncer	1	4,55
Tempo de percepção de sinais e sintomas		
Menos de 5 anos	9	40,91
Igual ou maior a 5 anos	13	59,09
Tempo de seguimento (anos)		
Média		5,61
Desvio padrão		3,73
Valor máximo		14,00
Valor mínimo		1,00
Mediana		5,00

*Disglicemia: valores de glicemia em jejum entre 100 e 125mg/dl

- Perfil imunohistoquímico e suas associações com características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinoma

Do total de 22 somatotropinomas, 20 (90,91%) foram classificados como macroadenomas. Na avaliação dos exames de ressonância nuclear magnética de hipófise, 7 (31,82%) apresentaram grau 0, 2 (9,09%) grau 3B e 2 (9,09%) grau 4, segundo a classificação de Knosp, com 4(18,18%) dos tumores sendo considerados invasivos. Em 6 (27,27%) dos casos os tumores foram classificados como

agressivos (tabela 2).

Ao exame de imuno-histoquímica, 16 (72,73%) apresentaram Ki-67 <1%, p53 foi positivo em 5 (22,73%) dos casos, 16 (72,73%) apresentaram alta expressão para AIP e 14 (63,64%) eram esparsamente granulados (Tabela 2).

Tabela 2. Características tumorais, marcadores imunohistoquímicos e desfechos de pacientes com somatotropinoma. São Luís, MA-2019. (n=22)

VARIÁVEIS	n	%
Tamanho do tumor		
Macroadenoma (maior que 1cm)	20	90,91
Microadenoma (menor que 1cm)	2	9,09
Classificação Knosp		
Grau 0	7	31,82
Grau 1	4	18,18
Grau 2	4	18,18
Grau 3A	3	13,64
Grau 3B	2	9,09
Grau 4	2	9,09
Ki-67*		
<1%	16	72,73
≥1%	6	27,27
p53**		
Negativo	17	77,27
Positivo	5	22,73
AIP***		
Alta	16	72,73
Baixa	6	27,27
Padrão de citoqueratina		
Densamente granulada	8	36,36
Esparsamente granulada	14	63,64
Invasividade		
Não-invasivo	18	81,82
Invasivo	4	18,18
Agressividade		
Não	16	72,73
Sim	6	27,27

* Ki-67-antígeno Ki-67; **p 53 - fosfoproteína 53; *** AIP (Aryl hydrocarbon receptor -interacting protein)

Ao analisar as associações da classificação do índice Ki-67 com as características sociodemográficas e clínicas, evidenciou-se apenas associação com a variável sexo (p-valor 0,046) (Tabela 3).

Houve associação da expressão de p53 com o uso de análogo de somatostatina pré-cirurgia (p-valor 0,049) (Tabela 3).

Tabela 3. Marcadores imunohistoquímicos, características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinoma. São Luís, MA-2019

VARIÁVEIS	Índice Ki-67(n=22)					p53(n=22)				
	<1%		≥1%		P-valor	Negativo		Positivo		P-valor
	N	%	n	%		N	%	N	%	
Sexo										
Feminino	7	43,75	6	100,00	0,046*	11	64,71	2	40,00	0,609*
Masculino	9	56,25	0	-		6	35,26	3	60,00	
Idade										
Média	36,00		42,16		0,257 ^t	38,94		33,40		0,335 ^t
Desvio padrão	12,04		6,55			2,63		5,24		
Uso de análogo de somatostatina pré cirurgia										
Não	8	50,00	5	83,33	1,000*	8	47,06	5	100,00	0,049*
Sim	8	50,00	1	16,67		9	52,94	0	-	
Controle da doença										
Não	5	33,33	3	50,00	0,631*	6	35,26	2	50,00	0,618*
Sim	10	66,67	3	50,00		11	64,71	2	50,00	

t- teste T; * Exato de Fisher. Ki-67: índice de proliferação Ki-67; p53 (fosfoproteína p53).

As características sociodemográficas e clínicas não foram associadas com a expressão de citoqueratina e AIP no exame de IHQ (Tabela 4)

Tabela 4. Marcadores imunohistoquímicos, características sociodemográficas e clínicas de pacientes com somatotropinoma. São Luís, MA-2019

VARIÁVEIS	CAM 5.2(n=22)					AIP(n=22)				
	Densamente granulado		Esparsamente granulado		P-valor	Alta		Baixa		P-valor
	N	%	N	%		N	%	N	%	
Sexo										
Feminino	5	62,50	8	57,14	1,000*	9	56,25	4	66,67	1,000*
Masculino	3	37,50	6	42,86		7	43,75	2	33,33	
Idade										
Média	42,62		38,85		0,114 ^t	37,56		38,00		0,936 ^t
Desvio padrão	8,15		11,72			12,59		11,03		
Uso de análogo de somatostatina pré cirurgia										
Não	5	62,50	8	57,14	1,000*	9	56,25	4	66,67	1,000*
Sim	3	37,50	6	42,86		7	43,75	2	33,33	
Controle da doença										
Não	2	25,00	6	46,15	0,400*	6	37,50	2	40,00	1,000*
Sim	6	75,00	7	58,85		10	62,50	3	60,00	

t – teste-t; * -Exato de Fisher; CAM 5-2: anticorpo anti-citoqueratina; AIP (proteína AIP).

- Agressividade tumoral como variável-resposta

Houve associação da variável agressividade tumoral com comprometimento do seio esfenoidal (p-valor 0,011) e do quiasma óptico (p-valor 0,001) ao exame de RNM de hipófise.

Nenhum dos marcadores imunohistoquímicos avaliados foram associados com invasividade e agressividade tumoral.

DISCUSSÃO

A acromegalia é uma doença rara e no momento do diagnóstico 75% dos pacientes apresentam macroadenomas [17]. Apesar de predominantemente benignos, alguns AH apresentam recorrência e/ou resistência ao tratamento, sendo considerados agressivos [18]. A utilização de marcadores imunohistoquímicos que possam prever o comportamento tumoral, pode auxiliar no manejo terapêutico.

