

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

Bárbara Roberta Ongaratti

**Expressão imuno-histoquímica de
marcadores associados à
tumorigênese, agressividade e
reincidência em meningiomas**

UFCSPA
Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

**Porto Alegre
2015**

Bárbara Roberta Ongaratti

**Expressão imuno-histoquímica de
marcadores associados à
tumorigênese, agressividade e
reincidência em meningiomas**

Dissertação submetida ao Programa
de Pós-Graduação em Patologia da
Fundação Universidade Federal de
Ciências da Saúde de Porto Alegre
como requisito para a obtenção do
grau de Mestre.

Orientadora: Dra. Júlia Fernanda Semmelmann Pereira Lima
Co-orientadora: Dra. Miriam da Costa Oliveira

**Porto Alegre
2015**

Catologação na Publicação

Ongaratti, Bárbara Roberta

Expressão imuno-histoquímica de marcadores associados à tumorigênese, agressividade e reincidência em meningiomas / Bárbara Roberta Ongaratti. -- 2015. 115 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2015.

Orientador(a): Júlia Fernanda Semmelmann Pereira Lima ; coorientador(a): Mariam da Costa Oliveira.

1. Proteína merlin ligada à proteína transmembrana e ao citoesqueleto.. 2. Representação esquemática da proteína ERBB2.. 3. Estrutura do heterodímero formado por c-MYC e Max agindo sobre o DNA.. 4. Esquema do método de imuno-histoquímica. I. Título.

“Aqueles que se sentem satisfeitos sentam-se e nada fazem. Os insatisfeitos são os únicos benfeitores do mundo.” (Walter S. Landor)

Agradecimentos

A Deus, pela vida e saúde para encarar com serenidade as dificuldades do cotidiano.

À minha mãe, Noeli, pelo amor e apoio na minha aventura pela ciência.

Ao meu irmão, Jeverson, pela força, carinho e paciência.

À minha orientadora, Dra Júlia Fernanda Semmelmann Pereira Lima, pelo apoio e carinho durante essa fase de amadurecimento pessoal e profissional. Por confiar em mim e por sempre motivar meu desenvolvimento intelectual.

À minha co-orientadora, Dra Miriam da Costa Oliveira, pelo apoio e pela confiança deposita em mim.

Ao meu amado, Lucas, pela compreensão, amor e companheirismo.

Às amigas e colegas, Camila Batista, Geraldine Trott e Taiana Haag, pelo apoio e entusiasmo no desenvolvimento das atividades.

À Rosalva, Teresinha, e Keli pela excelente competência técnica, solução de questões e também pela amizade construída desde que iniciei no laboratório de pesquisa em Patologia.

A todos os profissionais da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), pela alta qualidade do ensino e conhecimento passados a mim desde a graduação.

A todo o Centro de Neuroendocrinologia UFCSPA/Santa Casa, por todo o conhecimento proporcionado durante reuniões, disciplinas, eventos e conversas.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	VI
Lista de figuras	VII
Lista de tabelas	VIII
Resumo da dissertação	IX
1. Introdução	1
1.1 Meningiomas	2
1.1.1. Epidemiologia	2
1.1.2. Tumorigênese	3
1.1.3. Localização e Sintomas.....	4
1.1.4. Classificação	5
1.1.5. Tratamento	7
1.1.6. Reincidência	8
1.1.7. Agressividade	10
1.2. Proteínas.....	12
1.2.1. Merlin	12
1.2.1.1. Merlin em meningiomas.....	14
1.2.2. NDRG2.....	15
1.2.2.1. NDRG2 em meningiomas	16
1.2.3. ERBB2	16
1.2.1.1. ERBB2 em meningiomas	18
1.2.4. c-MYC	18
1.2.1.1. c-MYC em meningiomas.....	19
1.3. Técnica de Imuno-histoquímica.....	20
1.4. Referências Bibliográficas	23
2. Objetivos.....	32
3. Artigo científico redigido em inglês.....	33
4. Considerações finais	52
5. Anexos	53

Lista de abreviaturas

CBTRUS: *Central Brain Tumor Registry of the United States*

CD44: grupo de diferenciação 44

c-MYC: gene homólogo ao oncogene v-Myc

DNA: ácido desoxirribonucleico

E-box: *Enhancer Box*

EGFR: receptor de fator de crescimento epidérmico

ERBB2: homólogo 2 do oncogene viral da leucemia eritroblástica

kDa: kilodalton

LAYN: *layilin protein*

MERM: merlin, ezrina, radixina e moesina

mRNA: RNA mensageiro

NDRG2: N-MYC regulado à jusante 2

NF2: neurofibromatose tipo 2

N-MYC: oncogene da mielocitomatose viral derivado de neuroblastoma

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCR: reação em cadeia da polimerase

qRT-PCR: PCR quantitativa em tempo real

RNA: ácido ribonucleico

SNC: sistema nervoso central

v-Myc: oncogene viral da mielocitomatose aviária

Lista de figuras

Figura 1.	Proteína merlin ligada à proteína transmembrana e ao citoesqueleto.....	14
Figura 2.	Representação esquemática da proteína ERBB2.....	17
Figura 3.	Estrutura do heterodímero formado por c-MYC e Max agindo sobre o DNA.....	19
Figura 4.	Esquema do método de imuno-histoquímica.....	22

Lista de tabelas

- Tabela 1. Subtipos histológicos de meningiomas de acordo com a OMS....6
- Tabela 2. Sistema de classificação de Simpson e risco de reincidência.....9

Resumo da Dissertação

RESUMO

Introdução: Meningiomas são tumores comuns do sistema nervoso central, geralmente benignos, com alta taxa de reincidência ou recrescimento pós-operatório.

Objetivo: Avaliar a expressão imuno-histoquímica (IH) das proteínas merlin, NDRG2, ERBB2 e c-MYC em meningiomas e relacionar os achados com gênero, idade, grau tumoral, seguimento e reincidência ou recrescimento.

Material e Métodos: Trata-se de um estudo de coorte, foram incluídos 60 pacientes no estudo, 44 mulheres (73,3%) e 16 homens (26,7%), a média de idade foi de $53,2 \pm 12,7$ anos. Os tumores foram classificados como grau I (n=48) e graus II e III (n=12).

Resultados: A expressão IH de merlin, NDRG2, ERBB2 e c-MYC não apresentou associação estatisticamente significativa em relação ao gênero, idade e recorrência ou recrescimento dos meningiomas. A marcação foi positiva para merlin em 100% dos casos. Os pacientes foram seguidos por uma média de 22,9 meses. Não houve associação estatisticamente significativa entre o grau tumoral e a recorrência ou recrescimento. Encontramos associação estatisticamente significativa entre a média de idade dos pacientes com meningiomas de grau I ($54,83 \pm 11,60$) e graus de II e III ($46,58 \pm 15,08$) ($p=0,043$), entre a marcação forte de c-MYC e os graus II e III ($p<0,001$) e entre a ressecção cirúrgica parcial e a reincidência ou recrescimento tumoral ($p<0,001$).

Conclusões: Nossos achados evidenciaram a menor média de idade em pacientes com meningiomas de graus II e III, a influência da proteína merlin na tumorigênese, a associação de c-MYC com meningiomas agressivos e a reincidência ou recrescimento tumorais nos casos de ressecção cirúrgica parcial.

Palavras-chave: meningiomas; imuno-histoquímica; merlin; NDGR2; ERBB2; c-MYC; tumorigênese; agressividade; reincidência.

1. Introdução

Os meningiomas são os tumores mais comuns do sistema nervoso central (SNC) em adultos. Representam cerca de 35% dos tumores primários intracranianos, originando-se a partir das células aracnoideas das leptomeninges (Saraf e cols., 2011; Ostrom e cols., 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% dos meningiomas são benignos, possuem crescimento lento e são classificados como grau I, os meningiomas atípicos como grau II e os meningiomas anaplásicos como grau III (Perry e cols., 2004; Riemenschneider e cols., 2006).

A maior incidência de meningiomas é entre a sexta e a sétima décadas de vida, são significativamente mais presentes em mulheres, na proporção de 3:1 (Colagoklu e cols., 2003). Diversos fatores, tanto exógenos como endógenos, predispõe ao desenvolvimento dos meningiomas. A associação exógena mais importante é a radiação ionizante (Lusis e Gutmann, 2004). Dentre os fatores endógenos encontram-se os hormônios sexuais que atuam no desenvolvimento e no crescimento dos meningiomas (Wrensch e cols., 2002).

Diversos estudos investigaram o papel das proteínas nos processos de tumorigênese, o comportamento agressivo e a reincidência de meningiomas. Dentre as proteínas estudadas encontram-se: a merlin (produto do gene neurofibromatose tipo 2), a NDRG2 (produto do gene N-MYC (oncogene da mielocitomatose viral derivado de neuroblastoma) regulado à jusante 2), a ERBB2 (produto do gene homólogo 2 do oncogene viral da leucemia eritroblástica) e a c-MYC (produto do gene homólogo ao oncogene v-Myc (oncogene viral da mielocitomatose aviária)) (Durand e cols., 2008; Skiriute e

cols., 2011). A proteína merlin, age como supressor tumoral e a deficiência ou perda desta proteína representa a alteração genética mais frequentemente encontrada em meningiomas (Buccoliero e cols. 2007a). A proteína NDRG2 está envolvida na diferenciação celular e supressão tumoral, sendo observada redução ou ausência da expressão desta proteína em vários tipos de câncer (Zhao e cols., 2008). Alterações no gene ERBB2 resultam em atividade oncogênica da proteína, o que pode explicar o porquê de estar altamente expressa em muitos tipos de tumores malignos (Mahzouni e Movahedipour, 2012). O gene c-MYC desempenha funções importantes na regulação do ciclo celular, proliferação, diferenciação e apoptose. Mutações neste gene estão ligadas ao desenvolvimento de diferentes tipos de câncer. A superexpressão da proteína c-MYC foi observada em meningiomas atípicos e anaplásicos (Nagashima e cols., 2001; Dang e cols., 2012).

1.1. Meningioma

1.1.1. Epidemiologia

Os meningiomas são tumores que, na sua maioria, se apresentam histologicamente como benignos e possuem crescimento lento (Saraf e cols., 2011). De acordo com estudo feito pela *Central Brain Tumor Registry of the United States* (CBTRUS) entre os anos de 2006 e 2010, os meningiomas representam 35% dos tumores primários intracranianos (Ostrom e cols., 2013). A incidência dos meningiomas é de 7,44 para cada 100 mil habitantes, havendo um aumento significativo após os 65 anos de idade (Ostrom e cols., 2013). Esta

incidência pode ser ainda maior, levando-se em conta que existem casos assintomáticos (Lusis e Gutmann, 2004). Em relação ao gênero, as mulheres são três vezes mais propensas a desenvolvê-los que os homens (Jaaskelainen, 1986b; Matsuno e cols., 1996; Colagoklu e cols., 2003). Em crianças e adolescentes, o desenvolvimento de meningiomas é raro, porém geralmente é agressivo, podendo estar relacionado às síndromes hereditárias (Marosi e cols., 2008).

1.1.2. Tumorigênese

A radiação ionizante é comprovadamente um fator de risco, mesmo que em doses baixas, com um período de latência de até 35 anos, podendo causar meningiomas atípicos, com altos índices de proliferação (Albrecht e cols., 1994; Lindboe e cols., 1995). Estudos transversais não demonstraram ligação entre o aumento do uso de telefones celulares com a ocorrência de meningiomas (Bondy e Ligon, 1996; Schuz e cols., 2006).

Diversos estudos demonstram a relação entre meningiomas e hormônios sexuais (Schlehofer e cols., 1992; Maxwell e cols., 1993; Lee e cols., 2006). Tem-se observado uma maior incidência de meningiomas em mulheres em idade reprodutiva, portadoras de câncer de mama, assim como alterações no tamanho dos tumores durante o período gestacional, ciclo menstrual e menopausa (Kleihues e cols., 2000; Wrensch e cols., 2002). Receptores de progesterona estão presentes em aproximadamente dois terços dos meningiomas. Receptores de hormônios andrógenos e receptores de estrogênio estão presentes em um décimo dos meningiomas (Blankenstein e cols., 2000).

Os meningiomas podem se originar espontaneamente ou serem consequência de síndromes hereditárias, como a neurofibromatose tipo 2, as síndromes de Li-Fraumeni, Turcot, Gardner, von Hippel-Lindau, Cowden, Gorlin e a neoplasia endócrina múltipla tipo I (Hottinger e Khakoo., 2009). Para a maioria dessas síndromes, a relação genética exata para o desenvolvimento dos meningiomas não foi ainda desvendada.

Os meningiomas foram os primeiros tumores sólidos a serem identificados com uma alteração citogenética característica: a anormalidade no braço longo do cromossomo 22, sendo esta a alteração genética mais frequentemente encontrada em meningiomas (Ragel e cols., 2005; Riemenschneider e cols., 2006). Nesta banda encontra-se o gene NF2, cujo produto, a proteína merlin (ou schwannomin), participa da regulação do contato intercelular e da motilidade celular (Zhou e Hanemann, 2012).

1.1.3. Localização e Sintomas

Cerca de um terço dos meningiomas diagnosticados durante a vida são assintomáticos (Drummond e cols., 2004). Quando presentes, os sintomas dependem principalmente da localização do tumor e, na sua maioria, são causados pelo aumento da pressão intracraniana (Greenberg, 2006). Os meningiomas intracranianos somam 98% do total, destes, 60% estão localizados em regiões parassagitais, na convexidade craniana, no tubérculo da sela e no cume esfenoide. Locais menos comuns incluem o sulco olfatório, foice, ventrículo lateral, tentório, fossa média e órbita (Greenberg, 2006).

Meningiomas na região do esfenoide geralmente causam cefaleia unilateral não-pulsátil e perda visual unilateral. Tonturas, dores de cabeça e alterações mentais geralmente são resultado de tumores localizados na convexidade cerebral, enquanto que tumores localizados na região supraselar podem apresentar-se com perda visual, hemianopsia bilateral e atrofia óptica. Hidrocefalia e anormalidades de campo visual ocorrem em tumores intraventriculares. Quando o meningioma se localiza no sulco olfatório, podem ocorrer escotomas centrais, atrofia do nervo óptico, papiledema contralateral, perda homolateral de olfato, além de alterações motoras. Perda do equilíbrio e audição são características de meningiomas localizados no ângulo ponto-cerebelar. Quando o tumor é na região cerebelar, a principal alteração é evidenciada no equilíbrio. Quando localiza-se no forame magno, o paciente pode apresentar paresia espástica e perda de sensibilidade nas extremidades (Guimarães e Rosa, 2008).

1.1.4. Classificação

Os meningiomas são classificados de acordo com o sistema de classificação da OMS, ver Tabela 1. Mais de 80% dos meningiomas são classificados como grau I (Perry e cols., 1997). As histologias mais comuns neste grau são os meningiomas meningoteliais, fibroblásticos e transitórios (Whittle e cols., 2004). Meningiomas de grau I têm características pleomórficas e figuras de mitose ocasionais. Embora essa categoria seja classicamente definida como benigna, existe um elevado grau de variabilidade, com taxas de recidiva entre 7% a 20% e progressão para graus mais elevados (Saraf e cols., 2011).

Tabela 1. Subtipos histológicos de meningiomas de acordo com a OMS.

Grau	Frequência	Histologia	% de reincidência
I	80%-90%	Meningotelial, Psamomatoso, Secretor, Fibroblástico, Angiomatoso, Rico em linfoplasmócitos, Transicional, Transicional, Microcístico, Metaplásico	7%-20%
II	5%-15%	Células claras, Cordoide e Atípico	30%-40%
III	1%-3%	Papilar, Rabdoide e Anaplásico	50%-80%

(Adaptado de Saraf, 2011)

Meningiomas atípicos são classificados como grau II e somam de 5% a 15% dos casos (Louis e cols., 2007). A alta atividade mitótica (quatro ou mais mitoses/10 campos de grande aumento) ou três das cinco características de maior celularidade (alta celularidade, aumento da relação núcleo/citoplasma, nucléolos proeminentes, arranjo arquitetural difuso e necrose) definem o meningioma como grau II. Meningiomas cordoide e de células claras tendem a ser mais agressivos e com uma alta taxa de reincidência, estes também são classificados como grau II (Lamszus e cols., 2004). As taxas de reincidência são entre 30%-40% e a presença de atividade mitótica e micronecroses com pseudopaliçadas são fortes fatores de risco associado a uma elevada reincidência (Perry e cols., 1997).

Meningiomas anaplásicos ou malignos são classificados pela OMS como grau III e representam 1% a 3% dos casos (Perry e cols., 1997). Estes tumores mostram características francas de anaplasia ou um índice mitótico maior ou igual a 20 mitoses/10 campos de grande aumento. Devido à natureza agressiva de meningiomas rabdoide e papilares, eles são designados como grau III.

Tumores de grau III têm maior frequência de invasão local, reincidência e metástases. O prognóstico é pobre neste grupo de pacientes, com taxas de reincidência de 50% a 80% e uma média de tempo de sobrevida próxima a dois anos (Perry e cols., 1999).

1.1.5. Tratamento

Os meningiomas possuem crescimento lento e muitos permanecem assintomáticos ao longo da vida, sendo necessário apenas o acompanhamento clínico periódico. No entanto, casos sintomáticos podem surgir devido à pressão elevada no interior do crânio, para estes casos é necessário tratamento (Lee e cols., 2006). O tratamento destes meningiomas depende de fatores relacionados ao paciente como: idade, estado clínico, comorbidades médicas, sintomas e a localização do tumor. Para pacientes que são considerados aptos à cirurgia, o objetivo da terapia é a ressecção completa (Jääskeläinen e cols., 1986a; Wilson, 1994; Rutten e cols., 2007). Assim como em outros tumores cerebrais, a integralidade de ressecção é determinada nas primeiras 72 horas pós-operatórias, utilizando-se imagens cerebrais com contraste, como tomografia computadorizada ou ressonância magnética (Rockhill e cols., 2007).

A cirurgia tende a se mostrar eficaz no tratamento de meningiomas benignos e a sua reincidência é rara (Sioka e Kyritsis, 2009). Para meningiomas recorrentes ou os que se apresentam inoperáveis devido à sua localização, a radioterapia se mantém como tratamento de escolha (Fathi e Roelcke, 2013). No entanto, se repetidas ressecções e a radioterapia não atingirem o controle tumoral, a terapia hormonal, a imunoterapia ou a quimioterapia podem ser

indicadas. Agentes antiprogesterona e antiestrógeno isolados ou em combinação com os bloqueadores de canais de cálcio podem ser benéficos durante um período de tempo em meningiomas benignos recorrentes. O interferon-alfa ou a quimioterapia devem ser considerados em todos os casos de meningiomas recorrentes (benignos, atípicos ou malignos) após falha de todos os outros tratamentos. A hidroxiureia é o agente quimioterápico mais comumente utilizado, novos estudos vêm sendo realizados a fim de estabelecer o papel da somatostatina, lovastatina e drogas anti-inflamatórias não esteroides na gestão de meningiomas recorrentes (Sioka e Kyritsis, 2009).

1.1.6. Reincidência

Reincidência é o retorno da doença após aparente remissão da mesma (Dorland, 2011). Os fatores mais importantes que determinam a probabilidade de reincidência de um meningioma são a extensão da ressecção do tumor e o grau histológico (Simpson, 1957).

Em 1957, Donald Simpson estabeleceu um sistema de graduação da extensão da ressecção de meningiomas, o qual se divide em 5 graus (Simpson, 1957). Ver Tabela 2.

Tabela 2: Sistema de classificação de Simpson e risco de reincidência

Grau da extensão	Ressecção tumoral	Risco de reincidência
I	Completa remoção macroscópica, juntamente com dura-máter e osso anormal	9%
II	Completa remoção macroscópica, com coagulação endodérmica de sua fixação dural	16%
III	Completa remoção macroscópica intradural, sem coagulação de sua fixação dural ou de suas extensões extradurais	29%
IV	Remoção parcial	39%
V	Simple decompressão	-

(Adaptado de Simpson, 1957)

Em relação ao grau histológico, após a ressecção cirúrgica total, os meningiomas benignos (grau I) estão associados a taxas de reincidência de apenas 5% em 5 anos. Em contraste, a taxa de reincidência estimada para meningiomas atípicos (grau II) totalmente ressecados é de cerca de 40% em 5 anos e esta continua a aumentar com tempo. Meningiomas anaplásicos (grau III) estão associados com taxas de reincidência de até 80% após a ressecção cirúrgica e a sobrevida média é inferior a dois anos (Perry e cols., 1999; McLendon e cols., 2006; Riemenschneider e cols., 2006). No entanto, considerando números absolutos, os meningiomas com caráter benigno apresentam maior reincidência, levando-se em conta que correspondem a mais de 80% do total (Monleón e cols., 2010).

