



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL  
CAMPUS PASSO FUNDO  
CURSO DE MEDICINA**

**LUIGI MARCOS BIGOLIN**

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA EM CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIIS  
ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1**

**PASSO FUNDO - RS**

**2021**

**LUIGI MARCOS BIGOLIN**

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA EM CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIAS**  
**ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1**

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

Orientadora: Profa. Ma. Daniela Augustin Silveira

Coorientadora: Profa. Dra. Jossimara Polettini

**PASSO FUNDO - RS**

**2021**

### **Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Bigolin, Luigi Marcos

ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA EM CARCINOMAS DE CÉLULAS

RENAIS: ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1 / Luigi Marcos

Bigolin. -- 2021.

80 f.

Orientadora: Mestra Daniela Augustin Silveira

Co-orientadora: Doutora Jossimara Polettini

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -

Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de

Bacharelado em Medicina, Passo Fundo, RS, 2021.

1. Carcinoma de Células Renais. 2. Imuno-histoquímica. 3. PD-L1. 4. Análise de Sobrevida. 5. Prognóstico. I. Silveira, Daniela Augustin, orient. II. Polettini, Jossimara, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

**LUIGI MARCOS BIGOLIN**

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIAS**  
**ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1**

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

Este Trabalho de Curso foi deferido e aprovado pela banca em:

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profª. Ma. Daniela Augustin Silveira – UFFS  
Orientadora

---

Prof. Me. Lieverson Augusto Guerra - UFFS

---

Prof. Esp. Nicolas Almeida Leal da Silva - UFFS

Aos meus pais, irmãos e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Professora Mestra Daniela Augustin Silveira, sem a qual esse trabalho não seria possível.

A Professora Doutora Jossimara Poletini, pela coorientação e incentivo para a realização deste estudo.

Ao colega e amigo Dener Antoni Vizentainer, pela parceria neste trabalho e em toda faculdade.

Ao departamento de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo, pela disponibilização de materiais necessários à pesquisa.

Aos meus pais Nadir e Miriam, meus alicerces, que sempre estiveram ao meu lado incentivando e me proporcionando todo o apoio de que precisei.

Aos meus irmãos Marcieli, Douglas e Mariane, pelo companheirismo, pela cumplicidade e pelo apoio em todos os momentos delicados da minha vida.

Aos meus sobrinhos João e Lívia, por todos os momentos incríveis que me proporcionaram.

A todos aqueles que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

O presente estudo, intitulado “ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA EM CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIIS: ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1” foi realizado pelo acadêmico Luigi Marcos Bigolin, estudante do curso de medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) – campus Passo Fundo, sob a orientação da Professora Mestra Daniela Augustin Silveira e coorientação da Professora Doutora Jossimara Poletini. É requisito parcial para a obtenção de título de médico na UFFS e está de acordo com as normas do Manual de Trabalhos Acadêmicos da UFFS, 2º edição, revisado e atualizado em 2015 e com o Regulamento de TC do Curso. Este volume é composto por três capítulos: Projeto de pesquisa, Relatório de pesquisa e Artigo científico. O primeiro consiste no projeto de pesquisa, desenvolvido no Componente Curricular Trabalho de Curso I, no primeiro semestre letivo de 2020. O Relatório da pesquisa se apresenta no segundo capítulo, desenvolvido durante o Componente Curricular Trabalho de Curso II, no segundo semestre letivo de 2020. O terceiro capítulo, formulado no primeiro semestre letivo de 2021, traz o Artigo Científico, elaborado a partir da análise dos dados obtidos. O propósito deste estudo foi analisar a presença de alterações moleculares por meio de imuno-histoquímica da proteína PD-L1 em carcinomas de células renais e relacioná-las com determinadas variáveis, obtidas a partir de prontuários de pacientes com carcinoma de células renais que foram submetidos a nefrectomia ou biópsia renal.

Palavras Chave: Carcinoma de Células Renais. Nefrectomia. Imuno-Histoquímica. Ligante 1 de Morte Celular Programada 1.

