



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS PASSO FUNDO

CURSO DE MEDICINA

ÍCARO DE AZEVEDO ALEXANDRE

**ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DO PDL-1 EM CARCINOMA
DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-
PATOLÓGICOS**

PASSO FUNDO

2018

ÍCARO DE AZEVEDO ALEXANDRE

**ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DO PDL-1 EM CARCINOMA
DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-
PATOLÓGICOS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação
apresentado ao curso de Medicina da
Universidade Federal da Fronteira Sul, como
requisito para obtenção do título de Bacharel em
Medicina.

Orientador: Prof. Me. Josiane Borges Stolfo

Coorientador: Prof. Julia Pastorello

PASSO FUNDO

2018

ÍCARO DE AZEVEDO ALEXANDRE

ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DO PDL-1 EM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do grau de Bacharel em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Me. Josiane Borges Stolfo

Coorientador: Prof. Julia Pastorello

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: _____ / _____ / _____.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Me. Josiane Borges Stolfo

Prof. Dr. Amauri Braga Simonetti - UFFS

Prof. Nicoli Taiana Henn

AGRADECIMENTOS

Nesse momento tão especial em minha vida, agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida! Agradeço também a todos os meus familiares que, mesmo com os percalços da vida, propiciaram apoio e incentivo, dando os meios para chegar onde estou hoje. É de uma felicidade indescritível ser o primeiro da minha família a estar se aproximando da conclusão do Ensino Superior. Não existem palavras capazes de descrever tal sentimento.

Atravessar o país para realizar meu sonho de cursar medicina fez que eu passasse por um intenso processo de amadurecimento, no qual vivi um *mix* de emoções boas e ruins, de erros e de acertos, mas todos necessários para me tornar quem sou hoje.

À minha Avó materna Maria do Socorro, que além de minha avó foi minha verdadeira mãe, meu muitíssimo obrigado pela educação e incentivo nos estudos que sempre me deu! Muito obrigado por cada conselho e orientação, por cada puxão de orelhas, visando sempre o meu melhor. Sabendo que você sempre teve seu desejo de ser um profissional da saúde, mas que as adversidades da vida não a permitiram, eu digo com o coração cheio de orgulho: Vó, essa conquista é nossa!

Ao meu Avô materno José Adolfo, muito obrigado pela educação de excelência que recebi, pelos valores religiosos, morais e éticos que sempre fez questão de manter vivos e executados dentro de nossa família.

À minha tia Julia, também dedico a você meu Trabalho de Conclusão de Curso, obrigada por ter sido um dos pilares da minha criação, um exemplo de pessoa forte e extrovertida, que sempre foi além de tia uma segunda mãe, que auxiliou promovendo todo o incentivo e o apoio para que minha vida acadêmica fosse a melhor possível!

À minha tia Jamille, *in memoriam*, meu muito obrigado por todo tempo que esteve entre nós e foi um dos alicerces para que, junto de meus avós e minha tia Julia, eu tivesse a educação, valores morais e éticos que aprendi!

Aos meus pais Gizelle e Paulo, meu muitíssimo obrigado pela vida, entendo que as adversidades da vida muitas vezes nos derrubam e hoje busco entender cada atitude de vocês. Obrigado por permitirem que meus avós me criassem.

À minha irmã Lara, minha companheira de vida, de todos momentos bons e ruins, sabemos que a vida nunca foi fácil para nós, mas conseguimos superar tudo com excelência! Saiba que sempre estarei aqui para te apoiar em tudo que precisar! Muito obrigado por estar presente em minha vida, eu te amo e estarei sempre contigo!

À minha namorada Mônica, que nesse último ano vem me apoiando e auxiliando, obrigado por todo apoio e amor recebido, obrigado pela companhia nas noites em claro, por acreditar em mim e que eu chegaria e ultrapassaria meus objetivos. Além disso, obrigado pela ajuda na formatação desse trabalho e pelas críticas construtivas! Às vezes a vida fica difícil, mas passar por esses momentos ao lado de quem amamos torna tudo mais fácil! Mas mais do que isso, obrigado por ter me feito uma pessoa melhor nesse último ano, obrigado por me ensinar a pensar mais nas nossas ações e nas consequências delas. Eu te amo!

À minha querida e excelentíssima Professora Mestre Josiane Borges Stolfo, minha orientadora, meu muitíssimo obrigado por todos momentos na estruturação, planejamento e execução desse projeto! Obrigado por todos finais de semana e feriados, que independente do horário, estava junto a mim fazendo tudo o que fosse necessário para executar da melhor forma o trabalho que aqui hoje se conclui. Obrigado por ser essa professora de excelência, preocupada com a qualidade de cada letra escrita nesse trabalho! Hoje se finda não só o meu Trabalho de Conclusão de Curso, mas também um projeto de pesquisa em que a senhora e eu nos empenhamos incansavelmente para que pudéssemos hoje olhar para trás e dizer: Poxa, valeu a pena! Imagino o quanto tenha sido cansativo para a senhora conciliar o seu mestrado e seus orientandos, e sobre isso eu posso afirmar com certeza que foste incansavelmente persistente e engajada com seus objetivos! Eu poderia ficar a vida inteira falando das suas qualidades como profissional e também como ser humana, poderia passar mil anos agradecendo por tudo que você fez por mim e me ensinou. Professora Josiane, eu serei sempre grato para você! Um bom professor deixa em cada um dos seus alunos uma marca indestrutível, um pedacinho do seu 'eu', da sua sabedoria, que não atrapalha, que muitas vezes não se consegue rastrear até ele, mas que está lá e cresce e evolui com cada um dos alunos! Não deixarei passar nem mais um dia sem reconhecer que hoje eu não seria o mesmo ser humano se você simplesmente não fosse como é. Talvez seja por amar tanto o que faz, que procura em cada aluno um ser que pode melhorar! Muito obrigado!

Aos meus queridos professores dos componentes curriculares de Pesquisa em Saúde, TCC I e TCC II, meu muito obrigada por cada puxão de orelha, cada orientação, cada aula em que incansavelmente levaram essa turma de primeira viagem no Trabalho de Conclusão de Curso da história desse Campus! Meus mais sinceros parabéns para execução de excelência e meu muito obrigado por tudo aquilo que aqui aprendi!

À minha coorientadora, Professora Julia Pastorello, meu muito obrigado por todo tempo, paciência e ensinamentos dedicados a mim para que eu chegasse onde cheguei da forma em que cheguei! Agradeço imensamente por tê-la em meu convívio prático, podendo ser testuma do exemplo de pessoa e profissional que és!

Aos meus amigos, meu muitíssimo obrigado por cada apoio, dicas, momentos de angústias, de felicidade, por tudo que vivemos até aqui durante a faculdade! Meus caros, estamos na reta final! Esse momento é o marco inicial em que começamos a nos despedir pouco a pouco das fases da nossa vida acadêmica, essa é apenas a primeira!

À Universidade quero deixar uma palavra de gratidão por ter me recebido de braços abertos e com todas as condições que me proporcionaram dias de aprendizagem muito ricos. A esta instituição tão imponente, eu agradeço pelo ambiente propício à evolução e crescimento, bem como a todas as pessoas que a tornam assim tão especial para quem a conhece. Não esqueço o papel que a Universidade teve ao longo de todo meu percurso e por isso agradeço os recursos e o apoio que sempre me ofereceu.

A todas as pessoas que não mencionei, quero deixar bem claro que não estão esquecidas, pois se me tocaram de algum modo, podem ter certeza que agradeço com toda intensidade.

“Sou muito grato às adversidades que apareceram na minha vida, pois elas me ensinaram a tolerância, a simpatia, o autocontrole, a perseverança e outras qualidades que, sem essas adversidades, eu jamais conheceria” - Napoleon Hill.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 PROJETO DE PESQUISA	11
2.1 DESENVOLVIMENTO	11
2.1.1 RESUMO INFORMATIVO	11
2.1.2 TEMA	12
2.1.3 PROBLEMAS	12
2.1.4 HIPÓTESES	12
2.1.5 OBJETIVOS	12
2.1.6 JUSTIFICATIVA	13
2.1.7 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1.8 METODOLOGIA	15
2.1.8.1. TIPO DE ESTUDO	15
2.1.8.2. LOCAL E PERÍODO DE REALIZAÇÃO	15
2.1.8.3. POPULAÇÃO E AMOSTRAGEM	15
2.1.8.4. VARIÁVEIS E INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS	15
2.1.8.5. LOGÍSTICA	16
2.1.8.6. PROCESSAMENTO, CONTROLE DE QUALIDADE E ANÁLISE DOS DADOS	16
2.1.8.7. ASPECTOS ÉTICOS	16
2.1.9 RECURSOS	17
2.1.9. CRONOGRAMA	19
2.1.10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
2.1.11. APÊNDICES	21
APÊNDICE I	21
APÊNDICE II	23
APÊNDICE III	24
APÊNDICE IV	26
2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA	33
2.2.1 APRESENTAÇÃO	33
2.2.2 DESENVOLVIMENTO	34
2.2.2.1 LOGÍSTICA DA COLETA DE DADOS	34
2.2.2.2 PERÍODO DA COLETA DE DADOS	34
2.2.2.3 PERDAS E RECUSAS	35

2.2.2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	35
3. ARTIGO	36
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
5. ANEXOS	47
ANEXO A – NORMAS DA REVISTA PARA SUBMISSÃO DE ARTIGO	47
ANEXO B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO PROJETO	53
ANEXO C – PARECER DE APROVAÇÃO DO PROJETO.....	55
ANEXO D – TERMO DE CIÊNCIA DO VOLUME FINAL DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO	62

RESUMO

Este volume apresenta o Trabalho de Conclusão de Curso, requerido pela Universidade Federal da Fronteira Sul para graduação em Medicina, cujo tema é *Estudo da expressão imuno-histoquímica de PDL-1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células: relação com dados clínico-patológicos*, que versa sobre as relações entre marcadores imuno-histoquímicos e os dados clínico-patológicos dos pacientes selecionados. O estudo está em conformidade com o Manual de Trabalhos Acadêmicos da Universidade Federal da Fronteira Sul, 2ª edição, revisado e atualizado no ano de 2015. Este volume é composto por um Projeto de Pesquisa, onde foi detalhada a relevância do assunto, a problemática e a metodologia para realização da pesquisa. O projeto foi escrito pelo acadêmico Ícaro de Azevedo Alexandre sob orientação da Profª. Me. Josiane Borges Stolfo, a fim de atender as demandas dos componentes curriculares: Pesquisa em Saúde, cursado no segundo semestre de 2017; e Trabalho de Conclusão de Curso I e II, cursados nos respectivos semestres de 2018; ofertados pela Universidade Federal da Fronteira Sul. O Projeto de Pesquisa é seguido por um Relatório de Pesquisa, que detalha como se deram as atividades realizadas, os obstáculos enfrentados e as resoluções de problemas. Por fim, conta ainda com um Artigo, embasado nos dados obtidos durante o desenvolvimento da pesquisa, que passaram por cuidadosa análise estatística conforme o proposto na seção de metodologia do referido Projeto de Pesquisa.

Palavras-chave: Imunoterapia. Câncer de Pulmão. Sobrevida.

ABSTRACT

This volume presents the Conclusion of the Course, required by the Universidade Federal da Fronteira Sul for Medical graduation, whose theme is the *Study of the immunohistochemical expression of PDL-1 in non-small cell lung carcinoma: relation with clinical-pathological data*, which deals with the relationships between immunohistochemical markers and the clinicopathological data of the selected patients. The study is in accordance with the Manual of Academic Works of the Universidade Federal da Fronteira Sul, 2nd edition, revised and updated in the year 2015. This volume is composed of a Research Project, which detailed the relevance of the subject, the problematic and the methodology for carrying out the research. The project was written by the academic Ícaro de Azevedo Alexandre under the guidance of Master Teacher Josiane Borges Stolfo, in order to meet the demands of the curricular components: Health Research, attended in the second half of 2017; and Course Completion Work I and II, completed in the respective semesters of 2018; offered by the Universidade Federal da Fronteira Sul. The Research Project is followed by a Research Report, which details how the activities carried out, the obstacles faced and the resolutions of problems were given. Finally, it also has an article, based on the data obtained during the development of the research, which underwent a careful statistical analysis as proposed in the methodology section of the Research Project.

Keywords: Immunotherapy. Lung cancer. Survival.

