



**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA
SAÚDE**

**ANÁLISE DA IMUNOEXPRESSÃO TECIDUAL DE XIAP EM AMOSTRAS DE
ASTROCITOMAS PEDIÁTRICOS E SUA RELAÇÃO COM FATORES
PATOLÓGICOS E PROGNÓSTICOS**

**MESTRANDA: RAFAELA CHIUCO ZENI
ORIENTADORA: DRA. LUCIA DE NORONHA**

**CURITIBA
12/2023**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**ANÁLISE DA IMUNOEXPRESSÃO TECIDUAL DE XIAP EM AMOSTRAS DE
ASTROCITOMAS PEDIÁTRICOS E SUA RELAÇÃO COM FATORES
PATOLÓGICOS E PROGNÓSTICOS**

Dissertação de mestrado acadêmico apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
como requisito parcial para obtenção do título de Mestre
em Ciências da Saúde. Orientador(a): Profa. Dra. Lucia
de Noronha

CURITIBA

12/2023

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central
Luci Eduarda Wielganczuk – CRB 9/1118

Z54a
2023
Zeni, Rafaela Chiuco
Análise da imunoexpressão tecidual de XIAP em amostras de astrocitomas pediátricos e sua relação com fatores patológicos e prognósticos / Rafaela Chiuco Zeni ; orientadora: Lucia de Noronha. – 2023.
92 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2023
Bibliografia: f. 75-84

1. Astrocitoma. 2. Biomarcadores. 3. Glioma. 4. Antígeno Ki-67. 5. Proteínas inibidoras de apoptose ligadas ao cromossomo X. I. Noronha, Lucia de.
II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD. 23. ed. – 616.99481



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola de Medicina e Ciências da Vida
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.

Aos 10 dias do mês de novembro de 2023 às 10:00, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação "ANÁLISE DA IMUNOEXPRESSÃO TECIDUAL DE XIAP EM AMOSTRAS DE ASTROCITOMAS PEDIÁTRICOS E SUA RELAÇÃO COM FATORES PATOLÓGICOS E PROGNÓSTICOS" apresentado por **Rafaela Chiuco Zeni** para obtenção do título de mestre; Área de concentração: Pesquisa Médica Translacional.

A banca examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Profa. Dra. Lucia de Noronha - Presidente	
Profa. Dra. Caroline Busata Vaz de Paula - PUCPR	
Profa. Dra. Rafaela Pires Erthal Michelato - UFPR	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Profa. Dra. Lucia de Noronha

Conceito: *aprovada*

Profa. Dra. Caroline Busata Vaz de Paula

Conceito: *aprovada*

Profa. Dra. Rafaela Pires Erthal Michelato

Conceito: *aprovada*

Parecer Final: **APROVADA**

Observações da Banca Examinadora:

Profa. Dra. Lucia de Noronha
Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Cristina Pellegrino Baena
Coordenadora do PPGCS-PUCPR

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por me permitir subir mais um degrau na minha formação.

Agradeço ao meu pai, Magno, por ser uma inspiração para mim com sua gana de sempre aprender mais, exemplo de pai e profissional dedicado.

Agradeço à minha mãe, Dora, pela pessoa ímpar que é, e por toda ajuda nos momentos mais difíceis.

Agradeço aos meus irmãos, Vitor e Eduardo, pelo apoio incondicional.

Agradeço ao meu noivo, Guilherme, por todo apoio e paciência nestes últimos meses.

Agradeço à minha orientadora, Dra. Lucia de Noronha, por toda paciência dedicada a mim, eu sei que não foi uma tarefa fácil e mesmo em momentos que eu não merecia, sempre me tratou com muito carinho.

Agradeço ao Dr. Seigo por todo apoio e auxílio neste trabalho, pelas manhãs, tardes e até algumas noites de discussões intermináveis sobre estatística.

Agradeço à Dra. Mineia pelo apoio desde o meu PIBIC até a empreitada de chegar ao PIBIC Master.

Agradeço aos meus familiares, amigos, companheiros de pesquisa, companheiros de laboratório, mestres e a todos os que me ajudaram a chegar até aqui.

Agradeço ao universo de Harry Potter e J. K. Rowling por serem meu momento de paz e de concentração durante toda a jornada deste trabalho.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha avó, Nair, que mesmo não estando mais aqui, me motivou a ir atrás dos meus sonhos com muito amor e bondade no coração.

A dissertação foi elaborada seguindo a normatização estabelecida pela ABNT. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Patologia Experimental da PUCPR no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da PUCPR em colaboração com os Doutores: Mineia A. S. Malaquias, Caroline Vaz, Eduardo de Castro, Seigo Nagashima; os médicos: Plínio C. Neto e Letícia Panini. O presente trabalho foi provido pela parceria entre o Laboratório de Patologia Experimental da PUCPR e o Instituto Pelé Pequeno Príncipe. Declaramos que não há conflito de interesse na realização da presente tese.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Três principais causas de morte infantojuvenil (entre 0 e 19 anos) no Brasil entre os anos de 2015 e 2019.	18
Figura 2. Mortalidade por câncer infantojuvenil no Brasil por 1 milhão de criança entre os anos de 2015 e 2019.	19
Figura 3: População infantojuvenil e estimativa de incidência anual de câncer por região.	20
Figura 4: Sistema Nervoso central e Sistema Nervoso Periférico	21
Figura 5: Representação espacial das taxas ajustadas de incidência por 100 mil pessoas (para homens e mulheres), estimadas para o ano de 2020, segundo Unidade da Federação para neoplasia maligna do sistema nervoso central.....	24
Figura 6: Fibras de Rosenthal em Astrocitoma Pilocítico Cerebelar.....	32
Figura 7. Taxa de incidência de tumores cerebrais e outros tumores do SNC ajustada por idade.	34
Figura 8. Fases do ciclo celular.....	36
Figura 9. Vias de indução da apoptose e inibição pelas proteínas inibidoras da apoptose (IAPs).....	39
Figura 10. Estrutura da XIAP e função dos seus domínios.	42
Figura 11. Fluxograma de seleção de casos e amostra final de gliomas, divididos por grau (tipo) histológico seguindo a classificação em quatro graus.....	46
Figura 12. Esquema da montagem de um bloco parafinado multiamostrado de TMA.	47
Figura 13. Bloco de parafina de TMA dos casos de astrocitoma difuso do estudo.	48
Figura 14. Lâminas histológicas do estudo.	49
Figura 15: Lâminas de Astrocitomas fotografadas após Imuno-histoquímica	50
Figura 16. Avaliação morfométrica de XIAP (Astrocitoma Pilocítico) foi feita pelo <i>software</i> Image Pro Plus® 4,.....	51
Figura 17: Vias extrínseca e intrínseca da apoptose em relação a XIAP.	72

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Taxas de incidência de tumores de SNC por sexo nos EUA, entre 1975 – 2019	23
Gráfico 2. Distribuição dos astrocitomas por tipo (grau) histológico e sexo.	54
Gráfico 3. Distribuição dos astrocitomas por tipo (grau) histológico e desfecho óbito/vivo.	55
Gráfico 4: Distribuição dos astrocitomas por desfecho óbito/vivo e sexo.....	55
Gráfico 5. Distribuição dos astrocitomas por tipo (grau) histológico e por topografia.	56
Gráfico 6: Distribuição dos astrocitomas por desfecho óbito/vivo e por topografia.	56
Gráfico 7. Expressão tecidual do Ki-67 (porcentagem) por tipo (grau) histológico dos astrocitomas....	57
Gráfico 8: Expressão tecidual do Ki-67 (porcentagem) em relação ao tipo (grau) histológico do astrocitoma e o desfecho vivo/morto.....	58
Gráfico 9: Expressão tecidual da proteína Ki-67 (porcentagem) em relação a classificação dos astrocitomas em alto e baixo grau.....	59
Gráfico 10: Expressão tecidual da p53 (score de Allred – soma) por tipo (grau) histológico do astrocitoma.....	60
Gráfico 11. Expressão tecidual da p53 (score de Allred - soma) em relação ao tipo (grau) histológico do astrocitoma e o desfecho vivo/morto.....	62
Gráfico 12. Expressão tecidual de p53 (score de Allred – soma) em relação a classificação de baixo e alto grau dos astrocitomas.	63
Gráfico 13. Expressão tecidual da XIAP por tipo (grau) histológico dos astrocitomas (porcentagem). .	64
Gráfico 14. Expressão tecidual de XIAP em relação a classificação em baixo e alto grau dos astrocitomas (porcentagem).....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Classificação de Gliomas Pediátricos a partir da Classificação da OMS de 2016	27
Quadro 2. Classificação histopatológica (tipo ou grau) de astrocitomas da OMS.	30
Quadro 3. Anticorpos utilizados na pesquisa	49
Quadro 4. Escore de Allred para avaliação da p53	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis clínico-patológicas segundo os tipos histológicos dos astrocitomas (OMS).	53
Tabela 2. Imunomarcção de Ki-67 (porcentagem) distribuída por tipo (grau) histológico dos astrocitomas.	57
Tabela 3. Comparação da imunomarcção de Ki-67 (porcentagem) entre os tipos (graus) histológicos dos astrocitomas.	58
Tabela 4. Imunoexpressão de Ki-67 (porcentagem) em relação a classificação dos astrocitomas em baixo e alto grau.	59
Tabela 5. Imunoexpressão da proteína p53 (escore de Allred - soma) nos astrocitomas divididos por tipo (grau) histológico.	60
Tabela 6. Comparação estatística entre a imunoexpressão de p53 (score Allred – soma) e os tipos (graus) histológicos dos astrocitomas.	61
Tabela 7: Imunoexpressão de proteína p53 (score de Allred – soma) em relação a classificação de baixo e alto grau dos astrocitomas.	62
Tabela 8: Imunoexpressão da proteína XIAP por tipo (grau) histológico dos astrocitomas (porcentagem).	63
Tabela 9. Comparação estatística entre a imunoexpressão da proteína XIAP (porcentagem) e os tipos (graus) histológicos dos astrocitomas.	64
Tabela 10. Imunoexpressão de proteína XIAP em relação a classificação em baixo e alto grau dos astrocitomas (porcentagem).	65
Tabela 11. Correlação (Coeficiente de Spearman) entre XIAP e Ki-67 nos astrocitomas divididos pelos tipos (graus) histológicos.	66
Tabela 12. Correlação (Coeficiente de Spearman) entre XIAP e p53 nos astrocitoma divididos pelos tipos (graus) histológicos.	67
Tabela 13. Correlação (Coeficiente de Spearman) entre XIAP e Ki-67 e p53 nos astrocitomas (n = 101).	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS POR ORDEM ALFABÉTICA

ACS - American Cancer Society

APAF-1 - Fator de Ativação de Protease Apoptótica 1

BIR - Baculoviral IAP repeat

BIRC - Baculoviral IAP repeat-containing

CARD - Domínio de Ativação e Recrutamento de Caspases

DISC - Complexo De Sinalização Indutora De Apoptose

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

HAB - Habitantes

HE - Hematoxilina-eosina

IAP - Inibidores de Proteínas de Apoptose

INCA - Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva

IPPPP - Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe

NF κ B - Fator nuclear Kappa Beta

OMS - Organização Mundial da Saúde

OPAS - Organização Pan-americana de Saúde

p53 - Proteína 53

PUCPR - Pontifícia Universidade Católica do Paraná

RING - Really Interesting New Gene

SEER - Surveillance, Epidemiology, and End Results

SMAC - Segundo Ativador Mitocondrial de Caspase

SNC - Sistema Nervoso Central

TAB1 - TAK1-binding Protein

TAK1 - Transforming Growth Factor β -activated Protein Kinase 1

TMA - Tissue microarray

TP53 - Tumor Protein 53

UBA - Domínio Associado à Ubiquitina

UBC - Conjugação a Ubiquitina de Apollon

XIAP - Inibidor da Proteína de Apoptose Ligada ao X

RESUMO

Introdução: As neoplasias sólidas de sistema nervoso central (SNC) são as de maior prevalência na população infantojuvenil e possuem grande taxa de mortalidade. Podem ser oriundas de qualquer célula do SNC, sendo os gliomas o tipo predominante e, dentre estes, os astrocitomas são os mais comuns. O tratamento pode ser realizado a partir de cirurgia, quimioterapia e radioterapia a depender da localização e grau de malignidade dos astrocitomas. A partir de biomarcadores teciduais, busca-se propiciar diagnósticos precoces, estadiamentos acurados e alvos terapêuticos eficientes. A proteína XIAP é uma proteína da família das inibidoras de apoptose, impedindo a morte celular programada a partir da inibição das Caspases 3, 7 e 9. A p53 é uma proteína supressora de tumor que quando mutada pode promover o crescimento tumoral. O Ki-67 é uma encontrada no núcleo celular a partir da qual pode-se inferir maior ou menor malignidade do tumor considerando sua quantidade intracelular.

Objetivo: Avaliar a imunoexpressão tecidual da proteína XIAP em amostras de astrocitomas pediátricos, correlacionando-as com as características da amostra, além de realizar a comparação de XIAP com os marcadores Ki-67 e proteína p53.

Metodologia: 101 amostras teciduais parafinadas de astrocitomas foram divididas por grau tumoral (de 1 a 4) e categorizadas quanto a gênero, idade ao diagnóstico, topografia da lesão, tempo de sobrevida e desfecho. As amostras foram submetidas à técnica de imuno-histoquímica, e subsequente, realizou-se morfometria e análise estatística.

Resultados: As análises demonstraram aumento estatisticamente significativo de imunoexpressão tecidual de XIAP, p53 e Ki-67 entre os graus (tipos) dos astrocitomas estudados, sendo que o Ki-67 e o p53 foram mais expressos nos astrocitomas de alto grau (anaplásico e glioblastoma) ($p < 0,001$ respectivamente). Já a XIAP foi mais expressa no grupo dos astrocitomas de baixo grau (pilocítico e difuso) ($p = 0,048$). **Conclusão:** Nota-se que os astrocitomas apresentam expressão tecidual de XIAP, sendo que o astrocitoma difuso e o pilocítico (baixo grau) apresentaram os maiores níveis da proteína, podendo sugerir essa proteína como um importante biomarcador para astrocitomas de baixo grau.

Palavras-chave: XIAP, Ki-67, p53, biomarcadores, glioma, astrocitoma.

ABSTRACT

Introduction: Solid neoplasms of the Central Nervous System (CNS) are the most prevalent in children and adolescents and have a high mortality rate. They can originate from any CNS cell, with gliomas being the predominant type and among these astrocytomas being the most common. The treatment can be carried out through surgery, chemotherapy and radiotherapy depending on the astrocytomas' location and degree of malignancy. Based on tissue biomarkers, we seek to provide earlier diagnoses, more accurate staging and efficient therapeutic targets. The XIAP protein is a protein from the family of apoptosis inhibitors. It prevents programmed cell death by inhibiting Caspases 3, 7 and 9. The p53 protein is a tumor suppressor protein that, when mutated, can promote tumor growth. Ki-67 is a nuclear protein from which more significant or lesser tumor malignancy can be inferred considering cellular levels.

Objective: To evaluate the tissue immunoexpression of XIAP protein in samples of pediatric gliomas, correlating it with the characteristics of the sample, in addition to comparing XIAP versus other biomarkers. **Methodology:** The 101 samples of astrocytomas were divided by tumor grade and categorized according to gender, age at diagnosis, lesion topography, survival time and outcome. Immunohistochemistry techniques were applied to quantify tissue immunoexpression of XIAP, p53 and Ki-67 proteins. From this, the reading and the statistical analysis were performed. **Results:** The analyzes showed a statistically significant increase in tissue immunoexpression of XIAP, p53 and Ki-67 between the degrees of astrocytomas studied, with Ki-67 and p53 being more expressed in high-grade astrocytomas ($p < 0.001$, respectively). XIAP was more expressed in the low-grade astrocytoma group ($p = 0.048$). **Conclusion:** It is noted that astrocytomas have tissue expression of XIAP, with diffuse astrocytoma and pilocytic (low grade) having the highest levels. Furthermore, XIAP protein could be a biomarker for low-grade astrocytomas.

Keywords: XIAP, p53, Ki-67, biomarkers, glioma, astrocytoma,

RESUMO POPULAR

Os tumores cerebrais são os de maior prevalência na população infantojuvenil, sendo responsáveis por ceifar muitas vidas na mais tenra idade. Podem se originar em muitas partes do cérebro, apresentando-se de várias formas pois podem derivar de células diferentes. Sendo os astrocitomas são o tipo mais comum. Os astrocitomas podem ser tratados com cirurgia, quimioterapia ou radioterapia, no entanto, o sucesso do tratamento depende da localização e grau de agressividade e malignidade do tumor. Os biomarcadores são moléculas (proteínas) que, quando presentes no tumor, podem ajudar os oncologistas a realizarem diagnósticos mais precoces e tratamentos mais precisos, já que contribuem para entender o grau de malignidade de cada tumor. A proteína XIAP é uma molécula presente nos astrocitomas que impede a morte das células tumorais, favorecendo desta maneira o crescimento do tumor. Entender como esta proteína pode atuar nos astrocitomas auxiliaria a compreender seu papel como marcador tumoral e, conseqüentemente, sua função na malignização destes tumores, auxiliando os oncologistas a planejarem melhor o tratamento dos seus pacientes. Para tal foram analisadas 101 amostras teciduais de astrocitomas, as quais demonstraram a presença da proteína XIAP em todas as amostras, sendo que os tipos menos agressivos apresentaram maiores níveis de expressão.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	15
2 – JUSTIFICATIVA	16
3 – REVISÃO DE LITERATURA	17
4 – OBJETIVOS	44
5 – MATERIAIS E MÉTODOS	45
6 – RESULTADOS	53
7 – DISCUSSÃO	68
8 – CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS	75
ANEXO 1	84
ANEXO 2	87
ANEXOS 3	88

1. INTRODUÇÃO

Dentre as neoplasias sólidas mais prevalentes na população pediátrica encontram-se os tumores do sistema nervoso central (SNC), os quais possuem as maiores taxas de mortalidade entre as faixas etárias mais baixas (HUSAIN, 2014; OSTROM *et al.*, 2020). O câncer infantil está entre as maiores causas de morte de pessoas entre 0 e 19 anos, perdendo apenas para causas externas de mortalidade (HOSPITAL DO CÂNCER DE PERNAMBUCO, 2019). No Brasil, de acordo com o Instituto Nacional do Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA), apesar das taxas variarem de acordo com cada região, estima-se que entre as neoplasias, as de SNC correspondem de 8 a 15% dos casos da faixa etária pediátrica, ocupando a segunda posição entre os tumores pediátricos (REIS *et al.*, 2007; INCA, 2016).

Os gliomas são tumores que se originam de células gliais do SNC, como, por exemplo, os astrócitos, oligodendrócitos, ependimárias e micróglia (RIVERA, 2015). Esses são o tipo mais prevalente de tumor cerebral maligno primário em todas as faixas etárias, correspondendo a 80% dos diagnósticos e possuindo alta morbimortalidade (SU, LI, GAO 2018; WU *et al.*, 2014).

O tratamento baseia-se em ressecção cirúrgica. Além disso, alguns pacientes podem ser tratados com quimioterapia e irradiação adjuvante e neoadjuvante. Porém, em muitos casos, de gliomas refratários, a sobrevida com toda a terapêutica pertinente é de apenas 3 anos (SU, LI, GAO, 2018).

Para a realização de uma classificação adequada, as características histopatológicas são necessárias. As alterações causadas nas células, fruto de modificações genéticas, são sítios importantes de pesquisa e é neste ponto que se enquadra o estudo dos biomarcadores (LOUIS, 2016). Os biomarcadores podem auxiliar, não apenas na definição do tipo do tumor, mas nortear a terapêutica do paciente, individualizando cada tratamento.

Neste trabalho, destaca-se a Proteína Inibidora de Apoptose Ligada ao X (XIAP), que foi comparada a marcadores tumorais já consagrados como o Ki-67 e a proteína p53, oriunda do gene *TP53*.

A XIAP, ou BIRC4 (Baculoviral IAP repeat-containing), é uma proteína da família de inibidores de proteínas de apoptose (IAP) (GAO *et al.*, 2019). A XIAP inativa as proteínas pró-apoptóticas caspase 3, 7 e 9 (PRABHU *et al.*, 2018; JEONG *et al.*, 2019; AYACHI *et al.*, 2019). Sendo assim, uma expressão significativa da proteína XIAP no tecido pode estar associada à tumorigênese, angiogênese, invasão tumoral e resistência a medicamentos antineoplásicos (OBEXER, AUSSERLECHNER, 2014).

A Ki-67 é uma proteína nuclear não histona, que está diretamente relacionada com a divisão celular e a malignidade dos tumores (ISOLAN *et al.* 2005; DUREGON *et al.* 2016 MORAES-FILHO, RABENHORST, 2006). O gene *TP53* é um gene supressor de tumor responsável por impedir a proliferação celular diante de uma neoplasia e de eventos estressantes, sendo o gene que mais sofre mutações quando se trata de oncogênese. (D'BROT, *et al.*, 2017; JORUIZ, BOURDON, 2016; FETT-CONTE, 2002).

Desta forma, estudos que visem estabelecer relações entre a expressão das proteínas XIAP, Ki-67 e mutações do gene *TP53* em gliomas devem ser realizados, visto que estes podem vir a ser futuros alvos para terapias anticancerígenas. Além disto, entender as vias das proteínas e suas correlações é fundamental para proporcionar melhores prognósticos e maior qualidade de vida aos portadores de neoplasias sólidas.

2. JUSTIFICATIVA

Este trabalho justifica-se pelo crescente aumento dos números de diagnósticos de câncer, sendo a segunda maior causa de mortes no mundo. Uma em cada seis mortes está relacionada a algum tipo de neoplasia maligna. Somente em 2022, no Brasil, 704080 pessoas receberam o diagnóstico de câncer e, por vezes, são tardiamente diagnosticados e não recebem terapêutica objetiva e adequada. Os tumores de SNC estão entre as neoplasias sólidas mais comuns na infância e têm alta morbimortalidade. Os astrocitomas são neoplasias gliais que constituem o tipo mais comum de neoplasia que se inicia no SNC. O tratamento dos astrocitomas depende

não só da localização precisa da neoplasia, como também do seu grau de agressividade (grau histológico) e estadiamento. A XIAP é uma proteína inibidora das proteínas caspases e a sua presença pode estar associada com a inibição da apoptose e consequente crescimento tumoral, podendo funcionar como biomarcador de agressividade da neoplasia. A busca por biomarcadores tumorais é importante não só na melhor definição diagnóstica das lesões, como também no estabelecimento mais preciso de seu tipo histológico, a fim de nortear diagnósticos mais precoces, estadiamentos mais precisos e alvos terapêuticos mais eficientes.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O CÂNCER INFANTOJUVENIL

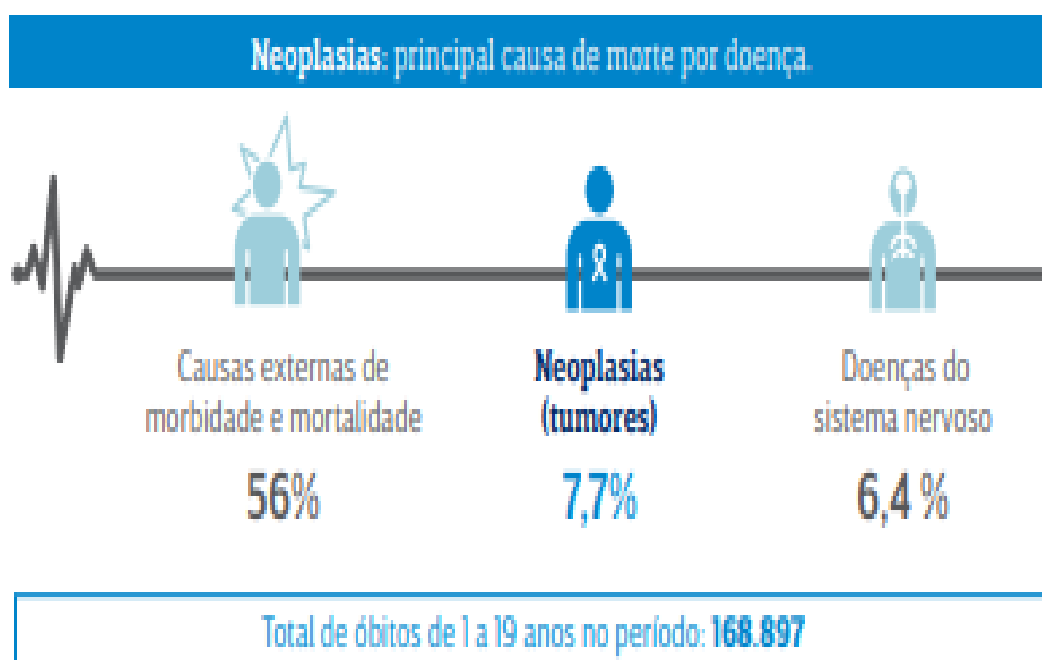
Uma forma genérica de definir o câncer é o rápido crescimento de células anormais que extrapolam seus limites e podem invadir tecidos adjacentes e órgãos a longa distância (OPAS, 2020). A modificação de células normais em células cancerígenas é um processo que ocorre em diferentes níveis, progredindo de uma lesão inicial, pré-cancerosa para tumores malignos (OPAS, 2020). Sendo resultado do trinômio predisposição genética, ambiente e hábitos de vida.

Os tumores são a maior causa de morte entre pessoas com 19 anos ou menos na América Latina e Caribe (OMS *apud* OPAS, 2022). No Brasil, o câncer infantojuvenil é a segunda causa de óbito neste grupo etário, perdendo apenas para óbitos por acidentes e mortes violentas - as ditas causas externas de morbidade e mortalidade (INCA, 2016). Entre os anos de 2009 e 2013, essa causa motivou aproximadamente 12% das mortes entre 1 e 14 anos e aproximadamente 8% da faixa etária entre 1 e 19 anos, o que também foi observado entre os anos de 2015 e 2019, como demonstra a figura 1 (INCA, 2016; SISTEMA DE INFORMAÇÕES SOBRE MORTALIDADE, 2021, *apud* INSTITUTO DESIDERATA, 2021).

Figura 1. Três principais causas de morte infantojuvenil (entre 0 e 19 anos) no Brasil entre os anos de 2015 e 2019.

TRÊS PRINCIPAIS CAUSAS DE MORTALIDADE INFANTOJUVENIL NO BRASIL (1-19 anos), 2015-2019

Fonte: Sistema de Informações sobre Mortalidade, 2021.



Fonte: SISTEMA DE INFORMAÇÕES SOBRE MORTALIDADE, 2021, *apud* INSTITUTO DESIDERATA, 2021.

Além disso, no Brasil, entre 2015 e 2019, observou-se maior mortalidade por câncer infantojuvenil (0 a 19 anos) na faixa etária de 15 a 19 anos (51,1%) seguido pela faixa etária de 0 a 4 anos (46,9%) (IBGE, 2021; SISTEMA DE INFORMAÇÕES SOBRE MORTALIDADE, 2021, *apud* INSTITUTO DESIDERATA, 2021). Como pode ser observado na figura 2.