## **ABSTRACT**

The present study, entitled "IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS IN RENAL CELL CARCINOMAS: PD-L1 PROTEIN STUDY" will be carried out by the academic Luigi Marcos Bigolin, a medical student at the Federal University of the Southern Frontier (UFFS) – Passo Fundo campus, under the guidance of Master Professor Daniela Augustin Silveira and co-orientation of Doctor Professor Jossimara Poletini. It is a partial requirement for obtaining the medical degree at UFFS and is in accordance with the Manual of Academic Papers of UFFS standards, 2nd edition, revised and updated in 2015 and with the Course TC Regulations. This volume consists of three chapters: Research Project, Research Report and Scientific Article. The first consists of the research project, developed in The Curricular Component Course Work I, in the first academic semester of 2020. The Research Report is presented in the second chapter, developed during the Curricular Component Course Work II, in the second academic semester of 2020. The third chapter, formulated in the first academic semester of 2021, brings the Scientific Article, elaborated from the analysis of the obtained data. The study purpose was to analyze the presence of PD-L1 by immunohistochemistry in renal cell carcinomas and to relate them to certain variables, collected from medical records of patients with renal cell carcinoma who underwent nephrectomy or renal biopsy.

Keywords: Carcinoma Renal Cell. Nephrectomy. Immunohistochemistry. Programmed Cell Death 1 Ligand 1.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1: Estadiamento TNM para Carcinomas de Células Renais.....	22
Quadro 2: Gradação Histológica segundo Fuhrman.....	24

## LISTA DE SIGLAS

CCR	Carcinoma de Células Renais
CCRCR	Carcinoma de Células Renais Cromóforo
CRCC	Carcinoma Renal de Células Claras
CTLA-4	Anticorpos anti-citotóxicos da proteína 4
EUA	Estados Unidos da América
HIF-1	Fator Induzível por Hipóxia
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1
INCA	Instituto do Câncer José Alencar Gomes da Silva
IFN	Interferon
NIC	National Cancer Institute
OMS	Organização Mundial da Saúde
PD-1	Proteína de Morte Celular Programada 1
PD-L1	Ligante de Receptor de Morte Programada 1
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VHL	Von Hippel-Lindau

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 DESENVOLVIMENTO.....</b>	<b>13</b>
2.1 PROJETO DE PESQUISA.....	13
<b>2.1.1 Resumo .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1.2 Tema .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.3 Problemas .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.4 Hipóteses.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1.5 Objetivos.....</b>	<b>14</b>
2.1.5.1 Objetivo Geral .....	14
2.1.5.2 Objetivos Específicos .....	14
<b>2.1.6 Justificativa .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1.7 Referencial teórico.....</b>	<b>15</b>
2.1.7.1 Carcinomas Renais .....	15
2.1.7.2 Carcinomas de Células Renais .....	16
2.1.7.2.1 <i>Carcinoma Renal de Células Claras</i> .....	16
2.1.7.2.2 <i>Carcinoma Renal Papilar (Papilífero)</i> .....	17
2.1.7.2.3 <i>Carcinoma Renal Cromóforo</i> .....	17
2.1.7.2.4 <i>Carcinoma dos Ductos Coletores</i> .....	18
2.1.7.2.5 <i>Carcinoma Renal Cístico Multilocular</i> .....	19
2.1.7.2.6 <i>Carcinoma Renal Variante Medular</i> .....	19
2.1.7.2.7 <i>Carcinoma de Células Renais variante Tubulomucinoso e de Células Fusiformes</i> ..	19
2.1.7.2.8 <i>Carcinoma de Células Renais associado à translocação Xp11</i> .....	20
2.1.7.2.9 <i>Carcinoma de Células Renais associado ao Neuroblastoma</i> .....	20
2.1.7.3 Epidemiologia.....	21
2.1.7.4 Diagnóstico, Estadiamento e Prognóstico .....	22
2.1.7.5 Tratamento.....	25
2.1.7.6 A via da Proteína de Morte Programada (PD) e os tumores .....	25
<b>2.1.8 Metodologia.....</b>	<b>26</b>
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 .....	27
2.1.8.4 Variáveis e instrumentos da coleta de dados .....	27