Além da extensão da ressecção e do grau histológico estarem intimamente relacionados com a reincidência, existe a hipótese de que receptores de hormônios sexuais possam estar envolvidos no desenvolvimento,

crescimento e reincidência de meningiomas (Korhonen e cols., 2006). Rubinstein e cols. (1994) encontraram uma alta concentração de receptores de progesterona em meningiomas recorrentes quando comparado com meningiomas primários. Fewings e cols. (2000) descreveram que meningiomas com receptores de progesterona positivos são menos propensos à reincidência do que os que não possuem receptores de progesterona (Rubinsteins e cols., 1994; Fewings e cols., 2000). Em meningiomas com receptores de estrógeno positivos, o índice de proliferação, medido através do Ki-67, é maior do que em meningiomas com receptores de estrógeno negativo (Korhonen e cols., 2006). A presença de receptores de estrógeno e andrógeno não está ligada diretamente à reincidência dos meningiomas, entretanto, a presença desses receptores foi detectada em um quarto dos meningiomas de graus II e III (Korhonen e cols., 2006).

A superexpressão de ERBB2 está ligada a uma alta taxa de reincidência e mortalidade em pacientes com câncer de mama (Slamon e cols., 1987; Paik e cols., 1990). Em meningiomas, a expressão imuno-histoquímica de ERBB2 é maior em tumores de grau II e III e a taxa de reincidência em tumores com ERBB2 positivo é de 50% (Loussouarn e cols., 2006; Wang e cols., 2010).

1.1.7. Agressividade

Os meningiomas recorrentes tendem a se tornar mais agressivos e malignos em suas características ao longo do tempo, embora esta evolução temporal possa ser variável (Yang e cols., 2008). De acordo com a OMS, meningiomas de graus II e III são considerados agressivos, no entanto, cerca de

20% dos meningiomas histologicamente benignos (grau I) podem ser clinicamente agressivos (Perry e cols., 1999; Ferraro e cols., 2014). As características histológicas associadas com o comportamento agressivo incluem: perda de citoarquitetura, aumento da celularidade, alta atividade mitótica, presença de necrose, pleomorfismo nuclear e invasão do parênquima cerebral (Karamitopoulou e cols., 1998; Abramovich e Prayson, 1999). Meningiomas recorrentes tendem a ser mais agressivos, quando comparados com meningiomas primários e são mais comuns em homens do que em mulheres (Perry e cols., 1997; Engenhardt-Cabillic e cols., 2006). As taxas de sobrevivência de pacientes com meningiomas de graus II e III são de 65% em 5 anos e de 51% em 10 anos (Pasquier e cols., 2008).

As aberrações cromossômicas também estão envolvidas na agressividade de meningiomas. Meningiomas benignos raramente possuem alguma alteração além de perdas no cromossomo 22. Porém, alterações cariotípicas mais complexas são encontradas em meningiomas de comportamento mais agressivo (Liu e cols., 2005). A progressão maligna, levando em conta a teoria da evolução clonal, está associada com uma gradual aquisição cumulativa de ganhos e perdas cromossômicas, produzindo subclones mais agressivos e com maior capacidade de crescimento (Weber e cols., 1997; López-Ginés e cols., 2003). A baixa regulação do gene supressor tumoral NDRG2 está associada com meningiomas clinicamente agressivos (Luis e cols., 2005).

Meningiomas atípicos e anaplásicos possuem alterações cariotípicas mais amplas em comparação com os benignos, como perdas no braço curto do cromossomo 1, 10q, 14q e perdas menos frequentes em 6q e 18q, além de

ganhos cromossômicos em 1q, 9q, 12q, 15q, 17q e 20q (Liu e cols., 2005; Mawrin e cols., 2010). Em adição a estas alterações genéticas, meningiomas anaplásicos apresentam perdas mais frequentes em 6q, 10q, 14q, e 9p com amplificação de 17q23. Alterações epigenéticas, incluindo o aumento de ilhas de hipermetilação, também têm sido associadas com a progressão maligna dos meningiomas (Ozaki e cols., 1999; Büschges e cols., 2002; Riemenschneider e cols., 2006).

1.2. Proteínas

1.2.1. Merlin

Neurofibromatose tipo 2 (NF2) é um gene supressor tumoral que se localiza no braço longo do cromossomo 22, entre os locus D22S212 e D22S28, codifica a proteína denominada merlin (ou schwannomin) e afeta múltiplas vias de sinalização celular (Ruttledge e cols., 1993; Evans e cols., 1998; Okada e cols., 2007). A proteína merlin é um membro da família MERM (merlin, ezrina, radixina e moesina), que são proteínas de adesão celular. Esta proteína liga-se por um lado com à actina (citoesqueleto) e por outro com proteínas transmembranas, como o CD44 (grupo de diferenciação 44), o EGFR (receptor de fator de crescimento epidérmico) e a LAYN (*layilin protein*) (Murthy e cols., 1998; Wiederhold e cols., 2004; Kumar e cols., 2005; Curto e cols., 2008; Asthagiri e cols., 2009). Tendo o papel de adesão, a proteína merlin fornece uma ligação importante entre o meio extracelular e as vias de sinalização celular, evita os efeitos da sinalização mitogênica aberrante na oncogênese, tornando-se a

única proteína da família MERM que possui atividade de supressão tumoral (Morrison e cols., 2001).

Mutações no gene NF2 causam uma doença autossômica dominante que recebe o mesmo nome do gene e afeta 1 a cada 33.000 crianças e jovens adultos, caracterizada pelo desenvolvimento de múltiplos tumores que afetam principalmente o SNC (Evans e cols., 1998; Evans e cols., 2010). As mutações no NF2 podem ser de linha germinativa (70%) ou mosaico-somáticas (30%), sendo que na última as mutações estão presentes apenas em algumas células (Baser e cols., 2005). A maioria dos tumores de SNC associados à neurofibromatose tipo 2 são meningiomas, schwannomas e ependimomas (Ahronowitz e cols., 2007). A perda ou inativação do gene NF2 também se mostra crucial no desenvolvimento de outros tipos de câncer, como mesoteliomas altamente agressivos, câncer de mama e gliomas (Morrow e cols., 2011; Evans e cols., 1992).

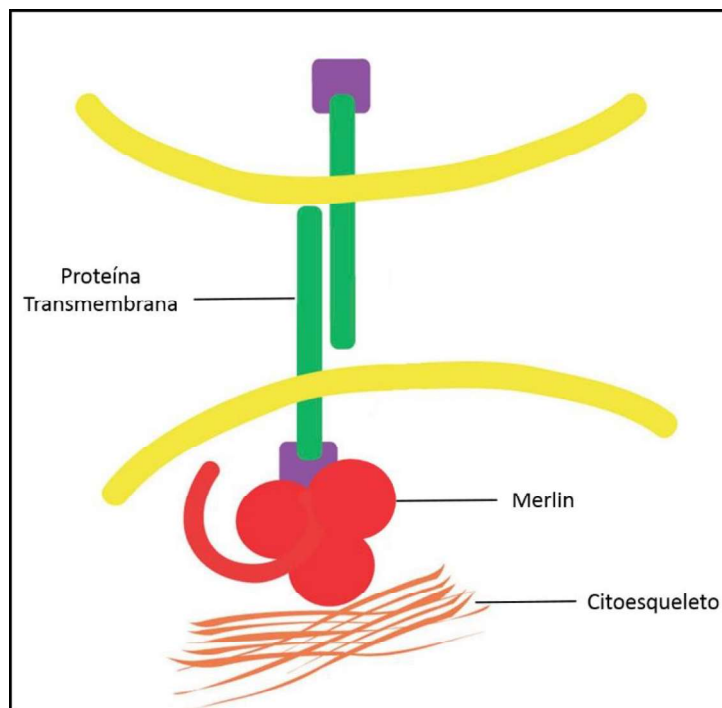


Figura 1. Proteína merlin ligada à proteína transmembrana e ao citoesqueleto. (Adaptada de Curto e cols., 2007).

1.2.1.1. Merlin em meningiomas

As mutações em ambos os alelos do gene NF2 levam à perda da produção da proteína merlin, sendo esse o defeito genético mais comum em meningiomas. Aproximadamente 50% dos meningiomas esporádicos e a grande maioria dos ligados à neurofibromatose tipo 2 tem mutações neste gene. Nos 50% restantes, há evidências de um mecanismo adicional de inativação da proteína merlin, como a proteólise da proteína merlin mediada por calpaína, ou ainda, metilação aberrante da extremidade 5' do gene NF2 (Kimura e cols., 1998; Lomas e cols., 2005). Mutações na proteína merlin são geralmente associadas a um defeito genético inicial em meningiomas e são necessários defeitos genéticos adicionais para que os tumores progridam de grau I para os graus II e

III. Parece não haver correlação entre a mutação da proteína merlin e o grau do meningioma. Mutações no gene NF2 são menos presentes nos subtipos histológicos meningotelial e secretor (Riemenschneider e cols., 2006; Simon e cols., 2007). Buccoliero e cols. (2007b) analisaram, através de qRT-PCR, a expressão de NF2 em 30 meningiomas. Houve diferença significativa entre meningiomas meningoteliais, que mostraram maior expressão de NF2 e meningiomas não-meningoteliais. Não foi detectada diferença significativa de expressão entre os meningiomas de diferentes graus (Buccoliero e cols., 2007b). Estudo de Pavelin e cols. (2014), através da técnica de imuno-histoquímica também não detectou diferença significativa na expressão da proteína merlin em meningiomas de diferentes graus. Esses dados reforçam a hipótese de que alterações no gene NF2 estão relacionadas com o tipo histológico e não com o grau dos meningiomas (Buccoliero e cols., 2007b; Pavelin e cols., 2014).

1.2.2. NDRG2

O gene NDRG2 (N-MYC (oncogene da mielocitomatose viral derivado de neuroblastoma) regulado à jusante 2) localiza-se no braço longo do cromossomo 14, na região 11.2 e codifica uma proteína com 41 kDa (kilodalton) (Okuda e Kondoh, 1999; Qu e cols., 2002). Observou-se que a superexpressão do gene NDRG2 *in vitro* tem o potencial de inibir a proliferação de células de glioblastomas (Deng e cols., 2003). De acordo com sua função potencial como um supressor tumoral, a baixa expressão do gene NDRG2 é encontrada em vários tipos de câncer humanos como mama, estômago, pâncreas, fígado, assim como em carcinomas colorretais (Hu e cols., 2004; Liu e cols., 2007; Lorentzen

e cols., 2007; Park e cols., 2007). Há uma provável correlação inversa entre o nível de expressão do gene NDRG2 e a taxa de proliferação celular. Analisando esta hipótese, Deng e cols. (2003) avaliaram o padrão de expressão do gene NDRG2 em células e tecidos através da técnica de *Northern Blot*. Sinais proeminentes de hibridização foram detectados em tecidos de músculo, cérebro, coração, fígado e, em menor grau, no rim. Em tecidos adultos os maiores níveis de expressão encontravam-se em glândulas salivares, diversos tecidos neurais e músculo esquelético. Além disso, o mRNA de NDRG2 foi praticamente indetectável em timo, medula óssea, testículos e leucócitos do sangue periférico (Deng e cols., 2003).

1.2.2.1. NDRG2 em meningiomas

Lusis e cols. (2005) observaram baixa expressão de NDRG2 em meningiomas atípicos com comportamento clinicamente agressivo (grau II) e em meningiomas anaplásicos (grau III) (Lusis e cols., 2005). Em estudo realizado por Skiriute e cols. (2011) foi detectada, através de RT-PCR semiquantitativo, baixa expressão de mRNA de NDRG2 em meningiomas recorrentes quando comparados com meningiomas primários. (Skiriute e cols., 2011).

1.2.3. ERBB2

O proto-oncogene ERBB2 está localizado no cromossomo 17q21, codifica uma proteína receptora transmembrana de 185 kDa com atividade tirosinoquinase intracelular. A proteína possui, em sua estrutura, um domínio

extracelular de contato com o ligante, um domínio transmembrana e um domínio catalítico intracelular (Slamon e cols., 1987). O receptor ERBB2 pertence à família dos EGFR, os quais localizam-se na membrana celular e atuam ligando-se à fatores de crescimento extracelulares, originando reações celulares como proliferação, diferenciação, migração, adesão e apoptose (Wang e cols., 2011).

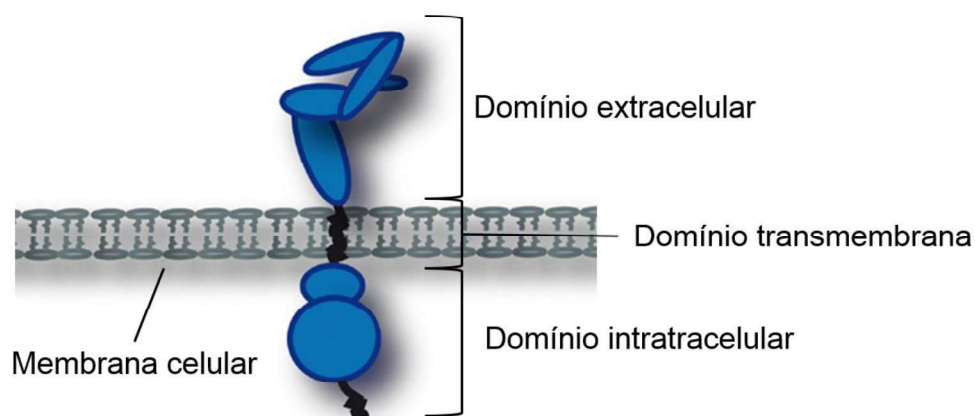


Figura 2. Representação esquemática da proteína ERBB2. (Adaptado de Herter-Sprie e cols., 2013).

O gene ERBB2 desempenha um importante papel nas neoplasias humanas. A superexpressão da proteína do gene ERBB2 foram detectadas em muitos tipos de neoplasias (Freireich e Stass, 1995). Estudos demonstram que pacientes com tumores que superexpressam ERBB2 apresentam uma clínica significativamente pobre em relação aos pacientes cujos tumores não apresentam essa superexpressão (Slamon e cols., 1987; Slamon e cols., 1989; Berchuck e cols., 1990).

1.2.3.1. ERBB2 em meningiomas

Em estudo utilizando a técnica de imuno-histoquímica, a expressão de ERBB2 foi detectada em 43% de meningiomas, sem diferença significativa entre os graus, gênero ou o fato do tumor ser recorrente ou primário (Mahzouni e Movahedipour, 2012). Wang e cols. (2010) por meio da técnica de imuno-histoquímica, demonstrou expressão de ERBB2 em 15% dos meningiomas benignos não-recorrentes, 30% dos meningiomas benignos recorrentes, 35% dos meningiomas atípicos e 50% dos meningiomas malignos (anaplásicos). Os dados apresentam diferença significativa, quanto maior o grau do tumor maior a expressão de ERBB2 (Wang e cols., 2010).

1.2.4. c-MYC

O gene c-MYC é um proto-oncogene e localiza-se no braço longo do cromossomo 8 na região 8q24, tendo sido identificado primeiramente como homólogo celular do oncogene retroviral v-Myc. Faz parte da família dos fatores de transcrição nuclear, os quais regulam os estímulos que chegam ao núcleo celular e organizam a transcrição do DNA e do processo mitótico (Vennstrom e cols., 1982). O c-MYC age no ciclo celular através da regulação da progressão de células primárias da fase G1 (*gap 1*) para a fase S (síntese) (Heikkila e cols., 1987). A expressão de c-MYC está intimamente ligada ao potencial de proliferação da célula. Células em repouso possuem baixa expressão de c-MYC (Campisi e cols., 1984; Moore e cols., 1987). Após ser estimulado pelos sinais de transcrição, o c-MYC forma um heterodímero com outra proteína, a *Max*. A

proteína Max tem estrutura semelhante à c-MYC, com hélice-alça-hélice e zíper de leucina, sendo considerada como um par na dimerização. O complexo c-MYC-Max liga-se a regiões específicas do DNA, que contenham a sequência CACGTG (E-box (*Enhancer Box*)), ativa a transcrição através da estimulação de genes ligados ao crescimento celular, organizando o processo de proliferação celular (Ryan e Birnie, 1996; Mao e cols., 2003).

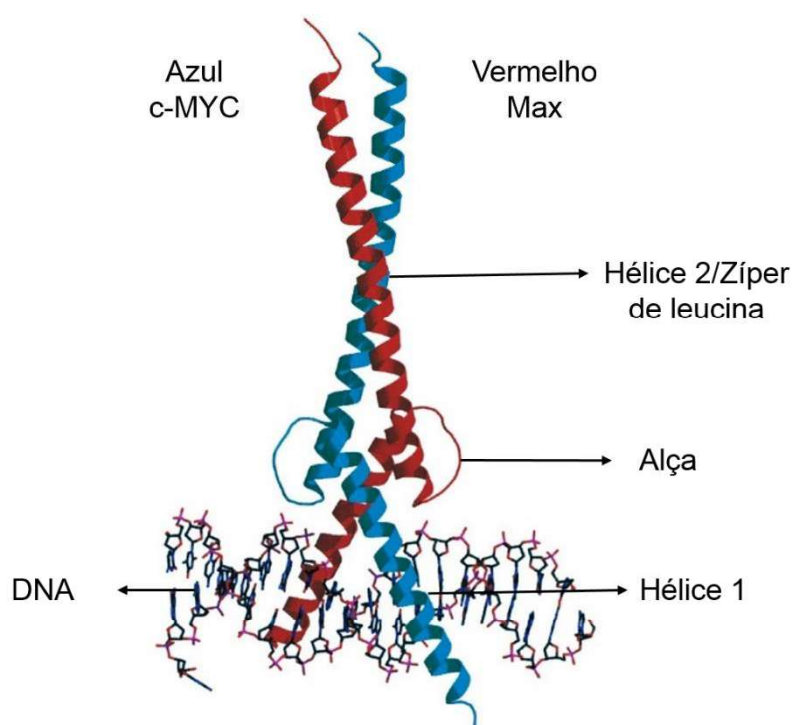


Figura 3. Estrutura do heterodímero formado por c-MYC e Max agindo sobre o DNA. (Adaptado de Nair e Burley, 2003).

1.2.4.1. c-MYC em meningiomas

O gene *c-myc* encontra-se superexpresso em diferentes tipos câncer, contribuindo como causa de, aproximadamente, 40% dos mesmos (Dang, 2009). Segundo Kazumoto e cols. (1990), há superexpressão de c-MYC em 63% dos

meningiomas, não havendo diferença significativa entre os diferentes graus (Kazumoto e cols., 1990). Em estudo realizado por Nagashima e cols. (2001) em 20 meningiomas, a expressão de c-MYC foi analisada através de imunohistoquímica. Meningiomas atípicos e anaplásicos apresentaram expressão de c-MYC, não houve imunomarcagem de c-MYC em meningiomas benignos (Nagashima e cols., 2001).

1.3. Técnica de Imuno-histoquímica

A imuno-histoquímica surgiu do desenvolvimento das técnicas de imunopatologia, durante a década de 1940. Porém, somente a partir de 1974, quando foi possível a demonstração de antígenos teciduais através da técnica de imunoperoxidase em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina, a imuno-histoquímica foi aceita como método simples e prático no diagnóstico de patologias (Leong e Wright, 1987; Rosai, 1996; Swanson, 1997; Bodey, 2002). Com a elaboração dos anticorpos monoclonais, que ofereceram uma vasta gama de reagentes extremamente específicos para a demonstração de vários antígenos teciduais ou celulares e com o surgimento da recuperação antigênica houve uma grande contribuição para a evolução da imuno-histoquímica (Bodey, 2002). A imuno-histoquímica resultou em um avanço considerável no diagnóstico da patologia cirúrgica, e ficou conhecida como a Revolução Marrom nos laboratórios de histopatologia (Leong e Wright, 1987).

As mais importantes aplicações da imuno-histoquímica são: determinar o tecido de origem ou órgão de uma neoplasia indiferenciada; subclassificar neoplasias; pesquisar fatores prognósticos, terapêuticos e índices proliferativos

de algumas neoplasias; identificar estruturas, organismos e materiais secretados pelas células; detectar células neoplásicas metastáticas (Leong e Wright, 1987; Werner e cols., 2000; Jaffer e Bleiweiss, 2004).