1 INTRODUÇÃO

A incidência mundial de carcinoma de pulmão, no ano de 2012, de acordo com o GLOBOCAN (projeto instituído pela Agência Internacional para Pesquisa em Câncer – IARC/Organização mundial de Saúde), foi de 1,8 milhão de novos casos, associados a 1,6 milhão de mortes no mesmo ano, sendo, então, a principal causa de morte por câncer no mundo (OMS, 2012).

Nos Estados Unidos da América, a American Cancer Society (ACS) estimou para o ano de 2017, 116.990 novos casos (15%) de câncer de pulmão em homens e 105.510 novos casos (14%) em mulheres. Espera-se, inclusive, que seja a principal causa de morte por câncer tanto em homens (84.590 casos ou 28%) quanto em mulheres (71.280 casos ou 26%) (ACS, 2016). Já no continente europeu, a International Association For The Study of Lung Cancer (IASLC), estimou, em 2015, o aumento da incidência dessa neoplasia em, aproximadamente, 58%, levando à Europa a 108.000 novos casos/ano.

No Brasil, as estimativas do INCA (Instituto Nacional do Câncer) para 2016, mostraram uma taxa de incidência para tumores de pulmão de 17.330 novos casos (8,1%) para homens e 10.890 casos (5,3%) para mulheres. Desconsiderando os tumores de pele não-melanomas, o câncer de pulmão em homens é o segundo mais frequente nas regiões Sul e Centro-Oeste. Nas regiões Sudeste, Nordeste e Norte é o terceiro mais frequente. Para as mulheres é o terceiro mais frequente na região Sul. Nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste ocupa a quarta posição. Já na região Norte é o quinto mais frequente (Brasil, 2016).

O carcinoma de pulmão, incluindo o tipo não pequenas células, tem um diagnóstico geralmente tardio, o que determina que esse tumor já esteja em um estágio mais avançado, contribuindo para o aumento da alta taxa de mortalidade da doença. Destaca-se ainda que a neoplasia maligna de pulmão apresenta uma variedade histopatológica bastante heterogênea com mecanismos de carcinogênese diversos e complexos.

O insucesso, em muitos pacientes, da quimioterapia, da radioterapia e da cirurgia, planos de terapia que foram padronizados e preconizados por muitos anos, instigou a comunidade científica a proceder investigações acerca de biomarcadores ou alterações genéticas, os quais estão envolvidos tanto na gênese quanto na supressão tumoral, em vários sítios do corpo, incluindo o pulmonar.

A partir dessa iniciativa da comunidade científica foram descobertas e aprovadas muitas “drogas-alvo” que atuam em diferentes etapas do mecanismo de gênese tumoral, como na

proliferação celular e na invasão. Entretanto, o tratamento de um número consideravelmente elevado de pacientes falhou mesmo com a utilização dessas drogas. Com o fito de mudar essa situação, nos últimos anos, no meio científico, há uma crescente ideia de compreender como o sistema imunológico humano se comporta durante a carcinogênese de diversos tumores, nos quais estão incluídas as neoplasias pulmonares.

Sob essa perspectiva, não apenas para o câncer de pulmão, os estudos vêm atuando a favor de medicamentos que tenham como alvo as diversas camuflagens dos tumores contra as defesas do organismo, as quais são resultados da interação entre duas proteínas, PDL-1 (Programmed cell death 1 receptor) e PDL-1 (Programmed cell death 1 ligant receptor). Diversas pesquisas propuseram, então, a ideia de que as células tumorais poderiam evadir o sistema imune do hospedeiro devido a uma hiperexpressão ou aumento de função de PDL-1.

2 PROJETO DE PESQUISA

2.1 DESENVOLVIMENTO

2.1.1 RESUMO INFORMATIVO

O presente estudo visa avaliar o padrão de expressão do PDL-1 em pacientes diagnosticados com carcinoma de pulmão não-pequenas células e submetidos à ressecção cirúrgica e relacioná-lo com os dados clínico-patológicos. Para tanto, será realizado um estudo transversal, descritivo, analítico de CPNPC diagnosticados em um laboratório de Patologia da região Norte do Rio Grande do Sul, em um período de cinco anos, para avaliar a expressão de PDL-1 pelo método imuno-histoquímico. Os dados serão coletados do sistema de pesquisa de laudos anatomopatológicos do laboratório no período citado. Dos casos selecionados, serão revisados dados referentes ao histórico clínico, como: sexo, idade, localização do (s) tumor (s), subtipo do carcinoma e tamanho da lesão primária e variáveis histopatológicas dos CPNPC de acordo com os protocolos da World Health Organization (WHO) e American College of Pathology. A avaliação de PD-L1 será obtida pela verificação da marcação de membrana das células neoplásicas por meio de análise imuno-histoquímica, sendo que será dividida em: sem expressão de PDL-1, baixa expressão de PDL-1 e alta expressão de PDL-1. Serão critérios de inclusão do estudo: Pacientes com CPNPC, ambos os sexos, qualquer idade, submetidos ao procedimento referido no período delimitado, cujas amostras de tecido tumoral estejam armazenadas em biobanco no laboratório citado. Serão excluídos casos enviados como biópsia e pacientes com diagnóstico de carcinoma

pulmonar de outro tipo histológico diverso do CPNPC, além dos casos que se verifique 50% ou menos de células neoplásicas viáveis, ou pouco material embocado em parafina que inviabilize a realização do estudo imuno-histoquímico. Será utilizada estatística descritiva para verificar a frequência absoluta total e a frequência relativa percentual dos CPNPC. Para verificar a associação entre as variáveis serão utilizados testes não paramétricos, como Kruskal-Wallis e Mann-Whitney e o teste do Qui-quadrado com nível de significância de 5%. Crê-se encontrar relação direta da expressão de PDL-1 e algumas características histopatológicas do tumor, como subtipo histológico do carcinoma e grau de diferenciação celular.

2.1.2 TEMA

Neoplasias de pulmão não-pequenas células.

2.1.3 PROBLEMAS

- Quais dados clínico-patológicos se relacionam com a expressão imuno-histoquímica do biomarcador PDL-1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células?

2.1.4 HIPÓTESES

Variáveis clínico-patológicas, como idade, sexo, tipo histológico do tumor e grau de linfócitos tumorais infiltrantes tem relação com a expressão imuno-histoquímica do biomarcador PD-L1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células.

2.1.5 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar a expressão do PD-L1 em carcinomas de pulmão não-pequenas células e relacionar com dados clínico-patológicos.

Objetivos Específicos

- Analisar os dados clínicos dos pacientes portadores de carcinoma de pulmão submetidos a tratamento cirúrgico;
- Avaliar as características patológicas dos tumores de pulmão não-pequenas células.

2.1.6 JUSTIFICATIVA

O câncer de pulmão é principal causa de morte relacionada ao câncer em ambos os sexos, tendo o tabagismo como principal causa. Estudos recentes levantam a hipótese de atividade imunológica de biomarcadores no microambiente tumoral. Entre estes marcadores, destaca-se o PD-1 (programmed cell death 1) e seu ligante PD-L1 (programmed cell death ligand 1). O presente projeto tem como objetivo aumentar o conhecimento do microambiente tumoral em pacientes com câncer de pulmão não-pequenas células por meio da análise da expressão imunoistoquímica do PD-L1 nas células tumorais.

2.1.7 REFERENCIAL TEÓRICO

O câncer de pulmão, neoplasia maligna que mais mata em todo o território mundial, pode ser dividido basicamente em dois grandes grupos histológicos: carcinoma pulmonar não-pequenas células (CPNPC) e carcinoma pulmonar de pequenas células (CPPC), sendo o tipo não-pequenas células o mais comum, correspondendo a, aproximadamente, 85% dos casos. Dentro do CPNPC, encontramos o adenocarcinoma, o carcinoma de células escamosas e o carcinoma de células grandes (CECIL, 2015).

Os fatores de risco mais conhecidos para o CA de pulmão são tabaco; inalação de fumaça de cigarro no ambiente; exposição a carcinógenos como radônio, berílio, asbesto, hidrocarbonetos aromáticos polimorfonucleares, produtos da exaustão do diesel; Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC); e alimentação.

Discutindo especificamente acerca do carcinoma de pulmão não-pequenas células, destaca-se que este é a neoplasia de maior associação com o tabaco, possui um curto tempo de duplicação, alta taxa de proliferação e um desenvolvimento precoce de metástases. É derivado das células neuroendócrinas ASCL1+ residentes nas áreas de bifurcação dos brônquios e bronquíolos (LYNCH et al., 2004).

O rastreamento e a detecção precoce do CPNPC são indicados para pacientes de alto risco, os quais possuem entre 55 e 74 anos de idade e possuem carga tabágica superior a 30 anos-maço (CHURCH, 2013).

Os principais sintomas do CPNPC são tosse, perda de peso, dispneia, dor torácica e hemoptise. Na avaliação diagnóstica, a biópsia é fundamental para definir o subtipo histológico por meio

de avaliação morfológica, imunoistoquímica, bem como a caracterização do perfil molecular da neoplasia quando indicado.

Para a proteção contra a inflamação prejudicial e autoimunidade existem vários locais de controlo (checkpoints) que travam a resposta imunológica. Nas situações neoplásicas, a disfunção dessas proteínas pode levar à tolerância tumoral e, eventualmente, permitir que o tumor “escape” ao sistema imunológico. A célula T requer dois sinais para se tornar ativada. O primeiro surge da interação do receptor da célula T (TCR) com o MHC, o que dá especificidade à resposta imunológica. Para ser totalmente ativada, a célula T precisa de um sinal dependente de antígeno co-estimulador, que ocorre por meio da interação entre CD28 na célula T e B7-1 e B7-2 nas APC. A expressão de CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen-4) por células T representa um mecanismo importante para prevenir a superestimulação do sistema imunológico. O CTLA-4 tem uma afinidade 100 vezes maior com o complexo B7 do que o CD28, e essa interação leva a um efeito inibitório na célula T5 (CREELAN, 2014). A resposta imunológica mediada por células T é modulada por sinais estimuladores e inibitórios. As moléculas dos locais de controlo (moléculas coinibitórias) incluem o CTLA-4, PD-1 (programmed death-1), entre outros. A inibição das moléculas que regulam a resposta imunológica usando anticorpos tem sido objeto de investigação com resultados promissores. (SUNDAR, 2015).

A resposta imunológica mediada por células T é modulada por sinais estimuladores e inibitórios. As moléculas dos locais de controlo (moléculas coinibitórias) incluem o CTLA-4, PD-1 (programmed death-1), entre outros (CREELAN, 2014). A inibição das moléculas que regulam a resposta imunológica usando anticorpos tem sido objeto de investigação com resultados promissores. O receptor PD-1 é expresso em diversas células incluindo linfócitos CD4 e CD8, linfócitos B, células Natural Killer (NK) e T-Regs. Os ligandos de PD-1 incluem PD-L1 (programmed death ligand 1) e PD-L2 (programmed death ligand 2). Após indução por citocinas, PD-L1 ativa PD-1 nas células T, e origina uma regulação negativa da função efetora da célula T. O PD-L1 é expresso em cerca de 20-65% dos CPNPC. A inibição da via PD-1 e PD-L1 pode, portanto, reativar os linfócitos T, levando a uma resposta antitumoral prolongada. (MALHOTRA, 2017).

Hoje há vários estudos em andamento avaliando a associação entre a quimioterapia e os imunoterápicos anti-PDL-1, o que justifica sua pesquisa em pacientes com CPNPC em estágio avançado. (TRAVIS et al., 2015).

2.1.8 METODOLOGIA

2.1.8.1. Tipo de estudo

Trata-se de estudo qualitativo observacional do tipo transversal descritivo analítico.

2.1.8.2. Local e período de realização

O estudo será realizado em um laboratório de patologia da cidade de Passo Fundo-Rio Grande do Sul entre Setembro e Dezembro de 2018.

2.1.8.3. População e amostragem

População do estudo: Trata-se de pacientes com carcinoma de pulmão. Amostra: não probabilística, de conveniência, composta por todos os pacientes diagnosticados com carcinoma de pulmão NPC submetidos à ressecção parcial ou total do pulmão no período 2012-2017, cujos dados e suas lâminas histopatológicas encontram-se armazenados no laboratório do Instituto de Patologia de Passo Fundo. Amostra será composta por um "N" total de 80 pacientes.

Critérios de inclusão: Pacientes com CPNPC, ambos os sexos, qualquer idade, submetidos ao procedimento referido no período delimitado, cujas amostras de tecido tumoral estejam armazenadas em biobanco no laboratório citado.