2.1.8.5 Logística .....	27
2.1.8.6 Processamento, controle de qualidade e análise de dados .....	29
2.1.8.7 Aspectos éticos .....	29
<b>2.1.9 Recursos.....</b>	<b>30</b>
<b>2.1.10 Cronograma .....</b>	<b>31</b>
<b>2.1.11 Referências .....</b>	<b>32</b>
<b>2.1.12 Apêndices.....</b>	<b>36</b>
<b>2.1.13 Anexos.....</b>	<b>42</b>
<b>2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA .....</b>	<b>43</b>
<b>2.2.1 Apresentação .....</b>	<b>43</b>
<b>2.2.2 Desenvolvimento .....</b>	<b>43</b>
2.2.2.1 Logística e coleta de dados .....	43
2.2.2.2 Perdas e recusas .....	44
<b>2.2.3 Considerações finais .....</b>	<b>45</b>
<b>2.2.4 Apêndices.....</b>	<b>45</b>
<b>2.2.5 Anexos.....</b>	<b>47</b>
<b>3 ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>61</b>
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>75</b>
<b>5 ANEXOS .....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) (2019), no Brasil, estima-se que a incidência de neoplasias renais malignas seja em torno de 7 a 10 casos para cada 100 mil habitantes. O carcinoma de células renais (CCR) é a neoplasia do rim que mais frequentemente acomete a população, sendo que o Carcinoma Renal de Células Claras (CRCC), um dos vários subtipos do CCR, compreende aproximadamente 75% dos casos.

O CCR trata-se de uma doença que em um primeiro momento passa despercebida pelo seu caráter assintomático, sendo na maioria das vezes descoberta incidentalmente em exames de imagem, realizados por razões urológicas ou não. Apesar de transparecer um caráter menos agressivo, estima-se que cerca de 40% dos pacientes portadores de CCR venham a óbito devido à progressão da doença, tornando esta a lesão maligna urológica mais letal (MUGLIA; PRANDO, 2015).

Em um estudo de avaliação de fatores prognósticos em carcinomas renais, Freitas, Hartmann e Freitas (2014) observaram que marcadores moleculares, dentre eles o Ligante de Morte Programada 1 (PD-L1) são promissores para uma maior acurácia no prognóstico de pacientes portadores de carcinoma de células renais. Ainda, nesse mesmo estudo, o marcador PD-L1 mostrou importante associação com a presença de necrose tumoral, um indicador de agressividade da neoplasia.

Em um estudo de revisão, conduzido por Alvez e Guedes (2016), achados sugerem importantes relações entre o uso de anticorpos anti- proteína de morte celular programada 1 (anti-PD-1) e anti-PD-L1 e respostas significativas no tratamento de tumores, mesmo que limitado a frações de pacientes.

Desenvolver uma melhor acurácia no prognóstico do CCR faz-se necessário, uma vez que, a partir deste se estabelece o tratamento e o manejo do paciente. Ao caracterizar o perfil da neoplasia, pode-se estimar seu potencial, o que acaba por interferir na qualidade de vida do paciente assim como em sua sobrevida. Além disso, observar e definir o quão efetiva a imunoterapia anti-PD-L1 se faz no CCR possibilita uma precisão maior no prognóstico assim como o fornecimento de evidências que contribuam para uma melhor definição e aperfeiçoamento no tratamento desses pacientes. Dessa forma, o presente estudo pode estabelecer se os achados clínico-patológicos e a expressão do PD-L1 influenciam no desfecho dos pacientes.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 PROJETO DE PESQUISA