O objetivo da técnica de imuno-histoquímica é reconhecer antígenos e, desta forma, fazer a identificação de células específicas que se encontram em uma população celular morfológicamente heterogênea. Os passos básicos do protocolo de imuno-histoquímica são: (1) fixação e incorporação do tecido em parafina, (2) corte e montagem da secção, (3) desparafinização e reidratação da secção, (4) recuperação antigênica, (5) coloração imuno-histoquímica, (6) contracoloração, se necessário, (7) desidratação e estabilização com meio de montagem, (8) visualização da coloração ao microscópio (Dabbs, 2013). A técnica de imuno-histoquímica utilizada no presente estudo emprega o uso de micropolímeros de enzimas. Através deste método, existe a possibilidade de conjugar grandes quantidades de marcador aos anticorpos, aumentando a capacidade de amplificação, pois desta forma há maior concentração de enzimas por molécula de antígeno. Devido à grande quantidade de enzimas no polímero, uma maior quantidade de cromógeno será precipitada, o que resulta numa marcação mais intensa, aumentando assim a sensibilidade do método, permitindo detectar até as quantidades mais ínfimas de antígeno (Dabbs, 2013).

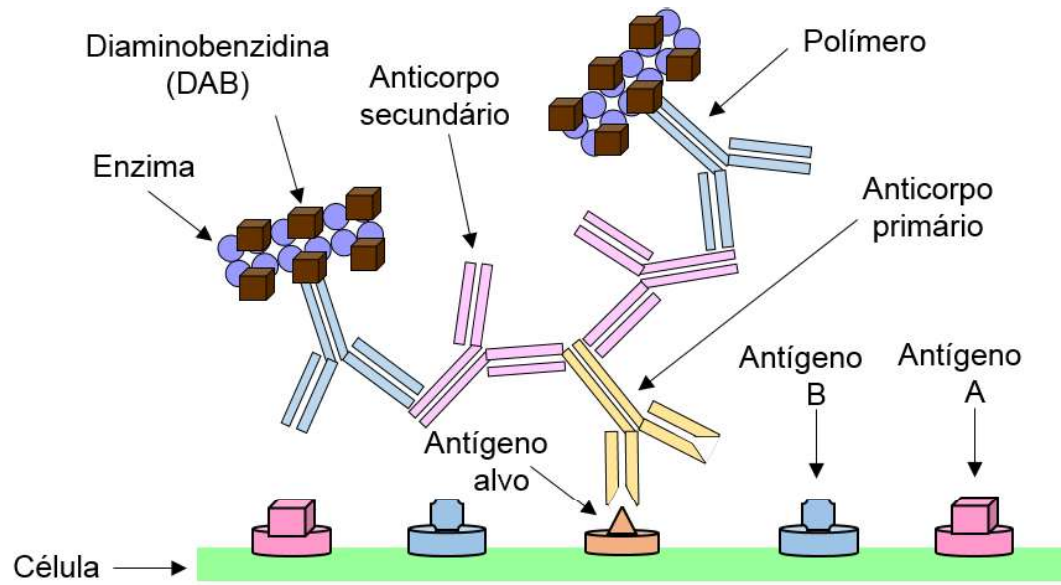


Figura 4. Esquema do método de imuno-histoquímica (Adaptado de Abelson e cols., 1999).

1.4 Referências bibliográficas

Abramovich CM, Prayson RA. Histopathologic features and MIB-1 labeling indices in recurrent and nonrecurrent meningiomas. *Arch Pathol Lab Med.* 1999;123(9):793-800.

Ahronowitz I, Xin W, Kiely R, Sims K, MacCollin M, Nunes FP. Mutational spectrum of the NF2 gene: a meta-analysis of 12 years of research and diagnostic laboratory findings. *Hum Mutat.* 2007; 28(1):1-12.

Albrecht S, Goodman JC, Rajagopalan S, Levy M, Cech DA, Cooley LD. Malignant meningioma in Gorlin's syndrome: cytogenetic and p53 gene analysis: Case report. *J Neurosurg.* 1994;81(3):466-71.

Asthaigiri AR, Parry DM, Butman JA, Kim HJ, Tsilou ET, Zhuang Z, et al. Neurofibromatosis type 2. *The Lancet.* 2009;373(9679):1974-86.

Baser ME, Kuramoto L, Woods R, Joe H, Friedman JM, Wallace AJ, et al. The location of constitutional neurofibromatosis 2 (NF2) splice site mutations is associated with the severity of NF2. *J Med Genet.* 2005; 42(7):540-6.

Berchuck A, Kamel A, Whitaker R, Kerns B, Olt G, Kinney R, et al. Overexpression of HER-2/neu is associated with poor survival in advanced epithelial ovarian cancer. *Cancer Res.* 1990;50:4087-91.

Blankenstein MA, Verheijen FM, Jacobs JM, Donker TH, Van Duijnhoven MW, Thijssen JH. Occurrence, regulation, and significance of progesterone receptors in human meningioma. *Steroids.* 2000;65:795-800.

Bodey B. The significance of immunohistochemistry in the diagnosis and therapy of neoplasms. *Expert Opin Biol Ther.* 2002; 2:371-93.

Bondy M, Ligon BL. Epidemiology and etiology of intracranial meningiomas: a review. *J Neurooncol.* 1996;29(3):197-205.

Buccoliero AM, Gheri CF, Castiglione F, Ammannati F, Gallina P, Taddei A, et al. Merlin expression in secretory meningiomas: evidence of an NF2-independent pathogenesis? Immunohistochemical study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2007a;15(3):353-7.

Buccoliero AM, Castiglione F, Degl'Innocenti DR, Gheri CF, Garbini F, Taddei A, et al. NF2 gene expression in sporadic meningiomas: Relation to grades or histotypes real time-PCR study. *Neuropathology.* 2007b;27(1):36-42.

Büschges R, Ichimura K, Weber RG, Reifenberger G, Collins VP. Allelic gain and amplification on the long arm of chromosome 17 in anaplastic meningiomas. *Brain Pathol.* 2002;12(2):145-53.

Campisi J, Gray HE, Pardee AB, Dean M, Sonenshein GE. Cell-cycle control of c-myc but not c-ras expression is lost following chemical transformation. *Cell*. 1984;36(2):241-7.

Colakoglu N, Demirtas E, Oktar N, Yüntem N, Islekel S, Ozdamar N. Secretory meningiomas. *J Neurooncol*. 2003;62(3):233-41.

Curto M, Cole BK, Lallemand D, Liu CH, McClatchey AI. Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin. *J Cell Biol*.. 2007;177(5):893-903.

Curto M, McClatchey AI. Nf2/Merlin: a coordinator of receptor signalling and intercellular contact. *Br J Cancer*. 2008;98:256-62.

Dang CV. MYC on the path to cancer. *Cell*. 2012;149(1):22-35.

Dang CV, Le A, Gao P. MYC-induced cancer cell energy metabolism and therapeutic opportunities. *Clin Cancer Res*. 2009; 15:6479-83.

Deng Y, Yao L, Chau L, Ng SS, Peng Y, Liu X, Au WS et al. N-Myc downstream-regulated gene 2 (NDRG2) inhibits glioblastoma cell proliferation. *Int J Cancer*. 2003;106:342-7.

Dorland WAN. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary* 32nd edition. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2011. p. 1609.

Drummond KJ, Zhu JJ, Black PM. Meningiomas: updating basic science, management, and outcome. *Neurologist*. 2004;10(3):113-30.

Durand A, Champier J, Jouvét A, Labrousse F, Honnorat J, Guyotat J, et al. Expression of c-Myc, neurofibromatosis Type 2, somatostatin receptor 2 and erb-B2 in human meningiomas: relation to grades or histotypes. *Clin Neuropathol*. 2008;27(5):334-45.

Engenhart-Cabillic R, Farhoud A, Sure U, Heinze S, Henzel M, Mennel HD, et al. Clinicopathologic features of aggressive meningioma emphasizing the role of radiotherapy in treatment. *Strahlenther Onkol*. 2006;182(11):641-6.

Evans DG, Howard E, Giblin C, Clancy T, Spencer H, Huson SM, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic register service. *Am J Med Genet A*. 2010;152(2):327-32.

Evans DG, Huson SM, Donnai D, Neary W, Blair V, Newton V, et al. A clinical study of type 2 neurofibromatosis. *Q J Med*. 1992;84:603-18.

Evans DG, Trueman L, Wallace A, Collins S, Strachan T. Genotype/phenotype correlations in type 2 neurofibromatosis (NF2): evidence for more severe disease associated with truncating mutations. *J Med Genet*. 1998;35(6):450-5.

Fathi AR, Roelcke U. Meningioma. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2013;13(4) :1-8.

Ferraro DJ, Funk RK, Blackett JW, Ju MR, DeWees TA, Chicoine MR, et al. A retrospective analysis of survival and prognostic factors after stereotactic radiosurgery for aggressive meningiomas. *Radiat Oncol.* 2014;27(9):38-48.

Fewings PE, Battersby RD, Timperley WR. Long-term follow-up of progesterone receptor status in benign meningioma: a prognostic indicator of recurrence?. *J Neurosurg.* 2000;92:401-5.

Greenberg MS. *Handbook of Neurosurgery.* 6th edition. New York: Thieme, 2006. p. 426-9.

Heikkila R, Schwab G, Wickstrom E, Loke SL, Pluznik DH, Watt R, et al. A c-myc antisense oligodeoxynucleotide inhibits entry into S phase but not progress from G0 to G1. *Nature.* 1987;328(6129):445-9.

Herter-Sprie GS, Greulich H, Wong KK. Activating Mutations in ERBB2 and Their Impact on Diagnostics and Treatment. *Front Oncol.* 2013;23:86-96.

Hottinger AF, Khakoo Y. Neurooncology of familial cancer syndromes. *J Child Neurol.* 2009;24(12):1526-35.

Hu XL, Liu XP, Lin SX, Deng YC, Liu N, Li X, et al. NDRG2 expression and mutation in human liver and pancreatic cancers. *World J Gastroenterol.* 2004;10:3518-21.

Jaaskelainen J, Haltia M, Servo A. Atypical and anaplastic meningiomas: radiology, surgery, radiotherapy, and outcome. *Surg Neurol.* 1986;25(3):233-42.

Jaaskelainen J. Seemingly complete removal of histologically benign intracranial meningioma: late recurrence rate and factors predicting recurrence in 657 patients. A multivariate analysis. *Surg Neurol.* 1986;26:461-9.

Jaffer S, Bleiweiss IJ. Beyond hematoxylin and eosin: the role of immunohistochemistry in surgical pathology. *Cancer Invest.* 2004;22(3):445-65.

Karamitopoulou E, Perentes E, Tolnay M, Probst A. Prognostic significance of MIB-1, p53, and bcl-2 immunoreactivity in meningiomas. *Hum Pathol.* 1998;29(2):140-5.

Kazumoto K, Tamura M, Hoshino H, Yuasa Y. Enhanced expression of the sis and c-myc oncogenes in human meningiomas. *J Neurosurg.* 1990;72(5):786-91.

Kimura Y, Koga H, Araki N, Mugita N, Fujita N, Takeshima H, et al. The involvement of calpain-dependent proteolysis of the tumor suppressor NF2 (merlin) in schwannomas and meningiomas. *Nat Med.* 1998;4(8):915-22.

Kleihues P, Cavenee WK. *World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics: tumours of the nervous system.* 2th edition. Lyon, France: IARC Press, 2000.

Korhonen K, Salminen T, Raitanen J, Auvinen A, Isola J, Haapasalo H. Female predominance in meningiomas can not be explained by differences in progesterone, estrogen, or androgen receptor expression. *J Neurooncol.* 2006;80(1):1-7.

Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins e Cotran: Patologia: Bases Patológicas das Doenças. 7th edition. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

Lamszus K. Meningioma pathology, genetics, and biology. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004;63(4):275-86.

Lee E, Grutsch J, Persky V, Glick R, Mendes J, Davis F. Association of meningioma with reproductive factors. *Int J Cancer.* 2006;119(5):1152-7.

Leong AS, Wright J. The contribution of immunohistochemical staining in tumor diagnosis. *Histopathol.* 1987;11(12):1295-305.

Lindboe CF, Helseth E, Myhr G. Lhermitte-Duclos disease and giant meningioma as manifestations of Cowden's disease. *Clin Neuropathol.* 1995;14(6):327-30.

Liu N, Wang L, Liu X, Yang Q, Zhang J, Zhang W, et al. Promoter methylation, mutation, and genomic deletion are involved in the decreased NDRG2 expression levels in several cancer cell lines. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;358(1):164-9.

Liu Y, Pang JC, Dong S, Mao B, Poon WS, Ng HK. Aberrant CpG island hypermethylation profile is associated with atypical and anaplastic meningiomas. *Hum Pathol.* 2005;36(4):416-25.

Lomas J, Bello MJ, Arjona D, Alonso ME, Martinez-Glez V, Lopez-Marin, et al. Genetic and epigenetic alteration of the NF2 gene in sporadic meningiomas. *Genes Chromosomes Cancer.* 2005;42(3):314-9.

López-Ginés C, Gil-Benso R, Collado-Díaz M, Gregori-Romero M, Roldán P, Barberá J, et al. Meningioma: a model of cytogenetic evolution in tumoral initiation and progression. *Neurocirugia (Astur).* 2003;14(6):517-25.

Lorentzen A, Vogel LK, Lewinsky RH, Saebo M, Skjelbred CF, Godiksen S, et al. Expression of NDRG2 is down-regulated in high-risk adenomas and colorectal carcinoma. *BMC Cancer.* 2007;7(1):192-200.

Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathol.* 2007;114(2):97-109.

Loussouarn D, Brunon J, Avet-Loiseau H, Campone M, Mosnier JF. Prognostic value of HER2 expression in meningiomas: an immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study. *Hum Pathol.* 2006;37(4):415-21.

Lusis E, Gutmann DH. Meningioma: an update. *Curr Opin Neurol*. 2004;17(6):687-92.

Lusis E, Watson MA, Chicoine MR, Lyman M, Roerig P, Reifenberger G, et al. Integrative genomic analysis identifies NDRG2 as a candidate tumor suppressor gene frequently inactivated in clinically aggressive meningioma. *Cancer Res*. 2005;65(16):7121-6.

Mahzouni P, Movahedipour M. An immunohistochemical study of HER2 expression in meningioma and its correlation with tumor grade. *Pathol Res Pract*. 2012;208(4):221-4.

Mao DY, Watson JD, Yan PS, Barsyte-Lovejoy D, Khosravi F, Wong W, et al. Analysis of Myc bound loci identified by CpG island arrays shows that Max is essential for Myc-dependent repression. *Current biology*. 2003;13(10):882-6.

Marosi C, Hassler M, Roessler K, Reni M, Sant M, Mazza E, et al. Meningioma. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008.;67(2):153-71.

Matsuno A, Fujimaki T, Sasaki T, Nagashima T, Ide T, Asai A, et al. Clinical and histopathological analysis of proliferative potentials of recurrent and non-recurrent meningiomas. *Acta Neuropathol*. 1996;91(5):504-10.

Mawrin C, Perry A. Pathological classification and molecular genetics of meningiomas. *J Neurooncol*. 2010;99(3):379-91.

Maxwell M, Galanopoulos T, Neville-Golden J, Antoniades HN. Expression of androgen and progesterone receptors in primary human meningiomas. *J Neurosurg*. 1993;78(3):456-62.

McLendon RE, Rosenblum MK, Bigner DD. *Russell & Rubinstein's pathology of tumours of the central nervous system*. 7th ed. London: Hodder Arnold, 2006.

Monleón D, Morales JM, Gonzalez-Segura A, Gonzalez-Darder JM, Gil-Benso R, Cerdá-Nicolás M. Metabolic aggressiveness in benign meningiomas with chromosomal instabilities. *Cancer Res*. 2010;70(21):8426-34.

Moore JP, Hancock DC, Littlewood TD, Evan GI. A sensitive and quantitative enzyme-linked immunosorbence assay for the c-myc and N-myc oncoproteins. *Oncogene Res*. 1987;2(1):65-80.

Morrison H, Sherman LS, Legg J, Banine F, Isacke C, Haipek CA, et al. The NF2 tumor suppressor gene product, merlin, mediates contact inhibition of growth through interactions with CD44. *Genes Dev*. 2001;15(8):968-80.

Morrow KA, Das S, Metge BJ, Ye K, Mulekar MS, Tucker JA, et al. Loss of tumor suppressor Merlin in advanced breast cancer is due to post-translational regulation. *J Biol Chem*. 2011;286(46):40376-85.

Murthy A, Gonzalez-Agosti C, Cordero E, Pinney D, Candia C, et al. *J Biol Chem*. 1998;16;273(3):1273-6.

Nagashima G, Asai JI, Suzuki R, Fujimoto T. Different distribution of c-myc and MIB-1 positive cells in malignant meningiomas with reference to TGFs, PDGF, and PgR expression. *Brain Tumor Pathol*. 2001;18(1):1-5.

Nair SK, Burley SK. X-ray structures of Myc-Max and Mad-Max recognizing DNA: molecular bases of regulation by proto-oncogenic transcription factors. *Cell*. 2003;112(2):193-205.

Okada T, You L, Giancotti FG. Shedding light on Merlin's wizardry. *Trends in cell biology*. 2007;17(5):222-9.

Okuda T, Kondoh H. Identification of new genes Ndr2 and Ndr3 which are related to Ndr1/RTP/Drg1 but show distinct tissue specificity and response to N-myc. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;266(1):208-15.

Ostrom QT, Gittleman H, Farah P, Ondracek A, Chen Y, Wolinsky Y, et al. CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010. *Neurooncol*. 2013;15(suppl 2):ii1-ii56.

Ozaki S, Nishizaki T, Ito H, Sasaki K. Comparative genomic hybridization analysis of genetic alterations associated with malignant progression of meningioma. *J Neurooncol*. 1999;41:167-74.

Paganotto Filho ED. Meningioma no adulto. In: Guimarães JLM, Rosa DD. *Rotinas em oncologia*. Porto Alegre: ArtMed; 2008. p. 468-72.

Paik S, Hazan RFCE, Fisher ER, Sass RE, Fisher B, Redmond C, et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: prognostic significance of erbB-2 protein overexpression in primary breast cancer. *J Clin Oncol*. 1990;8(1):103-12.

Park Y, Shon SK, Kim A, Kim KI, Yang Y, Cho DH, et al. SOCS1 induced by NDRG2 expression negatively regulates STAT3 activation in breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;363(2):361-7.

Pasquier D, Bijmolt S, Veninga T, Rezvoy N, Villa S, Krengli M, et al. Atypical and malignant meningioma: outcome and prognostic factors in 119 irradiated patients. A multicenter, retrospective study of the Rare Cancer Network. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2008;71(5):1388-93.

Pavelin S, Becic K, Forempoher G, Tomic S, Capkun V, Drmic-Hofman I, et al. The Significance of Immunohistochemical Expression of Merlin, Ki-67, and p53 in Meningiomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2014;22(1):46-9.

Perry A, Gutmann DH, Reifenberger G. Molecular pathogenesis of meningiomas. *J Neurooncol*. 2004;70(2):183-202.

Perry A, Scheithauer BW, Stafford SL, Lohse CM, Wollan PC. "Malignancy" in meningiomas: a clinicopathologic study of 116 patients, with grading implications. *Cancer*. 1999;85:2046-56.

Perry A, Stafford SL, Scheithauer BW, Suman VJ, Lohse CM. Meningioma grading: An analysis of histologic parameters. *Am J Surg Pathol*. 1997;21(12):1455-65.

Qu X, Zhai Y, Wei H, Zhang C, Xing G, Yu Y, et al. Characterization and expression of three novel differentiation-related genes belong to the human NDRG gene family. *Mol Cell Biochem*. 2002;229(1-2):35-44.

Ragel BT, Jensen RL. Molecular genetics of meningiomas. *Neurosurg Focus*. 2005;19(5):1-8.

Riemenschneider MJ, Perry A, Reifenberger G. Histological classification and molecular genetics of meningiomas. *Lancet Neurol*. 2006;5(12):1045-54.

Rockhill J, Mrugala M, Chamberlain MC. Intracranial meningiomas: an overview of diagnosis and treatment. *Neurosurg Focus*. 2007;23(4):E1.

Rosai J. *Ackerman's surgical pathology*. 8th edition. Nova York: Mosby-Year Book, 1996.

Rubinstein AB, Loven D, Geier A, Reichenthal E, Gadoth N. Hormone receptors in initially excised versus recurrent intracranial meningiomas. *J Neurosurg*. 1994;81(2):184-7.

Rutledge MH, Narod SA, Dumanski JP, Parry DM, Eldridge R, Wertelecki W, et al. Presymptomatic diagnosis for neurofibromatosis 2 with chromosome 22 markers. *Neurology*. 1993;43(9):1753-60.

Rutten I, Cabay JE, Withofs N, Lemaire C, Aerts J, Baart V, et al. PET/CT of skull base meningiomas using 2-¹⁸F-fluoro-L-tyrosine: initial report. *J Nucl Med*. 2007;48:720-5.

Ryan K, Birnie G. Myc oncogenes: the enigmatic family. *Biochem. J*. 1996;314:713-21.