Critérios de exclusão: Pacientes com diagnóstico de carcinoma pulmonar de outro tipo histológico diverso do CPNPC.

2.1.8.4. Variáveis e instrumentos de coleta de dados

Variáveis independentes: idade, sexo, sítio do tumor, subtipo do carcinoma, tamanho da lesão primária.

Variáveis dependentes: presença e grau de LTIs e acometimento linfonodal.

Instrumentos de coleta de dados: Será realizada a partir da base de dados de pesquisa do laboratório de patologia da cidade de Passo Fundo-RS, cujos pacientes possuem identificação de suas amostras em forma de números de registro. Os dados coletados do programa serão armazenados em uma planilha eletrônica, observando-se os critérios de inclusão e exclusão.

2.1.8.5. Logística

Os dados das fichas, os quais foram coletados dos prontuários, serão digitados duplamente em uma planilha eletrônica. Após essa coleta de dados e a seleção das amostras inclusas no estudo serem concluídas, será realizado o estudo imunoistoquímico para avaliação da expressão do PDL-1 nas amostras de tecido tumoral, com o anticorpo monoclonal anti-PDL-1 clone E1L3N Cell Signaling 0,1 ml. Para tanto, serão utilizados cortes de 3µm de tecido tumoral parafinado com revelação da reação com cromógeno diaminobenzina (DAB) e contracoloração com Gimsa. Os casos serão avaliados quanto a positividade ou não do PDL-1 (imunomarcação membranar em >5% das células neoplásicas). Nos casos positivos, será avaliada a porcentagem de células tumorais positivas e intensidade da reação: forte (+3), moderado (+2) e fraco (+1). (WEBER et al., 2015)

2.1.8.6. Processamento, controle de qualidade e análise dos dados

Processamento: A digitação de dados será feita em planilha eletrônica e as análises estatísticas serão feitas no PSPP (distribuição livre), compreendendo distribuição de frequências absoluta e relativa e testes de qui-quadrado para avaliar a correlação de variáveis independente e dependentes, considerando-se nível de significância estatística de 95%.

2.1.8.7. Aspectos éticos

Este estudo será realizado de acordo com a Resolução nº466/2012 da Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP). Será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), por meio do sistema eletrônico Plataforma Brasil.

Considerando-se que serão utilizados dados cadastrais e amostras biológicas armazenadas em biobanco de pacientes atendidos em período anterior a realização do estudo, sem qualquer intervenção direta nestes pacientes, solicita-se dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Portanto, em anexo, encontra-se o Termo de Dispensa de TCLE (apêndice 3).

Trata-se de pesquisa retrospectiva com uso de dados de registro e amostras de tecido tumoral emblocados em parafina do biobanco do local de realização do estudo, não havendo intervenção clínica direta nos pacientes. Além disso, os pacientes não estão em atendimento no local, e devido à agressividade do tumor, em muitos dos casos, os pacientes já vieram a óbito.

Riscos: Há o risco de exposição dos dados dos pacientes. Para minimizar o risco, trocaremos o nome do paciente por um número na ficha de cadastro. Se ocorrer, de alguma forma, exposição de dados dos pacientes, o estudo será interrompido.

Benefícios: comunidade poderá ser beneficiada de forma indireta, uma vez que, a identificação de características clínico-patológicas relacionadas a expressão do PDL-1 poderá contribuir com o melhor entendimento da imunologia do microambiente tumoral e contribuir para a identificação de pacientes que possam ter benefícios com imunoterapia.

2.1.9 RECURSOS

Os custos referentes à realização desse projeto serão arcados pela equipe de pesquisa.

ESPECIFICAÇÃO		PREÇO UNITÁRIO (R\$)	TOTAL (R\$)
1 DISPONÍVEIS NO IPPF			
1.1 Material Permanente			
Micrótomo	2	19.000,00	38.000,00
Processadora automática de tecidos	1	32.000,00	32.000,00
Estufa para processamento (parafina, cortes)	1	3.200,00	3.200,00
Estufa IHQ	1	1.280,00	1.280,00
Panela vapor	1	180,00	180,00
Banho-maria (IHQ)	1	1.739,10	1.739,10
Banho-maria (histológico)	1	399,00	399,00
Geladeira	1	598,00	598,00
Câmara úmida (IHQ)	4	99,00	396,00
Microscópio óptico	3	15.000,00	45.000,00
Computador	2	1.900,00	3.800,00
Impressora	1	1.100,00	1.100,00

Pipetador de 1000µL	1	129,00	129,00
Pipetador de 100µL	2	118,00	236,00
Pipetador de 50µL	1	115,00	115,00
Subtotal		76.857,10	128.172,10
Total disponível no IPPF		76.857,10	128.172,10
1.2 Material de Consumo			
Solução recuperação antigênica-Dako (500ml)	1	933,30	933,30
Kit DAB-Dako (110ml)	1	520,20	520,20
Caneta Easy Path	1	400,00	400,00
Silano (500 ml)	1	263,93	263,93
Lâminas histológicas (caixas com 50)	1	1.000,00	1.000,00
Lamínulas (caixas com 100)	15	63,00	945,00
Ponteiras (pacote com 1000 para 100µL)	8	49,00	392,00
Ponteiras (pacote com 1000 para 1000µL)	1	100,00	100,00
PBS (ampola mistura para 1000mL)	1	100,00	100,00
Formol (bombona 40L)	25	58,00	58,00
Álcool 99% (bombona 5L)	1	16,00	400,00
Xilol (frasco 1000mL)	20	250,00	250,00
Parafina (pacote com 2Kg)	20	14,00	280,00
Acetona P.A. (frasco com 1000mL)	8	38,00	760,00
Cassetes (pacote com 100 unidades)	5	63,00	508,00
Anticorpo monoclonal PD-L1	1	3.565,00	3.565,00
Subtotal		7.352,00	9.994,13
TOTAL		84.209,23	138.166,23

2.1.10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Organização Mundial da Saúde. **Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012**. [Internet] 2012 [cited 09/12/2015];

American Cancer Society. **CA Cancer J Clin 2017;67:7–30**. © 2017. 3. **Annals of Oncology. European Cancer Mortality Predictions for the Year 2015: Does Lung Cancer have the Highest Death Rate in EU Women?**. Access date: Oct. 26, 2015:

Ministério da Saúde. **Estimativas 2016/2017 por Tipos de Câncer** [Internet] Rio de Janeiro, Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Câncer; 2015;

CHURCH, Timothy R.. **Results of Initial Low-Dose Computed Tomographic Screening for Lung Cancer**. *New England Journal Of Medicine*, [s.l.], v. 368, n. 21, p.1980-1991, 23 maio 2013. *New England Journal of Medicine (NEJM/MMS)*.

TRAVIS, William D. et al. **The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors**. *Journal Of Thoracic Oncology*, [s.l.], v. 10, n. 9, p.1243-1260, set. 2015. Elsevier BV.

CREELAN, BC et al. **Update on immune checkpoint inhibitors in lung cancer**. *Cancer Control*. 2014;21(1):80-9.

SUNDAR, R. et al. **Nivolumab in NSCLC: latest evidence and clinical potential**. *Ther Adv Med Oncol*. 2015;7(2):85-96.

MALHOTRA, J. et al. **Current state of immunotherapy for non-small cell lung cancer**. *Transl Lung Cancer Res*. 2017;6(2):196-211.

LYNCH, Thomas J. et al. **Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non–Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib**. *New England Journal Of Medicine*, [s.l.], v. 350, n. 21, p.2129-2139, 20 maio 2004. *New England Journal of Medicine (NEJM/MMS)*.

WEBER, Jeffrey S et al. **Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial**. **The Lancet Oncology**, [s.l.], v. 16, n. 4, p.375-384, abr. 2015.

2.1.11. APÊNDICES

APÊNDICE I

TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS EM ARQUIVO

Título do projeto: Estudo da expressão imunoistoquímica do PD-L1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células: correlação com dados clínico-patológicos
Pesquisador Responsável: Josiane Borges Stolfo

Os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos participantes do protocolo de pesquisa, cujos dados serão coletados em banco de dados e/ou com materiais provenientes de biobancos (blocos de parafina) do Instituto de Patologia de Passo Fundo - IPPF. Concordam, igualmente, que essas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. Comprometem-se, igualmente, a fazer divulgação dessas informações coletadas somente de forma anônima.

Passo Fundo, ____ de _____ de ____.

Nome dos Pesquisadores	Assinatura
Josiane Borges Stolfo	

Ícaro de Azevedo Alexandre	
Julia Pastorello	

APÊNDICE II

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA USO DE DADOS DO BIOBANCO

O presente termo tem por objetivo a autorização de utilização de dados do biobanco (tecido emblocado em parafina e cortes de tecido parafinado em lâminas coradas em Hematoxilina-Eosina) e ficha cadastral dos pacientes, provenientes do INSTITUTO DE PATOLOGIA DE PASSO FUNDO –RS, para uso no trabalho de conclusão de curso (TCC) intitulado como “Estudo da expressão imunohistoquímica do PD-L1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células: correlação com dados clínico-patológicos” da faculdade de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul campus Passo Fundo-RS.

Passo Fundo, 08 de junho de 2018

Instituto de Patologia de Passo Fundo - RS

APÊNDICE III

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/UFS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

SOLICITAÇÃO DE DISPENSA

ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO PD-L1 EM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

Esta pesquisa será desenvolvida por Ícaro de Azevedo Alexandre, discente da graduação em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFS), Campus de Passo Fundo sob orientação da pesquisadora principal e responsável Professora Josiane Borges Stolfo.

O objetivo central do estudo é analisar os dados clínicos dos pacientes portadores de carcinoma de pulmão submetidos a tratamento cirúrgico e avaliar as características patológicas dos tumores de pulmão não-pequenas células.

A importância das informações se deve à alta incidência e taxa de mortalidade do câncer de pulmão não-pequenas células, ocorrendo então a necessidade de analisar os dados, visando contribuir com o tratamento proposto aos pacientes.

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações obtidas.

Caso haja algum vazamento de informações, o estudo será interrompido.

Os resultados não serão devolvidos diretamente aos participantes, tendo em vista que não se terá acesso aos mesmos. Portanto, a devolutiva dos resultados será dada aos responsáveis pelo serviço, podendo subsidiar ações que visem a qualificar o atendimento à população.

Os pesquisadores ficarão em posse dos dados a partir do momento em que ocorrer a aprovação do projeto pelo CEP até o término da pesquisa, e aceite final do artigo em periódico indexado.

Os dados serão acessados diretamente no sistema do IPPF e armazenados em um único computador, pessoal de propriedade do pesquisador principal do projeto. Após o término da pesquisa, os dados serão descartados.

As informações serão utilizadas para correlacionar as interpretações da observação das lâminas de imunoistoquímica com os dados dos pacientes e interpretar os resultados.

Local da coleta: Sede Instituto de Patologia de Passo Fundo; instrumentos de coleta: bancos de dados; tipo de dados a serem coletados: idade, sexo, sítio do tumor, subtipo do carcinoma, tamanho da lesão primária, presença e grau de LTIs e acometimento linfonodal.

A comunidade poderá ser beneficiada de forma indireta, uma vez que, a identificação de características clínico-patológicas relacionadas a expressão do PDL-1 poderá contribuir com o melhor entendimento da imunologia do microambiente tumoral e contribuir para a identificação de pacientes que possam ter benefícios com imunoterapia.

Há o risco de exposição dos dados dos pacientes. Para minimizar o risco, trocaremos o nome do paciente por um número na ficha de cadastro. Se ocorrer, de alguma forma, exposição de dados dos pacientes, o estudo será interrompido.

Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais.

Devido à importância da pesquisa e com base na Resolução CNS Nº 466 de 2012 - IV.8, solicito a dispensa da obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelas justificativas:

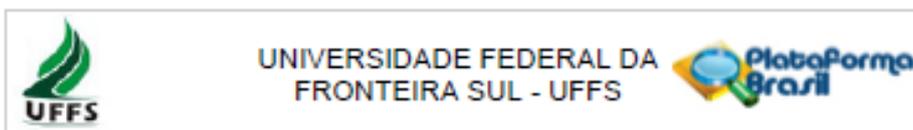
Trata-se de pesquisa transversal com uso de dados secundários de registro e amostras de tecido tumoral emblocados em parafina do biobanco do local de realização do estudo, não havendo intervenção clínica direta nos pacientes. Além disso, os pacientes não estão em atendimento no local, e devido à agressividade do tumor, em muitos dos casos, os pacientes já vieram a óbito.