#### 2.1.1 Resumo

De caráter observacional, transversal, descritivo e analítico, o presente estudo visa avaliar o padrão de expressão do PD-L1 em pacientes diagnosticados com carcinoma de células renais, submetidos a nefrectomia. Para tanto, neste estudo, serão avaliadas amostras de pacientes submetidos à nefrectomia radical, nefrectomia parcial ou biópsia renal por neoplasia, no período de janeiro de 2000 até dezembro de 2015, cujos procedimentos cirúrgicos foram realizados no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), Passo Fundo – RS e as análises anatomopatológicas dos tumores foram realizadas no laboratório de Patologia do mesmo hospital. Após um levantamento dos casos que será realizado no Serviço de registro de Câncer do HSVP, no período pré-determinado, faremos a busca das amostras do tumor emblocadas em parafina e acondicionadas no arquivo do Laboratório de Patologia. Cada caso selecionado será, então numerado e encaminhado para a realização da reação imuno-histoquímica para a proteína PD-L1. A determinação da expressão tumoral da PD-L1 será contabilizada nas lâminas pelo acadêmico e por sua orientadora (duplo cego) considerando-se a reação positiva quando houver coloração marrom de membrana plasmática, ou seja, expressão da proteína PD-L1, 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 dados dos pacientes serão coletados a partir de prontuário eletrônico do hospital ao qual o laboratório pertence e a partir dos laudos anatomopatológicos no laboratório citado. Após a análise imuno-histoquímica ser concluída, os resultados serão relacionados às variáveis sexo, idade do paciente, presença ou ausência de tabagismo, hipertensão arterial, obesidade, subtipo histológico do tumor, estadiamento tumoral, grau nuclear de Fuhrman e sobrevida dos pacientes. Ao relacionar a expressão da proteína PD-L1 a essas características, será verificado se a mesma se associa àquelas que, de acordo com a literatura revisada, são indicativas de pior prognóstico. Se a hipótese for confirmada, o estudo contribuirá para que a expressão da proteína PD-L1 seja utilizada futuramente para compor o perfil das neoplasias, auxiliando na acurácia do prognóstico, o que resulta em uma conduta terapêutica mais adequada, podendo reforçar o importante papel da imunoterapia em casos de carcinomas positivos para PD-L1.

Palavras Chave: Carcinoma de Células Renais. Nefrectomia. Imuno-Histoquímica. Ligante de Receptor de Morte Celular Programada 1.

### **2.1.2 Tema**

Análise imuno-histoquímica da proteína PD-L1 e características anatomopatológicas de Carcinomas de Células Renais.

### **2.1.3 Problemas**

É possível estabelecer, através de marcadores moleculares de imuno-histoquímica, a relação entre a expressão da proteína PD-L1 (B7-H1) e as características clínico-patológicas de pacientes com carcinomas de células renais?

A agressividade tumoral e por consequência o prognóstico do paciente podem estar relacionados com a expressão da proteína PD-L1 pelos carcinomas de células renais?

Pacientes portadores de carcinomas de células renais com expressão da proteína PD-L1 tiveram um maior benefício ao utilizar o tratamento imunoterápico anti-PD-L1 do que os que não o utilizaram?

### **2.1.4 Hipóteses**

A expressão da proteína PD-L1 se relaciona com as características clínico-patológicas de pacientes com carcinomas de células renais.

A presença da proteína PD-L1 na neoplasia está relacionada com uma maior agressividade tumoral e pior prognóstico para o paciente.

Pacientes com neoplasias positivas para a proteína PD-L1 e que receberam tratamento imunoterápico tem um melhor prognóstico.

### **2.1.5 Objetivos**

#### **2.1.5.1 Objetivo Geral**

Avaliar a expressão da proteína PD-L1 em carcinomas de células renais e relacioná-la com dados clínico-patológicos obtidos através de prontuários.

#### **2.1.5.2 Objetivos Específicos**

Investigar a expressão da proteína PD-L1 em carcinomas de células renais, e relacioná-la com características clínico-patológicas, avaliando se está associada a maior agressividade tumoral e pior prognóstico para o paciente.

Analisar se imunoterapia em carcinomas de células renais com expressão da proteína PD-L1 está associada a um melhor desfecho para o paciente.