Em relação aos dados sociodemográficos, a média de idade dos acromegálicos foi de 38,76 anos e, na maior parte dos pacientes (59,09%) o tempo de relato de percepção de sinais e sintomas de acromegalia até o diagnóstico foi igual ou maior a 5 anos, o que está em concordância com a literatura que mostra a descoberta diagnóstica geralmente na quarta ou quinta década de vida com um atraso de 5 a 10 anos desde o início dos sintomas [17,19,20]. Vale ressaltar que a duração real da doença não é definida de maneira precisa, já que as informações fornecidas pelo paciente podem ser subjetivas, além da própria característica de evolução insidiosa da acromegalia.

Nesse estudo 13(59,09 %) dos pacientes eram do sexo feminino. Laventraki et al [17] ao analisarem o perfil epidemiológico da acromegalia com base em estudos populacionais de várias áreas geográficas, verificaram que na maioria

deles, há uma distribuição semelhante da prevalência entre homens e mulheres, isso pode ser devido a maior parte dos estudos apresentarem um número muito pequeno de amostra, dificultando a conclusão de possíveis diferenças entre os sexos.

Dentre as comorbidades presentes na acromegalia as mais frequentes no estudo foram: dislipidemia (59,09%), hipertensão arterial (54,55%), disglícemia (40,91%) e diabetes tipo 2 (27,27%). Hoskuldsdottir et al. [2] encontraram resultados semelhantes.

Em relação a avaliação por ultrassonografia da glândula tireoide, foram encontrados 27,27% casos de bócio nodular e igual número de bócio multinodular, além disso, 1(4,55%) caso de câncer de tireoide foi diagnosticado. Santos et al [21] realizaram um estudo de caso-controle envolvendo pacientes de 3 centros hospitalares do nordeste brasileiro, incluindo 124 pacientes com acromegalia e ao estudo ultrassonográfico da tireoide, 20,1% tinham bócio difuso e 67(54%) apresentavam nódulo, onde 36 casos foram submetidos à punção aspirativa por agulha fina (PAAF) dos nódulos suspeitos (>1cm) e, nove (7,2%) casos de carcinoma papilífero foram encontrados. Em uma revisão feita recentemente, bócio nodular foi encontrado em 43-75,6% dos pacientes com acromegalia [22]. Na última década a prevalência de câncer de tireoide dobrou em acromegalia, atingindo 7%, [22,23] atribuindo-se isso aos efeitos sinérgicos do excesso de GH/IGF-1 e TSH sobre a célula folicular tireoidiana [22,23,24].

Ao avaliar a associação dos marcadores imunohistoquímicos com as características sociodemográficas observou-se que o sexo feminino foi mais prevalente na classificação do Ki-67 \geq 1%. Em alguns estudos [25,26] foi demonstrado que o Ki67 tinha uma relação significativa com o gênero com níveis de

expressão maiores no sexo masculino, enquanto outros, relataram no sexo feminino ou não observaram diferença significativa no nível de Ki67 entre homens e mulheres.

Nesse estudo não houve associação entre Ki-67 e agressividade tumoral, além disso houve uma grande variação nos valores desse marcador (0 a 2,1%). Dois artigos de revisão [27,28] enfatizam a relação da expressão do Ki-67 e parâmetros clínicos, dentre eles, agressividade tumoral e constataram resultados controversos quanto a contagem e mensuração do Ki-67, o que pode ser justificado pela heterogeneidade intratumoral, com achados de valores discordantes em diferentes amostras de um mesmo tumor. Acrescenta-se a isso, a realização da contagem em áreas selecionadas aleatoriamente, de forma automatizada sem priorizar análise de *hot spots* (área de maior expressão) o que leva a discordância de valores. A classificação mais recente de AH da OMS já não considera um valor de corte específico de Ki67 que defina agressividade, a ênfase é dada ao comportamento clínico do tumor, porém sem excluir a importância desse marcador. Isso reforça a necessidade de reprodutibilidade e padronização conclusiva para um consenso [27,28].

O tratamento com análogo de somatostatina pré-cirurgia esteve associado a p53, a maioria dos pacientes que tinham realizado tratamento com essa medicação antes da cirurgia tiveram expressão negativa para p53. Pode-se especular, que o pré-tratamento com análogo de somatostatina poderia reduzir a expressão de p53 e seu uso traria benefício. É necessário esclarecer o significado desse achado com estudos mais amplos para compreender o significado biológico da provável redução dessa expressão.

O estudo mostra que p53 não esteve associado à invasividade e agressividade tumorais. Desde 1999 Schreiber et al [29] encontraram expressão dessa proteína em apenas 20% dos adenomas invasivos. Posteriormente, estudos como os de Oliveira et al [30] concluíram que a expressão de p53 não estava associada à invasividade e agressividade tumoral, corroborando com a ideia de baixa sensibilidade e especificidade desse marcador para definição de agressividade e/ou invasividade.

Quanto a imunoexpressão de AIP não houve associação nesse estudo com agressividade tumoral, semelhante ao estudo de Waligorska et al [7]. Porém, Kazuki Jomori de Pinho et al. [16] avaliaram 38 pacientes com acromegalia esporádica e sugeriram que a baixa expressão de AIP é um melhor marcador de invasividade nos somatotropinomas quando comparados ao Ki-67 e p53. Em seu estudo a baixa expressão de AIP era mais frequente nos tumores invasivos, relacionando a ideia de que, nos somatotropinomas invasivos, AIP exerceria regulação negativa na progressão tumoral, o que não foi observado em nossos resultados.

Ao avaliar o padrão de expressão de citoqueratina na IHQ, também não se observou associação com as variáveis agressividade e invasividade tumoral, não havendo diferença entre os subgrupos EG e DG. Kazuki Jomori de Pinho et al [31] em um estudo com 31 pacientes com acromegalia, avaliou o padrão de expressão da citoqueratina em 24 tumores e encontrou resultados semelhantes.