Passo Fundo, 01 de agosto de 2018

Josiane Borges Stolfo

APÊNDICE IV

APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA UFFS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO PD-L1 EM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

Pesquisador: JOSIANE BORGES STOLFO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 91970318.4.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.819.936

Apresentação do Projeto:

TRANSCRIÇÃO DESENHO:

Trata-se de estudo qualitativo observacional do tipo transversal descritivo analítico.

Os resultados do estudo não serão devolvidos diretamente aos participantes, tendo em vista que não se terá acesso aos mesmos. Portanto, a

devolutiva dos resultados será dada aos responsáveis pelo serviço, podendo subsidiar ações que visem a qualificar o atendimento à população.

RELATORIA: ADEQUADO.

TRANSCRIÇÃO RESUMO:

O Carcinoma de pulmão é uma neoplasia altamente agressiva, sendo a principal causa de morte relacionado ao câncer em ambos os sexos, tendo o

tabagismo como principal causa. Com diagnóstico geralmente tardio, os carcinomas de pulmão apresentam uma variedade histopatológica bastante

heterogênea. O insucesso da quimioterapia, radioterapia e cirurgia instigou a comunidade científica a proceder investigações acerca de

biomarcadores ou alterações genéticas que poderão estar envolvidas tanto na gênese quanto na

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-800
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2046-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.906

supressão tumoral. A partir dessa iniciativa, foram descobertas e aprovadas drogas-alvo que atuam em diferentes etapas da carcinogênese. Sob essa perspectiva, em relação ao câncer de pulmão, estudos vêm atudando a favor de drogas-alvo nos mecanismos de escape tumoral do sistema Imune, como o eixo PD-1 (Programmed cell death 1 receptor) e PD-L1 (Programmed cell death 1 ligant). Estudos recentes propõem a ideia de que as células tumorais podem evadir o sistema Imune do hospedeiro devido à hiperexpressão ou aumento de função do PD-L1, que pode estar expresso em diversos tumores sólidos, incluindo o carcinoma de pulmão não-pequenas células (CPNPC). Os carcinomas com expressão deste marcador, tendem a apresentar maior progressão tumoral e sobrevida mais curta, visto a inativação dos linfócitos tumorais infiltrantes (LTIs) no microambiente tumoral. Será realizado um estudo com 80 casos de CPNPC submetidos à ressecção cirúrgica, diagnosticados em um laboratório de Patologia da região Norte do Rio Grande do Sul no período de janeiro de 2012 a janeiro de 2017. O presente estudo, tem como objetivo avaliar a expressão Imunoistoquímica do PD-L1 em CPNPC, correlacionando com os dados clínico-patológicos.

RELATORIA: ADEQUADO.

Objetivo da Pesquisa:

TRANSCRIÇÃO OBJETIVOS:

Objetivo Primário:

Avaliar a expressão do PD-L1 em carcinomas de pulmão não-pequenas células e correlacionar com dados clínico-patológicos.

Objetivo Secundário:

Analisar os dados clínicos dos pacientes portadores de carcinoma de pulmão submetidos a tratamento cirúrgico; Avaliar as características patológicas dos tumores de pulmão não-pequenas células.

RELATORIA: ADEQUADOS.

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 89.815-800
UF: SC Município: CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.930

TRANSCRIÇÃO HIPÓTESE:

Variáveis clínico-patológicas, como idade, sexo, tipo histológico do tumor e grau de linfócitos tumorais infiltrantes tem correlação com a expressão Imuno-histoquímica do biomarcador PD-L1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células.

RELATORIA: ADEQUADA.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

TRANSCRIÇÃO RISCOS:

Há o risco de exposição dos dados dos pacientes. Para minimizar o risco, trocaremos o nome do paciente por um número na ficha de cadastro. Se ocorrer, de alguma forma, exposição de dados dos pacientes, o estudo será interrompido.

RELATORIA: ADEQUADO.

TRANSCRIÇÃO BENEFÍCIOS:

A comunidade poderá ser beneficiada de forma indireta, uma vez que, a identificação de características clínico-patológicas relacionadas a expressão do PD-L1 poderá contribuir com o melhor entendimento da imunologia do microambiente tumoral e contribuir para a identificação de pacientes que possam ter benefícios com imunoterapia.

RELATORIA: ADEQUADO.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

TRANSCRIÇÃO METODOLOGIA:

Tipo de estudo: Trata-se de estudo qualitativo observacional do tipo transversal descritivo analítico.

Local e período de realização: O estudo será realizado em um laboratório de patologia da cidade de Passo Fundo-Rio Grande do Sul entre Setembro e Dezembro de 2018.

População e amostragem

População do estudo: Trata-se de pacientes com carcinoma de pulmão. Amostra: não probabilística, de conveniência, composta por todos os

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 89.815-800
UF: SC Município: CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.906

pacientes diagnosticados com carcinoma de pulmão NPC submetidos à ressecção parcial ou total do pulmão no período 2012-2017, cujos dados e suas lâminas histopatológicas encontram-se armazenados no laboratório do Instituto de Patologia de Passo Fundo. Amostra será composta por um

"N" total de 80 pacientes.

Variáveis e Instrumentos de coleta de dados:

Variáveis Independentes: Idade, sexo, sítio do tumor, subtipo do carcinoma, tamanho da lesão primária.

Variáveis dependentes: presença e grau de LTIs e acometimento linfonodal.

Instrumentos de coleta de dados: Será realizada a partir da base de dados de pesquisa do laboratório de patologia da cidade de Passo Fundo-RS,

cujos pacientes possuem identificação de suas amostras em forma de números de registro. Os dados coletados do programa serão armazenados

em uma planilha eletrônica, observando-se os critérios de inclusão e exclusão.

Logística: Os dados das fichas, os quais foram coletados dos prontuários, serão digitados duplamente em uma planilha eletrônica. Após essa coleta

de dados e a seleção das amostras inclusas no estudo serem concluídas, será realizado o estudo Imunoistoquímico para avaliação da expressão do

PDL-1 nas amostras de tecido tumoral, com o anticorpo monoclonal anti-PDL-1 clone E1L3N Cell Signaling 0,1 ml. Para tanto, serão utilizados cortes

de 3m de tecido tumoral parafinado com revelação da reação com cromógeno diaminobenzina (DAB) e contracoloração com Gimsa. Os casos serão

avaliados quanto a positividade ou não do PDL-1 (Imunomarcação membranar em >5% das células neoplásicas). Nos casos positivos, será avaliada

a porcentagem de células tumorais positivas e intensidade da reação: forte (+3), moderado (+2) e fraco (+1). (WEBER et al., 2015)

Aspectos éticos

Este estudo será realizado de acordo com a Resolução n°466/2012 da Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP). Será submetido ao

Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), por meio do sistema eletrônico Plataforma

Brasil.

Considerando-se que serão utilizados dados cadastrais e amostras biológicas armazenadas em

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 89.815-800
UF: SC Município: CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.036

biobanco de pacientes atendidos em período anterior a realização do estudo, sem qualquer intervenção direta nestes pacientes, solicita-se dispensa do Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido (TCLE). Portanto, em anexo, encontra-se o Termo de Dispensa de TCLE (apêndice 3).

Riscos: Há o risco de exposição dos dados dos pacientes. Para minimizar o risco, trocaremos o nome do paciente por um número na ficha de

cadastro. Se ocorrer, de alguma forma, exposição de dados dos pacientes, o estudo será interrompido.

Dados: Os pesquisadores ficarão em posse dos dados a partir do momento em que ocorrer a aprovação do projeto pelo CEP até o término da

pesquisa, e aceite final do artigo em periódico indexado. Os dados serão acessados diretamente no sistema do IPPF e armazenados em um único

computador, pessoal de propriedade do pesquisador principal do projeto. Após o término da pesquisa, os dados serão descartados.

Benefícios: A comunidade poderá ser beneficiada de forma indireta, uma vez que, a identificação de características clínico-patológicas relacionadas

a expressão do PDL-1 poderá contribuir com o melhor entendimento da imunologia do microambiente tumoral e contribuir para a identificação de

pacientes que possam ter benefícios com imunoterapia.

Critério de Inclusão:

Pacientes com CPNPC, ambos os sexos, qualquer idade, submetidos ao procedimento referido no período delimitado, cujas amostras de tecido tumoral estejam armazenadas em biobanco no laboratório citado.

Critério de Exclusão:

Pacientes com diagnóstico de carcinoma pulmonar de outro tipo histológico diverso do CPNPC.

RELATORIA: ADEQUADO.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATORIA ADEQUADOS.

Conclusões ou Pendências e Lista de inadequações:

OS PESQUISADORES ATENDERAM AS SOLICITAÇÕES CONFORME PARECER ANTERIOR.

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 89.815-800
UF: SC Município: CHAPECO
Telefone: (49)2040-3745 E-mail: cep.uffa@uffa.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.936

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador(a)

A partir desse momento o CEP passa a ser corresponsável, em termos éticos, do seu projeto de pesquisa – vide artigo X.3.9. da Resolução 466 de 12/12/2012.

Fique atento(a) para as suas obrigações junto a este CEP ao longo da realização da sua pesquisa. Tenha em mente a Resolução CNS 466 de 12/12/2012, a Norma Operacional CNS 001/2013 e o Capítulo III da Resolução CNS 251/1997. A página do CEP/UFFS apresenta alguns pontos no documento “Deveres do Pesquisador”.

Lembre-se que:

1. No prazo máximo de 6 meses, a contar da emissão deste parecer consubstanciado, deverá ser enviado um relatório parcial a este CEP (via NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil) referindo em que fase do projeto a pesquisa se encontra. Veja modelo na página do CEP/UFFS. Um novo relatório parcial deverá ser enviado a cada 6 meses, até que seja enviado o relatório final.
2. Qualquer alteração que ocorra no decorrer da execução do seu projeto e que não tenha sido prevista deve ser imediatamente comunicada ao CEP por meio de EMENDA, na Plataforma Brasil. O não cumprimento desta determinação acarretará na suspensão ética do seu projeto.
3. Ao final da pesquisa deverá ser encaminhado o relatório final por meio de NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil. Deverá ser anexado comprovação de publicação dos resultados. Veja modelo na página do CEP/UFFS.

Em caso de dúvida:

Contate o CEP/UFFS: (49) 2049-3745 (8:00 às 12:00 e 14:00 às 17:00) ou cep.uffs@uffs.edu.br;

Contate a Plataforma Brasil pelo telefone 136, opção 8 e opção 9, solicitando ao atendente suporte Plataforma Brasil das 08h às 20h, de segunda a sexta;

Contate a “central de suporte” da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

Boa pesquisa!

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 89.815-800
UF: SC Município: CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.936

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1154620.pdf	02/08/2018 15:08:32		Aceito
TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCE2.pdf	02/08/2018 15:07:13	JOSIANE BORGES STOLFO	Aceito
Outros	CARTARESPOSTA.pdf	02/08/2018 14:26:34	JOSIANE BORGES STOLFO	Aceito
Outros	documento.pdf	02/08/2018 14:02:16	JOSIANE BORGES STOLFO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TCC.pdf	15/06/2018 13:15:20	JOSIANE BORGES STOLFO	Aceito
Outros	AUTORIZ.pdf	15/06/2018 13:10:23	JOSIANE BORGES STOLFO	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	dados.pdf	15/06/2018 13:08:52	JOSIANE BORGES STOLFO	Aceito
Folha de Rosto	folhs.pdf	15/06/2018 13:05:25	JOSIANE BORGES STOLFO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CHAPECO, 14 de Agosto de 2018

Assinado por:
Valéria Silvana Faganello Madureira
(Coordenador)

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 80.815-800
UF: SC Município: CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br

2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA

2.2.1 APRESENTAÇÃO

Este relatório de pesquisa foi desenvolvido para detalhar as atividades referentes ao Trabalho de Conclusão de Curso, requerido pela Universidade Federal da Fronteira Sul para graduação em Medicina, cujo tema é *Estudo da expressão imuno-histoquímica do PDL-1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células: relação com dados clínico-patológicos*.

No Brasil, as estimativas do INCA (Instituto Nacional do Câncer) para 2016, mostraram uma taxa de incidência para tumores de pulmão de 17.330 novos casos (8,1%) para homens e 10.890 casos (5,3%) para mulheres. Desconsiderando os tumores de pele não-melanomas, o câncer de pulmão em homens é o segundo mais frequente nas regiões Sul e Centro-Oeste. Nas regiões Sudeste, Nordeste e Norte é o terceiro mais frequente. Para as mulheres é o terceiro mais frequente na região Sul. Nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste ocupa a quarta posição. Já na região Norte é o quinto mais frequente (Brasil, 2016).