Saraf S, McCarthy BJ, Villano JL. Update on meningiomas. *Oncologist*. 2011;16(11):1604-13.

Schlehofer B, Blettner M, Wahrendorf J. Association between brain tumors and menopausal status. *J Natl Cancer Inst*. 1992;84(17):1346-9.

Schuz J, Bohler E, Berg G, Schlehofer B, Hettinger I, Schlaefer K, et al. Cellular phones, cordless phones, and the risks of glioma and meningioma (Interphone Study Group, Germany). *Am J Epidemiol*. 2006;163(6):512-20.

Skiriute D, Tamasauskas S, Asmoniene V, Saferis V, Skauminas K, Deltuva V, et al. Tumor grade-related NDRG2 gene expression in primary and recurrent intracranial meningiomas. *J Neurooncol.* 2011;102(2):89-94.

Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science.* 1989;244:707-12.

Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science.* 1987;235:177-82.

Simon M, Bostrom JP, Hartmann C. Molecular genetics of meningiomas: from basic research to potential clinical applications. *Neurosurgery.* 2007;60(5):787-98.

Simpson, D. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1957;20(1):22-39.

Sioka C, Kyritsis AP. Chemotherapy, hormonal therapy, and immunotherapy for recurrent meningiomas. *J Clin Oncol.* 2009;92: (1)1-6.

Swanson PE. Hierarchical: the state of the art in immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol.* 1997;107(2):139-40.

Taylor CR, Shi SR. Techniques of immunohistochemistry: principles, pitfalls, and standardization. In: Dabbs DJ. *Diagnostic immunohistochemistry.* 4th edition. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2013. p. 3-44.

Vennstrom B, Sheiness D, Zabielski J, Bishop JM. Isolation and characterization of c-myc, a cellular homolog of the oncogene (v-myc) of avian myelocytomatosis virus strain 29. *Journal of virology.* 1982;42(3):773-9.

Wang CL, Mei JH, Wang SS, Xu S, Xu LL, Xiong YF. Expression of HER2/neu in meningiomas: an immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization study. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2010;39(3) :156-60.

Wang YK, Gao CF, Yun T, Chen Z, Zhang XW, Lv XX, et al. Assessment of ERBB2 and EGFR gene amplification and protein expression in gastric carcinoma by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization. *Mol Cytogenet.* 2011;4(1):14-20.

Weber RG, Boström J, Wolter M, Baudis M, Collins VP, Reifenberger G, et al. Analysis of genomic alterations in benign, atypical, and anaplastic meningiomas: toward a genetic model of meningioma progression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:14719-24.

Werner M, Chott A, Fabiano A, Battifora H. Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. *Am J Surg Pathol.* 2000;24(7)1016-9.

Westermarck G, Johnson KH, Westermarck P. Staining methods for identification of amyloid in tissue. In: Abelson JN, Simon MI, Wetzel R. *Methods in Enzymology*. (Vol. 309) Amyloid, prions, and other protein aggregates. Los Angeles: Academic Press; 1999. p. 3-25

Wilson CB. Meningiomas: genetics, malignancy, and the role of radiation in induction and treatment. The Richard C. Schneider Lecture. *J Neurosurg*. 1994;81:666-75.

Whittle IR, Smith C, Navoo P, Collie D. Meningiomas. *Lancet*. 2004;363(9420):1535-43.

Wrensch M, Minn Y, Chew T, Bondy M, Berger MS. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. *Neuro-Oncol*. 2002;4(4):278-99.

Wiederhold T, Lee MF, James M, Neujahr R, Smith N, Murthy A, et al. Magicin, a novel cytoskeletal protein associates with the NF2 tumor suppressor merlin and Grb2. *Oncogene*. 2004;23(54):8815-25.

Yang SY, Park CK, Park SH, Kim DG, Chung YS, Jung HW. Atypical and anaplastic meningiomas: prognostic implications of clinicopathological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2008;79(5):574-80.

Yu D, Hung MC. The HER-2/neu gene in human cancers. In: Freireich E, Stass SA. *Molecular Basis of Oncology*. Cambridge: Blackwell Scientific Publications; 1995. p. 131-62.

Zhao H, Zhang J, Lu J, He X, Chen C, Li X, et al. Reduced expression of N-Myc downstream-regulated gene 2 in human thyroid cancer. *BMC cancer*. 2008;8(1):303-11.

Zhou L, Hanemann CO. Merlin, a multi-suppressor from cell membrane to the nucleus. *FEBS Lett*. 2012;586(10):1403-8.

2. Objetivos

Geral

Avaliar a expressão imuno-histoquímica de merlin, NDRG2, ERBB2 e c-MYC em meningiomas, relacionando com idade, gênero, grau tumoral, seguimento e reincidência ou recrescimento.

Específicos

- a) Avaliar a expressão IH da proteína merlin em meningiomas;
- b) Avaliar a expressão IH da proteína NDRG2 em meningiomas;
- c) Avaliar a expressão IH da proteína ERBB2 em meningiomas;
- d) Avaliar a expressão IH da proteína c-MYC em meningiomas;
- e) Relacionar a expressão da proteína merlin com idade, gênero, grau tumoral, seguimento e reincidência ou recrescimento.
- f) Relacionar a expressão da proteína NDRG2 com idade, gênero, grau tumoral, seguimento e reincidência ou recrescimento.
- g) Relacionar a expressão da proteína ERBB2 com idade, gênero, grau tumoral, seguimento e reincidência ou recrescimento.
- h) Relacionar a expressão da proteína c-MYC com idade, gênero, grau tumoral, seguimento e reincidência ou recrescimento.
- i) Relacionar o tipo de ressecção cirurgica com a reincidência ou recrescimento tumoral;
- j) Avaliar o tempo de sobrevida livre de reincidência ou recrescimento;

3. Artigo científico redigido em inglês

Immunohistochemical expression of merlin, NDRG2, ERBB2, and c-MYC in meningiomas: relationship with follow-up, tumor grade, and recurrence.

Bárbara Roberta Ongaratti^{a,b}, Camila Batista de Oliveira Silva^{a,b}, Geraldine Trott^{a,b}, Taiana Haag^{a,b}, Carolina Garcia Soares Leães^{a,b}, Nelson Pires Ferreira^b, Miriam da Costa Oliveira^{a,b}, Júlia Fernanda Semmelmann Pereira-Lima^{a,b}

^a Graduate Program in Pathology, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSPA), Rua Sarmiento Leite, 245 – CEP 90050-170, Porto Alegre, RS, Brazil

^b Neuroendocrinology Center of Santa Casa of Porto Alegre/UFCSPA, Rua Professor Annes Dias, 295 – CEP 90020-090, Porto Alegre, RS, Brazil

Corresponding author:

Bárbara Roberta Ongaratti
Avenida João Antônio da Silveira, 91
CEP 91790-619, Porto Alegre, RS, Brazil
Phone: + 55 51 9414.4809 / 3261.4846
E-mail: b.ongaratti@gmail.com

ABSTRACT

Meningiomas are common tumors of the central nervous system, usually benign, with a high rate of post-surgical recurrence or regrowth. The immunohistochemical expression (IHC) of the proteins merlin, NDRG2, ERBB2, and c-MYC in meningiomas were determined and the findings were related with gender, age, tumor grade, follow-up, and recurrence or regrowth. The study sample comprised 60 patients, 44 of whom women (73.3%) and 16 (26.7%) men, with mean age of 53.2 ± 12.7 years. The tumors were classified as grade I (n=48) and grades II and III (n=12). IHC expression of merlin, NDRG2, ERBB2, and c-MYC was not statistically significantly different regarding gender, age, and meningioma recurrence or regrowth. Merlin was present in 100% of the cases. No statistically significant difference was found between tumor grade and recurrence or regrowth. A statistically significant difference was found between the mean age of patients with grade I (54.83 ± 11.60) and grades II and III (46.58 ± 15.08) meningiomas ($p=0.043$), between strong c-MYC expression and grades II and III ($p<0.001$), and between partial surgical resection and tumor recurrence or regrowth ($p<0.001$). The findings show the lower mean age among grade II and III meningioma patients, the influence of the protein merlin on tumorigenesis, the association of c-MYC with aggressive meningiomas, and partial surgical resection with tumor recurrence or regrowth.

Keywords: meningioma; merlin; NDRG2; ERBB2; c-MYC; immunohistochemistry.

INTRODUCTION

Meningiomas represent about 35% of primary central nervous system (CNS) tumors with a prevalence of 7.44 cases for every one hundred thousand inhabitants [1]. These lesions can occur at any age group, although they are more common between those in their 60s and 70s. Women are more likely to develop these tumors at a 3:1 ratio. The World Health Organization (WHO) classifies meningiomas into three groups: benign (grade I), atypical (grade II), and anaplastic (grade III) [2,3]. Surgery is effective in treating most meningiomas, however, some patients have inoperable, invasive, recurring, or malignant tumors, which often require alternative therapies other than resection [4,5].

Gene NF2 is located in one of the regions commonly involved in meningioma tumorigenesis, the long arm of chromosome 22. The protein merlin, a product of gene NF2, acts as a tumor suppressant and its deficiency or absence is the most commonly found genetic alteration in meningiomas [6]. Gene NDRG2 is involved in cell differentiation and tumor suppression and the partial or complete loss of its expression is observed in several aggressive tumors [7]. Protein ERBB2 is a transmembrane receptor with tyrosine kinase activity and is involved in proliferation, differentiation, migration, adhesion, and apoptosis [8]. The underexpression of ERBB2 is significantly associated with recurrence in meningiomas [9]. Protein c-MYC is involved in growth regulation and cellular metabolism. Mutations in this protein are linked to the development of cancers. Overexpression of c-MYC has been observed in glioblastomas, medulloblastomas, and atypical and anaplastic meningiomas [10-13]. In order to better define the factors that lead to meningioma tumorigenesis, aggressiveness,

and recurrence, the present study investigated the immunohistochemical expression (IHC) of the proteins merlin, NDRG2, ERBB2, and c-MYC, relating the findings to gender, age, tumor grade, follow-up, and recurrence or regrowth.

MATERIALS AND METHODS

The study included tumor tissue samples from patients with anatomopathological diagnosis of meningioma who underwent surgical resection by the same surgeon (NPF) at Hospital São José in the Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre between June 2013 and January 2015. The tumors were classified according to the histological criteria of the WHO regarding their subtypes and grades. The patients' records provided clinical data such as age, gender, type of surgical resection, and rate of survival free of recurrence or regrowth. Recurrence was considered the reappearance of the tumor after total macroscopic resection, while regrowth was considered the enlargement of the tumor after partial macroscopic resection [9]. The study was approved by the Ethics Committee of ISCMPA and UFCSPA under CAAE protocol 12559313.2.0000.5335 and was conducted in compliance with the Declaration of Helsinki. All patients signed an informed consent prior to inclusion in the study and their anonymity was preserved.

For immunohistochemical analysis, tumor tissue samples were fixed in 10% buffered formalin and embedded in paraffin. Blocks were sectioned at 4 μ m, deparaffinized, and rehydrated. Antigen recovery for merlin and NDRG2 was carried out with sodium citrate (pH 6.0), while Tris-EDTA (pH 9.0) was used for ERBB2 and c-MYC. To block endogenous peroxidase we used 5% hydrogen

peroxide in methanol. A 5% skimmed milk in PBS solution was used to prevent nonspecific bindings. The polymer system method (Advance™ HRP Enzyme; Dako, Carpinteria, CA, USA) was applied to detect merlin (anti-NF2/merlin polyclonal antibody, 1:400 dilution; Abcam, Cambridge, MA, USA; catalog no. ab30329), NDRG2 (anti-NDRG2 polyclonal antibody, 1:100 dilution; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA; catalog no. sc-50345), ERBB2 (anti-ERBB2 polyclonal antibody, clone CB11, 1:200 dilution; Novocastra Laboratories, Newcastle Upon Tyne, UK; catalog no. NCL-CB11), and c-MYC (anti-c-MYC polyclonal antibody, clone Y69, 1:30 dilution; Biocare Medical Concord, CA, USA; catalog no. CME415AK). The primary antibody was replaced by saline solution as negative control. Breast cancer was used as positive control for merlin and ERBB2, salivary gland cancer for NDRG2, and small-cell lung carcinoma for c-MYC.

The presence of proteins merlin [14], NDRG2 [15], ERBB2 [16] in the cytoplasm and the presence of c-MYC [17] in the nucleus or perinucleus were considered positive. The slides were assessed by two independent observers using light microscope.

The results were presented as means and standard deviation for the continuous variables and relative frequency and percentage for categorical. The associations were analyzed using the chi-squared test and, when needed, Fisher's exact test. The Kaplan-Meier method was used to estimate the rate of survival free of recurrence or regrowth. The statistical significance adopted was 5%. The analyses were carried out on the software SPSS version 22.0 (IBM Corp. USA).

RESULTS

Of the 60 patients, 44 were women (73.3%) and the mean age was 53.2 ± 12.7 years. The mean age of grades II and III meningioma patients was statistically lower when compared to those with grade I (46.58 ± 15.08 vs. 54.83 ± 11.60 ; $p=0.043$). According to the WHO classification, 48 cases (80%) were grade I and 12 (20%) were grades II and III. The histological subtypes were meningothelial (43.3%), atypical (16.7%), transitional (15%), psammomatous (10%), fibroblastic (3.3%), microcystic (3.3%), secretory (3.3%), angiomatous (1.7%), anaplastic (1.7%), and rhabdoid (1.7%).

All cases were positive for merlin, being in 40% low/moderate and in 60% strong. NDRG2 expression was positive in 93.3% of the cases, weak in 51.6%, moderate in 35%, and strong in 6.7%. ERBB2 expression was positive in 88.3% of the meningiomas studied, weak in 31.7%, moderate in 38.3%, and strong in 18.3%. c-MYC expression was positive in 38.3% of the cases, weak in 11.7%, and strong in 26.6%. See Table 1. A statistically significant association was found between strong expression of c-MYC and tumor grades II and III ($p < 0.001$). No statistically significant differences were found between the tumor grade and expression of merlin, NDRG2, or ERBB2. The expression of merlin, NDRG2, ERBB2, or c-MYC was not statistically different regarding gender, age, recurrence, or regrowth.

Of the 60 patients in the sample, 33 were followed for an average of 22.9 months (6-84 months). Over that time, two deaths were reported during the perioperative period and three deaths unrelated with meningioma. The disease remained stable in 21 patients (63.6%), while seven (21.2%) had recurrence or

regrowth. Of the patients with recurrence or regrowth (five of grade I and two of grades II and III), six had primarily undergone partial surgical resection and one had undergone total surgical resection, two were under clinical follow-up, one underwent radiation therapy, three underwent reintervention, and one underwent three more surgical reinterventions. The tumor grade was not related to tumor recurrence or regrowth. Partial tumor surgical resection was significantly associated with recurrence or regrowth ($p < 0.001$). According to the Kaplan-Meier curve, the rate of survival free of recurrence or regrowth was 95.8% over one year, 75.3% over two years, and 65.8% over three years. See Figure 1.

DISCUSSION

The present study analyzed a representative sample of meningiomas, which are the most common primary tumor of the CNS. Meningiomas are more prevalent in women and its incidence increases with age [1]. The mean age of 53.2 ± 12.7 years and the percentage of 73.3% females in the sample, corresponding to an approximate ratio of 3:1, match previous studies [2, 16, 18]. In our study, when comparing the average age among the degrees, it was observed that patients with grades II and III meningiomas had significantly lower average age, when compared to those of grade I (46.58 ± 15.08 vs. 54.83 ± 11.60 ; $p = 0.043$). Similar age data were reported by Wang et al. [19].

According to the WHO, benign meningiomas correspond to grade I (80-90%), atypical ones are grade II (5-15%), and anaplastic are grade III (1-3%) [20]. Regarding the tumor grades in the present study, 80% were grade I and 20% were grades II or III. These findings match the literature, which reports a higher

prevalence of grade I tumors. Amatya et al. [21] found 74.3% grade I meningiomas and 25.7% grades II and III, which is similar to the reports by Korshunov et al. [22] of 76.8% grade I and 23.2% grades II and III meningiomas.

The protein merlin, a product of gene NF2, plays an important role in the signaling pathways related to cellular growth, division, and communication [23, 24]. There are few studies on IHC merlin expression in meningiomas. Pavelin et al. [25] studied 170 meningiomas and found merlin expression in 42.4% of them, 40% of the grade I tumors, 53% of the grade II, and 54% of the grade III. Buccoliero et al. [6], analyzing grade I meningiomas, reported merlin expression in 100% of the cases, the same value found in the present study. This study did not find any statistically significant difference between IHC merlin expression and meningioma tumor grade. The protein merlin acts as a tumor suppressor and plays an important role in cell adhesion, providing a link between the extracellular medium and the signaling pathways [26]. Its inactivation is involved in the development of several CNS tumors such as schwannomas, ependymomas, and meningiomas. No study in the literature has shown a relationship between merlin expression and meningioma tumor grade, which suggests that merlin is involved in tumorigenesis, but not in meningioma progression [27, 28].

The protein NDRG2 is associated with the inhibition of proliferation, invasion, and metastatic potential [29]. Few studies have been published on NDRG2 in meningiomas. Lusi et al. [30] assessed the IHC expression of NDRG2 in 49 meningiomas (20 grade I and 29 grades II and III). NDRG2 expression was positive in 79% of the grade I meningiomas and in 23% of grades II and III meningiomas, with a statistically significant difference between the groups ($p < 0.001$). Skiriute et al. [31] used the real-time PCR technique to analyze

NDRG2 expression in 35 meningiomas (24 primary and 11 recurring). The recurring meningiomas had lower expression when compared to the primary ones. Regarding the histological grade, expression was lower in grade II meningiomas compared to grade I. The present study found overall IHC expression of NDRG2 in 93.3% of the cases, being 93.7% grade I and 91.7% grades II and III, with no statistically significant difference among the grades. Considering the tumor-suppression role of NDRG2, low levels are found in clinically aggressive tumors such as grades II and III meningiomas [30, 32, 33].

The protein ERBB2 is associated with cellular proliferation, differentiation, migration, adhesion, and apoptosis [8]. Loussouarn et al. [9] examined 35 meningiomas, 17 grade I and 18 grades II and III, and found ERBB2 expression in 28.5% of the cases, 29.4% grade I and 26.6% grades II and III. Among the ones with positive expression, 17.1% had moderate and 11.4% had strong expression. Of the meningiomas that had positive ERBB2 expression, 50% of the cases recurred. In the study by Khamis et al. [34], of the 38 cases, 34.2% had positive ERBB2 expression, 29% for grade I and 57.1% for grades II and III, with no statistically significant difference between ERBB2 expression and tumor grade. Mahzouni and Movahedipour [16] evaluated 72 meningiomas and reported that 43% were positive for ERBB2, being 55% grade I and 38.5% grades II and III. No difference was found among protein expression, tumor grade, or the presence of a primary or recurring tumor. Torp et al. [35], when analyzing meningiomas of different grades, found overall ERBB2 expression in 63.1% of the cases, being 68.7% grade I and 33.3% grade II meningiomas. Chozick et al. [36] analyzed 52 benign and atypical meningiomas and found ERBB2 expression in 100% of the cases. The present study found 88.3% of ERBB2-positive tumors.

Among those, 31.7% had weak, 38.3% had moderate, and 18.3% had strong expression. 87.5% of grade I and 91.6% of grade II and III tumors were ERBB2 positive. ERBB2 overexpression is involved in the increase of properties related to cancer-cell metastasis, invasion, angiogenesis, and survival, which leads to resistance to therapies and poor response to treatment [37].

c-MYC plays a role in cellular proliferation and mutations may lead to neoplasias [12]. Nagashima et al. [12] investigated IHC expression of c-MYC in 20 meningiomas (17 grade I, two grade II, and one grade III) and found that 100% of grades II and III tumors were c-MYC positive while all grade I ones were negative. In the study by Ng and Chen [38], 19.6% of the 51 meningiomas were c-MYC positive, 11.8% of those with grade I, 5.9% of those with grade II, and 1.9% of those with grade III. Durand et al. [17] analyzed c-MYC expression in 26 meningiomas and found that 42.3% were positive, with weak expression in 30.8% and strong expression in 11.5%. The present study found 38.3% of c-MYC-positive tumors, 26.6% with weak expression and 11.7%, strong. Regarding tumor grade, 26.7% of grade I and 11.6% of grades II and III had c-MYC expression. A statistically significant difference was found between strong c-MYC expression and grades II and III ($p < 0.001$). C-MYC expression is related to tumor aggressiveness, to malign and recurring meningiomas, and to poor clinical prognostic [12, 39].