Zada et al [18], em uma revisão retrospectiva envolvendo 25 somatotropinomas submetidos a cirurgia transesfenoidal, observaram que 13 dos pacientes apresentavam extensão infraselar e 5 deles atendiam critérios de agressividade, porém não encontraram associação com comprometimento do quiasma óptico. Ao avaliar agressividade como variável resposta nesse estudo,

houve associação com comprometimento do seio esfenoidal (região infraselar) e do quiasma óptico.

CONCLUSÃO

As comorbidades mais frequentes nos pacientes com somatotropinoma foram: dislipidemia (59,09%), hipertensão arterial (54,55%), cardiopatia (45,45%), disglicemia (40,91%) e de diabetes tipo 2 (27,27%). Em 1 (4,5%) dos participantes foi detectado câncer papilífero de tireoide. No momento do diagnóstico, a maioria (90,91%) dos tumores eram macroadenomas.

Não foi possível determinar o papel dos marcadores imunohistoquímicos, Ki-67, p53, AIP e citoqueratina, como fator preditor do comportamento agressivo e/ou invasivo dos somatotropinomas.

O achado da associação com p53 negativo nos pacientes que realizaram tratamento com análogo de somatostatina previamente à cirurgia merece estudos com uma amostra mais expressiva.

Referências

- [1] S. L. Asa & S. Ezzat, "The pathogenesis of pituitary tumors". *Annu. Rev. Pathol.* vol 4, pp: 97–126, 2009 .
- [2] G. T. Hoskuldsdottir, S.B. Fjalldal, H.A. Sigurjonsdottir, "The incidence and prevalence of acromegaly, a nationwide study from 1955 through 2013". *Pituitary*, vol.18, pp. 803-807, 2015.
- [3] G. Raverot, F. Castinetti, E. Jouannea, et al., "Pituitary carcinomas and aggressive pituitary tumors: merits and pitfalls of temozolomide treatment," *Clin Endocrinol (Oxf)*, vol. 76, pp:769–775, 2012.
- [4] H. A. Zaidi, D. J. Cote, I. F. Dunn, E. R. J. Laws, "*Predictors of aggressive clinical phenotype among immunohistochemically confirmed atypical adenomas*", *J Clin Neurosci* vol. 34, pp:246–251, 2016.
- [5] S.M.Priola, F. Esposito, S. Cannavò, et al., "*Aggressive Pituitary Adenomas: The Dark Side 'of the Moon'*" *World Neurosurg*, vol.97, pp:140-155, 2016.
- [6] A Jahangiri, J.R. Wagner JR, M. Pekmezci et al, "A comprehensive long-term retrospective analysis of silent corticotrophic adenomas versus hormone-negative adenomas", *Neurosurgery*, vol.73, pp. 8–17, 2013.
- [7] A. B. Waligorska, I. Wierzbicka, G. Sokolowski, D. Adamek and F Golkowski, 'Markers of proliferation and invasiveness in somatotropinomas" *Endokrynologia Polska* vol. 69, no. 2, pp. 182-189, 2018.
- [8] R. Y. M. D, Osamura, "Pathology of Pituitary Tumors Update with World Health Organization new Classification 2017", *AJSP: Reviews & Reports*, vol. 22, no. 04, pp. 189-195, 2017.
- [9] H. Nishioka, N. Inoshita, "New WHO classification of pituitary adenomas (4th edition): assessment of pituitary transcription factors and the prognostic histological factors", *Brain Tumor Pathol.*, vol.35, no. 02, pp. 57-61, 2018.
- [10] C. Harris & M. Hollstein, "Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene", *New England Journal of Medicine*, vol. 329, pp: 1318-1327, 1993.
- [11] *Jaffrain-Rea M.L*, Angelini M, Gargano D, Tichomirowa M. A et al., "Expression of aryl

hydrocarbon receptor (AHR) and AHR-interacting protein in pituitary adenomas: pathological and clinical implications”, *Endocr Relat Cancer*, vol. 16, no 03 pp. 1029-1043, 2009

[12] O. Vierimaa, M. Georgitsi, R. Lehtonen et al., Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene, *Science*, vol. 312 no 5777, pp. 1228-1230, 2006.

[13] M. B. S. Lopes “The 2017 World Health Organization classification of tumors of the pituitary gland: a summary”, *Acta Neuropathol*, vol 134, pp:521–535, 2017.

[14] E. Knosp E. Steiner, K. Kitz and C. Matula, “Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings” *Neurosurgery* vol. 33, pp. 610–618, 1993

[15] V. F.A. Avancini, L.O. Leandro, J. Vassalo et al, “Interlaboratorial quality-control in immunohistochemistry: cytokeratin and estrogen receptors as models”, vol. 40, no. 3, 2004.

[16] K. J. de Pinho, L. Vieira Neto, L. E. Armondi Wildemberg et al.,” Low aryl hydrocarbon receptor-interacting protein expression is a better marker of invasiveness in somatotropinomas than Ki-67 and p53”, *Neuroendocrinology*, vol. 94, no 1, pp. 39-48, 2011.

[17] A. Lavrentaki, A. Paluzzi, J. A. H. Wass, N. Karavitaki, “Epidemiology of acromegaly: review of population studies”, *Pituitary*, vol. 20, pp.4–9, 2017.

[18] G. Zada, N. Lin, E.R. Laws, “*Patterns of extrasellar extension in growth hormone-secreting and nonfunctional pituitary macroadenomas*”, *Neurosurg Focus*, 29, no 4, 2010.

[19] A. Abreu, A.P. Tovar, R. Castellanos et al., “*Challenges in the diagnosis and management of acromegaly: a focus on comorbidities*”, *Pituitary* vol 19, pp. 448–457, 2016.

[20]. J. Dal, U. Feldt-Rasmussen, M. Andersen et al., Acromegaly incidence, prevalence, complications and long-term prognosis: a nationwide cohort study”, *Eur J Endocrinol*, vol. 175, pp. 181-190, 2016.