O carcinoma de pulmão, incluindo o tipo não pequenas células, tem um diagnóstico geralmente tardio, o que determina que esse tumor já esteja em um estágio mais avançado, contribuindo para o aumento da alta taxa de mortalidade da doença. Destaca-se ainda que a neoplasia maligna de pulmão apresenta uma variedade histopatológica bastante heterogênea com mecanismos de carcinogênese diversos e complexos.

O insucesso, em muitos pacientes, da quimioterapia, da radioterapia e da cirurgia, planos de terapia que foram padronizados e preconizados por muitos anos, instigou a comunidade científica a proceder investigações acerca de biomarcadores ou alterações genéticas, os quais estão envolvidos tanto na gênese quanto na supressão tumoral, em vários sítios do corpo, incluindo o pulmonar.

A partir dessa iniciativa da comunidade científica foram descobertas e aprovadas muitas “drogas-alvo” que atuam em diferentes etapas do mecanismo de carcinogênese, como na proliferação celular e na invasão. Entretanto, o tratamento de um número consideravelmente elevado de pacientes falhou mesmo com a utilização dessas drogas. Com o fito de mudar essa situação, nos últimos anos, no meio científico, há uma crescente ideia de compreender como o sistema imunológico humano se comporta durante a carcinogênese de diversos tumores, nos quais estão incluídas as neoplasias pulmonares.

2.2.2 DESENVOLVIMENTO

2.2.2.1 LOGÍSTICA DA COLETA DE DADOS

O presente estudo foi submetido à Plataforma Brasil em junho de 2018 e aprovado em agosto do ano de 2018, conforme o parecer anexado na seção de apêndices (apêndice IV). Após a aprovação – que se ocorreu após uma sugestão de mudança em proposições metodológicas – o trabalho foi realizado no Instituto de Patologia de Passo Fundo, na unidade do Hospital da Cidade de Passo Fundo. O levantamento de dados se deu a partir do banco de dados do referido laboratório, selecionando apenas àqueles que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão já citados na metodologia do Projeto de Pesquisa.

Este levantamento de dados foi realizado pelo acadêmico Ícaro de Azevedo Alexandre e pela coordenadora do presente projeto Josiane Borges Stolfo, em um período de 5 horas.

Usando critério de inclusão “pacientes submetidos à ressecção cirúrgica”, foram encontrados 57 casos. Os 57 atendiam aos critérios de inclusão e exclusão, sendo então selecionados ao estudo. Estes 57 casos compõem a amostra do estudo, divergindo da estimativa inicial de 80 casos.

A fim de evitar exposição dos dados, estes não foram impressos. Ocorreu uma própria transcrição eletrônica e exportação dos dados diretamente do programa do Instituto de Patologia de Passo Fundo para uma planilha eletrônica, com codificação numérica para cada variável utilizada.

Com os casos já selecionados, realizou-se o estudo imuno-histoquímica das lâminas histopatológicas, avaliando os parâmetros relevantes para esta pesquisa. Os dados histopatológicos também foram transcritos para uma ficha eletrônica onde cada critério foi codificado numericamente, quanti e qualitativamente.

2.2.2.2 PERÍODO DA COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi realizada entre os meses de agosto e outubro de 2018, conforme cronograma do projeto. Não ocorreram intercorrências no projeto após a aprovação pelo Comitê de Ética em Ensino e Pesquisa tampouco durante a coleta e análise dos dados.

2.2.2.3 PERDAS E RECUSAS

As perdas ocorridas durante a execução do projeto limitaram-se aos casos excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão e/ou não conterem informações suficientes para serem incluídos no estudo.

No artigo, o título do projeto foi alterado para “Estudo da expressão imuno-histoquímica do PDL-1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células: relação com dados clínico-patológicos.” Essa troca foi realizada apenas pela não concordância de uma palavra com a metodologia e execução disposta no projeto.

2.2.2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo mostrou-se relevante, tanto para o conhecimento científico quanto para a formação e aprendizagem dos pesquisadores. Os resultados descritos no artigo confirmam alguns dados já descritos na literatura e instigam a realização de novas pesquisas relacionadas ao assunto do projeto, pesquisas estas que, hoje, são altamente difundidas no âmbito científico-médico.

3. ARTIGO

CAPÍTULO 1

Avaliação da expressão imuno-histoquímica do PDL-1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células: relação com dados clínico-patológicos

Ícaro de Azevedo Alexandre¹, Josiane Borges Stolfo², Julia Pastorello³

(Artigo que será submetido no *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*)

¹ Graduando do curso de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, Passo Fundo-RS, Brasil.

^{2*} Professora de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, Passo Fundo, Brasil.

³ Médica Oncologista do Hospital da Cidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

* Corresponding author: J.B. Stolfo. Universidade Federal da Fronteira Sul. E-mail: josistolfo@gmail.com

RESUMO

Introdução: O carcinoma de pulmão é a principal causa de morte por câncer no mundo, possuindo como principal fator etiológico o tabagismo. Com o avanço da ciência, a descoberta dos “checkpoints” imunológicos corrobora a hipótese de que ligantes presentes no tumor modulam os mecanismos de carcinogênese e a atividade imunológica do microambiente tumoral. Entre as moléculas corregulatórias mais estudadas na atualidade, destacam-se a PD-1 (programmed cell death 1) e seu ligante PD-L1 (programmed cell death ligand 1). **Objetivo:** Avaliar a expressão do PD-L1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células e verificar a associação deste marcador com dados clínico-patológicos. **Métodos:** Foram selecionadas 57 pacientes com diagnóstico de CPNPC submetidos à ressecção cirúrgica de lesão primária a qual teve sua análise anatomopatológica realizada no Instituto de Patologia de Passo Fundo – RS. Nestes, foi avaliada a expressão imuno-histoquímica do PDL-1 por meio de técnica com anticorpo específico. **Resultados:** A média de idade dos pacientes foi de 67,6 anos. A localização mais comum foi no pulmão direito (61,4%). O tipo histológico predominante foi o adenocarcinoma (59,7%). Tanto os adenocarcinomas quanto os carcinomas de células escamosas foram mais frequentes no sexo masculino. Não foi encontrada diferença estatística quando comparados o sexo e o tipo do tumor ($p = 0,371$). A média do tamanho da lesão foi de 2,75 cm e a maioria dos tumores eram moderadamente diferenciados (73,7%). Expressão do PDL-1 pelas CT foi observada em 61,40% (35/57) dos casos. Baixa expressão de PDL-1 foi observada em 36,84% e alta expressão em 24,56% dos casos. **Conclusão:** A verificação da expressão de PDL-1 e suas associações com as características clínico-patológicas em neoplasias pulmonares de células não-pequenas permite maiores informações sobre possíveis características histopatológicas prognósticas nestas neoplasias. Os resultados obtidos nesse estudo não apontaram diferenças na expressão de PDL-1 entre os subtipos de carcinomas pulmonares, no entanto, são de grande interesse, pois poderão estimular estudos adicionais deste biomarcador.

Palavras-chave: carcinoma pulmonar; PDL-1; microambiente tumoral.

INTRODUÇÃO

O câncer de pulmão é a neoplasia mais incidente e a principal causa de morte por câncer no mundo (1,2). Segundo estimativas do INCA, no Brasil, é a segunda neoplasia mais frequente em homens e a quarta mais frequente em mulheres nas regiões Sul e Centro-oeste (3). O principal fator de risco é o tabagismo, destacando-se também, fatores genéticos e outros fatores ambientais diversos do tabaco (2). No estudo do microambiente tumoral, sabe-se da existência de mecanismos de escape tumoral do sistema imune, com conseqüente progressão tumoral (4–6). Um destes mecanismos é a superexpressão do ligante 1 de morte celular programada (*Programmed Cell Death Ligand-1 – PDL-1*). A ligação do PDL-1 ao seu receptor *Programmed Cell Death Protein 1* (PD-1), presente nas células imunes, leva à inativação de linfócitos citotóxicos ao tumor, sugerindo que a expressão do PDL-1 pelas células tumorais pode ser fator prognóstico adverso, tanto em câncer de pulmão, como em outros tumores sólidos (7,8) (9). Como há dados controversos na literatura acerca da expressão do PDL-1 em carcinomas pulmonares, o objetivo do presente estudo foi avaliar a expressão deste marcador em carcinomas pulmonares não-pequenas células e verificar a associação com variáveis clinicopatológicas, como idade, sexo, tamanho do tumor primário, subtipo histológico, grau de diferenciação e comprometimento de linfonodos mediastinais.

MÉTODOS

Seleção de casos e desenho do estudo

Foi realizado um estudo qualitativo observacional do tipo transversal descritivo analítico, com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Fronteira Sul. Foram analisadas 57 amostras de carcinoma pulmonar não-pequenas células, no período de 2012 a 2017, provenientes de um laboratório de Patologia do Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram selecionadas de espécimes provenientes somente de ressecção completa da lesão, que consistia de carcinoma pulmonar não-pequenas células, com amostragem de linfonodos locorregionais. Amostras provenientes de biópsias, sem amostragem linfonodal ou que não fossem classificados como carcinoma pulmonar de pequenas células foram excluídas do estudo. As características clínicas analisadas incluíram idade e sexo dos pacientes, e sítio anatômico do tumor (pulmão direito ou esquerdo).

Análise histopatológica

O diagnóstico de carcinoma pulmonar não-pequenas células foi obtido através da análise das secções tumorais, coradas pela hematoxilina & eosina (H&E). Foram analisadas as características

histopatológicas como: tipo histológico (adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas ou outros), tamanho da lesão, grau de diferenciação e presença ou ausência de metástases em linfonodos regionais.

Análise imuno-histoquímica

Para a análise IHQ foram selecionados os blocos de parafina das secções de H&E, previamente analisadas, em cortes de 3 μ m.

Para a avaliação da expressão do *Programmed Cell Death Ligand -1* (PDL-1) foi utilizado o anticorpo monoclonal anti- PDL-1 (clone E1L3N 0,1mg, CellSignaling®). As lâminas foram incubadas *overnight* com o anticorpo primário em temperatura ambiente na diluição 1:300. Todas as lâminas tinham controles positivos para PDL-1 (placenta). A imunocoloração foi revelada pelo cromógeno diaminobenzidina (DAB) e todas as lâminas foram contracoradas com HH.

A análise IHQ foi realizada com o microscópio óptico Zeiss Axio ScopeA.1 e as fotomicrografias obtidas com o equipamento Bioptika 5.0.

Avaliação da expressão de PDL-1

A análise da expressão do PDL-1 foi realizada semi-quantitativamente, através da porcentagem (%) de células tumorais (CT) marcadas. As amostras foram consideradas positivas quando a imunomarcagem membranar, completa ou incompleta, de qualquer intensidade foi observada em $\geq 1\%$ das CT. Casos positivos com expressão entre 1% e 5% foram considerados baixa expressão, e acima de 5% da CT como alta expressão. As intensidades da coloração membranar nas CT foram avaliadas como fraca (1), moderada (2) e intensa (3). (**Figura 1** e **Figura 2**).

Figura 1. Imuno-histoquímica com aumento 400x.

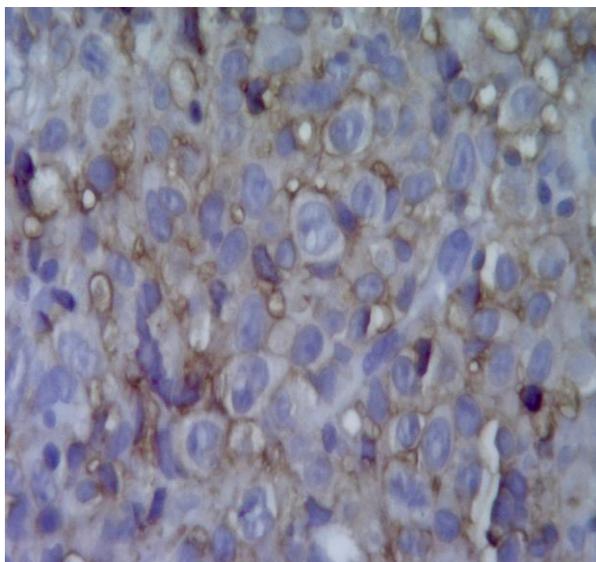
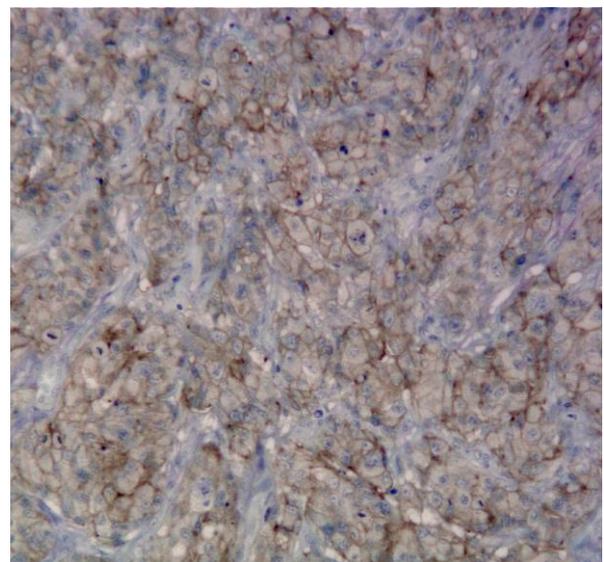


Figura 2. Imuno-histoquímica com aumento 100x.

