



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS PASSO FUNDO

CURSO DE MEDICINA

EDUARDA VENDRAME

**ANÁLISES IMUNO-HISTOQUÍMICA E SÉRICA DE MARCADORES
TUMORAIS EM ADENOCARCINOMAS PANCREÁTICOS**

PASSO FUNDO, RS

2021

EDUARDA VENDRAME

**ANÁLISES IMUNO-HISTOQUÍMICA E SÉRICA DE MARCADORES
TUMORAIS EM ADENOCARCINOMAS PANCREÁTICOS**

Trabalho de Curso de graduação apresentado como requisito parcial para obtenção do título de médico da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Passo Fundo.

Orientador (a): Prof^a. Me^a. Daniela Augustin Silveira.

Coorientador (a): Prof^a. Dr^a. Jossimara Poletini

PASSO FUNDO, RS

2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Vendrame, Eduarda

Análises Imuno-histoquímica e Sérica de Marcadores
Tumorais em Adenocarcinomas Pancreáticos / Eduarda
Vendrame. -- 2021.
78 f.:il.

Orientadora: Profª Meª Daniela Augustin Silveira
Co-orientadora: Profª Drª Jossimara Polettini
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina, Passo Fundo, RS, 2021.

1. Neoplasias Pancreáticas. 2. Adenocarcinoma
Pancreáticos. 3. Antígeno Ki-67. 4. Imuno-histoquímica.
5. Prognóstico. I. Silveira, Daniela Augustin, orient.
II. Polettini, Jossimara, co-orient. III. Universidade
Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

EDUARDA VENDRAME

**ANÁLISES IMUNO-HISTOQUÍMICA E SÉRICA DE MARCADORES
TUMORAIS EM ADENOCARCINOMAS PANCREÁTICOS**

Trabalho de Curso de graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul, campus Passo Fundo.

Orientadora: Prof^ª. Me^a. Daniela Augustin Silveira

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^a. Jossimara Poletini

Este Trabalho de Curso foi defendido e aprovado pela banca em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Me^a. Daniela Augustin Silveira
Orientadora

Prof. Dr. Fernando Fornari

Prof. Dr. Gustavo Olszanski Acrani

*À minha mãe e à minha irmã (in
memorian) que sempre acreditaram no
meu sonho e são as razões por eu estar
nesta fase da vida hoje.*

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora *Daniela* e à minha coorientadora *Jossimara*, professoras as quais eu tenho profunda admiração, que pacientemente me instruíram ao longo do projeto, contribuíram imensamente para minha formação como médica e fomentaram meu interesse pela pesquisa.

À professora *Ivana* e ao professor *Gustavo*, que foram essenciais para o desenvolvimento do projeto, que sempre me acolheram e me auxiliaram nesta jornada.

À esta *universidade* e ao *Serviço de Patologia do HSVP*, por oportunizarem a realização deste trabalho.

À minha *mãe*, que é meu maior exemplo na vida. Torço para que um dia eu seja metade do que ela é.

À minha *irmã Gabrielly*, que vive dentro de mim, que me ensinou o significado de uma vida bem vivida, sem ela nada disso seria possível.

À *vó Dilema*, meu exemplo de força, que lutou bravamente contra o câncer de pâncreas e é a razão pela qual eu busquei entender um pouco mais sobre essa doença.

À minha *família*, por me incentivarem e me apoiarem desde sempre.

Ao meu namorado *Paulo*, que além de ser meu aconchego e minha paz em Passo Fundo, leu e releu inúmeras vezes este trabalho e me auxiliou em todas as etapas do TC.

Aos meus gatos, *Joaquim e Elvis*, por me ensinarem a forma mais pura do amor, por serem minhas energias e por fazerem meus dias melhores.

Às minhas amigas de infância *Gabriela, Gabrielle e Joana* que, mesmo a quilômetros de distância, estão sempre presentes e me incentivando nesta jornada.

Às minhas colegas e amigas *Dandara, Luiza, Maria e Tayla* que estiveram presentes em todos momentos felizes e desafiadores da faculdade e, também, nos momentos ansiedade e angústias na elaboração do TC.

À *ATM 2023/02*, pela parceria e por tornar minha jornada acadêmica muito mais leve.

A *todos* que, de alguma forma, contribuíram e me auxiliaram a chegar até aqui.

*“Não sou nada.
Nunca serei nada.
Não posso querer ser nada
À parte disso, tenho em mim todos os sonhos do mundo.”
Heterônimo Álvaro de Campos no poema Tabacaria*

RESUMO

O estudo “Análises Imuno-histoquímica e Sérica De Marcadores Tumorais Em Adenocarcinomas Pancreáticos” foi realizado pela aluna Eduarda Vendrame, discente do curso de Medicina da UFFS – campus Passo Fundo, sob orientação da Prof. Me. Daniela Augustin Silveira e coorientação da Prof^a. Dr^a. Jossimara Poletini, entre os anos de 2020 e 2021, na cidade de Passo Fundo, RS e faz parte do Trabalho de Curso de graduação, como requisito parcial, para obtenção do título de bacharel em Medicina. O intuito do trabalho é analisar marcadores no tecido tumoral, mediante reação imuno-histoquímica, marcadores séricos e correlacioná-los com o prognóstico e a sobrevida dos pacientes portadores de adenocarcinoma pancreático. O estudo está em conformidade com o Manual de Trabalhos Acadêmicos da Universidade Federal da Fronteira Sul, 2º edição, revisado e atualizado no ano de 2015 e com o Regulamento de TC do curso. Este volume é composto por 3 capítulos: Projeto de pesquisa, Relatório e Artigo científico. O primeiro foi desenvolvido no componente curricular de Trabalho de Curso I, no primeiro semestre acadêmico de 2020, e visa esclarecer o delineamento do estudo, assim como os objetivos, hipóteses e a metodologia utilizada para chegar aos resultados. O Relatório, foi desenvolvido no componente curricular TC II, no segundo semestre acadêmico de 2020, contendo informações importantes acerca do estudo realizado e da logística empregada, assim como as alterações ocorridas ao longo do mesmo. No Artigo, desenvolvido no componente curricular de TC III, no primeiro semestre acadêmico de 2021, consta a apresentação dos resultados da pesquisa e da discussão, e as conclusões.

Palavras-chave: Câncer pancreático, Adenocarcinoma, Ki-67, Ca19.9, prognóstico

ABSTRACT

The study “Immunohistochemical and Serum Analysis of Tumor Markers in Pancreatic Adenocarcinomas” was produced by student Eduarda Vendrame, student of the UFFS Medicine course - Passo Fundo campus, under the orientation of Prof. Me. Daniela Augustin Silveira e cororientation of , between the years 2020 and 2021, in the city of Passo Fundo and is part of the Undergraduate Coursework to obtain the bachelor's degree in Medicine. The aim of the study is to analyze markers in the tumor tissue, through immunohistochemical reaction, serum markers and correlate them with the prognosis and survival of patients with pancreatic adenocarcinoma. The study is in accordance with the Academic Works Manual of the Federal University of Fronteira Sul, 2nd edition, revised and updated in 2015. This volume consists of 3 chapters: Research Project, Report and Scientific Article. The first was developed in “Trabalho de Curso I”, in the first semester of 2020, and aims to clarify the outline of the study, as well as the objectives, hypotheses and the methodology used to arrive at the results. The Report, was developed in the curricular component TC II, in the second semester of 2020, and contain important information about the schedule and the logistics used, as well as the changes that occurred throughout the study. In the Article, developed in the discipline of TC III, in the first semester of 2021, contain the results of the research and the discussion, and conclusions.

Keywords: Pancreatic cancer, Adenocarcinoma, Ki-67, Ca19.9, prognosis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Desenvolvimento do câncer pancreático.....	21
Tabela 1: TNM - Tumores do Pâncreas.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenocarcinoma Ductal de Pâncreas
Ca19-9	Glicoproteína sérica do tipo mucina relacionada com o câncer de pâncreas
DM	Diabetes Mellitus
IMC	Índice de Massa Corporal
Ki-67	Biomarcador produzido durante a fase ativa do ciclo celular
NCM	Neoplasias Císticas Mucinosas
NEM1	Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1
NIPan	Neoplasias Intraepiteliais Pancreáticas
NMPI	Neoplasias Papilares Intraductais
OMS	Organização Mundial da Saúde
SNC	Sistema Nervoso Central
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO.....	14
2.1 PROJETO DE PESQUISA.....	14
2.1.1 Resumo	14
2.1.2 Tema	15
2.1.3 Problema.....	15
2.1.4 Hipóteses	16
2.1.5 Objetivos.....	16
2.5.5.1 Objetivo Geral	16
2.5.5.2 Objetivos Específicos	16
2.1.6 Justificativa.....	16
2.1.7 Referencial teórico.....	17
2.1.7.1. Lesões Percursoras das Neoplasias Malignas do Pâncreas	18
2.1.7.2 Adenocarcinoma Ductal Pancreático.....	19
2.1.7.2.1 Apresentação Clínica.....	19
2.1.7.2.2 Apresentação Patológica.....	20
2.1.7.2.3 Carcinogênese Molecular	20
2.1.7.3 Diagnóstico do Adenocarcinoma Pancreático.....	22
2.1.7.3.1 Exames de Imagem e Histológicos.....	22
2.1.7.4 Marcador Tumoral Ca19-9	23
2.1.7.5 Marcador Tumoral Ki-67.....	24
2.1.7.6 Estadiamento.....	24
2.1.7.7 Tratamento.....	25
2.1.8 Metodologia.....	26
2.1.8.1 Tipo de estudo	26
2.1.8.2 Local e período de realização	26
2.1.8.3 População e amostragem	26
2.1.8.4 Variáveis e instrumentos da coleta de dados	26
2.1.8.5 Logística e estudo piloto.....	27
2.1.8.6 Processamento, controle de qualidade e análise de dados.....	28
2.1.8.7 Aspectos éticos	28
2.1.9 Recursos	30

2.1.10 Cronograma	30
2.1.11 Referências	30
2.1.12 Apêndices	37
2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA	43
3 ARTIGO CIENTÍFICO.....	45
4 ANEXOS	59

1 INTRODUÇÃO

O pâncreas é um órgão glandular, com funções endócrinas e exócrinas, as quais podem originar diversas neoplasias tanto benignas, quanto malignas. As neoplasias exócrinas pancreáticas correspondem a 95% das neoplasias malignas do pâncreas enquanto as neoplasias decorrentes do pâncreas endócrino (carcinomas neuroendócrinos) referem-se a não mais que 5% (CASTILLO, 2020). Segundo o Instituto Nacional do Câncer, o câncer de pâncreas, no Brasil, é responsável por cerca de 2% de todos os tipos de câncer diagnosticados e por 4% do total de mortes causadas pela doença. Além disso, os casos de câncer de pâncreas aumentam com o avanço da idade: de 10/100.000 habitantes entre 40 e 50 anos para 116/100.000 habitantes entre 80 e 85 anos, sendo que a incidência é mais significativa no sexo masculino (INCA, 2018).

As neoplasias pancreáticas exócrinas incluem todos os tumores associados às células ductais, células acinares pancreáticas e suas células-tronco, ou seja, apresentam-se de acordo com a sua característica histológica e morfológica (CASTILLO, 2020). Além disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica essas neoplasias em benignas, aquelas que são curadas de maneira confiável com remoção cirúrgica; pré-malignas, aquelas com risco de progressão para malignidade invasiva; e, por fim as neoplasias malignas, que são as mais frequentes, sendo o adenocarcinoma ductal e seus subtipos a forma mais comum com uma prevalência de 85% a 90% (LONGNECKER, 2020). As manifestações clínicas são frequentemente inespecíficas e tardias e estão relacionadas de acordo com a localização do tumor, destarte, não é possível diagnosticar com segurança um paciente com câncer de pâncreas com base apenas em sinais e sintomas (CASTILLO, 2020).

Dessa forma, o adenocarcinoma pancreático é diagnosticado usualmente em um estágio avançado, e, 80-90% dos pacientes apresentam tumores que não são ressecáveis no momento do diagnóstico. Isso pode ser explicado devido a sintomatologia inespecífica do câncer que muitas vezes necessita ser diferenciada de outras doenças mais frequentes, como colangite, colelitíase, coledocolitíase, cistos coledocianos, úlceras abdominais, pancreatite, cânceres de via biliar, fígado e estômago. Posto isso, o câncer pancreático é o tumor mais comumente detectado nos estudos de autópsia (RAWLA *et al.*, 2019). Portanto, segundo Falcão *et. al* (2018) é importante a identificação de novos fatores prognósticos, como os biomarcadores, com o objetivo de auxiliar e individualizar terapias para os diferentes desfechos, além disso, possibilitar melhor estratificação de risco para os tratamentos adjuvantes após a ressecção cirúrgica.

Os marcadores tumorais são macromoléculas presentes no tumor, que funcionam como indicadores que, podem ser produzidas diretamente pelo tumor ou pelo organismo, em resposta à presença da doença. Eles podem ser encontrados no sangue e em outros líquidos biológicos, cujo aparecimento ou alterações nas suas concentrações estão associados com a oncogênese das células neoplásicas. O Ca 19-9, conhecido também como antígeno de Lewis, é um antígeno de superfície que quando liberado na corrente sanguínea pode auxiliar no estadiamento e na monitorização de tratamento nos cânceres de pâncreas, trato biliar e, ainda, no câncer colorretal (ALMEIDA *et al.*, 2007). Porém, devido ao baixo valor preditivo positivo do Ca19-9 ele não apresenta relevância na triagem em massa, ou seja, no rastreamento de pacientes assintomáticos (MCGUIGAN *et al.*, 2018).

O Ki-67 é um antígeno nuclear associado ao ciclo celular que é expresso em todas as fases do ciclo celular, exceto em G₀, em células ciclizantes sejam elas células tumorais ou não (ARISAWA *et al.*, 1999). Ou seja, a expressão desse antígeno está intimamente conectada com a proliferação celular indicando a capacidade dessa célula para se dividir. Na prática, as células com coloração positiva para o antígeno Ki-67 podem auxiliar nas características de crescimento de um tumor e na sua suscetibilidade para alguns medicamentos (SHOLZEN, GERDES, 2000). A expressão do Ki-67 no tecido tumoral está correlacionada com a progressão, risco de metástase e prognóstico de vários tumores incluindo mama e próstata. Ainda, esse marcador tem relação com os tumores neuroendócrinos pancreáticos, sendo reconhecido como essencial na definição da graduação e classificação do tumor, bem como é um preditor independente de sobrevida. (SCARPA, 2010). Em relação ao adenocarcinoma pancreático o valor prognóstico de Ki-67 ainda não foi totalmente estabelecido (KIM *et al.*, 2015).

Por fim, o perfil da neoplasia, quando identificado com testes mais precisos, influencia de maneira positiva na terapêutica do paciente, bem como, pode interferir na qualidade de vida e na sobrevida dele. Desse modo, o estudo do marcador tumoral Ca19-9 e do Ki-67 e suas interações com as células neoplásicas podem justificar se eles devem ou não ser utilizados para o diagnóstico, acompanhamento clínico e se podem intervir no desfecho dos pacientes.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 PROJETO DE PESQUISA

2.1.1 Resumo

O presente estudo será quantitativo observacional, do tipo transversal descritivo e analítico; e, visa avaliar o padrão da expressão dos marcadores tumorais Ca19-9 e Ki-67 nos

adenocarcinomas pancreáticos relacionando-os com o estadiamento clínico do tumor e a sobrevida dos pacientes. Nesse estudo tem-se como meta avaliar, através de dados dos prontuários médicos, os registros de dosagens séricas do marcador Ca19-9 nos pacientes submetidos à pancreatectomia por adenocarcinoma pancreático, no período de janeiro de 2009 até 31 de dezembro de 2016. As amostras das peças cirúrgicas, emblocadas em parafina, serão buscadas no arquivo do Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo, das quais serão selecionados e captados os blocos contendo a amostragem do tecido tumoral, para que sejam submetidos à reação imuno-histoquímica com o marcador Ki-67. A determinação da expressão tecidual do Ki-67 será contabilizada nas lâminas pela acadêmica e por sua orientadora (duplo cego) considerando-se a reação positiva quando houver coloração nuclear marrom, ou seja, expressão da proteína Ki-67, com a visualização de 5 campos de maior aumento (400x) na região do tumor, com a contagem de 100 células em cada campo, fazendo-se um somatório de células coradas, com resultado final em valor percentual. Os resultados serão relacionados à idade, sexo, valores séricos de Ca19-9, estadiamento clínico do tumor e sobrevida dos pacientes. Ao se relacionar a expressão dos marcadores tumorais Ca19-9 e Ki-67 às características individuais de cada paciente pretende-se verificar se esses marcadores juntos trazem uma perspectiva de um pior prognóstico, conforme relatos da literatura. Se a hipótese for confirmada, o presente estudo contribuirá trazendo informações para que a análise destes marcadores seja feita rotineiramente em conjunto, auxiliando no delineamento prognóstico dos pacientes e quem sabe em condutas terapêuticas individualizadas.

Palavras-chave: Câncer pancreático, Adenocarcinoma, Ki-67, Ca19.9, prognóstico

2.1.2 Tema

Adenocarcinoma pancreático, concentração sérica do marcador tumoral Ca19.9 e expressão imuno-histoquímica do índice proliferativo Ki-67 relacionados à prognóstico e sobrevida dos pacientes.

2.1.3 Problema

Qual a relação dos níveis séricos do marcador tumoral Ca19.9 nos adenocarcinomas pancreáticos e seu estadiamento?

Qual a implicação prognóstica do marcador imuno-histoquímico Ki-67 nos adenocarcinomas pancreáticos?

Existe relação entre os valores séricos de Ca19.9 e a marcação tecidual tumoral do Ki-67?

Quais fatores clínico-epidemiológicos estão relacionados com o diagnóstico dos adenocarcinomas pancreáticos?

2.1.4 Hipóteses

Valores séricos elevados do marcador tumoral Ca19.9 estão relacionados com um pior prognóstico nos pacientes com adenocarcinoma pancreático.

Existe correlação direta do marcador tumoral tecidual Ki-67 com o prognóstico dos pacientes com adenocarcinomas pancreáticos.

Espera-se encontrar uma relação entre os níveis séricos de Ca19-9 e o índice proliferativo tecidual tumoral Ki-67.

Espera-se encontrar relação entre a presença de adenocarcinoma pancreático com a idade (maiores de 65 anos) e sexo masculino.