Meningiomas originate in arachnoid cells and may appear at any site in the CNS [40, 41]. Even after surgical resection, recurrence is common and is usually associated to malignancy and subtotal tumor resection [20, 42]. In studies that followed between 15 and 275 patients, the mean follow-up was between 16 and 108 months. Feigl et al. [50] followed 127 meningioma patients for a mean

period of 29.3 months (11 to 61 months), a similar result to that found in the present study, in which the average follow-up time of 33 patients was 22.9 months (range 6-84 months).

Meningioma recurrence or regrowth rates range from 11.7% to 38.8% depending both on the number of patients studied and on the follow-up length [44-46, 48, 49, 51]. In the present study, the rate was 21.2%, similar to the value reported by Violaris et al. [47] of 21.5% for 275 patients were followed for average period of 77 months.

Regarding the histological grade, İldan et al. [51], when analyzing meningiomas of different tumor grades, found a statistically significant difference between grades II and III and tumor recurrence or regrowth. In the studies by Violaris et al. [47] and Nowac et al. [48], tumor grade was not significantly related with recurrence or regrowth, matches the results in the present study.

When meningiomas are resectable and there is no contraindication, total surgical resection is the first-line treatment and recurrence or regrowth rates range from 0% to 38.8% [45, 52]. In partial surgical resection, recurrence or regrowth rates range from 22.3% to 51.3% [47, 53]. In the present study, the meningiomas that underwent partial surgical resection had significantly higher recurrence or regrowth rates, matching the data by Violaris et al. [47], who reported that surgical resection extension was significantly associated to meningioma recurrence or regrowth.

Violaris et al. [47] analyzed grades I, II, and III meningiomas and found a rate of survival free of recurrence or regrowth of 86.3% in three years, 74.3% in five years, and 66.7% in 10 years. Kim et al. [45] assessed 67 grade II meningiomas and found a rate of 67.8% in five years and 28.3% in 10 years. De

Jesús et al. [44] followed 119 patients with meningiomas of different grades and reported a rate of 94% in three years and 81% in five years. Previous study by the research group of the present paper followed 80 patients with meningiomas of different grades and found a rate of 82.7% in three years [54]. In the present follow-up, the rate of survival free of recurrence or regrowth was 95.8% in one year, 75.2% in two years, and 65.8% in three years.

In the present study, malignant meningiomas (grades II and III) are significantly more prevalent in younger patients and the influence of the protein merlin on meningioma tumorigenesis was evidenced through its IHC expression in all cases. A significant association was found between the strong c-MYC expression and grades II and III meningiomas, reinforcing its relationship with more aggressive tumors. Partial surgical resection was significantly related to the higher recurrence or regrowth rates in meningiomas.

ACKNOWLEDGEMENTS

To FAPERGS, to the Pathology Laboratory of UFCSPA, to the Neuroendocrinology Center.

References

- [1] Q. T. Ostrom, H. Gittleman, P. Farah, A. Ondracek, Y. Chen, Y. Wolinsky, et al., CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010, *Neurooncol.* 15 (2013) 1-56.
- [2] N. Colakoglu, E. Demirtas, N. Oktar, N. Yüntem, S. Islekel, N. Ozdamar, Secretory meningiomas, *J. Neurooncol.* 62 (2003) 233-241.
- [3] E. Lusic, D.H. Gutmann, Meningioma: an update, *Curr. Opin. Neurol.* 17 (2004) 687-692.
- [4] C. Sioka, A.P. Kyritsis, Chemotherapy, hormonal therapy, and immunotherapy for recurrent meningiomas, *J. Clin. Oncol.* 92 (2009) 1-6.
- [5] A.A. Moazzam, N. Wagle, G. Zada, Recent developments in chemotherapy for meningiomas: a review, *Neurosurg. Focus.* 35 (2013) 1-10.
- [6] A.M. Buccoliero, F. Castiglione, D.R. Degl'Innocenti, C.F. Gheri, F. Garbini, A. Taddei, et al., NF2 gene expression in sporadic meningiomas: Relation to grades or histotypes real time-PCR study, *Neuropathology* 27 (2007a) 36-42.
- [7] H. Zhao, J. Zhang, J. Lu, X. He, C. Chen, X. Li, et al., Reduced expression of N-Myc downstream-regulated gene 2 in human thyroid cancer, *BMC cancer*, 8 (2008) 303-311.
- [8] Y.K. Wang, C.F. Gao, T. Yun, Z. Chen, X.W. Zhang, X.X. Lv, et al., Assessment of ERBB2 and EGFR gene amplification and protein expression in gastric carcinoma by immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization, *Mol. Cytogenet.* 4 (2011) 14-20.
- [9] D. Loussouarn, J. Brunon, H. Avet-Loiseau, M. Campone, J.F. Mosnier, Prognostic value of HER2 expression in meningiomas: an immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study, *Hum. Pathol.* 37 (2006) 415-421.
- [10] J.W. Herms, F.D. Von Loewenich, J. Behnke, E. Markakis, H.A. Kretzschmar, c-myc oncogene family expression in glioblastoma and survival, *Surg. Neurol.* 51 (1999) 536-542.
- [11] D. Stearns, A. Chaudhry, T.W. Abel, P.C. Burger, C.V. Dang, C.G. Eberhart, c-myc overexpression causes anaplasia in medulloblastoma. *Cancer. Res.* 66 (2006) 673-676.

- [12] G. Nagashima, J.I. Asai, R. Suzuki, T. Fujimoto, Different distribution of c-myc and MIB-1 positive cells in malignant meningiomas with reference to TGFs, PDGF, and PgR expression, *Brain Tumor Pathol.* 18 (2001) 1-5.
- [13] D.M. Miller, S.D. Thomas, A. Islam, D. Muench, K. Sedoris, c-Myc and cancer metabolism, *Clin. Cancer Res.* 18 (2012) 5546-5553.
- [14] A.M. Buccoliero, C.F. Gheri, F. Castiglione, F. Ammannati, P. Gallina, A. Taddei, et al., Merlin expression in secretory meningiomas: evidence of an NF2-independent pathogenesis? Immunohistochemical study, *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 15 (2007b) 353-357.
- [15] W. Li, D. Chu, X. Chu, F. Meng, D. Wei, H. Li, et al., Decreased expression of NDRG2 is related to poor overall survival in patients with glioma, *J. Clin. Neurosci.* 18 (2011) 1534-1537.
- [16] P. Mahzouni, M. Movahedipour, An immunohistochemical study of HER2 expression in meningioma and its correlation with tumor grade, *Pathol. Res. Pract.* 208 (2012) 221-224.
- [17] A. Durand, J. Champier, A. Jouviet, F. Labrousse, J. Honnorat, J. Guyotat, et al., Expression of c-Myc, neurofibromatosis Type 2, somatostatin receptor 2 and erb-B2 in human meningiomas: relation to grades or histotypes, *Clin. Neuropathol.* 27 (2007) 334-345.
- [18] E. Abdelzaher, N.M. El Deeb, A.G. Gowil, A. Yehya, Biological and demographic profile of meningiomas in a cohort of egyptian patients: impact on tumor recurrence, *The Scientific World Journal.* 2013 (2013) 1-8.
- [19] D.J. Wang, Q. Xie, Y. Gong, Y. Mao, Y. Wang, H.X. Cheng, et al., Histopathological classification and location of consecutively operated meningiomas at a single institution in China from 2001 to 2010, *Chin. Med. J.* 126 (2013) 488-493.
- [20] S. Saraf, B.J. McCarthy, J.L. Villano, Update on meningiomas, *Oncologist.* 16 (2011) 1604-1613.
- [21] V.J. Amatya, Y. Takeshima, K. Sugiyama, K. Kurisu, T. Nishisaka, T. Fukuhara, Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21WAF1, and p27KIP1 expression in benign, atypical, and anaplastic meningiomas, *Hum. pathol.* 32 (2001) 970-975.
- [22] A. Korshunov, L. Shishkina, A. Golanov, Immunohistochemical analysis of p16INK4a, p14ARF, p18INK4c, p21CIP1, p27KIP1 and p73 expression in 271

meningiomas correlation with tumor grade and clinical outcome, *Int. J. Cancer*. 104 (2003) 728-734.

[23] R.P. Stokowski, D.R. Cox, Functional analysis of the neurofibromatosis type 2 protein by means of disease-causing point mutations, *Am. J. Hum. Genet.* 66 (2000) 873-891.

[24] V. Ramesh. Merlin and the ERM proteins in Schwann cells, neurons and growth cones, *Nat. Rev. Neurosci.* 5 (2004) 462-470.

[25] S. Pavelin, K. Bečić, G. Forempoher, S. Tomić, V. Capkun, I. Drmić-Hofman, et al., The significance of immunohistochemical expression of merlin, Ki-67, and p53 in meningiomas, *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 22 (2014) 46-49.

[26] H. Morrison, L.S. Sherman, J. Legg, F. Banine, C. Isacke, C.A. Haippek, et al., The NF2 tumor suppressor gene product, merlin, mediates contact inhibition of growth through interactions with CD44, *Genes Dev.* 15 (2001) 968-980.

[27] M.H. Rutledge, J. Sarrazin, S. Rangaratnam, C.M. Phelan, E. Twist, P. Merel, et al., Evidence for the complete inactivation of the NF2 gene in the majority of sporadic meningiomas, *Nat. Genet.* 6 (1994) 180-184.

[28] M.D. Begnami, M. Palau, E.J. Rushing, M. Santi, M. Quezado, Evaluation of NF2 gene deletion in sporadic schwannomas, meningiomas, and ependymomas by chromogenic in situ hybridization, *Hum. Pathol.* 38 (2007) 1345-1350.

[29] V. Melotte, X. Qu, M. Ongenaert, W. Van Criekinge, A.P. de Bruïne, H.S. Baldwin, et al., The N-myc downstream regulated gene (NDRG) family: diverse functions, multiple applications, *FASEB J.* 2010;24(11):4153-4166.

[30] E. Lusic, M.A. Watson, M.R. Chicoine, M. Lyman, P. Roerig, G. Reifenberger, et al., Integrative genomic analysis identifies NDRG2 as a candidate tumor suppressor gene frequently inactivated in clinically aggressive meningioma. *Cancer Res.* 65 (2006) 7121-7126.

[31] D. Skiriute, S. Tamasauskas, V. Asmoniene, V. Saferis, K. Skauminas, V. Deltuva, et al., Tumor grade-related NDRG2 gene expression in primary and recurrent intracranial meningiomas, *J. Neurooncol.* 102 (2011) 89-94.

[32] A. Lorentzen, L.K. Vogel, R.H. Lewinsky, M. Saebo, C.F. Skjelbred, S. Godiksen, et al., Expression of NDRG2 is down-regulated in high-risk adenomas and colorectal carcinoma. *BMC Cancer.* 7 (2007) 192.

[33] M. Tepel, P. Roerig, M. Wolter, D.H. Gutmann, A. Perry, G. Reifenberger, et al., Frequent promoter hypermethylation and transcriptional downregulation of

the NDRG2 gene at 14q11.2 in primary glioblastoma, *Int. J. Cancer*. 123 (2008) 2080-2086.

[34] N.N Khamis, M.F Rashwan, Prognostic role of Her2/neu, progesterone receptor, and MIB-1 expression in meningioma, *E. J. Pathology*. 31 (2011) 104-112.

[35] S.H. Torp, E. Helseth, G. Unsgaard, A. Dalen, C-erbB-2/HER-2 Protein in Human Intracranial Tumours, *Eur. J. Cancer*. 29 (1993) 1604-1606.

[36] B.S. Chozick, D.L. Benzil, E.G. Stopa, J.C. Pezzullo, N.W. Knuckey, M.H. Epstein, et al., Immunohistochemical evaluation of erbB-2 and p53 protein expression in benign and atypical human meningiomas, *J. Neurooncol*. 27 (1996) 117-126.

[37] D. Yu, M.C. Hung, Overexpression of ErbB2 in cancer and ErbB2-targeting strategies, *Oncogene*. 19 (2000) 6115-6121.

[38] H.K. Ng, L. Chen, Apoptosis is associated with atypical or malignant change in meningiomas. An in situ labelling and immunohistochemical study, *Histopathology*. 33 (1998) 64-70.

[39] C.Y. Lin, J. Lovén, P.B. Rahl, R.M. Paranal, C.B. Burge, J.E. Bradner, et al., Transcriptional amplification in tumor cells with elevated c-Myc, *Cell*. 28 (2012) 56-67.

[40] M.P. Buetow, P.C. Buetow, J.G. Smirniotopoulos, Typical, atypical, and misleading features in meningioma, *Radiographics*. 11 (1991) 1087-1106.

[41] D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler, W.K. Cavenee, P.C. Burger, A. Jouvett, et al., The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta. Neuropathol*. 114 (2007) 97-109.

[42] D. Simpson, The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 20 (1957) 22-39.

[43] C. Bria, R.E. Wegner, D.A. Clump, J.A. Vargo, A.H. Mintz, D.E. Heron, et al., Fractionated stereotactic radiosurgery for the treatment of meningiomas, *J. Cancer Res. Ther*. 7 (2011) 52-57.

[44] O. De Jesús, L.N. Sekhar, H.K. Parikh, D.C. Wright, D.P. Wagner, Long-term follow-up of patients with meningiomas involving the cavernous sinus: recurrence, progression, and quality of life, *Neurosurgery*. 39 (1996) 915-919.

- [45] M.S. Kim, K.H. Kim, E.H. Lee, Y.M. Lee, S.H. Lee, H.D. Kim, et al., Results of immunohistochemical staining for cell cycle regulators predict the recurrence of atypical meningiomas, *J. Neurosurg.* 121 (2014) 1189-1200.
- [46] Y.S. Lim, M.K. Kim, B.J. Park, T.S. Kim, Y.J. Lim, Long term clinical outcomes of malignant meningiomas, *Brain Tumor Res. Treat.* 1 (2013) 85-90.
- [47] K. Violaris, V. Katsarides, P. Sakellariou, The Recurrence Rate in Meningiomas: Analysis of Tumor Location, Histological Grading, and Extent of Resection, *Open J Mod Neurosurg.* 2 (2012) 6-10.
- [48] A. Nowak, T. Dziedzic, P. Krych, T. Czernicki, P. Kunert, A. Marchel, Benign versus atypical meningiomas: Risk factors predicting recurrence, *Neurol. Neurochir. Pol.* 49 (2015) 1-10.
- [49] R.C. Chan, G.B. Thompson, Morbidity, mortality, and quality of life following surgery for intracranial meningiomas: A retrospective study in 257 cases, *J. Neurosurg.* 60 (1984) 52-60.
- [50] G.C. Feigl, O. Bundschuh, A. Gharabaghi, M. Samii, G.A. Horstmann, Volume reduction in meningiomas after gamma knife surgery, *J. Neurosurg.* 102 (2005) 189-194.
- [51] F. İldan, T. Erman, A.I. Gocer, M. Tuna, H. Bagdatoglu, E. Çetinalp, et al., Predicting the probability of meningioma recurrence in the preoperative and early postoperative period: a multivariate analysis in the midterm follow-up. *Skull Base*, 17 (2007) 157-170.
- [52] R.O. Mirimanoff, D.E. Dosoretz, R.M. Linggood, R.G. Ojemann, R.L. Martuza, Meningioma analysis of recurrence and progression following neurosurgical resection, *J. Neurosurg.* 62 (1985) 18-24.
- [53] H. Nakaguchi, T. Fujimaki, A. Matsuno, R. Matsuura, A. Asai, I. Suzuki, Postoperative residual tumor growth of meningioma can be predicted by MIB-1 immunohistochemistry, *Cancer.* 85 (1999) 2249-2254.
- [54] G. Trott, J.F.S. Pereira-Lima, C.G.S. Leães, N.P. Ferreira, L.M. Barbosa-Coutinho, M.C. Oliveira, Abundant immunohistochemical expression of dopamine D₂ receptor and p53 protein in meningiomas: follow-up, relation to gender, age, tumor grade, and recurrence, *Braz. J. Med. Biol. Res. Epub* 03 (2015).

Table 1. Association between IHC expression of merlin, NDRG2, ERBB2, c-MYC, and tumor grade

	IH expression	Grade I n (%)	Grades II and III n (%)	p
merlin				
	absent	0 (0%)	0 (0%)	0.329
	weak/moderate	21 (35%)	3 (5%)	
	strong	27 (45%)	9 (15%)	
NDRG2				
	absent	3 (5%)	1 (1.7%)	0.224
	weak	27 (45%)	4 (6.7%)	
	moderate	14 (23.3%)	7 (11.7%)	
	strong	4 (6.6%)	0 (0%)	
ERBB2				
	absent	6 (10%)	1 (1.7%)	0.138
	weak	16 (26.7%)	3 (5%)	
	moderate	20 (33%)	3 (5%)	
	strong	6 (10%)	5 (8.3%)	
c-MYC				
	absent	32 (53.3%)	5 (8.3%)	<0.001
	weak	15 (25%)	1 (1.7%)	
	strong	1 (1.7%)	6 (10%)*	

*significant difference

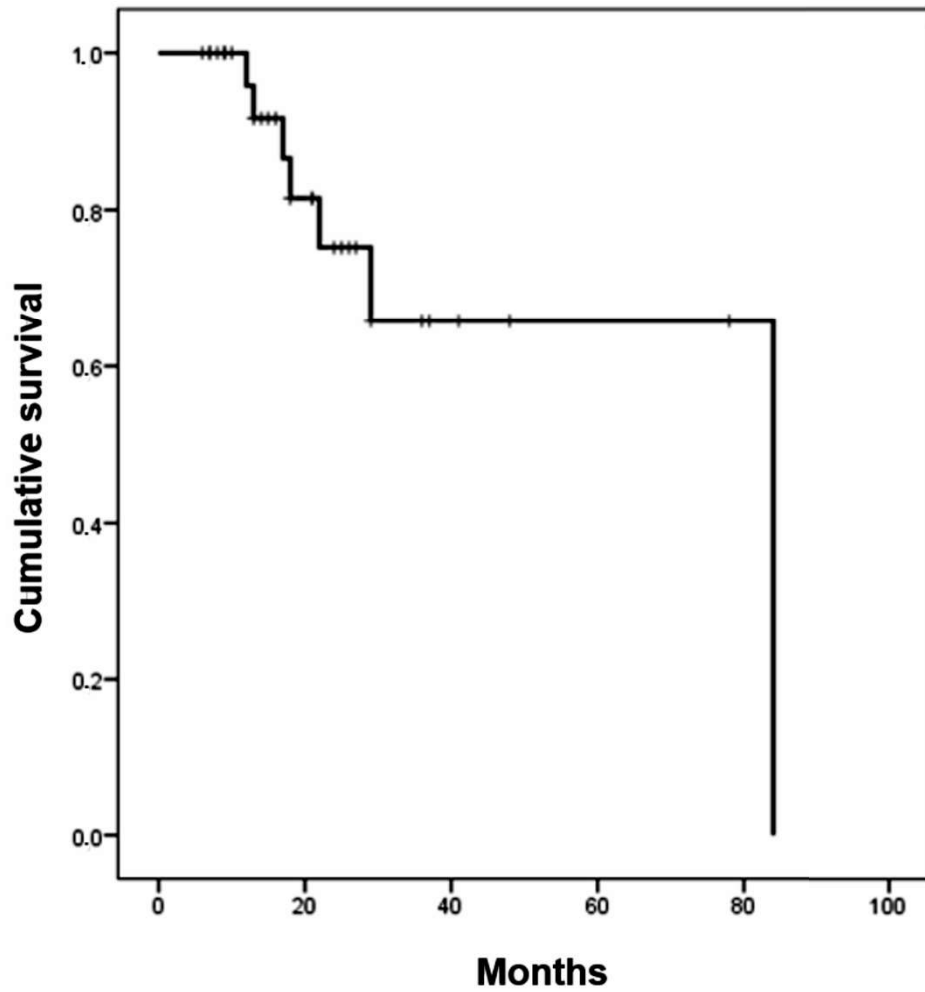


Figure 1. Kaplan-Meier curve showing the rate of survival free of recurrence or regrowth in meningiomas analyzed

4. Considerações finais

Em relação à expressão IH, todos os meningiomas apresentaram positividade para Merlin e a maioria apresentou positividade para NDRG2 e ERBB2, sem diferença entre a expressão dessas proteínas e a idade, gênero, grau tumoral e reincidência ou recrescimento. Encontrou-se relação significativa entre a expressão de c-MYC nos meningiomas de graus II e III. Meningiomas com características de malignidade são mais frequentes em pacientes mais jovens e a ressecção cirúrgica parcial mostrou-se relacionada à maior reincidência ou recrescimento dos meningiomas.

Estudos com tempo de seguimento mais longo, com a utilização de técnicas complementares são necessários para ampliar o conhecimento em relação à biologia da tumorigênese, agressividade e reincidência dos meningiomas, visando melhorar o acompanhamento e a abordagem terapêutica desses tumores.