[21] M. S. C. Santos, G. C. Nascimento, A. G. C. Nascimento, V. C. Chaves, M. H. C. Lopes, R. Montenegro, R. Jr. Montenegro, L. Vilar, M. F. Albano, A. Alves, R. Vasconcelos, C. V. Parente, M. S.

Faria, "Thyroid cancer in patients with acromegaly: a case-control study", *Pituitary (New York)*, vol. 16, no. 1 pp: 109-114, 2013.

[22] M. R. Gadelha, L. Kasuki, L. Lim, D. S. T Lim, M. Fleseriu, "Systemic complications of acromegaly and the impact of the current treatment landscape: an update, 2019", vol. 40, no 1, pp. 268-332, 2019.

[23] B.E. Gullu, O. Celik, N. Gazioglu, P. Kadioglu, "Thyroid cancer is the most common cancer associated with acromegaly", *Pituitary*, vol.13, pp. 242-248, 2010

[24] C.L. Boguszewski, J. Ayuk, "Management of endocrine disease: Acromegaly and cancer: an old debate revisited", *Eur J Endocrinol*, vol.175, R147-15, 2016.

[25] S. Wolfsberger, J. Wunderer, I. Zachenhofer et al., "Expression of cell proliferation markers in pituitary adenomas – correlation and clinical relevance of MIB-1 and anti-topoisomerase-II alpha", *Acta Neurochir (Wien)*, vol.146, pp.831-9, 2004.

[26] M. Alimohamadi, V. Ownagh, L. Mahouzi, A. Ostovar, K. Abbassioun, A. Amirjshidi , "The impact of immunohistochemical markers of Ki-67 and p53 on the long-term outcome of growth hormone-secreting pituitary adenomas: A cohort study" *Asian J Neurosurg*, vol. 9, no.3, pp. 130-136, 2014.

[27] A. Di Ieva, F. Rotondo, L. V. Syro, M. D. Cusimano, K. Kovacs, Aggressive pituitary adenomas—diagnosis and emerging treatments, *Nat Rev Endocrinol*, vol. 10, no 7, pp. 423-435, 2014.

[28] F. Salehi, A. Agur, B. W. Scheithauer, K. Kovacs, R.V. Lloyd, M. Cusimano, Ki67 in pituitary neoplasms: a review-part I, *Neurosurgery*, vol. 65, no 3, pp. 429-437, 2009.

[29] S. Schreiber, W. Saeger, D. K. Lüdecke, "Proliferation markers in different types of clinically non-secreting pituitary adenomas", *Pituitary*, vol. 1, pp. 213–220, 1999.

[30] M.C. Oliveira, C.P. Marroni , C.B. Pizarro, et al., " Expression of p53 protein in pituitary adenomas", *Braz J Med Biol Res*, vol. 35, no.5, pp:561-5, 2002.

[31] K. J. de Pinho, L.E. Arondi Wildemberg, L. Vieira Neto, J.Marcondes, C.M. Takiya and M. R. Gadelha, "Ki-67 is a predictor of acromegaly control with octreotide LAR independent of SSTR2 status and relates to cytokeratin pattern", *Eur J Endocrinol*, vol. 169, no. 2 pp.217-23, 2013.

REFERÊNCIAS

ABU DABRH AM, MOHAMMED K, ASI N, FARAH WH, WANG Z, FARAH MH, PROKOP LJ, KATZNELSON L, MURAD MH (2014) Surgical interventions and medical treatments in treatment-naïve patients with acromegaly. **J Clin Endocrinol Metab** 99(11):4003–4014.

Al-SHRAIM M, ASA SL. The 2004 World Health Organization classification of pituitary tumors: what is new? **Acta Neuropathol**. 2006 Jan;111((1)):1–7.

BARLIER, et al. Mutations in the aryl hydrocarbon receptor interacting protein gene are not highly prevalent among subjects with sporadic pituitary adenomas **J Clin Endocrinol Metab**, 92 (2007), pp. 1952-1955.

BEN-SHLOMO A, MELMED S. Acromegaly. **Endocrinol Metab Clin North Am** 2008; 37:101-122 2.

BRUE T, CASTINETTI F, LUNDGREN F, et al. Wich patients with acromegaly are treated with pegvisomant?An overview of methodology and baseline data in ACROSTUDY. **Eur J Endocrinol** 2009; 161 Suppl 1: 511.

CAZABAT, L. et al. Germline AIP **mutations in apparently sporadic pituitary adenomas**: prevalence in a prospective single-center cohort of 443 patients **J Clin Endocrinol Metab**, 97 (2012), pp. E663-E670.

COLAO A, FERONE D, MARZULLO P, LOMBARDI G. SYSTEMIC Complications of ACROMEGALY: epidemiology, pathogenesis, and management. **Endocr Rev** 2004; 25:102-152.

COLAO A, VANDEVA S, PIVONELLO R, GRASSO LF, NACHEV E, AURIEMMA RS, KALINOV K, ZACHARIEVA S. Could different treatment approaches in acromegaly influence life expectancy? A comparative study between Bulgaria and Campania (Italy). **Eur J Endocrinol** 2014; 171:263-273.

DAL J, FELDT-RASMUSSEN U, ANDERSEN M, KRISTENSEN LO, LAURBERG P, PEDERSEN L, DEKKERS OM, SORENSEN HT, JORGENSEN JO. **Acromegaly incidence, prevalence, complications and long-term prognosis**: a nationwide cohort study. **Eur J Endocrinol** 2016.

Di IEVA A, ROTONDO F, SYRO LV, CUSIMANO MD, KOVACS K (2014) Aggressive pituitary adenomas—diagnosis and emerging treatments. **Nat Rev Endocrinol** 10:423–435.

DOGAN S, ATMACA A, DAGDELEN S, ERBAS B, ERBAS T. Evaluation of thyroid diseases and differentiated thyroid cancer in acromegalic patients. **Endocrine** 2014; 45:114-121.