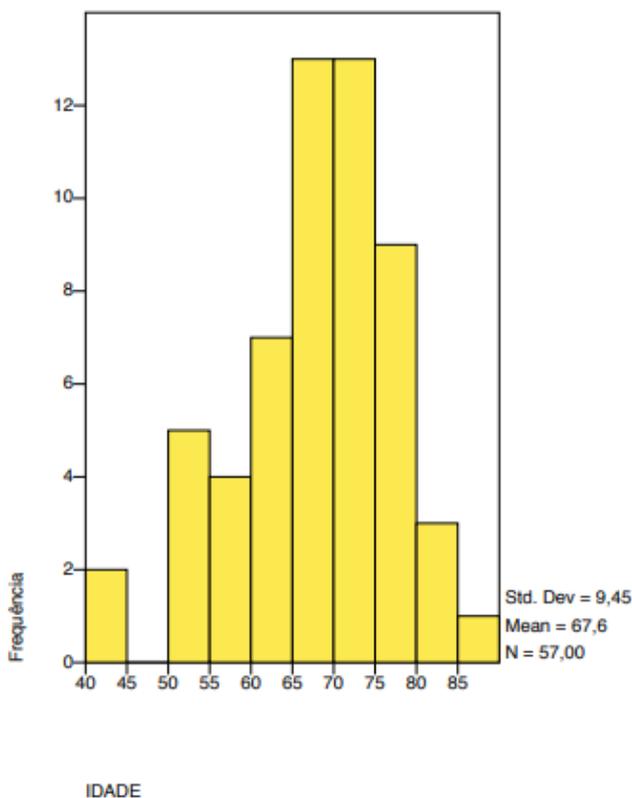


Análise estatística

A análise estatística foi realizada com o pacote PSPP. Os dados foram descritos em função da média, desvio padrão, mínima e máxima para as variáveis quantitativas e frequências absoluta e relativa para as variáveis qualitativas. Foram elencadas as frequências absoluta e relativa das características clínico-patológicas do tumor. A associação da expressão do marcador PDL-1 com as características clínico-patológicas foi realizada usando o teste do Qui-quadrado. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

A média de idade dos pacientes (21 mulheres e 36 homens) foi de 67,6 anos (**Figura 1**). A



localização mais comum foi no pulmão direito (61,4%). O tipo histológico predominante foi o adenocarcinoma (59,7%). Tanto os adenocarcinomas quanto os carcinomas de células escamosas foram mais frequentes no sexo masculino. Não foi encontrada diferença estatística quando comparados o sexo e o tipo do tumor ($p = 0,371$). A média do tamanho da lesão foi de 2,75 cm e a maioria dos tumores eram moderadamente diferenciados (73,7%). Comprometimento de linfonodos regionais foi observado em 29,8%. As características clínico-patológicas dos pacientes estão sumarizadas na **tabela 1**.

Figura 1. Gráfico referente às idades dos pacientes da amostra.

	N	%
Sexo		
Masculino	36	63,16
Feminino	21	36,84
Idade		
<65 anos	20	35,08
>65 anos	37	64,92
Sítio do tumor		
Pulmão Direito	35	61,40
Pulmão Esquerdo	22	38,60
Tipo do tumor		
Adenocarcinoma	34	59,65
Epidermoide	22	38,60
Indeterminado	1	1,75
Grau de Diferenciação		
Bem Diferenciado	6	10,53
Moderadamente Diferenciado	42	73,68
Pouco Diferenciado	9	15,79
Tamanho Lesão Primária		
0 - 2 cm	14	25,45
2,01 – 3 cm	10	18,18
3,01 – 5 cm	15	27,27
5,01 – 7 cm	8	14,55
> 7 cm	8	14,55
Linfonodo		
Positivo	17	29,82
Negativo	40	70,18
Expressão PD-L1		
Negativo	22	38,60
Baixa Expressão	21	36,84
Alta Expressão	14	24,56

Tabela 1. Dados clínico-patológicos dos pacientes com CPNPC.

Expressão do PDL-1 pelas CT foi observada em 61,40% (35/57) dos casos. Baixa expressão de PDL-1 foi observada em 36,84% e alta expressão em 24,56% dos casos. Não houve associação entre os níveis de expressão de PDL-1 com tipo histológico, sítio da lesão, tamanho do tumor primário e comprometimento linfonodal. Maiores níveis de expressão de PDL-1 foram observados em tumores moderadamente e pouco diferenciados. As associações entre a expressão do PDL-1 e as características clínico-patológicas dos carcinomas pulmonares estão ilustradas na **Figura 3** e na **Figura 4**.

Figura 3. Associação do tipo histológico do CPNPC e expressão de PDL-1.

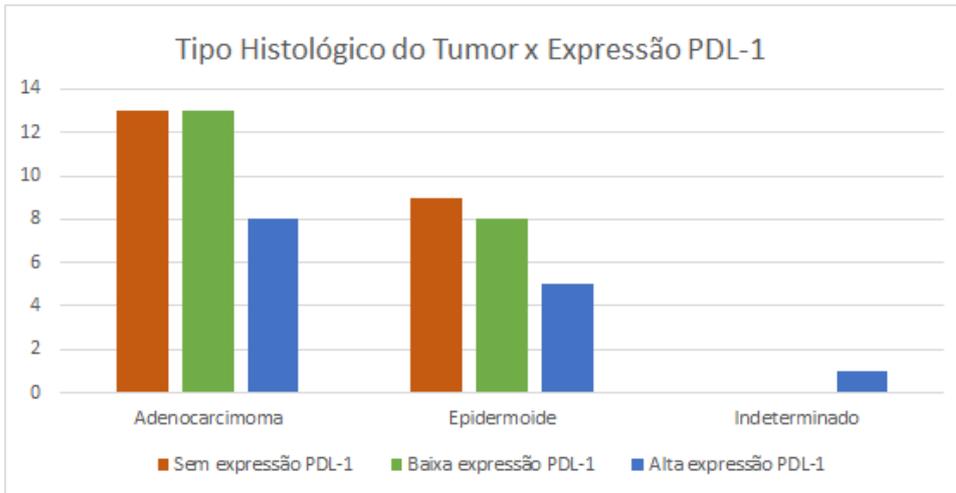
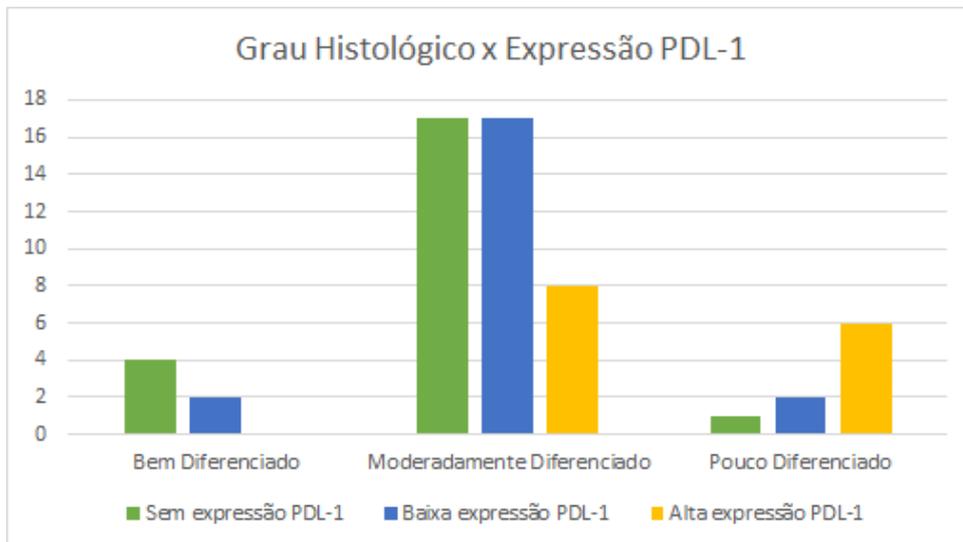


Figura 4. Associação do grau histológico do CPNPC e expressão de PDL-1.



DISCUSSÃO

A ocorrência de carcinoma pulmonar no Brasil é maior em homens e em pacientes com idade superior a 65 anos. (3). Entre o subtipo histológico, tendo como base alguns estudos epidemiológicos, observa-se uma maior prevalência de adenocarcinoma em relação ao carcinoma de células escamosas. (2). Nossos achados no estudo corroboram dados da literatura, tendo em vista que entre os 57 casos de CPNPC avaliados, a idade mediana foi de 69 anos, 64,9% dos pacientes possuíam mais de 65 anos, 63,2% eram do sexo masculino e 59,7% do subtipo histológico adenocarcinoma.

Nossos resultados demonstraram que a expressão de PDL-1 foi observada em 61,40% dos casos, considerando os casos com baixa (<5%) e alta expressão (>5%). Em outros estudos, esta expressão variou em torno de 25,2% e 24,8% (10). Não há um consenso padronizado para avaliação da expressão

deste marcador por imuno-histoquímica com relação aos níveis de expressão, sendo que vários estudos consideram 1%, 5%, 10% e 50% das células tumorais para definir os grupos de expressão. (11). Em um estudo, foi descrito que a expressão deste biomarcador foi mais frequente em estágios precoces (I e II), indicando que isto pode ser um evento precoce na história natural da doença, em função da ativação do sistema imune e interação com o hospedeiro, o tumor e as alterações no microambiente tumoral. (11). A expressão do PDL-1 constitui um mecanismo de escape do sistema imune, uma vez que a hiperexpressão deste ligante pode inativar linfócitos citotóxicos ao tumor (12). Neoplasias com maior expressão de PDL-1, como melanomas, carcinomas de mama, carcinomas de células renais e gliomas apresentam grande heterogeneidade e estão em um grupo de doenças com pior prognóstico e sobrevida mais curta (13–16). Nossos resultados apontam que os tumores com maior expressão de PDL-1 foram os carcinomas com menor grau de diferenciação (grau 3), não havendo, no entanto, diferença estatística quanto ao subtipo histológico das lesões. Neste sentido, sabe-se que CPNPC pobremente diferenciados mostraram maior expressão de PDL-1, em comparação aos bem diferenciados (10).

Há controvérsia na literatura quanto ao impacto na sobrevida e progressão tumoral em CPNPC com maior expressão de PDL-1 (17). No entanto, pacientes com este perfil podem ser candidatos a imunoterapia direcionada ao bloqueio do eixo PD-1/PDL-1, com boas taxas de resposta (18). Assim, pressupõem-se que terapias direcionadas ao bloqueio do eixo PD-1/PDL-1, poderão ter benefício clínico por reativar a resposta imune antitumoral e impedir a progressão tumoral com menores chances de metástases (6).

Em conclusão, a verificação da expressão de PDL-1 e suas associações com as características clínico-patológicas em neoplasias pulmonares de células não-pequenas, permite maiores informações sobre possíveis características histopatológicas prognósticas nestas neoplasias. Os resultados obtidos nesse estudo não apontaram diferenças na expressão de PDL-1 entre os subtipos de carcinomas pulmonares, no entanto, são de grande interesse, pois poderão estimular estudos adicionais deste biomarcador. Assim, busca-se um melhor entendimento do microambiente tumoral e o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que possam resultar em aumento da resposta imune antitumoral através da desativação do mecanismo de escape tumoral do sistema imune.

Agradecimentos

Ao Instituto de Patologia de Passo Fundo pela assistência com a seleção das amostras no biobanco e com as técnicas de imuno-histoquímica.