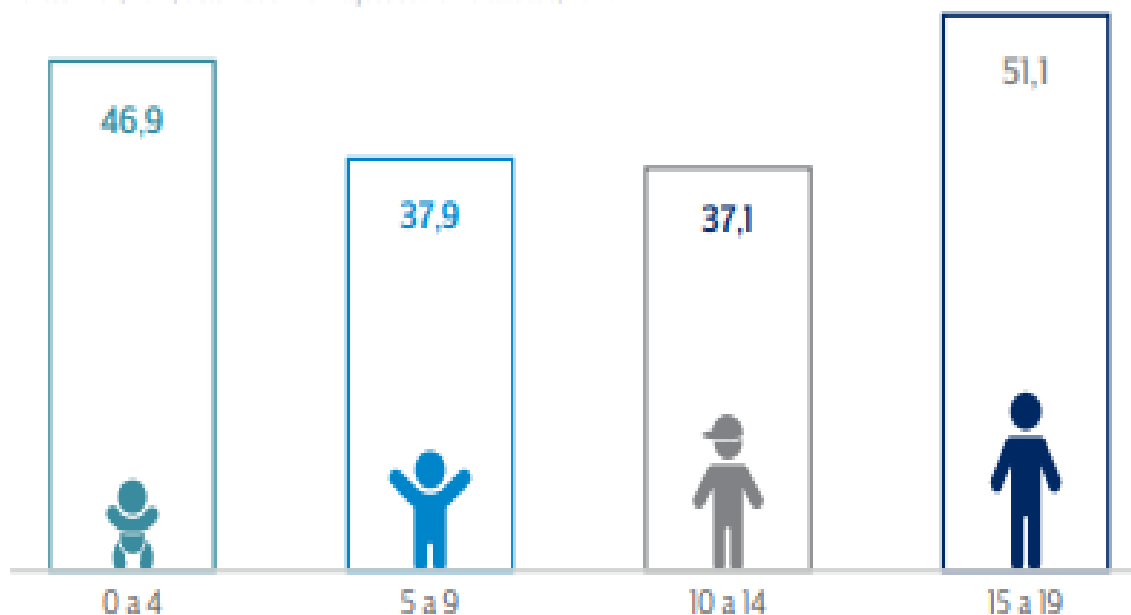
Figura 2. Mortalidade por câncer infantojuvenil no Brasil por 1 milhão de criança entre os anos de 2015 e 2019.

MORTALIDADE POR CÂNCER INFANTOJUVENIL NO BRASIL

por 1 milhão de crianças e adolescentes, 2015-2019.

SEGUNDO FAIXA ETÁRIA

Fontes: IBGE, 2021; Sistema de Informações sobre Mortalidade, 2021.



Fonte: IBGE, 2021; SISTEMA DE INFORMAÇÕES SOBRE MORTALIDADE, 2021, *apud* INSTITUTO DESIDRATA, 2021.

O estudo conjunto entre INCA e Ministério da Saúde (2016) demonstrou que a sobrevida brasileira de 0 a 19 anos, em relação ao câncer, é de 64%. O mesmo estudo ainda apresenta a variação da sobrevida dependendo da região em que a criança ou adolescente reside. Sendo os índices mais elevados nas regiões Sul (75%) e Sudeste (70%). Já as regiões Centro-oeste (65%), Nordeste (60%) e Norte (50%) apresentaram índices de sobrevida mais baixos.

Em 2017 foram previstos pelo INCA cerca de 12.600 novos casos de câncer entre pessoas de zero a 19 anos. A mesma instituição ainda propôs para o triênio 2020/2022 cerca de 8.460 novos casos por ano, destes 4.310 do sexo masculino e 4.150 do sexo feminino (INCA *apud* GANDRA, 2021). Na figura abaixo é possível observar a estimativa de casos por região.

Figura 3: População infantojuvenil e estimativa de incidência anual de câncer por região.



Fonte: IBGE, 2021; INCA, 2019, *apud* INSTITUTO DESIDERATA, 2021.

Observa-se na população infantojuvenil mundial a prevalência de leucemias, linfomas e os tumores de SNC (INCA, 2019; OPAS, 2022). Verifica-se que as leucemias apresentando frequência de aproximadamente 33% na população de 0 a 14 anos e de 26% se a idade for extrapolada para 0 a 19 anos (INCA, 2016). Entre pessoas de 0 a 14 anos os tumores de SNC ocupam 16% dos casos, seguidos por linfomas com aproximadamente 14% dos casos (INCA, 2016). Já quando considerado a faixa etária de 0 a 19 anos os linfomas ganham a segunda posição apresentando 14% dos casos contra 13% dos casos de câncer de SNC (INCA, 2016).

3.2 SISTEMA NERVOSO CENTRAL

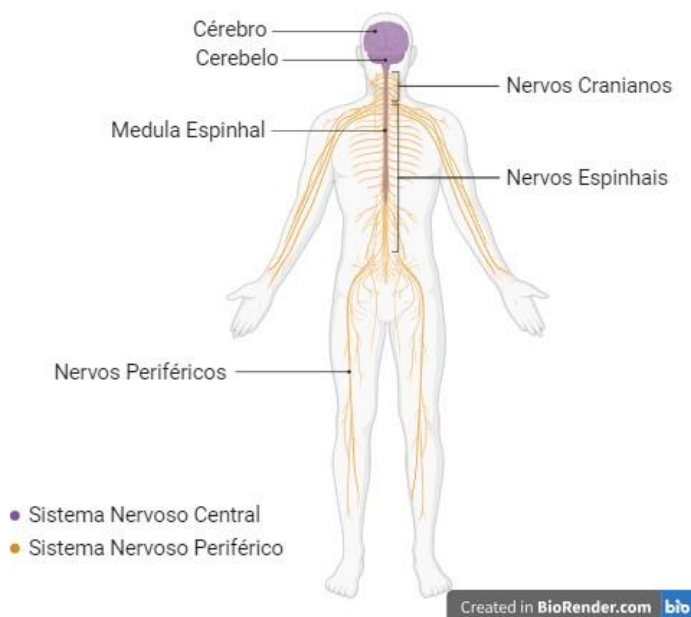
ANATOMIA SIMPLIFICADA

O sistema nervoso central (SNC) é composto pelo encéfalo e pela medula espinhal. O cérebro é a chave mestra que comanda os sentimentos, pensamentos,

memória, fala, audição, visão, movimentação, entre outras (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018). Já a medula espinhal e nervos espinhais transmitem aos nossos músculos mensagens para realização dos movimentos, por exemplo, e auxiliam a coordenar as funções dos órgãos, além de levarem de volta ao cérebro as informações coletadas pelos sentidos (CHANG, *et al.*, 2015).

O encéfalo é dividido em cérebro, cerebelo e tronco cerebral. O cérebro compõe a maior parte externa do encéfalo. É formado por duas metades chamadas hemisférios. É ele o responsável por interpretar informações, formação do raciocínio, pensamentos, emoções, linguagem, movimentos, entre outros (DORSEY, *et al.*, 2014). O cerebelo está localizado na parte posterior do encéfalo, localizado sob o cérebro. Tem como atribuições principais auxiliar na coordenação dos movimentos (DORSEY, *et al.*, 2014). O tronco cerebral é dividido em três partes: mesencéfalo, ponte e bulbo. De um modo geral, o tronco cerebral é essencial à vida, uma vez que controla funções primordiais, como respiração e batimentos cardíacos. E é a parte mais inferior do encéfalo, que conecta o cérebro à medula espinhal. Além do controle de funções vitais, os nervos ligados a esta parte estão relacionados à inervação de cabeça e pescoço (DORSEY, *et al.*, 2014). A divisão do SNC pode ser observada na figura 4.

Figura 4: Sistema Nervoso central e Sistema Nervoso Periférico



Fonte: A Autora, criado com BioRender.com (2023), adaptado de American Cancer Society, 2018.

A medula espinhal é formada por neurônios e ramificações neuronais capazes de transportar mensagens do cérebro à musculatura e órgãos e vice-versa (DORSEY, *et al*, 2014 *apud* AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018).

SISTEMA NERVOSO CENTRAL – TIPOS CELULARES

O SNC possui vários tipos celulares, sendo que cada um deles pode gerar tumores diferentes, entre os principais tipos estão os neurônios e células da glia.

Os neurônios são as células do SNC que exercem sua função. Auxiliam na formulação dos pensamentos, memórias, emoções, fala, movimentos musculares, sensações e em quase todas as funções que encéfalo e medula espinhal realizam. Quase todos os tipos de neurônios cessam sua multiplicação com 1 ano de idade. Geralmente, esse tipo de células não forma tumor, porém acaba danificado por tumores de outros tipos celulares (DORSEY, *et al*, 2014 *apud* AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018).

As células da glia são células que dão, em sua maioria, suporte ao cérebro. Entre as células gliais, quatro são as mais importantes. Os astrócitos são as células que auxiliam na sustentação e nutrição dos neurônios. Os oligodendrócitos são as células que produzem a mielina, uma substância rica em gordura que envolve e realiza o isolamento elétrico dos axônios dos neurônios do cérebro e da medula espinhal, para que as sinapses aconteçam de forma adequada. As células ependimárias revestem os ventrículos cerebrais. E as micróglias são as células de defesa do SNC, fazendo parte do sistema imunológico (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020).

3.3 OS TUMORES DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL

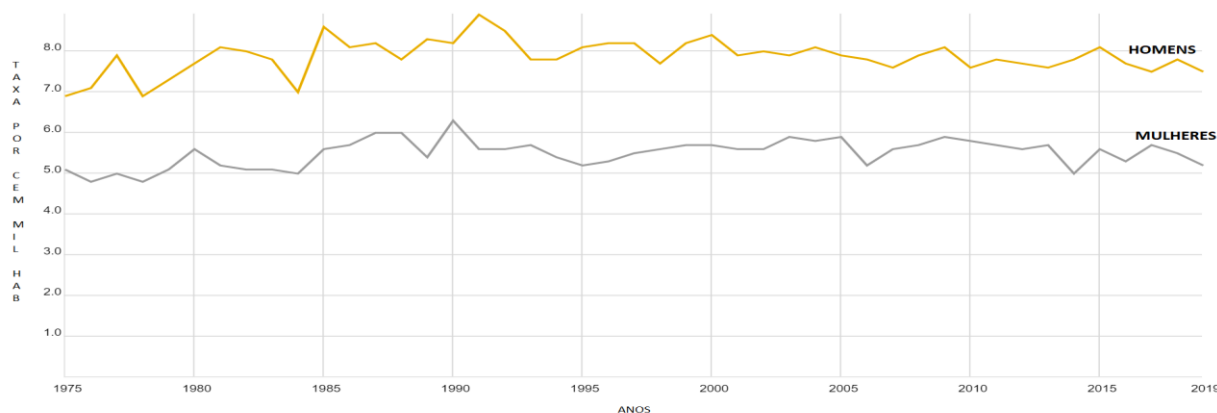
Os tumores de SNC são o tipo de câncer que afeta o cérebro e a medula espinhal. São os cânceres mais comuns em países desenvolvidos, apesar dos níveis crescentes em países em desenvolvimento. A nível mundial, estimam-se 310000 novos diagnósticos a cada ano, correspondendo a 1,6% entre todos os tipos de câncer

(INCA, 2022). O INCA (2022), vislumbra que no triênio de 2023 a 2025, no Brasil, sejam diagnosticados 11.490 novos casos de tumores cerebrais, sendo 6110 em homens e 5380 em mulheres.

Para 2023, a American Cancer Society - ACS (2020) vislumbra que cerca de 24.810 tumores malignos de SNC serão diagnosticados nos Estados Unidos. A mesma instituição também acredita que, em 2023, 18.990 indivíduos morrerão desta causa, sendo 11.020 homens e 7.970 mulheres. Observando uma taxa de mortalidade 2016 – 2020, nos EUA, de 5,4 para homens contra 3,6 para mulheres. A ACS (2020), ainda demonstra maior taxa de incidência e mortalidade na população branca não hispânica, do que nas demais etnias.

O gráfico 1 apresenta as taxas de incidência de tumores de SNC por sexo nos EUA nos últimos anos, deixando clara a predileção dos tumores cerebrais pelo público masculino.

Gráfico 1. Taxas de incidência de tumores de SNC por sexo nos EUA, entre 1975 – 2019



Fonte: Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) 8 registries, National Cancer Institute, 2022

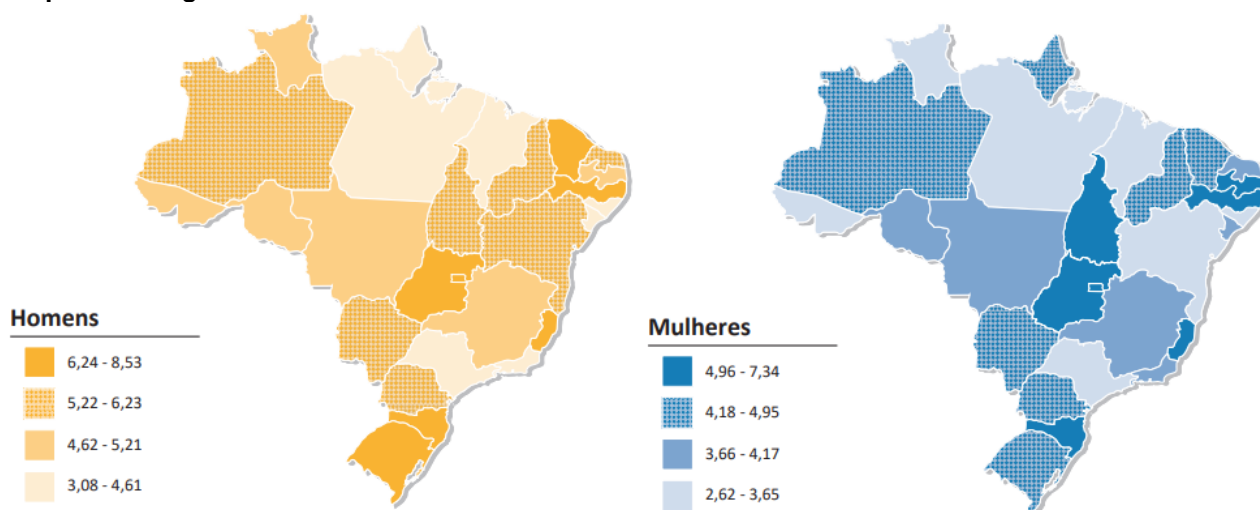
De forma geral, apesar deste número estar em progressivo aumento, a probabilidade de qualquer indivíduo desenvolver um tumor no SNC é inferior a 1% (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020). Por exemplo, ao nascimento, uma pessoa estado-unidense tem 0,62% de chance de desenvolver algum tipo de câncer primário

e maligno do SNC e 0,48% de chance de morrer do mesmo tipo de tumor (OSTROM, *et al.*, 2020).

O risco maior para o desenvolvimento de tumores no SNC se dá em mulheres, embora o maior índice de presença de tumores malignos se dê em indivíduos do sexo masculino, assim como o maior número de mortes (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020; OSTROM, *et al.*, 2020). Estes dados demonstrados nos EUA, também são vislumbrados no Brasil, como pode ser observado na figura 5. No Brasil, em 2020, ocorreram 9355 óbitos por câncer de SNC, uma taxa de mortalidade de 4,42 por 100 mil habitantes (BRASIL, 2022). Entre estes, 4787 foram homens e 4567 mulheres (BRASIL, 2022).

Observa-se no Brasil uma maior prevalência de tumores de SNC na população masculina, que permanece por quase todas as faixas etárias. Além disso, nota-se que alguns estados tendem a apresentar diferenças significativas quanto à prevalência de tumores de SNC em homens e mulheres (VALADARES, *et al.*, 2021). O que pode ser determinado pelo tipo de colonização nacional, mas ainda depende de pesquisas para maiores esclarecimentos (VALADARES, *et al.*, 2021).

Figura 5: Representação espacial das taxas ajustadas de incidência por 100 mil pessoas (para homens e mulheres), estimadas para o ano de 2020, segundo Unidade da Federação para neoplasia maligna do sistema nervoso central.



Legenda: Em laranja, taxas de incidência de neoplasia da SNC ajustadas por 100 mil homens para cada estado brasileiro. Em azul, taxas de incidência de neoplasia da SNC ajustadas por 100 mil mulheres para cada estado brasileiro.

Fonte: Adaptado de INCA e Ministério da Saúde 2019.

Os tumores em SNC apresentam manifestações clínicas variáveis. Em 2006, Wilne, *et al.* realizaram uma revisão de 200 casos de tumores cerebrais observando sintomas iniciais comuns, como cefaleia, vômito, instabilidade motora, distúrbios visuais, alterações comportamentais e convulsões. A diversidade dos sintomas é consequência da variabilidade de topografias cerebrais. Algumas manifestações podem ser graves, podendo até mesmo ser letais, mesmo no caso de tumores benignos, pois estes podem exercer efeito massa, comprimindo estruturas importantes do SNC (WILNE *et al.*, 2016).

Não há uma causa clara para a formação de tumores de SNC. Fatores que normalmente predis põem indivíduos ao câncer, em outros órgãos, a longo prazo, como estilo de vida sedentário, má alimentação e cigarro, não pontuam para estes tipos de tumor (AMERICA CANCER SOCIETY, 2018). O que se observa é o aumento do risco de desenvolvimento para câncer de SNC em indivíduos com alta exposição à radiação ionizante, deficiência do sistema imunológico, exposições ambientais (arsênio, chumbo e mercúrio), exposições ocupacionais (indústria petroquímica, borracha, plástico e gráfica, obesidade e aqueles que herdaram características genéticas familiares (CLAUS, *et al.*, 2011; MALMER, *et al.*, 2003; INCA, 2019; BRAGANZA, *et al.*, *apud* OSTROM *et al.*, 2020). Amiriam *et al.* (2016) afirmam que há um risco diminuído para desenvolver, em especial gliomas, em pacientes com histórico de alergia e doenças atópicas, como eczema, psoríase e asma, funcionando como um fator protetivo devido à hiperativação constante das células de defesa.

Neste momento, ainda não há testes efetivos para o diagnóstico de tumores cerebrais, sendo o diagnóstico realizado, na maioria das vezes, por uma combinação de anamnese, exame físico alterado e exame de imagem, devido à apresentação de sintomatologia pelos pacientes (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020). O que invariavelmente pode atrasar o diagnóstico, pois depende do aparecimento de sintomas e da suspeição clínica do médico para a combinação dos fatores.

O tratamento depende do tipo e da gravidade do tumor, bem como idade ao diagnóstico e estado geral de saúde do paciente. Ele baseia-se em ressecção cirúrgica. Além disso, alguns pacientes podem ser abordados com quimioterapia e

irradiação adjuvante e neoadjuvante. Além da necessidade de terapias adicionais, como fisioterapia, terapia ocupacional, psicologia, tratamento para dor e a inserção de cuidados paliativos, quando necessário (SU, LI, GAO, 2018; OPAS 2020). O objetivo principal do tratamento é a cura do câncer ou, ao menos, prolongar consideravelmente a vida do indivíduo com a qualidade de vida necessária (OPAS, 2020).

A sobrevida de pacientes com tumores cerebrais e de medula espinhal depende da idade ao diagnóstico, raça, tipo do tumor, localização, estadiamento e sucesso do tratamento (OSTROM *et al.*, 2020; AMERICA CANCER SOCIETY, 2020). Um estudo americano de 2013 a 2017, demonstrou maior sobrevida na população de 0 a 14 anos em relação à população com 40 anos ou mais. O mesmo estudo ainda demonstrou maior sobrevida em mulheres, exceto quando essas possuíam o diagnóstico de glioblastoma ou tumores embrionários ou de células germinativas (OSTROM, *et al.*, 2020).

Em se tratando de tumores como um todo, pode-se dizer que existem os primários e os secundários. Sendo os primários aqueles que têm início nas células cerebrais ou da medula espinhal. Já os secundários ou metastáticos têm sua origem em outro segmento do corpo e posteriormente chegam ao SNC (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020).

Nas crianças, os tumores metastáticos de SNC são menos comuns do que os originados neste sistema. Já em adultos isto se inverte, sendo os secundários mais prevalentes (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018 e 2020).

Raramente os tumores que se iniciam no SNC espalham-se para órgãos distantes, pois, apesar de em alguns casos as lesões não se tratarem de tumores propriamente dito malignos, por serem localizados e não se espalharem pelo SNC, elas podem crescer no tecido cerebral e/ou na medula espinhal, ocasionando o chamado efeito massa. Isto leva à compressão de estruturas importantes comprometendo a vida do indivíduo (WILNE *et al.*, 2016; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020).

O câncer de SNC tem início nos mais variados tipos celulares do cérebro ou medula espinhal, como por exemplo células da glia, como astrócitos e oligodendrócitos, células meningoteliais, células ependimárias, neurônios, entre outras

(RIVERA, 2015; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018). Podendo até se formar por uma mistura entre os tipos celulares (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018). É comum que alguns tipos de tumores tenham início em certas partes do cérebro ou medula espinhal e tendam a crescer à sua própria maneira (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2020).

A classificação dos tumores de SNC baseia-se nos achados histopatológicos, que por sua vez são apoiados por testes auxiliares sobre os tecidos, como por exemplo a imuno-histoquímica, e conforme os anos passam, vão se adicionando novas ferramentas, a fim de tornar o diagnóstico mais preciso (LOUIS *et al*, 2021).

A classificação histopatológica que norteou as demais foi a classificação de Bailey e Cushing, publicada em 1926. A mais recente foi publicada pela OMS em 2021, em que ocorreram mudanças em algumas nomenclaturas, em relação a classificação publicada em 2016. Houve um aumento da participação de ferramentas diagnósticas com base em biologia molecular, genotipagem e alterações de proteínas nos tumores de SNC (LOUIS *et al*, 2021).

Os gliomas estudados neste trabalho foram classificados com base na atualização de 2016 da Classificação de Tumores do Sistema Nervoso Central da OMS de 2000, que classifica os tumores de SNC em graus de I a IV, a partir do comportamento clínico previsto (LOUIS *et al*, 2016). Esta classificação pode ser observada no quadro 1.

Quadro 1. Classificação de Gliomas Pediátricos a partir da Classificação da OMS de 2016

GLIOMAS	GRAUS OMS
TUMORES OLIGODENDROGLIAIS E ASTROCITÁRIOS DIFUSOS	
ASTROCITOMA DIFUSO, IDH-MUTANTE	2
ASTROCITOMA ANAPLÁSICO, IDH-MUTANTE	3
GLIOBLASTOMA, IDH-MUTANTE	4
GLIOBLASTOMA, IDH-SELVAGEM	4
GLIOMA DIFUSO DA LINHA MÉDIA, H3K27M-MUTANTE	4
OLIGODENDROGLIOMA, IDH-MUTANTE E CODELEÇÃO 1p-19q	2
OLIGODENDROGLIOMA ANAPLÁSICO, IDH-MUTANTE E CODELEÇÃO 1p/19q	3
OUTROS TUMORES ASTROCITÁRIOS	
ASTROCITOMA PILOCÍTICO	1

1ASTROCITOMA SUBEPENDIMÁRIO DE CÉLULAS GIGANTES	1
XANTOASTROCITOMA PLEOMÓRFICO	2
XANTOASTROCITOMA PLEOMÓRFICO ANAPLÁSICO	3
TUMORES EPENDIMÁRIOS	
SUBEPENDIMOMA	1
EPENDIMOMA MIXOPAPILAR	1
EPENDIMOMA	2
EPENDIMOMA, FUSÃO RELA POSITIVO	2 ou 3
EPENDIMOMA ANAPLÁSICO	3
OUTROS GLIOMAS	
GLIOMA ANGIOCÊNTRICO	1
GLIOMA COROIDE DO 3º VENTRÍCULO	2

Fonte: LOUIS (2016) adaptado por CASTRO (2022).

3.4 TUMORES DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA PEDIATRIA

Os tumores de SNC são o segundo tipo mais comum na faixa etária pediátrica perdendo apenas para as leucemias, representando 1 a cada 4 casos de câncer infantil (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2023). Quando se explana sobre tumores sólidos pediátricos, o SNC passa a ser o primeiro da lista, sendo responsável por um grande percentual de mortes dentro da faixa etária (OSTROM *et al.*, 2020).

Segundo a American Cancer Society (ACS) (2023) mais de 4000 crianças ou adolescentes são diagnosticados com tumores cerebrais e/ou de medula espinhal nos EUA todos os anos. Entre 2013 e 2017 a taxa de incidência de neoplasias na população infanto-juvenil, benignas ou malignas, foi de 6,14 casos/100.000 habitantes, sendo maior em indivíduos do sexo feminino e brancos (OSTROM *et al.*, 2020).

No Brasil, os tumores de SNC representam cerca de 20% das neoplasias pediátricas diagnosticadas, entretanto as taxas de incidência variam por região do país (INCA, 2022; REIS *et al.*, 2007). Segundo INCA *apud* AC. Camargo (2021), aproximadamente 20.000 novos casos foram registrados em 2020 no Brasil.

Em torno de 3 a cada 4 crianças diagnosticadas com tumores cerebrais sobrevivem, pelo menos, 5 anos após o diagnóstico, a depender, é claro, do tipo e localização do tumor, além de outros fatores como idade, estado de saúde, entre

outros, que devem ser levados em consideração (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2023).

Os tumores malignos de SNC são mais comuns em meninos, estando presente em sua maior parte na região supratentorial em região frontal, temporal, parietal e occipital (OSTROM *et al.*, 2020; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2023). Comparações de dados feitas por Ostrom *et al.* (2020) apontaram os gliomas como os representantes de 80% das neoplasias de SNC. Sendo o tumor maligno mais comum o glioblastoma (grau IV da OMS), com sobrevida média estimada de 8 meses (OSTROM *et al.*, 2020). Em se tratando de gliomas, os tumores derivados de astrócitos, os astrocitomas, são o tipo mais prevalentes (HUSAIN, 2014; RIVERA 2015).

GLIOMAS

No mundo, a incidência de gliomas é bastante variável. Há predominância pelo sexo masculino, tendo uma média mundial de 3,4 casos por 100 mil habitantes por ano (VALADARES, *et al.*, 2021). Nos EUA a estimativa é de 7,15 casos por 100 mil habitantes por ano, enquanto no Brasil esta estimativa é de 5,8 casos para 100 mil habitantes. Devido ao tipo de colonização brasileira, a população é bastante diferenciada de região para região, o que faz com que algumas localidades do país, como o sul, por exemplo, apresentem taxas muito diferenciadas em relação a certos tipos de doenças (VALADARES, *et al.*, 2021).

Glioma é um termo genérico para determinar tumores cerebrais que se iniciam nas chamadas células da glia, são eles os astrocitomas, oligodendrogliomas, ependimomas, entre outros (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018 e 2020). Se considerar a população em geral, três em cada dez tumores cerebrais são gliomas e, destes três, dois são astrocitomas, sendo este o tipo mais prevalente (HUSAIN 2014; LOUIS, 2016; SU, LI, GAO 2018). Na população infantil cerca de metade dos casos de tumor de SNC são gliomas (HUSAIN, 2014; NACIONAL CANCER INSTITUTE, 2017).

Por vezes, os gliomas são tumores de crescimento rápido, podendo espalhar-se pelo cérebro, difundindo-se com as células normais do tecido, o que dificulta a retirada do tumor (NACIONAL CANCER INSTITUTE, 2020). É raro que se manifestem externamente ao SNC (NACIONAL CANCER INSTITUTE, 2020).

Devido ao fato dos astrocitomas representarem cerca de 80% do total dos gliomas, eles são o foco deste trabalho (WU *et al.*, 2014).

ASTROCITOMAS

Entre os astrocitomas, há quatro tipos mais prevalentes: astrocitoma pilocítico; astrocitoma difuso; astrocitoma anaplásico; e glioblastoma ou GBM.

O astrocitoma pilocítico é o mais comum na infância (LOUIS, *et al.*, 2016; OSTROM, *et al.*, 2020). Trata-se de um tumor circunscrito, com bom prognóstico, sendo classificado como grau 1 pela OMS. O grau 2 é denominado astrocitoma difuso, o grau 3 astrocitoma anaplásico e o grau 4 glioblastoma ou GBM. Todos os três são tumores infiltrativos. Além dessa primeira classificação, os astrocitomas podem ser agrupados em baixo grau, constituído pelos grupos 1 e 2 da OMS, e alto grau com os grupos 3 e 4 (LOUIS, 2016).

Esta divisão baseia-se em critérios histopatológicos como hiper celularidade, atipia nuclear, índice mitótico, presença de vascularização glomeruloide e necrose tumoral (LOUIS, *et al.*, 2007; LOUIS, *et al.*, 2016, *apud* CASTRO 2022). Os quatro tipos mais frequentes estão representados no quadro 3.