### **2.1.6 Justificativa**

O carcinoma de células renais é a neoplasia renal mais comum, sendo responsável por cerca de 2 a 3% de todas as neoplasias malignas em adultos. Apresenta uma incidência mundial de cerca de 209.000 casos por ano com uma mortalidade alta, de aproximadamente 102.000 casos por ano.

De maneira geral, o CCR é uma neoplasia indolente, que habitualmente apresenta um diagnóstico tardio, já em estágios avançados da doença. Somado a isso, determinadas proteínas que influenciam na resposta imune contra o tumor, como a PD-L1, são expressas, dificultando o manejo e a resposta ao tratamento.

Relacionar a presença da proteína PD-L1 à evolução e desfechos da doença, possibilita um melhor conhecimento acerca do comportamento da neoplasia e a resposta imune desencadeada, de modo que um diagnóstico e identificação de neoplasias positivas para PD-L1 possam ser feitas e tratamentos mais específicos possam ser recomendados.

Atualmente, são poucos os estudos brasileiros relacionando a expressão de PD-L1 a dados anatomopatológicos, clínicos, prognósticos e de tratamento em pacientes com carcinoma de células renais. Ao concluir-se o estudo, os serviços de saúde da região na qual o estudo foi desenvolvido poderão se utilizar dos resultados para o aprimoramento de condutas e manejo de pacientes, influenciando diretamente no prognóstico e desfecho destes pacientes.

### **2.1.7 Referencial teórico**

#### **2.1.7.1 Carcinomas Renais**

As neoplasias são definidas como um distúrbio de crescimento celular, resultante de mutações adquiridas que afetam uma única célula e sua progênie clonal. Essas mutações proporcionam vantagens de crescimento e sobrevivência para as células, ocasionando uma proliferação desmedida e autônoma, que independe de sinais fisiológicos de crescimento. As neoplasias malignas tendem a ser mais agressivas, podendo invadir e destruir tecidos adjacentes e apresentar disseminação metastática. Neoplasias malignas que apresentam origem epitelial, são denominadas Carcinomas (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2016).

O Carcinoma Renal é, portanto, uma neoplasia maligna com origem no epitélio renal. Contudo, esta neoplasia não se trata de uma entidade única, mas sim um conjunto de diferentes tipos de tumores, com diversas origens epiteliais dentro do rim, apresentando características histológicas próprias, causadas por diferentes mutações genéticas. Esse conjunto de peculiaridades implica em uma evolução clínica singular, com respostas diferentes às variadas formas de terapia (LINEHAN et al., 2004).

Dentre as neoplasias renais malignas, o carcinoma de células renais (CCR) apresenta-se como o tipo mais prevalente, correspondendo a cerca de 1 a 3% de todas as neoplasias malignas viscerais. A Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2004 e a Sociedade Internacional de Uropatologia em 2013 aperfeiçoaram a classificação de subtipos do CCR, dividindo-o de acordo com sua histologia e citogenética. Os subtipos de CCR são: Carcinoma de células Claras (CRCC), Carcinoma de Células Renais Papilar, Carcinoma de Células Renais Cromóforo (CCRCC), Carcinoma dos Ductos Coletores, Carcinoma de Células Renais Cístico Multilocular, Carcinoma de Células Renais Variante Medular, Carcinoma de Células Renais Variante Tubulomucinoso e de Células Fusiformes, Carcinoma de Células Renais associado à translocação Xp11 e Carcinoma de Células Renais Associado a Neuroblastoma (MUGLIA; PRANDO, 2015).

#### 2.1.7.2 Carcinomas de Células Renais

##### 2.1.7.2.1 *Carcinoma Renal de Células Claras*

É o subtipo mais comum de CCR, representando cerca de 75 a 85% dos CCRs, podendo ocorrer esporadicamente (95% dos casos) ou por predisposição hereditária (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2016).