2.1.5 Objetivos

2.1.5.1 Objetivo Geral

Analisar a concentração sérica do marcador tumoral Ca19-9 e a expressão imuno-histoquímica no tecido tumoral do índice proliferativo Ki-67 em adenocarcinomas pancreáticos.

2.1.5.2 Objetivos Específicos

Relacionar as características clínico-epidemiológicas com a elevação dos marcadores tumorais analisados.

Relacionar os marcadores Ca19.9 e Ki-67 com o prognóstico dos pacientes portadores de adenocarcinoma pancreático.

Correlacionar a expressão do marcador tumoral tecidual Ki-67 com o prognóstico dos pacientes com adenocarcinoma pancreático.

2.1.6 Justificativa

O câncer de pâncreas é uma doença maligna fatal, observada predominantemente em homens e em idades avançadas (40-85 anos) e, geralmente, apresenta um curso agressivo e de prognóstico ruim devido sua natureza assintomática. Aproximadamente 90 % dos casos são adenocarcinomas. Sua frequência está aumentando gradativamente nos últimos anos. É responsável por 2% de todos os cânceres e 5% das mortes relacionadas ao câncer no mundo. Devido à ausência de manifestações clínicas no paciente e sua rápida disseminação, a doença apresenta uma difícil detecção precoce resultando em um dos cânceres mais mortais. (GORAL,

2015).

Portanto, considerando a alta mortalidade, bem como o aumento na incidência dessa doença, é necessário que haja recursos disponíveis para que seja avaliado, de forma segura e eficiente, o perfil do adenocarcinoma pancreático do paciente, o que resulta em condutas médicas mais eficazes. Então, é de sobremaneira relevante o estudo de marcadores tumorais que oportunizem inferir o prognóstico desses pacientes. Além disso, por ser uma doença de alta mortalidade e difícil diagnóstico, é de extrema importância promover a divulgação de dados a respeito da mesma.

2.1.7 Referencial Teórico

O pâncreas adulto é um órgão retroperitoneal, com funções endócrinas e exócrinas, transversalmente orientado separado anatomicamente em cabeça, colo, corpo e cauda. A porção exócrina produz as enzimas digestivas e corresponde cerca de 85% do pâncreas. A porção endócrina é formada por aglomerado de células, as ilhotas de Langerhans, que secretam insulina, glucagon e somatostatina, constituindo cerca de 2% do órgão (KUMAR *et al.*, 2010).

O câncer de pâncreas, apesar de ser responsável por apenas 3% das neoplasias é a quarta causa de óbito por câncer nos Estados Unidos, tanto em homens quanto em mulheres, e, ainda, é o tumor mais letal do trato digestivo (HOFF *et al.*, 2013). No Brasil, essa doença corresponde a 2% de todos os cânceres, alcançando uma mortalidade de aproximadamente 94% desses casos. Além disso, nesse país, a incidência dessa enfermidade terá um acréscimo próximo de 54% até 2030 (WHO, 2018). Sabe-se, ainda, que o pico de incidência da neoplasia pancreática é entre os 65 e 75 anos, e 80% dos casos são diagnosticados após os 60 anos (HOFF *et al.*, 2013).

Os fatores de risco das neoplasias pancreáticas são divididos em fatores modificáveis e fatores não modificáveis (RAWLA *et al.*, 2019). O fator modificável mais relevante para essas neoplasias é o tabagismo, sendo assim, fumantes têm risco aumentado em até 6 vezes em relação a não fumantes e, ainda, existe uma relação direta entre número de cigarros consumidos e a incidência do câncer. A associação entre obesidade e sedentarismo, também, eleva o risco de câncer de pâncreas em até 1,7 vezes quando comparado a pessoas com IMC menor que 23 (HOFF *et al.*, 2013). A pancreatite crônica também está associada a uma maior incidência da neoplasia de pâncreas, com um aumento de 15 vezes do risco relativo (LOWENFELS, *et al.*, 1993). Em relação aos fatores não modificáveis, ou seja, fatores hereditários, estima-se hoje que cerca de 5% dos tumores pancreáticos estejam associados com predisposição familiar (HOFF *et al.*, 2013). Sendo que, parentes de primeiro grau de indivíduos com câncer

pancreático familiar apresentam um risco nove vezes maior que a população geral (KLEIN *et al.*, 2004). Ainda, esse risco dobra quando pelo menos dois parentes de primeiro grau na família apresentam esse câncer (GHIORZO, 2014). Por fim, segundo Hoff *et al.* (2013), pacientes com Diabetes Mellitus do tipo 1 e do tipo 2 apresentam duas vezes mais risco de apresentarem câncer pancreático que a população geral.

2.1.7.1. Lesões Precursoras das Neoplasias Malignas do Pâncreas

No câncer pancreático existem três lesões precursoras bem estabelecidas, as neoplasias císticas mucinosas (NCM), neoplasias mucinosas papilares intraductais (NMPI) e as neoplasias intraepiteliais pancreáticas (NIPan). Essas lesões apresentam achados clínicos, patológicos e moleculares característicos (NOË, 2016). Nas lesões císticas a maioria dos cistos são detectados ocasionalmente quando é realizado o rastreamento para outras indicações e sintomas não relacionados com o pâncreas. Além disso, a maioria dos cistos são benignos, porém, algumas lesões podem levar à malignidade e podem evoluir para adenocarcinomas pancreáticos com degeneração cística e tumores pancreáticos neuroendócrinos císticos (MALAGELADA *et al.*, 2019).

As Neoplasias Intraepiteliais Pancreáticas (NIPan) são lesões microscópicas não invasivas que ocorrem nos ductos pancreáticos e geralmente não ultrapassam 5 mm de tamanho. Essas lesões raramente formam estruturas císticas e são geralmente indetectáveis em imagens transversais ou ultrassonografia endoscópica (USE) e, ainda, não estão associadas a sinais clínicos ou sintomas (WGO, 2019). Entretanto, as NIPan podem ser encontradas em 82% dos pacientes com carcinomas pancreáticos e essas lesões apresentam uma incidência que tende a aumentar com a idade. Além disso, essas lesões podem ser divididas com base no grau de atipia epitelial, sendo elas NIPan-1, NIPan-2 (lesões de baixo grau) NIPan-3 (lesão de alto grau), sendo que as lesões de alto grau estão intimamente associadas com carcinomas invasivos (NOË *et al.*, 2016).

As NMPI são neoplasias produtoras de mucina e apresentam displasia de proliferação intraductal que podem formar papilas, esse processo acarreta uma dilatação cística dos ductos pancreáticos. Essas lesões são mais facilmente detectáveis pois apresentam um tamanho maior ou igual a 1 cm (KIM, 2018). A maioria dos pacientes são assintomáticos, porém alguns pacientes apresentam sintomas não específicos como uma vaga dor abdominal, perda de peso, náuseas, vômitos, DM recente e esteatorréia. Além disso, alguns pacientes apresentam história de pancreatite aguda recorrente. Essas lesões são vistas mais frequentemente em pacientes com histórico familiar de câncer pancreático (NOË *et al.*, 2016). Ainda, as NMPIs são classificadas

de acordo com o grau de displasia, ou seja, atipia epitelial, o tipo celular predominante (tipo gástrico, intestinal e pancreatobiliar) e também são relacionadas com a localização das lesões (ducto pancreático principal, ductos ramificados ou misto). Posto isso, as NMPIs do ducto principal estão mais frequentemente associadas a displasia de alto grau e possivelmente de adenocarcinoma ductal de pâncreas (ADP) (KIM, 2018).

Por fim, as neoplasias císticas mucinosas (NMC) são revestidas por células epiteliais produtoras de mucina com estroma subepitelial do tipo ovariano e ocorrem quase exclusivamente em mulheres entre 40 a 50 anos de idade, ou seja, no período da perimenopausa. Essas neoplasias estão localizadas principalmente no corpo do pâncreas e na cauda e geralmente não se comunicam com os ductos pancreáticos. Além disso, as NMC também são classificadas com base no grau de atipia celular (KIM, 2018). Em relação aos sinais e sintomas, a maioria dos pacientes é assintomática e alguns apresentam dor abdominal e dor nas costas, ainda, pode haver uma massa abdominal palpável (WGO, 2019). Por fim, é importante ressaltar que as NMCs estão associadas em até 16% ao carcinoma invasivo e são menos propensos a progredir para a doença quando comparado aos NMPIs (KIM, 2018).

2.1.7.2 Adenocarcinoma Ductal Pancreático

2.1.7.2.1 Apresentação Clínica

A maioria dos pacientes com adenocarcinoma ductal pancreático não apresenta sintomas no estágio inicial (KAMISAWA; WOOD; ITOI; TAKAORI, 2016). As manifestações clínicas são inespecíficas e geralmente apresentam-se quando a doença está localmente avançada e metastática (HOFF, *et al.*, 2013). Os sinais e sintomas mais comuns são astenia (86%), perda de peso (85%), dor (79%) e icterícia (56%). A dor é um dos sintomas mais frequentemente relatados, mesmo em pequenos tumores (< 2 cm), geralmente é insidiosa e apresenta qualidade visceral de roer típica e é localizada na região epigástrica com irradiações para os lados. A icterícia também é relatada e normalmente é decorrente dos tumores da cabeça do pâncreas. Esse sinal é causado devido à obstrução do fluxo biliar e apresenta-se acompanhado de prurido, acolia fecal e colúria. Além disso, a icterícia indolor é associada a um prognóstico mais favorável quando comparada com a icterícia dolorosa e obstrutiva (CASTILLO, 2020). Ainda, apesar da Diabetes Mellitus (DM) ser comum nos pacientes com carcinomas pancreáticos devido à faixa etária, cerca de 25% dos pacientes podem apresentar DM de início recente como um sinal inespecífico do câncer (HOFF, *et al.*, 2013). Por fim, sinais de doença metastática podem estar presentes na apresentação e afetam mais comumente o fígado, peritônio e pulmão. Os achados que podem representar metástases são massas abdominais, ascite, linfadenopatia

supraclavicular e massa periumbilical palpável (CASTILLO, 2020).

2.1.7.2.2 *Apresentação Patológica*

O Adenocarcinoma Pancreático é o tipo histológico mais comumente detectado e é o mais letal, porque é diagnosticado, normalmente, em estágio avançado e é muito resistente a terapia. O diagnóstico histopatológico requer biópsia ou ressecção cirúrgica da neoplasia para ser preciso devido à grande variabilidade de neoplasias que ocorrem nesse órgão. Em relação a patologia macroscópica, a maioria dos adenocarcinomas ductais são massas arenosas, duras e branco-acinzentadas, geralmente são mal circunscritas devido à invasão do pâncreas ou tecidos adjacentes, além disso, conforme essas neoplasias malignas crescem elas podem causar obstruções ductais (RYAN, 2014; LONGNECKER, 2020).

A designação “ductal” é baseada nas características histológicas do carcinoma, ou seja, não implica necessariamente em uma origem nos ductos pancreáticos. A maioria dos adenocarcinomas ductais pancreáticos são moderadamente diferenciados, com vários graus de estruturas semelhantes à dos ductos e produção de mucina. A extensão dessas neoplasias envolve frequentemente as estruturas adjacentes como o duodeno, veia porta ou os vasos mesentéricos superiores, linfonodos regionais além de, muitas vezes, apresentar uma marcante invasão perineural ou para o retroperitônio (LONGNECKER, 2020).

O prognóstico desses pacientes depende diretamente do grau histológico do tumor, da extensão da disseminação, ou seja, do estadiamento do adenocarcinoma pancreático (LONGNECKER, 2020). Por fim, mesmo com o câncer completamente ressecado, a maioria dos pacientes ainda morre por esse câncer e, para pacientes com o adenocarcinoma não ressecado o prognóstico é sempre ruim, independentemente do estágio (KAMARAJAH *et al.*, 2017).

2.1.7.2.3 *Carcinogênese Molecular*

Em um único tipo de câncer pancreático múltiplos genes estão frequentemente alterados sendo que os padrões de alterações genéticas são diferentes daquelas observadas em outras malignidades (GORAL, 2015) (Figura 1).

O gene *KRAS*, cromossomo p12, é o oncogene mais frequentemente alterado no câncer pancreático, sendo que, ele é ativado em 80-90% das vezes por uma mutação pontual (KUMAR, 2010). Essa mutação induz o desenvolvimento de formações ductais pré-cancerosas e causa focos hiperplásicos no ducto pancreático. O *KRAS* também ativa muitas vias de sinalização que afetam a vida celular, a diferenciação celular, a angiogênese, a proliferação celular,

apoptose, migração de células cancerosas e a regulação do ciclo celular em diferentes vias. (GORAL, 2015).

O gene inibidor da quinase dependente de p16/ ciclina 2A (*CDKN2A*) no cromossomo 9p é inativado somaticamente em cerca de 95% de todos os cânceres pancreáticos. A perda da função do gene anula um importante controle do ciclo celular nesses tumores. A maioria dessas mutações inativadoras leva à perda da função de p16, o produto proteico do gene *CDKN2A*. Ademais, essa inativação é normalmente detectada nas NIPans moderadamente avançadas (VICENT *et al.*, 2011).

O gene SMAD4 localizado no cromossomo 18q é raramente inativado em outros tipos de câncer, mas está desativado em 55% dos casos de câncer pancreático. Esse gene apresenta uma função relacionada a codificação de uma proteína importante na transdução do sinal da família TGF- β (fator de transformação do crescimento beta) nos receptores da superfície celular (KUMAR, 2010). Ainda, os cânceres pancreáticos com perda da expressão de SMAD4 apresentam taxas mais altas de metástases a distância e está relacionada a um pior prognóstico da doença (HERMAN *et al.*, 2018).

O gene p53, localizado no cromossomo 17p, é um dos genes mais frequentemente inativados nos cânceres humanos, inclusive no pancreático, sendo inativado em 75-85% dos casos. Além disso, a proteína p53 está ligada ao DNA nuclear, sendo assim, atua no controle do ciclo celular, na apoptose e na senescência celular (KUMAR, 2010).

Por fim, o gene BRCA2, localizado no cromossomo 13q, quando inativado aumenta o risco de desenvolvimento de cânceres familiares de mama, ovário, estômago e pâncreas. Sendo que, no pâncreas, essas mutações aumentam o risco de câncer de 3,5 – 10 vezes e, ainda, é encontrado em até 17% dos pacientes com vários membros da família afetados com essa doença (CICENAS *et al.*, 2017).

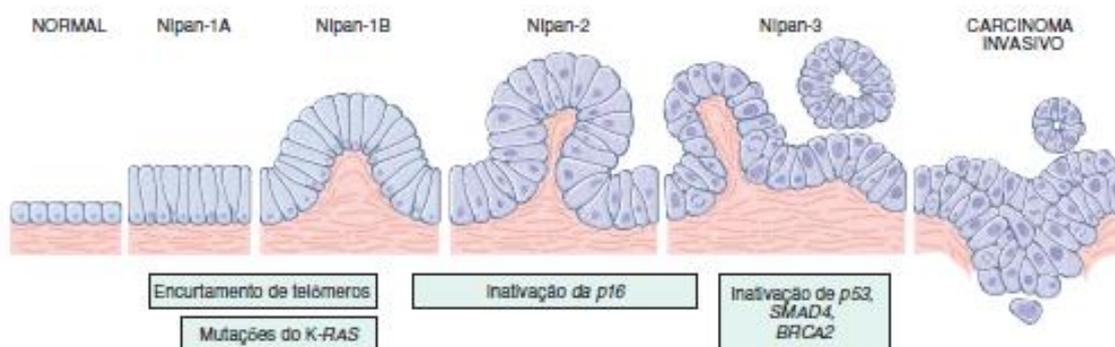


Figura 1: Desenvolvimento do câncer pancreático. KUMAR, Vinay *et al.* **Robbins & Cotran - Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1479 p

2.1.7.3. Diagnóstico do Adenocarcinoma Pancreático

O diagnóstico dessas neoplasias não é possível apenas com a abordagem clínica de sinais e sintomas. Assim, na suspeita de adenocarcinomas pancreáticos é indicado, inicialmente, a avaliação de testes sorológicos e exames de imagem abdominal (CASTILLO, 2020). Ainda, é importante destacar que devido ao baixo risco acumulativo de câncer pancreático ao longo da vida (1,3%), a triagem populacional não é recomendada (CHIARO *et al.*, 2014). Entretanto, pacientes com histórico familiar desses carcinomas devem ser rastreados, visto que são indivíduos considerados de alto risco para o desenvolvimento da doença com mais de 5% de risco cumulativo durante a vida ou o risco relativo aumentado em 5 vezes (SOLDAN, 2017).

2.1.7.3.1 Exames de Imagem e Histológicos

A ultrassonografia (US) transabdominal geralmente é o procedimento de escolha quando o paciente apresenta icterícia obstrutiva pois a US obtém alta sensibilidade (até 89%) para detectar dilatações no trato biliar e estabelecer o nível de obstrução, além disso, pode demonstrar a presença de tumor primário (< 3cm) e evidenciar presença de metástases hepáticas (HOFF, *et al.*, 2013). A US transabdominal é um exame simples e acessível, porém, apresenta limitações quando há interposições gasosas por alças intestinais e pelo estômago dificultando a visibilidade do pâncreas bem como limitações quando o paciente tem obesidade (KAMISAWA *et al.*, 2016). Existe, também, a possibilidade de visualização, bem como acesso ao tecido pancreático, através do exame da colangiopancreatografia endoscópica retrógrada (CPER), nela é possível observar a anatomia do ducto biliar, sendo indicada quando os pacientes apresentam icterícia obstrutiva e existe necessidade de descompressão das vias biliares (HIDALGO, 2010).

Em relação aos pacientes que apresentam dor epigástrica e perda de peso, o exame de escolha é a tomografia computadorizada (TC) helicoidal de abdome. A TC pode ser o método de escolha para o diagnóstico e tumores do pâncreas, apresenta capacidade de detectar lesões pancreáticas em 97% das vezes e apresenta 90% de acurácia quanto à ressecabilidade da neoplasia. Além disso, a TC abdominal detecta invasões vasculares do eixo mesentérico portal, metástases hepáticas e metástases linfonodais. Entretanto, pacientes que apresentam contraindicação para o uso do contraste na TC, o método de escolha deve ser a Ressonância Nuclear Magnética (RNM) (HOFF, *et al.*, 2013).