Quadro 2. Classificação histopatológica (tipo ou grau) de astrocitomas da OMS.

TIPO (GRAU) HISTOLÓGICO	GRAU DA OMS
ASTROCITOMA PILOCÍTICO	1
ASTROCITOMA DIFUSO	2
ASTROCITOMA ANAPLÁSICO	3
GLIOBLASTOMA	4

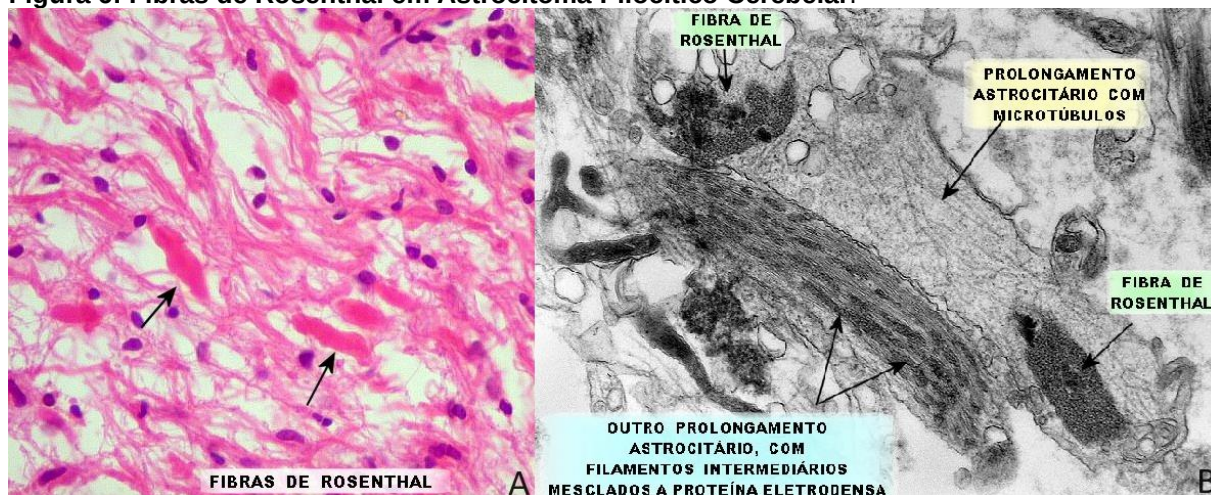
Fonte: LOUIS, *et al.*, 2016 *apud* CASTRO, 2022.

O grau do tumor, juntamente com alguns outros aspectos, determina e direciona o tipo de tratamento necessário, em particular, a necessidade de radioterapia ionizante e quimioterapia (LOUIS, *et al.*, 2007).

Os astrocitomas pilocíticos (grau 1 da OMS) são lesões circunscritas, bem definidas, geralmente císticas, de crescimento lento, de padrão não infiltrativo, e mais comuns em crianças e adultos jovens (LOUIS, *et al.*, 2007; ELLISON, 2013). Têm seu pico de incidência entre 8 e 13 anos, diminuindo sua incidência com a progressão da idade (ALVES, 2014; OSTROM, *et al.*, 2020). A maioria destes tumores (85%) desenvolve-se em região infratentorial, no cerebelo (IT) (REFEIBERGER, COLLINS, 2004; LOUIS, *et al.*, 2007). Em menor proporção pode aparecer também no nervo óptico, quiasma óptico, hipotálamo, tálamo, gânglios da base, tronco cerebral, hemisférios cerebrais e medula (ALVES, 2014).

Histopatologicamente são caracterizados por baixa taxa mitótica, com baixa ou média celularidade, necrose ocasional, padrão bifásico com proporções de células alongadas compactas e densas associadas ou não com fibras de Rosenthal e outro com células soltas com formação de microcistos e corpúsculos granulares, agregados proteicos e eosinofílicos (LOUIS, *et al.*, 2007; LOUIS, *et al.*, 2016 apud CASTRO, 2022). As fibras de Rosenthal são depósitos de material hialino, constituído por proteína alfa-beta cristalina, situadas nos prolongamentos dos astrócitos bipolares, com organização semelhante a “contas de rosário” (BURGER, *et al.*, 2002). Sua presença em astrocitomas pilocíticos corrobora o diagnóstico, porém sua falta não o exclui (BURGER, *et al.*, 2002). Estudos apontam que a presença de fibras de Rosenthal está ligada ao aumento da taxa de sobrevida (BLEGGI-TORRES, *et al.*, 1997). Apresentam bom prognóstico após ressecção cirúrgica e uma taxa de sobrevida em 5 anos de 95% (LOUIS, *et al.*, 2007, ELLISON, 2013; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018). As fibras de Rosenthal podem ser observadas na figura 6.

Figura 6: Fibras de Rosenthal em Astrocitoma Pilocítico Cerebelar.



Legenda: (A) Fibras Rosenthal coradas em HE em um astrocitoma pilocítico cerebelar. As fibras de Rosenthal são fortemente eosinófilas e refringentes pois tratam-se de corpúsculos alongados e hialinos. Acumulam-se nos prolongamentos de astrócitos dentro do citoplasma. (B) Microscopia eletrônica de astrocitoma pilocítico cerebelar demonstrando material grumoso, amorfo e eletrodense, compatível com fibras de Rosenthal presentes nos prolongamentos astrocitários

Fonte: Anatomia Patológica Unicamp

O astrocitoma difuso (grau 2 da OMS) representa de 10 a 15% dos tumores oriundos de astrócitos (ALVES, 2014). Eles podem estar presentes em qualquer região do SNC, com maior preferência pelos hemisférios cerebrais (LOUIS, *et al.*, 2007). Apresentam padrão infiltrativo difuso a estruturas adjacentes (LOUIS, *et al.*, 2007). A histopatologia apresenta células com atipias nucleares, irregulares, hipercromáticas e baixo padrão mitótico (CASTRO, 2022). Tem alterações genéticas relacionadas ao gene supressor de tumor *TP53* (Tumor Protein 53) e outros genes pontuais (ALVES, 2014). Há três variações histológicas: fibrilar (mais comum), protoplasmático e gemistocítico (HUSAIN, 2014 apud CASTRO, 2022). Apresentam uma taxa de sobrevida em 5 anos de 80 a 85% (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018).

Apesar da imprevisibilidade do astrocitoma difuso progredir para astrocitoma anaplásico, o astrocitoma difuso (grau 2) juntamente com o astrocitoma pilocítico (grau 1) são agrupados na categoria de gliomas de baixo grau (CASKEY, *et al.*, 2000; LOUIS, *et al.*, 2007).

O astrocitoma anaplásico (grau 3 da OMS) é um tumor infiltrativo, com presença de anaplasias celulares focais, dispersas com grande potencial mitótico proliferativo e núcleos hipercromáticos e pleomórficos (ALVES, 2014; LOUIS, *et al.*, 2016). Sua localização é semelhante à do astrocitoma difuso, com preferência pelos hemisférios

cerebrais (LOUIS, *et al.*, 2016). Histologicamente apresenta atipia nuclear, celularidade e atividade mitótica aumentadas, sem a presença de neovascularização e necrose (REFEIBERGER, COLLINS, 2004; LOUIS, *et al.*, 2016). Assim como no astrocitoma difuso, o astrocitoma anaplásico também apresenta mutação no gene *TP53* (ALVES, 2014). Apresenta uma taxa de sobrevida em 5 anos de 25% (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018).

Eles podem ter seu início em um astrocitoma de baixo grau, que em um intervalo médio de 2 anos, tendem a evoluir para GBM, ou ter seu início do zero já em fase mais avançada sem indício de lesão precursora, sendo chamados de primários (ALVES, 2014). De uma forma geral, é possível inferir que o astrocitoma anaplásico é um estágio intermediário do caminho de evolução do glioblastoma (ALVES, 2013).

O glioblastoma (grau 4 da OMS) é o tumor primário maligno mais frequente, extremamente agressivo e infiltrativo (REFEIBERGER, COLLINS, 2004; LOUIS, *et al.*, 2007). Eles podem ocorrer em qualquer faixa etária, com maior predileção por adultos entre 40 e 70 anos (LOUIS, *et al.*, 2016). Ocorrem mais frequentemente na substância branca em hemisférios bilateralmente, em lobos frontal, temporal e parietal (ALVES, 2014; LOUIS, *et al.*, 2016). Frequentemente acometem ambos os hemisférios, apresentam um padrão típico de “asa de borboleta” visto em imagem radiográfica e necropsia pós morte (CASTRO, 2022). Tendo uma taxa de sobrevida em 5 anos estimada em 20% (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018).

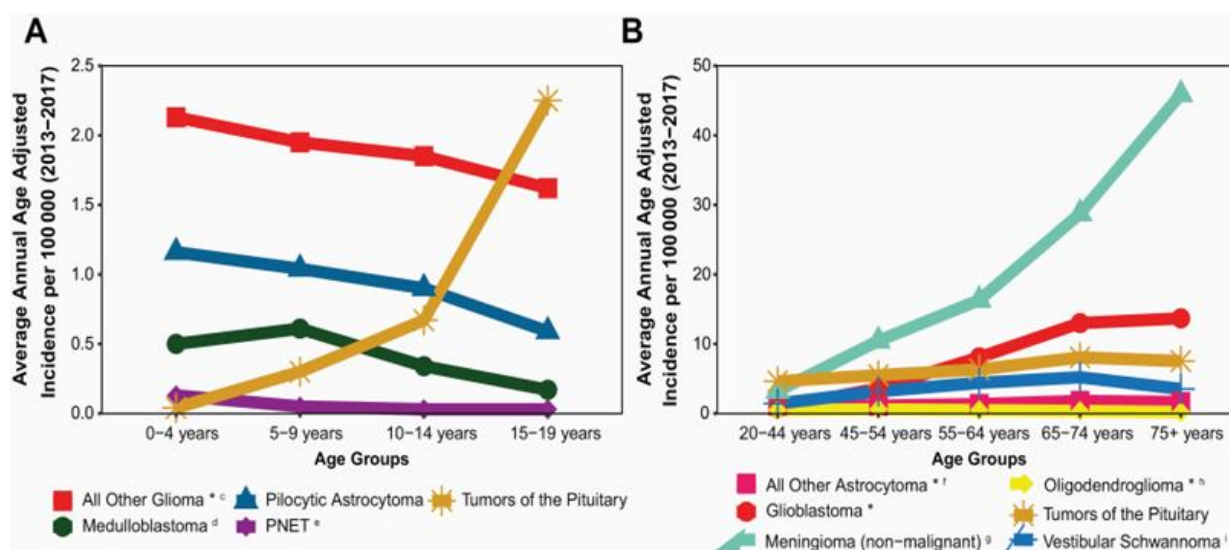
A histologia apresenta atipias nucleares, pleomorfismos celulares acentuados, células gigantes multinucleadas, alto índice mitótico, necrose geográfica e/ou neovascularização “glomeruloide” (ALVES, 2014; CASTRO 2022). A maioria dos glioblastomas origina-se “de novo” (ou primário), ou seja, sem quaisquer evidências clínicas e/ou histológicas de lesões malignas de menor grau, todavia eles, também, podem ser secundários originando-se de astrocitomas de menor grau (GLADSON; PRAYSON; LIU, 2010).

Os astrocitomas primários predominam na faixa etária pediátrica, respondendo por 90% dos casos, enquanto os astrocitomas secundários têm maior predominância em adultos (APPIN, *et al.*, 2015, *apud* CASTRO 2022).

Por se tratar de lesões altamente infiltrativas, são mais resistentes a tratamentos, não respondendo adequadamente às terapias (ALVES, 2014). Geralmente apresentam sobrevida menor do que 1 ano (AMERICAN CANCER SOCIETY, 2018). Por serem mais agressivos, o astrocitoma anaplásico (grau 3) e o glioblastoma (grau 4) foram agrupados na categoria de astrocitomas de alto grau (ELLISON, 2013; CASKEY *et al.*, 2000).

Entre 2013 e 2017, 51,6% das neoplasias de SNC diagnosticadas na população de 0 a 14 anos, nos EUA, foram de gliomas. Os astrocitomas pilocíticos corresponderam a 14,9% dos casos, enquanto o glioblastoma representou 2,9% dos casos (OSTROM, *et al.*, 2020).

Figura 7. Taxa de incidência de tumores cerebrais e outros tumores do SNC ajustada por idade.



Legenda: A: Incidência de 0 a 19 anos, demonstrando diminuição do índice de gliomas (linha rosa - quadrado) conforme o envelhecimento da população. Além disso, diminuição da porcentagem de astrocitomas pilocíticos (linha azul – triângulo) conforme o envelhecimento da população. B: Incidência de 20 a mais de 75 anos, demonstrando que com o aumento da idade, a presença de glioblastoma (linha rosa – bola) torna-se mais prevalente.

Fonte: OSTROM *et al.*, 2020

Se considerarmos pacientes que passam por intervenções de tratamento, cirúrgicas ou não, com alguma resposta terapêutica pessoas com astrocitoma difuso apresentam sobrevida média de 7 anos, o número que cai pela metade quando se trata de astrocitoma anaplásico e a sobrevida não chega a 12 meses nos glioblastomas (LOUIS, *et al.*, 2007). Nos casos de astrocitomas refratários, aqueles que não

respondem ao tratamento otimizado, a sobrevida é de apenas 3 anos (SU, LI, GAO, 2018).

3.5 BIOMARCADORES

Para a realização de uma classificação adequada, as características histopatológicas são necessárias. As alterações causadas nas células, fruto de modificações genéticas, são sítios importantes de pesquisa e é neste ponto que se enquadra o estudo dos biomarcadores (LOUIS, 2016).

Com o intuito de auxiliar a realização de um diagnóstico mais precoce e preciso dos gliomas, o estudo dos biomarcadores tumorais faz-se necessário. Estes marcadores podem auxiliar, não apenas na definição do tipo do tumor, mas nortear a terapêutica do paciente, individualizando cada tratamento.

Dentre os biomarcadores de células neoplásicas estudados neste trabalho, destaca-se a Proteína Inibidora de Apoptose Ligada ao X (XIAP), que foi comparada a marcadores tumorais já consagrados como o Ki-67 e a proteína p53, oriunda do gene *TP53*.

PROTEÍNA Ki-67

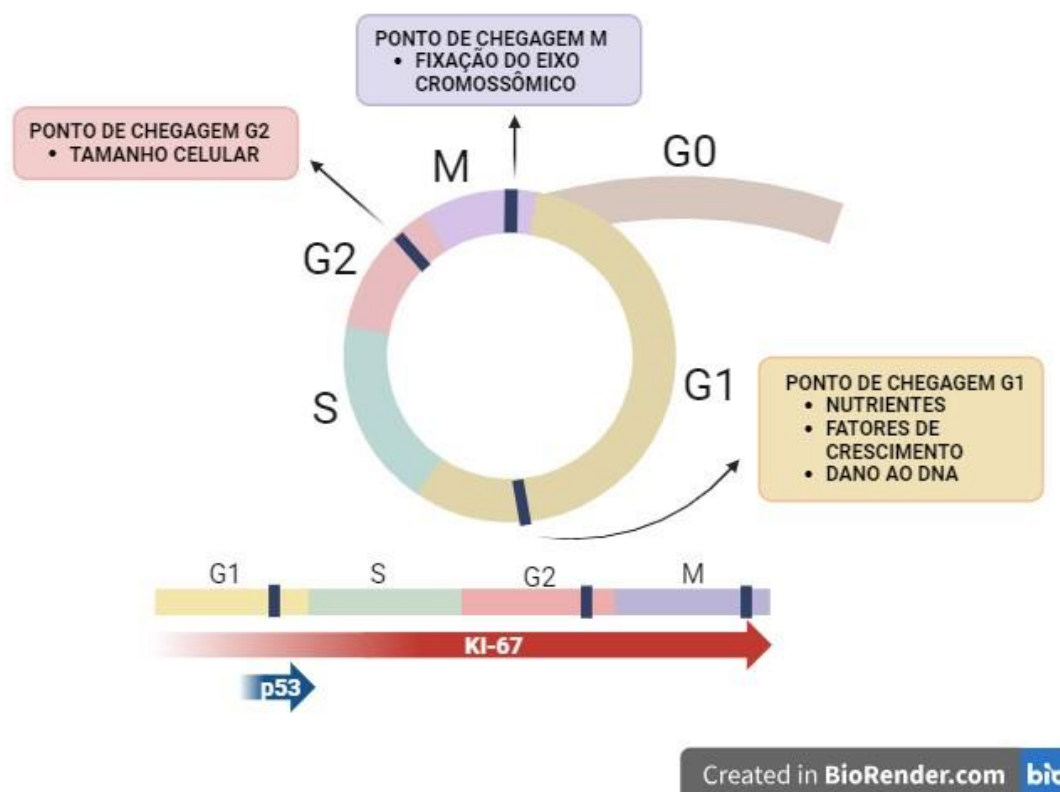
A proteína Ki-67 (ou antígeno Ki-67) é uma proteína nuclear não histona, que está diretamente relacionada com a divisão celular e a malignidade dos tumores (DUREGON, *et al.*, 2016). O nome Ki-67 ocorreu devido à identificação da proteína na 67^a placa de cultura tecidual a partir do anticorpo Ki-67 monoclonal oriundo de camundongos de uma pesquisa para a doença de Hodgkin L428 na cidade de Kiel, na Alemanha (GERDES, *et al.*, 1983, BARBOSA, *et al.*, 2003). A proteína Ki-67 humana, é codificada no gene *MKI67*, no cromossomo 10 (LUZZATTO, 2014).

A proteína é corada a partir de uma reação de imuno-histoquímica e quantificada em porcentagem por um médico patologista, refletindo assim a velocidade

de multiplicação das células tumorais, uma vez que se encontra presente em todas as fases do ciclo celular (CHAGAS, 2018).

A proteína Ki-67 está intimamente ligada à proliferação celular e à transcrição do RNA ribossômico (BULLWINKEL, *et al.*, 2006). Ela está presente em quase todas as fases do ciclo celular (G1, S, G2, mitose), a exceção é a fase G0, fase de repouso (BRONWN; GATTER, 1990). Durante a interfase é possível localizar a proteína, exclusivamente, dentro do núcleo das células (LUZZATTO, 2014). O conteúdo celular de proteína Ki-67 aumenta durante a fase S do ciclo celular, devido ao fato de ser neste momento que há duplicação do DNA (DARZYNKIEWICZ, *et al.*, 2015). Já no período das mitoses é possível encontrar a proteína alocada junto à superfície dos cromossomos (LUZZATTO, 2014)

Figura 8. Fases do ciclo celular.



Legenda: O ciclo celular é dividido em quatro fases principais: G1 com aumento celular e produção de componentes para replicação celular; Fase S com a replicação do DNA e estruturas; Fase G2 com aumento celular e preparação celular para a divisão celular; Fase M onde ocorre a divisão celular em si. A expressão celular de Ki-67 acontece durante todas as fases do ciclo celular, já p53, apesar de poder ser ativada em qualquer fase do ciclo, está presente em maior proporção na fase G1.

Fonte: A Autora (2023), criado com BioRender.com. Adaptado de BOLOGNA-MOLINA, *et al.*, 2013.

Apesar de não ser exclusivo de células malignas, sendo expresso em qualquer célula, seu número é aumentado devido à falha de apoptose das células tumorais que seguem em replicação constante (BARBOSA, *et al.*, 2003). Sendo assim, estudos demonstram que quanto maior a quantidade desta proteína, pior o prognóstico do paciente (DUREGON *et al.* 2016; MORAES-FILHO, RABENHORST, 2006; ISOLAN *et al.* 2005;).

Uma metanálise de Azambuja, *et al.* (2007) sustenta que uma alta expressão de Ki-67 está associado a um pior prognóstico para alguns tipos de cânceres. Estudos feitos por Faria, *et al.* (2006) observaram a expressão aumentada de Ki-67 a depender do aumento do grau do astrocitoma, independente de não predizer a sobrevivência dos pacientes, ainda assim podem ser um fator importante de prognóstico clínico dos astrocitomas (TORTOSA, *et al.*, 2003; KATO, *et al.*, 2004; JOHANNESSEN, *et al.*, 2006; MOSKOWITZ, *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2015). A meta-análise de Chen, *et al.* (2015) somou 4307 pacientes de 51 estudos diferentes, demonstrando Ki-67 menor que 10% para gliomas de baixo grau e Ki-67 maior que 10% para gliomas de alto grau. O estudo de Wong, *et al.* (2019), que analisou apenas glioblastomas, observou que pacientes que apresentaram expressão de Ki-67 maior ou igual a 22% tiveram pior sobrevida global.

PROTEÍNA p53

O gene *TP53* (ou Tumor Protein p53) é um gene supressor de tumor responsável por impedir a proliferação celular diante de uma neoplasia e de eventos estressantes, sendo ele o gene que mais sofre mutações quando se trata de oncogênese (FETT-CONTE, 2002; JORUIZ, BOURDON, 2016; D'BROT *et al.*, 2017).

O gene *TP53* foi descoberto há quatro décadas, descrito pela primeira vez em 1979, estando localizado no braço curto do cromossomo 17, na posição 17p13.1 (AUBREY, *et al.*, 2022 *apud* CASTRO, 2022; NCBI, 2022 *apud* CASTRO, 2022). Ele garante integridade genômica pois propicia resposta ao estresse celular, desta forma, propicia a supressão tumoral (AUBREY, *et al.*, 2022 *apud* CASTRO, 2022).

A partir do gene *TP53* é transcrita a proteína 53 (p53), uma proteína nuclear de 53 kilodaltons, com estrutura tetramérica, com meia-vida bastante curta quando não mutada, sendo, normalmente, indetectável nos estudos (FRUM; GROSSMAN, 2014; RIVLIN, *et al.*, 2011; SIMABUCO, *et al.*, 2018). Já quando há mutação no gene *TP53*, as proteínas sintetizadas a partir deste gene alterado, mesmo quando estão em forma inativa, podem acumular-se nas células (MAY, 1995; MILNER, 1997; VANDE WANDE; KEIN, 1998; MAY; FRUM; GROSSMAN, 2014). Quando funcionantes, aumentam sua expressão com ganho de função oncogênica (FRUM; GROSSMAN, 2014).

A p53 tem a alcunha de “guardiã do genoma”, uma vez que tem função primordial de impedir a proliferação de células com DNA alterado (AZEVEDO, 2021). Ela pode ser ativada a qualquer momento do ciclo celular, apesar de serem mais frequentes em G1, para ativação da cascata de reparação de forma a arrumar os possíveis erros de replicação e em caso de inviabilidade de reestruturação disparar o sinal de apoptose celular impedindo a divisão celular, como pode ser observado no esquema da figura 8 (KASTENHUBER; LOWE, 2017; AZEVEDO, 2021).

As mutações em genes supressores de tumor ocasionam perda de função das proteínas sintetizadas por eles (CASTRO, 2022). De forma que quando há uma p53 disfuncional não há como realizar a correção dos erros ocorridos durante a replicação do DNA e nem como dar sequência a apoptose (AZEVEDO, 2021). Há aumento da carcinogênese devido à proliferação de células tumorais, migração, invasão, reprogramação metabólica e quimiorresistência (JORUIZ; BOURDON, 2016; YUE, *et al.*, 2017; CHIANG, *et al.*, 2021, *apud* CASTRO, 2022).

Cerca de 50% dos tumores têm seu gene *TP53* com alguma mutação, gerando proteínas deficientes, sendo frequentemente encontrada em gliomas (ICHIMURA, *et al.*, 2000). O percentual de mutações está diretamente relacionado ao tipo tumoral variando aproximadamente 10% nas leucemias, 20% nos cânceres de mama, 30% nos cânceres gástricos, 35% em gliomas e mais de 60% em câncer colorretal e ovariano (ROYDS, *et al.*, 2006 *apud* SILVA, 2012).

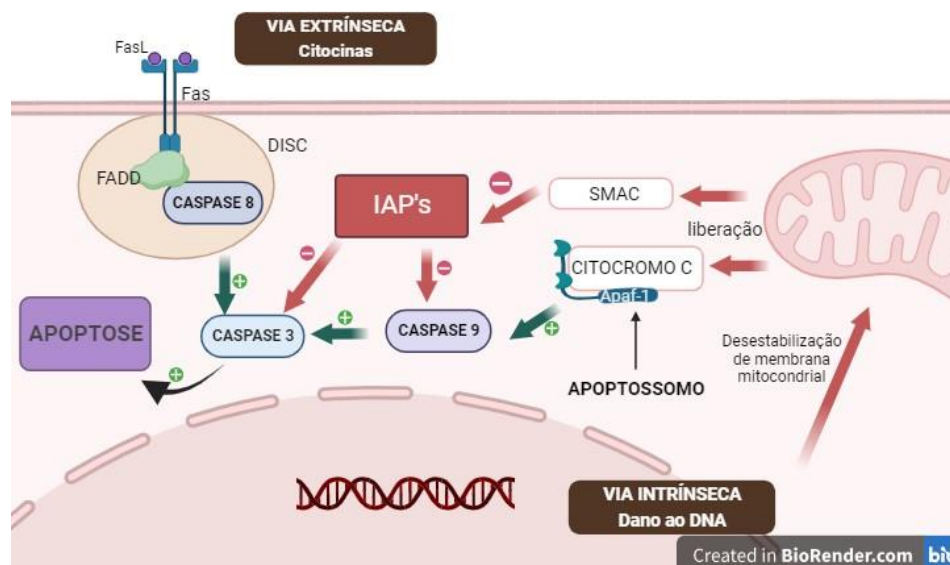
Uma meta-análise feita por Jin e colaboradores (2016) incluiu 1322 pacientes com gliomas, demonstrando aumento significativo de p53 associado ao grau do glioma e à sobrevida dos pacientes. Pesquisas do Atlas do Genoma do Câncer (TCGA) (2008)

apontaram que cerca de 87% dos glioblastomas têm alterações genéticas na via da p53, apresentando-se uma boa ferramenta no diagnóstico e acompanhamento dos gliomas. (FETT-CONTE, 2002; JORUIZ, BOURDON, 2016; D'BROT, *et al.*, 2017).

PROTEÍNAS INIBIDORAS DE APOPTOSE (IAPs)

A apoptose ou morte celular programada pode ser ativada por duas vias: intrínseca e extrínseca. A via intrínseca tem seu início a partir de estímulos internos, como dano ao DNA, que alteram a permeabilidade da membrana mitocondrial e culmina na liberação de proteínas, como citocromo c e SMAC (Segundo Ativador Mitocondrial de Caspase). No citoplasma o citocromo C ligasse a APAF-1 (Fator de Ativação de Protease Apoptótica 1) levando a formação do apoptossomo com ativação da via das proteínas caspases e subsequente apoptose (SILVA, 2017). Já a via extrínseca se ativa com estímulos externos, como citocinas, por exemplo, que se ligam aos receptores de membrana, que recrutam moléculas específicas formando um complexo de sinalização indutora de apoptose (DISC), dando o alarme para a ativação das caspases e posterior apoptose (McILWAIN, *et al.*, 2013). As caspases são proteases que clivam substratos para mediar todo o processo (FULDA; VUCIC, 2012). Ambas as vias podem ser reguladas pelas proteínas inibidoras de apoptose (IAPs).

Figura 9. Vias de indução da apoptose e inibição pelas proteínas inibidoras da apoptose (IAPs).



Legenda: A via intrínseca da apoptose é iniciada por estímulos que geram dano ao DNA celular, o que leva a alteração da membrana mitocondrial levando a liberação de citocromo c no citoplasma. O citocromo c junta-se com a APAF-1 no citoplasma formando o apoptossomo, que resulta na ativação das caspases e posteriormente no processo de apoptose. A via extrínseca tem seu start a partir de eventos externos culminando na interação entre alguma molécula e o receptor celular, que recruta moléculas do citoplasma celular, formando o complexo DISC e ativando a via das caspases. As IAPs podem agir tanto na via intrínseca quanto na extrínseca, inibindo diretamente ou indiretamente a ativação das caspases, e por consequência a apoptose celular.