De origem no túbulo contorcido proximal do néfron renal, suas características macroscópicas são de um tumor esférico branco-cinza-amarelado, que distorce o contorno renal, podendo apresentar achados como hemorragia, necrose, fibrose e alterações císticas. Microscopicamente exhibe células neoplásicas com citoplasma amplo e claro ou granular, rico em lipídeos e glicogênio, tendo o padrão de crescimento variando entre sólido, trabecular ou tubular. Frequentemente apresentam uma rede de pequenos vasos sanguíneos de paredes finas (GRIGNON et al., 2004).

O CRCC apresenta como mutação genética mais frequente uma deleção no cromossomo 3p, onde se localiza o gene Von Hippel-Lindau (VHL) – 3p25.3, um gene supressor de tumor, que tem por finalidade codificar uma proteína ubiquitina ligase, que tem como principal alvo para a degradação o Fator Induzível por Hipóxia-1 (HIF-1). Quando ocorre tal deleção, os níveis de HIF-1 permanecem elevados, promovendo uma expressão inadequada de genes que são ligados pelo HIF-1, como os genes que estimulam o crescimento celular, como fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), e genes que estimulam a angiogênese, como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), além de contribuir de outras formas para a proliferação celular (KUMAR; ABBAS; ASTER, 2016).

Ainda, como alteração genética para além da deleção do gene VHL, o CRCC também pode apresentar mutações nos genes PBRM1, BAP1, inativação em genes modificadores histonas, e mutações em genes que controlam a divisão celular, como os da Família Ras e o gene p53 (ATKINS; CHOUEIRI, 2020).

#### 2.1.7.2.2 *Carcinoma Renal Papilar (Papilífero)*

É o segundo subtipo de CCR mais frequente, correspondendo a cerca de 20% de massas renais menores de quatro centímetros detectadas em exames de imagem (PIERORAZIO; CAMPBELL, 2020).

Conforme Atkins e Choueiri (2020), este subtipo de CCR tem origem no túbulo contorcido proximal do néfron renal, assim como o subtipo CRCC, contudo, esses tumores são malignidades que se distinguem pela sua morfologia e genética. De caráter tanto familiar quanto esporádico, o CCR Papilar apresenta como características macroscópicas multifocalidade, pseudocápsula, frequentes áreas de hemorragia, necrose e degeneração cística, ao mesmo tempo que microscopicamente apresenta células epiteliais formando diferentes proporções de papilas e túbulos, existindo algumas diferenças entre suas duas variantes morfológicas (DELAHUNT; EBLE, 2004).

A Variante 1 (CCR Papilar tipo 1), apresenta células basófilas dispostas em uma única camada, com citoplasma claro e núcleo basófilo, nas quais, as alterações genéticas mais frequentemente encontradas são mutações nos protooncogenes TEM e MET, geralmente associados à casos de trissomia do cromossomo 7 (DELAHUNT; EBLE, 2004; ATKINS; CHOUEIRI, 2020).

A Variante 2 (CCR Papilar tipo 2), tem por característica a presença de células com citoplasma eosinofílico e granular, com nucléolos proeminentes, nas quais as alterações genéticas encontradas com maior frequência são mutações genéticas esporádicas, como deleções, ou mutações na linha do gene Fumarato Hidratase, que está associado à leiomiomatose hereditária e câncer de células renais (DELAHUNT; EBLE, 2004; CHOUEIRI; PAL, 2020).

#### 2.1.7.2.3 *Carcinoma Renal Cromóforo*

Compreendendo cerca de 5% dos casos de todas as neoplasias epiteliais malignas, este subtipo de CCR tem como origem as células intercaladas do sistema coletor renal, assim como o Oncocitoma (MUGLIA; PRANDO, 2015).

Macroscopicamente apresenta-se como uma massa sólida circunscrita, levemente lobulada, com a superfície de corte exibindo tons homogêneos que variam de marrom a

marrom-claro quando a amostra ainda não está fixada em formalina. Microscopicamente é caracterizado por grandes células poligonais, de citoplasma transparente levemente reticulado, com membranas celulares proeminentes, geralmente misturadas a células menores de citoplasma eosinofílico granular. Ainda, as células neoplásicas detêm um núcleo irregular, por vezes, duplicado, com o nucléolo geralmente pequeno. Uma característica importante do CCRCR é a presença de um halo perinuclear. A variante eosinofílica desta neoplasia é composta puramente por células eosinofílicas com proeminentes membranas celulares (STÖRKEL; MARTIGONI; VAN DEN BERG, 2004).