5. Anexos

5.1. Considerações éticas

O projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre conforme parecer substanciado nº 12559313.2.0000.5335 e está de acordo com as normas brasileiras estabelecidas para pesquisas com seres humanos. Foram respeitados os requisitos quanto à confidencialidade das informações, de acordo com determinações da Resolução 466/12, mantendo-se o compromisso ético e legal do anonimato e sigilo dos dados dos prontuários. Todos os pacientes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 12559313.2.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 279.327

Data da Relatoria: 07/05/2013

Apresentação do Projeto:

Estudo transversal, prospectivo a ser realizado em 120 pacientes internados no Hospital São José da Santa Casa de Porto Alegre, que possuem diagnóstico de meningiomas e serão submetidos a procedimento cirúrgico para excisão do tumor e após realizar a análise do mesmo para avaliar o perfil genético.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O pesquisador refere:

- Riscos: Não será feito nenhum procedimento adicional além do convencional para a retirada do tumor, não sendo esperados riscos médicos adicionais ao procedimento.
- Benefícios: Os dados encontrados no estudo contribuirão para um melhor entendimento da doença, e assim por consequência, um melhor direcionamento do tratamento.

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 90.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: 5132-1485

Fax: 5132-1485

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 279.327

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Critério de Inclusão: Serão incluídos no estudo pacientes maiores de 18 anos internados no Hospital São José da Santa da Casa de Porto Alegre, com diagnóstico de meningioma submetidos à excisão cirúrgica do tumor durante os anos de 2013 a 2014.

Critério de Exclusão: Pacientes com diagnóstico anátomo-patológico que não contemple o critério de inclusão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Estão adequados os seguintes documentos anexados à Plataforma Brasil: Formulário de inscrição de projeto de pesquisa; Declaração de confidencialidade do sujeito no estudo; Termo de compromisso para utilização de dados e prontuários; Declaração de uso de dados e materiais; Declaração de isenção de ônus à Instituição; Cronograma; Folha de rosto para pesquisa envolvendo seres humanos;

Recomendações:

Não aplicável.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não aplicável.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Após avaliação do protocolo acima descrito, o presente comitê não encontrou óbices quanto ao desenvolvimento do estudo em nossa Instituição e poderá ser iniciado a partir da data deste parecer.

Obs.: 1 - O pesquisador responsável deve encaminhar à este CEP, Relatórios de Andamento dos Projetos desenvolvidos na ISCMPA. Relatórios Parciais (pesquisas com duração superior à 6 meses), Relatórios Finais (ao término da pesquisa) e os Resultados Obtidos (cópia da publicação).

2 - Para o início do projeto de pesquisa, o investigador deverá apresentar a chefia do serviço (onde será realizada a pesquisa), o Parecer Consubstanciado de aprovação do protocolo pelo Comitê de

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: 5132-1485 **Fax:** 5132-1485 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 279.327

Ética.

PORTO ALEGRE, 22 de Maio de 2013

Assinador por:
Claudio Teloken
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias,285 Hosp.Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: 5132-1485 **Fax:** 5132-1485 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 12559313.2.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 311.799

Data da Relatoria: 20/06/2013

Apresentação do Projeto:

A pesquisa se caracteriza por um estudo transversal prospectivo com o objetivo de avaliar a expressão de genes associados com a tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos para os pacientes participantes da pesquisa.

Os benefícios serão gerados a partir de uma maior produção de conhecimento científico sobre a doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Toda a pesquisa que implique na produção, avanço e conseqüente aplicação de conhecimentos para a melhoria das condições de saúde e vida das populações é extremamente válida.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação do projeto de pesquisa.

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (513)303 -8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 311.799

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pelo deferimento.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o Parecer do Relator.

PORTO ALEGRE, 21 de Junho de 2013

Assinador por:
José Geraldo Vernet Taborda
(Coordenador)

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (513)303 -8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 12559313.2.3001.5345

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 599.380-0

Data da Relatoria: 20/06/2013

Apresentação do Projeto:

A pesquisa se caracteriza por um estudo transversal prospectivo com o objetivo de avaliar a expressão de genes associados com a tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos para os pacientes participantes da pesquisa.

Os benefícios serão gerados a partir de uma maior produção de conhecimento científico sobre a doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Toda a pesquisa que implique na produção, avanço e conseqüente aplicação de conhecimentos para a melhoria das condições de saúde e vida das populações é extremamente válida.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Recomendações:

Recomenda-se a aprovação do projeto de pesquisa.

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (513)303 -8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 599.380-0

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pelo deferimento.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o Parecer do Relator.

PORTO ALEGRE, 11 de Abril de 2014

Assinador por:

**José Geraldo Vernet Taborda
(Coordenador)**

Este parecer reemitido substitui o parecer número 599380 gerado na data 21/06/2013 18:57:26, onde o número CAAE foi alterado de 12559313.2.0000.5335 para 12559313.2.3001.5345.

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (513)303 -8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 12559313.2.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 487.691

Data da Relatoria: 11/12/2013

Apresentação do Projeto:

Descrita e aprovada conforme parecer consubstanciado 279.327 emitido em 22/05/2013.

Objetivo da Pesquisa:

De acordo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto aprovado pelo CEP e em andamento na Instituição.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo.

Recomendações:

Próximo relatório deverá ser submetido ao CEP em 09/06/2014.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Relatório semestral de andamento está de acordo.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 90.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 487.691

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Após a avaliação do relatório parcial de andamento apresentado pelo Pesquisador, o presente Comitê não encontrou óbices quanto a continuação do desenvolvimento do estudo em nossa Instituição.

PORTO ALEGRE, 11 de Dezembro de 2013

Assinador por:
Claudio Teloken
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias,285 Hosp.Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 12559313.2.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 512.704

Data da Relatoria: 16/01/2014

Apresentação do Projeto:

A pesquisa se caracteriza por um estudo transversal prospectivo com o objetivo de avaliar a expressão de genes associados com a tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos para os pacientes participantes da pesquisa.

Os benefícios serão gerados a partir de uma maior produção de conhecimentos científico sobre a doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Descrita e aprovada conforme parecer consubstanciado 279.327 emitido em 22.05.2013.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (513)303 -8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 512.704

Próximo relatório deverá ser submetido ao CEP em 09.06.2014.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Relatório semestral de andamento aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Término do Projeto dez/2014.

De acordo com o Parecer do Colegiado.

PORTO ALEGRE, 21 de Janeiro de 2014

Assinador por:
José Geraldo Vernet Taborda
(Coordenador)

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (513)303 -8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 12559313.2.3001.5345

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 599.382-0

Data da Relatoria: 16/01/2014

Apresentação do Projeto:

A pesquisa se caracteriza por um estudo transversal prospectivo com o objetivo de avaliar a expressão de genes associados com a tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos para os pacientes participantes da pesquisa.

Os benefícios serão gerados a partir de uma maior produção de conhecimentos científico sobre a doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Descrita e aprovada conforme parecer consubstanciado 279.327 emitido em 22.05.2013.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (513)303 -8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE



Continuação do Parecer: 599.382-0

Próximo relatório deverá ser submetido ao CEP em 09.06.2014.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Relatório semestral de andamento aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Término do Projeto dez/2014.

De acordo com o Parecer do Colegiado.

PORTO ALEGRE, 11 de Abril de 2014

Assinador por:
José Geraldo Vernet Taborda
(Coordenador)

Este parecer reemitido substitui o parecer número 599382 gerado na data 21/01/2014 13:23:30, onde o número CAAE foi alterado de 12559313.2.0000.5335 para 12559313.2.3001.5345.

Endereço: Rua Sarmiento Leite ,245

Bairro:

CEP: 90.050-170

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (513)303 -8804

E-mail: cep@ufcspa.edu.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 12559313.2.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 606.348

Data da Relatoria: 07/04/2014

Apresentação do Projeto:

De acordo com o parecer consubstanciado de aprovação.

Objetivo da Pesquisa:

De acordo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa aprovada e em andamento, relatório parcial de andamento em dia. Encaminhado o cronograma do estudo atualizado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 90.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 606.348

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Após avaliação das alterações efetuadas no estudo acima descrito, o presente Comitê não encontrou óbices quanto à implementação das mesmas.

Cronograma de execução atualizado 2014/2015.

PORTO ALEGRE, 07 de Abril de 2014

Assinador por:
Claudio Teloken
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 12559313.2.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa:

Data do Envio: 21/09/2014

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 803.297

Data da Relatoria: 23/09/2014

Apresentação da Notificação:

Relatório parcial de andamento do projeto emitido em 21 de setembro de 2014.

Objetivo da Notificação:

Notificar este CEP sobre o andamento do presente projeto na instituição.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo.

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 90.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 803.297

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Relatório emitido no modelo CEP, preenchido e assinado pelo pesquisador responsável.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Próximo relatório deveser submetido em 21/03/2015.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Após a avaliação do relatório parcial de andamento apresentado pelo Pesquisador, o presente Comitê não encontrou óbices quanto a continuação do desenvolvimento do estudo em nossa Instituição.

PORTO ALEGRE, 24 de Setembro de 2014

Assinado por:
Claudio Teloken
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias,285 Hosp.Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Expressão de genes associados com tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Pesquisador: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 12559313.2.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DA NOTIFICAÇÃO

Tipo de Notificação: Envio de Relatório Parcial

Detalhe:

Justificativa: Favor enviar à instituição co-participante (UFCSPA).

Data do Envio: 24/09/2014

Situação da Notificação: Parecer Consubstanciado Emitido

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 825.965

Data da Relatoria: 25/09/2014

Apresentação da Notificação:

Relatório parcial de andamento do projeto para notificar o CEP da instituição coparticipante.

Objetivo da Notificação:

Notificar o CEP co-participante sobre o andamento do presente projeto na instituição.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo.

Comentários e Considerações sobre a Notificação:

Relatório emitido, preenchido e assinado pelo pesquisador responsável.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo.

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 90.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: (51)3214-8571

Fax: (51)3214-8571

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 825.965

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

De acordo.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

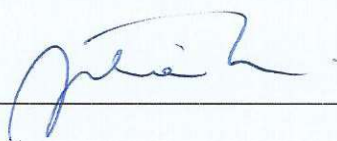
Após a avaliação do relatório parcial de andamento apresentado pelo Pesquisador, o presente Comitê não encontrou óbices quanto a continuação do desenvolvimento do estudo em nossa Instituição

PORTO ALEGRE, 09 de Outubro de 2014

Assinado por:
Claudio Teloken
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias,285 Hosp.Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3214-8571 **Fax:** (51)3214-8571 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

Estamos encaminhando este relatório parcial do projeto "Expressão de genes associados à tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas" para conhecimento do comitê de ética da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.



Prof. Dra. Júlia Pereira Lima
CRM 16739
Endocrinologia - UFCSPA

Assinatura do Pesquisador responsável.

RELATÓRIO DE ANDAMENTO DOS PROJETOS EM DESENVOLVIMENTO E EM DESENVOLVIMENTO NA IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE PORTO ALEGRE

Projeto de pesquisa intitulado: Expressão de genes associados à tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Pesquisador responsável: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Considerações:

Nº de pacientes incluídos no estudo até a presente data: 23 pacientes

Nº de pacientes que retiraram o Consentimento: não se aplica

Nº de pacientes ainda em tratamento: não se aplica

Nº de pacientes que saíram do estudo (por algum motivo): não se aplica

Nº de óbitos: não se aplica

Nº de pacientes em acompanhamento (follow up): não se aplica

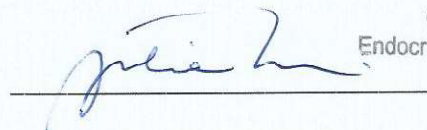
Nº de emendas: não se aplica

Nº de eventos adversos sérios: não se aplica

Sendo o que tínhamos para o momento, colocamo-nos a disposição para quaisquer esclarecimentos.

Porto Alegre, 12 de dezembro de 2013

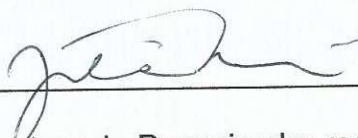
Profa. Dra. Júlia Pereira Lima
CRM 16739
Endocrinologia - UFCSPA



Investigador Principal

Estamos encaminhando este relatório parcial do projeto "Expressão de genes associados à tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas" para conhecimento do comitê de ética da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

Profa. Dra. Júlia Pereira Lima
CRM 16739
Endocrinologia - UFCSPA



Assinatura do Pesquisador responsável.

RELATÓRIO DE ANDAMENTO DOS PROJETOS EM DESENVOLVIMENTO E EM DESENVOLVIMENTO NA IRMANDADE DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE PORTO ALEGRE

Projeto de pesquisa intitulado: Expressão de genes associados à tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Pesquisador responsável: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Considerações:

Nº de pacientes incluídos no estudo até a presente data: 45 pacientes

Nº de pacientes que retiraram o Consentimento: não se aplica

Nº de pacientes ainda em tratamento: não se aplica

Nº de pacientes que saíram do estudo (por algum motivo): não se aplica

Nº de óbitos: não se aplica

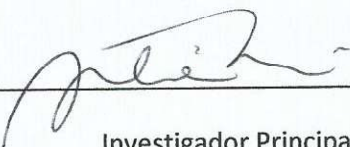
Nº de pacientes em acompanhamento (follow up): não se aplica

Nº de emendas: não se aplica

Nº de eventos adversos sérios: não se aplica

Sendo o que tínhamos para o momento, colocamo-nos a disposição para quaisquer esclarecimentos.

Porto Alegre, 22 de setembro de 2014.



Investigador Principal

Profa. Dra. Júlia Pereira Lima
CRM 16739
Endocrinologia - UFCSPA



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
RELATÓRIO DE PESQUISA**

Pesquisador Responsável: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Título do Projeto: Expressão de genes associados à tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas.

Número do registro na Plataforma Brasil – CAAE: 311.799

Data de Aprovação: 20/06/2013

Relatório semestral **Data prevista para o término** ____/____/____

Relatório final

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Obs. Após o preenchimento e assinatura do Pesquisador Responsável enviar ao CEP através da Plataforma Brasil – Notificação.

Para uso do CEP

Observação:



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

RELACIONAR ABAIXO AS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS ATÉ O MOMENTO

O projeto encontra-se no processo de coleta e processamento de amostras. Os materiais necessários para execução das técnicas já foram solicitados às agências de fomento.

RELACIONAR OS RESULTADOS ENCONTRADOS ATÉ O MOMENTO

Até o presente momento temos confirmados através de anátomo-patológico 23 casos de meningiomas.

Data deste Relatório: 05/12/2013

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Obs. Após o preenchimento e assinatura do Pesquisador Responsável enviar ao CEP através da Plataforma Brasil – Notificação.

Para uso do CEP

Observação:



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
RELATÓRIO DE PESQUISA**

Pesquisador Responsável: Julia Fernanda Semmelmann Pereira Lima

Título do Projeto: Expressão de genes associados à tumorigênese, agressividade e reincidência de meningiomas

Número do registro - CAAE: 12559313.2.0000.5335

Data de Aprovação: 20/06/2013

Relatório semestral **Data prevista para o término 07/2015**

Relatório final

SITUAÇÃO ATUAL DO PROJETO

Em execução Concluído data / /

Não iniciado Interrompido

Motivo da alteração do cronograma, caso tenha ocorrido:

Houve alguma alteração na execução do projeto que altere seu objetivo?

Não Sim, qual?

Houve algum fato que durante a execução não tenha sido previsto no projeto e que possa ter comprometido de alguma forma as questões éticas?

Não Sim, qual?



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UFCSPA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

RELACIONAR ABAIXO AS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS ATÉ O MOMENTO

O projeto encontra-se em fase de execução.

Quanto à técnica de PCR em tempo real, todas as amostras tiveram seu RNA extraído, aplicou-se a técnica da DNase e a técnica de cDNA, os primers foram testados e a concentração foi definida.

Na técnica de Imunohistoquímica, já foram cortados os blocos e feitas as lâminas. A concentração dos anticorpos foi definida bem como os controles positivos, já estamos em fase de execução da técnica nas amostras.

RELACIONAR OS RESULTADOS ENCONTRADOS ATÉ O MOMENTO

Das 45 amostras de meningiomas 62,2% pertencem a mulheres e a faixa etária tem média de 53 anos com desvio padrão de 12 anos. 86,9% dos meningiomas é de grau I, 10,8% de grau II e 2,1 de grau III.

Data deste Relatório: 18/09/2014

Assinatura do Pesquisador Responsável:

Profa. Dra. Júlia Pereira Lima
CRM 16739
Endocrinologia - UFCSPA

Obs. Após o preenchimento e assinatura do Pesquisador Responsável enviar ao CEP através da Plataforma Brasil – Notificação.

Para uso do CEP

Observação:

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TÍTULO DO PROJETO: EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS COM TUMORIGÊNESE, AGRESSIVIDADE E REINCIDÊNCIA DE MENINGIOMAS.

(Nome completo do PACIENTE – preencher em letra de forma)

RG/Estado

Os meningiomas são tumores benignos das membranas que recobrem o cérebro (meninges). Este estudo tem como objetivo avaliar genes relacionados com a tumorigênese, agressividade e reincidência desses tumores.

Você está sendo convidado a participar do estudo sobre a associação desses genes em meningiomas.

Para tanto, o material retirado após a cirurgia, o tumor, será encaminhado ao laboratório de patologia do hospital para identificação do tipo de tumor (procedimento de rotina), sendo uma porção deste material destinada ao laboratório de patologia e biologia molecular da Universidade Federal de Ciências da Saúde (para o estudo atual).

Os benefícios esperados com os resultados desta pesquisa são para o desenvolvimento da ciência e o maior conhecimento desses tumores. Se for detectado algum marcador específico, achado abrirá nova frente de estudos na área.

Não será feito nenhum procedimento adicional além do convencional para a retirada do tumor, não sendo esperados riscos médicos adicionais ao procedimento.

Ressaltamos que a concordância ou não em participar desse estudo não implica em qualquer modificação no tratamento médico já estabelecido.

É garantido ao paciente o recebimento de resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca do estudo.

Caso existirem novas perguntas sobre este estudo, sobre os direitos como participante do mesmo ou prejuízo de qualquer natureza pela participação, deve ser contatada a Dra *Julia Lima* (investigador principal) pelo telefone (51) 3303.8779 ou o Comitê de Ética em Pesquisa da ISMCPA (51) 3214-8571 ou e-mail: cep@santacasa.iche.br ou o Comitê de Ética em Pesquisa da UFCSPA (51) 3303-8804 ou e-mail cep-ceua@ufcspa.edu.br

É dada à liberdade de retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do Estudo, sem que isso traga prejuízo.

É dada a garantia de não ser identificado e de ser mantido o caráter confidencial de informação em relação à privacidade do paciente. É assumido o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade em continuar participando.

É garantido que todos os gastos de realização de exames do protocolo da pesquisa serão absorvidos pelo orçamento do estudo e que você não receberá nenhuma compensação financeira por participar.

Estou ciente de que não serão violados os segredos profissionais obtidos pelo exame clínico e subsidiário aos quais me submeterei. Assino o presente documento, em duas vias de igual teor, ficando uma em minha posse, ciente de todos os benefícios e riscos descritos acima.

A minha assinatura neste *Consentimento Livre e Esclarecido* dará autorização ao coordenador do estudo de utilizar o material e dados obtidos quando se fizer necessário, inclusive para futuros estudos, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando minha privacidade.

Porto Alegre, _____, _____, _____.
(dia) (mês) (ano)

Assinatura do Voluntário: _____

Assinatura do(s) Médico(s) Responsável pelo projeto: _____

Nome da médica responsável: Dra Julia Lima

CEP/UFCSA
TC LE
APROVADO
20106 113

5.2. Trabalhos apresentados

IX Jornada do Programa de Pós-graduação em Patologia da UFCSPA: Câncer, Perspectivas em Pesquisa e Aplicações Clínicas: 22/08 a 24/08 de 2013. Porto Alegre/RS.

-Poster: “Expressão de genes associados à tumorigênese, agressividade e reincidência em meningiomas.” Bárbara Roberta Ongaratti; Camila Batista de Oliveira Silva; Geraldine Trott; Marícia Fantinel D’Ávila; Carolina Garcia Soares Leães; Nelson Pires Ferreira; Miriam da Costa Oliveira; Júlia Fernanda Semmelmann Pereira-Lima.

VII Congresso Internacional de Bioanálises, X Congresso Sulbrasileiro de Biomedicina e XIV Semana Gaúcha de Biomedicina: 10/09 a 13/09 de 2014. Novo Hamburgo/RS.