DWORAKOWSKA D, GROSSMAN AB. Aggressive and malignant pituitary tumors:

state-of-the-art. **Endocr Relat Cancer**. 2018.

KNOSP E, STEINER, K, KITZ and C. MATULA, "Pituitary adenomas with invasion of the cavernous sinus space: a magnetic resonance imaging classification compared with surgical findings" **Neurosurgery** vol. 33, pp. 610–618, 1993.

F. SALEHI,, A. AGUR, B. W. SCHEITHAUER, K. KOVACS, R.V. LLOYD, M. Cusimano, Ki67 in pituitary neoplasms: a review-part I, **Neurosurgery**, vol. 65, no 3, pp. 429-437, 2009.

GADELHA, M. R., L.; KASUKI, L. LIM, D. S. T LIM, M. FLESERIU, "Systemic complications of acromegaly and the impact of the current treatment landscape: an update, 2019", vol. 40, no 1, pp. 268-332, 2019.

H. NISHIOKA,N. INOSHITA, "New WHO classification of pituitary adenomas (4th edition): assessment of pituitary transcription factors and the prognostic histological factors", **Brain Tumor Pathol.**, vol.35, no. 02, pp. 57-61, 2018.

H.S. CHAHAL, *et al.* Somatostatin analogs modulate AIP in somatotroph adenomas: the role of the ZAC1 pathway **J Clin Endocrinol Metab**, 97 (2012), pp. E1411-E1420.

HAUGEN BR, ALEXANDER EK, BIBLE KC, DOHERTY GM, MANDEL SJ, NIKIFOROV YE, PACINI F, RANDOLPH GW, SAWKA AM, SCHLUMBERGER M, SCHUFF KG, SHERMAN SI, SOSA JA, STEWARD DL, TUTTLE RM, WARTOFSKY L. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. **Thyroid** 2016; 26:1-133.

HOSKULDSDOTTIR GT, FJALLDAL SB, SIGURJONSDOTTIR HA. The Incidence and prevalence of acromegaly, a nationwide study from 1955 through 2013. **Pituitary** 2015; 18:803-807.

JAFFRAIN-REA M.L, ANGELINI M, GARGANO D, TICHOMIROVA M. A *et al.*, "Expression of aryl hydrocarbon receptor (AHR) and AHR-interacting protein in pituitary adenomas: pathological and clinical implications", **Endocr Relat Cancer**, vol. 16, no 03 pp. 1029-1043, 2009.

JENKINS PJ, SOHAIB SA, AKKER S, *et al.* The pathology of median neuropathy in acromegaly. **Ann Intern Med** 2000; 133:197.

KATO M, INOSHITA N, SUGIYAMA T, TANI Y, SHICHIRI M, SANO T *et al* (2012) Differential expression of genes related to drug responsiveness between sparsely and densely granulated somatotroph adenomas. **Endocr J** 59:221–228.

KATZNELSON L, LAWS ER, Jr., MELMED S, MOLITCH ME, MURAD MH, UTZ A, *et al.* Acromegaly: An endocrine society Clinical practice guideline. **J Clin Endocrinol Metab**. 2014;99(11):3933–51.

LEE CC, VANCE ML, LOPES MB, XU Z, CHEN CJ, SHEEHAN J (2015) Stereotactic

radiosurgery for acromegaly: outcomes by adenoma subtype. **Pituitary** 18:326–334
 LOPES MBS. The 2017 world health organization classification of tumors of the pituitary gland: a summary. **Acta Neuropathol.** 2017;134:521–535.

LUGO G, PENA L, CORDIDO F (2012) Clinical manifestations and diagnosis of acromegaly. **Int J Endocrinol** 2012:540398.

MELMED S, BRONSTEIN MD, CHANSON P, KLIBANSKI A, CASANUEVA FF, WASS JAH, STRASBURGER CJ, LUGER A, CLEMMONS DR, GIUSTINA A (2018) A consensus statement on acromegaly therapeutic outcomes. **Nat Rev Endocrinol** 14(9):552–561.

MELMED S. Medical progress: Acromegaly. *N Engl J Med.* 2006;355(24):2558–73.

MERCADO M, GONZALEZ B, VARGAS G, RAMIREZ C, de LOS MONTEROS AL, SOSA E, JERVIS P, Roldan P, MENDOZA V, LOPEZ-FELIX B, GUINTO G. Successful mortality reduction and Control of comorbidities in patients with acromegaly followed at a highly specialized multidisciplinary clinic. **J Clin Endocrinol Metab** 2014; 99:4438-444.

MICKO AS, WOHRER A, WOLFSBERGER S, KNOSP E. Invasion of the cavernous sinus space in pituitary adenomas: Endoscopic verification and its correlation with an MRI-based classification. **J Neurosurg.** 2015;122(4):803–11.

MOSCA S, PAOLILLO S, COLAO A, BOSSONE E, CITTADINI A, IUDICE FL, et al. Cardiovascular involvement in patients affected by acromegaly: An appraisal. **Int J Cardiol** 2013;167:1712–8.

O. VIERIMAA, M. GEORGITSI, R. LEHTONEN et al., Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene, **Science**, vol. 312 no 5777, pp. 1228-1230, 2006.

OSAMURA, R. Y. M. D, , “Pathology of Pituitary Tumors Update with World Health Organization new Classification 2017”, **AJSP: Reviews & Reports**, vol. 22, no. 04, pp. 189-195, 2017.

RAVEROT G, BURMAN P, MCCORMACK A, HEANEY A, PETERSENN S, Popovic V, TROUILLAS J, DEKKERS OM. European Society of E. European Society of ENDOCRINOLOGY Clinical Practice Guidelines for the management of aggressive pituitary tumors and carcinomas. **Eur J Endocrinol.** 2018;178:G1–G24.