Quanto as alterações genéticas, este subtipo de CCR apresenta múltiplas perdas cromossômicas e uma importante hipoploidia (ATKINS; CHOUEIRI, 2020). Também pode ser verificada a presença de produtos do oncogene KIT, o que sugere que a superexpressão deste gene pode estar envolvida no crescimento do subtipo Cromóforo (YAMAZAKI et al., 2003).

#### *2.1.7.2.4 Carcinoma dos Ductos Coletores*

Também denominado Tumor de Bellini, este subtipo de CCR tem origem nos Ductos coletores localizados na Medula Renal, representa menos de 1% das neoplasias malignas do rim e geralmente apresenta um prognóstico desfavorável (MUGLIA; PRANDO, 2015; KUMAR; ABBAS; ASTER, 2016).

Por ter origem nas pirâmides renais, geralmente apresenta localização central no rim, podendo as vezes crescer para a pelve renal. Na macroscopia revela-se como uma massa de aparência cinza esbranquiçada e bordas irregulares, podendo apresentar necrose e nódulos satélites. Microscopicamente apresenta um padrão de crescimento tubular ou túbulo-papilar, no qual glândulas irregulares adentram ao parênquima renal, associadas a um estroma desmoplásico. Ainda, pode exibir alterações microcísticas e padrões sólidos semelhantes à cordões. As células neoplásicas possuem um citoplasma eosinofílico com alto grau nuclear (Fuhrman 3 e 4), mucina intracitoplasmática e discreta quantidade de glicogênio podem ser observadas (SRIGLEY; MOCH, 2004).

Quanto às alterações genômicas, em um relato de 17 casos, os carcinomas dos ductos coletores foram associados principalmente a alterações no gene NF2 (29%) (PAL et al., 2016), ademais, não foram relacionados a um padrão consistente de anormalidades genéticas (ATKINS; CHOUEIRI, 2020).

#### *2.1.7.2.5 Carcinoma Renal Cístico Multilocular*

Sendo uma variante do CCR, é considerado uma lesão infrequente, este subtipo de CCR é totalmente composto por cistos, diferentemente da degeneração cística dos demais CCRs, onde cistos estão presentes em meio às massas neoplásicas (MUGLIA; PRANDO, 2015).

Macroscopicamente consiste em uma tumoração bem circunscrita de cistos de diversos tamanhos, cheios de líquido seroso ou hemorrágico, separados do parênquima renal por uma cápsula fibrosa. Microscopicamente este tumor apresenta o revestimento cístico sendo feito por apenas uma única camada de células planas, com citoplasma claro, de núcleo denso e cromatina condensada. Ainda, ao microscópio, alguns septos fibrosos revelam em seu interior agrupamentos celulares, semelhantes à histiócitos e linfócitos, onde a vascularização encontra-se aumentada (EBLE, 2004).

#### *2.1.7.2.6 Carcinoma Renal Variante Medular*

Este tipo de tumor, variante do carcinoma renal dos ductos coletores, possui um rápido crescimento e está ligado quase que exclusivamente à portadores de doença falciforme (ATKINS; CHOUEIRI, 2020).

Com origem no néfron distal, nas células de ductos coletores (MUGLIA; PRANDO, 2015), essa neoplasia apresenta-se macroscopicamente como uma massa mal circunscrita, de origem central, possuindo, frequentemente abundante necrose e hemorragia (DAVIS, 2004).