Por conseguinte, a confirmação histológica é necessária para estabelecer o diagnóstico de câncer pancreático, no entanto, uma vez que esses cânceres são suspeitados nos métodos de imagem inicial o seguimento normalmente é uma avaliação do estadiamento que estabelece a extensão da doença e a ressecabilidade, e não a biópsia (CASTILLO, 2020). A biópsia é

mandatória quando os pacientes não são indicados para ressecção cirúrgica e, para os pacientes com doença ressecável, o cirurgião pode prescindir a biópsia no transoperatório (HOFF, *et al.*, 2013).

A biópsia guiada por ultrassom endoscópico (USE) apresenta maior acurácia no diagnóstico de pequenas lesões e na avaliação de invasão vascular, com uma sensibilidade de 95% e especificidade de 80%, entretanto esse método não é indicado para avaliar de maneira adequada a presença de linfomegalia e metástases a distância. Por fim, a biópsia percutânea, US associada à punção com agulha fina (PAAF), possibilita o diagnóstico histológico do câncer de pâncreas pela coleta do material do órgão (HOFF, *et al.*, 2013).

2.1.7.4 Marcador Tumoral Ca19.9

O antígeno Ca19.9, também conhecido como antígeno de Lewis, é o marcador tumoral mais utilizado e melhor validado para câncer pancreático, sendo utilizado no diagnóstico de pacientes sintomáticos e na monitorização do tratamento em pacientes com adenocarcinoma pancreático. Em particular, o CA 19.9 é sintetizado em condições fisiológicas pelo epitélio pancreático, biliar, endometrial, de glândulas salivares e do cólon, bem como pelas células ductais e gástricas; porém, está superexpresso em diversos distúrbios gastrointestinais benignos e malignos. Esse marcador apresenta uma sensibilidade média geral de 81% e uma média de especificidade de 90% para câncer de pâncreas (SCARÀ; BOTTONI; SCATENA, 2015).

Em relação ao diagnóstico, o Ca19-9 não é indicado como ferramenta de triagem para o câncer de pâncreas em indivíduos assintomáticos devido baixo valor preditivo positivo (em torno de 0,9%). Além disso, na triagem da população de alto risco, o nível sérico de Ca19-9 pode estar normal, mesmo quando existem lesões precursoras pancreáticas já detectadas pelos exames de imagem. Posto isso, não é recomendado, de forma isolada, a medição do Ca19-9 no diagnóstico do câncer pancreático, porém, esse marcador pode ser utilizado juntamente com outros exames complementares, como a TC e o US (DUFFY *et al.*, 2010).

Em relação ao prognóstico, a medição dos níveis séricos do marcador tumoral Ca19-9 fornece informações prognósticas significativas, permite estratificação do paciente (grupos de sobrevivência) e determina a ressecabilidade do câncer pancreático. Posto isso, estudos sugerem que: os níveis de Ca19-9 no pré-operatório correlacionam-se com o estágio da doença; níveis <100 U/ml no pré-operatório estão relacionados a ressecabilidade do tumor (41-80%), enquanto níveis > 100 U/ml sugerem câncer avançado ou metastático (60-85%); normalização ou queda dos níveis de Ca19-9 no pós-operatório está associado a uma maior sobrevida quando comparado com elevação dos níveis desse marcador após ressecção pancreática, o qual é

sugestivo de metástase oculta e sobrevida baixa. Por fim, os níveis séricos de Ca19-9 também podem ser utilizados para avaliar a resposta da terapia quimioterápica em pacientes portadores de carcinoma pancreático. Entretanto, a recomendação segundo o *Nacional Academy of Clinical Biochemistry (NACB)* é que as medições séricas de Ca19-9 durante a quimioterapia paliativa devem ser acompanhadas juntamente com exames de imagem, para melhor acompanhamento da eficácia do tratamento (SCARÀ; BOTTONI; SCATENA, 2015).

2.1.7.5 Marcador Tumoral Ki-67

A proteína nuclear Ki-67 é expressa nas células em proliferação em todas as fases do ciclo celular (G1, S, G2 e M), exceto em G0 (fase de repouso). Os mecanismos que regulam a expressão de Ki-67 ligam-no ao ciclo celular, resultando em níveis máximos de Ki-67 na mitose e níveis mínimos de Ki-67 no final do G1. (SOBECKI *et al.*, 2017). Então, a expressão do Ki-67 reflete as taxas de proliferação tumoral e, também, na correlação com o início, progressão e metástases de muitos tumores, o que possibilita aos pesquisadores o uso desse marcador como um fator prognóstico em vez de apenas preditivo (GOITIA-DURÁN *et al.*, 2010).

Em relação aos Tumores Neuroendócrinos (TNEs) pancreáticos, o sistema de classificação é baseado na taxa de proliferação, que é definida pelo número de mitoses por 10 campos microscópicos de alta potência ou por 2 mm² (taxa mitótica) ou, ainda, como a porcentagem de células tumorais de imunomarcagem positiva para o antígeno Ki-67 (índice Ki-67). A importância de incluir o índice Ki-67 é ainda mais reforçada por sua inclusão na última Classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), que determina o grau de agressividade tumoral medindo a atividade mitótica e o índice Ki-67 (PHILIPS, P. *et al.*, 2018). Por outro lado, em relação aos tumores exócrinos do pâncreas, o valor prognóstico do Ki-67 não foi estabelecido (PERGOLINI, I. *et al.*, 2019).

2.1.7.6 Estadiamento das Neoplasias Malignas Pancreáticas

O sistema de estadiamento preferido para todos os cânceres pancreáticos é o sistema de tumor, linfonodo, metástase (TNM) do *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* / *Union for International Cancer Control (UICC)* (Quadro 1). A avaliação do estadiamento tem como finalidade delinear a extensão da propagação da doença e identificar os pacientes que são elegíveis para ressecção com intenção curativa.

T – Tumor primário	
TX	O tumor primário não pode ser avaliado.
T0	Não há evidência de tumor primário.

Tis	Carcinoma <i>in situ</i> .
T1	Tumor limitado ao pâncreas, com 2 cm ou menos em sua maior dimensão.
T2	Tumor limitado ao pâncreas, > 2 cm em sua maior dimensão
T3	Tumor que se estende além do pâncreas, mas sem envolvimento do plexo celíaco ou artéria mesentérica superior
T4	Tumor envolve o plexo celíaco ou artéria mesentérica superior.
N – Linfonodos Regionais	
NX	Os linfonodos regionais não podem ser avaliados.
N0	Ausência de metástase em linfonodos regionais.
N1	Metástase em linfonodos regionais.
M – Metástases à Distância	
MX	A presença de metástase à distância não pode ser avaliada.
M0	Ausência de metástase à distância.
M1	Metástase à distância.

Quadro 1: TNM - Tumores do Pâncreas. SOBIN, L. H.; WITTEKIND, Ch. (ed.). **TNM: classificação de tumores malignos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Inca, 2004. 254 p.

2.1.7.7 Tratamento

O tratamento do adenocarcinoma pancreático inclui cirurgia, quimioterapia, radioterapia e cuidados paliativos, sendo que as opções dos tratamentos são selecionadas de acordo com o estágio do câncer e ainda, essas terapias devem ter uma abordagem multidisciplinar (KAMISAWA *et al.*, 2016).

A cirurgia de ressecção é considerada o único tratamento com potencial para cura e pode resultar também em uma sobrevida mais longa em comparação as outras opções de terapia, o objetivo primário da cirurgia é a ressecção radical com margens cirúrgicas livres (R0) incluindo a área pancreática acometida, os linfonodos acometidos e os vasos sanguíneos infiltrados. A quimioterapia apresenta alguns benefícios clínicos como o alívio de sintomas, melhoria da qualidade de vida, prolongar a sobrevida, embora não possa curar o câncer pancreático. Sendo que, a gemcitabina é o medicamento quimioterápico mais eficaz no tratamento do câncer pancreático avançado, considerada como terapia de primeira linha (LI *et al.*, 2015). Em relação a quimiorradiação, hoje, não há estudos conclusivos confirmando as vantagens potenciais de sobrevivência desse tipo de terapia (KAMISAWA *et al.*, 2016). Por fim, os cuidados paliativos são tão importantes quanto as outras terapias, eles tem como foco prevenir e aliviar o sofrimento e auxiliar na melhor qualidade de vida possível para os pacientes e cuidadores. Os cuidados paliativos apresentam sua abordagem desde tratamento da dor com opções cirúrgicas até

abordagens psicológicas como na depressão e na ansiedade, que são muito comuns em pacientes oncológicos (CASTILLO *et al.*, 2020).

2.1.8 Metodologia

2.1.8.1 Tipo de Estudo

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

2.1.8.2 Local e Período de Realização

O estudo será realizado no período de novembro de 2020 até agosto de 2021, na cidade de Passo Fundo – RS.

2.1.8.3 População e Amostragem

A população que servirá de base para o estudo será constituída de pacientes com diagnóstico anatomopatológico de adenocarcinoma pancreático, que realizaram pancreatectomia no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) e cujos anatomopatológicos foram realizados no laboratório de patologia do mesmo hospital no período de 01 de janeiro de 2009 até 31 de dezembro de 2016. Será feita então, a busca no arquivo do laboratório, da amostra do tecido tumoral arquivada em bloco de parafina, para a realização do estudo imuno-histoquímico. A amostra, não probabilística, de conveniência, incluirá aproximadamente 128 pacientes.

Crítérios de inclusão: Ambos os sexos, qualquer idade, submetidos a biópsia de pâncreas ou pancreatectomia no HSVP, no período de tempo citado, cujas amostras de tecido tumoral estejam armazenadas no laboratório.

Crítérios de exclusão: Laudos anatomopatológicos que não contenham as informações necessárias e casos em que as amostras tumorais emblocadas em parafina não estejam adequadamente preservadas para a realização da reação imuno-histoquímica.

2.1.8.4 Variáveis e instrumentos da coleta de dados

Variável dependente: marcadores tumorais Ki-67 e Ca19-9.

Variáveis independentes: presença de diagnóstico de adenocarcinoma pancreático, idade, sexo, subtipo do adenocarcinoma, TNM, prognóstico e sobrevida dos pacientes.

Instrumentos de coleta de dados: será efetuado o levantamento dos dados registrados no sistema de pesquisa dos laudos anatomopatológicos e prontuário eletrônico do laboratório citado. As amostras teciduais dos pacientes serão identificadas por número de registro. Os dados

coletados do programa serão transcritos para uma planilha (apêndice A) e posteriormente armazenados em uma planilha eletrônica, observando-se os critérios de inclusão e exclusão.

2.1.8.5 Logística

O período de abrangência deste estudo será de 01 de janeiro de 2009 até 31 de dezembro de 2016. Após a listagem dos casos, a acadêmica fará a busca na biblioteca do HSVP, em computadores destinados à pesquisa neste setor e interligados à rede, mediante a aquisição de um login e senha, quando então, fará a busca e seleção dos laudos anatomopatológicos de cada paciente que realizou procedimento cirúrgico (pancreatocomia) no HSVP e cujos laudos anatomopatológicos foram confeccionados no Laboratório de Patologia do mesmo hospital. Os casos listados do laboratório estão arquivados na forma de amostragem tumoral emblocada em parafina. A acadêmica fará a retirada deste material do arquivo e os casos serão, então, encaminhados para a realização da reação imuno-histoquímica dos casos para a avaliação da expressão do marcador Ki-67, com anticorpo monoclonal MIB-1. Para tanto serão utilizados cortes de 4 micra do tecido tumoral parafinado e este será submetido a reação imuno-histoquímica com a utilização do anticorpo primário anti-Ki-67 e com marcação da reação com cromógeno marrom (DAB) e com contra coloração com Hematoxilina de Harris. O laboratório onde será realizada a imuno-histoquímica localiza-se dentro do Hospital São Vicente de Paulo. A imuno-histoquímica será realizada pela técnica do laboratório, a qual já realiza os procedimentos de rotina do local. E quem analisará e interpretará as lâminas de imuno-histoquímica será a médica especialista em patologia do laboratório, pesquisadora principal e a acadêmica do presente estudo, em caso de não concordância um terceiro avaliador será solicitado. A reação imuno-histoquímica dos casos ocorrerá junto com a rotina do laboratório, onde em cada reação haverá um caso controle positivo e um negativo. Serão avaliados os casos quanto a positividade ou não da expressão do marcador Ki-67. Nos casos positivos, será avaliada a intensidade da reação e a porcentagem de células tumorais positivas. Para isso, será utilizado o mascaramento a fim de evitar viés de aferição (duplo cego), as lâminas serão analisadas, então, por dois observadores, a acadêmica pesquisadora e sua orientadora. Os critérios de positividade nuclear nos tumores analisados incluirão: contagem de 500 células em 5 campos no aumento de 400 vezes, considerando-se positivos os casos com coloração nuclear marrom intensa.

A logística do estudo está organizada da seguinte forma:

1. Buscar os casos listados um a um no arquivo do laboratório de patologia para obtenção da amostra do tumor (bloco de parafina).

2. Processar os blocos de parafina no laboratório de patologia, por microtomia, para realização de cortes em lâminas histológicas, na espessura de quatro micrômetros, sendo estas submetidas à reação imuno-histoquímica através do KIT (HiDefDetection™) com o cromógeno DAB, sendo o anticorpo direcionado contra o antígeno Ki-67 (clone MIB-1). A acadêmica pesquisadora acompanhará a realização da técnica no Laboratório de Patologia.

O processo se inicia através da desparafinização das lâminas e após a reativação antigênica das mesmas, em tampão PBS, através da fervura em panela de pressão específica (Decloakin Chamber, marca Biocare Medical). Segue-se o bloqueio da peroxidase endógena através do uso de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 10 v. O passo seguinte será a incubação com o anticorpo primário da proteína Ki-67 com reação nuclear, durante toda a noite. No dia seguinte após lavagem das lâminas em solução tampão, será aplicado o KIT com amplificação de sinal. Após nova lavagem das lâminas, será utilizado o cromógeno DAB para visualização da reação. Posteriormente, as lâminas serão contra-coradas com hematoxilina.

3. Todos os dados coletados pela equipe da pesquisa serão registrados em ficha de dados (apêndice A) para posterior digitação em planilha eletrônica.

4. Descrever e analisar os dados obtidos.

2.1.8.6 Processamento, controle de qualidade e análise de dados

Os dados adquiridos previamente serão duplamente digitados em banco de dados desenvolvido no programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre). A análise estatística será executada no programa de análises estatísticas PSPP (distribuição livre) e compreenderá a média e desvio padrão das variáveis numéricas e distribuição de frequências, absoluta e relativa, das variáveis categóricas.

A análise de associação entre as variáveis independentes com a variável dependente será verificada por meio do teste Qui-quadrado, empregando-se nível de significância de 5%.

A análise de correlação entre os marcadores tumorais e o prognóstico será avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson.

2.1.8.7 Aspectos Éticos

Para cumprimento dos aspectos éticos, o estudo será submetido, primeiramente, à Comissão de Pós-Graduação e Pesquisa do Hospital São Vicente de Paulo. Após aprovação por essa comissão, será submetido para avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul, de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). A pesquisa será realizada com respeito a todos os preceitos

éticos estabelecidos, zelando pela legitimidade, privacidade e sigilo das informações, quando necessárias, tornando os resultados desta pesquisa públicos.

Presente no Apêndice B, encontra-se a solicitação de dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A solicitação de dispensa é adequada uma vez que o estudo é baseado em dados de prontuários eletrônicos, os pacientes não são acompanhados regularmente pelo hospital, mudaram de endereço ou podem ter ido à óbito.

No Apêndice C está contido o termo de compromisso para uso de dados em arquivo, com o objetivo de afirmar o comprometimento da equipe em preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados.

Por fim, os dados físicos utilizados pela equipe de pesquisa serão arquivados, após a finalização da análise de dados, em uma gaveta trancada com chave na sala 14 no Bloco A do campus Passo Fundo da UFFS. Após finalizado o tempo de guarda (5 anos), os arquivos serão destruídos em uma fragmentadora de papel e descartados. Ainda, em relação aos dados digitais, os mesmos serão armazenados em um pendrive, o qual será mantido junto com os dados físicos, pelo mesmo período de tempo, sendo submetido a formatação no final.

Riscos: Existe o risco de identificação do participante. Entretanto, visando minimizar esse risco, os nomes serão substituídos por números no momento da extração dos dados do sistema. Caso a identificação ocorra, será informado ao Hospital São Vicente de Paulo, local onde será coletado os dados e, além disso, o participante será excluído da pesquisa. As amostras cirúrgicas, emblocadas em parafina, a serem utilizadas para a realização da imunohistoquímica, são identificadas apenas por número no Laboratório de Patologia do HSVP, e assim, não há risco de identificação do participante.

Benefícios: Devido à natureza do estudo, não existem benefícios diretos para os participantes. No entanto, os mesmos serão beneficiados de forma indireta, assim como toda a comunidade, uma vez que a identificação dos marcadores tumorais presentes nos casos de adenocarcinoma pancreático, bem como fatores associados, poderá contribuir com o tratamento de futuros pacientes acometidos, podendo assim, acarretar melhorias da assistência em saúde.

De maneira a fornecer uma devolutiva ao Hospital São Vicente de Paulo de Passo Fundo - RS, a equipe pretende entregar um relatório documentando os resultados obtidos na pesquisa. Portanto, a partir da análise dos dados, o estudo possibilitará que os pesquisadores e a instituição estendam seus conhecimentos acerca do tema em questão, com o intuito de melhorar o processo de diagnóstico e de prognóstico dos pacientes, o que beneficia a todos, mesmo que indiretamente. Ainda, considerando-se a natureza do trabalho, não haverá devolutiva aos participantes.

2.1.9 Recursos

Os custos serão totalmente arcados pela equipe de pesquisa responsável pelo presente estudo.