- Poster: “Avaliação epidemiológica de uma série de casos de tumores primários de sistema nervoso central.” Bárbara Roberta Ongaratti; Camila Batista de Oliveira Silva; Geraldine Trott; Taiana Haag; Carolina Garcia Soares Leães; Nelson Pires Ferreira; Miriam da Costa Oliveira; Júlia Fernanda Semmelmann Pereira-Lima.

III Semana Acadêmica da UFCSPA/Semana Nacional de Ciência e Tecnologia 2014: 22/09 a 25/09 de 2014. Porto Alegre/RS.

- Poster e Apresentação oral: “Expressão de genes associados à tumorigênese, agressividade e reincidência em meningiomas.” Maria Carolina da Rosa Boeira, Bárbara Roberta Ongaratti, Fernanda Mari Fagundes Fujihara, Mariana Gouvea Pinheiro, Matheus Vanzin Fernandes, Tayná Ramos Athayde, Carolina Garcia

Soares Leães; Júlia Fernanda Semmelmann Pereira-Lima, Miriam da Costa
Oliveira.



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

CERTIFICADO

Certificamos que

BÁRBARA ROBERTA ONGARATTI

participou do evento de extensão "IX JORNADA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA DA UFCSPA: "CÂNCER - PERSPECTIVAS EM PESQUISA E APLICAÇÕES CLÍNICAS" E II JORNADA DO SERVIÇO DE GENÉTICA CLÍNICA DA UFCSPA", promovido pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre e organizado pelo Programa de Pós-Graduação de Patologia da UFCSPA, no período de 22 a 24 de agosto de 2013, na Cidade de Porto Alegre-RS, na qualidade de **APRESENTADOR(A) DO PÔSTER VIRTUAL DO TRABALHO** intitulado(a) "EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS À TUMORIGÊNESE, AGRESSIVIDADE E REINCIDÊNCIA DE MENINGIOMAS" de autoria de: BÁRBARA ROBERTA ONGARATTI; CAMILA BATISTA DE OLIVEIRA SILVA; GERALDINE TROTT; MARÍCIA FANTINEL D'ÁVILA; CAROLINA GARCIA SOARES LEÃES; NELSON PIRES FERREIRA; MIRIAM DA COSTA OLIVEIRA; JÚLIA FERNANDA SEMMELMANN PEREIRA-LIMA, tendo como orientador(a)(es): JÚLIA FERNANDA SEMMELMANN PEREIRA-LIMA.



Deisi Cristina G. de F. Vidon
Deisi Cristina Gollo Marques Vidon
Pró-Reitora de Extensão e Assuntos
Comunitários da UFCSPA

Porto Alegre, 12 de novembro de 2013.

Giorgio Adriano Paskulin
Giorgio Adriano Paskulin
Coordenador do evento





VII CONGRESSO INTERNACIONAL de
BIOANÁLISES & **X** CONGRESSO SUL-BRASILEIRO
& XIV SEMANA GAÚCHA de
BIOMEDICINA

10 a 13 de SETEMBRO de 2014 - Feevale - Câmpus II

Associação Pró-Ensino Superior em Novo Hamburgo - ASPEUR
Universidade Feevale

VII CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIOANÁLISES,
X CONGRESSO SUL-BRASILEIRO DE BIOMEDICINA
& XIV SEMANA GAÚCHA DE BIOMEDICINA

ANAIS



Novo Hamburgo - Rio Grande do Sul
2014



AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE UMA SÉRIE DE CASOS DE TUMORES PRIMÁRIOS DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Bárbara Roberta Ongaratti¹; Camila Batista de Oliveira Silva¹; Geraldine Trott²; Taiana Haag³; Carolina Garcia Soares Leães^{4,5}; Júlia Fernanda Semmelmann Pereira-Lima^{4,5}; Nelson Pires Ferreira⁵; Miriam da Costa Oliveira^{4,5}

Introdução: Os tumores primários do sistema nervoso central (SNC) são neoplasias originadas de diferentes tipos celulares, incluindo o parênquima cerebral, as meninges e os nervos cranianos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) propõe uma classificação a estes tumores, que vai de grau I até o grau IV, sendo feita a partir da histologia e padrão arquitetural das lesões primárias. Além deste tipo de avaliação, técnicas de imunohistoquímica, citogenética, e biologia molecular também são utilizadas para subclassificar esses tumores. **Objetivos:** Analisar aspectos epidemiológicos de uma série cirúrgica de 145 tumores primários do SNC. **Metodologia:** Trata-se de um estudo observacional transversal, onde foram avaliados 145 casos consecutivos operados por um mesmo cirurgião de tumores primários de SNC, no Hospital São José da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre entre dezembro de 2010 e agosto de 2014. Avaliamos sexo, idade e diagnóstico anátomo-patológico. **Resultados:** A idade média foi de 53 anos (DP 14,10) e 93 casos (64,1%) foram do sexo feminino. Observou-se 26 tipos de tumores primários do SNC, sendo que os mais frequentes foram os meningiomas (69 casos, 47,6%), dentre os quais predominou os de grau I (62 casos, 42,7%), seguido por gliomas de grau IV (36 casos, 24,8%) e schwannomas (14 casos, 9,7%). **Conclusões:** A faixa etária da amostra é similar a de outros estudos. O gênero mostra concordância com análises estatísticas realizadas em séries de tumores de SNC. A predominância de meningiomas de grau I e gliomas de grau IV corrobora com os achados na literatura.

Palavras-chave: Epidemiologia. Tumores primários. Sistema nervoso central.

¹Aluna de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

² Aluna de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

³ Pós-doutoranda CAPES/PNPDUFCSPA.

⁴ Docente do Programa de Pós-Graduação em Patologia da UFCSPA.

⁵ Centro de Neuroendocrinologia da Santa Casa de Porto Alegre/UFCSPA.

Concedemos ao trabalho

AVALIAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE UMA SÉRIE DE CASOS DE TUMORES PRIMÁRIOS DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL,
de autoria de

BÁRBARA ROBERTA ONGARATTI; CAMILA BATISTA DE OLIVEIRA SILVA; GERALDINE TROTT; TAIANA HAAG; CAROLINA GARCIA SOARES LEÃES; NELSON PIRES FERREIRA,

e orientado por

MIRIAM DA COSTA OLIVEIRA; JÚLIA FERNANDA SEMMELMANN PEREIRA-LIMA,
este certificado de apresentação de trabalho no evento

**VII CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIOANÁLISES, X
CONGRESSO SULBRASILEIRO DE BIOMEDICINA E XIV SEMANA
GAÚCHA DE BIOMEDICINA,**

realizado no período de 10 a 13 de setembro de 2014.

Âmbito: Internacional

Promoção: UNIVERSIDADE FEEVALE – Instituto de Ciências da Saúde – Curso de Biomedicina
Organização: Pró-reitoria de Extensão e Assuntos Comunitários – PROACOM

Novo Hamburgo, 12 de setembro de 2014.



Prof. Dra. GLADIS LUISA BAPTISTA
Pró-reitora de Extensão e Assuntos Comunitários



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho intitulado "EXPRESSÃO DE GENES ASSOCIADOS COM TUMORIGÊNESE,

AGRESSIVIDADE E REINCIDÊNCIA DE MENINGIOMAS" de autoria de MARIA CAROLINA DA ROSA

BOEIRA, BÁRBARA ROBERTA ONGARATTI, FERNANDA MARI FAGUNDES FUJIHARA, MARIANA GOUVEA

PINHEIRO, MATHEUS VANZIN FERNANDES, TAINÁ RAMOS ATHAYDE, CAROLINA GARCIA SOARES LEÃES, JULIA

FERNANDA SEMMELIMAN PEREIRA LIMA, MIRIAM DA COSTA OLIVEIRA, foi apresentado por MARIA

CAROLINA DA ROSA BOEIRA na III Semana Acadêmica da Universidade Federal de Ciências da

Saúde de Porto Alegre, ocorrida de 22 a 25 de setembro de 2014 na cidade de Porto Alegre

- RS, entre os trabalhos da categoria **Trabalhos Relacionados à Pesquisa**.



Deisi Cristina Gollo Marques Vidor
Pro-Reitora de Extensão da UFCSPA



Maria Terezinha Antunes
Pro-Reitora de Graduação da UFCSPA



Rodrigo Della Míea Pentz
Pro-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação da UFCSPA

5.3. Trabalhos publicados

Artigo científico publicado na revista Arquivos Brasileiros de Neurocirurgia.

Epidemiologia de uma série de tumores primários do sistema nervoso central.

Graziella Alebrant Mendes, Bárbara Roberta Ongaratti, Júlia Fernanda

Semmelmann Pereira-Lima. Arq Bras Neurocir 33(4): 279-83, 2014.

Epidemiologia de uma série de tumores primários do sistema nervoso central

Graziella Alebrant Mendes¹, Bárbara Roberta Ongaratti²,
Júlia Fernanda Semmelmann Pereira-Lima³

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brasil.

RESUMO

Objetivo: Realizar um levantamento de dados descritivos em uma série de tumores primários do sistema nervoso central. **Métodos:** Foram avaliados 106 casos de tumores primários do sistema nervoso central, descrevendo a idade média, os sintomas apresentados, os tipos de tumores mais frequentes e sua localização. **Resultados:** A idade média foi de 47 anos e 71 casos (67%) foram do sexo feminino. Observaram-se 39 tipos de tumores primários do sistema nervoso central, sendo os mais frequentes os meningiomas (51 casos, 48%), seguidos por glioblastomas (19 casos, 18%). Quanto à localização, 51 casos (48%) apresentaram-se nas meninges. Cefaleia ocorreu em 52% dos casos. **Conclusões:** A faixa etária da amostra é similar a de outros estudos. Observou-se predominância de meningiomas em associação à predominância do sexo feminino, no qual este tumor prevalece. Os sintomas apresentados corroboram com os descritos na literatura.

PALAVRAS-CHAVE

Epidemiologia, neoplasias do sistema nervoso central, sistema nervoso central.

ABSTRACT

Epidemiology of a series of primary central nervous system tumors

Objective: To conduct a survey of data descriptive in a series of primary central nervous system tumors. **Methods:** One hundred and six cases of primary central nervous system tumors were evaluated, describing the mean age, associated symptoms, the most frequent subtype of tumors and their location. **Results:** The mean age was 47 years and 71 cases (67%) were female. Thirty nine subtypes of primary central nervous system tumors were observed, and the most frequent subtype was meningioma (51 cases, 48%), followed by glioblastoma (19 cases, 18%). Regarding location, 51 cases (48%) were in the meninges. Headache occurred in 52% of cases. **Conclusions:** The mean age of the sample is similar to other studies. Meningiomas prevailed in association with female predominance, where this tumor is prevalent. The symptoms corroborate those described in the literature.

KEYWORDS

Epidemiology, central nervous system neoplasms, central nervous system.

1 Biomédica. Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brasil.
2 Biomédica, mestranda do Programa de Pós-graduação em Patologia da UFCSPA, Porto Alegre, RS, Brasil.
3 Médica endocrinologista, doutora em Patologia pela UFCSPA, Porto Alegre, RS, Brasil.

Introdução

Os tumores primários do sistema nervoso central (SNC) são um grupo heterogêneo de condições neoplásicas que acometem todas as faixas etárias e podem ocorrer em qualquer ponto anatômico cerebral ou medular.¹ São considerados a segunda causa mais importante de morte relacionada a doenças neurológicas, sendo superados apenas pelos acidentes vasculares cerebrais.² Nas últimas décadas, observou-se considerável aumento na incidência de tumores do SNC, principalmente em faixas etárias mais avançadas. Isso se deve, em partes, à melhoria nas técnicas de imagem para diagnóstico, como a ressonância magnética, a tomografia computadorizada, entre outros.³ A Organização Mundial da Saúde (OMS) propõe uma classificação para esses tumores, de grau I até grau IV, sendo feita a partir da histologia e padrão arquitetural das lesões primárias. Além desse tipo de avaliação, técnicas de imuno-histoquímica, citogenética e biologia molecular também são empregadas para subclassificar esses tumores.⁴ Segundo um levantamento realizado pelo Registro Central de Tumores Cerebrais dos Estados Unidos, entre 2005 e 2009, e que totalizou 311.202 registros, os meningiomas representam o tumor primário de SNC mais frequente (35,5%), seguido pelo glioblastoma (15,8%). Os sítios mais comuns são as meninges (35,2%) e a hipófise (15,3%). Os meningiomas representam o tumor de SNC mais comum, comprometendo principalmente adultos acima de 65 anos, sendo incomuns em crianças, e duas vezes mais frequentes no sexo feminino. Os glioblastomas são o segundo tumor mais frequente, representando cerca de 16% e, da mesma forma que os meningiomas, são mais prevalentes em adultos acima dos 65 anos e raros em crianças. Glioblastomas são 1,6 vez mais comuns em homens.⁵ O objetivo do estudo foi realizar um levantamento de dados descritivos em uma série de tumores primários do SNC, incluindo a idade, o sexo, o tipo de tumor mais frequente, a localização do tumor e os sintomas apresentados.

Métodos

Trata-se de um estudo transversal observacional. Foram incluídos os casos de tumores primários do SNC de pacientes submetidos à neurocirurgia no Hospital São José do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre entre fevereiro de 2007 e julho de 2010. Foram excluídos pacientes que apresentavam como resultado do exame anatomopatológico tumores hipofisários ou tumores metastáticos de SNC. Os prontuários foram revisados a fim de buscar dados como

sexo, idade, localização tumoral, diagnóstico anatomopatológico e sintomas apresentados. A idade foi descrita por média e desvio-padrão e demais variáveis foram avaliadas por frequência e porcentagem. O estudo está condicionado ao cumprimento dos princípios éticos contidos na Declaração de Helsinki, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia, parecer 263/09. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Resultados

Foram incluídos no estudo 106 casos, cuja idade média foi de 47 anos (DP 15,97), sendo 71 casos (67%) do sexo feminino. Observaram-se 39 tipos de tumores primários do SNC, sendo os mais frequentes os meningiomas (51 casos, 48%), entre os quais predominou o tipo meningioma transicional (22 casos, 21%), seguido por glioblastomas (19 casos, 18%), schwannomas (10 casos, 9%), astrocitomas (5 casos, 5%) e outros (21 casos, 20%). Quanto à localização, 51 casos (48%) apresentaram-se nas meninges, 41 casos (39%) foram supratentoriais, 12 casos (11%), infratentoriais e dois casos (2%) localizaram-se na medula espinhal (Tabela 1). Cefaleia ocorreu em 52% dos casos, alterações sensoriais, predominantemente visuais, ocorreram em 38% dos casos e crises convulsivas e náuseas e/ou vômitos ocorreram em 10% e 13% dos casos, respectivamente.

Discussão

A incidência de tumores primários do SNC é de 20,59 para cada 100.000 habitantes.⁵ Segundo estudo epidemiológico descritivo realizado na França, o sítio mais comum dos tumores primários de SNC é a região supratentorial representando 43,62% dos casos, seguido por inespecífico (27,43%), meninges (16,52%), intracranial e intraespinhal (5,75%), infratentorial (4,76%) e ventricular (1,92%).⁶ Esses dados não corroboram com os encontrados em nosso estudo em que o sítio mais comum foram as meninges (48%), supratentorial (39%), infratentorial (11%) e medula espinhal (2%). Isso pode se dever ao fato de que, no estudo citado, os autores incluíram maior número de pacientes menores de 14 anos, em que os tumores mais frequentes, como os astrocitomas pilocíticos, encontram-se comumente na região supratentorial.⁵ Além disso, obtivemos maior número de meningiomas e, conseqüentemente, a localização tumoral que predominou foram as meninges.

Tabela 1 – Tumores primários do sistema nervoso central, conforme tipo histológico, número de casos e localização tumoral

Tipo histológico	Número de casos (n)	Localização tumoral (n)
Meningiomas		
Transicional	22 (20,75%)	Meninges (22)
Meningotelial	8 (7,54)	Meninges (8)
Fibroso	4 (3,77%)	Meninges (4)
Fibroblástico	3 (2,83%)	Meninges (3)
Secretor	3 (2,83%)	Meninges (3)
Atípico	3 (2,83%)	Meninges (3)
Psamomatoso	2 (1,88%)	Meninges (2)
Não classificado	2 (1,88%)	Meninges (2)
Rabdoide	1 (0,94%)	Meninges (1)
Anaplásico	1 (0,94%)	Meninges (1)
Angiomatoso	1 (0,94%)	Meninges (1)
Microcístico	1 (0,94%)	Meninges (1)
Gliomas		
Glioblastoma	17 (16,03%)	Supratentorial (17)
Astrocitoma pilocítico	3 (2,83%)	Supratentorial (2)
Astrocitoma anaplásico	2 (1,88%)	Supratentorial (2)
Oligodendroglioma anaplásico	2 (1,88%)	Supratentorial (2)
Oligoastrocitoma	2 (1,88%)	Supratentorial (2)
Ependimoma anaplásico	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Glioblastoma de células gigantes	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Glioblastoma multiforme	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Ganglioma	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Glioma maligno/não classificado	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Gangliocitoma	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Craniofaringiomas		
Adamantinomatoso	2 (1,88%)	Supratentorial (2)
Papilar	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Outros		
Schwannoma	10 (9,43%)	Infratentorial (8)
Neurinoma de Verocay	3 (2,83%)	Infratentorial (2)
Cordoma	2 (1,88%)	Medula espinhal (1)
Cordoma condroide	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Germinoma	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Hemangioma cavernoso	1 (0,94%)	Infratentorial (1)
Paraganglioma gangliocítico	1 (0,94%)	Supratentorial (1)
Papiloma do plexo coroide	1 (0,94%)	Supratentorial (1)

A média de idade foi de 47 anos, mostrando igualdade com outro estudo realizado em Porto Alegre.⁷ Em estudo de Ostrom *et al.*,⁸ a prevalência do sexo feminino também foi constatada, e a observação da prevalência feminina pode ser associada aos hormônios envolvidos no desenvolvimento e no crescimento de tumores cerebrais em mulheres, principalmente os meningiomas, pois estudos mostram que existe a presença de receptores de progesterona nas células desse tipo tumoral.⁹ Em estudo realizado nos Estados Unidos, dois terços dos tumores relatados eram gliomas ou meningiomas (66,2%),¹⁰ dado que coincide com o encontrado no presente estudo, em que gliomas e meningiomas somam 66% dos casos.

Pacientes diagnosticados com tumores cerebrais geralmente apresentam sintomas neurológicos como cefaleias, convulsões e alterações cognitivas.¹¹ Tipicamente a cefaleia é difusa, mas pode indicar o hemisfério cerebral em que se encontra o tumor, geralmente é mais intensa e perceptível pela manhã, podendo ocasionalmente ser unilateral e latejante, confundindo-se dessa forma com um quadro de enxaqueca.^{12,13} Em estudo que analisou 111 casos de tumores cerebrais, foi verificado que 48% dos pacientes apresentavam cefaleia,¹² dado similar ao nosso estudo. Dados de literatura mostram que as convulsões atingem aproximadamente 50% dos pacientes com tumores cerebrais,¹⁴ entretanto, em nossa amostra, apenas 10% dos casos tiveram crises convulsivas. Normalmente as crises convulsivas são focais, mas podem causar perda total de consciência.¹⁵ Segundo Mukand *et al.*,¹⁶ o déficit mais comum encontrado em 51 casos de pacientes com tumores cerebrais foi a perda cognitiva que ocorreu em 80% dos casos, seguida por fraqueza (78%) e alterações visuais (53%). Náuseas e vômitos, com um exame de imagem anormal ou alteração significativa anterior no padrão de cefaleia, podem ser consequências de um tumor.¹²

Meningiomas

Meningiomas são tumores que, em sua maioria, possuem caráter benigno e, entre os tumores primários intracranianos, representam cerca de 30%. Podem ser encontrados por toda a superfície externa do cérebro, bem como no interior do sistema ventricular. Possuem crescimento lento e os sintomas neurológicos, como dores de cabeça e convulsões, são causados devido à compressão de estruturas adjacentes.^{17,18} São classificados segundo a OMS de grau I a grau III, sendo o grau I o que inclui os benignos, o II compreende os atípicos e o grau III, os anaplásicos e malignos.⁴ Possuem incidência anual de 7.22 casos a cada 100.000 habitantes.⁵ Entretanto, a incidência pode ser maior, levando em conta que alguns meningiomas podem ser assintomáticos.¹⁹ A exposição à radiação ionizante é um fator de risco bem estabele-

cido, com intervalo de tempo para o desenvolvimento do tumor de aproximadamente 10 anos.^{20,21} Quanto ao tipo histológico, os dados encontrados corroboram parcialmente com os de Backer-Grøndahl *et al.*,²² em que o transicional foi o subtipo mais prevalente com 39,8% dos 196 casos de meningiomas, seguido por atípico (29,1%), meningotelial (17,3%), fibroblástico (7,1%), angiomatoso (1,5%), microcístico, *clear cells* e anaplásico (1% cada) e psamomatoso e secretor (0,5% cada). As variantes encontradas no presente estudo foram meningioma transicional (20,75%), meningotelial (23,8%), fibroso (3,77%), fibroblástico (2,83%), secretor (2,83%), atípico (2,83%), psamomatoso (1,88%), rabdoide (0,94%), anaplásico (0,94%), angiomatoso (0,94%), microcístico (0,94%).