Fonte: A Autora, 2023, Adaptado de WRIGHT; DUCKETT, 2005, *apud* SILVA, 2017. Criado com BioRender.com.

As IAPs foram descritas pela primeira vez a partir de um estudo que buscava identificar genes antiapoptóticos essenciais à replicação viral em células hospedeiras de baculovírus (CROOK, *et al.*, 1993). Sua função é a regulação negativa da apoptose através da inibição direta ou indireta das caspases, ou seja, impedir a apoptose celular (SILVA, 2017).

A família das IAPs atualmente é formada por oito membros: NAIP (Proteína inibidora da apoptose neuronal ou BIRC1), cIAP1 (BIRC2), cIAP2 (BIRC3), XIAP (proteína inibidora da apoptose ligada ao X ou BIRC4), Survivina (BIRC5), Bruce/Apollon (enzima conjugada à ubiquitina contendo BIR ou BIRC6), ML-IAP (BIRC7) e ILP2 (IAP-like 2 ou BIRC 8) (SILVA, 2017).

A principal característica dessa família de proteínas é a existência de um domínio Baculoviral IAP Repeat (BIR) que interage com proteínas (SRINIVASULA & ASHWELL, 2008). Além do BIR, algumas IAPs, também, possuem um domínio RING (Really Interesting New Gene) com função de ligar a proteína ubiquitina a outras proteínas e à ela mesma (ubiquitina E3 ligase), o que marca as proteínas enviando-as para a degradação via proteassoma, de forma a realizar regulação e autorregulação das proteínas celulares (FULDA; VUCIC, 2012; KOCAB; DUCKETT, 2016).

Em algumas IAPs também estão presentes os domínios CARD (Domínio de Ativação e Recrutamento de Caspases) e o domínio UBA (Domínio Associado à Ubiquitina). O domínio CARD está envolvido com a interação entre as proteínas associadas às caspases e a autorregulação de cIAP1 (BIRC 2) (LOPEZ, *et al.*, 2011). Já o domínio UBA auxilia no recrutamento de outros fatores que envolvem o processo de ubiquitinação, bem como participa da ligação entre a ubiquitina e seus substratos (BUDHIDARMO; DAY, 2014). O domínio UBC (Conjugação a Ubiquitina de Apollon)

não tem funções bem elucidadas, porém é sabido que está associado a ubiquitinação e degradação via proteassoma (OBEXER; AUSSERLESHNER, 2014).

Tradicionalmente as IAPs estão ligadas à inibição das vias apoptóticas, todavia diversos estudos demonstraram outras funções para esta família. Como por exemplo, na formação do fuso mitótico e divisão celular, regulação das outras vias de sinalização como NFκB e JNK1, metabolismo do cobre, entre outras (MITA, *et al.*, 2008; SANNA *et al.*, 2002; MUFTI, *et al.*, 2007). Dentro deste exposto, o presente estudo dará atenção especial a Proteína XIAP e seu envolvimento com astrocitomas pediátricos.

PROTEÍNA INIBIDORA DE APOPTOSE LIGADA AO X (XIAP)

A XIAP, também conhecida como BIRC4, MIHA ou hILP, é uma proteína da família das inibidoras de proteínas de apoptose (GAO *et al.*, 2019). Ela foi vista pela primeira vez por Liston, *et al.* (1996) em uma análise sobre um banco de dados que sequenciava IAPs em mariposas *Cydia pomonella*. No estudo foi identificada a sequência genética da proteína presente no cromossomo X, que a partir dali foi denominada XIAP (SILVA, 2017).

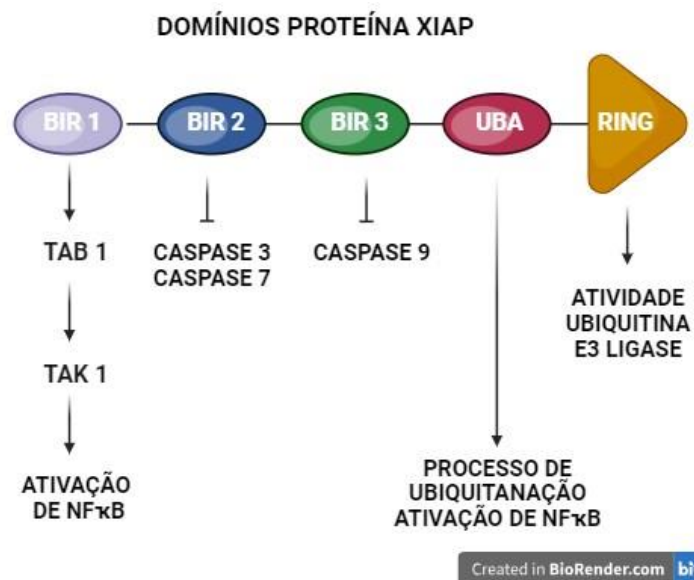
A XIAP possui três domínios BIR (BIR1, BIR2, BIR3) na porção N-terminal, um domínio UBA e um domínio RING na porção C-terminal (OBEXER; AUSSERLECHNER, 2014). Os diferentes domínios estão associados a diversas interações proteicas. A partir do domínio BIR3 XIAP interage com a caspase 9 – iniciadora e em BIR2 interage com as caspases efetoras 3 e 7, inibindo estas caspases ambas as vias apoptóticas ficam bloqueadas (SCOTT, *et al.*, 2005; PRABHU *et al.*, 2018; GAO *et al.*, 2019; JEONG *et al.*, 2019; AYACHI *et al.*, 2019). Sendo assim XIAP capaz intervir na via apoptótica em diferentes fases, inibindo a morte celular em resposta a estímulos (SCHIMMER, *et al.*, 2006).

Através do seu domínio BIR1, XIAP interage com a proteína TAB1 (TAK1-binding Protein), presente na via de ativação da proteína quinase TAK1 (Transforming Growth Factor β-activated Protein Kinase 1), o que gera ativação do fator nuclear Kappa Beta (NFκB), importante na progressão tumoral, angiogênese, invasão e metástase tumoral (LU, *et al.*, 2007). O domínio UBA participa do processo de

sinalização que depende da Ubiquitina (TSE, et al., 2011). Além de estar relacionado à ativação de NF κ B juntamente com BIR1 (TSE, et al., 2011).

O domínio RING, assim como o domínio UBA, está intimamente ligado com o processo de degradação pelo proteassomo. Ele apresenta função de Ubiquitina E3 ligase, unindo-se a ubiquitina E2 ligase para promover a transferência da ubiquitina a sua proteína alvo, a qual pode ser a própria XIAP ou ainda a proteína SMAC/DIABLO e caspase 9, proteínas pró-apoptóticas (YANG, et al., 2000; MORIZANE, et al., 2005, SILVA, 2017). Este domínio é importante para a ubiquitinação de XIAP por outras IAPs que também possuem o domínio RING (CHEUNG, et al., 2008). As funções dos domínios pertencentes a XIAP podem ser vistos na figura 10.

Figura 10. Estrutura da XIAP e função dos seus domínios.



Legenda: A figura mostra os domínios presentes na XIAP e suas funções. O domínio BIR1 ativa a proteína TAB1 e por consequência TAK1 e NF κ B. O domínio BIR2 promove inativação das proteínas caspases 3 e 7, bem como BIR 3 promove inativação da caspase 9. O domínio UBA além de promover ativação de NF κ B, promove o processo de ubiquitinação de outras proteínas pois participa do processo de ligação da ubiquitina aos substratos. E o domínio RING tem função de Ubiquitina E3 ligase, sendo responsável por ligar a si mesma e a outras proteínas para encaminha-las para degradação via proteassomo, sendo importante na autorregulação e na heterorregulação proteica. Siglas: BIR: baculoviral IAP repeat; NF κ B: nuclear factor kappa B; UBA: domínio associado à ubiquitinação; RING: really interesting new gene; UBA: domínio associado à ubiquitina; TAB1: TAK1-binding protein; TAK1: transforming growth factor β -activated protein kinase 1.

Fonte: A autora criado com BioRender.com (2023), adaptado de SILVA, 2017.

A XIAP está presente em todas as células do corpo, exceto em leucócitos do sangue periférico tanto em tecidos normais quanto nos neoplásicos (VISCHIONI, et

al., 2006; GAO *et al.*, 2019). Sendo possível observar sua maior expressão em tecidos tumorais de diversos tipos (VISCHIONI, *et al.*, 2006).

A proteína XIAP apresenta padrão de distribuição celular heterogêneo, podendo variar sua expressão a depender do tipo celular (SILVA, 2017). Em células livres de neoplasia a XIAP é encontrada predominantemente no citoplasma, todavia em alguns tipos de células, como ácinos pancreáticos e células de Sertoli, é possível observar a proteína no núcleo (VISCHIONI, *et al.*, 2006). De forma que XIAP pode se deslocar do citoplasma para o núcleo e vice-versa com base no estímulo fornecido (SILVA, 2017). Os estudos de Siegelin *et al.* (2005) e Russel *et al.* (2008) determinaram a localização citoplasmática ou perinuclear de XIAP em condições normais em cérebros de camundongos, porém quando estes ratos eram expostos a isquemia cerebral, observou-se padrão difuso da localização, sendo possível encontrar a proteína não só no citoplasma, mas também no núcleo.

Cao *et al.* (2014) relatam que alguns estudos demonstraram que a presença de XIAP no núcleo celular mostrou-se desfavorável, uma vez que manifesta papel oncogênico interagindo com alguns fatores de transcrição aumentando a capacidade proliferativa das células tumorais, conferindo pior prognóstico aos pacientes com câncer (ZHANG, *et al.*, 2011).

Estudos demonstram que altos níveis de XIAP promovem resistência a drogas quimioterápicas nos modelos *in vitro* de células tumorais (SILVA, 2017). Por exemplo, em células derivadas de câncer pancreático em que ocorreu silenciamento de XIAP, observou-se diminuição de resistência às drogas mais utilizadas, o mesmo aconteceu com células neoplásicas de câncer de próstata e de leucemia mieloide crônica (AMANTANA, *et al.*, 2004; SHRIKHANDE, *et al.*, 2006; SILVA, *et al.*, 2013). Além de aumentar a sensibilidade às drogas quimioterápicas, o silenciamento de XIAP ainda induziu ao aumento de apoptose (AMANTANA, *et al.*, 2004). Flanagan, *et al.* (2015) observaram a elevada expressão de XIAP como indicativo de resistência à radioterapia em pacientes com tumor colorretal.

De forma que é possível inferir o papel de XIAP no aumento da resistência ao tratamento do câncer, tanto medicamentoso quanto radioterápico nos mais diferentes tipos tumorais (SILVA, 2017). Por exemplo, no estudo de Silva *et al.* (2007) o

silenciamento de XIAP mostrou redução do crescimento do glioblastoma em 40%, bem como aumentou significativamente a sensibilidade à medicação.

Sendo assim, é possível afirmar que uma grande expressão da proteína XIAP no tecido pode estar associada ao aumento da tumorigênese, angiogênese, invasão tumoral e resistência às terapias antineoplásicas (OBEXER, AUSSERLECHNER, 2014).

Altos níveis de XIAP podem ser indicativos de um mau prognóstico ou baixa taxa de sobrevida, sendo esta, uma razão para que ela se torne um alvo no tratamento do câncer (GAO *et al.*, 2019). Além disso, como as proteínas Ki-67 e p53 atuam na manutenção do ciclo celular e estão superexpressas nas células tumorais também são indicativos de mau prognóstico e biomarcadores úteis no diagnóstico e seguimento dos tumores (Hanahan; Weinberg, 2011; JURÍKOVÁ, *et al.*, 2016).

Desta forma, mais estudos que visam estabelecer relações entre a expressão das proteínas XIAP, Ki-67 e mutações do gene *TP53* em gliomas devem ser realizados. Uma vez que, estes podem vir a ser futuros alvos para terapias anticancerígenas. Além disto, entender as vias das proteínas e suas correlações é fundamental para proporcionar melhores prognósticos e maior qualidade de vida aos pacientes com neoplasias sólidas.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a imunoexpressão tecidual da proteína XIAP em amostras de astrocitomas pediátricos.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Correlacionar os achados de expressão tecidual da XIAP com o grau (tipo) histológico dos astrocitomas.

- Correlacionar achados de expressão tecidual da XIAP com a classificação dos gliomas em alto e baixo grau.
- Correlacionar a imunoexpressão tecidual da XIAP com a imunoexpressão tecidual dos marcadores: p53 e o Ki-67.

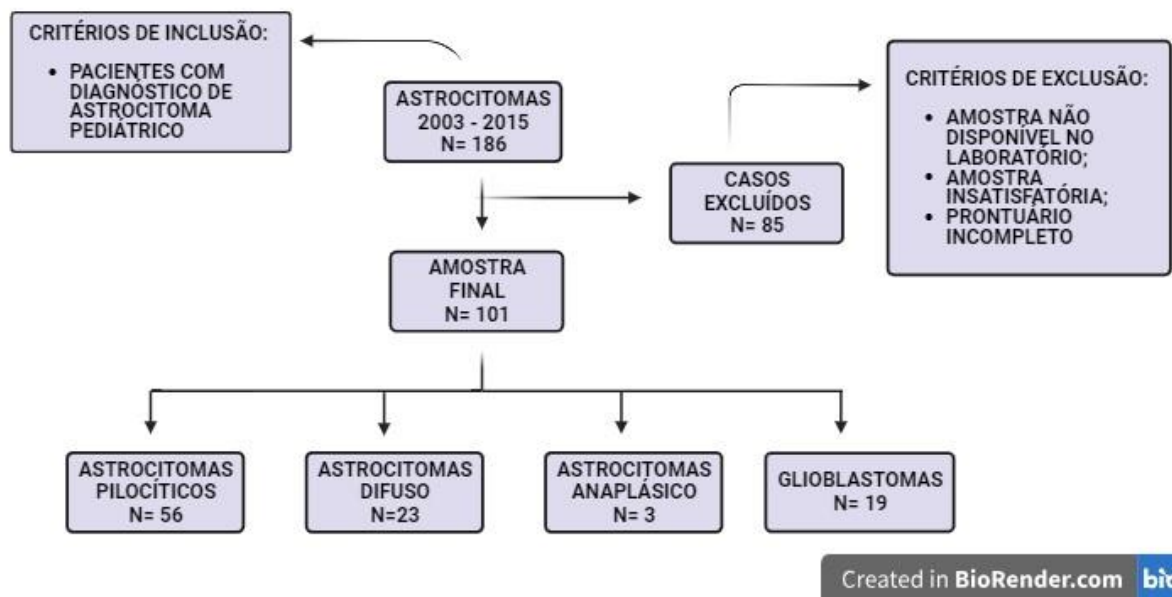
5 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi revisado e aprovado pelo comitê de ética e pesquisa do Hospital Pequeno Príncipe, em Curitiba, Paraná (número de registro: 1.787.170). Ele é parte de um estudo retrospectivo observacional de coorte, realizado no Instituto De Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe (IPPPP), em parceria técnica com o Laboratório de Patologia Experimental da Pontifícia Universidade Católica Do Paraná (PUCPR), cujo nome se intitula “Investigação de biomarcadores em tumores sólidos pediátricos do sistema nervoso”, CAAE: 13240619.5.0000.0097. (anexo 1)

Foram selecionados 186 casos de gliomas pediátricos diagnosticados no Hospital Pequeno Príncipe, no período entre 2003 e 2015. Após realização desta seleção, 101 casos foram incluídos na amostragem e 85 casos foram excluídos. Foram incluídos no estudo pacientes com diagnóstico de astrocitoma pediátrico com diagnóstico confirmado e cirurgia de ressecção feita entre os anos de 2003 e 2015. Foram excluídos do estudo pacientes com dados incompletos de prontuário e/ou que não possuíam amostras de material no laboratório de Patologia Experimental, ou amostras que apresentavam pequena quantidade de material tumoral ou que não apresentavam material tumoral nos blocos de parafina.

Entre os casos que foram adicionados ao estudo estão 56 astrocitomas pilocíticos (grau 1), 23 astrocitomas difusos (grau 2), 3 astrocitomas anaplásicos (grau 3) e 19 glioblastomas.

Figura 11. Fluxograma de seleção de casos e amostra final de gliomas, divididos por grau (tipo) histológico seguindo a classificação em quatro graus.



Fonte: A Autora (2023), criado com BioRender.com, adaptado de CASTRO (2022).

Nos prontuários dos casos selecionados, foram captadas as seguintes variáveis clínico-patológicas: gênero; idade ao diagnóstico; topografia da lesão; grupo histológico; tempo de sobrevida e desfecho, sendo paciente vivo ao final do estudo ou óbito.

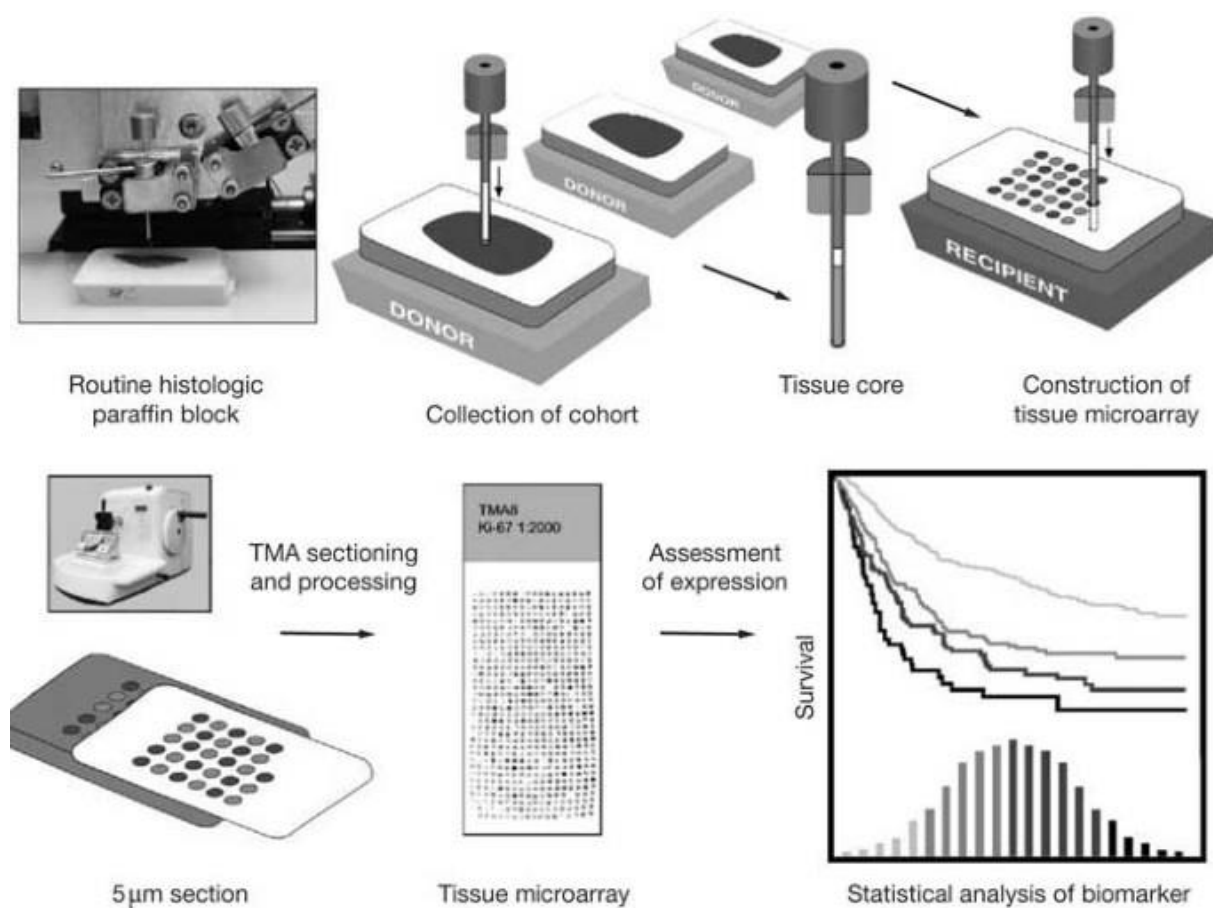
Dos blocos à disposição, com o auxílio de uma placa fria, micrótomo e navalha de microtomia, realizaram-se cortes histológicos de 4µm de espessura. Estes cortes foram alocados em lâminas. Estas lâminas histológicas foram coradas em hematoxilina-eosina (HE).

Após a confecção das lâminas, as áreas que apresentaram alterações degenerativas (necrose), hemorragia, calcificação e/ou artefatos de fixação ou inclusão, foram excluídas e as áreas remanescentes foram selecionadas. Estas áreas selecionadas de tecido neoplásico foram coletadas por meio de broca Trefina Neodent[®], cilíndrica, de 3 mm de diâmetro, acoplada a uma caneta-pino-chave e a um

motor de suspensão de 130 watts, da marca Bethil[®]. De cada um dos 101 casos coletou-se, no mínimo, duas amostras distintas dos blocos originais (doadores).

As amostras, então, foram novamente reemblocadas, utilizando-se parafina líquida, a 60°C, e repousaram sobre uma placa de gelo, a 10°C negativos, durante 30 minutos. O que resultou blocos multiamostrais de parafina, desta vez com fragmentos cilíndricos das várias amostras coletadas anteriormente. São os chamados TMAs (do inglês, *tissue microarrays*).

Figura 12. Esquema da montagem de um bloco parafinado multiamostrais de TMA.



Legenda: Inicialmente, amostras com o diâmetro de 3mm foram coletadas de posições específicas das amostras que compõem os blocos originais (blocos-doadores). Posteriormente, as novas amostras foram compiladas em blocos únicos de parafina, contendo diversas amostras (bloco-receptor).

Fonte: Rimm *et al.*, 2021 *apud* Nagashima 2022.

Submeteu-se os TMAs a cortes histológicos sequenciais de 4 μ m, como realizado anteriormente. E desta vez foi realizada a técnica de imuno-histoquímica.

Figura 13. Bloco de parafina de TMA dos casos de astrocitoma difuso do estudo.



Fonte: A autora. (2022)

A partir dos cortes histológicos dos TMAs, realizou-se a pesquisa imuno-histoquímica de XIAP. As lâminas foram submetidas à desparafinização com xilol, desidratação com álcool, e reidratação com água.

Incubou-se as lâminas em câmara úmida e fria, seguindo o protocolo do Laboratório de Patologia Experimental da PUC-PR.

O ensaio de imuno-histoquímica preconizou um protocolo de incubação dos anticorpos primários em câmara úmida, com temperatura entre 2 e 8°C, overnight. O polímero secundário (Reveal Polyvalent HRP-DAB Detection System, Spring Bioscience, Pleasanton, CA) foi aplicado no material testado por 25 minutos em temperatura ambiente. A revelação da técnica se deu com a adição do complexo 2, 3, Diaminobenzidina + substrato peróxido de hidrogênio, por tempos suficientes para o

desenvolvimento da cor castanha, seguida de contra-coloração com Hematoxilina de Harris. Os resultados foram confirmados pela reatividade de um controle positivo, onde uma amostra tecidual com imunoexpressão sabidamente positiva para o anticorpo foi alocada juntamente com as amostras testadas.

Quadro 3. Anticorpos utilizados na pesquisa

Proteína	Anticorpo	Especificações	Origem	Marca	Diluição
XIAP	Polyclonal antibody to x-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP)	Policlonal de Coelho	Katy -Estados Unidos	Cloud-Clone	1:100
p53	Anti-human p53 protein antibody	Monoclonal de camundongo	Glostrup - Dinamarca	Dakocytomation	1:200
Ki-67	Primary Antibody: Monoclonal Rat Anti- Mouse Ki-67 Antibody	Monoclonal de camundongo	Carpinteria – Estados Unidos	Dakocytomation	1:150

Fonte: A autora (2022)

Figura 14. Lâminas histológicas do estudo.

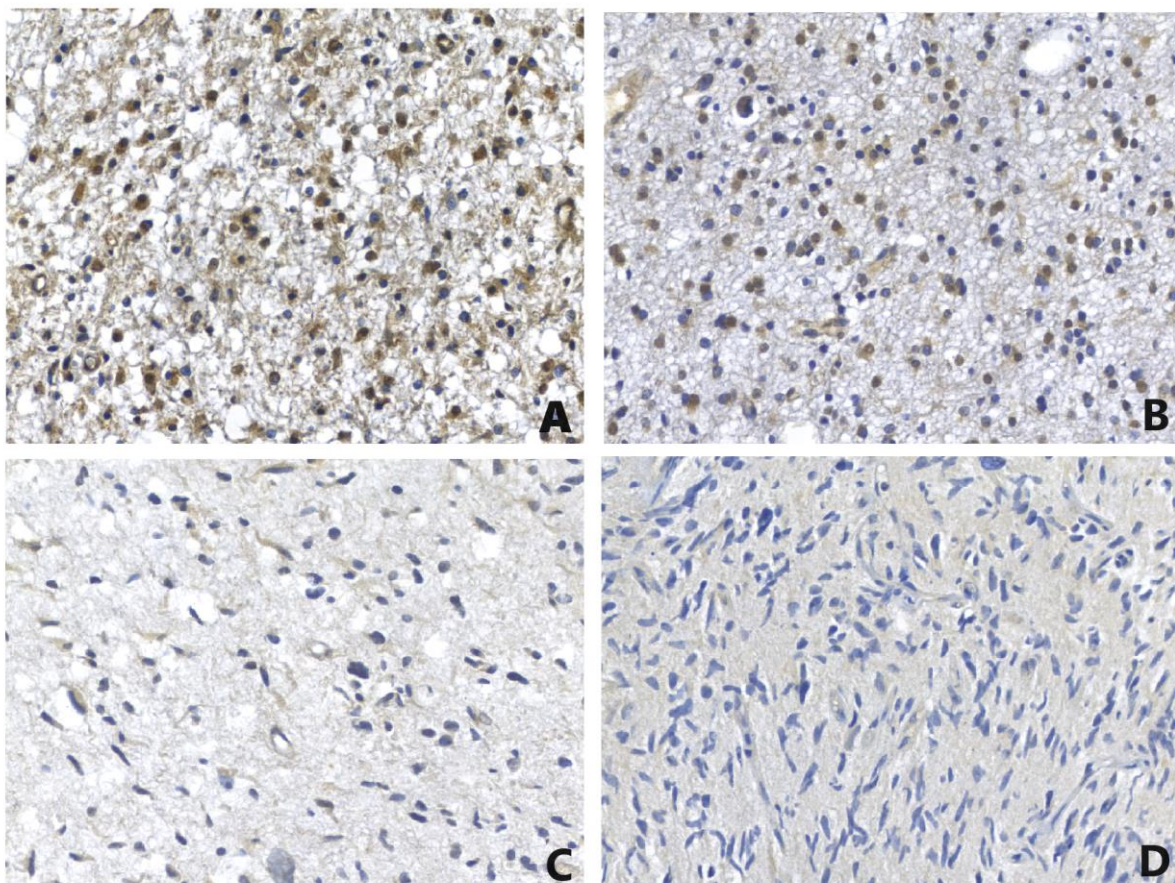


Legenda: Lâmina em TMA de astrocitomas pilocíticos corada em HE (esquerda) e lâmina histológica em TMA de astrocitomas pilocíticos corada por imuno-histoquímica para XIAP (direita), do bloco de TMA.

Fonte: A autora. (2022).

As lâminas imunocoradas foram digitalizadas utilizando o *scanner* de lâminas Axion Scan.Z1. Para cada amostra, obtiveram-se inúmeras imagens satisfatórias, das quais escolheu-se 20 de maneira aleatória para análise.

Figura 15: Lâminas de Astrocitomas fotografadas após imuno-histoquímica com marcação da proteína XIAP.