RECURSO	UNIDADE	VALOR UNITÁRIO	VALOR TOTAL
Material utilizado na imuno-histoquímica	Duas caixas com 150 lâminas	R\$ 120,00	R\$ 240,00
Material utilizado na imuno-histoquímica anticorpo anti-Ki-67 (MIB 1)	2ml	R\$ 45,00 por lâmina	R\$ 5760,00
Material utilizado na imuno-histoquímica	Um cromógeno líquido DAB	R\$ 270,00	R\$ 270,00
Folhas de ofício	Um pacote de 100 folhas	R\$ 5,00	R\$ 5,00
Caneta	Uma unidade	R\$ 1,00	R\$ 1,00
Pendrive	Uma unidade	R\$ 35,00	R\$ 35,00
TOTAL			R\$ 12.071,00

2.1.10 Cronograma

O cronograma apenas será executado após a aprovação do projeto pelo Sistema CEP/CONEP. O projeto de pesquisa será realizado no período compreendido entre novembro de 2020 a agosto de 2021. Sendo que, as atividades serão divididas da seguinte forma:

Revisão de literatura compreenderá o período de novembro de 2020 a julho de 2021;

A coleta de dados ocorrerá no período de março de 2020 a abril de 2021;

Processamento e análise de dados serão elaborados a partir de maio de 2021 a junho de 2021;

Redação e divulgação dos resultados: de junho de 2021 a agosto de 2021;

2.1.11 Referências

ALMEIDA, J.R.C. *et al.* Marcadores Tumoriais: Revisão de Literatura. **Revista Brasileira de Cardiologia**. v.53, n.3, p. 305-31, 2007. Disponível em <https://rbc.inca.gov.br/site/arquivos/n_53/v03/pdf/revisao1.pdf>. Acesso: 13 out. 2020;

ARISAWA, E.A.L. *et al.* Marcadores Biológicos: PCNA e Ki-67 breve revisão. **Pós-Grad. Rev. Fac. Odontol.** v.2, n.1, p. 54-60, 1999. Disponível em <<https://bds.ict.unesp.br/index.php/cob/article/view/37> > Acesso em: 23 ago. 2020

CASTILLO, Carlos .F., JIMENEZ Ramon .E., MURPHY Janet E. Supportive care of patient with locally advanced or metastatic exocrine pancreatic cancer. **UpToDate**. 2020. Disponível

em: https://www.uptodate.com/contents/supportive-care-of-the-patient-with-locally-advanced-or-metastatic-exocrine-pancreatic-cancer?search=pancreatic%20cancer%20palliative%20care&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H9> Acesso em: 07 ago. 2020.

CASTILLO, Carlos Fernandez-del. Clinical manifestations, diagnosis and staging of exocrine pancreatic cancer. **UptoDate**. 2020. Disponível em: < <http://www.uptodate.com/online>>. Acesso em: 28 abr. 2020

CHIARO, Marco del. Early detection and prevention of pancreatic cancer: is it really possible today?. **World Journal Of Gastroenterology**, [S.L.], v. 20, n. 34, p. 12118-12131, 2014. Baishideng Publishing Group Inc. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4161798/>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

CICENAS, Jonas; KVEDERAVICIUTE, Kotryna; MESKINYTE, Ingrida; MESKINYTE-KAUSILIENE, Edita; SKEBERDYTE, Aiste; CICENAS, Jonas. KRAS, TP53, CDKN2A, SMAD4, BRCA1, and BRCA2 Mutations in Pancreatic Cancer. **Cancers**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 42-49, 28 abr. 2017. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28452926/>>. Acesso em: 13 out. 2020.

DUFFY, M.J.; STURGEON, C.; LAMERZ, R.; HAGLUND, C.; HOLUBEC, V.L.; KLAPDOR, R.; NICOLINI, A.; TOPOLCAN, O.; HEINEMANN, V.. Tumor markers in pancreatic cancer: a european group on tumor markers (egtms) status report. **Annals Of Oncology**, [S.L.], v. 21, n. 3, p. 441-447, mar. 2010. Disponível em: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(19\)38295-X/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(19)38295-X/fulltext). Acesso em: 29 set. 2020.

EYFF, Tatiana Falcão; BOSI, Henrique Rasia; TONI, Mariana Sandrin; ZILIO, Mariana Blanck; CORSO, Carlos Otavio; BERSCH, Vivian Pierri; OSVALDT, Alessandro Bersch. The Role Of Immunoinflammatory Markers In The Prognosis And Resectability Of Pancreatic Adenocarcinoma. **Abcd. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, [S.L.], v. 31, n. 2, p. 1-7, 2 jul. 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0102-67202018000200303&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 16 out. 2020.

GHIORZO, Paola. Genetic predisposition to pancreatic cancer. **World Journal Of Gastroenterology**, [S.L.], v. 20, n. 31, p. 10778, 2014. Baishideng Publishing Group Inc. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4138458/>>. Acesso em: 18 ago. 2020

GOITIA-DURÁN, Mário Benjamin; LINHARES, Marcelo Moura; ARTIGIANI NETO, Ricardo; APODACA-TORREZ, Franz Robert; LOBO, Edson José; GOLDENBERG, Alberto. Expression of p53, p16 and Ki67 proteins in ductal adenocarcinoma of the pancreatic head and their relation with survival and cell differentiation. **Einstein (São Paulo)**, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 444-448, dez. 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/eins/v8n4/pt_1679-4508-eins-8-4-0444.pdf. Acesso em: 29 out. 2020.

GORAL, Vedat. Pancreatic Cancer: pathogenesis and diagnosis. **Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention**, [S.L.], v. 16, n. 14, p. 5619-5624, 2 set. 2015. Asian Pacific Organization for Cancer Prevention. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26320426/>>. Acesso em: 15 ago. 2020.

HERMAN, Joseph M.; JABBOUR, Salma K.; LIN, Steven H.; DEEK, Matthew P.; HSU, Charles C.; FISHMAN, Elliot K.; KIM, Sinae; CAMERON, John L.; CHEKMAREVA, Marina; LAHERU, Daniel A.. Smad4 Loss Correlates With Higher Rates of Local and Distant Failure in Pancreatic Adenocarcinoma Patients Receiving Adjuvant Chemoradiation. **Pancreas**, [S.L.], v. 47, n. 2, p. 208-212, fev. 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5800523/>>. Acesso em: 13 out. 2020.

HIDALGO, Manuel. Pancreatic Cancer. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 362, n. 17, p. 1605-1617, 29 abr. 2010. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20427809/>>. Acesso em: 16 out. 2020.

HOFF, Paulo Marcelo Gehm *et al* (ed.). **Tratado de Oncologia**. São Paulo: Atheneu, 2013. 2893 p.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. Câncer de Pâncreas – versão para profissionais da saúde. 2018. Disponível em <<https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pancreas>>. Acesso em 14 out. 2020.

KAMARAJAH, Sivesh K.; BURNS, William R.; FRANKEL, Timothy L.; CHO, Clifford S.; NATHAN, Hari. Validation of the American Joint Commission on Cancer (AJCC) 8th Edition Staging System for Patients with Pancreatic Adenocarcinoma: a surveillance, epidemiology and end results (seer) analysis. **Annals Of Surgical Oncology**, [S.L.], v. 24, n. 7, p. 2023-2030, 17 fev. 2017. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28213792/>> Acesso em: 07 ago. 2020

KAMISAWA, Terumi; WOOD, Laura D; ITOI, Takao; TAKAORI, Kyoichi. Pancreatic cancer. **The Lancet**, [S.L.], v. 388, n. 10039, p. 73-85, jul. 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26830752/>>. Acesso em: 16 out. 2020.

KIM, Hohyn *et al.* Ki-67 and p53 expression as a predictive marker for early postoperative recurrence in pancreatic head cancer. **Annals of Surgical Treatment and Research**. v.88, n.4, p. 200-2007, 2015. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4384285/>>. Acesso em: 23 ago. 2020

KIM, Joo Y.; HONG, Seung-Mo. Precursor Lesions of Pancreatic Cancer. **Oncology Research And Treatment**, [S.L.], v. 41, n. 10, p. 603-610, 2018. Disponível em < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30269131/>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

KLEIN, Alison P.; BRUNE, Kieran A.; PETERSEN, Gloria M.; GOGGINS, Michael; TERSMETTE, Anne C.; OFFERHAUS, G. Johan A.; GRIFFIN, Constance; CAMERON, John L.; YEO, Charles J.; KERN, Scott. Prospective Risk of Pancreatic Cancer in Familial Pancreatic Cancer Kindreds. **Cancer Research**, [S.L.], v. 64, n. 7, p. 2634-2638, 1 abr. 2004. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15059921/>> Acesso em: 16 out. 2020.

KUMAR, Vinay *et al.* **Robbins & Cotran - Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 1479 p.

LI, Hong-Yu; CUI, Zhong-Min; CHEN, Jiang; GUO, Xiao-Zhong; LI, Ying-Yi. Pancreatic cancer: diagnosis and treatments. **Tumor Biology**, [S.L.], v. 36, n. 3, p. 1375-1384, 14 fev.

2015. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em <
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25680410/>> Acesso em: 07 set. 2020

LONGNECKER, Daniel R. Pathology of exocrine pancreatic neoplasms. **UpToDate**. 2019.
 Disponível em: < <http://www.uptodate.com/online>>. Acesso em: 28 abr. 2020.

LOWENFELS, Albert B.; MAISONNEUVE, Patrick; CAVALLINI, Giorgio; AMMANN, Rudolf W.; LANKISCH, Paul G.; ANDERSEN, Jens R.; DIMAGNO, Eugene P.; ANDRENSANDBERG, Ake; DOMELLOF, Lennart. Pancreatitis and the Risk of Pancreatic Cancer. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 328, n. 20, p. 1433-1437, 20 maio 1993. Massachusetts Medical Society. Disponível em <
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8479461/>>. Acesso em: 18 ago. 2020

MALAGELADA, Juan, *et al.* **World Gastroenterology Organisation global guidelines on pancreatic cystic lesions**. 2010 Disponível em<
<https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/pancreatic-cystic-lesions-portuguese-2019.pdf>> Acesso em: 06 out. 2020.

MCGUIGAN, Andrew; KELLY, Paul; TURKINGTON, Richard C; JONES, Claire; COLEMAN, Helen G; MCCAIN, R Stephen. Pancreatic cancer: a review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. **World Journal Of Gastroenterology**, [S.L.], v. 24, n. 43, p. 4846-4861, 21 nov. 2018. Disponível em <
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30487695/>>. Acesso em: 15 ago. 2020.

NOË, Michaël; BROSENS, Lodewijk A.A.. Pathology of Pancreatic Cancer Precursor Lesions. **Surgical Pathology Clinics**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 561-580, dez. 2016. Disponível em <
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27926360/>>. Acesso em: 25 ago. 2020.

Organization; 2018. Disponível em: <<https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-populations>>. Acesso em: 14 out. 2020.

PERGOLINI, I. *et al.* Prognostic impact of Ki-67 proliferative index in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. **BJS Open**. v.3, n.5, p. 646-655, 2019. Disponível em <
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31592095/>>. Acesso em: 15 ago. 2020

PHILIPS, Prejesh; KOOBY, David A.; MAITHEL, Shishir; MERCHANT, Nipun B.; WEBER, Sharon M.; WINSLOW, Emily R.; AHMAD, Syed; KIM, Hong J.; SCOGGINS, Charles R.; MCMASTERS, Kelly M.. Grading Using Ki-67 Index and Mitotic Rate Increases the Prognostic Accuracy of Pancreatic Neuroendocrine Tumors. **Pancreas**, [S.L.], p. 1-6, jan. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29351120/>. Acesso em: 29 out. 2020.

RAWLA, Prashanth; SUNKARA, Tagore; GADUPUTI, Vinaya. Epidemiology of Pancreatic Cancer: global trends, etiology and risk factors. **World Journal Of Oncology**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 10-27, 2019. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6396775/>. Acesso em: 15 ago. 2020

RYAN, David P. Pancreatic Adenocarcinoma. **New England Journal Of Medicine**, [S.L.], v. 371, n. 22, p. 2139-2141, 27 nov. 2014. Disponível em: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc1412266?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 16 out. 2020.

SCARÀ, Salvatore; BOTTONI, Patrizia; SCATENA, Roberto. CA 19-9: biochemical and clinical aspects. **Advances In Cancer Biomarkers**, [S.L.], p. 247-260, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26530370/>. Acesso em: 16 out. 2020.

SCARPA, Aldo *et al.* Pancreatic endocrine tumores: improve TNM staging and histopathological grading permit a clinically efficient prognostic stratification of patients. **Mod Pathol**. v.23, n.6, p. 824-833, 2010. Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20305616/>> Acesso em: 23 ago. 2020.

SCHOLZEN, Thomas; GERDES, Johannes; The Ki-67 Protein: From the Known and the Unknown. **Journal of Cellular Physiology**. v.182, n.3, p. 311-322, 2000. Disponível em [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)10974652\(200003\)182:3%3C311::AID-JCP1%3E3.0.CO;2-9](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)10974652(200003)182:3%3C311::AID-JCP1%3E3.0.CO;2-9) Acesso em: 23 ago. 2020.

SOBECKI, Michal; MROUJ, Karim; COLINGE, Jacques; GERBE, François; JAY, Philippe; KRASINSKA, Liliana; DULIC, Vjekoslav; FISHER, Daniel. Cell-Cycle Regulation Accounts

for Variability in Ki-67 Expression Levels. **Cancer Research**, [S.L.], v. 77, n. 10, p. 2722-2734, 10 mar. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28283655/>. Acesso em: 29 out. 2020.

SOBIN, L. H.; WITTEKIND, Ch. (ed.). **TNM: classificação de tumores malignos**. 6. ed. Rio de Janeiro: Inca, 2004. 254 p. Tradução de: Ana Lúcia Amaral Eisenberg. Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/inca/tnm2.pdf>. Acesso em: 24 set. 2020.

SOLDAN, Mônica. Rastreamento do câncer de pâncreas. **Rev. Col. Bras. Cir.** v. 44, n.2, p. 109-111, 2017. Disponível em : <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-69912017000200109&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em: 25 ago. 2020.

VINCENT, Audrey; HERMAN, Joseph; SCHULICK, Rich; HRUBAN, Ralph H; GOGGINS, Michael. Pancreatic cancer. **The Lancet**, [S.L.], v. 378, n. 9791, p. 607-620, ago. 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21620466/>>. Acesso em: 13 out. 2020.
WHO. World Health Organization. Global Health Observatory. Geneva: World Health Organization, 2018. Disponível em: <who.int/gho/database/en/> Acesso em: 13 out. 2020;

2.1.12 Apêndices

APÊNDICE A – Ficha de Transição de Dados;

ANÁLISES IMUNO-HISTOQUÍMICA E SÉRICA DE MARCADORES TUMORAIS EM
ADENOCARCINOMAS PANCREÁTICOS

UFFS-PESQUISA: Análises Imuno-histoquímica e Sérica de Marcadores Tumorais em Adenocarcinomas Pancreáticos Pesquisador Responsável: Daniela Augustin Silveira Acadêmica: Eduarda Vendrame. Contato: vendrame.eduarda@gmail.com	
Número do Questionário	NQUES _ _ _ _
Número do Registro do Anatomo-patológico	NRAP _ _ _
Nome do Entrevistador	ENTRE _ _
Data Coleta	DATA _ _ / _ _ / _ _ _ _ _ _
IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE	
Iniciais do Paciente	
Idade _ _ anos completos	IDAD _ _
Sexo (1) Feminino (2) Masculino (3) Não especificado	SEXO _ _
HÁBITOS DE VIDA	
Tabagista (1) Sim (2) Não (3) Não especificado (4) Ex-tabagista	TABA _ _
Se sim, tempo que fumou em anos	TEMP _ _
Alcoolista (1) Sim (2) Não (3) Não especificado (4) Ex-alcoolista	ALCO _
Se sim, tempo que bebeu em anos	TEMP _ _
HISTÓRIA FAMILIAR E PATOLÓGICA PREGRESSA	
Parente de 1º grau com CP (1) Sim (2) Não (3) Não-especificado	PARE _ _
Histórico de pancreatite crônica (1) Sim (2) Não (3) Não-especificado	
ACHADOS DIAGNÓSTICOS E PATOLÓGICOS	
Antígeno Ca 19-9 (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	CA19 _ _
Valor da Ca19-9 _____	
Reação Imuno-histoquímica Ki-67 (1) Positiva (2) Negativa	KI67 _ _
Se positivo, % Ki-67 _____	
Localização Anatômica (1) Cabeça (2) Processo uncinado (3) Corpo (4) Cauda (5) Não especificado	LANAT _ _ _
Tipo Histológico: (1) Adenocarcinoma (2) Outro, qual? _____	TIHIST _ _
Outros achados histológicos _____	
Diferenciação do adenocarcinoma: (1) Precoce (2) Avançado	DIFE _ _

Grau de diferenciação: (1) Bem diferenciado (2) Moderadamente diferenciado (3) Pouco diferenciado (4) Indiferenciado	GRAU__
Classificação: (1) Localizado (2) Localmente avançado (3) Metástases à distância	CLAS__
Invasão perineural: (1) Sim (2) Não (3) Não especificado/ não se aplica	INPN__
Invasão angiolinfática: (1) Sim (2) Não (3) Não especificado/ não se aplica	INAL__
Linfonomegalia no exame de imagem (1) Sim (2) Não (3) Não especificado/ não se aplica	LINF__
Localização da linfonomegalia (1) Regional (2) Intra-abdominal ou retroperitoneal (3) Hilo pulmonar (4) Mediastino (5) Outros	LCLINFO__
ESTADIAMENTO	
Número de Lesões	NUME__
Tamanho da (s) lesão (s) na maior dimensão: __ __ mm	TAMADIM__
Tamanho nas dimensões adicionais: __ __ mm x __ __ mm	
Múltiplos tumores primários: (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	MULTUPR__
Recorrência: (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	RECOR__
Tumor primário: (0) Não pode ser acessado (1) Sem evidência (2) Carcinoma in situ (3) ≤ 2cm na maior dimensão (4) > 2cm e ≤ 4 cm na maior dimensão (5) > 4 cm na maior dimensão (6) Envolvendo tronco celíaco, artéria mesentérica superior e/ou artéria hepática comum (7) não especificado	TUMPRIM__
Linfonodos regionais: (0) Não podem ser avaliados (1) Sem metástase nos linfonodos regionais (2) (3) Metástase em linfonodos regionais (4) Sem evidência	LINFOREG__
Metástases à Distância: (1) Não podem ser avaliados (2) Ausência de metástase à distância (3) Presença de metástase à distância (4) Não especificado/ não se aplica	META__
PROGNÓSTICO	
Óbito (1) Sim (2) Não (3) Não especificado/não se aplica	OBIT__
Sobrevida __ __ __ dias após o diagnóstico confirmado	SOBR__

APÊNDICE C – Solicitação de Dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UFFS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

SOLICITAÇÃO DE DISPENSA

ANÁLISES IMUNO-HISTOQUÍMICA E SÉRICA DE MARCADORES TUMORAIS EM
ADENOCARCINOMAS PANCREÁTICOS

Esta pesquisa será desenvolvida pela Eduarda Vendrame, discente do curso de Graduação de Medicina na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Passo Fundo, sob orientação da Prof^a. Me^a. Daniela Augustin Silveira e coorientação da Prof^a Dr^a. Jossimara Poletini.