RAVEROT G, CASTINETTI F, JOUANNEAU E, MORANGE I, FIGARELLA-BRANGER D, DUFOUR H, TROUILLAS J, BRUE T. Pituitary carcinomas and aggressive pituitary tumors: merits and pitfalls of temozolomide treatment. **Clin Endocrinol (Oxf).** 2012;76:769–775.

RIBEIRO-OLIVEIRA A., BARKAN A. The changing face of acromegaly - Advances in diagnosis and treatment. **Nat. Rev. Endocrinol.** 2012;8:605–611

RICK, J., JAHANGIRI, A., FLANIGAN, P. M., CHANDRA, A., KUNWAR, S., BLEVINS, L., & AGHI, M. K. (2018). Growth hormone and prolactin-staining tumors causing acromegaly: a retrospective review of clinical presentations and surgical outcomes. **Journal of Neurosurgery**, 1–7. doi:10.3171/2018.

S.M.PRIOLA, F. ESPOSITO, S. CANNAVÒ, et al., “*Aggressive Pituitary Adenomas: The Dark Side ‘of the Moon’*” *World Neurosurg*, vol.97, pp:140-155, 2016.

SAEGER W. Proliferation markers and cell cycle inhibitors in pituitary adenomas. **Front Horm Res**. 2004; 32: 110-26.

SAMANI AA, YAKAR S, LEROITH D, BRODT P. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. **Endocr Rev** 2007; 28:20-47.

SUBBARAYAN SK, FLESERIU M, GORDON MB, BRZANA JA, KENNEDY L, FAIMAN C, HATIPOGLU BA, PRAYSON RA, DELASHAW JB, WEIL RJ, HAMRAHIAN AH. Serum IGF-1 in the diagnosis of acromegaly and the profile of patients with elevated IGF-1 but normal glucose-suppressed growth hormone. **Endocr Pract**. 2012 Nov-Dec;18(6):817-25.

THAPAR K, KOVACS K, SCHEITHAUER BW, STEFANEANU L, HORVATH E (1996). Proliferative activity and invasiveness among pituitary Adenomas and carcinomas: an analysis using the MIB-1 antibody. **Neurosurg**. 38: 99–107.

UCHOA HB, LIMA GA, CORREA LL, VIDAL AP, CAVALLIERI SA, VAISMAN M, BUESCU A, GADELHA MR. Prevalence of thyroid diseases in patients with acromegaly: experience of a Brazilian center. **Arq Bras Endocrinol Metabol** 2013; 57:685-690

WALIGORSKA, A. B., I.; WIERZBICKA, G. SOKOLOWSKI, D. ADAMEK and F GOLKOWSKI, ‘Markers of proliferation and invasiveness in somatotropinomas’ **Endokrynologia Polska** vol. 69, no. 2, pp. 182-189, 2018.

WOLINSKI K, CZARNYWOJTEK A, RUCHALA M. Risk of thyroid nodular disease and thyroid cancer in Patients with acromegaly--meta-analysis and systematic review. **PLoS One** 2014; 9:e88787.

WORLD HEALTH ORGANIZATION CLASSIFICATION of Tumors of Endocrine Organs. 4th ed. **Lyon**: IARC Press; 2017.

ZAIDI HA, COTE DJ, DUNN IF, LAWS ER JR (2016) Predictors of aggressive clinical phenotype among immunohistochemically confirmed atypical adenomas. *J Clin Neurosci* 34:246–251

ANEXOS



UFMA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EXPRESSÃO IMUNOHISTOQUÍMICA DO KI-67 E DAS MUTAÇÕES DO GENE P53 E SUA RELEVÂNCIA CLÍNICA EM SOMATOTROPINOMAS

Pesquisador: Manuel dos Santos Faria

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 95157818.9.0000.5086

Instituição Proponente: Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU/UFMA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.926.376

Apresentação do Projeto:

INTRODUÇÃO: A hipófise é uma glândula endócrina localizada na base do cérebro no interior do osso esfenóide em um local chamado sela túrcica. É composta por duas partes anatômica e funcionalmente distintas, a adenohipófise e neurohipófise. A partir da secreção de seus hormônios regula a função de várias outras glândulas. Os adenomas hipofisários estão entre os mais freqüentes tumores intracranianos, representando 10 a 15% desses. Em função da sua atividade hormonal, os adenomas podem ser classificados como clinicamente funcionantes (secretam quantidade hormonal suficiente para promover síndromes clínicas correspondente ao tipo hormonal em excesso) e não funcionantes. Os adenomas de hipófise são na sua maioria classificados como benignos, com crescimento lento, porém 30 a 45% podem apresentar-se com invasão de compartimentos parasselares e/ou do seio esfenoidal e um número significativo pode apresentar um comportamento clinicamente agressivo, essencialmente fundamentado em um padrão de recorrência precoce e/ou múltipla durante o seguimento clínico a despeito de cirurgias e terapêutica medicamentosa. Adenomas clinicamente agressivos podem exigir várias modalidades de tratamento sendo muitas vezes difícil o seu manejo, assim esse subtipo deveria ser precocemente identificado, de forma a propiciar um tratamento mais eficaz com um acompanhamento clínico e radiológico mais estrito com pronta instituição de terapia adjuvante no caso de persistência ou recorrência. As características histológicas dos adenomas com virtual ausência de figuras de mitose, as atipias citológicas observadas, além de um discreto