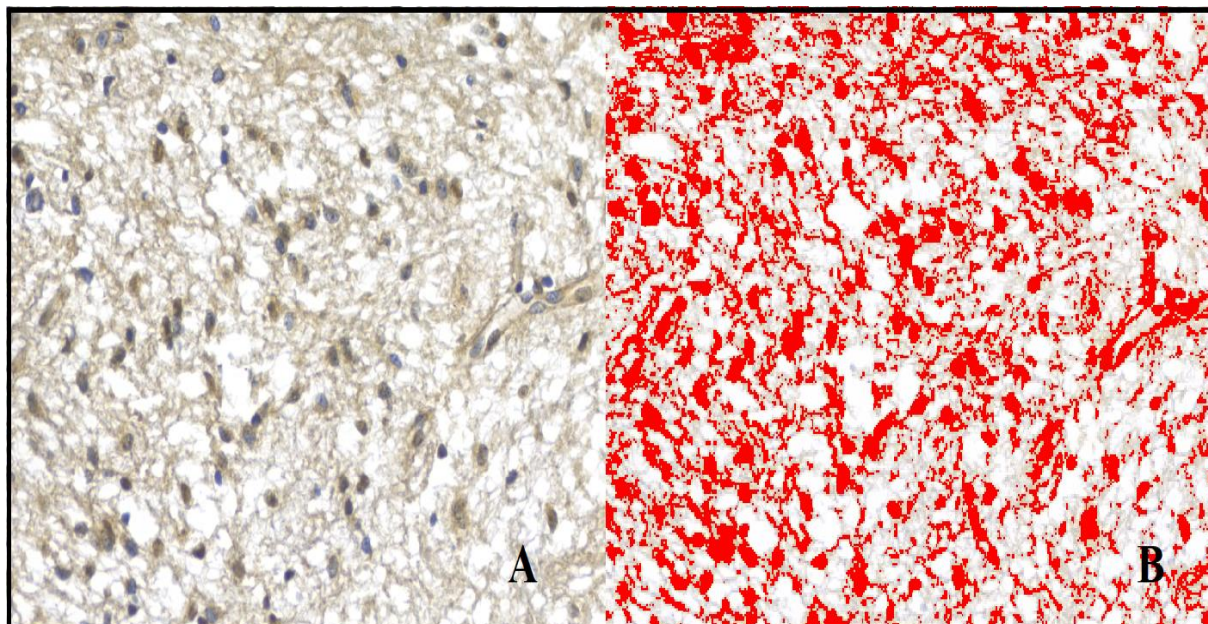
Legenda: Fotos tiradas a partir do *scanner* de lâminas Axion Scan.Z1, com aumento de 40x, após a realização da imuno-histoquímica de proteína XIAP. (A) Astrocitoma Pilocítico; (B) Astrocitoma Difuso; (C) Astrocitoma Anaplásico; (D) Glioblastoma.

Fonte: A Autora (2023).

A avaliação morfométrica das imagens foi feita pelo *software* Image Pro Plus® 4, o qual utiliza um padrão cromático, criando uma máscara que foi capaz de identificar as áreas positivas nas amostras e transformou esses resultados em áreas de imunoexpressão positivas por micrômetro quadrado (μm^2). O *software* analisou lâminas com cor castanho, indicativo de imunoexpressão positiva, em seguida tingiu, artificialmente, as áreas de interesse de vermelho, como demonstrado na figura abaixo. Realizando assim a quantificação da área de imunoexpressão.

A área em μm^2 obtida com esse método foi dividida pela área de tecido total do campo observado (20x), gerando assim, um valor percentual para cada imagem (MALAQUIAS *et al.*, 2018).

Figura 16. Avaliação morfométrica de XIAP (Astrocitoma Pilocítico) foi feita pelo *software* Image Pro Plus® 4,



Legenda: (A) Imagem digitalizada da lâmina imunomarcada com anticorpo detector de XIAP em um astrocitoma pilocítico (40x); (B) Imagem anterior delimitada pelo *software*, utilizando vermelha para realizar a quantificação da proteína XIAP. Um terceiro passo que não foi registrado com imagem é a quantificação da área total realizada também pelo *software*.

Fonte: A autora (2022).

Para a análise morfológica da Ki-67 e p53, as imagens foram observadas em objetivas de 4x, 10x e 40x com o microscópio óptico Olympus CH30®. Além disso, o Escore de Allred, também, foi utilizado para a avaliação morfológica da proteína p53.

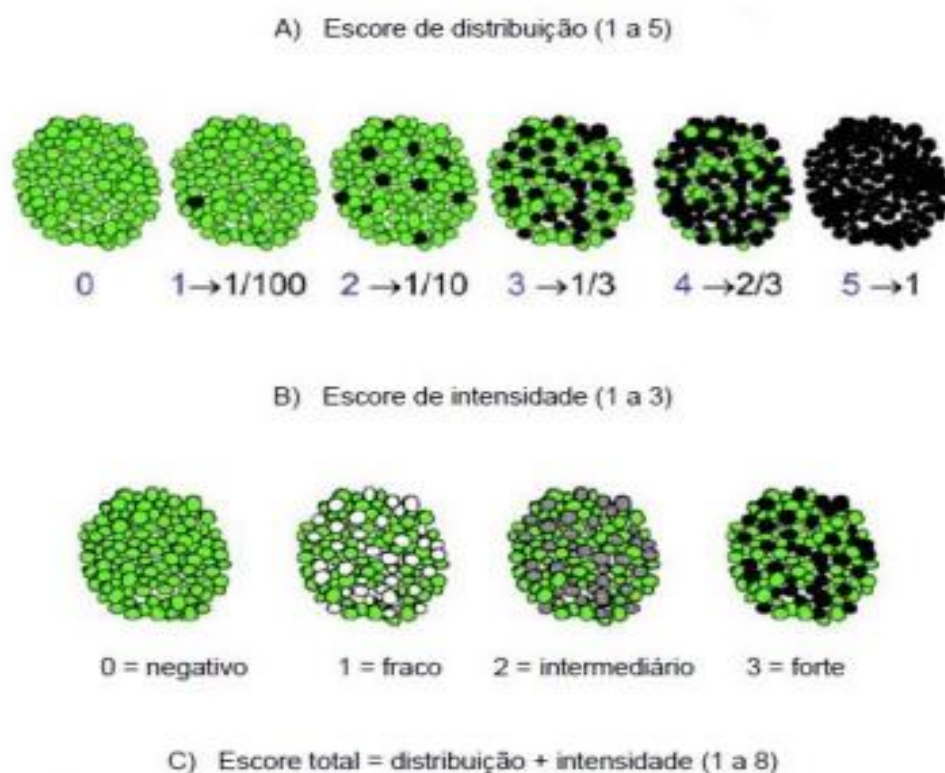
Quadro 4. Escore de Allred para avaliação da p53

DISTRIBUIÇÃO	% DE CÉLULAS POSITIVAS	INTENSIDADE	MARCAÇÃO
GRAU 0	0	0	NENHUMA
GRAU 1	<1	1	FRACA
GRAU 2	1-10	2	MODERADA
GRAU 3	10-33	3	FORTE
GRAU 4	33-66		
GRAU 5	66-100		

Fonte: Adaptado de ALLRED (1998)

As amostras foram então classificadas de acordo com a distribuição da positividade em: ausência de marcação (grau 0); menos de 1% de células tumorais (grau 1); entre 1 e 10% (grau 2); entre 10 e 33% (grau 3); entre 33 e 66% (grau 4); e entre 66 e 100% (grau 5). Sendo designada focal, quando positiva em menos de 10% de células tumorais e difusa, quando maior que 10%. A intensidade da positividade também foi quantificada e graduada em grau 1 (fraca), grau 2 (moderada) e grau 3 (forte) (CASTRO, E.M., 2022). Conforme ilustra a figura abaixo.

Figura 14. Escore de Allred para avaliação da p53.



Legenda: A) Representação do escore de proporção ou distribuição de células positivas para a proteína analisada, que pode ser de 0 a 5, sendo as células positivas identificadas por cor preta e as negativas por cor verde. B) Representação do escore de intensidade de expressão, que pode variar de 0 a 3, sendo as células com intensidade fraca identificadas por cor branca, intermediária por cor cinza e intensidade forte por cor preta. C) O escore final é a somatória dos dois, podendo variar de 0 a 8.

Fonte: Adaptado de QURESHI e PERVEZ (2010), citado por CASTRO (2022).

Para avaliar a imunexpressão de Ki-67 nas amostras, foi realizada a contagem manual de núcleos positivos e estabelecida uma porcentagem desta contagem em

relação ao total de células neoplásicas. Para isso, utilizou-se o microscópio Olympus CH30[®] em uma óptica de 40x.

A análise estatística foi pautada nos valores mínimos, máximos, medianas, médias e desvios padrões, a depender da condição de normalidade das amostras. Para avaliar a condição de normalidade das variáveis de cada grupo, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk.

A comparação entre os grupos em relação a variáveis quantitativas categóricas foi feita utilizando-se os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e de Mann-Whitney. Para comparação entre os resultados quantitativos contínuos das proteínas foi utilizado o coeficiente de correção de Spearman. Valores de $p < 0,05$ representaram significância estatística. Para análise de variáveis qualitativas foram realizadas tabelas de contingência. Os dados foram analisados com o programa computacional Jamovi[®] 2.3.16.0.

6 RESULTADOS

Na tabela 1 são apresentados os dados clínico-patológicos da amostra, totalizando 101 casos, que foram classificados quanto ao seu grau (tipo) histológico (graus 1, 2, 3 e 4). As variáveis (gênero, média de idade ao diagnóstico, topografia do tumor, número de óbitos e média de sobrevida) foram distribuídas nos quatro grupos histológicos possíveis. A combinação entre as variáveis da tabela 1, geraram os gráficos 2, 3, 4, 5 e 6.

Tabela 1. Variáveis clínico-patológicas segundo os tipos histológicos dos astrocitomas (OMS).

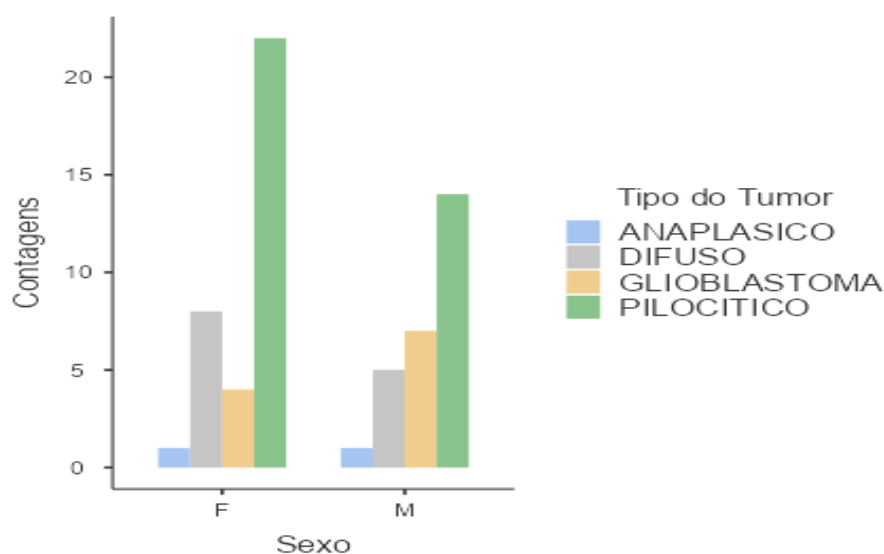
Variáveis		Pilocítico (Grau 1) [n=56]	Difuso (Grau 2) [n=23]	Anaplásico (Grau 3) [n=3]	Glioblastoma (Grau 4) [n=19]
		Baixo Grau		Alto Grau	
Sexo*	Masculino	27 (48,2)	11 (47,8)	1 (33,3)	13 (68,8)
	Feminino	29 (51,8)	12 (52,2)	2 (66,4)	6 (31,5)
Idade ao Diagnóstico**		5,2 ± 3,7	7,8 ± 4,3	13,3 ± 1,6	9,7 ± 3,6

Topografia*					
	Intrafentorial	24 (66,7)	5 (35,7)	0 (0,0)	2 (20,0)
	Supratentorial	12 (33,3)	9 (64,3)	3 (100,0)	8 (80,0)
Número de óbitos *		0 (0,0)	3 (13,0)	0(0,0)	8(42,1)
Número de óbitos por sexo dividido		Vivos		Mortos	
	Masculino	44		8	
	Feminino	46		3	
Sobrevida (meses)**		Não se aplica. Todos permaneceram vivos durante o estudo.	11,2 ± 7,0	Não se aplica. Todos permaneceram vivos durante o estudo.	8,8 ± 4,8

Legenda: * Número absoluto (porcentagem); ** Média ± Desvio Padrão.

Como desfecho, observou-se um total de onze óbitos, sendo oito pacientes do grupo 4 e três pacientes do grupo 2. Não foram observados óbitos nos grupos 1 e 3. Além disso, houve um maior número de mortes no sexo masculino e na topografia supratentorial. Notou-se, ainda, maior prevalência de astrocitomas no sexo feminino, principalmente de gliomas de baixo grau. Enquanto no sexo masculino, mesmo em menor porcentagem, percebeu-se maior distribuição nos gliomas de maior grau e um maior número de óbitos.

Gráfico 2. Distribuição dos astrocitomas por tipo (grau) histológico e sexo.



Legenda: F = feminino, M = masculino.

Gráfico 3. Distribuição dos astrocitomas por tipo (grau) histológico e desfecho óbito/vivo.

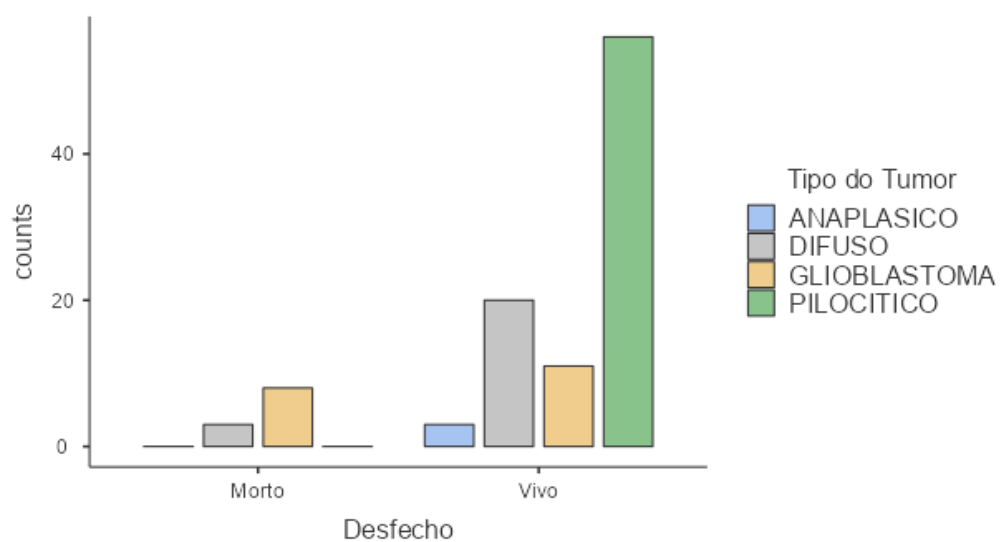
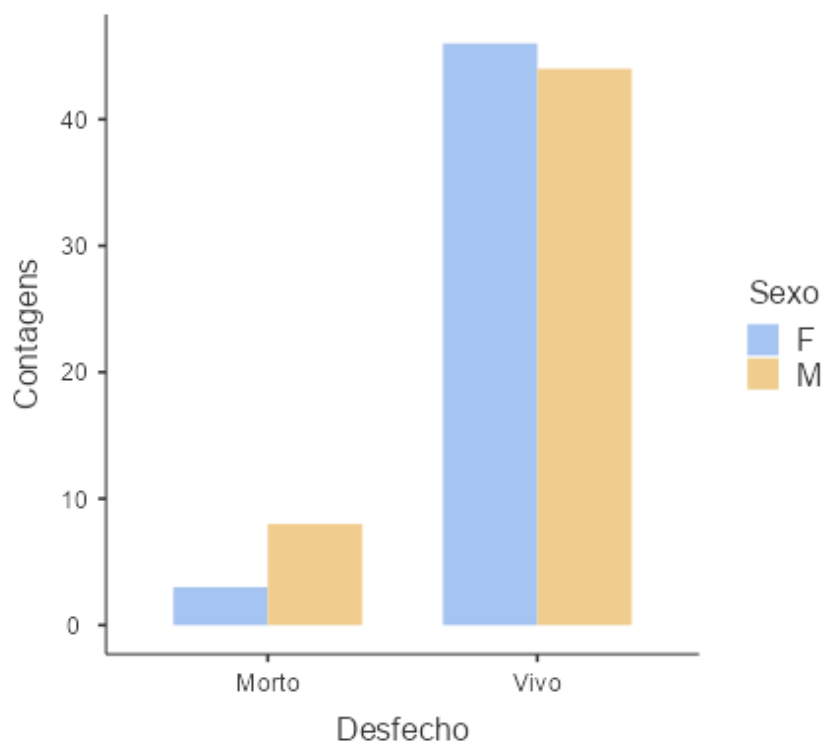


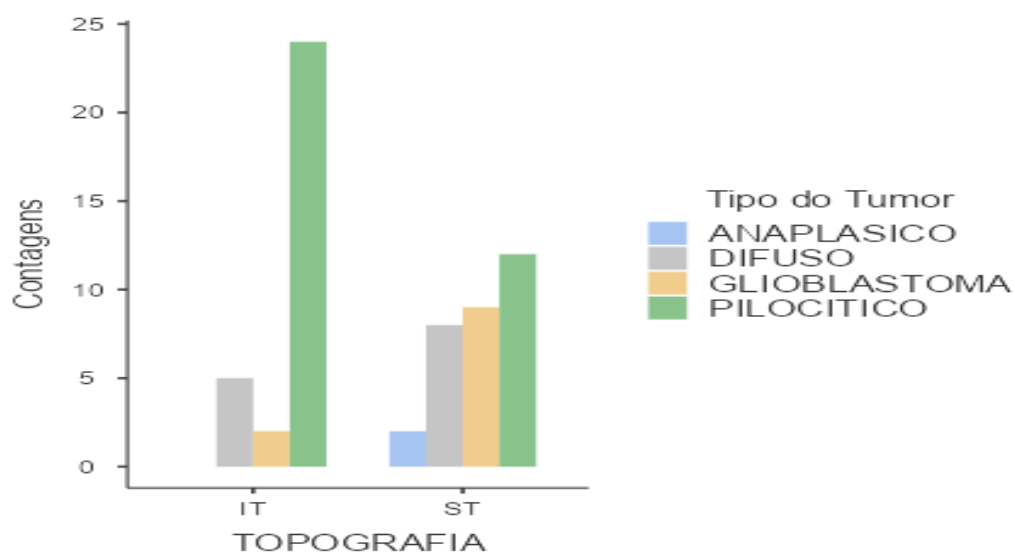
Gráfico 4: Distribuição dos astrocitomas por desfecho óbito/vivo e sexo.



Legenda: F = feminino, M = masculino.

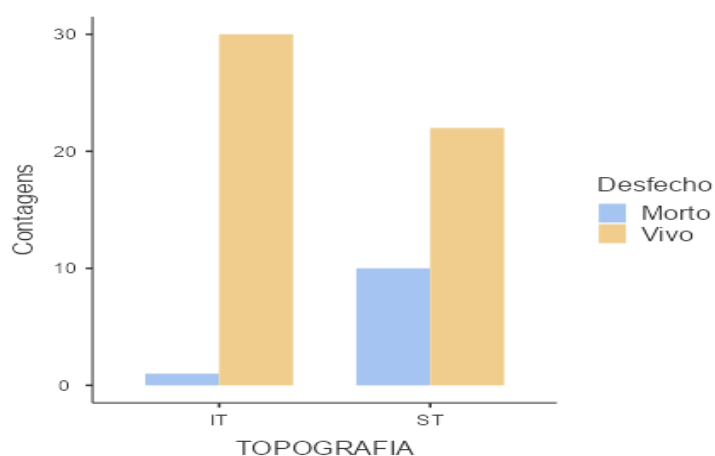
Outro ponto observado, foi a localização dos tumores. Os tumores de baixo grau, em sua maioria pilocíticos, apresentaram-se em topografia infratentorial. Enquanto os de maior grau, difuso, anaplásico e glioblastoma tiveram topografia supratentorial. Em relação à localização, observou-se maior mortalidade em pacientes cujo tumor tinha topografia supratentorial.

Gráfico 5. Distribuição dos astrocitomas por tipo (grau) histológico e por topografia.



Legenda: IT = infratentorial, ST = supratentorial.

Gráfico 6: Distribuição dos astrocitomas por desfecho óbito/vivo e por topografia.



Legenda: IT = infratentorial, ST = supratentorial.

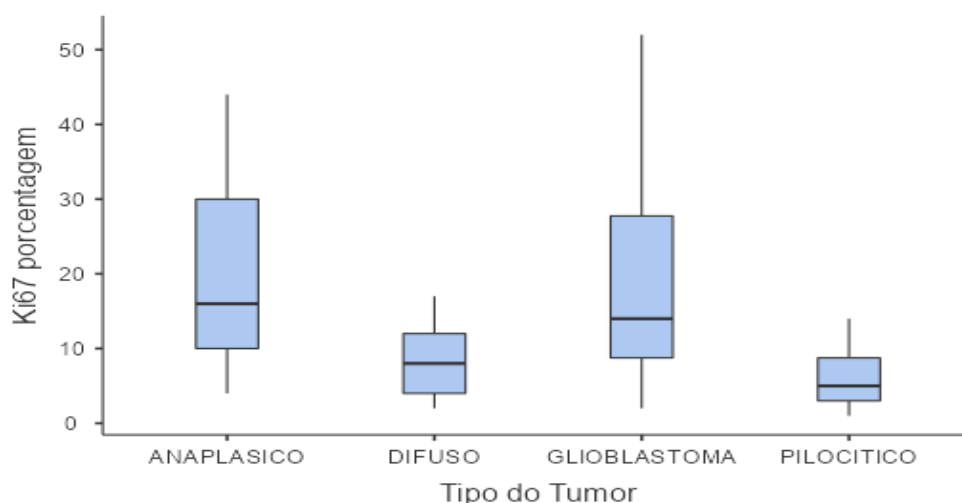
A proteína Ki-67 foi quantificada em porcentagem e apresentou-se sua distribuição por tipo de astrocitoma demonstrada na tabela 2 e no gráfico abaixo, demonstrando maior presença da proteína nos astrocitomas anaplásicos e glioblastomas.

Tabela 2. Imunomarcacão de Ki-67 (porcentagem) distribuída por tipo (grau) histológico dos astrocitomas.

Variáveis		Pilocítico (Grau 1) [n=56]	Difuso (Grau 2) [n=23]	Anaplásico (Grau 3) [n=3]	Glioblastoma (Grau 4) [n=19]
Ki-67 % n=101 p<0,001	Mínimo	1,0	2,0	4,0	2,0
	Máximo	14,0	28,0	44,0	52,0
	Média	5,91	8,74	21,3	19,1
	1º Quartil	3,0	4,0	10,0	11,0
	2º Quartil/ Mediana	5,0	8,0	14,0	16,0
	3º Quartil	8,75	12,0	28,0	30,0
Desvio padrão		3,56	6,21	20,5	12,8

Legenda: Teste estatístico Kruskal-Wallis

Gráfico 7. Imunomarcacão de Ki-67 (porcentagem) por tipo (grau) histológico dos astrocitomas.



Legenda: Observa-se maior presença de Ki-67 em Astrocitoma Anaplásico e Glioblastoma.

Quando Ki-67 foi pareado pelos tipos de astrocitoma observou-se que há diferença estatística entre, pelo menos, dois grupos avaliados. Esta diferença foi observada nos astrocitomas pilocíticos e glioblastomas ($p<0,001$) e astrocitomas difusos e glioblastomas ($p=0,021$).

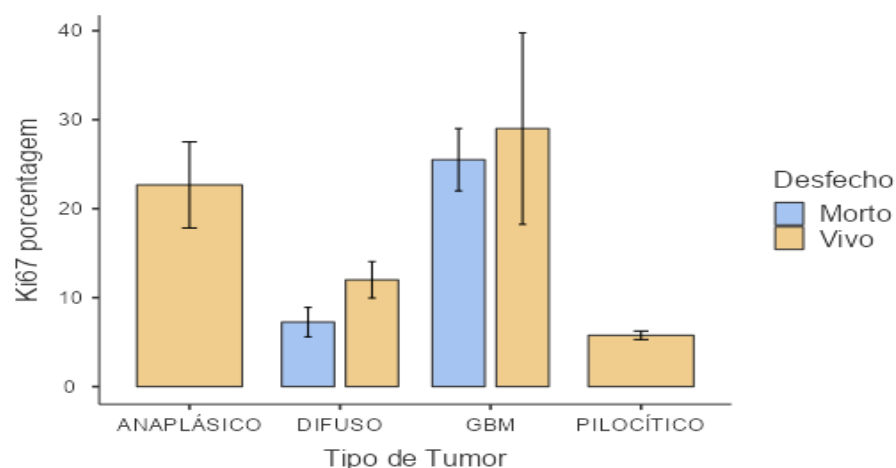
Tabela 3. Comparação da imunomarcagem de Ki-67 (porcentagem) entre os tipos (graus) histológicos dos astrocitomas.

Tipos Histológicos dos Astrocitomas		p VALUE
ANAPLÁSICO	DIFUSO	0,595
ANAPLÁSICO	GLIOBLASTOMA	1,000
ANAPLÁSICO	PILOCÍTICO	0,328
DIFUSO	GLIOBLASTOMA ▲	0,021*
DIFUSO	PILOCÍTICO	0,212
GLIOBLASTOMA ▲	PILOCÍTICO	< 0,001*

Legenda: * demonstra valores estatisticamente significativos pelo teste de *Post hoc Dwass-Steel-Critchlow-Fligner*; $p<0,05$ representa significância estatística. ▲ Representa o tipo (grau) histológico com maiores valores de expressão tecidual de Ki-67 em porcentagem conforme o gráfico 7.

Com a combinação das variáveis Ki-67, tipo tumoral e desfecho obteve-se o gráfico 8, demonstrando maior imunoexpressão em indivíduos com glioma de alto grau, bem como, maior mortalidade em indivíduos com glioblastoma com maior expressão de Ki-67. Todavia, não se encontrou significância estatística ($p=0,368$).

Gráfico 8: Imunoexpressão de Ki-67 (porcentagem) em relação ao tipo (grau) histológico do astrocitoma e o desfecho vivo/morto.



Legenda: O desfecho de letalidade foi somente encontrado em astrocitomas difusos e glioblastomas. Estes apresentaram maior expressão de Ki-67 juntamente com astrocitomas anaplásicos.

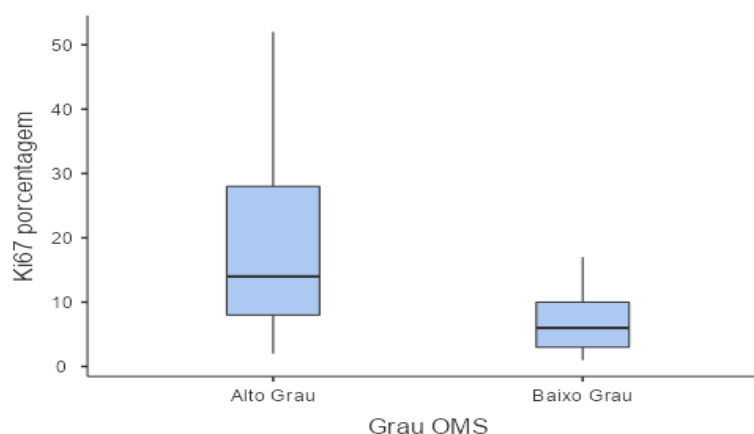
Já quando o teste foi realizado baseando-se na divisão de baixo e alto grau da OMS, demonstrou-se diferença estatística entre os grupos quanto a Ki-67, o que já era esperado haja vista os resultados acima. Podendo-se inferir que há mais Ki-67 nos tumores de alto grau.

Tabela 4. Imunoexpressão de Ki-67 (porcentagem) em relação a classificação dos astrocitomas em baixo e alto grau.