Referências

1. Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA. Lung Cancer: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clin Chest Med*. 2011;32(4):605–44.
2. Sadeghi-Gandomani H, Asgari-Tarazoj A, Ghoncheh M, Yousefi S., Delaram M, Salehiniya H. Lung Cancer in the World : the Incidence , Mortality Rate and Risk Factors. *World Cancer Res J*. 2017;4(3):1–10.
3. Araujo LH, Baldotto C, de Castro Jr G, Katz A, Gil Ferreira C, Mathias C, et al. Câncer de pulmão no Brasil. *J Bras Pneumol [Internet]*. 2018;44(1)(1):55–64.
4. Taube JM, Anders R a, Young GD, Xu H, Sharma R, Mcmiller TL, et al. Mechanism of Immune Escape. *sci Transl Med*. 2013;4(127):1–22.
5. Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med*. 2013;19(11):1423–37.
6. Sapoznik S, Hammer O, Ortenberg R, Besser MJ, Ben-Moshe T, Schachter J, et al. Novel anti-melanoma immunotherapies: Disarming tumor escape mechanisms. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012.
7. Ameratunga M, Asadi K, Lin X, Walkiewicz M, Murone C, Knight S, et al. PD-L1 and Tumor infiltrating lymphocytes as prognostic markers in resected NSCLC. *PLoS One*. 2016;11(4):1–13.
8. Yu H, Boyle TA, Zhou C, Rimm DL, Hirsch FR. PD-L1 expression in lung cancer. *J Thorac Oncol [Internet]*. 2016;11(7):964–75.
9. Wu P, Wu D, Li L, Chai Y, Huang J. PD-L1 and survival in solid tumors: A meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(6):1–15.
10. Kim H, Kwon HJ, Park SY, Park Y, Park E, Chung JH. Clinicopathological analysis and prognostic significance of programmed cell death-ligand 1 protein and mRNA expression in non-small cell lung cancer. *PLoS One*. 2018;13(6):1–14.
11. Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, Anagnostou VK, Syrigos KN, Sznol M, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Investig*. 2014;94(1):107–16.
12. Juneja VR, McGuire KA, Manguso RT, LaFleur MW, Collins N, Haining WN, et al. PD-L1 on tumor cells is sufficient for immune evasion in immunogenic tumors and inhibits CD8 T cell cytotoxicity. *J Exp Med*. 2017;214(4):895–904.
13. Zeng J, Zhang X-K, Chen H-D, Zhong Z-H, Wu Q-L, Lin S-X. Expression of programmed cell death-ligand 1 and its correlation with clinical outcomes in gliomas. *Oncotarget*.

2016;7(8).

14. Leite KR, Reis ST, Junior JP, Zerati M, Gomes Dde O, Camara-Lopes LH, et al. PD-L1 expression in renal cell carcinoma clear cell type is related to unfavorable prognosis. *Diagn Pathol.* 2015;10(1):189.
15. Wimberly H, Brown JR, Schalper K, Haack H, Silver MR, Nixon C, et al. PD-L1 Expression Correlates with Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(4):326–32.
16. Massi D, Brusa D, Merelli B, Ciano M, Audrito V, Serra S, et al. PD-L1 marks a subset of melanomas with a shorter overall survival and distinct genetic and morphological characteristics. *Ann Oncol.* 2014;25(September):2433–42.
17. Schmidt LH, Kümmel A, Görlich D, Mohr M, Bröckling S, Mikesch JH, et al. PD-1 and PD-L1 expression in NSCLC indicate a favorable prognosis in defined subgroups. *PLoS One.* 2015;10(8):1–15.
18. Philips GK, Atkins M. Therapeutic uses of anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies. *Int Immunol.* 2015;27(1):39–46.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O câncer de pulmão é a neoplasia que mais mata em todo o mundo. Divide-se, basicamente, em dois grandes grupos histológicos, carcinoma de pulmão não-pequenas células e carcinoma de pulmão de pequenas células, sendo o primeiro mais frequente.

O principal fator de risco para a ocorrência dessa neoplasia é o uso do tabaco. A sintomatologia caracteriza-se essencialmente pelo emagrecimento, dispneia, tosse, rouquidão. O diagnóstico é feito impreterivelmente por biópsia, a qual visa a esclarecer subtipo histológico e demais características microscópicas do tumor.

Hoje, cada vez mais, há uma tendência à individualização do tratamento de um paciente portador de um câncer. Nesse sentido, o estudo imuno-histoquímico de um tumor pode revelar características capazes de sugerir diferentes terapias. No caso do CPNPC, os tumores que expressam a proteína PDL-1 possibilitam um escape do sistema imune, travando a própria resposta do organismo contra as células neoplásicas.

Assim, a inibição das moléculas que regulam a resposta imunológica usando anticorpos tem sido objeto de investigação com resultados promissores. Na atualidade, há vários estudos em andamento avaliando a associação entre a quimioterapia e os imunoterápicos anti-PDL-1, o que justifica sua pesquisa em pacientes com CPNPC em estágio avançado.

Este estudo avaliou a associação entre a expressão do PDL-1 e os dados clínico-patológicos dos pacientes, como idade, sexo, localização da lesão, subtipo do tumor, grau de diferenciação celular, além da presença e grau de LTIs.

Um resultado a ser destacado no estudo é que a expressão do PDL-1 ocorreu principalmente em tumor mais agressivos, isto é, tumores com baixo grau de diferenciação.

Concluimos então que pode haver benefício clínico na implementação de terapias direcionadas ao bloqueio do eixo PD-1/PDL-1, por reativar a resposta imune antitumoral, o que, conseqüentemente, poderá impedir a progressão tumoral e aumentar a sobrevida dos pacientes.

5. ANEXOS

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA PARA SUBMISSÃO DE ARTIGO

ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE PDL-1 EM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: RELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade bimestral (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro), é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), da Sociedade Brasileira de Patologia (SBP) e da Sociedade Brasileira de Citopatologia (SBC). É indexado no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periodica e no Chemical Abstracts e é integrante da base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO). Destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial e aceita as seguintes categorias: artigos originais, de revisão, de atualização, experimentais, relatos de caso, comunicações breves e cartas aos editores. Os trabalhos podem ser submetidos nos idiomas português, inglês ou espanhol, mas o texto completo será publicado apenas em inglês, com resumo em português ou espanhol.

ANÁLISE DOS TRABALHOS

O manuscrito recebido será enviado para, pelo menos, dois avaliadores independentes, pares científicos, de renome e com conhecimento específico na área contemplada pelo artigo. Após análise pelos avaliadores, o editor-chefe do JBPML entrará em contato com o autor principal comunicando os passos a serem seguidos na aceitação do trabalho para publicação ou sua eventual rejeição.

ÉTICA

Estudos realizados com seres humanos, incluindo órgãos e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Quando pertinente, o trabalho deverá ter aprovação do comitê de ética da instituição onde foi realizada a pesquisa, em consonância com a

Declaração de Helsinki, atualizada em 2008.

Nos trabalhos experimentais envolvendo animais, devem ser respeitados os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as normas estabelecidas no Guide for Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, Washington, D.C., atualizada em 2011). As drogas e substâncias químicas eventualmente utilizadas na realização do trabalho devem ser identificadas com precisão. Não devem ser utilizados nomes ou iniciais do paciente nem informados nomes comerciais, de empresas e/ou registros de hospitais.

RESPONSABILIDADE DA AUTORIA E CONFLITO DE INTERESSES

De acordo com as diretrizes elaboradas pelo International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), atualizada em 2013, a autoria deve ser validada para: a) concepção e projeto do trabalho ou aquisição, análise e interpretação dos dados; b) redação inicial do artigo ou revisão crítica do seu conteúdo; c) aprovação final da versão para publicação; d) responsabilidade para todos os aspectos do trabalho, garantindo que questões relacionadas à acurácia ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam adequadamente investigadas e analisadas. Todos os autores listados no artigo devem preencher os quatro critérios de validação de autoria para serem designados como tal. Os participantes do trabalho que não preencherem os quatro critérios devem ser incluídos na seção de Agradecimentos (Acknowledgements). O autor principal deve especificar a contribuição de cada um nas diferentes etapas do estudo.

Do mesmo modo, o autor principal deve declarar ou negar a existência de possíveis conflitos de interesse. Caso exista algum conflito, ele deve ser especificado como nota no final do artigo.

RESUMOS E UNITERMOS

Independentemente do idioma no qual o trabalho foi escrito, devem constar dois resumos: um em português (Resumo) e outro em inglês (Abstract). Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 250 palavras para artigos originais, artigos de revisão e artigos de atualização; e máximo de 100 palavras para relatos de caso e comunicações breves). Caso o trabalho tenha sido escrito em espanhol, deverá haver um resumo também nesse idioma.

Os unitermos, palavras que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de três a seis, utilizando o vocabulário controlado Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da BIREME, acrescidos de outros termos, quando necessário. Devem ser apresentados em

português e inglês. Caso o trabalho tenha sido escrito em espanhol, deverá haver descritores também nesse idioma.

AGRADECIMENTOS

Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas à pessoa ou à instituição que contribuiu substancialmente para a elaboração do trabalho. Devem ser incluídos após as conclusões e antes das referências bibliográficas.

ESTRUTURA DO TEXTO

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original que possam ser replicados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências Bibliográficas.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O Abstract (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências bibliográficas devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências bibliográficas.

Artigos de revisão

Serão aceitos apenas mediante convite.

Avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto, devem incluir conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do texto, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos, exige-se um resumo

estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Relatos de caso

São trabalhos de observações clínico-laboratoriais originais, acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato (s) dos (s) caso (s) e Discussão. Incluir um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês.

Cartas aos editores

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase “para publicação”.

REFERÊNCIAS

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

Exemplos:

- **Artigos de periódicos (um só autor)**

Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da ‘política racial’ do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.

- **Artigos de periódicos (até seis autores)**

Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA.

Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. Arch Pathol Lab Med. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.

- **Artigos de periódicos (mais de seis autores)**

Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-*H. pylori* antibodies in Brazilian blood donors. Braz J Med Biol Res. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.

- **Artigo de periódico on-line**

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. Infect Control Hosp Epidemiol [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.

- **Livros no todo (dois autores)**

Eyre HJ, Lange DP. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.

- **Capítulos ou parte de livro editado por outro autor**

Mendeenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. Cancer: principles and practice of oncology. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.

- **Parte de livro em meio eletrônico**

São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: São Paulo (Estado). Entendendo o meio ambiente. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.

- **Evento em meio eletrônico**

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

- **Tese ou dissertação**

Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.

- **Citações no texto**

Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser

acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

Tabelas e figuras

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

O GNPapers aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png, e com resolução de no mínimo 300 dpi.

O direito à privacidade do paciente não deve ser infringido. Imagens que eventualmente permitam a identificação pessoal somente poderão ser utilizadas com consentimento por escrito do paciente ou responsável, quando da submissão do manuscrito

Abreviações e nomes de medicamentos

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.

ANEXO B – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO PROJETO



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO PD-L1 EM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

Pesquisador: JOSIANE BORGES STOLFO

Versão: 2

CAAE: 91970318.4.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 068891/2018

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Informamos que o projeto ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO PD-L1 EM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS que tem como pesquisador responsável JOSIANE BORGES STOLFO, foi recebido para análise ética no CEP Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS em 21/06/2018 às 11:45.

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar

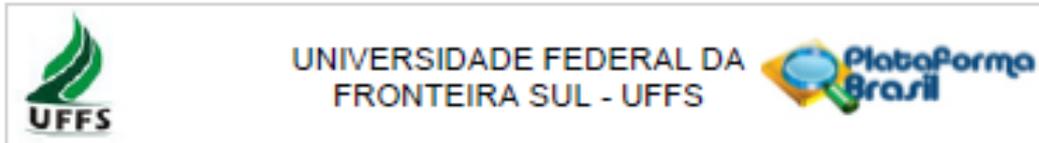
Bairro: Área Rural CEP: 89.615-800

UF: SC Município: CHAPECO

Telefone: (40)2040-3745

E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br

ANEXO C – PARECER DE APROVAÇÃO DO PROJETO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO PD-L1 EM CARCINOMA DE PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS

Pesquisador: JOSIANE BORGES STOLFO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 91970318.4.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.819.936

Apresentação do Projeto:

TRANSCRIÇÃO DESENHO:

Trata-se de estudo qualitativo observacional do tipo transversal descritivo analítico.