O objetivo central do estudo é avaliar a expressão dos marcadores tumorais Ca19-9 e Ki-67 em adenocarcinomas pancreáticos e relacionar com o prognóstico dos pacientes. A pesquisa pode ser justificada pelo fato que o adenocarcinoma pancreático é uma doença maligna fatal, que apresenta um curso agressivo e de prognóstico ruim. O pico de incidência da neoplasia pancreática é entre os 65 e 75 anos e, devido à ausência de manifestações clínicas precoces no paciente e sua rápida disseminação, a doença apresenta uma difícil detecção resultando em um dos carcinomas de pior prognóstico e mais mortais. Portanto, considerando a alta mortalidade, bem como o aumento na incidência dessa doença, é necessário que haja recursos disponíveis para que seja avaliado, de forma segura e eficiente, o perfil do adenocarcinoma pancreático do paciente, o que resulta em condutas médicas mais eficazes. Ademais, com a presença da expressão dos marcadores tumorais Ca 19-9 e Ki-67, torna-se possível relacionar de maneira eficaz a doença com o prognóstico dos pacientes, possibilitando iniciar uma terapêutica adequada e individualizada para cada paciente.

Serão incluídos no estudo pacientes com adenocarcinoma pancreático. A amostra, não probabilística, de conveniência, incluirá pacientes submetidos a pancreatectomia, entre 01 de janeiro de 2009 até 31 de dezembro de 2016. A coleta de dados será realizada a partir da base de dados de um laboratório de Patologia da região norte do estado do Rio Grande do Sul e as variáveis analisadas serão: idade, sexo, tipo histológico e estadiamento. A amostra será composta por aproximadamente 128 participantes.

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações obtidas. Existe o risco de identificação do participante. Entretanto, visando minimizar esse risco, os nomes serão substituídos por números no momento da extração dos dados do sistema. Caso a identificação

ocorra, será informado ao Hospital São Vicente de Paulo, local onde será coletado os dados e, além disso, o participante será excluído da pesquisa. As amostras cirúrgicas, emblocadas em parafina, a serem utilizadas para a realização da imuno-histoquímica, são identificadas apenas por número no Laboratório de Patologia do HSVP, e assim, não há risco de identificação do participante.

Devido à natureza do estudo, não existem benefícios diretos para o participante. No entanto, os mesmos serão beneficiados de forma indireta, assim como toda a comunidade, uma vez que a identificação dos marcadores tumorais presentes nos casos de adenocarcinoma pancreático, bem como fatores associados, poderá contribuir com o tratamento de futuros pacientes acometidos, podendo assim, acarretar melhorias da assistência em saúde.

De maneira a fornecer uma devolutiva ao Hospital São Vicente de Paulo de Passo Fundo - RS, a equipe pretende entregar um relatório documentando os resultados obtidos na pesquisa. Portanto, a partir da análise dos dados, o estudo possibilitará que os pesquisadores e a instituição estendam seus conhecimentos acerca do tema em questão, com o intuito de melhorar o processo de diagnóstico e de prognóstico dos pacientes, o que beneficia a todos, mesmo que indiretamente. Ainda, considerando-se a natureza do trabalho, não haverá devolutiva aos participantes.

Por fim, os dados físicos utilizados pela equipe de pesquisa serão arquivados, após a finalização da análise de dados, em uma gaveta trancada com chave na sala 14 no Bloco A do campus Passo Fundo da UFFS. Após finalizado o tempo de guarda (5 anos), os arquivos serão destruídos em uma fragmentadora de papel e descartados. Ainda, em relação aos dados digitais, os mesmos serão armazenados em um pendrive, o qual será mantido junto com os dados físicos, pelo mesmo período de tempo, sendo submetido a formatação no final.

A coleta de dados iniciará somente após a ciência e concordância do hospital, aprovação do protocolo de pesquisa e Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS, conforme Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). 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, pois o estudo trata-se de uma pesquisa retrospectiva, baseado em dados de prontuários eletrônicos e os pacientes não são acompanhados regularmente pelo hospital, mudaram de endereço ou podem ter ido à óbito. Além disso, alguns pacientes são procedentes de outros locais, uma vez que o HSVP é referência para diversos municípios que compõem a 6ª Coordenadoria Regional de Saúde. Os resultados serão divulgados em eventos e/ou publicações científicas mantendo sigilo dos dados pessoais.

Passo Fundo, _____ de 2020.

Prof^ª. Me^a. Daniela Augustin Silveira

APÊNDICE D – Termo de compromisso para uso de dados

ANÁLISES IMUNO-HISTOQUÍMICA E SÉRICA DE MARCADORES TUMORAIS EM
ADENOCARCINOMAS PANCREÁTICOS

O(s) pesquisador(es) do projeto acima identificado(s) assume(m) o compromisso de:

- I. Preservar a identidade dos pacientes cujos dados serão coletados;
- II. Assegurar que as informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do projeto em questão;
- III. Assegurar que as informações somente serão divulgadas de forma anônima, não sendo utilizadas iniciais ou quaisquer outras indicações que possam identificar o sujeito da pesquisa.

Me^a. Daniela Augustin Silveira

Dr^a. Jossimara Polettini

Eduarda Vendrame

Passo Fundo, setembro de 2020

2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA

O estudo intitulado “Análises Imuno-histoquímicas e Sérica de Marcadores Tumorais em Adenocarcinomas Pancreáticos” tem como objetivo analisar os prontuários (eletrônicos e físicos) e as amostras teciduais emblocadas em parafina, de pacientes diagnosticados com adenocarcinoma de pâncreas e que obtiveram, necessariamente, seu diagnóstico confirmado pelo exame anatomopatológico do Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP).

O projeto foi redigido no componente curricular de Trabalho de Curso I, no primeiro semestre acadêmico de 2020, sob orientação da Prof^a. Me^a. Daniela Augustin Silveira e coorientação da Prof^a. Dr^a. Jossimara Poletini. Ao ser concluído, foi submetido à avaliação da Gerência de Ensino e Pesquisa Acadêmica do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) no dia 23 de outubro de 2020 e o parecer e autorização sobre o Projeto de Pesquisa foi emitido pela comissão competente no dia 23 de novembro de 2020. O estudo foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da UFFS, no mesmo dia do parecer emitido pelo HSVP, e no dia 8 de dezembro de 2020 foi liberado o primeiro parecer do CEP. Essa avaliação trouxe em seu conteúdo pendências relacionadas aos riscos e a metodologia proposta, sendo assim, essas questões foram alteradas e enviadas ao comitê no dia 18 de dezembro de 2020. Por fim, o parecer de aprovação foi emitido no dia 07 de janeiro de 2021. Assim, após as devidas aprovações dos órgãos responsáveis, a coleta de dados foi iniciada.

Modificações após aprovação pelo CEP/UFFS-PF

Em relação a logística e coleta de dados, a seleção dos laudos foi realizada com o banco de dados do Laboratório de Patologia do HSVP, pela busca do termo “pâncreas” e selecionando apenas os casos de adenocarcinoma pancreático, no período de 01/01/2009 até 31/12/2016. Durante a análise dos laudos selecionados, foram encontrados apenas 17 casos do adenocarcinoma de pâncreas. Posto isso, em busca de obter resultados mais expressivos, o tempo de estudo foi estendido para o período de 01/01/2000 até 31/12/2015. A amostra, que no projeto de pesquisa inicial foi prevista como sendo de 128 pacientes no período de 2009 a 2016, foi alterada para 33 pacientes no período de 2000 a 2015, esse número amostral final deveu-se aos critérios de exclusão que tiveram que ser acrescentados no transcorrer da pesquisa.

No decorrer da coleta dos dados, notou-se uma grande dificuldade de encontrar as informações nos prontuários físicos dos pacientes e ainda, não foram encontrados quatro prontuários no arquivo do HSVP. Ainda, dois pacientes que obtinham o exame

anatomopatológico registrado nesse hospital faziam acompanhamento da doença em uma outra instituição de Passo Fundo-RS, logo, esta pesquisa não tinha acesso aos dados dos prontuários desses pacientes. Assim, foi decidido, como novos critérios de exclusão: os prontuários que foram, de alguma forma, impossibilitados de serem acessados, bem como as amostras emblocadas em parafina que não estavam devidamente preservadas para a realização da reação imuno-histoquímica. Por fim, apenas 27 pacientes foram incluídos neste estudo.

Outrossim, foram acrescentadas variáveis independentes que não estavam previstas no projeto, sendo elas: tabagismo, localização anatômica do tumor e grau de diferenciação tumoral. No final da coleta de dados, percebeu-se que a maioria dos prontuários não contemplava a informação do marcador tumoral sérico Ca19-9 (apenas 11 dos pacientes obtinham o resultado e, desses apenas 8 obtinham o valor sérico antes do procedimento cirúrgico). Sendo assim, foi decidido não utilizar essa variável, visto que o número limitado iria comprometer a correlação dos dados. Além disso, todas as variáveis que foram assinaladas como “não especificado” não entraram na análise descritiva final.

Em relação a logística do preparo imuno-histoquímico, a análise IHQ foi feita no primeiro semestre de 2021. O projeto previa o preparo das lâminas de modo manual, porém, todas as reações imuno-histoquímicas foram realizadas de forma automatizada no equipamento Autostainer Linker da Agilent/DAKO.

Os dados gerados a partir do estudo foram duplamente digitados no programa Epidata e, após a correção dos erros encontrados, foram transferidos para o programa estatístico PSPP para a realização das análises descritivas e analíticas.

Por fim, o artigo científico, exibido na sequência deste Trabalho de Curso, foi estruturado de acordo com as normas da revista a qual será submetido, o Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial. As regras para submissão são encontradas no final desta pesquisa, no tópico “ANEXOS”.

3. ARTIGO CIENTÍFICO

Análise Imuno-histoquímica do Marcador Tumoral Ki-67 em Adenocarcinomas Pancreáticos

Immunohistochemistry Analysis of the Tumor Marker Ki-67 in Pancreatic Adenocarcinomas

Eduarda Vendrame¹, Jossimara Poletini¹, Daniela A. Silveira^{1,2}

1. Universidade Federal da Fronteira Sul, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

2. Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

RESUMO

Introdução: O adenocarcinoma pancreático corresponde a cerca de 90% dos tumores deste órgão. Possui uma evolução indolente, rápida disseminação e um curso agressivo com difícil detecção precoce. O Ki-67 é um antígeno nuclear e está relacionado com a proliferação celular e pode auxiliar na análise da progressão e do prognóstico de diversos tumores. **Objetivo:** avaliar a expressão do marcador tumoral Ki-67 e correlacionar com às características clínico-patológicas, ao prognóstico e à sobrevida dos pacientes diagnosticados com adenocarcinoma pancreático. **Materiais e Métodos:** de caráter transversal, foram selecionados pacientes diagnosticados com adenocarcinoma pancreático que possuíam amostras de biópsia ou pancreatectomia no laboratório de patologia de um hospital terciário no período de 2000 a 2015. A expressão da proteína Ki-67 nas amostras tumorais foi avaliada por reação imuno-histoquímica e relacionada às características clínico-patológicas, e o nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** No período considerado, foram identificados 27 pacientes com adenocarcinoma pancreático, e as características clínico-epidemiológicas mais prevalentes foram, sexo masculino (55,6%) com média de idade de 63 anos \pm 8,9, tabagistas ou ex-tabagistas no momento do diagnóstico (63,2%). O adenocarcinoma ductal foi o mais prevalente (94,4%), moderadamente diferenciado (50%), com localização anatômica na cabeça do pâncreas (87,4%) e nos estadiamentos mais avançados, III e IV (66,6%). A positividade do Ki-67 foi de 92,6% dos casos. Ainda, 77,8% dos pacientes evoluíram a óbito, sendo que 81% faleceram em até 12 meses. A expressão de Ki-67 >20% foi correlacionada significativamente com a menor idade dos pacientes. **Conclusões:** Foi encontrado grande prevalência da expressão do antígeno Ki-67 nos adenocarcinomas pancreáticos, porém, sua expressão foi apenas associada a idade dos pacientes, assim, necessitam-se mais estudos para afirmar o valor prognóstico desse marcador tumoral.

Palavras chave: Neoplasias Pancreáticas, Antígeno Ki-67, Imuno-Histoquímica, Prognóstico.

ABSTRACT

Introduction: Pancreatic adenocarcinoma coincides with approximately 90% of tumors in pancreas. It has an indolent evolution, rapid dissemination and an aggressive course with difficult detection. Ki-67 antigen is related to cell proliferation and can help in the analysis of progression and prognosis of several tumors. **Objective:** to evaluate the expression of tumor marker Ki-67 and correlate it with clinical and pathological characteristics, prognosis and

survival of selected patients. **Material and Methods:** Cross-sectional study, the cases were selected by patients diagnosed with pancreatic adenocarcinoma who had biopsy or pancreatectomy specimen in the pathology laboratory of a tertiary hospital, in the period from 2000 to 2015. They were evaluated for the immunohistochemical reaction of Ki-67 protein and their clinicopathological characteristics, and the significance level adopted was 5%. **Results:** In the period considered, 27 patients with pancreatic adenocarcinoma were identified, and the most prevalent clinical and epidemiological characteristics were male (55.6%) with a mean age of 63 years \pm 8.9, smokers or former smokers in the time of diagnosis (63.2%). Ductal adenocarcinoma was the most prevalent (94.4%), moderately differentiated (50%), with anatomical location in the head of the pancreas (87.4%) and in more advanced stages, III and IV (66.6%). The Ki-67 positivity was 92.6% of the cases. In addition, 77.8% of patients died, and 81% died within 12 months. Ki-67 expression $>20\%$ was significantly correlated with younger age of patients. **Conclusions:** A high prevalence of Ki-67 antigen expression was found in pancreatic adenocarcinomas, however, its expression was only associated with patient age, therefore, further studies are needed to confirm the prognostic value of this tumor marker.

Key words: Pancreatic Neoplasms, Ki-67 Antigen, Immunohistochemistry, Prognosis.

INTRODUÇÃO

O câncer de pâncreas no Brasil é responsável por cerca de 2% de todos os tipos de neoplasias malignas e por aproximadamente 4% das mortes causadas por cânceres. Entretanto, quando se analisa, isoladamente, os pacientes acometidos pelos tumores pancreáticos no país, a cada 1000 novos casos cerca de 940 pacientes perecem ⁽¹⁾. Assim, ele caracteriza-se por ser a neoplasia maligna mais letal do trato digestivo e com a menor taxa de sobrevida ⁽²⁾.

Os adenocarcinomas correspondem aproximadamente a 90% dos tumores pancreáticos. Eles são observados predominantemente em homens e em idades mais avançadas, apresentando um pico de incidência entre 65 a 75 anos ⁽²⁾. Devido a sua natureza assintomática e sua rápida disseminação, o câncer de pâncreas apresenta um curso agressivo e de difícil detecção precoce, sendo usualmente diagnosticado em um estágio avançado, resultando em prognóstico muito desfavorável ⁽³⁾.

Dessa forma, a utilização de marcadores tumorais é importante, pois eles são indicadores na avaliação do comportamento clínico das neoplasias auxiliando na avaliação da oncogênese e na análise do crescimento das células neoplásicas, visto que, esses marcadores são macromoléculas presentes no tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos que sugerem a presença de câncer ⁽⁴⁾.

O Ki-67 é um antígeno nuclear que é expresso em todas as células ciclizantes e pode ser detectado nas diferentes fases do ciclo celular, alcançando um pico máximo de expressão nas fases G2 e M ⁽⁵⁾. Assim, a expressividade dessa proteína está intimamente relacionada à

proliferação celular. Na prática, as células com coloração positiva em reações imuno-histoquímicas (IHQ) para o antígeno Ki-67 podem auxiliar na análise da progressão e do prognóstico de diversos tumores, incluindo mama e próstata ^(6,7).

Além disso, esse marcador tem relação com os tumores neuroendócrinos pancreáticos, sendo reconhecido como essencial na definição da graduação e classificação do tumor, bem como é um preditor independente de sobrevida ⁽⁸⁾. Porém, em relação ao adenocarcinoma pancreático, o valor prognóstico isolado de Ki-67 ainda não foi estabelecido ⁽⁷⁾.

Por conseguinte, considerando a alta letalidade e o aumento na incidência dessa doença ⁽¹⁾, torna-se importante a disponibilidade de recursos para que seja avaliado, de forma segura e eficiente o prognóstico do adenocarcinoma pancreático.

OBJETIVOS

Analisar e correlacionar a expressão do marcador Ki-67 com o perfil clínico-patológico, de estadiamento, prognóstico e sobrevida de pacientes submetidos a amostragem de tumor pancreático por biópsia, ou por retirada cirúrgica, cujos tumores mostraram origem epitelial maligna, através da análise anatomopatológica, realizada em um laboratório de Patologia de um hospital terciário, na cidade de Passo Fundo – RS.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal, realizado com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul, sob o parecer de número 4.527.790.

A amostra foi composta por todos os pacientes com diagnóstico de adenocarcinoma pancreático, cujos exames anatomopatológicos foram realizados pelo laboratório de patologia do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) na cidade de Passo Fundo – RS, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2015.

Em relação ao preparo para análise microscópica, foram utilizados cortes de 4 micrômetros do tecido tumoral parafinado e este foi submetido a reação IHQ com a utilização do anticorpo primário anti-Ki-67 (clone MIB 1- DAKO, Glostrup, Denmark), com marcação da reação com cromógeno marrom (DAB) e com contra coloração com Hematoxilina de Harris. Todas as reações imuno-histoquímicas foram realizadas de forma automatizada, no equipamento Autostainer Linker da Agilent/DAKO, com a utilização de um controle positivo nas reações (corte de linfonodo normal, pois no seu centro germinativo encontramos células em proliferação e em diferentes fases do ciclo celular).

Resumidamente, o processo inicia-se através da desparafinização das lâminas seguida de reativação antigênica das mesmas e do bloqueio da peroxidase endógena através do uso de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 10 v. O passo seguinte foi a incubação com o anticorpo primário da proteína Ki-67, lavagem em solução tampão e aplicação do KIT com amplificação de sinal. Após nova lavagem das lâminas, foi utilizado o cromógeno DAB para visualização da reação. Posteriormente, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina.