Variáveis		Pilocítico (Grau 1) [n=56]	Difuso (Grau 2) [n=23]	Anaplásico (Grau 3) [n=3]	Glioblastoma (Grau 4) [n=19]
		Baixo Grau		Alto Grau	
Ki-67 em % n=101 p<0,001	Mínimo	1,0		2,0	
	Máximo	28,0		52,0	
	Média	6,75		19,4	
	1º Quartil	3,0		10,3	
	Mediana	6,0		15,0	
	3º Quartil	10,0		28,0	
	Desvio padrão	4,66		13,5	

Legenda: Teste estatístico Mann-Whitney.

Gráfico 9: Imunoexpressão da proteína Ki-67 (porcentagem) em relação à classificação dos astrocitomas em alto e baixo grau.



Legenda: Representação de maior expressão de Ki-67 em astrocitomas de alto grau da OMS (astrocitoma anaplásico e glioblastoma)

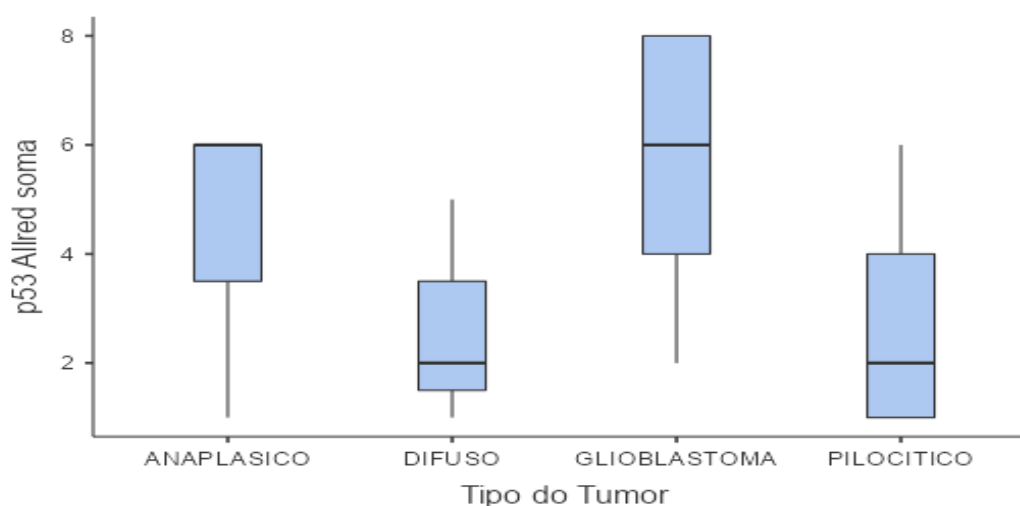
A proteína 53 (p53) teve suas comparações feitas por morfologia e morfometria a partir do Escore de Allred modificado, onde foram somadas as pontuações de distribuição e intensidade para realizar os cálculos. A distribuição de p53 com base no tipo de tumor pode ser observada na tabela abaixo.

Tabela 5. Imunoexpressão da proteína p53 (escore de Allred - soma) nos astrocitomas divididos por tipo (grau) histológico

Variáveis		Pilocítico (Grau 1) [n=56]	Difuso (Grau 2) [n=23]	Anaplásico (Grau 3) [n=3]	Glioblastoma (Grau 4) [n=19]
p53 n=101 p<0,001	Mínimo	1,0	1,0	1,0	2,0
	Máximo	6,0	5,0	6,0	8,0
	Média	2,61	2,48	4,33	5,88
	1º Quartil	1,0	1,5	3,5	4,0
	2º Quartil/ Mediana	2,0	2,0	6,0	6,0
	3º Quartil	4,0	3,5	6,0	8,0
Desvio padrão		1,45	1,31	2,89	2,26

Legenda: Teste estatístico Kruskal-Wallis

Gráfico 10: Imunoexpressão da p53 (escore de Allred – soma) por tipo (grau) histológico do astrocitoma.



Legenda: Notou-se maior presença de proteína p53 em astrocitomas anaplásicos e glioblastomas.

Quando p53 foi pareado considerando os tipos (graus) de astrocitoma observou-se que há diferença estatística ($p < 0,001$) entre, pelo menos dois, grupos, sendo esta diferença vista entre os astrocitomas pilocíticos e glioblastomas ($p < 0,001$) e astrocitomas difusos e glioblastoma ($p < 0,001$). Foi possível inferir que há maior imunexpressão de p53 em astrocitomas anaplásicos e glioblastomas.

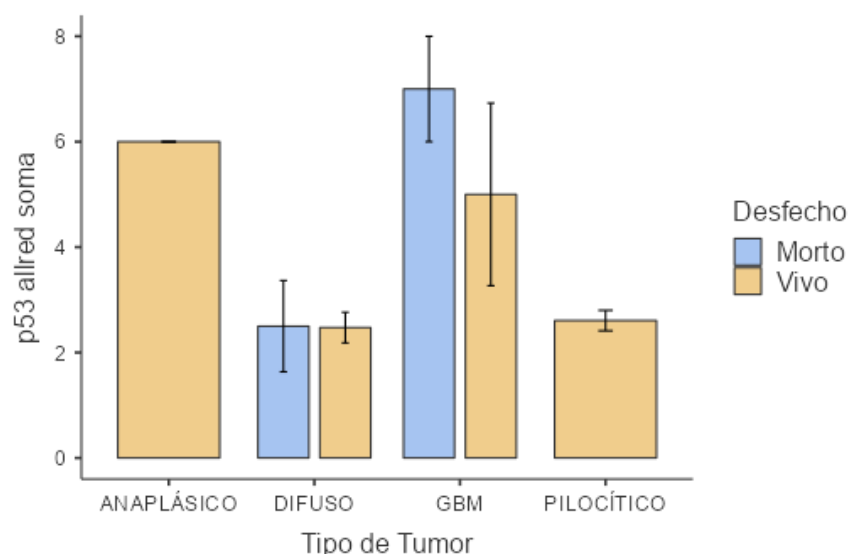
Tabela 6. Comparação estatística entre a imunexpressão de p53 (score Allred – soma) e os tipos (graus) histológicos dos astrocitomas.

Tipos Histológicos dos Astrocitomas		p VALUE
ANAPLÁSICO	DIFUSO	0,630
ANAPLÁSICO	GLIOBLASTOMA	0,651
ANAPLÁSICO	PILOCÍTICO	0,603
DIFUSO	GLIOBLASTOMA ▲	< 0,001*
DIFUSO	PILOCÍTICO	0,995
GLIOBLASTOMA ▲	PILOCÍTICO	< 0,001*

Legenda: * demonstra valores estatisticamente significativos a partir do teste *Post hoc Dwass-Steel-Critchlow-Fligner*; $p < 0,05$ representa significância estatística. ▲ Representa o tipo (grau) histológico com maiores valores de expressão tecidual de p53 em porcentagem conforme o gráfico 10.

Assim como em Ki-67, a combinação das variáveis p53, tipo tumoral e desfecho obteve-se o gráfico abaixo, demonstrando maior imunexpressão em indivíduos com glioma de alto grau, em especial glioblastomas. Também se notou maior mortalidade em indivíduos com glioblastoma e maior expressão de p53. Porém não foi possível encontrar significância estatística ($p = 0,289$).

Gráfico 11. Imunoexpressão da proteína p53 (score de Allred - soma) em relação ao tipo (grau) histológico do astrocitoma e o desfecho vivo/morto.



Legenda: O desfecho de letalidade foi somente encontrado em astrocitomas difusos e glioblastomas. Estes apresentaram maior expressão de p53 juntamente com astrocitomas anaplásicos.

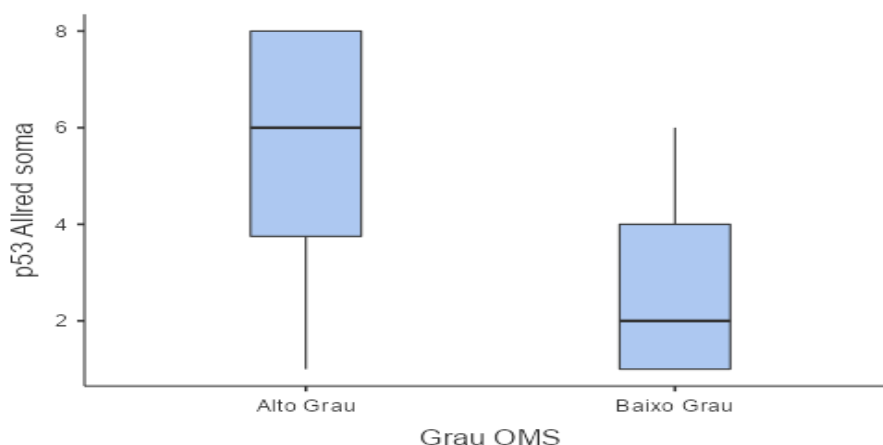
Quando p53 foi analisado sob a ótica de baixo e alto grau, notou-se diferença estatística entre os grupos, demonstrando-se maior presença de p53 em tumores de alto grau ($p < 0,001$).

Tabela 7: Imunoexpressão de proteína p53 (score de Allred – soma) em relação a classificação de baixo e alto grau dos astrocitomas.

Variáveis		Pilocítico (Grau 1) [n=56]	Difuso (Grau 2) [n=23]	Anaplásico (Grau 3) [n=3]	Glioblastoma (Grau 4) [n=19]
		Baixo Grau		Alto Grau	
p53 n=101 $p < 0,001$	Mínimo	1,0		1,0	
	Máximo	6,0		8,0	
	Média	2,57		5,65	
	1º Quartil	1,0		3,75	
	2º Quartil/ Mediana	2,0		6,0	
	3º Quartil	4,0		8,0	
	Desvio padrão	1,40		2,35	

Legenda: Teste estatístico Mann-Whitney.

Gráfico 12. Imunoexpressão de proteína p53 (score de Allred – soma) em relação a classificação de baixo e alto grau dos astrocitomas.



Legenda: Representação de maior expressão de p53 em astrocitomas de alto grau da OMS (astrocitoma anaplásico e glioblastoma)

A partir da avaliação da expressão tecidual de XIAP nas amostras estudadas, foi possível chegar na tabela 8.

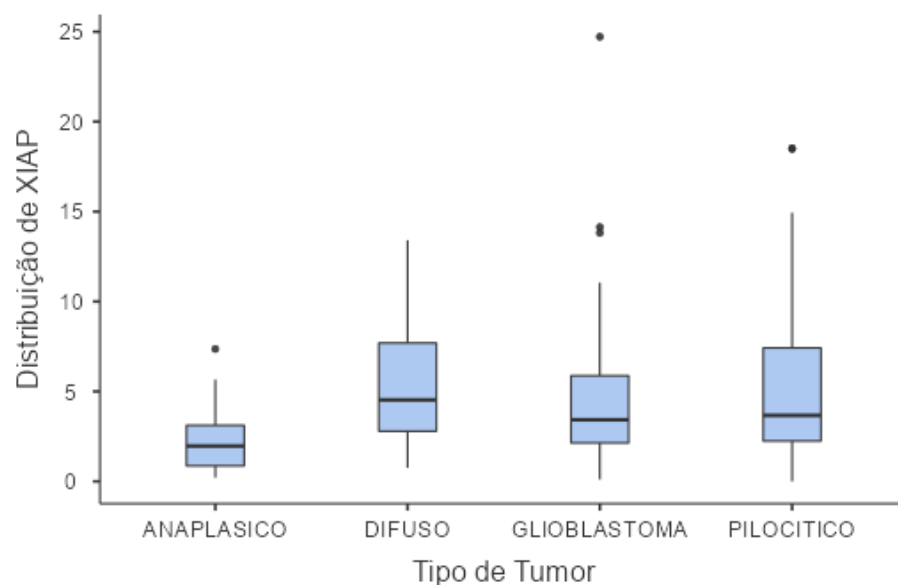
Tabela 8: Imunoexpressão da proteína XIAP por tipo (grau) histológico dos astrocitomas (porcentagem).

Variáveis		Pilocítico (Grau 1) [n=56]	Difuso (Grau 2) [n=23]	Anaplásico (Grau 3) [n=3]	Glioblastoma (Grau 4) [n=19]
XIAP n*=101 p=0,028	Mínimo	0,004	0,705	0,204	0,108
	Máximo	18,5	13,4	7,33	24,7
	Média	5,21	5,56	2,49	4,93
	1º Quartil	2,24	2,79	0,86	2,14
	2º Quartil/ Mediana	3,67	4,53	1,97	3,42
	3º Quartil	7,42	7,69	3,12	5,87
	Desvio padrão	4,19	3,70	2,14	4,64

Legenda: Teste estatístico Kruskal-Wallis

Notou-se uma distribuição semelhante entre os quatro grupos. Apesar da representação no gráfico desproporcional do astrocitoma anaplásico. Isto pode ser visto no gráfico 13.

Gráfico 13. Imunoexpressão da proteína XIAP por tipo (grau) histológico dos astrocitomas (porcentagem).



Legenda: Representação de maior expressão de XIAP em Astrocitomas Pilocítico e Difuso.

A proteína XIAP apresentou significância estatística ($p=0,028$) quanto a sua imunoexpressão em células de astrocitomas pediátricos. De forma que se pode afirmar que há realmente mais expressão de XIAP nestes tumores.

Quando comparados os grupos entre si, observou-se diferença estatística entre os grupos anaplásico e difuso ($p=0,016$) e anaplásico e pilocítico ($p=0,053$).

Tabela 9. Comparação estatística entre a imunoexpressão da proteína XIAP (porcentagem) e os tipos (graus) histológicos dos astrocitomas.

Tipos Histológicos dos Astrocitomas		p VALUE
ANAPLÁSICO	DIFUSO ▲	0,016*
ANAPLÁSICO	GLIOBLASTOMA	0,170
ANAPLÁSICO	PILOCÍTICO ▲	0,053*
DIFUSO	GLIOBLASTOMA	0,533
DIFUSO	PILOCÍTICO	0,761
GLIOBLASTOMA	PILOCÍTICO	0,942

Legenda: * demonstra valores estatisticamente significativos a partir do teste *Post hoc Dwass-Steel-Critchlow-Fligner* ; $p<0,05$ representa significância estatística. ▲ Representa o tipo (grau) histológico com maiores valores de expressão tecidual de XIAP em porcentagem conforme o gráfico 13.

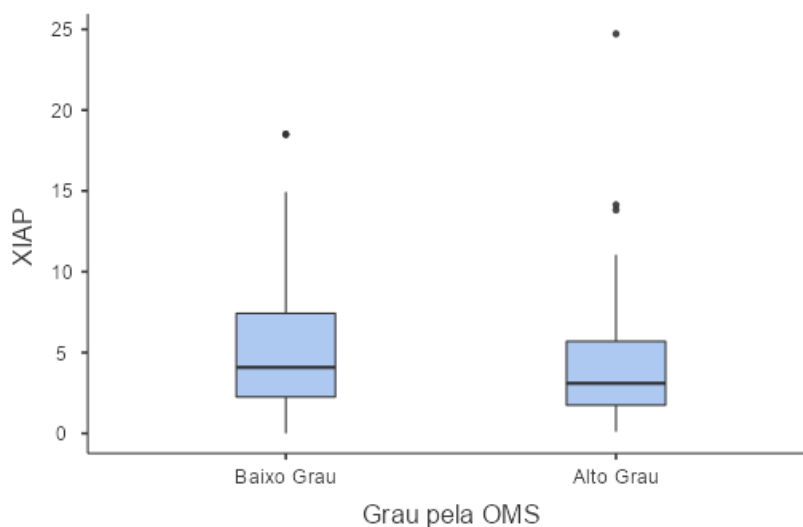
Para comparar XIAP com os padrões de divisão da OMS (baixo grau e alto grau) notando-se que realmente há mais expressão de XIAP em um dos grupos ($p=0,048$). Demonstrando maior expressão de XIAP nos astrocitomas de baixo grau.

Tabela 10. Imunoexpressão de proteína XIAP em relação a classificação em baixo e alto grau dos astrocitomas (porcentagem).

Variáveis		Pilocítico (Grau 1) [n=56]	Difuso (Grau 2) [n=23]	Anaplásico (Grau 3) [n=3]	Glioblastoma (Grau 4) [n=19]
		Baixo Grau		Alto Grau	
XIAP n=101 p=0.048	Mínimo	0.00		0,018	
	Máximo	18.5		24,7	
	Média	5.31		4,35	
	1º Quartil	2.25		1,75	
	2º Quartil/ Mediana	4.08		3,10	
	3º Quartil	7.43		5,69	
	Desvio padrão	4.05		4,29	

Legenda: Teste estatístico Mann-Whitney.

Gráfico 14. Imunoexpressão de proteína XIAP em relação a classificação em baixo e alto grau dos astrocitomas (porcentagem).



Legenda: Representação de maior expressão de XIAP em astrocitomas de baixo grau da OMS (astrocitomas pilocítico e difuso)

Correspondendo aos objetivos específicos, foi comparado XIAP versus Ki-67 e XIAP versus p53 distribuídos grupos da OMS.

Tabela 11. Correlação (Coeficiente de Spearman) entre XIAP e Ki-67 nos astrocitomas divididos pelos tipos (graus) histológicos.

XIAP x Ki-67	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,287
	Valor de p .	0,032*
Astrocitoma Pilocítico		
XIAP x Ki-67	Coeficiente de Spearman (Rho)	- 0,209
	Valor de p .	0,339
Astrocitoma Difuso		
XIAP x Ki-67	Coeficiente de Spearman (Rho)	-0,500
	Valor de p .	1,00
Astrocitoma Anaplásico		
XIAP x Ki-67	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,133
	Valor de p .	0,587
Glioblastoma		

Legenda: Teste de Correlação de Spearman

Dentre as correlações pelo teste de Spearman, somente XIAP versus Ki-67 no astrocitoma pilocítico mostrou-se significativa ($p=0,032$). Porém, ao analisar-se o coeficiente de Spearman, observa-se uma correlação fraca e diretamente proporcional ($Rho\ 0,287$). Ou seja, mesmo que fraca, se a quantidade de XIAP aumentar, Ki-67 seguirá o mesmo padrão.

O mesmo acontece quando se compara XIAP e p53. Demonstra-se correlação estatística positiva apenas nos astrocitomas pilocíticos ($p=0,022$). Todavia, essa correlação também é fraca, e diretamente proporcional, apresentando Rho de 0,304, assemelhando-se ao padrão de Ki-67 descrito acima.

Tabela 12. Correlação (Coeficiente de Spearman) entre XIAP e p53 nos astrocitoma divididos pelos tipos (graus) histológicos.

XIAP x p53	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,304
	Valor de <i>p</i> .	0,022*
Astrocitoma Pilocítico		
XIAP x p53	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,011
	Valor de <i>p</i> .	0,959
Astrocitoma Difuso		
XIAP x p53	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,866
	Valor de <i>p</i> .	0,333
Astrocitoma Anaplásico		
XIAP x p53	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,186
	Valor de <i>p</i> .	0,446
Glioblastoma		

Legenda: Teste de Correlação de Spearman

Ao se correlacionar XIAP, Ki-67 e p53 sem a separação por grupos, não foi observado correlação estatística positiva (tabela 13).

Tabela 13. Correlação (Coeficiente de Spearman) entre XIAP e Ki-67 e p53 nos astrocitomas (n = 101).

XIAP x Ki-67	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,009
	Valor de <i>p</i> .	0,932
XIAP x p53	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,100
	Valor de <i>p</i> .	0,318
Ki-67 x p53	Coeficiente de Spearman (Rho)	0,109
	Valor de <i>p</i> .	0,310

Legenda: Teste de Correlação de Spearman

7 DISCUSSÃO

Seguindo os passos da literatura, os astrocitomas estudados na pesquisa demonstraram padrão de distribuição por sexo, local do tumor e idade ao diagnóstico bastante semelhantes aos já descritos em outros estudos sobre tumores de SNC.

Apesar dos números, de certa forma parelhos, em relação à distribuição por sexo observados no estudo, notou-se que os números seguem os padrões mundiais. Segundo a ACS (2020), observa-se um risco maior de desenvolvimento para tumores de SNC em mulheres em relação a homens, todavia estas desenvolvem menos tumores malignos e morrem menos quando comparadas ao sexo masculino. Dentro do estudo exposto, notou-se maior prevalência de astrocitomas no sexo feminino, com maior incidência para tumores de baixo grau, enquanto no sexo masculino há maior prevalência de tumores de alto grau e por consequência maior número de óbitos.

A literatura mostra que o astrocitoma mais comum na infância é o astrocitoma pilocítico (grau 1 da OMS), o que também se demonstrou verdade no estudo, observando-se 55,4% de astrocitomas pilocíticos em relação aos demais estudados (OSTROM, *et al.*, 2020). Porém, no que diz respeito ao pico de incidência dos astrocitomas pilocíticos ser entre 8 e 13 anos, o exposto observou mais casos entre 0 e 5 anos ao diagnóstico (ALVES, 2014; OSTROM, *et al.*, 2020).

A literatura ainda demonstra que a maioria dos astrocitomas pilocíticos desenvolvem-se em região infratentorial, no cerebelo, sendo corroborada pelo estudo, que demonstrou que além da maior porcentagem de astrocitomas serem de grau 1, eles também estão localizados em sua maioria na região infratentorial (LOUIS, *et al.*, 2007).

Os estudos que apresentam tumores malignos de SNC são mais prevalentes em meninos e em sua maioria estão presentes em região supratentorial (OSTROM *et al.*, 2020; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2023). O que também se confirmou neste estudo. Foi observado que a partir de astrocitomas difusos (grau 2), os tumores estavam em sua maioria localizados em porções supratentoriais. Sendo que os astrocitomas de maior grau têm preferência pelos hemisférios cerebrais (LOUIS, *et al.*, 2007). Foi possível observar a maior presença de tumores supratentoriais em crianças

com idade superior a 7 anos, o que pode ser explicado pela predileção de tumores de maior grau com o crescer da idade (OSTROM, *et al.*, 2020).

Apesar da literatura, o estudo não demonstrou maior prevalência de astrocitomas difusos no sexo masculino, isto somente se deu com astrocitoma anaplásico e glioblastoma. O que provavelmente corrobore com os estudos de Ostrom, *et al.* (2020) que afirmam não se observar desproporções significativas entre os gêneros no que se diz respeito ao gênero neste tipo de tumor (CASTRO, 2022).

A ACS (2018) estimou taxas de sobrevida, na população infanto-juvenil, em 5 anos, em pacientes tratados adequadamente, para astrocitomas pilocíticos em 95%, para os astrocitomas difusos entre 80% e 85%, para astrocitomas anaplásicos de 25% e para glioblastomas de 20%. O que se assemelha com os dados verificados no estudo realizado em Curitiba encontrados apenas no astrocitoma pilocítico e no astrocitoma difuso, com 0% e 13%, consecutivamente, de óbitos no período do estudo. No período estudado, e por apresentar uma amostra baixa, não foram contabilizadas mortes no astrocitoma anaplásico. Já para o glioblastoma, mais da metade das crianças participantes (58%), permaneceram vivas durante o estudo. Nos que faleceram, foi vista a média de sobrevida em meses 11,2 (desvio padrão $\pm 7,0$) para astrocitomas difusos e de 8,8 (desvio padrão de 4,8) para glioblastomas.

De um modo geral, observou-se no estudo maior prevalência de tumores de maior grau de malignidade em indivíduos do sexo masculino, com topografia supratentorial e que estes também morreram mais devido a combinação de fatores.

O marcador de proliferação celular Ki-67 está presente em todas as fases ativas do ciclo celular – fases G1, S, G2 e M – e ausente na fase de dormência, G0. Sua expressão aumenta progressivamente com o avançar do ciclo, atingindo seu pico durante as fases G2 e M. Podendo aumentar ainda mais com a desregulação do ciclo celular (BROWN; GATTER, 2002).

No que diz respeito a presença de Ki-67 nas células neoplásicas de SNC, autores apontaram que a proteína é encontrada em maior quantidade em células cancerígenas, apesar de poderem estar presentes em quaisquer células neoplásicas, ou não (BARBOSA, *et al.*, 2003; DUREGON *et al.* 2016). O estudo realizado em Curitiba denota maior presença de Ki-67 em células de glioblastoma. E apesar desta

maior transcrição não predizer mortalidade e/ou prognóstico, viu-se que indivíduos que expressaram mais Ki-67 estavam no grupo de glioblastoma e morreram mais em relação aos demais (CHEN, *et al.*, 2015).

Seguindo estudos recentes, a expressão média de Ki-67 em astrocitomas de baixo grau mostrou-se menor do que 10% (6.75%) e maior que 10% em astrocitomas de alto grau (19.4%) (CHEN, *et al.*, 2015).

Já a p53 tem a função primordial de impedir a proliferação de células com DNA alterado, tende a estar presente em maior quantidade em tumores de maior grau pois as células não conseguem realizar a apoptose celular (AZEVEDO, 2021; CHIANG, *et al.*, 2021, *apud* CASTRO, 2022). O que se confirmou neste estudo.

A partir do exposto, foi possível a concordância com estudos anteriores, expressando aumento significativo de p53 em gliomas de maior grau, em especial em glioblastomas (JIN, *et al.*, 2016). No estudo não só se demonstrou maior expressão em glioblastomas, como também foi possível inferir maior morte desta população no que se diz respeito a grau (tipo) de tumor. Ou seja, indivíduos que possuíam diagnóstico de glioblastoma, apresentaram maior imunoexpressão de p53 e tiveram uma maior taxa de mortalidade.

A proteína XIAP é um marcador antiapoptótico. Com o aumento de XIAP ocorre a inibição da apoptose, o que resulta em uma proliferação celular desenfreada. A Ki-67 é uma proteína ligada à proliferação celular, de modo que, quando a proliferação celular aumenta, Ki-67 também aumenta (BAGULKAR, *et al.*, 2015). A correlação entre o aumento de XIAP diretamente proporcional ao aumento de Ki-67, apesar de fraca, foi observada neste estudo, em astrocitomas pilocíticos.

As proteínas XIAP e p53 tem suas vias sobrepostas, uma vez que p53 tem ação sobre a família de BCL-2, de proteínas que regulam a permeabilidade de membrana externa das mitocôndrias. Com a desestabilização da membrana mitocondrial, há a liberação de citocromo C e, também, de Segundo Ativador Mitocondrial de Caspase (do inglês SMAC), conhecido por ser um regulador negativo de XIAP (VUCIC, *et al.*, 2002).

Quando há algum dano no DNA celular e inicia-se a via intrínseca da apoptose, proteínas BCL-2, como BAK ou BAX, formam um poro na membrana externa

mitocondrial, ocasionando instabilidade e liberando para o citosol o citocromo C e SMAC (ANGUIANO-HERNANDEZ; CHARTIER; HUERTA, 2007). No citosol, o citocromo C ativa as proteínas APAF1 e caspase 9, propiciando a formação do apoptossomo (ANGUIANO-HERNANDEZ; CHARTIER; HUERTA, 2007; DOBRZYCKA, *et al*, 2010).