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

UF: MA

Município: SAO LUIS

CEP: 65.020-070

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



UFMA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 2.926.376

pleomorfismo nuclear não são capazes de fornecer dados relevantes para o manejo clínico, para a capacidade de evoluir de forma invasiva ou recidivante após cirurgia. Uma proteína (antígeno) expressa no ciclo celular, presente em células com potencial proliferativo, chamada Ki-67 é um marcador biológico considerado relevante para predizer o comportamento tumoral, com papel essencial no prognóstico e direcionamento terapêutico utilizado em diversas neoplasias, tais como carcinoma de mama, tumores do sistema nervoso central, da cérvix uterina, carcinoma da glândula adrenal e tumores neuroendócrinos. Cerca de 70% das neoplasias possuem uma deficiência na função do gene p53, este é extensivamente estudado já que pacientes que apresentam mutações nesse gene, geralmente evoluem com pior prognóstico. Esse estudo retrospectivo irá identificar a relação da presença da mutação do gene p53 e a expressão da proteína Ki-67 nos adenomas hipofisários produtores de hormônio do crescimento (GH) em pacientes com acromegalia e suas implicações com os aspectos invasivos e agressivos, bem como buscar fatores preditores desta agressividade e progressão tumoral. A invasão foi definida por meio de achados radiológicos pré-operatórios, intraoperatórios ou pela histologia. Estudos retrospectivos podem demonstrar valores mais baixos de Ki-67, em virtude da perda da antigenicidade do material emblocado em parafina por tempo prolongado. As restrições relacionadas aos valores de Ki-67, demonstrando resultados divergentes, envolvem desde fatores pré-analíticos com diferentes técnicas laboratoriais, em protocolos de imunohistoquímica, até as características biológicas como uma heterogeneidade intratumoral de proliferação celular levando a diferentes fatores a depender da amostra obtida de um mesmo tumor. Apesar de todas as limitações descritas é inquestionável que a expressão de Ki-67 e a proliferação celular estejam intimamente relacionadas, sendo esse antígeno amplamente utilizado na rotina como marcador prognóstico de agressividade. A ressonância nuclear magnética possibilita a partir da avaliação da presença ou não de comprometimento dos seios cavernosos uma classificação neuro-radiológica de prognóstico, conhecida como classificação de Knosp, onde a artéria carótida interna é usada como um marco radiológico da qual é traçada uma linha hipotética intercarotídea que se estende dos centros dos segmentos intra e supracavernosos dessa artéria e linhas tangentes às paredes medial e lateral desses segmentos. São considerados 5 graus de invasão e somente os graus 3 e 4 definem verdadeira invasão dos seios cavernosos. • Grau 0: a condição anatômica é normal no espaço dos seios cavernosos; • Grau 1: o tumor empurra a parede medial do seio cavernoso, mas não ultrapassa o limite da linha intercarotídea; • Grau 2: o tumor ultrapassa o limite da linha intercarotídea, mas não excede as margens laterais da artéria carótida interna; • Grau 3: observa-se extensão tumoral lateralmente à artéria carótida interna, no interior dos seios cavernosos; •

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br

Continuação do Parecer: 2.926.376

Grau 4: a artéria carótida é totalmente envolvida pelo adenoma hipofisário. Os aspectos histopatológicos das lesões, após a abordagem inicial baseada na classificação funcional e neuroradiológica dos adenomas causadores de Acromegalia, passam a desempenhar um papel importante na conduta terapêutica após a cirurgia. Com a evolução das técnicas de imunohistoquímica, a classificação histopatológica dos adenomas hipofisários também foi modificada, não se utilizando apenas afinidade tintorial. A imunohistoquímica por meio de anticorpos específicos permitiu identificar a expressão hormonal em células tumorais, observando-se tumores produtores de hormônios, mesmo que clinicamente silenciosos. OBJETIVO: Analisar a expressão imunohistoquímica do índice de proliferação celular Ki-67 e das mutações do gene p53, além da sua relevância prognóstica em adenomas hipofisários de pacientes com Acromegalia atendidos no serviço de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão. MÉTODOS: Trata-se de um estudo analítico, retrospectivo onde a amostra foi coletada tendo-se acesso a um banco de dados de pacientes com Acromegalia já submetidos a procedimentos cirúrgicos de hipofisectomia e que já foram realizados exames de imunohistoquímica. Será feita uma revisão de prontuários para coleta de dados clínicos como invasão tumoral, resposta ao tratamento e prognóstico. Critério de Inclusão: Serão incluídos pacientes em acompanhamento no ambulatório de Neuroendocrinologia do HUUFMA com diagnóstico de Acromegalia que foram submetidos à ressecção cirúrgica do tumor, com idade superior a 18 anos de ambos os sexos. Critério de Exclusão: Foram excluídos do estudo pacientes cuja amostra do tumor apresenta autólise, necrose extensa, pouca representatividade tecidual, tecido hipofisário normal ou artefatos que impediram ou dificultaram a técnica de imunohistoquímica. Local e período do estudo: O estudo será desenvolvido no Hospital Universitário da UFMA, unidade Presidente Dutra no período de Novembro de 2018 a Janeiro de 2020. Os pacientes foram atendidos no ambulatório de Neuroendocrinologia no período de Janeiro de 2008 a Agosto de 2016 e foram submetidos a ressecção tumoral no serviço de Neurocirurgia deste hospital. A obtenção das amostras em blocos de parafinas para exames de imunohistoquímica em pesquisas anteriormente realizadas já tiverem autorização prévia dos participantes mediante TCLE, no qual se informou sobre pesquisas futuras. Os resultados foram armazenados em um banco de dados no período de Novembro de 2008 a Agosto de 2016 e servirão para essa pesquisa com a finalidade de correlacionar dados desses marcadores com a resposta terapêutica, o grau de invasão e prognóstico desses pacientes, sendo usados dados coletados nos respectivos prontuários. O diagnóstico de Somatotropinomas foi realizado de acordo com a rotina do ambulatório de Neuroendocrinologia do HUUFMA, baseando-se em dados