Os resultados do estudo não serão devolvidos diretamente aos participantes, tendo em vista que não se terá acesso aos mesmos. Portanto, a

devolutiva dos resultados será dada aos responsáveis pelo serviço, podendo subsidiar ações que visem a qualificar o atendimento à população.

RELATORIA: ADEQUADO.

TRANSCRIÇÃO RESUMO:

O Carcinoma de pulmão é uma neoplasia altamente agressiva, sendo a principal causa de morte relacionado ao câncer em ambos os sexos, tendo o

tabagismo como principal causa. Com diagnóstico geralmente tardio, os carcinomas de pulmão apresentam uma variedade histopatológica bastante

heterogênea. O insucesso da quimioterapia, radioterapia e cirurgia instigou a comunidade científica a proceder investigações acerca de

biomarcadores ou alterações genéticas que poderão estar envolvidas tanto na gênese quanto na

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-800
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.936

supressão tumoral. A partir dessa iniciativa, foram descobertas e aprovadas drogas-alvo que atuam em diferentes etapas da carcinogênese. Sob essa perspectiva, em relação ao câncer de pulmão, estudos vêm atudando a favor de drogas-alvo nos mecanismos de escape tumoral do sistema Imune, como o eixo PD-1 (Programmed cell death 1 receptor) e PD-L1 (Programmed cell death 1 ligant). Estudos recentes propõem a ideia de que as células tumorais podem evadir o sistema Imune do hospedeiro devido à hiperexpressão ou aumento de função do PD-L1, que pode estar expresso em diversos tumores sólidos, incluindo o carcinoma de pulmão não-pequenas células (CPNPC). Os carcinomas com expressão deste marcador, tendem a apresentar maior progressão tumoral e sobrevida mais curta, visto a inativação dos linfócitos tumorais infiltrantes (LTIs) no microambiente tumoral. Será realizado um estudo com 80 casos de CPNPC submetidos à ressecção cirúrgica, diagnosticados em um laboratório de Patologia da região Norte do Rio Grande do Sul no período de janeiro de 2012 a janeiro de 2017. O presente estudo, tem como objetivo avaliar a expressão Imunoistoquímica do PD-L1 em CPNPC, correlacionando com os dados clínico-patológicos.

RELATORIA: ADEQUADO.

Objetivo da Pesquisa:

TRANSCRIÇÃO OBJETIVOS:

Objetivo Primário:

Avallar a expressão do PD-L1 em carcinomas de pulmão não-pequenas células e correlacionar com dados clínico-patológicos.

Objetivo Secundário:

Analisar os dados clínicos dos pacientes portadores de carcinoma de pulmão submetidos a tratamento cirúrgico; Avallar as características patológicas dos tumores de pulmão não-pequenas células.

RELATORIA: ADEQUADOS.

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 89.815-800
UF: SC Município: CHAPECÓ
Telefone: (49)2040-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.938

TRANSCRIÇÃO HIPÓTESE:

Variáveis clínico-patológicas, como idade, sexo, tipo histológico do tumor e grau de linfócitos tumorais infiltrantes tem correlação com a expressão Imuno-histoquímica do biomarcador PD-L1 em carcinoma de pulmão não-pequenas células.

RELATORIA: ADEQUADA.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

TRANSCRIÇÃO RISCOS:

Há o risco de exposição dos dados dos pacientes. Para minimizar o risco, trocaremos o nome do paciente por um número na ficha de cadastro. Se ocorrer, de alguma forma, exposição de dados dos pacientes, o estudo será interrompido.

RELATORIA: ADEQUADO.

TRANSCRIÇÃO BENEFÍCIOS:

A comunidade poderá ser beneficiada de forma indireta, uma vez que, a identificação de características clínico-patológicas relacionadas a expressão do PD-L1 poderá contribuir com o melhor entendimento da imunologia do microambiente tumoral e contribuir para a identificação de pacientes que possam ter benefícios com imunoterapia.

RELATORIA: ADEQUADO.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

TRANSCRIÇÃO METODOLOGIA:

Tipo de estudo: Trata-se de estudo qualitativo observacional do tipo transversal descritivo analítico.
Local e período de realização: O estudo será realizado em um laboratório de patologia da cidade de Passo Fundo-Rio Grande do Sul entre Setembro e Dezembro de 2018.
População e amostragem
População do estudo: Trata-se de pacientes com carcinoma de pulmão. Amostra: não probabilística, de conveniência, composta por todos os

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 89.615-800
UF: SC Município: CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.938

pacientes diagnosticados com carcinoma de pulmão NPC submetidos à ressecção parcial ou total do pulmão no período 2012-2017, cujos dados e

suas lâminas histopatológicas encontram-se armazenados no laboratório do Instituto de Patologia de Passo Fundo. Amostra será composta por um

"N" total de 80 pacientes.

Variáveis e Instrumentos de coleta de dados:

Variáveis Independentes: Idade, sexo, sítio do tumor, subtipo do carcinoma, tamanho da lesão primária.

Variáveis dependentes: presença e grau de LTIs e acometimento linfonodal.

Instrumentos de coleta de dados: Será realizada a partir da base de dados de pesquisa do laboratório de patologia da cidade de Passo Fundo-RS,

cujos pacientes possuem identificação de suas amostras em forma de números de registro. Os dados coletados do programa serão armazenados

em uma planilha eletrônica, observando-se os critérios de inclusão e exclusão.

Logística: Os dados das fichas, os quais foram coletados dos prontuários, serão digitados duplamente em uma planilha eletrônica. Após essa coleta

de dados e a seleção das amostras inclusas no estudo serem concluídas, será realizado o estudo imunohistoquímico para avaliação da expressão do

PDL-1 nas amostras de tecido tumoral, com o anticorpo monoclonal anti-PDL-1 clone E1L3N Cell Signaling 0,1 ml. Para tanto, serão utilizados cortes

de 3m de tecido tumoral parafinado com revelação da reação com cromógeno diaminobenzina (DAB) e contracoloração com Gimsa. Os casos serão

avaliados quanto a positividade ou não do PDL-1 (Imunomarcagem membranar em >5% das células neoplásicas). Nos casos positivos, será avaliada

a porcentagem de células tumorais positivas e intensidade da reação: forte (+3), moderado (+2) e fraco (+1). (WEBER et al., 2015)

Aspectos éticos

Este estudo será realizado de acordo com a Resolução n°466/2012 da Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP). Será submetido ao

Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), por meio do sistema eletrônico Plataforma

Brasil.

Considerando-se que serão utilizados dados cadastrais e amostras biológicas armazenadas em

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar

Bairro: Área Rural

CEP: 89.815-800

UF: SC

Município: CHAPECO

Telefone: (49)2048-3745

E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.006

biobanco de pacientes atendidos em período anterior a realização do estudo, sem qualquer intervenção direta nestes pacientes, solicita-se dispensa do Termo de Consentimento Livre e

Esclarecido (TCLE). Portanto, em anexo, encontra-se o Termo de Dispensa de TCLE (apêndice 3).

Riscos: Há o risco de exposição dos dados dos pacientes. Para minimizar o risco, trocaremos o nome do paciente por um número na ficha de

cadastro. Se ocorrer, de alguma forma, exposição de dados dos pacientes, o estudo será interrompido.

Dados: Os pesquisadores ficarão em posse dos dados a partir do momento em que ocorrer a aprovação do projeto pelo CEP até o término da

pesquisa, e aceite final do artigo em periódico indexado. Os dados serão acessados diretamente no sistema do IPPF e armazenados em um único

computador, pessoal de propriedade do pesquisador principal do projeto. Após o término da pesquisa, os dados serão descartados.

Benefícios: A comunidade poderá ser beneficiada de forma indireta, uma vez que, a identificação de características clínico-patológicas relacionadas

a expressão do PDL-1 poderá contribuir com o melhor entendimento da imunologia do microambiente tumoral e contribuir para a identificação de

pacientes que possam ter benefícios com imunoterapia.

Critério de Inclusão:

Pacientes com CPNPC, ambos os sexos, qualquer idade, submetidos ao procedimento referido no período delimitado, cujas amostras de tecido

tumoral estejam armazenadas em biobanco no laboratório citado.

Critério de Exclusão:

Pacientes com diagnóstico de carcinoma pulmonar de outro tipo histológico diverso do CPNPC.

RELATORIA: ADEQUADO.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATÓRIA ADEQUADOS.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

OS PESQUISADORES ATENDERAM AS SOLICITAÇÕES CONFORME PARECER ANTERIOR.

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar

Bairro: Área Rural

CEP: 89.815-800

UF: SC

Município: CHAPECO

Telefone: (49)2046-3745

E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019.908

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador(a)

A partir desse momento o CEP passa a ser corresponsável, em termos éticos, do seu projeto de pesquisa – vide artigo X.3.9. da Resolução 466 de 12/12/2012.

Fique atento(a) para as suas obrigações junto a este CEP ao longo da realização da sua pesquisa. Tenha em mente a Resolução CNS 466 de 12/12/2012, a Norma Operacional CNS 001/2013 e o Capítulo III da Resolução CNS 251/1997. A página do CEP/UFFS apresenta alguns pontos no documento "Deveres do Pesquisador".

Lembre-se que:

1. No prazo máximo de 6 meses, a contar da emissão deste parecer consubstanciado, deverá ser enviado um relatório parcial a este CEP (via NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil) referindo em que fase do projeto a pesquisa se encontra. Veja modelo na página do CEP/UFFS. Um novo relatório parcial deverá ser enviado a cada 6 meses, até que seja enviado o relatório final.
2. Qualquer alteração que ocorra no decorrer da execução do seu projeto e que não tenha sido prevista deve ser imediatamente comunicada ao CEP por meio de EMENDA, na Plataforma Brasil. O não cumprimento desta determinação acarretará na suspensão ética do seu projeto.
3. Ao final da pesquisa deverá ser encaminhado o relatório final por meio de NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil. Deverá ser anexado comprovação de publicação dos resultados. Veja modelo na página do CEP/UFFS.

Em caso de dúvida:

Contate o CEP/UFFS: (49) 2049-3745 (8:00 às 12:00 e 14:00 às 17:00) ou cep.uffs@uffs.edu.br;

Contate a Plataforma Brasil pelo telefone 136, opção 8 e opção 9, solicitando ao atendente suporte Plataforma Brasil das 08h às 20h, de segunda a sexta;

Contate a "central de suporte" da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

Boa pesquisa!

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar

Bairro: Área Rural

CEP: 89.815-800

UF: SC

Município: CHAPECO

Telefone: (49)2049-3745

E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 2.019/208

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1154620.pdf	02/08/2018 15:08:32		Acelto
TCE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCE2.pdf	02/08/2018 15:07:13	JOSIANE BORGES STOLFO	Acelto
Outros	CARTARESPOSTA.pdf	02/08/2018 14:26:34	JOSIANE BORGES STOLFO	Acelto
Outros	documento.pdf	02/08/2018 14:02:16	JOSIANE BORGES STOLFO	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TCC.pdf	15/06/2018 13:15:20	JOSIANE BORGES STOLFO	Acelto
Outros	AUTORIZ.pdf	15/06/2018 13:10:23	JOSIANE BORGES STOLFO	Acelto
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	dados.pdf	15/06/2018 13:08:52	JOSIANE BORGES STOLFO	Acelto
Folha de Rosto	folhs.pdf	15/06/2018 13:05:25	JOSIANE BORGES STOLFO	Acelto

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CHAPECO, 14 de Agosto de 2018

Assinado por:

Valéria Silvana Faganello Madureira
(Coordenador)

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco de Biblioteca - sala 310, 3º andar

Bairro: Área Rural CEP: 89.815-900

UF: SC Município: CHAPECO

Telefone: (49)2040-3745

E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br

**ANEXO D – TERMO DE CIÊNCIA DO VOLUME FINAL DO TRABALHO DE
CONCLUSÃO DE CURSO**

**ESTUDO DA EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE PDL-1 EM CARCINOMA DE
PULMÃO NÃO-PEQUENAS CÉLULAS: RELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-
PATOLÓGICOS**

TERMO DE CIÊNCIA DO VOLUME FINAL DO TCC

Eu, professora Josiane Borges Stolfo, declaro ter conferido as correções realizadas no artigo científico, conforme sugestão da Comissão Examinadora. Declaro também que estou ciente do conteúdo que compõe o volume final do TCC do Acadêmico Ícaro de Azevedo Alexandre

.

Por ser verdade, firmo o presente documento.

Passo Fundo, _____ de _____ de _____.

Prof. Me. Josiane Borges Stolfo