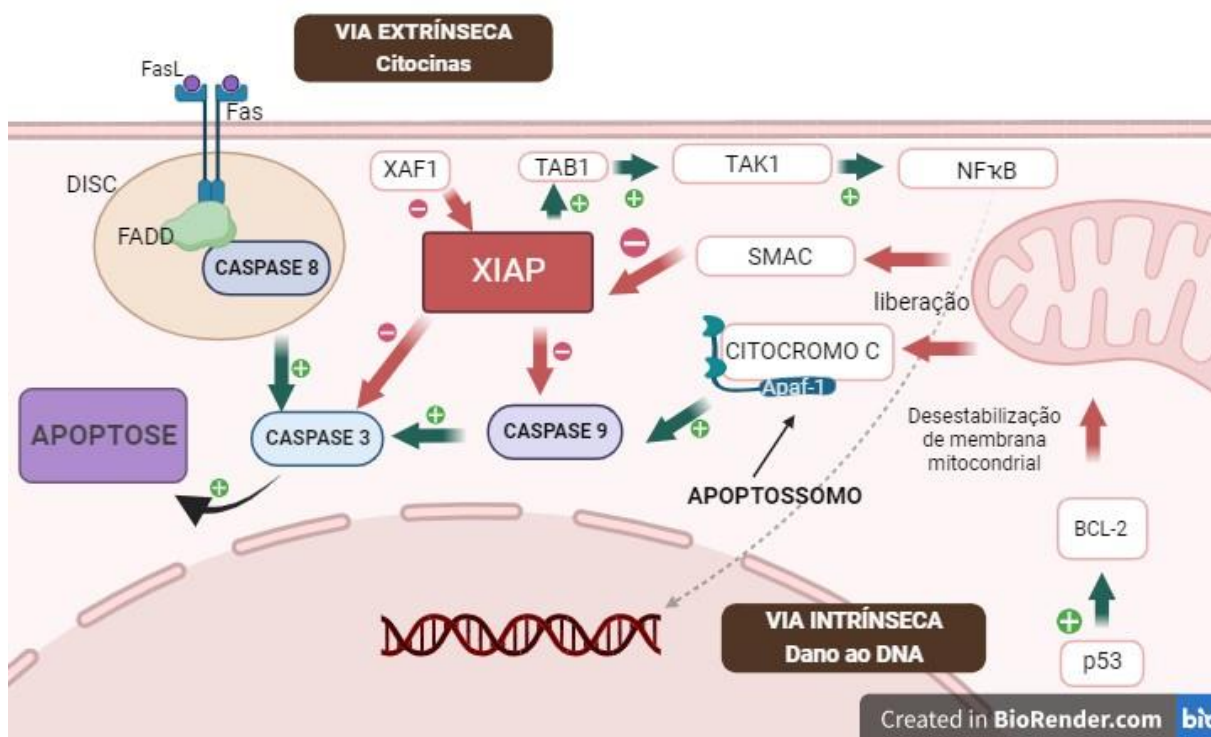
A proteína SMAC, quando liberada no citosol da célula, liga-se ao domínio BIR3 de XIAP, formando um complexo estável (GALLUZZI, *et al*, 2008; BAI; SMITH; WANG, 2014). Além disso, SMAC ainda pode se unir a XIAP quando ainda dentro da mitocôndria, mesmo que não esteja completamente formada (GALLUZZI, *et al*, 2008; BAI; SMITH; WANG, 2014). A permeabilidade da membrana externa permite a conexão ao domínio BIR2 de XIAP, formando o complexo SMAC-XIAP (GALLUZZI, *et al*, 2008; BAI; SMITH; WANG, 2014). Até mesmo quando mutada, SMAC está intimamente ligado a XIAP, pois ainda assim liga-se a ela pelo domínio BIR3, marcando-a para ubiquitinação. Deste modo há a ativação da caspase 9 e a apoptose segue pela via intrínseca (GALLUZZI, *et al*, 2008; BAI; SMITH; WANG, 2014).

Ou seja, se há dano no DNA celular, se inicia a via intrínseca da apoptose, propiciando instabilidade de membrana, liberação de citocromo C e SMAC. O primeiro irá estimular a caspase 9, iniciadora, e o segundo irá bloquear o agente que seria capaz de bloquear a caspase 9, a XIAP. De forma que a morte celular programada da célula defeituosa possa se consolidar. Isto está esquematizado na figura 14.

A proteína XIAP tem papel importante na inibição direta da caspase 9, uma enzima iniciadora, e das caspases 3 e 7, enzimas efetoras de forma a bloquear a via intrínseca, a via mitocondrial, e a extrínseca mediada por receptores de morte bloqueando a morte celular programada (SCOT, *et al.*, 2005; SCHIMMER, *et al.*, 2006). Ou seja, ela inibe uma apoptose já iniciada.

Outro ponto, é que XIAP promove a ativação de TAB1 que irá ativar TAK1 e por consequência ativará NFκB (LU, *et al.*, 2007). A ativação de NFκB leva a expressão de genes geradores de resistência apoptótica, promovendo maior progressão tumoral, angiogênese, invasão e metástase tumoral (LU, *et al.*, 2007)

Figura 17: Vias extrínseca e intrínseca da apoptose em relação a XIAP.



Fonte: A autora (2023). Criado com BioRender.com

Foi possível observar que de fato há maior expressão de XIAP em células de gliomas, e que há diferença estatística entre astrocitomas pilocíticos e anaplásicos e astrocitomas difusos e anaplásicos, sendo que os de mais baixo grau (pilocíticos e difusos) tem maior imunoexpressão tecidual de XIAP. Isto foi confirmado quando analisado os astrocitomas divididos pela classificação de baixo e alto grau, sendo que os maiores os níveis de imunoexpressão tecidual de XIAP foram encontrados nos primeiros (baixo grau).

Tendo em vista que XIAP bloqueia a apoptose em andamento, seria de esperar que os níveis mais altos fossem vistos nos gliomas de alto grau, onde o crescimento celular se daria, canonicamente, por aumento da proliferação celular e bloqueio da apoptose. No entanto, paradoxalmente, os níveis de XIAP estão mais altos nos gliomas de mais baixo grau. Uma vez que a XIAP bloqueia uma apoptose já iniciada,

pois promove bloqueio de caspases, algumas hipóteses que poderiam explicar estes resultados podem ser formuladas.

Considerando que as taxas apoptóticas de gliomas de baixo grau seriam relativamente baixas, uma vez que a proliferação celular também o é (vide resultados do Ki-67), a presença aumentada de XIAP nestes tumores poderia ser explicada pela sua “falta de utilização”, sendo que estaria íntegra, livre no citoplasma, porém não na sua forma ativa (TORRES, *et al*, 1997; LOUIS, *et al.*, 2007; LOUIS, *et al*, 2016 *apud* CASTRO, 2022). Além disso, ao ser utilizada, a XIAP se ligaria com a caspase e depois seria clivada.

A imuno-histoquímica é uma técnica que apenas identifica a proteína no citoplasma, não sendo capaz de diferenciar entre uma proteína em sua forma ativada ou inativada. Sendo assim, possivelmente o estudo poderia estar usando a técnica em questão e visualizando uma proteína inativa. Além disso, uma proteína depois de clivada, pode não ser mais identificada pelo anticorpo usado para visualizar a imunoexpressão. Isto explicaria a baixa imunoexpressão nos astrocitomas de alto grau e a alta imunoexpressão naqueles de baixo grau; (a) nos primeiros a proteína estaria sendo usada para se ligar às caspases exercendo sua função, sendo posteriormente clivada e ficando invisível à técnica de imuno-histoquímica; (b) nos de baixo grau ela não estaria sendo usada, portanto estaria sobrando íntegra no citoplasma e seria identificada pelo anticorpo primário na técnica de imuno-histoquímica. Todavia outras análises ainda são necessárias para obter estas confirmações.

A presença de XIAP nos casos de astrocitomas de baixo grau também poderia explicar o fato de que estes tumores não são muito sensíveis à quimioterapia, sendo que o melhor tratamento para estas lesões é a ressecção. Estudos recentes observaram que a superexpressão de XIAP confere resistência a agentes quimioterápicos e radioterápicos de tumores (SILVA, 2017). Possivelmente, ao ofertar-se agentes quimioterápicos a gliomas de baixo grau, iniciar-se-ia apoptose em massa, que por consequência seria bloqueada pelas altas dosagens de XIAP intracelulares conferindo resistência ao tratamento (LOUIS, *et al*, 2007, ELLISON, 2013).

De um modo geral, terapias que tenham como efeito terapêutico silenciamento de XIAP e superexpressão de p53, parecem ter ação positiva na cura do câncer, em

especial dos astrocitomas (WILKINSON, *et al.*, 2008), uma vez que o silenciamento de XIAP não se mostrou tóxico para as células sadias (HARLIN, *et al.*, 2001). Todavia, ainda são necessários estudos mais aprofundados sobre o tema.

Uma outra hipótese sobre o aumento de XIAP em gliomas de baixo grau diz respeito à limitação do método da imuno-histoquímica em ainda identificar/imunomarcas proteínas que podem estar mutadas, uma vez que a imunomarcagem é baseada em epítomos da proteína que não necessariamente podem estar envolvidos nestas mutações. Sendo assim, pequenas mutações não seriam vislumbradas pelo método que continuaria a marcar XIAP, mesmo que esta proteína não fosse de fato funcional.

Devido à alta taxa de mutação do gene *TP53* em gliomas de alto grau (vide resultados da p53), produzindo isoformas defeituosas de proteína p53 (ICHIMURA, *et al.*, 2000), a via apoptótica intrínseca estaria embotada. Sendo assim, a p53 mutada acabaria por não desencadear a via intrínseca da apoptose, ficando dependente apenas da via extrínseca que seria bloqueada por XIAP intracelular, reduzindo assim sua quantidade dentro das células destes tumores de alto grau (devido a sua utilização, ligação com as caspases e clivagem) e também diminuindo a taxa de apoptose celular, fazendo com que o tumor cresça.

Além disso, teria que se considerar a hipótese de que a presença de SMAC e XAF-1 poderia estar inibindo XIAP estudada. Sendo assim, é necessário um estudo mais complexo da via XIAP/SMAC/XAF-1 como um todo para elucidar melhor as hipóteses descritas. Apesar da aparente relação entre ambos, XIAP e p53, nenhum estudo ainda conseguiu demonstrar os efeitos de uma proteína sobre a outra (SILVA, 2017).

8 CONCLUSÃO:

De um modo geral foi possível concluir que há maior imunoexpressão de XIAP em astrocitomas pilocíticos e difusos, ou seja, em astrocitomas de baixo grau. Além

disso, concluiu-se que astrocitomas de maior grau foram observados em maior número no público masculino e em região supratentorial.

A partir do estudo foi possível formular três hipóteses, contudo esbarrou-se na imperfeição da técnica da imuno-histoquímica não sendo possível provar nenhuma delas. Também não foram encontradas fortes correlações positivas ou negativas, estatisticamente significativas, quando a expressão de XIAP foi correlacionada com as expressões teciduais de p53 e Ki-67. De forma que a proteína XIAP pode ser utilizada como um novo imunomarcador.

Alguns fatores que poderiam contribuir para a explicação dos resultados seriam realizar a genotipagem da proteína XIAP, objetivando-se encontrar as proteínas mutadas ou não, a fim de se obter uma explicação sobre seu acúmulo. Ou ainda, optar-se por marcadores de imuno-histoquímica que realizem amostragem de proteínas ativas e não ativas. Além de realizar investigação de XIAP em cérebros não neoplásicos da população pediátrica.

Há a necessidade de maiores estudos e aprofundamentos nas vias apoptóticas intrínseca e extrínseca para que possa se localizar o elo principal da cadeia. Pois XIAP é uma proteína central na via apoptótica. Desta forma, saber o que acontece com as demais proteínas que fazem parte do ciclo se torna fundamental para correlacionar os achados de XIAP e se alcançar uma explicação plausível para a imunoexpressão encontrada.

REFERÊNCIAS

- 1 A.C. CAMARGO. **Tumores Cerebrais Infantis: saiba quais são os sinais e sintomas**. São Paulo, 2021. Disponível em: <https://accamargo.org.br/sobre-o-cancer/noticias/tumores-cerebrais-infantis-saiba-quais-sao-os-sinais-e-sintomas>
- 2 ALLRED, D.C., *et al.*, **Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis**. Mod Pathol, v. 11, p.155–168, 1998
- 3 ALVES, P.M.G. **Abordagem Terapêutica de Gliomas Cerebrais de Alto Grau**. Dissertação (Mestrado em Medicina) – Universidade da Beira Interior, Covilhã, 2014.
- 4 AMANTANA, A., *et al.*, **X-linked inhibitor of apoptosis protein inhibition induces apoptosis and enhances chemotherapy sensitivity in human prostate cancer cells**. Molecular Cancer Therapeutics. v 3(6), p 699-707. 07/2004. Disponível em:

- <https://aacrjournals.org/mct/article/3/6/699/234921/X-linked-inhibitor-of-apoptosis-protein-inhibition>
- 5 AMERICAN CANCER SOCIETY, **Survival rates for selected adult brain and spinal cord tumors.** Estados Unidos, 2017. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/brain-spinal-cord-tumors-adults/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html#references>
 - 6 AMERICAN CANCER SOCIETY, **Types of Brain and Spinal Cord Tumors in Children.** Estados Unidos, 2018. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/brain-spinal-cord-tumors-children/about/types-of-brain-and-spinal-tumors.html>
 - 7 AMERICAN CANCER SOCIETY, **What Are Brain and Spinal Cord Tumors in Children?**, 2018. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/brain-spinal-cord-tumors-children/about/what-are-brain-and-spinal-tumors.html>
 - 8 AMERICAN CANCER SOCIETY, **What Are the Differences Between Cancers in Adults and Children?** Estados Unidos, 2019. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-in-children/differences-adults-children.html>
 - 9 AMERICAN CANCER SOCIETY, **Can Brain and Spinal Cord Tumors in Adults Be Found Early?**. Estados Unidos, 2020. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/brain-spinal-cord-tumors-adults/detection-diagnosis-staging/detection.html>
 - 10 AMERICAN CANCER SOCIETY, **Types of Brain and Spinal Cord Tumors in Adults.** Estados Unidos, 2020. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/brain-spinal-cord-tumors-adults/about/types-of-brain-tumors.html>
 - 11 AMERICAN CANCER SOCIETY, **What Are Adult Brain and Spinal Cord Tumors?.** Estados Unidos, 2020. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/brain-spinal-cord-tumors-adults/about/what-are-brain-spinal-tumors.html>
 - 12 AMERICAN CANCER SOCIETY. **Brain and other nervous system. Cancer Statistics Center.** Estados Unidos, 2022. Disponível em: https://cancerstatisticscenter.cancer.org/?_ga=2.186915498.385559643.1678719704-1679048539.1678719703#!/cancer-site/Brain%20and%20other%20nervous%20system
 - 13 AMERICAN CANCER SOCIETY, **Key Statistics for Brain and Spinal Cord Tumors.** Estados Unidos, 2023. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/brain-spinal-cord-tumors-adults/about/key-statistics.html>
 - 14 AMERICAN CANCER SOCIETY, **Key Statistics for Brain and Spinal Cord Tumors in Children.** Estados Unidos, 2023. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/brain-spinal-cord-tumors-children/about/key-statistics.html>
 - 15 AMIRIAN, S.E., *et al.*, **Approaching a Scientific Consensus on the Association between Allergies and Glioma Risk: A Report from the Glioma International Case-Control Study.** Cancer, Epidemiology, Biomarkers and Prevention. v. 25, e. 2. 2016. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cebp/article/25/2/282/116281/Approaching-a-Scientific-Consensus-on-the>
 - 16 ANATOMIA PATOLÓGICA UNICAMP. **Astrocitoma Pilocítico Cerebelar: Microscopia Eletrônica.** São Paulo. Disponível em: <https://anatpat.unicamp.br/nptastropilo18.html>
 - 17 ANGUIANO-HERNANDEZ Y.M., CHARTIER A., HUERTA S. **SMAC/DIABLO and colon cancer. Anticancer Agents.** Medicinal Chemistry. v 7(4), p 467-73 07/2007. DOI: 10.2174/187152007781058631. PMID: 17630921.

- 18 AYACHI, O., *et al.*, **The X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) is involved in melanoma invasion by regulating cell migration and survival.** Cellular Oncoogyl. v. 42, p.319–329, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13402-019-00427-1>,
- 19 AZEVEDO, G., **Aprenda sobre a p53, uma importante proteína supressora de tumor também chamada de “guardiã do genoma”, e suas implicações na tumorigênese.**, 2021. Disponível em: <https://blog.varsomics.com/p53-a-proteina-guardia-do-genoma-e-suas-implicacoes-na-tumorigenese/>
- 20 BAGULKAR, B.B., *et al.*, **XIAP and Ki-67: A Correlation Between Antiapoptotic and Proliferative Marker Expression in Benign and Malignant Tumours of Salivary Gland: An Immunohistochemical Study.** Journal of Clinical and Diagnostic Research, v. 9, n. 2. 2015
- 21 BAI L., SMITH D.C., WANG S., **Small-molecule SMAC mimetics as new cancer therapeutics.** Pharmacology and Therapeutics. v. 144(1) p. 82-95. 10/2014 DOI: 10.1016/j.pharmthera.2014.05.007.
- 22 BARBOSA, T. V., ROSAS, M. P., COSTA, A. C., RAPOPORT, A., **Valor prognóstico do Ki-67 no carcinoma indiferenciado de grandes células de glândula salivar maior: estudo de 11 casos.** Revista Brasileira de Otorrinolaringologia. v. 69, p. 629-634, 2003.
- 23 BLEGGI-TORRES, L.F., *et al.*, **Astrocitoma pilocítico na infância: apresentação de 6 casos.** Jornal de Pediatria, v. 73, n. 3, p. 195-198. 1997
- 24 BOLOGNA-MOLINA R., *et al.*, **Molecular biomarkers of cell proliferation in ameloblastomas.** World Journal of Stomatology. v. 20, ed. 2(4), p. 79-85. 11/2013. DOI: 10.5321/wjs.v2.i4.79
- 25 BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS. **Tabnet.** Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/informacoes-de-saude-tabnet/>.
- 26 BROWNW D.C., GATTER K.C., **Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology.** Histopathology .v.17: p. 489-503. 1990.
- 27 BROWN D.C., GATTER K.C., **Ki67 protein: The immaculate deception?** Histopathology. v. 40, p. 2–11. 2002. Disponível em: [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkojze\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=1045333](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkojze))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=1045333)
- 28 BUDHIDARMO R., DAY, C. L., **The ubiquitin-associated domain of cellular inhibitor of apoptosis proteins facilitates ubiquitylation.** Journal of Biological Chemistry. v. 289(37), p. 25721-36. 09/2014. Disponível em: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)31528-3/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)31528-3/fulltext)
- 29 BULLWINKEL J, *et al.*, **Ki-67 protein is associated with ribosomal RNA transcription in quiescent and proliferating cells.** Journal of Cellular Physiology. v. 206 (3), p. 624–635 03/2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.20494>
- 30 BURGER P.C., SCHEITHAUER B.W., VOGEL F.S., **Surgical Pathology of the Nervous System and Its Coverings.** v. 4th, p. 203-15. New York, Ed. Churchill Livingstone, 2002. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.20494>
- 31 CAO Z., *et al.*, **X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) lacking RING domain localizes to the nuclear and promotes cancer cell anchorage-independent growth**

- by targeting the E2F1/Cyclin E axis. *Oncotarget*. v. 30;5(16), p. 7126-37. 2014. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/article/2227/text/>
- 32 CASKEY, L. S. *et al.*, **Toward a molecular classification of the gliomas: histopathology, molecular genetics, and gene expression profiling**. *Histology and Histopathology*, v. 15, n. 3, p. 971-981, 2000. DOI: 10.14670/HH-15.971
 - 33 CASTRO, E.M., **Análise De Polimorfismos No Gene *TPT1* E Em Genes Associados, Incluindo *TP53*, *CDKN1A*, *MDM2*, *MTOR*, *SOX2*, *NANOG* E *POU5F1*, Em Astrocitomas Pediátricos, E Sua Comparação Com A Expressão Imunoistoquímica E Com Variáveis Clínico-Patológicas**. (Tese de Doutorado em Biotecnologia Aplicada à Saúde da Criança e do Adolescente) – Faculdade Pequeno Príncipe, Curitiba, 2022.
 - 34 CHAGAS, S. R. P., **Grau Histológico e Ki-67 no Câncer de Mama**. Dra. Sabrina Rossi, P. Chagas – **Oncologia Clínica**. 2018 Disponível em: <https://drasabrinachagas.com.br/grau-histopatologico-e-ki67-no-cancer-de-mama/>
 - 35 CHANG S.M., *et al.*, **Chapter 97: Neoplasms of the central nervous system**. In: DEVITA V.T., LAWRENCE T.S., ROSENBERG S.A., **Cancer: Principles and Practice of Oncology**. v. 10. p. 1412-1449. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; 2015.
 - 36 CHEN W.J., *et al.*, **Ki-67 is a valuable prognostic factor in gliomas: evidence from a systematic review and meta-analysis**. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. v. 16(2), p. 411-20. 2005. Disponível em: <http://koreascience.or.kr/article/JAKO201507964683065.page>
 - 37 CHEUNG H.H., *et al.*, **The RING Domain of cIAP1 Mediates the Degradation of RING-bearing Inhibitor of Apoptosis Proteins by Distinct Pathways**. *Molecular Biology of the Cell*, v. 19, p. 2729–2740. 2008
 - 38 CLAUS, E. B., *et al.*, **Family and personal medical history and risk of meningioma**. *Journal of neurosurgery*, v. 115(6), p. 1072-1077. 2011.
 - 39 CROOK N.E., CLEM R.J., MILLER L.K., **An apoptosis-inhibiting baculovirus gene with a zinc finger-like motif**. *J Virol*. v. 67, n. 4. p. 2168-74. 1993
 - 40 DARZYNKIEWICZ Z., *et al.*, **Initiation and termination of DNA replication during S phase in relation to cyclins D1, E and A, p21WAF1, Cdt1 and the p12 subunit of DNA polymerase δ revealed in individual cells by cytometry**. *Oncotarget*. v.6 (14), p. 11735–50. 2015. DOI: 10.18632/oncotarget.4149
 - 41 D'BROT, A., *et al.*, (2016). **A platform for interrogating cancer-associated p53 alleles**. V. 36(2), p. 286-291. 2016. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.48>
 - 42 DE AZAMBUJA, E., *et al.*, **Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12155 patients**. *British Journal of Cancer*. v, 96(10), p. 1504– 1513. 2007. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/6603756>
 - 43 DORSEY J.F., *et al.*, Chapter 66: Cancer of the central nervous system. In: ABELOFF, M.D., *et al.*, **Abeloff's Clinical Oncology**. v. 5. Philadelphia, Elsevier, 2014.
 - 44 DORSEY J.F., *et al.*, Chapter 63: Cancer of the central nervous system. In: NIEDERHUBER J.E., *et al.*, **Abeloff's Clinical Oncology**. v. 6, Philadelphia, Elsevier; 2020.
 - 45 DUREGON, E. *et al.*, **Ki-67 Proliferation Index but Not Mitotic Thresholds Integrates the Molecular Prognostic Stratification of Lower Grade Gliomas**. v. 7(16), p. 21190–98, 2016

- 46 ELLISON, D. *et al.*, **Neuropathology**, 3^a ed. Mosby, 2013
- 47 FETT-CONTE, A. C., **A Importância Do Gene TP53 Na Carcinogênese Humana**. v. 24(2), p. 85–89. 2002
- 48 FLANAGAN L., *et al.* **High levels of X-linked Inhibitor-of-Apoptosis Protein (XIAP) are indicative of radio chemotherapy resistance in rectal cancer**. *Radiat Oncol.* v. 10, p. 131. 2015.
- 49 FRUM R.A, GROSSMAN S.R., **Mechanisms of mutant p53 stabilization in cancer**. *Subcellular Biochemistry*. v. 85 p. 187-97. 2014. DOI: 10.1007/978-94-017-9211-0_10
- 50 FULDA, S., VUCIC D., **Targeting IAP proteins for therapeutic intervention in cancer**. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 11(2), p. 109-24. 2012
- 51 GALLUZZI L., *et al.*, **No death without life: vital functions of apoptotic effectors**. *Cell Death Differ.* v. 15(7), p. 1113-23. 2008 doi: 10.1038/cdd.2008.28.
- 52 GANDRA, A. **Câncer já é a Principal Causa de Morte de Crianças e Adolescentes – Oncologista Alerta para Importância do Diagnóstico Precoce**. Agência Brasil. 2021. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2021-09/cancer-ja-e-principal-causa-de-morte-de-criancas-e-adolescentes>
- 53 GAO X., *et al.*, **Prognostic Value of XIAP Level in Patients with Various Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis**. *Journal of Cancer*; v. 10(6), p.1528-1537. 2019. Disponível em: <http://www.jcancer.org/v10p1528.htm>
- 54 GERDES J., *et al.*, **Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation**. *International. Journal of Cancer*. v.31 (1, p. 13–20.1983. doi:10.1002/ijc.2910310104
- 55 GILTNAME, J. M.; RIMM, D. L., **Technology insight: identification of biomarkers with tissue microarray technology**. *Nature Reviews Clinical Oncology*, v. 1, n. 2, p. 104–111, 2004. <https://doi.org/10.1038/ncponc0046>
- 56 GLADSON, C.L.; PRAYSON, R.A.; LIU, W.M. **The pathobiology of glioma tumors**. *Annu Rev Pathol.*, v. 5, p. 33-50, 2010.
- 57 HANAHAN D., WEINBERG R.A. **The hallmarks of cancer**. *Cell*. p 646-672. 2011
- 58 HARLIN, H., *et al.*, **Characterization of XIAP-deficient mice**. *Molecular and Cellular Biology*, v. 21(10), p. 3604-8.2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC100282/>
- 59 HUSSAIN A.R., *et al.*, **XIAP over-expression is an independent poor prognostic marker in Middle Eastern breast cancer and can be targeted to induce efficient apoptosis**. *BMC cancer*, v.17, p.640. 2017
- 60 ICHIMURA K., *et al.*, **Deregulation of the p14ARF/MDM2/p53 pathway is a prerequisite for human astrocytic gliomas with G1-S transition control gene abnormalities**. *Cancer Res.* v. 15;60(2) p. 417-24. 2000
- 61 INSTITUTO DESIDERATA, **Panorama da Oncologia Pediátrica**. v.1, n. 1, 2021. Disponível em: <http://desiderata.org.br/production/content/uploads/2021/08/3d12c3585d19f20ae72eddbec38978be.pdf>
- 62 INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil), **Câncer da criança e adolescente no Brasil: dados dos registros de base populacional e de mortalidade**. 2008. Disponível em: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cancer_crianca_adolescente_brasil.pdf
- 63 INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Monitoramento das ações de controle do câncer em crianças e adolescentes**. Boletim ano 7, n.2, 2016

- 64 INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil), **Sobrevida de pacientes infantojuvenis com câncer é de 64% no Brasil.** 2016, Modificado em 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/noticias/sobrevida-de-pacientes-infantojuvenis-com-cancer-e-de-64-no-brasil>
- 65 INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil), **Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. 2017.** Disponível em: <https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/wp-content/uploads/2019/10/estimativa-incidencia-de-cancer-no-brasil-2018.pdf>
- 66 INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil), **Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil. 2019.** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>
- 67 INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil), **Estimativa 2023: Incidência de Câncer no Brasil. 2022.** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf>
- 68 ISOLAN, G. R., *et al.*, **Neoplasias astrocitárias e correlação com as proteínas p53 mutada e Ki-67.** Arquivos de Neuro-Psiquiatria, v. 63, p. 997-1004. 2005.
- 69 JEON, H., *et al.*, **Biochimica et Biophysica Acta TCTP Regulates Spindle Microtubule Dynamics by Stabilizing Polar Microtubules during Mouse Oocyte Meiosis.** BBA - Molecular Cell Research 1863(4): 630–37. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.01.012>.
- 70 JEONG, S., *et al.*, **Cannabidiol promotes apoptosis via regulation of XIAP/Smac in gastric cancer.** Cell Death Disease. v. 10. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2001-7>
- 71 JIN, Y., *et al.*, **Expression and Prognostic Significance of p53 in Glioma Patients: A Meta-analysis.** Neurochem Res. v. 41(7), p.1723- 31. 2016. DOI: 10.1007/s11064-016-1888-y
- 72 JOHANNESSEN A.L., TORP S.H., **The clinical value of Ki-67/MIB-1 labeling index in human astrocytomas.** Pathology and Oncology Research. v. 12(3), p. 143–147. 2006. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02893360>
- 73 JORUIZ, S. M., BOURDON J., **p53 Isoforms: Key Regulators of the Cell Fate Decision.** Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2016. Disponível em: <https://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/6/8/a026039>
- 74 JURÍKOVÁ, M., *et al.*, **Ki-67, PCNA, and MCM proteins: Markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer.** Acta Histochem. v. 118(5) p. 544-52. 2016. DOI: 10.1016/j.acthis.2016.05.002
- 75 KASTENHUBER, E.R., LOWE, S.W., **Putting p53 in Context.** Cell. v. 7, p. 1062-78. 2017. DOI: 10.1016/j.cell.2017.08.028
- 76 KATO H., *et al.*, **PTEN gene mutation and high MIB-1 labeling index may contribute to dissemination in patients with glioblastoma.** Journal Clinical Neuroscience. v. 11(1), p. 37–41. 2004. Disponível em: [https://www.jocn-journal.com/article/S0967-5868\(03\)00240-6/fulltext](https://www.jocn-journal.com/article/S0967-5868(03)00240-6/fulltext)
- 77 KOCAB A. J., DUCKETT C. S., **Inhibitor of apoptosis proteins as intracellular signaling intermediates.** FEBS J. v. 283. n. 2. p. 221-31. 2016
- 78 LISTON P., *et al.*, **Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a related family of IAP genes.** Nature. v. 25, p. 349-53. 1996.