Glioblastomas

O glioblastoma é o tipo mais comum de tumor maligno do SNC, com uma média de sobrevivência de 15 meses.²³ Possui prevalência de 3,19 casos a cada 100.000 habitantes da população em geral e, como a maioria dos tumorais cerebrais, a incidência de glioblastomas cresce conforme a idade da população: de 65 a 74 anos, a incidência é de 13,21 a cada 100.000 habitantes, e de 14,64 a cada 100.000 para a faixa de 75 a 84 anos.⁵ Os glioblastomas são classificados segundo a OMS como grau IV dos gliomas, sendo considerados malignos, com crescimento rápido e alta capacidade de se alastrar pelo tecido cerebral normal, além de serem geralmente resistentes à quimioterapia, sendo letais dentro de 9 a 12 meses.^{4,24} Segundo dados apresentados por Yuile *et al.*,²⁵ os principais sintomas evidenciados em pacientes com glioblastomas multiforme são: cefaleia (30,1%), fraqueza (20,3%), perda de memória (15%), déficit visual (7,5%), déficit de fala (6%) e perda da consciência (3,8%). O tratamento escolhido comumente é a cirurgia de ressecção e quimioterapia adjuvante.²⁶

Schwannoma

Os schwannomas, também conhecidos como neurinomas, são tumores originados das bainhas (células de Schwann) de qualquer nervo, são benignos e possuem crescimento lento.²⁷ A incidência desse tipo tumoral é de 1,7 para cada 100.000.⁵ Entre 25-45% dos schwannomas se encontram na cabeça ou pescoço.²⁸ Segundo a OMS, os schwannomas são considerados grau I. Os sintomas neurológicos relacionados com schwannomas dependem da localização e da origem do tumor, incluindo dores de cabeça, paralisia de nervos cranianos, zumbidos, perda de audição e síndrome de Horner.²⁹ O tratamento para esse tipo tumoral é a ressecção cirúrgica, e várias modalidades vêm sendo introduzidas para preservar a função neurológica dos pacientes.³⁰

Astrocitomas

Os astrocitomas são gliomas que se formam a partir dos astrócitos, células que atuam na sustentação das células nervosas. É o glioma mais comum na infância e representa cerca de 75% dos gliomas, variando de baixo grau (grau I e II) a alto grau (grau III e IV).³¹ Entre a faixa etária de 0 a 14 anos, possui incidência de 1,66 para cada 100.000.⁵ A distribuição entre os sexos é igual e a localização mais comum é no lobo frontal, seguido por parietal.³² Os sintomas causados dependem da localização, da agressividade biológica do tumor e da idade do paciente. Esses sintomas inespecíficos são associados à compressão exercida pelo tumor e incluem dores de cabeça, náuseas e vômitos. Algumas das mudanças comportamentais em crianças incluem alterações de personalidade, irritabilidade, alteração da função psicomotora, apatia e declínio do desempenho escolar.³⁰

Conclusão

Apesar de os resultados deste estudo serem similares a de outros citados na literatura, é de fundamental importância identificar dados epidemiológicos visando ao melhor conhecimento da patologia na população brasileira e, sobretudo, em termos de saúde pública, contribuir para a definição de estratégias de prevenção e diagnóstico eficazes.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Burger PC, Scheithauer BW. Tumors of the nervous system. Atlas of tumor pathology. 4th edition. Washington: American Registry of Pathology; 2007.
2. Preston-Martin S, Mack WJ. Neoplasms of the nervous system. In: Schottenfeld D, Fraumeni JF. Cancer epidemiology and prevention. 2nd edition. New York: Oxford University Press; 1996. p. 1231-81.
3. Fisher JL, Schwartzbaum JA, Wrensch M, Wiemels JL. Epidemiology of brain tumors. *Neurol Clin*. 2007;25(4):867-90.
4. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol*. 2007;114(2):97-109.

5. Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. *Neuro Oncol.* 2012;14(Suppl 5):1-49.
6. Baldi I, Gruber A, Alioum A, Berteaud E, Lebailly P, Huchet A, et al. Descriptive epidemiology of CNS tumors in France: results from the Gironde Registry for the period 2000-2007. *Neuro Oncol.* 2011;13(12):1370-8.
7. Cambuzzi E, Zettler CG, Pêgas KL, Wanderlei ABS, Junior DK, Duarte MR, et al. Perfil e prevalência dos tumores primários do sistema nervoso central no Grupo Hospitalar Conceição, de Porto Alegre, RS. *Rev AMRIGS.* 2010;54(1):7-12.
8. Ostrom QT, McCulloh C, Chen Y, Devine K, Wolinsky Y, Davitkov P, et al. Family history of cancer in benign brain tumor subtypes versus gliomas. *Front Oncol.* 2012;2:19.
9. Wigertz A, Lönn S, Mathiesen T, Ahlbom A, Hall P, Feychting M; Swedish Interphone Study Group. Risk of brain tumors associated with exposure to exogenous female sex hormones. *Am J Epidemiol.* 2006;164(7):629-36.
10. Porter KR, McCarthy BJ, Freels S, Kim Y, Davis FG. Prevalence estimates for primary brain tumors in the United States by age, gender, behavior, and histology. *Neuro Oncol.* 2010;12(6):520-7.
11. Armstrong TS, Gilbert MR. Glial neoplasms: classification, treatment, and pathways for the future. *Oncol Nurs Forum.* 1996;23(4):615-25.
12. Forsyth PA, Posner JB. Headaches in patients with brain tumors: a study of 111 patients. *Neurology.* 1993;43(9):1678-83.
13. DeAngelis LM, Payne R. Lymphomatous meningitis presenting as atypical cluster headache. *Pain.* 1987;30(2):211-6.
14. Schaller B, Rüegg SJ. Brain tumor and seizures: pathophysiology and its implications for treatment revisited. *Epilepsia.* 2003;44(9):1223-32.
15. DeAngelis LM. Brain tumors. *N Engl J Med.* 2001;344(2):114-23.
16. Mukand JA, Blackinton DD, Crincoli MG, Lee JJ, Santos BB. Incidence of neurologic deficits and rehabilitation of patients with brain tumors. *Am J Phys Med Rehabil.* 2001;80(5):346-50.
17. Claus EB, Bondy ML, Schildkraut JM, Wiemels JL, Wrensch M, Black PM. Epidemiology of intracranial meningioma. *Neurosurgery.* 2005;57(6):1088-95.
18. Cea-Soriano L, Wallander MA, García Rodríguez LA. Epidemiology of meningioma in the United Kingdom. *Neuroepidemiology.* 2012;39(1):27-34.
19. Lusa E, Gutmann DH. Meningioma: an update. *Curr Opin Neurol.* 2004;17(6):687-92.
20. Wiemels J, Wrensch M, Claus EB. Epidemiology and etiology of meningioma. *J Neurooncol.* 2010;99(3):307-14.
21. Braganza MZ, Kitahara CM, Berrington de González A, Inskip PD, Johnson KJ, Rajaraman P. Ionizing radiation and the risk of brain and central nervous system tumors: a systematic review. *Neuro Oncol.* 2012;14(11):1316-24.
22. Backer-Grøndahl T, Moen BH, Torp SH. The histopathological spectrum of human meningiomas. *Int J Clin Exp Pathol.* 2012;5(3):231-42.
23. Perry J, Okamoto M, Guiou M, Shirai K, Errett A, Chakravarti A. Novel therapies in glioblastoma. *Neurol Res Int.* 2012;2012:1-4.
24. Louis DN. Molecular pathology of malignant gliomas. *Annu Rev Pathol.* 2006;1:97-117.
25. Yuile P, Dent O, Cook R, Biggs M, Little N. Survival of glioblastoma patients related to presenting symptoms, brain site and treatment variables. *J Clin Neurosci.* 2006;13(7):747-51.
26. Scott JN, Rewcastle NB, Brasher PM, Fulton D, MacKinnon JA, Hamilton M, et al. Which glioblastoma multiforme patient will become a long-term survivor? A population-based study. *Ann Neurol.* 1999;46(2):183-8.
27. Lin CS, Hsu HS, Tsai CH, Li WY, Huang MH. Gastric schwannoma. *J Chin Med Assoc.* 2004;67(11):583-6.
28. Yang SW, Lin CY. Schwannoma of the upper lip: case report and literature review. *Am J Otolaryngol.* 2003;24(5):351-4.
29. Kang GC, Soo KC, Lim DT. Extracranial non-vestibular head and neck schwannomas: a ten-year experience. *Ann Acad Med Singapore.* 2007;36(4):233-8.
30. Kim SH, Kim NH, Kim KR, Lee JH, Choi HS. Schwannoma in head and neck: preoperative imaging study and intracapsular enucleation for functional nerve preservation. *Yonsei Med J.* 2010;51(6):938-42.
31. Gupta N, Banerjee A, Haas-Kogan D. Pediatric CNS tumors. 2nd edition. California: Springer; 2010.
32. Grossman SA, Osman M, Hruban R, Piantadosi S. Central nervous system cancers in first-degree relatives and spouses. *Cancer Invest.* 1999;17(5):299-308.

Endereço para correspondência

Graziella Alebrant Mendes
 Centro de Ciências da Saúde
 Campus Universitário Dr. Ulysses Guimarães
 Rodovia Municipal Jacob Della Méa, km 5.6, Parada Benito
 98020-290 – Cruz Alta, RS, Brasil

5.4. Técnicas

FORMALINA

- 1) colocar a peça em solução de formol a 10% com água destilada;
- 2) deixar por 24 a 48 horas;
- 3) cortar e processar para incluir em parafina.

PREPARO DAS LÂMINAS COM HE

Solução de hematoxilina

Hematoxilina (cristais).....	5 g
Álcool absoluto.....	50 ml
Alúmen de potássio ou amônia.....	100 g
Água destilada.....	1000 ml
Óxido amarelo de mercúrio.....	2,5 g

Dissolver a hematoxilina no álcool. Dissolver o alúmen na água, aquecendo sem ferver. Retirar do fogo e misturar as duas soluções. Levar ao fogo até a ebulição. O tempo de ebulição não deve ultrapassar 1 minuto. Colocar o óxido lentamente com a solução fora do fogo. Agitar bem, retornar ao fogo até a solução adquirir cor púrpura. Levar o recipiente imediatamente à água fria. Na hora de usar, adicionar 0,5 ml de ácido acético glacial para 200 ml de solução. Tempo de coloração: 5 minutos.

Solução de eosina

Solução de Eosina aquosa:

Eosina Y.....	1 g
Água destilada.....	100 ml
Ácido acético glacial.....	0,2 ml

Dissolver a eosina Y na água destilada e adicionar o ácido acético.

Solução de uso:

Solução estoque de Eosina.....	1 parte
Álcool 80 %.....	3 partes

Para se conseguir uma tonalidade mais avermelhada, adicionar 0,5 ml de ácido acético glacial para 100 ml de solução.

Solução de Álcool-Ácido:

Álcool etílico 70 %.....	99 ml
Ácido clorídrico concentrado.....	1 ml

TÉCNICA DE HEMATOXILINA-EOSINA

- 1) desparafizar, hidratar;
- 2) lavar com água destilada;
- 3) solução de hematoxilina: 5 a 10 minutos;
- 4) lavar em água corrente;
- 5) passar rapidamente pela solução de álcool-ácido;
- 6) lavar com água corrente por 3 a 5 minutos (verificar ao microscópio se apenas os núcleos estão corados)
- 7) lavar em álcool etílico 100 %;
- 8) solução de eosina: 1 minuto;
- 9) passar as lâminas em álcool etílico 100 % por 4 vezes, deixando por 5 minutos no último recipiente com álcool;
- 9) clarificar com 3 passagens pelo xilol;
- 10) montar as lâminas com meio de montagem e lamínula.

PREPARO DAS LÂMINAS COM ORGANOSILANO

- 1) lavar as lâminas de vidro com detergente;
- 2) lavar as lâminas de vidro em água corrente para retirar o detergente;
- 3) mergulhar as lâminas de vidro no ácido clorídrico (HCl) 1N;
- 4) lavar as lâminas de vidro por três vezes em água destilada;
- 5) deixar as lâminas de vidro por 20 minutos em solução de ácido acético com álcool na proporção de 3:1;
- 6) deixar as lâminas de vidro secarem ao ar durante dois dias;
- 7) preparar o organosilano a 2% em acetona;
- 8) passar as lâminas de vidro por 2 minutos na acetona pura, por 2 minutos em acetona mais organosilano (2%) e 2 minutos em acetona pura;
- 9) deixar as lâminas de vidro secarem ao ar durante dois dias.

TÉCNICA DE IMUNO-HISTOQUÍMICA

- 1) cortar o bloco de parafina com uma espessura de 4 micrômetros;
- 2) colocar o corte na lâmina preparada com organosilano;
- 3) desparafizar: deixar a lâmina na estufa a aproximadamente 70°C por 30 minutos; deixar a lâmina de molho no xilol por 5 minutos; passar a lâmina por 4 vezes no álcool absoluto, deixar 5 minutos no último álcool para retirar o xilol; lavar a lâmina em água destilada;
- 4) colocar a lâmina em uma cuba de plástico tampada com solução de citrato de sódio (pH 6,0) ou Tris-EDTA (tabela abaixo) previamente aquecida até a fervura em microondas, tendo o cuidado de cobrir bem a lâmina com a solução, levar ao banho maria à ~98°C por 40 minutos;

Anticorpo	Solução de recuperação antigênica
ERBB2	Tris-EDTA
c-MYC	Tris-EDTA
NF2	Citrato de sódio
NDRG2	Citrato de sódio

- 5) retirar do banho-maria e sem a tampa deixar esfriar por 20 minutos à temperatura ambiente;
- 5) lavar a lâmina com PBS (phosphate buffered *saline*), pH 7,2 - 7,6, três vezes por 5 minutos com agitação;

- 6) dispensar o PBS e colocar as lâminas em solução de 5% de peróxido de hidrogênio 30 volumes, usar metanol como diluente. Deixar no escuro por 10 minutos, repetir 2 vezes o processo;
- 6) lavar a lâmina em água destilada 1 vez;
- 7) lavar a lâmina com PBS duas vezes por 5 minutos em agitação;
- 8) dispensar o PBS e colocar as lâminas em solução de leite desnatado à 10%, usar PBS como diluente. Deixar descansar por 1 hora no mínimo.
- 9) lavar em PBS 3 vezes de 5 minutos com agitação;
- 10) retirar as lâminas uma por uma da cuba, deixar o excesso de PBS escorrer das lâminas e secar o excesso com pano macio (ao redor do tecido), circundar o tecido com caneta hidrofóbica para evitar com que o anticorpo se espalhe.
- 11) aplicar o anticorpo primário previamente diluído em PBS (tabela abaixo), diretamente sobre a lâmina, cobrindo todo o tecido. Deixar por 1 hora em câmara úmida à temperatura ambiente;

Anticorpo	Diluição
ERBB2	1:200
c-MYC	1:30
NF2	1:400
NDRG2	1:100

- 12) depois deixar a câmara úmida coberta na geladeira (4°C) durante a noite;
- 13) lavar com PBS três vezes por 5 minutos em agitação;
- 14) aplicar anticorpo secundário Advance™ HRP Link Dako® cobrindo todo o tecido. Deixar por 40 minutos em câmara úmida à temperatura ambiente;

- 15) lavar com PBS três vezes por 5 minutos em agitação;
- 16) aplicar o anticorpo polimerizado com peroxidase cobrindo todo o tecido.
Deixar por 40 minutos em câmara umida à temperatura ambiente;
- 17) lavar com PBS três vezes por 5 minutos em agitação;
- 18) preparar o cromógeno DAB (diaminobenzidina) (1 ml de diluente e 1 gota de DAB);
- 19) aplicar cromógeno DAB, cobrindo todo o tecido. Deixar por 5 minutos protegido da luz;
- 20) lavar em água destilada;
- 21) contra-corar com hematoxilina de 20-30 segundos;
- 22) lavar em água corrente;
- 23) passar as lâminas em álcool absoluto por 4 vezes, deixando por 5 minutos no último recipiente com álcool absoluto;
- 24) passar as lâminas no xilol duas vezes de 5 minutos cada;
- 25) montar as lâminas com lamínula utilizando entellan (cola especial).
- 26) deixar secar e analisar em microscópio;

5.5. Submissão do artigo

O artigo científico nomeado “Immunohistochemical expression of merlin, NDRG2, ERBB2, and c-MYC in meningiomas: relationship with follow-up, tumor grade, and recurrence” foi submetido à revista “*Pathology Research and Practice*”.



Supports Open Access

[Sample Issue](#)

Pathology - Research and Practice

Pathology, Research and Practice provides accessible coverage of the most recent developments across the entire field of pathology: Reviews focus on recent progress in pathology, while Comments look at...

[View full aims and scope](#)

Executive Editors: Albert Roessner, Masashi Fukayama, Maode Lai, Katsuo Sueishi, Thomas Kirchner

[View full editorial board](#)
[Guide for Authors](#)
[Submit Your Paper](#)
[Track Your Paper](#)
[Order Journal](#)
[View Articles](#)

Journal Metrics

Source Normalized
Impact per Paper
(SNIP): 0.889

SCImago Journal Rank
(SJR): 0.638

Impact Factor: 1.562

5-Year Impact Factor:
1.429

Imprint: ELSEVIER

ISSN: 0344-0338

Stay up-to-date

Register your interests
and receive email
alerts tailored to your
needs

[Click here to sign up](#)

Related Publications

[Human Pathology](#)

[Human Pathology:
Case Reports](#)

[The American Journal
of Pathology](#)

This journal supports the following content innovations

3D Radiological Data

Journal Insights

Discover this journal's metrics



[FIND OUT MORE](#)

Recent Open Access Articles

Comparison of the 2007 and 2013 ASCO/CAP evaluation systems for HER2 amplification in breast cancer

Xiaohong Pu | Jiong Shi | ...

Communicating diagnostic uncertainty in surgical pathology reports: Disparities between sender and receiver

Sarah W. Lindley | Elizabeth M. Gillies | ...

Fas, FasL, and cleaved caspases 8 and 3 in glioblastomas: A tissue microarray-based study

Fabiano P. Saggioro | Luciano Neder | ...

[VIEW ALL](#)

Recent Articles

D2-40 negative Pyogenic Granuloma-like Kaposi's Sarcoma: diagnostic features and histogenetic hypothesis of an uncommon skin tumor in HIV-negative patients

D. Cabibi | A.G. Giannone | ...

Russian study of morphological prognostic factors characterization in BRAF-mutant cutaneous melanoma

M.B. Aksenenko | A.K. Kirichenko | ...

Specific immunohistochemical pattern of carbonic anhydrase IX is helpful for the diagnosis of CNS hemangioblastoma

Tina Schaller | Markus Bode | ...

[VIEW ALL](#)

Most Cited Articles

Epidermal growth factor receptor (EGFR) and squamous cell carcinoma of the skin:

Molecular bases for EGFR-targeted therapy

Pablo Uribe | Sergio B. González

The role of apoptosis in the pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): An up-to-date cell-specific review

Vassiliki Galani | Eleftheria Tatsaki | ...

Molecular pathology of gastric cancer: Research and practice

Wataru Yasui | Kazuhiro Sentani | ...



Barbara Ongaratti <b.ongaratti@gmail.com>

Submission Confirmation

Bernd Wuesthoff <bernd.wuesthoff@medizin.uni-magdeburg.de>
Para: b.ongaratti@gmail.com

23 de março de 2015 16:10

Article type: Original Article

Dear Ms. Barbara Roberta Ongaratti,

We have received your article "Immunohistochemical expression of merlin, NDRG2, ERBB2, and c-MYC in meningiomas: relationship with follow-up, tumor grade, and recurrence" for consideration for publication in Pathology - Research and Practice.

Your manuscript will be given a reference number once an editor has been assigned.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <http://ees.elsevier.com/prp/>
2. Enter these login details:
Your username is: b.ongaratti@gmail.com

If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/PRP/automail_query.asp.

3. Click [Author Login]
This takes you to the Author Main Menu.

4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System
Pathology - Research and Practice

Please note that the editorial process varies considerably from journal to journal. To view a sample editorial process, please click here:

http://ees.elsevier.com/eeshelp/sample_editorial_process.pdf

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.