A análise da detecção do marcador Ki-67 foi feita pela contagem de 500 células em 5 campos no aumento de 400 vezes/HPF, considerando-se positivos os casos com coloração nuclear marrom intensa, ou seja, foi avaliado a intensidade da reação e a porcentagem de células tumorais positivas. Ainda, para evitar o viés de aferição, foi utilizado o mascaramento (duplo cego), as lâminas, primeiramente, foram analisadas por dois observadores e, em casos discrepantes, a análise foi realizada por um terceiro observador. O critério de positividade utilizada para a análise laboratorial seguiu o protocolo preconizado pela Sociedade Brasileira de Patologia / Pâncreas – Neoplasias 5ª edição – 2019⁽⁹⁾, no qual é feita a estratificação do índice proliferativo (IP): ≤ 2%, 3 a 20% e >20%. Porém, para o cruzamento dos dados a estratificação do IP foi recategorizada (≤ 20% e >20%), visando obter valores estatísticos mais fidedignos.

As variáveis clínico-patológicas analisadas, coletadas a partir dos prontuários físicos e eletrônico, foram idade, sexo, tabagismo, localização anatômica, tipo histológico, grau de diferenciação da neoplasia, estadiamento (segundo os critérios do *American Joint Committee on Cancer (AJCC) / Union for International Cancer Control*), óbito e sobrevida.

Os dados adquiridos previamente foram duplamente digitados em banco de dados desenvolvido no programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre). A análise estatística foi executada no programa de análises estatísticas PSPP (distribuição livre) e constituiu a média e desvio padrão das variáveis numéricas e distribuição de frequências, absoluta e relativa, das variáveis categóricas.

A associação entre as variáveis independentes com a variável dependente foi verificada por meio do teste Qui-quadrado, empregando-se nível de significância de 5%.

RESULTADOS

No período considerado no estudo foram identificados 33 casos, sendo 6 excluídos por critérios de exclusão (prontuários de acesso impossibilitado, laudos anatomopatológicos que não continham as informações necessárias e casos em que as amostras tumorais emblocadas em parafina não estavam adequadamente preservadas para a realização da reação imuno-histoquímica). Assim, o n final foi de 27 pacientes que foram submetidos à biópsia de pâncreas

ou pancreatectomia para o diagnóstico do adenocarcinoma. A caracterização da amostra está descrita na Tabela 1. Notou-se predomínio de pacientes do sexo masculino (55,6%) e de idade superior a 60 anos (70,4%). A média de idade dos pacientes foi de 63 anos \pm 8,9 e as idades mínima e máxima foram de, respectivamente, 44 e 76 anos. Em relação aos hábitos de vida, 57,9% eram tabagistas, no momento do diagnóstico.

Tabela 1. Caracterização de pacientes diagnosticados com adenocarcinoma pancreático que tiveram seu anatomopatológico analisado em um hospital terciário de Passo Fundo, RS, entre 2000 a 2015 (n= 27).

Variáveis	n	%
Sexo		
Masculino	15	55,6
Feminino	12	44,4
Idade (anos completos)		
\leq 60	8	29,6
$>$ 60	19	70,4
Tabagista (n=21)		
Sim	11	57,9
Não	7	36,8
Ex-tabagista	3	5,3

Em relação aos achados diagnósticos e patológicos (Tabela 2), a maioria dos casos (92,6%) tiveram reação imuno-histoquímica do Ki-67 positiva, sendo que 52% desses obtiveram expressão do Ki-67 maior que 20% (Figura 1). Além disso, a cabeça do pâncreas foi a localização mais frequente correspondendo a 87,5% dos casos, sendo que o tipo histológico mais comum foi o adenocarcinoma ductal (94,1%), moderadamente diferenciado (50%). Quanto ao estadiamento, o envolvimento do tronco celíaco, artéria mesentérica superior e/ou artéria hepática comum ocorreu em 61,1% dos pacientes, a presença de metástase em linfonodos regionais em 47,6% e a presença de metástases à distância em 42,9% dos casos.

Tabela 2. Achados diagnósticos, patológicos e estadiamento dos casos de adenocarcinoma pancreático identificados em um hospital terciário de Passo Fundo, RS, entre 2000 a 2015 (n= 27).

Variáveis	n	%
Reação Imunoistoquímica Ki-67 (n=27)		
Positiva	25	92,6
Negativa	2	7,4
% da reação Ki-67 (n=27)		
\leq 2%	2	8,0
3 – 20%	10	40,0
$>$ 20%	13	52,0
Localização Anatômica (n=24)		
Cabeça	21	87,5
Corpo	3	12,5

Tipo Histológico (n=18)		
Adenocarcinoma ductal	17	94,4
Adenocarcinoma mucinoso	1	5,6
Diferenciação do Adenocarcinoma (n=20)		
Bem diferenciado	5	25,0
Moderadamente diferenciado	10	50,0
Pouco diferenciado	4	20,0
Indiferenciado	1	5,0
Tumor primário (n=18)		
Não pode ser acessado	1	5,6
≤ 2 cm na maior dimensão	1	5,6
> 2 e ≤ 4 cm na maior dimensão	3	16,7
> 4 cm na maior dimensão	2	11,0
Envolvendo tronco celíaco, a. mesentérica superior e/ou a. hepática comum	11	61,1
Linfonodos Regionais (n=21)		
Não podem ser avaliados	5	23,8
Sem metástase	6	28,6
Metástase em linfonodos	10	47,6
Metástase à distância (n=21)		
Não pode ser avaliado	3	14,2
Ausência de metástase	9	42,9
Presença de metástase à distância	9	42,9

Acerca do prognóstico dos pacientes (Tabela 3), 77,8% dos pacientes evoluíram a óbito em decorrência do adenocarcinoma pancreático. A sobrevida média dos pacientes foi de 6 meses \pm 11,7 e a sobrevida mínima e máxima foi de, respectivamente, 0 e 50 meses após a confirmação do diagnóstico. Por fim, é importante enfatizar que pode ter ocorrido uma subestimação dos dados de óbito e da sobrevida, visto que vários pacientes terminais com adenocarcinoma pancreático recebem alta hospitalar, sendo assim, a data de falecimento não foi registrada nos prontuários médicos e, por conseguinte, não foi possível calcular a sobrevida desses pacientes.

Tabela 3. Prognóstico dos casos de adenocarcinoma pancreático identificados em um hospital terciário de Passo Fundo, RS, entre 2000 a 2015 (n= 27)..

Variáveis	n	%
Óbito (n=27)		
Sim	21	77,8
Não/Não especificado	6	22,2
Sobrevida (meses completos) (n=21)		
0 – 12 meses	17	81,0
> 12 meses	4	19,0

A reação imuno-histoquímica do Ki-67 > 20% ocorreu em 32% dos pacientes do sexo masculino e em 20% no sexo feminino, porém, nas mulheres a expressão do Ki-67 mais encontrada foi \leq 20% correspondendo a 28% dessa população (Tabela 4). Entretanto, não houve

significância estatística ao realizar a análise ($p = 0,320$). Além disso, não houve significância estatística da relação do Ki-67 ao tabagismo ($p = 0,688$), à localização anatômica ($p = 0,176$) e ao grau de diferenciação do adenocarcinoma ($p = 0,784$). Por fim, a correlação da expressão do Ki-67 e a idade dos pacientes apresentou significância estatística ($p = 0,015$), sendo que, a reação Ki-67 > 20% ocorreu em 28% na população com idade menor ou igual a 60 anos e 24% nas idades superiores de 60 anos. Ainda, 44% dos pacientes maiores de 60 anos obtiveram reação do Ki-67 $\leq 20\%$.

Tabela 4. Relação entre a expressão do marcador tumoral Ki-67 e as variáveis clínico-patológicas dos casos de adenocarcinoma pancreático identificados em um hospital terciário de Passo Fundo, RS, entre 2000 a 2015 (n= 27).

Variáveis	Ki-67 ($\leq 20\%$)		Ki-67 ($> 20\%$)		P*
	n	%	n	%	
Sexo (n=25)					0,320
Feminino	7	28,0	5	20,0	
Masculino	5	20,0	8	32,0	
Idade (anos completos) (n=25)					0,015
≤ 60 anos	1	4,0	7	28,0	
> 60 anos	11	44,0	6	24,0	
Tabagismo (n=17)					0,688
Sim	4	23,5	5	29,4	
Não	3	17,6	4	23,5	
Ex-tabagista	0	0,0	1	5,9	
Localização Anatômica (n=21)					0,176
Cabeça	10	45,5	10	45,5	
Corpo	0	0,0	2	9,1	
Diferenciação do Adenocarcinoma (n=18)					0,784
Bem diferenciado	2	10,5	3	15,8	
Moderadamente diferenciado	4	21,1	5	26,3	
Pouco diferenciado	1	5,3	3	15,8	
Indiferenciado	0	0,0	1	5,3	

*Teste do qui-quadrado

Ao analisar o estadiamento dos adenocarcinomas com a porcentagem da reação do Ki-67, nota-se expressão > 20% em todos níveis de estadiamento, sendo mais prevalente no estágio III (22,7%) e no estágio IV (18,2%). Contudo, essa associação não apresentou significância ($p = 0,747$). Sobre a sobrevida dos pacientes e a reação imuno-histoquímica, 47,4% dos pacientes que obtiveram Ki-67 > 20% evoluíram a óbito em até 12 meses e 10,5% dos casos sobreviveram por mais de 12 meses. Ainda, 38,9% dos pacientes com valores menores de Ki-67 obtiveram uma sobrevida de até 12 meses, enquanto apenas 5,3% dos casos sobreviveram mais de 12 meses. Porém, essa associação não apresentou significância estatística ($p = 0,737$) (Tabela 5).

Tabela 5. Relação entre a expressão do marcador tumoral Ki-67 e as variáveis clínico-patológicas dos casos de adenocarcinoma pancreático identificados em um hospital terciário de Passo Fundo, RS, entre 2000 a 2015 (n= 27).

Variáveis	Ki-67 ($\leq 20\%$)		Ki-67 ($> 20\%$)		P*
	n	%	n	%	
Estadiamento (n=22)					0,747
Estágio IA	0	0,0	1	4,5	
Estágio IB	0	0,0	1	4,5	
Estágio IIA	0	0,0	1	4,5	
Estágio IIB	1	4,5	1	4,5	
Estágio III	4	18,2	5	22,7	
Estágio IV	4	18,2	4	18,2	
Sobrevida (meses completos) (n=18)					0,737
≤ 12 meses	7	38,9	9	47,4	
> 12 meses	1	5,3	2	10,5	

* Teste do qui-quadrado

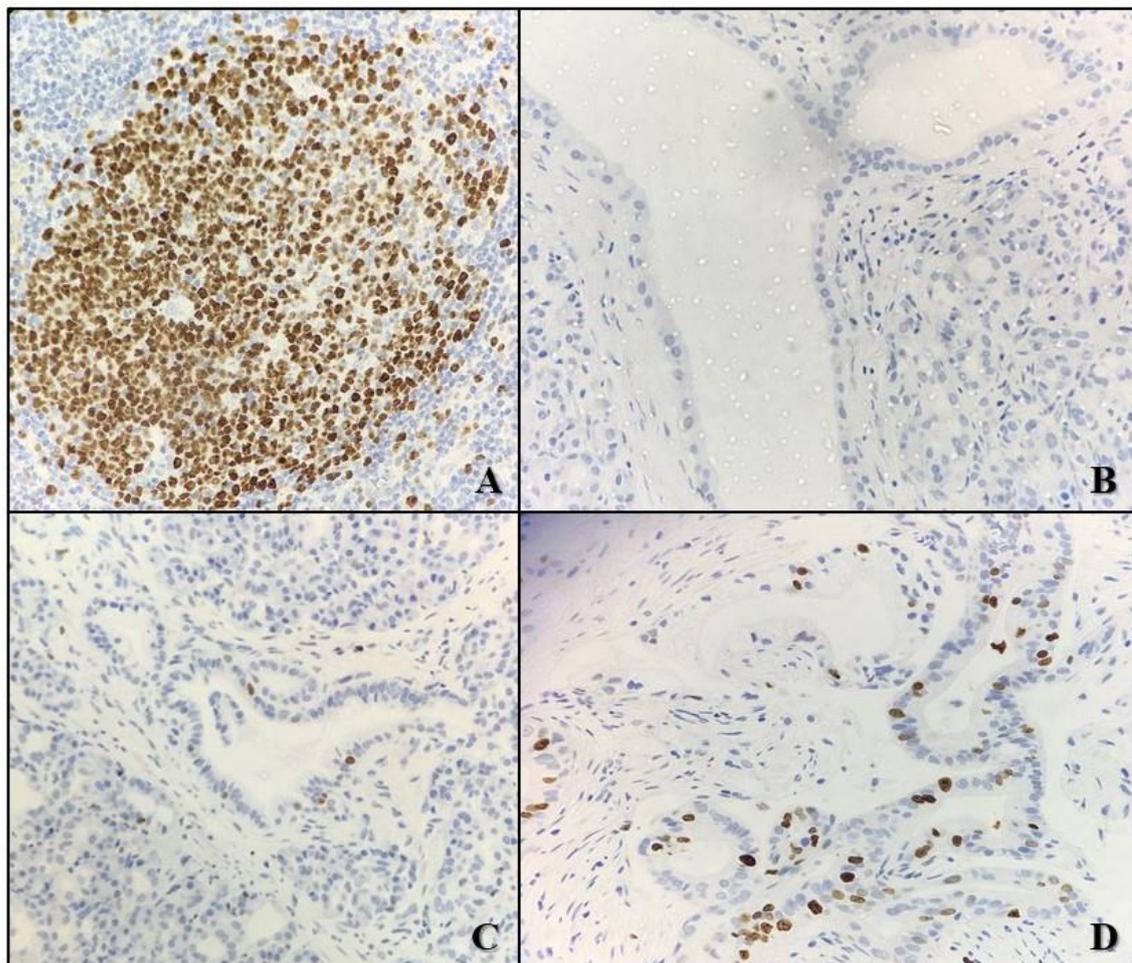


FIGURA 1. Expressão do marcador tumoral Ki-67 pela técnica de imuno-histoquímica.

A. linfonodo normal (controle positivo) com alta expressão do Ki-67, visto por meio da coloração marrom no núcleo da célula. **B.** Adenocarcinoma pancreático com ausência do índice proliferativo (IP) do Ki-67. **C e D.** Adenocarcinomas pancreáticos que demonstram a expressão do marcador Ki-67 entre 3 – 20% e maior que 20%, respectivamente (aumento de 400x).

DISCUSSÃO

Determinadas características clínico-patológica já estão bem estabelecidas na epidemiologia do câncer de pâncreas, dentre elas destacam-se a idade avançada, os fatores de risco modificáveis (tabagismo, obesidade) e não modificáveis (predisposição familiar), o quadro clínico assintomático, o tipo histológico mais comum (adenocarcinomas) e o prognóstico desfavorável. Posto isso, apesar da caracterização bem definida e dos avanços na medicina, a mortalidade dessa neoplasia permanece muito elevada ⁽³⁾.

O perfil epidemiológico dos pacientes acometidos pelo adenocarcinoma pancreático no presente estudo é condizente com o que está estabelecido pela literatura, afetando principalmente homens, com uma média de idade de 63 anos ^(2, 3, 10). Sabe-se que o tabagismo é o fator modificável mais relevante para o desenvolvimento dessas neoplasias, apresentando um risco aumentado em até 6 vezes em relação a não fumantes ^(2, 10, 11). Neste estudo, 63,2% dos pacientes eram tabagistas ou ex-tabagistas no momento no diagnóstico, confirmando o fator predisponente ao desenvolvimento desta malignidade.

O tipo histológico mais comum são adenocarcinomas ductais, os quais correspondem a 70 - 90% das malignidades nesse órgão. Ainda, aproximadamente 60 - 70% dos adenocarcinomas pancreáticos advêm da cabeça do pâncreas, seguido do corpo (15 - 20%) e na maioria das vezes são moderadamente a pouco diferenciados, o que se assemelha aos dados analisados ⁽¹²⁻¹⁷⁾.

Após o diagnóstico ser confirmado, o maior objetivo é avaliar o estadiamento dos pacientes para delinear a extensão da doença e a possibilidade de ressecção do tumor com função curativa. Para isso, a maior parte da literatura médica utiliza o sistema TNM do *American Joint Committee on Cancer (AJCC) / Union for International Cancer Control (UICC)*, o qual classifica o tumor primário com base no tamanho, no acometimento das estruturas vasculares peripancreáticas, avalia o acometimento de linfonodos regionais e, por fim, a presença ou ausência de metástases à distância. Assim quanto maior o TNM, mais avançada é a neoplasia ^(18, 19, 20). No estudo, o envolvimento das estruturas vasculares peripancreáticas ocorreu em 61,1% dos pacientes, a presença de metástase em linfonodos regionais em 47,6% e a presença de metástases à distância em 42,9% dos casos. Sendo assim, os diagnósticos foram feitos em estágios mais avançados do câncer pancreático, prevalecendo os estágios III e IV.

Posto isso, o marcador tumoral Ki-67 pode auxiliar na avaliação desses tumores, visto que a expressão dessa proteína está intimamente relacionada com a capacidade proliferativa das células ^(5, 21). Em relação a positividade do Ki-67, de acordo com Ferrara *et al.* (1999)⁽²²⁾ apenas

50% dos casos apresentaram positividade para essa proteína, enquanto nas análises de Kim *et al.* (2014) ⁽²³⁾ e Hu *et al.* (2012) ⁽²⁴⁾ os casos positivos alcançaram, respectivamente 88,2% e 94,2%, resultados que se assemelham à positividade de 92,6% encontrada neste estudo.

Contudo, poucos estudos significativos são encontrados sobre as associações de variáveis com o índice proliferativo (IP) de Ki-67. Neste artigo, houve correlação positiva entre a idade dos pacientes e a expressão do Ki-67, sendo que cerca de metade dos pacientes, com mais de 60 anos, apresentaram valores menores de Ki-67 e em quase um terço dos pacientes, com ≤ 60 anos, a expressão foi $>20\%$. Esses dados sugerem que a detecção aumentada do marcador em idade menor pode ser melhor investigada como fator prognóstico da doença. Por outro lado, não foram encontradas conexões significativas entre as outras variáveis clínico-patológicas dos pacientes (sexo, tabagismo, localização do tumor e estadiamento) e o IP de Ki-67 ⁽²⁵⁾. Porém, existem estudos que mostraram correlações entre o número de células positivas do marcador tumoral e o TNM e estadiamento ^(22, 23, 24, 26).