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br

Continuação do Parecer: 2.926.376

do prontuário que demonstrem exames laboratoriais que comprovem a hipersecreção de hormônio do crescimento (GH). A presença de todos os Somatotropinomas foi constatada através do exame de Ressonância Nuclear Magnética. A partir de uma revisão dos prontuários serão coletados dados que permitam analisar a invasividade tumoral baseando-se na classificação de Knosp, adotando-se como adenomas não invasivos àqueles que apresentarem graus 0 a 2 e invasivos, os de grau 3 e 4. O grau será avaliado por um único radiologista usando RNM prévia à cirurgia. Será avaliada também a resposta terapêutica medicamentosa e/ ou cirúrgica desses adenomas, tentando -se estabelecer o prognóstico mediante os resultados da imunohistoquímica. ANÁLISE DOS DADOS: A amostra constitui-se de 28 pacientes com Acromegalia que foram submetidos a procedimentos cirúrgicos e tiveram seus dados armazenados em um banco de dados. Os dados dos prontuários somente serão coletados após parecer favorável emitido pelo Comitê Científico (COMIC) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUUFMA. Após coleta, serão armazenados em variáveis de um banco de dados com auxílio de um computador e, a seguir, analisados por um programa de estatística. Os dados do exame de imunohistoquímica dos Somatotropinomas já foram armazenados em um banco de dados de pesquisas já realizadas no serviço de neuroendocrinologia do HUUFMA anteriormente. FONTE DE FINANCIAMENTO: Financiamento próprio.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Analisar a expressão imunohistoquímica do índice de proliferação celular Ki-67 e das mutações do gene p53, além da sua relevância prognóstica em adenomas hipofisários de pacientes com Acromegalia atendidos no serviço de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão.

Objetivo Secundário:

- Correlacionar a expressão do marcador Ki-67 e da mutação do gene p53 em adenomas hipofisários de pacientes com Acromegalia.
- Correlacionar a expressão do marcador Ki-67 e da mutação do gene p53 com as características clínicas, tais como tamanho, invasão, aspectos radiológicos e resposta terapêutica em adenomas hipofisários de pacientes com Acromegalia submetidos a procedimento cirúrgico.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os pesquisadores, há riscos mínimos aos participantes, pois os exames já foram realizados e armazenados em um banco de dados, tais amostras foram obtidas mediante

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

UF: MA

Município: SAO LUIS

CEP: 65.020-070

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br

Continuação do Parecer: 2.926.376

consultas ambulatoriais e procedimentos cirúrgico de hipofisectomia. Riscos estes que foram minimizados com auxílio de profissionais de saúde treinados e capacitados para realização da coleta. O pesquisador fará uma revisão de prontuário dos pacientes que já foram submetidos a essas coletas e dará assistência em caso de dúvidas que envolvam seu tratamento e danos que possam ocorrer após hipofisectomia. Os dados dos pacientes serão coletados através da consulta do prontuário, exames já realizados no acompanhamento do serviço e que já tiveram consentimento através de TCLE em pesquisas anteriores. O sigilo/confidencialidade será resguardado, não havendo divulgação dos nomes dos participantes da pesquisa, mantendo o anonimato. Em relação aos benefícios, relatam que esta pesquisa contribuirá para melhor decisão terapêutica tanto medicamentosa, cirúrgica e/ou de radioterapia dos Somatotropinomas, com benefício para diagnóstico precoce e tratamento específico de acordo com o resultado de imunohistoquímica e critérios de invasão tumoral, relacionado-os com a história clínica do paciente com Acromegalia.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo relevante, pois pretende analisar a expressão imunohistoquímica do índice de proliferação celular Ki-67 e das mutações do gene p53, além da importância destes biomarcadores no prognóstico de adenomas hipofisários de pacientes com diagnóstico de acromegalia atendidos no serviço de Neuroendocrinologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão. Os resultados trarão maior conhecimento para a comunidade científica e para os profissionais que prestam assistência aos pacientes com este diagnóstico, contribuindo para melhor decisão terapêutica medicamentosa, cirúrgica e/ou de radioterapia dos Somatotropinomas, proporcionando o diagnóstico precoce e tratamento específico de acordo com o resultado de imunohistoquímica e critérios de invasão tumoral, relacionado-os com a história clínica do paciente com acromegalia.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo apresenta documentos referente aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de rosto, Declaração de compromisso em anexar os resultados na Plataforma Brasil garantindo o sigilo, Orçamento financeiro detalhado, Cronograma com etapas detalhada, Termo de Dispensa do TCLE, Autorização do Gestor responsável do local para a realização da coleta de dados e Projeto de Pesquisa Original na íntegra em Word. Atende à Norma Operacional no 001/2013(item 3/ 3.3).

O protocolo apresenta ainda as declarações de anuência, declaração de responsabilidade financeira e termo de compromisso com a utilização dos dados resguardando o sigilo e a confidencialidade.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br

Continuação do Parecer: 2.926.376

Recomendações:

Após o término da pesquisa o CEP-HUUFMA sugere que os resultados do estudo sejam devolvidos aos participantes da pesquisa ou a instituição que autorizou a coleta de dados de forma anonimizada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O PROTOCOLO atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS/MS nº 466/12 e suas complementares, sendo considerado APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa–CEP-HUUFMA, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº.466/2012 e Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO do projeto de pesquisa proposto.

Eventuais modificações ao protocolo devem ser inseridas à plataforma por meio de emendas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1171342.pdf	20/09/2018 09:34:06		Aceito
Outros	CR.pdf	20/09/2018 09:31:41	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETOLU.docx	20/09/2018 09:28:11	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Outros	TC2.pdf	30/08/2018 18:37:47	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Outros	TC1.pdf	24/07/2018 09:26:46	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Outros	TA.pdf	06/07/2018 17:35:58	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	PARECER.pdf	06/07/2018 17:32:56	Manuel dos Santos Faria	Aceito

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



UFMA - HOSPITAL
UNIVERSITÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO



Continuação do Parecer: 2.926.376

Declaração de Pesquisadores	TERMO.pdf	06/07/2018 17:29:29	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	DECLARACAORESPONSABILIDADEFI NACEIRA.pdf	06/07/2018 16:58:23	Manuel dos Santos Faria	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODECONSENTIMENTO.pdf	05/07/2018 10:39:46	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	05/07/2018 10:38:59	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	05/07/2018 10:35:28	Manuel dos Santos Faria	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	05/07/2018 09:38:16	Manuel dos Santos Faria	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO LUIS, 28 de Setembro de 2018

Assinado por:
FABIO FRANÇA SILVA
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br