- 79 LOPEZ J., *et al.*, **CARD-mediated autoinhibition of cIAP1's E3 ligase activity suppresses cell proliferation and migration**. *Mol Cell*, v. 42(5), p. 569- 83. 2011.
- 80 Louis, D.N., *et al.*, **The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system**. *Acta Neuropathol.* v. 114, p. 97-109. 2007.
- 81 LOUIS, D. N. *et al.* **The 2016 WHO classification of tumours of the central nervous system**. *Acta Neuropathol*, v. 114, p. 97-109, 2016.
- 82 LOUIS, D. N. *et al.* **The 2021 WHO classification of tumours of the central nervous system**. *Neuro-Oncology*, v. 23, n.8. 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/neuro-oncology/article/23/8/1231/6311214?login=false>
- 83 LU, M. LIN, S. C., *et al.*, **XIAP induces NF-kappaB activation via the BIR1/TAB1 interaction and BIR1 dimerization**. *Mol Cell*. v. 26, p. 689-702. 2007.
- 84 LUZZATTO, F., **Avaliação da expressão do Ki-67 em carcinomas ductais invasivos mamários de subtipos luminal A e luminal B (HER2-negativo) nas áreas de maior e menor proliferação celular**. Dissertação de mestrado. 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufcspa.edu.br/jspui/bitstream/123456789/372/1/%5BDISSERTA%C3%87%C3%83O%5D%20Luzzatto%2C%20Felipe>
- 85 MALAQUIAS, M.A.S., *et al.*, **Effects of mesenchymal stromal cells play a role the oxidant/antioxidant balance in a murine model of asthma**. *Allergol. Immunopathol.* v. 46, p. 136–143. 2018.
- 86 MORAES-FILHO, M. O. D. E., RABENHORST, S. H. B... **Expression of Ki-67, Topoisomerase II α and c-MYC in Astrocytic Tumors: Correlation with the Histopathological Grade and Proliferative Status**. 519–27. Paper, Full. "TCTP as a Therapeutic Target in Melanoma Treatment." p. 656–65. 2006
- 87 MALMER, B., HENRIKSSON, R., & GRÖNBERG, H. **Tumores cerebrais familiares – genética ou ambiente? Um estudo de coorte nacional de risco de câncer em cônjuges e parentes de primeiro grau de pacientes com tumor cerebral**. *Jornal internacional de câncer* , v.106 (2), p. 260-263. 2003.
- 88 MAY P, MAY E., **P53 et cancer**. *Pathology and Biology*. v. 43(3), p.165-73. 1995.
- 89 McILWAIN, D.R., BERGER, T., MAK, T.W., **Caspase functions in cell death and disease**. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 5(4).2013.
- 90 MILNER J., **Structures and functions of the tumour suppressor p53**. *Pathology and Biology* v. 45(10), p. 97-803. 1997.
- 91 MITA A.C., *et al.*, **Survivin: key regulator of mitosis and apoptosis and novel target for cancer therapeutics**. *Clinical Cancer Research*. v. 15. p. 5000-5. 2008.
- 92 MOSKOWITZ SI, JIN T, PRAYSON RA. **Role of MIB1 in predicting survival in patients with glioblastomas**. *Journal Neurooncology* . v. 76(2), p.193–200. 2006
- 93 MORIZANE Y., *et al.*, **X-linked inhibitor of apoptosis functions as ubiquitin ligase toward mature caspase-9 and cytosolic Smac/DIABLO**. *J Biochem*, v. 137, n.2, p. 125-32. 2005
- 94 MUFTI, A.R., BURSTEIN, E., DUCKETT, C.S., **XIAP: cell death regulation meets copper homeostasis**. *Arch Biochem Biophys*. v. 15, p.168-74. 2007.
- 95 NAGASHIMA, S. **Ativação Dos Mastócitos E Os Efeitos De Seus Mediadores No Sistema Caliceína-Cinina Causada Pela Infecção Por Sars-Cov-2**. Tese de Doutorado. 2022.

- 96 NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Childhood Brain and Spinal Cord Tumors Treatment Overview (PDQ®)**. 2017. Disponível em: www.cancer.gov/types/brain/hp/child-brain-treatment-pdq#section/all
- 97 NATIONAL CANCER INSTITUTE **Physician Data Query (PDQ). Adult Central Nervous System Tumors Treatment**. 2020. Disponível em: www.cancer.gov/types/brain/hp/adult-brain-treatment-pdq
- 98 OBEXER, P., AUSSERLECHNER, M.J., **X-linked inhibitor of apoptosis protein - a critical death resistance regulator and therapeutic target for personalized cancer therapy**. *Frontiers in oncology*. 2014.
- 99 ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Câncer**. Folha informativa. 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>
- 100 ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **55% das Crianças e Adolescentes com Câncer se Recuperam na América Latina e no Caribe**. 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/15-2-2022-opas-55-das-criancas-e-adolescentes-com-cancer-se-recuperam-na-america-latina-e>
- 101 OSTROM, Q. T. *et al.* **CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2013-2017**. *NeuroOncology*, v. 12, p.1-96, 2020. DOI: 10.1093/neuonc/noaa200
- 102 OSTROM, Q.T., *et al.*, **CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2014-2018**. *Neuro Oncol.* v. 5, p.23. 2021. doi: 10.1093/neuonc/noab200. PMID: 34608945; PMCID: PMC8491279.
- 103 PRABHU K.S., *et al.* **Embelin: a benzoquinone possesses therapeutic potential for the treatment of human cancer**. *Future medicinal chemistry*.;10:961-76. 2018.
- 104 QURESHI, A.; PERVEZ, S. **Allred scoring for ER reporting and its impact in clearly distinguishing ER negative from ER positive breast cancers**. *J Pak Med Assoc*, v. 60, n. 5, p. 350-353, 2010.
- 105 REIS, R. S. *et al.*, **Incidência de tumores pediátricos no Brasil**. *Revista Brasileira de Cancerologia*. v. 53, p. 5-15, 2007.
- 106 RIVERA, A., TAKEI, H., **Advances in Surgical Pathology Brain Cancer**. Wolters Kluwer Health, 2015
- 107 RUSSELL J.C., WHITING H., SZUFLITA N., *et al.*, **Nuclear translocation of X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) determines cell fate after hypoxia ischemia in neonatal brain**. *J Neurochem*. V 106(3), p. 1357-70. 2008.
- 108 SANNA, M. G., *et al.*, **IAP Suppression of Apoptosis Involves Distinct Mechanisms: the TAK1/JNK1 Signaling Cascade and Caspase Inhibition**. *Molecular and Cellular Biology*, v. 22(6), p. 1754-1766, 2002.
- 109 SCOTT, F. L., *et al.* **XIAP inhibits caspase-3 and -7 using two binding sites: evolutionarily conserved mechanism of IAPs**. *The EMBO Journal*. v. 24(3). p. 645-55. 2005.
- 110 SCHIMMER, A.D., *et al.*, **Targeting XIAP for the treatment of malignancy**. *Cell Death Differ*, v. 13(2): p. 179-88. 2006.
- 111 SHI Y., **Uma visão estrutural da apoptose mediada por mitocôndrias**. *Biologia Estrutural da Natureza*. v. 8 (5), p. 394-401. 2001.

- 112 SHRIKHANDE S.V., *et al.*, **Silencing of X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) decreases gemcitabine resistance of pancreatic cancer cells**. *Anticancer Resarch*. p. 3265-73. 2006.
- 113 SIEGELIN M., *et al.* **Induction and redistribution of XAF1, a new antagonist of XIAP in the rat brain after transient focal ischemia**. *Neurobiol Dis*. v. 20(2), p. 509-18. 2005.
- 114 SILVA, D.D., **Localização subcelular de XIAP: implicações na proliferação celular, resistência às drogas e prognóstico no câncer de mama** / Deborah Delbue da Silva. – Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/08/1118120/deborah-delbue-da-silva_dissertacao.pdf
- 115 SU, C., LI, H., GAO, W.. **Biochemical and Biophysical Research Communications GLUT5 Increases Fructose Utilization and Promotes Tumor Progression in Glioma**. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 500(2): 462–69. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.04.103>.
- 116 TSE M K., *et al.*, **Structural analysis of the UBA domain of X-linked inhibitor of apoptosis protein reveals different surfaces for ubiquitin-binding and selfassociation**. *PLoS One*. v. 6, n. 12. 2011.
- 117 TORTOSA A, VIÑOLAS N, VILLÀ S, *et al.* **Prognostic implication of clinical, radiologic, and pathologic features in patients with anaplastic gliomas**. *Cancer*. v. 97(4), p.1063–1071. 2003.
- 118 VALADARES, A.D., *et al.*, **Perfil Anatomopatológico e Imuno-histoquímico de Gliomas de Pacientes da Região de Maringá-PR**. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 67, n. 3. 2021. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/1287/1402>
- 119 VANDE WANDE GF, KLEIN G. **p53 in tumor progression: life, death and everything**. *Adv Cancer Res* v.74, p.25-48. 1998.
- 120 VISCHIONI, B., *et al.*, **Expression and localization of inhibitor of apoptosis proteins in normal human tissues**. *Human Pathology*. v. 37, p. 78 – 86. 2006.
- 121 VUCIC, D., *et al.*, **SMAC negatively regulates the anti-apoptotic activity of melanoma inhibitor of apoptosis (ML-IAP)**. *J Biol Chem*. v. 5;277(14), p.12275-9. 2002. doi: 10.1074/jbc.M112045200.
- 122 WILKINSON, J.C., *et al.*, **Apoptosis-inducing factor is a target for ubiquitination through interaction with XIAP**. *Molecular and Cellular Biology*. v.28. 2008. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1128/MCB.01065-07>
- 123 WILNE, S. H. *et al.* **The presenting features of brain tumor: a review of 200 cases**. *Arch Dis Child*, v. 91, p. 502-506. 2006
- 124 Wong, E., *et al.*, **Cut-point for Ki-67 proliferation index as a prognostic marker for glioblastoma**. *Asia Pac J Clin Oncol*. v. 15(1), p.5-9. 2019. DOI: 10.1111/ajco.12826
- 125 WU, G. *et al.* **The Genomic Landscape of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma and Pediatric Non-Brainstem High-Grade Glioma**. v. 46(5). 2014.
- 126 WU W.Y., KIM H., ZHANG C.L., MENG X.L., WU Z.S., **Clinical significance of autophagic protein LC3 levels and its correlation with XIAP expression in hepatocellular carcinoma**. *Medical oncology*.;31:108. 2014

- 127 YANG Y., et al., **Ubiquitin Protein Ligase Activity of IAPs and Their Degradation in Proteasomes in Response to Apoptotic Stimuli.** v. 288, p. 874-876. 2000
- 128 YUE X, ZHAO Y, XU Y, ZHENG M, FENG Z, HU W. **Mutant p53 in cancer: accumulation, gain-of-function and therapy.** J Mol Biol. v. 2;429(11). P. 595- 606. 2017. DOI: 10.1016/j.jmb.2017.03.030
- 129 ZHANG, Y., et al. **The p53 Pathway in Glioblastoma.** Cancers (Basel) v. 10(9), p. 297. 2018 Disponível em:10.3390/cancers10090297

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES EM TUMORES SÓLIDOS PEDIÁTRICOS DO SISTEMA NERVOSO

Pesquisador: CLEBER MACHADO DE SOUZA

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 5

CAAE: 13240619.5.0000.0097

Instituição Proponente: ASSOCIAÇÃO HOSPITALAR DE PROT INFANCIA DR RAUL CARNEIRO

Patrocinador Principal: ASSOCIAÇÃO HOSPITALAR DE PROT INFANCIA DR RAUL CARNEIRO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.228.664

Apresentação do Projeto:

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES EM TUMORES SÓLIDOS PEDIÁTRICOS DO SISTEMA NERVOSO

Pesquisador Responsável: CLEBER MACHADO DE SOUZA

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 5

CAAE: 13240619.5.0000.0097

Submetido em: 20/08/2020

Objetivo da Pesquisa:

Respostas às pendências relatadas, no parecer consubstanciado 3.482.039_E1, emitido em 02 de agosto de 2019 para o projeto intitulado "INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES EM TUMORES SÓLIDOS PEDIÁTRICOS DO SISTEMA NERVOSO".

A seguir as pendências descritas e as respostas:

- 1) Termo de transferência de material biológico para a pesquisa vinda do Biobanco do Hospital

Endereço: Rua Desembargador Motta, nº 1070

Bairro: Água Verde

CEP: 80.250-060

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-1416

Fax: (41)3310-1416

E-mail: comissao.etica.pesquisa@hpp.org.br

HOSPITAL DE CRIANÇAS
CÉSAR PERNETTA E
HOSPITAL PEQUENO



Continuação do Parecer: 4.228.664

Pequeno Príncipe para o pesquisador após aprovação pela CONEP de emenda enviada pelo Biobanco solicitando que material de descarte do Laboratório vinculado ao Hospital passe ao acervo do mesmo. Lembrando que material que não seja de descarte deverá ter Termo de Consentimento.

Resposta do proponente: aguardando a resposta do Biobanco do Hospital Pequeno Príncipe para solicitar o Termo de transferência de material biológico. Dessa forma solicitamos uma prorrogação do prazo previsto de 30 dias neste parecer (3482039_E1) para apresentação deste documento solicitado.

2) Na metodologia da pesquisa deverá ser incluída a passagem do material do laboratório para o Biobanco e do Biobanco ao pesquisador, com os devidos documentos de transferência.

Resposta do proponente: modificado conforme orientação do CEP HPP. Foi inserido e marcado com cor AZUL na página 15 do projeto do pesquisador. O Centro de Patologia de Curitiba, responsável pelo Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Pequeno Príncipe (HPP), fará a cessão desses blocos para o Biobanco do Hospital Pequeno Príncipe através de termo específico. Na sequência o Biobanco transferirá esse material para o pesquisador responsável. Da mesma forma, após o uso desse material o pesquisador devolverá esse material ao Biobanco do HPP

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Permanecem os mesmos conforme protocolo aprovado;

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não se aplica;

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

anexado:

Biomarc_tumoresSNC_TTMB.pdf

Resp_pendencias_CEPHPP_3482039_E1.docx

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado;

Endereço: Rua Desembargador Motta, nº 1070

Bairro: Água Verde

CEP: 80.250-060

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3310-1416

Fax: (41)3310-1416

E-mail: comissao.etica.pesquisa@hpp.org.br

HOSPITAL DE CRIANÇAS
CÉSAR PERNETTA E
HOSPITAL PEQUENO



Continuação do Parecer: 4.228.664

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos que conforme as normas da CONEP/MS o pesquisador deverá enviar ao CEP relatórios semestrais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador em caso de relevância. Salientamos ainda a necessidade do envio do relatório final do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1388060_E1.pdf	20/08/2020 09:10:53		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biomarc_tumoresSNC_TTMB.pdf	20/08/2020 09:09:00	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Outros	Resp_pendencias_CEPHPP_3482039_E1.docx	20/08/2020 09:08:11	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Outros	Resposta_Parecerpendencias_CEPHPP_3482039_E1.pdf	22/08/2019 14:25:59	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Biomarc_tumoresSNC_retrospec_projeto_V2.pdf	22/08/2019 14:25:21	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Outros	Resposta_ParecerpendenciasMOD_CEP_3416990.docx	01/07/2019 11:23:33	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Outros	Parecerpendencias_CEP_3357861.docx	12/06/2019 11:05:23	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Outros	Biomarc_tumoresSNC_retrospec_PUC_MOD.pdf	12/06/2019 11:04:19	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Outros	Biomarc_tumoresSNC_retrospec_PatoP_P.pdf	12/06/2019 11:03:47	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Outros	Biomarc_tumoresSNC_retrospec_dispendenciaTCLE.pdf	03/05/2019 12:03:19	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Outros	Biomarc_tumoresSNC_retrospec_doc.pdf	03/05/2019 11:57:28	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito
Folha de Rosto	01_FolharostoprojetoTSNC.pdf	25/03/2019 08:12:54	CLEBER MACHADO DE SOUZA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Desembargador Motta, nº 1070
Bairro: Água Verde CEP: 80.250-060
UF: PR Município: CURITIBA
Telefone: (41)3310-1416 Fax: (41)3310-1416 E-mail: comissao.etica.pesquisa@hnp.org.br

ANEXO 2: ARTIGO RELACIONADO A TESE:

-DOI: 10.1177/17590914231153481



Original Article



Polymorphisms in *TPTI* Pathways in Pediatric Astrocytomas

Eduardo Morais de Castro¹, Leonardo Vinícius Barbosa¹,
Aline Simoneti Fonseca¹, Seigo Nagashima²,
Caroline Busatta Vaz de Paula², Rafaela Zeni²,
Letícia Arianne Panini do Carmo², Luciane R Cavalli¹,
Luiz Fernando Bleggi Torres³, Andrea Senff Ribeiro³,
Lucia de Noronha² and Cleber Machado-Souza¹

ASN Neuro
Volume 15: 1–10
© The Author(s) 2023
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/17590914231153481
journals.sagepub.com/home/asn

Abstract

Central nervous system tumors, especially astrocytomas, are the solid neoplasms with the highest incidence and mortality rates in childhood. The diagnosis is based on histopathological characteristics, but molecular methods have been increasingly used. Translationally controlled tumor protein (TCTP) protein, encoded by the tumor protein, translationally controlled 1 (*TPTI*) gene, is a multifunctional protein with an important physiological role in the cell cycle. Expression of this protein has been associated with several neoplasms, including astrocytomas in adults. However, the role of this protein in pediatric astrocytomas is largely unknown. We aim to evaluate in cases of pediatric astrocytomas, the frequency of polymorphisms in the *TPTI* gene and other genes associated with its molecular pathways, such as *MTOR*, *MDM2*, *TP53*, and *CDKN1A*, correlating it with protein expression and clinical variables, in formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) samples. These samples were submitted to genotyping and immunohistochemistry analyses. The most revealing results refer to the *MDM2* gene, rs117039649 [G/C], in which C polymorphic allele was observed only in the glioblastomas ($p = .028$). The *CDKN1A* gene, rs3176334 [T/C] presented a homozygous polymorphic genotype only in high-grade astrocytomas, when infiltrating tumors were compared ($p = .039$). The immunohistochemical expression of cytoplasmic MDM2 correlated with better survival rates in patients with glioblastoma ($p = .018$). The presence of polymorphisms in the *MDM2* and *CDKN1A* genes, as well as a specific correlation between MDM2 expression, suggests a likely association with risk in pediatric astrocytomas. This study sought the probable role involved in the TCTP pathway, and associated proteins, in the tumorigenesis of pediatric astrocytomas, and some could have potential impact as prognostic markers in these patients.

Keywords

astrocytomas, polymorphisms, *TPTI*, TCTP, MDM2, biomarkers

Received October 28, 2022; Revised January 10, 2023; Accepted for publication January 11, 2023

ANEXOS 3: ARTIGOS EM COLABORAÇÃO:

-DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23031714>



International Journal of
Molecular Sciences



Article

COVID-19 and Lung Mast Cells: The Kallikrein–Kinin Activation Pathway

Seigo Nagashima ^{1,*}, Anderson Azevedo Dutra ¹, Mayara Pezzini Arantes ¹,
Rafaela Chiuco Zeni ¹, Caroline Konzen Klein ¹, Flávia Centenaro de Oliveira ¹, Giulia Werner Piper ¹,
Isadora Drews Brenny ¹, Marcos Roberto Curcio Pereira ¹, Rebecca Benicio Stocco ¹,
Ana Paula Camargo Martins ¹, Eduardo Moraes de Castro ², Caroline Busatta Vaz de Paula ¹,
Andréa Novaes Moreno Amaral ¹, Cleber Machado-Souza ², Cristina Pellegrino Baena ^{1,3}
and Lucia Noronha ^{1,*}

- ¹ Postgraduate Program of Health Sciences, School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba 80910-215, Brazil; andersonazevedodutra@yahoo.com.br (A.A.D.); mpezziniarantes@gmail.com (M.P.A.); rafaelaczni@gmail.com (R.C.Z.); carolline.ck@gmail.com (C.K.K.); flavia.centenaro@gmail.com (F.C.d.O.); giulia.piper@gmail.com (G.W.P.); isabrenny@icloud.com (I.D.B.); marcos.curcio@pucpr.edu.br (M.R.C.P.); rebecca.stocco@pucpr.edu.br (R.B.S.); anapaulacamargo@hotmail.com (A.P.C.M.); carolbvaz@gmail.com (C.B.V.d.P.); andrea.moreno@pucpr.br (A.N.M.A.); cbaena01@gmail.com (C.P.B.)
 - ² Postgraduate Program in Biotechnology Applied in Health of Children and Adolescent, Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe, Faculdades Pequeno Príncipe, Curitiba 80250-060, Brazil; medmoca@gmail.com (E.M.d.C.); cleberius@gmail.com (C.M.-S.)
 - ³ Marcelino Champagnat Hospital, Curitiba 80020-110, Brazil
- * Correspondence: seigo.nagashima@pucpr.br (S.N.); lno.noronha@gmail.com (L.N.)

The role of the lectin pathway of the complement system in SARS-CoV-2 lung injury



MINEIA ALESSANDRA SCARANELLO MALAQUIAS, ANA CAROLINA GADOTTI, JARBAS DA SILVA MOTTA-JUNIOR, ANA PAULA CAMARGO MARTINS, MARINA LUISE VIOLA AZEVEDO, ANA PAULA KUBASKI BENEVIDES, PLÍNIO CÉZAR-NETO, LETÍCIA ARIANNE PANINI DO CARMO, RAFAELA CHIUCO ZENI, SONIA MARA RABONI, ALINE SIMONETI FONSECA, CLEBER MACHADO-SOUZA, ANDREA NOVAIS MORENO-AMARAL, and LUCIA DE NORONHA

CURITIBA, BRAZIL

Although some evidence showed the activation of complement systems in COVID-19 patients, proinflammatory status and lectin pathway remain unclear. Thus, the present study aimed to demonstrate the role of MBL and ficolin-3 in the complement system activation and compared to pandemic Influenza A virus H1N1 subtype infection (H1N1pdm09) and control patients. A total of 27 lungs formalin-fixed paraffin-embedded samples (10 from H1N1 group, 6 from the COVID-19 group, and 11 from the control group) were analyzed by immunohistochemistry using anti-IL-6, TNF- α , CD163, MBL e FCN3 antibodies. Genotyping of target polymorphisms in the *MBL2* gene was performed by real-time PCR. Proinflammatory cytokines such as IL-6 and TNF- α presented higher tissue expression in the COVID-19 group compared to H1N1 and control groups. The same results were observed for ICAM-1 tissue expression. Increased expression of the FCN3 was observed in the COVID-19 group and H1N1 group compared to the control group. The MBL tissue expression was higher in the COVID-19 group compared to H1N1 and control groups. The genotypes AA for rs180040 (G/A), GG for rs1800451 (G/A) and CC for rs5030737 (T/C) showed a higher prevalence in the COVID-19 group. The intense activation of the lectin pathway, with particular emphasis on the MBL pathway, together with endothelial dysfunction and a massive proinflammatory cytokines production, possibly lead to a worse outcome in patients infected with SARS-Cov-2. Moreover, 3 SNPs of our study presented genotypes that might be correlated with high MBL tissue expression in the COVID-19 pulmonary samples. (Translational Research 2021; 231:55–63)

Quality of Life and Spirituality in Medical Students

Juliano de Trotta¹, Sérgio Candido Kowalski², Francisco Cenci Comin¹,
Rafaela Chiucio Zeni¹ & Pedro Vinicius Jales de Araújo¹

¹ Pontifical Catholic University of Paraná, School of Medicine, Curitiba, Paraná, Brazil

² Federal University of Paraná, Department of Internal Medicine, Curitiba, Paraná, Brazil

Correspondence: Juliano de Trotta, School of Medicine, Pontifical Catholic University of Paraná, School of Medicine, Curitiba, Paraná, Brazil. Tel: 55-(41)-99-501-9502.

Received: October 31, 2020 Accepted: December 12, 2020 Online Published: December 23, 2020

doi:10.5539/gjhs.v13n2p37

URL: <https://doi.org/10.5539/gjhs.v13n2p37>

Abstract

Quality of life is an eminently human condition that informs the perception of how the individual is in his life values, while spirituality and religiosity represent the connection with the sacred, the transcendental practices in the search for existential causes. Bringing these concepts to the academic environment can help in promoting health and better training for future medical professionals. The main objective of this study is to evaluate the relationship between *quality of life* and *spirituality* of medical students at a private university in the state of Paraná, Brazil. One hundred eighty-nine medical students answered three questionnaires (socio-demographic, WHOQOL-bref on quality of life, and DUREL spirituality) during the first and last year of graduation. In this study, we found that the general quality of life of medical students, according to the WHOQOL-bref scale, is regular (3.78), and there was no statistically significant difference in the general quality of life between the first and the last year of medical school. ($p = 0.156$). The social and environmental domains leveraged the scores more than the physical and psychological domains in both groups. On the Durel scale, intrinsic religiosity (IR) stood out more than organized (OR) and non-organized (NOR) religiosity, with statistically significant differences ($p = 0.018$), which may imply that these students prefer to seek more in themselves, a harmony of life between their beliefs and their particular needs, internalizing existential and spiritual reflexes that are reflected in their behaviors and decisions.

Keywords: health and spirituality, health promotion, health promotion for undergraduate students, Quality of life, religiosity, spirituality



Lung Neutrophilic Recruitment and IL-8/IL-17A Tissue Expression in COVID-19

OPEN ACCESS

Edited by:

Remi Cheynier,
INSERM U1016 Institut Cochin,
France

Reviewed by:

Dominique Schols,
KU Leuven, Belgium
Harm Maarsingh,

Marina Luise Viola Azevedo¹, Aline Cristina Zanchettin², Caroline Busatta Vaz de Paula¹, Jarbas da Silva Motta Júnior³, Mineia Alessandra Scaranello Malaquias¹, Sonia Mara Raboni⁴, Plínio Cezar Neto¹, Rafaela Chiucio Zeni¹, Amanda Prokopenko¹, Nicolas Henrique Borges¹, Thiago Mateus Godoy¹, Ana Paula Kubaski Benevides¹, Daiane Gavlik de Souza⁴, Cristina Pellegrino Baena³, Cleber Machado-Souza^{2*} and Lucia de Noronha^{1*}

¹ Laboratory of Experimental Pathology, Postgraduate Program of Health Sciences, School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brazil, ² Postgraduate Program in Biotechnology Applied to Child and Adolescent Health, Faculdades Pequeno Príncipe, Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe, Curitiba, Brazil, ³ Hospital Marcelino Champagnat, Postgraduate Program of Health Sciences, School of Medicine, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brazil, ⁴ Virology Laboratory, Universidade Federal do Paraná, Hospital de Clínicas, Curitiba, Brazil