Adicionalmente, Pergolini *et al.* (2019) ⁽²⁴⁾ e Herlea *et al.* (2020) ⁽²⁶⁾, os quais analisaram, respectivamente, 170 e 230 pacientes com adenocarcinoma ductal pancreático, mostraram associação positiva entre grau de diferenciação tumoral (pouco diferenciado) e o IP do Ki-67 ($> 35\%$). Por outro lado, outros estudos, incluindo este, não mostraram associação significativa entre essas variáveis, possivelmente justificado pelo número amostral limitado desses trabalhos ^(21, 22).

O prognóstico do adenocarcinoma pancreático é hostil, geralmente esse câncer está associado a sinais e sintomas inespecíficos e que se apresentam nas fases mais avançadas da doença, sendo assim, cerca de 80% dos casos são inoperáveis no momento do diagnóstico ^(3,10, 27, 28). Por isso, a sobrevida desses pacientes geralmente é extremamente reservada. O estudo retrospectivo de Silva *et al.* (2021), que obteve uma amostra de 71 pacientes em um período de 4 anos mostrou que 75,2% dos casos de adenocarcinoma pancreático evoluíram para óbito em 12 meses ⁽²⁹⁾. Outrossim, Espíndola *et al.* (2013), em um estudo de coorte, avaliaram a sobrevida em um período de 2 anos de 51 pacientes com câncer de pâncreas apresentando a sobrevida em um ano de 12,6% ⁽³⁰⁾. Assim, ao analisar os dados anteriores com este estudo, a sobrevida em 12 meses foi similar, visto que 81% dos pacientes analisados evoluíram a óbito nesse tempo.

Todavia, em estudos maiores como o de Kamarajah *et al.* (2017), com 8960 pacientes, a sobrevida global foi melhor categorizada, sendo avaliada nos estágios IA, IB, IIA, IIB e III, mostrando uma sobrevida média de respectivamente, 38, 24, 18, 17, 14 meses ⁽³¹⁾. Posto isso, apesar das diferenças nos estudos, é inegável que o prognóstico dessa doença é desfavorável apresentando uma sobrevida limitada.

À vista disso, diversos artigos buscam correlacionar o prognóstico e sobrevida desses pacientes à porcentagem da reação imuno-histoquímica do Ki-67, porém ainda não há consenso entre eles. De acordo com o estudo retrospectivo de Pergolini *et al.* (2019) ⁽²⁵⁾ e o estudo de caso/controle de Karamitopoulou *et al.* (2010) ⁽³²⁾, com amostras de adenocarcinomas pancreáticos de, respectivamente, 170 e 210 pacientes, a expressão elevada do Ki-67 (>45 – 50%) foi associada a uma redução da sobrevida. A taxa de sobrevida em 12 meses em pacientes com IP Ki-67 de 45% foi de 28% enquanto os pacientes com IP Ki-67 <5% foi de 65,8% ⁽³²⁾. Contudo, estudos menores não reportaram associações significativas entre essas variáveis ⁽³³⁻³⁵⁾. Este trabalho, mostrou que pacientes que obtiveram sobrevida de até 12 meses apresentaram IP do Ki-67 mais altos (> 20%), entretanto, o valor de p não foi estatisticamente relevante ($p > 0,05$), possivelmente explicado pela pequena amostra analisada.

Por fim, em relação às limitações do estudo, a utilização de dados de prontuários pode não ser totalmente fidedigna com a realidade, visto que diversas informações podem estar ocultadas e/ou não preenchidas. Ainda, houve um número limitado de amostras no período estudado. Quanto às particularidades, nota-se que o anticorpo utilizado (MIB-1) demonstrou êxito na marcação das células tumorais e pode ser utilizado para detecção do Ki-67 por IHQ.

CONCLUSÃO

Conforme este estudo, o adenocarcinoma pancreático ocorreu mais frequentemente em homens, em idades avançadas (> 60 anos), tabagistas ou ex-tabagistas no momento do diagnóstico. Em relação aos achados patológicos, como esperado, o tipo histológico mais encontrado foi o adenocarcinoma ductal, moderadamente diferenciado, localizado na cabeça do pâncreas e em estágios mais avançados (estadiamento III e IV). O estudo demonstrou baixa sobrevida e prognóstico desfavorável. Constata-se que há alta prevalência da expressão do marcador tumoral Ki-67 nos adenocarcinomas pancreáticos. Em relação a correlação com o IP da proteína Ki-67, houve significância estatística com a variável idade, posto que, notou-se uma intensidade maior da expressão do Ki-67 em pacientes com ≤ 60 anos, enquanto pacientes mais velhos, valores mais baixos desse antígeno foram identificados. Por conseguinte, é necessário que mais estudos sejam realizados, no intuito de avaliar amostras maiores, para que as associações entre características clínicas, patológicas e prognósticas sejam melhor estabelecidas.

REFERÊNCIAS

(1) World Health Organization [homepage na internet]. Global Cancer Observatory [acesso em

01 jun 2021]. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/>

- (2) Freitas D, Montagnini AL. Tumores de Pâncreas. In: Hoff PMG, Katz A, Chammas R, Filho VO, Novis YS, editors. Tratado de Oncologia. 1th edition. São Paulo: Atheneu; 2013. p. 1665 – 1678
- (3) Goral V. Pancreatic Cancer: Pathogenesis and Diagnosis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015; 16 (14): 5619-5624
- (4) Almeida JRC, Pedrosa NL, Leite JB, Fleming TRP, Carvalho VH, Cardoso AAA. Marcadores Tumorais: Revisão de Literatura. *Rev. bras. cancerol.* 2007; 53 (3) 305 – 316
- (5) Arisawa EAL, Moraes E, Rocha RF da, Almeida JD de. Marcadores biológicos: PCNA e Ki-67 breve revisão. *Brazilian Dent Sci.* 2010;2(1):54–60.
- (6) Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000;182(3):311–22.
- (7) Kim H, Park CY, Lee JH, Kim JC, Cho CK, Kim HJ. Ki-67 and p53 expression as a predictive marker for early postoperative recurrence in pancreatic head cancer. *Ann Surg Treat Res.* 2015;88(4):200–7.
- (8) Scarpa A, Mantovani W, Capelli P, Beghelli S, Boninsegna L, Bettini R, et al. Pancreatic endocrine tumors: Improved TNM staging and histopathological grading permit a clinically efficient prognostic stratification of patients. *Mod Pathol.* 2010;23(6):824–33.
- (9) Sociedade Brasileira de Patologia [homepage na internet]. Pâncreas - Neoplasias - 5ª edição 2019 [acesso em 20 jun 2021]. Disponível em: <http://www.sbp.org.br/manual-de-laudos-histopatologicos/pancreas-neoplasias/>
- (10) Fonseca AA, Rêgo MAV. Tendência da mortalidade por câncer de pâncreas em Salvador – Brasil, 1980 a 2012. *Revista Brasileira de Cancerologia.* 2016 jan 12; 62(1):9-16.
- (11) McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J Gastroenterol.* 2018;24(43):4846–61.
- (12) Zhang L, Sanagapalli S, Stoita A. Challenges in diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol.* 2018;24(19):2047–60.
- (13) Gordo AMJ, Gómez ML, Casado E, Molina R. Actualización en cáncer de páncreas y de vías biliares. *Med [Internet].* 2017;12(32):1919–28. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.med.2017.04.01>
- (14) Meyer Neto JGC, Penna GL. Aspectos etiopatogênicos do câncer exócrino do pâncreas. Relato de caso Etiopathogenic aspects of the exocrine pancreatic cancer. Case report. *Rev Soc Bras Clín Méd [Internet].* 2010;8(4):365–6. Available from: <http://files.bvs.br/upload/S/1679->

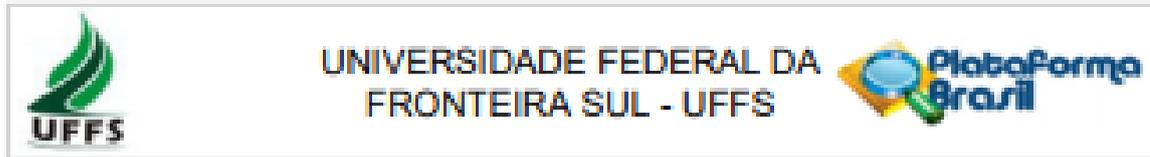
1010/2010/v8n4/a015.pdf

- (15) Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, Takaori K. Pancreatic cancer. *Lancet* [Internet]. 2016;388(10039):73–85. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00141-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00141-0)
- (16) Hruban RH, Iacobuzio-Donahue C. O Pâncreas. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, editors. *Robbins and Cotran, Bases Patológicas das Doenças*. 8th edition. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010. p. 899 – 912
- (17) Ryan DP, Hong TS BN. Pancreatic adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2014;371(11):1039–49.
- (18) AJCC Cancer Staging Form Supplement 8th edition: exocrine pancreas. American Joint Committee on Cancer, American College of Surgeons.
- (19) Bowman AW, Bolan CW. MRI evaluation of pancreatic ductal adenocarcinoma: diagnosis, mimics, and staging. *Abdom Radiol*. 2019;44(3):936–49.
- (20) Van Roessel S, Kasumova GG, Verheij J, Najarian RM, Maggino L, De Pastena M, et al. International Validation of the Eighth Edition of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) TNM Staging System in Patients with Resected Pancreatic Cancer. *JAMA Surg*. 2018;153(12):1–8.
- (21) Lebe B, Sagol O, Ulukus C, Coker A, Karademir S, Astarcioglu H, Kupelioglu A, Astarcioglu I, Obuz F. The importance of cyclin D1 and Ki67 expression on the biological behavior of pancreatic adenocarcinomas. *Pathol Res Pract*. 2004;200(5):389-96.
- (22) Ferrara C, Tessari G, Poletti A, Giacon C, Meggiato T, Martines D, Del Favero G, Naccarato R. Ki-67 and c-jun expression in pancreatic cancer: A prognostic marker?. *Oncol Rep*. 1999;6(5)1117-22.
- (23) Kim H, Park CY, Lee JH, Kim JC, Cho C, Kim HJ. Ki-67 and p53 expression as a predictive marker for early postoperative recurrence in pancreatic head cancer. *Ann Surg Treat Res*. 2015;88(4):200-7.
- (24) Hu HY, Liu H, Zhang JW, Hu K, Lin Y. Clinical significance of Smac and Ki-67 expression in pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* 2012;59:2640-3.
- (25) Pergolini I, Crippa S, Pagnanelli M, Belfiori G, Pucci A, Partelli S, Rubini C, Castelli P, Zamboni G, Falconi M. Prognostic impact of Ki-67 proliferative index in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *BKS Open*. 2019;3(5):646-55
- (26) Herlea V, Mustafa ES, Iorgescu AC, Pechianu NC, Cretoiu D, Sajin M, et al. A Morphological and Immunohistochemical Study of the Tumoral and Inflammatory Cells in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Immunol Res*. 2020;2020:1-8.

- (27) Lizarazo Rodríguez JI. Patogénesis del cáncer de pâncreas. *Rev Col Gastroenterol*. 2008;23(4):391-99.
- (28) Bontempo L, Jácome GC, Bitencourt EL. Perfil epidemiológico do câncer de pâncreas na região Norte do Brasil no período de 2010 a 2018. *Rev Patol Tocantins*. 2019;6(2):20-5.
- (29) Silva WCF, Lima AGS, Silva HVC, Santos RA. Perfil Clínico-epidemiológico e sobrevida global em pacientes com adenocarcinoma de pâncreas em um hospital de referência em oncologia. *Rev. Bras. Cancerol*. 2021;67(1):1-7.
- (30) Espindola LMD, Mota A, Gomes EAP, et al. Sobrevida em dois anos de pacientes acometidos por câncer de pâncreas e os fatores associados. *ACM Arq Catarin Med*. 2013;42(2):62-9.
- (31) Kamarajah SK, Burns WR, Frankel TL, Cho CS, Nathan H. Validation of the American joint commission on cancer (AJCC) 8th edition staging system for patients with pancreatic adenocarcinoma: a surveillance, epidemiology and end results (SEER) analysis. *Ann. Surg. Oncol*. 2017;24(7):2021-30;
- (32) Karamitopoulou E, Zlobec I, Tornillo L, Carafa V, Schaffner T, Brunner T, et al. Differential cell cycle and proliferation marker expression in ductal pancreatic adenocarcinoma and pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN). *Pathology*. 2010;42(3):229–34.
- (33) Stanton KJ, Sidner RA, Miller GA, Cummings OW, Schmidt CM, Howard TJ, et al. Analysis of Ki-67 antigen expression, DNA proliferative fraction, and survival in resected cancer of the pancreas. *Am J Surg*. 2003;186(5):486–92.
- (34) Temraz S, Shamseddine A, Mukherji D, Charafeddine M, Tfayli A, Assi H, et al. Ki67 and P53 in Relation to Disease Progression in Metastatic Pancreatic Cancer: a Single Institution Analysis. *Pathol Oncol Res*. 2019;25(3):1059–66.
- (35) Goitia-Durán MB, Linhares MM, Artigiani Neto R, Apodaca-Torrez FR, Lobo EJ, Goldenberg A. Expressão das proteínas p53, p16 e ki67 no adenocarcinoma da cabeça do pâncreas e sua relação com a sobrevida e diferenciação celular. *Einstein (São Paulo)*. 2010;8:444–8

4 ANEXOS

ANEXO A: Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISES IMUNOISTOQUÍMICA E SÉRICA DE MARCADORES TUMORAIS EM ADENOCARCINOMAS PANCREÁTICOS

Pesquisador: Daniela Augustin Silveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 40403920.4.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.527.790

Apresentação do Projeto:

TRANSCRIÇÃO – RESUMO

O presente estudo será quantitativo observacional, do tipo transversal descritivo e analítico; e, visa avaliar o padrão da expressão dos marcadores tumorais Ca19-9 e KI-67 nos adenocarcinomas pancreáticos relacionando-os com o estadiamento clínico do tumor e a sobrevida dos pacientes. Nesse estudo tem-se como objetivo avaliar, através de dados dos prontuários médicos, os registros de dosagens séricas do marcador Ca19-9 nos pacientes submetidos à pancreatectomia por adenocarcinoma pancreático, no período de janeiro de 2009 até 31 de dezembro de 2016. As amostras das peças cirúrgicas, emblocadas em parafina, serão buscadas no arquivo do Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo, das quais os fragmentos de tecido tumoral serão retirados para que sejam submetidos à reação imunoistoquímica com o marcador KI-67. A determinação da expressão tecidual do KI-67 será contabilizada nas lâminas pela acadêmica e por sua orientadora (duplo cego) considerando-se a reação positiva quando houver coloração nuclear marrom, ou seja, expressão da proteína KI-67, com a visualização de 5 campos de maior aumento (400x) na região do tumor, com a contagem de 100 células em cada campo, fazendo-se um somatório de células coradas, com resultado final em valor percentual. Os resultados serão relacionados à idade, sexo, valores séricos de Ca19-9, estadiamento clínico do tumor e sobrevida dos pacientes. Ao se relacionar a expressão dos marcadores tumorais Ca19-9 e KI-67 às características individuais de cada paciente pretende-se verificar se esses marcadores juntos

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



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Projeto: 4.527.790

trazem uma perspectiva de um pior prognóstico, conforme relatos da literatura. Se a hipótese for confirmada, o presente estudo contribuirá trazendo informações para que a análise destes marcadores seja feita rotineiramente em conjunto, auxiliando no delineamento prognóstico dos pacientes e quem sabe em condutas terapêuticas individualizadas.

COMENTÁRIOS:

Adequado.

Objetivo da Pesquisa:

TRANSCRIÇÃO – HIPÓTESE:

1. Valores séricos elevados do marcador tumoral Ca19.9 estão relacionados com um pior prognóstico nos pacientes com adenocarcinoma pancreático.
2. Existe correlação direta do marcador tumoral tecidual KI-67 com o prognóstico dos pacientes com adenocarcinomas pancreáticos.

HIPÓTESE – COMENTÁRIOS:

Adequado.

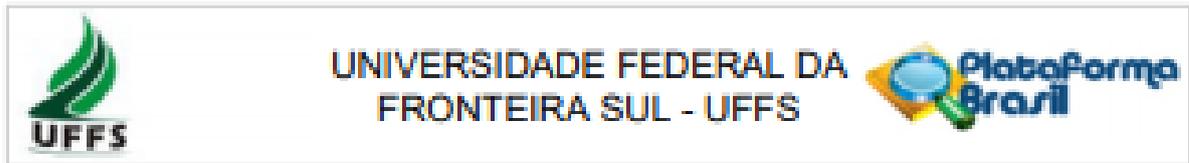
TRANSCRIÇÃO – OBJETIVOS:

Objetivo Primário: Analisar a concentração sérica do marcador tumoral Ca19-9 e a expressão imunohistoquímica no tecido tumoral do índice proliferativo KI-67 em adenocarcinomas pancreáticos.

Objetivo Secundário: Relacionar as características clínico-epidemiológicas com os marcadores tumorais analisados. Relacionar os marcadores Ca19.9 e KI-67 com o prognóstico dos pacientes portadores de adenocarcinoma pancreático. Correlacionar a expressão do marcador tumoral tecidual KI-67 com o prognóstico dos pacientes com adenocarcinoma pancreático.

OBJETIVO PRIMÁRIO – COMENTÁRIOS:

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)3049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.527.790

Adequado.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS – COMENTÁRIOS:

Adequado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

TRANSCRIÇÃO – RISCOS:

"Existe o risco de identificação do participante. Entretanto, visando minimizar esse risco, os nomes serão substituídos por números no momento da extração dos dados do sistema. Caso a identificação ocorra, será informado ao Hospital São Vicente de Paulo, local onde será coletado os dados e, além disso, o participante será excluído da pesquisa. As amostras cirúrgicas, emblocadas em parafina, a serem utilizadas para a realização da imunistoquímica, são identificadas apenas por número no Laboratório de Patologia do HSNP, e assim, não há risco de identificação do participante."

RISCOS – COMENTÁRIOS:

Os pesquisadores realizaram adequaram o texto conforme solicitação do primeiro parecer.

TRANSCRIÇÃO – BENEFÍCIOS:

Devido à natureza do estudo, não existem benefícios diretos para os participantes. No entanto, os mesmos serão beneficiados de forma indireta, assim como toda a comunidade, uma vez que a identificação dos marcadores tumorais presentes nos casos de carcinoma pancreático, bem como fatores associados, poderá contribuir com o tratamento de futuros pacientes acometidos. De maneira a fornecer uma devolutiva ao Hospital São Vicente de Paulo de Passo Fundo - RS, a equipe pretende entregar um relatório documentando os resultados obtidos na pesquisa. Portanto, a partir da análise dos dados, o estudo possibilitará que os pesquisadores e a instituição estendam seus conhecimentos acerca do tema em questão, com o intuito de melhorar o processo de diagnóstico e de prognóstico dos pacientes, o que beneficia a todos, mesmo que indiretamente.

BENEFÍCIOS – COMENTÁRIOS:

Descrevem os benefícios indiretos com os resultados: possibilidade de melhoria da assistência em saúde.

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)3349-3745 E-mail: cnp.uffs@uffs.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.527.790

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

TRANSCRIÇÃO – DESENHO:

Trata-se de um estudo quantitativo, observacional do tipo transversal descritivo e analítico.

TRANSCRIÇÃO – METODOLOGIA PROPOSTA: 2.1.8.2 Local e Período de Realização

O estudo será realizado no período de novembro de 2020 até agosto de 2021, na cidade de Passo Fundo – RS.

2.1.8.3 População e Amostragem

A população que servirá de base para o estudo será constituída de pacientes com diagnóstico anatomopatológico de adenocarcinoma pancreático, que realizaram pancreatectomia no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) e cujos anatomopatológicos foram realizados no laboratório de patologia do mesmo hospital no período de 01 de janeiro de 2009 até 31 de dezembro de 2016. Será feita então, a busca no arquivo do laboratório, da amostra do tecido tumoral arquivada em bloco de parafina, para a realização do estudo imunohistoquímico. A amostra, não probabilística, de conveniência, incluirá aproximadamente 128 pacientes.

Crítérios de inclusão: Ambos os sexos, qualquer idade, submetidos a biópsia de pâncreas ou pancreatectomia no HSVP, no período de tempo citado, cujas amostras de tecido tumoral estejam armazenadas no laboratório.

Crítérios de exclusão: Laudos anatomopatológicos que não contenham as informações necessárias e casos em que as amostras tumorais emblocadas em parafina não estejam adequadamente preservadas para a realização da reação imuno-histoquímica.

2.1.8.4 Variáveis e instrumentos da coleta de dados

Variável dependente: marcadores tumorais KI-67 e Ca19-9.

Variáveis independentes: presença de diagnóstico de carcinoma pancreático, idade, sexo, subtipo do carcinoma, TNM, prognóstico e sobrevida dos pacientes.

Instrumentos de coleta de dados: será efetuado o levantamento dos dados registrados no sistema de pesquisa dos laudos anatomopatológicos e prontuário eletrônico do laboratório citado. As amostras teciduais dos pacientes serão identificadas por número de registro. Os dados coletados do programa serão transcritos para uma planilha (apêndice A) e posteriormente armazenados em uma planilha eletrônica, observando-se os critérios de inclusão e exclusão.

2.1.8.5 Logística

O período de abrangência deste estudo será de 01 de janeiro de 2009 até 31 de dezembro de 2016. Após a listagem dos casos, a acadêmica fará a busca na biblioteca do HSVP, em

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-099
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Projeto: 4.527.790

computadores destinados à pesquisa neste setor e interligados à rede, mediante a aquisição de um login e senha, quando então, fará a busca e seleção dos laudos anatomopatológicos de cada paciente que realizou procedimento cirúrgico (pancreatectomia) no HSVP e cujos laudos anatomopatológicos foram confeccionados no Laboratório de Patologia do mesmo hospital. Os casos listados do laboratório estão arquivados na forma de amostragem tumoral emblocada em parafina. A acadêmica fará a retirada deste material do arquivo e os casos serão, então, encaminhados para a realização da reação imunohistoquímica dos casos para a avaliação da expressão do marcador KI-67, com anticorpo monoclonal MIB-1. Para tanto serão utilizados cortes de 4 micra do tecido tumoral parafinado e este será submetido a reação imunohistoquímica com a utilização do anticorpo primário anti-KI-67 e com marcação da reação com cromógeno marrom (DAB) e com contra coloração com Hematoxilina de Harris. O laboratório onde será realizada a imunohistoquímica localiza-se dentro do Hospital São Vicente de Paulo. A imunohistoquímica será realizada pela técnica do laboratório, a qual já realiza os procedimentos de rotina do local. E quem analisará e interpretará as lâminas de imunohistoquímica será a médica especialista em patologia do laboratório, pesquisadora principal e a acadêmica do presente estudo. A reação imunohistoquímica dos casos ocorrerá junto com a rotina do laboratório, onde em cada reação haverá um caso controle positivo e um negativo. Serão avaliados os casos quanto a positividade ou não da expressão do marcador KI-67. Nos casos positivos, será avaliada a intensidade da reação e a porcentagem de células tumorais positivas. Para isso, será utilizado o mascaramento a fim de evitar vies de aferição (duplo cego), as lâminas serão analisadas, então, por dois observadores, a acadêmica pesquisadora e sua orientadora. Os critérios de positividade nuclear nos tumores analisados incluirão: contagem de 500 células em 5 campos no aumento de 400 vezes, considerando-se positivos os casos com coloração nuclear marrom intensa.

A logística do estudo está organizada da seguinte forma:

1. Buscar os casos listados um a um no arquivo do laboratório de patologia para obtenção da amostra do tumor (bloco de parafina).
2. Processar os blocos de parafina no laboratório de patologia, por microtomia, para realização de cortes em lâminas histológicas, na espessura de quatro micrômetros, sendo estas submetidas à reação imunohistoquímica através do KIT (HiDefDetection™) com o cromógeno DAB, sendo o anticorpo direcionado contra o antígeno KI-67 (clone MIB-1). A acadêmica pesquisadora acompanhará a realização da técnica no Laboratório de Patologia.

O processo se inicia através da desparafinização das lâminas e após a reativação antigênica das mesmas, em tampão PBS, através da fervura em panela de pressão específica (Decloakin Chamber,

Endereço: Rodovia SC-484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-809
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2042-3745

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



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.527.760

marca Biocare Medical). Segue-se o bloqueio da peroxidase endógena através do uso de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 10 v. O passo seguinte será a incubação com o anticorpo primário da proteína Ki-67 com reação nuclear, durante toda a noite. No dia seguinte após lavagem das lâminas em solução tampão, será aplicado o KIT com amplificação de sinal. Após nova lavagem das lâminas, será utilizado o cromógeno DAB para visualização da reação. Posteriormente, as lâminas serão contra-coradas com hematoxilina.

3. Todos os dados coletados pela equipe da pesquisa serão registrados em ficha de dados (apêndice A) para posterior digitação em planilha eletrônica.

4. Descrever e analisar os dados obtidos.

2.1.8.6 Processamento, controle de qualidade e análise de dados

Os dados adquiridos previamente serão duplamente digitados em banco de dados desenvolvido no programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre). A análise estatística será executada no programa de análises estatísticas PSPP (distribuição livre) e compreenderá a média e desvio padrão das variáveis numéricas e distribuição de frequências, absoluta e relativa, das variáveis categóricas.

A análise de associação entre as variáveis independentes com a variável dependente será verificada por meio do teste Qui-quadrado, empregando-se nível de significância de 5%.

A análise de correlação entre os marcadores tumorais e o prognóstico será avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson.

2.1.8.7 Aspectos Éticos

Para cumprimento dos aspectos éticos, o estudo será submetido, primeiramente, à Comissão de Pós-Graduação e Pesquisa do Hospital São Vicente de Paulo. Após aprovação por essa comissão, será submetido para avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul, de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). A pesquisa será realizada com respeito a todos os preceitos éticos estabelecidos, zelando pela legitimidade, privacidade e sigilo das informações, quando necessárias, tomando os resultados desta pesquisa públicos.

Presente no Apêndice B, encontra-se a solicitação de dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A solicitação de dispensa é adequada uma vez que o estudo é baseado em dados de prontuários eletrônicos, os pacientes não são acompanhados regularmente pelo hospital, mudaram de endereço ou podem ter ido à óbito.

No Apêndice C está contido o termo de compromisso para uso de dados em arquivo, com o objetivo de afirmar o comprometimento da equipe em preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados.

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

Bairro: Área Rural

CEP: 89.015-000

UF: SC

Município: CHAPECO

Telefons: (46)2649-3743

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



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.527.760

Por fim, os dados físicos utilizados pela equipe de pesquisa serão arquivados, após a finalização da análise de dados, em uma gaveta trancada com chave na sala 14 no Bloco A do campus Passo Fundo da UFFS. Após finalizado o tempo de guarda (5 anos), os arquivos serão destruídos em uma fragmentadora de papel e descartados. Ainda, em relação aos dados digitais, os mesmos serão armazenados em um pendrive, o qual será mantido junto com os dados físicos, pelo mesmo período de tempo, sendo submetido a formatação no final.

Riscos: Existe o risco de identificação do participante. Entretanto, visando minimizar esse risco, os nomes serão substituídos por números no momento da extração dos dados do sistema. Caso a identificação ocorra, será informado ao Hospital São Vicente de Paulo, local onde será coletado os dados e, além disso, o participante será excluído da pesquisa. As amostras cirúrgicas, emblocadas em parafina, a serem utilizadas para a realização da imunistoquímica, são identificadas apenas por número no Laboratório de Patologia do HSVP, e assim, não há risco de identificação do participante.

Benefícios: Devido à natureza do estudo, não existem benefícios diretos para os participantes. No entanto, os mesmos serão beneficiados de forma indireta, assim como toda a comunidade, uma vez que a identificação dos marcadores tumorais presentes nos casos de adenocarcinoma pancreático, bem como fatores associados, poderá contribuir com o tratamento de futuros pacientes acometidos, podendo assim, acarretar melhorias da assistência em saúde.

De maneira a fornecer uma devolutiva ao Hospital São Vicente de Paulo de Passo Fundo - RS, a equipe pretende entregar um relatório documentando os resultados obtidos na pesquisa. Portanto, a partir da análise dos dados, o estudo possibilitará que os pesquisadores e a instituição estendam seus conhecimentos acerca do tema em questão, com o intuito de melhorar o processo de diagnóstico e de prognóstico dos pacientes, o que beneficia a todos, mesmo que indiretamente. Ainda, considerando-se a natureza do trabalho, não haverá devolutiva aos participantes.

DESENHO e METODOLOGIA PROPOSTA – COMENTÁRIOS:

Pesquisadores realizaram a inclusão das informações solicitadas no primeiro parecer.

TRANSCRIÇÃO – CRITÉRIO DE INCLUSÃO:

Ambos os sexos, qualquer idade, submetidos ao a pancreatectomia no HSVP, no período de tempo citado, cujas amostras de tecido tumoral estejam armazenadas no laboratório.

CRITÉRIO DE INCLUSÃO – COMENTÁRIOS:

Adequado.

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



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Protocolo: 4.827.790

TRANSCRIÇÃO – CRITÉRIO DE EXCLUSÃO:

Laudos anatomopatológicos que não contenham as informações necessárias e casos em que as amostras tumorais emblocadas em parafina não estejam adequadamente preservadas para a realização da reação imunohistoquímica

CRITÉRIO DE EXCLUSÃO – COMENTÁRIOS:

Adequado.

TRANSCRIÇÃO – METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS

Os dados adquiridos previamente serão duplamente digitados em banco de dados desenvolvido no programa Epidata versão 3.1 (distribuição livre). A análise estatística será executada no programa de análises estatísticas PSPP (distribuição livre) e compreenderá a média e desvio padrão das variáveis numéricas e distribuição de frequências, absoluta e relativa, das variáveis categóricas. A análise de associação entre as variáveis independentes com a variável dependente será verificada por meio do teste Qui-quadrado, empregandose nível de significância de 5%. A análise de correlação entre os marcadores tumorais e o prognóstico será avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson.

METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS – COMENTÁRIOS:

Adequado.

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



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.527.760

TRANSCRIÇÃO – DESFECHOS

Caracterização da concentração sérica do marcador tumoral Ca19-9 e a expressão imunohistoquímica no tecido tumoral do índice proliferativo KI-67 em adenocarcinomas pancreáticos

DESFECHOS – COMENTÁRIOS:

Adequado.

CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

Período previsto para coleta de dados – 01/03/2021 a 30/04/2021

CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO – COMENTÁRIOS:

- Cronograma adequado para a realização do estudo.
- Início de coleta para posterior análise do projeto pelo CEP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

FOLHA DE ROSTO:

Adequado.

TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido (para maiores de 18 anos), e/ou Termo de assentimento (para menores de 18 anos), e/ou Termo de consentimento livre e esclarecido para os pais ou responsáveis:

Solicita dispensa.

DECLARAÇÃO DE CIÊNCIA E CONCORDÂNCIA DAS INSTITUIÇÕES ONDE SERÃO COLETADOS OS DADOS:

Adequado.

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

Bairro: Área Rural

CEP: 89.015-000

UF: SC

Município: CHAPECO

Telefone: (49)3049-3745

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



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.527.760

TERMO DE COMPROMISSO PARA USO DE DADOS EM ARQUIVO (por exemplo: prontuários):

Adequado.

JUSTIFICATIVA PARA A NÃO-OBTENÇÃO (OU DISPENSA) DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO:

A solicitação de dispensa é adequada uma vez que o estudo é baseado em dados de prontuários eletrônicos, os pacientes não são acompanhados regularmente pelo hospital, mudaram de endereço ou podem ter ido à óbito.

Recomendações:

Nada a declarar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

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.

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)3040-3745

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



UNIVERSIDADE FEDERAL DA
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.527.790

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 publicização 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
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1887737.pdf	18/12/2020 10:02:56		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Modificado.docx	18/12/2020 10:02:17	EDUARDA VENDRAME	Aceito
Outros	Cartas_Pendencias.doc	18/12/2020 10:02:01	EDUARDA VENDRAME	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE2.docx	18/12/2020 10:00:57	EDUARDA VENDRAME	Aceito
Outros	TCUD.pdf	23/11/2020 18:45:27	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Outros	autorizacao_HSVP.pdf	23/11/2020 18:42:51	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Outros	Dispensa_TCLE.pdf	20/11/2020 17:23:45	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	20/11/2020 17:23:18	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Outros	ficha_transcricao_dados.pdf	19/11/2020	Daniela Augustin	Aceito

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

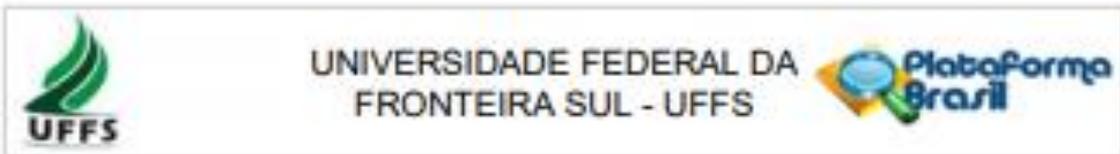
Bairro: Área Rural

CEP: 89.815-000

UF: SC Município: CHAPECO

Telefone: (49)2049-3745

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



Continuação do Parecer: 4.527.790

Outros	ficha_transcricao_dados.pdf	21:50:49	Silveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.pdf	19/11/2020 21:48:10	Daniela Augustin Silveira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CHAPECO, 06 de Fevereiro de 2021

Assinado por:
Fabiane de Andrade Leite
 (Coordenador(a))

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:** csp.uffo@uffs.edu.br

ANEXO B: Normas da Revista para Publicação – Instruções aos Autores.

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade contínua, é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). É indexado no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periodica e no Chemical Abstracts, além de ser 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, 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 em inglês e português, com resumo em português e espanhol.

TAXA DE PUBLICAÇÃO

O JBPMML tem mais de 71 anos de história. Desde 1950, com pausas mínimas na publicação, a revista se compromete a publicar artigos de excelência na área médica diagnóstica. Para que possamos dar continuidade ao trabalho que temos executado com tanta dedicação, a partir de 2021, passaremos a cobrar uma taxa de publicação dos artigos no valor de R\$ 500,00 (quinhentos reais). O processo será realizado por meio do Contrato de Licença de Uso Oneroso de Obra – enviado ao autor após a aprovação final do artigo –, juntamente com as instruções para pagamento da taxa de publicação.

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 JBPMML 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 enviado deverá ser acompanhado de cópia do comprovante de aprovação por um Comitê de Ética em Pesquisa com

Seres Humanos (exceto dados de domínio público).

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., 1996).

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 CONFLITOS 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 com 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.

TITULAÇÃO

O nome dos autores deverá ser referido da seguinte forma: primeiro nome e último sobrenome serão grafados por extenso e nomes intermediários serão abreviados. Acrescentar após o nome de cada autor seu respectivo ORCID. Deve-se inserir nos créditos apenas a Instituição onde

cada autor atua. O nome da instituição será grafado em português ou no idioma do país sede da instituição, relacionado por número ao nome dos autores correspondentes.

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 e artigos de revisão; e máximo de 100 palavras para relatos de caso e comunicações breves).

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.

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 DOS TEXTOS

Artigos Originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original, inédita, que possam ser replicados ou generalizados. 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.

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 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.

Arte na Ciência

Nesta seção, serão aceitas manifestações artísticas relacionadas com a ciência e documentações científicas que possam ser consideradas como arte. Incluem-se, mas não esgotam as possibilidades, textos literários, poemas, fotografias, quadros e figuras.

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.

Artigos de Atualização

São trabalhos descritivos e interpretativos com base na literatura recente sobre a situação global em que se encontra determinado assunto. Devem conter até 3 mil palavras. A estrutura do texto fica a critério do autor, mas deve haver um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês, além de referências bibliográficas

Relatos de Caso

São trabalhos de observações clinicolaboratoriais 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.

Carta 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. (links para pesquisa:

1. <https://usp.br/sddarquivos/arquivos/vancouver.pdf>.
2. <http://www.abenmt.org.br/VancouverNormas-2017.pdf>.
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/>). 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
Mendenhall 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 SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png.

ABREVIACÃO 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.