Microscopicamente é caracterizado por pouca diferenciação, um padrão de crescimento reticular, células eosinofílicas com núcleos claros e nucléolos proeminentes. Neutrófilos geralmente estão misturados à tumoração, enquanto linfócitos ficam às margens, junto ao estroma edematoso ou colagenoso, o qual forma uma massa de numerosos tumores. Ainda, gotículas de mucina e eritrócitos falciformes podem ser encontrados (DAVIS, 2004).

A base genética para as características únicas da Variante Medular ainda não é totalmente elucidada, contudo, a perda de expressão do fator de remodelação da cromatina SMARCB1 parece ter importância (LERMA et al., 2019).

#### *2.1.7.2.7 Carcinoma de Células Renais variante Tubulomucinoso e de Células Fusiformes*

Recentemente descrita, esta neoplasia tem origem no túbulo contorcido distal do néfron e nos ductos coletores do rim. Trata-se de uma neoplasia polimórfica e de baixo grau (MUGLIA; PRANDO, 2015).

Macroscopicamente são bem circunscritos, com superfície de corte uniforme, de coloração acinzentada ou marrom claro. À histologia apresentam composição por túbulos

pequenos, alongados, cujas matrizes paralelas são formadas por células fusiformes, separadas por um estroma pálido. Individualmente, as células neoplásicas apresentam um formato fusiforme, oval ou cuboide, com características nucleares de baixo grau. Outra característica a ser destacada é a presença de manchas basofílicas no estroma mucinoso (SRIGLEY, 2004).

Geneticamente é caracterizada por diversas alterações cromossômicas, incluindo perdas que geralmente envolvem os cromossomos 1, 4, 6, 8, 9, 13, 14, 15 e 22 (RAKOZY et al., 2002).

#### *2.1.7.2.8 Carcinoma de Células Renais associado à translocação Xp11*

Neste tipo raro de neoplasia, ocorrem várias translocações no locus Xp11.2, resultando em fusões de genes. As fusões ocorrem entre o gene TFE3 e outros genes, como o ASPL e o PRCC (ATKINS; CHOUEIRI, 2020).

Macroscopicamente caracteriza-se por aparência amarelada, comumente apresentando áreas de necrose e hemorragia. A aparência microscópica é parecida com a de um carcinoma de arquitetura papilar composto por células claras, contudo, com arquitetura mais agrupada. Os carcinomas que apresentam a fusão entre os genes ASPL e TFE3 tem por característica células neoplásicas de citoplasma volumoso, variando de claro a eosinofílico, cromatina e nucléolo proeminentes, além de abundância de corpos de psammoma. Os carcinomas resultantes da fusão entre os genes PRCC e TFE3 caracterizam-se por menor quantidade de corpos de psammoma, citoplasma mais escasso e uma arquitetura mais compacta e aninhada (ARGANI; LADANYI, 2004).

#### *2.1.7.2.9 Carcinoma de Células Renais associado ao Neuroblastoma*

Esta rara neoplasia é atualmente reconhecida como uma entidade distinta na classificação de tumores renais da OMS. Estudos sugerem que esta condição se desenvolva como uma consequência da exposição à radioterapia realizada como tratamento para neuroblastoma em portadores na infância, ou como resultado de predisposição genética subjacente ao neuroblastoma (WILSON et al., 2013; FLEITZ et al., 2003).

Nos casos descritos, esta neoplasia não tem predileção por um rim específico, e, macroscopicamente apresenta-se como uma tumoração de cerca de 4 cm. Microscopicamente exibe morfologia heterogênea. Em um primeiro grupo caracterizam-se os tumores com uma arquitetura sólida e papilar, havendo células neoplásicas de citoplasma eosinofílico abundante, de leve a moderada atipia nuclear. Em um segundo grupo, há tumores menores com detecção acidental de CRCC (MEDEIROS, 2004).

Ainda segundo Medeiros (2004), a citogenética desta neoplasia mostra múltiplas deleções em loci cromossômicos, frequentemente no cromossomo 20.

### 2.1.7.3 Epidemiologia

Segundo o INCA (2019), as estimativas de incidência de neoplasias renais malignas para o Brasil para este ano, são de 7 a 10 casos para cada 100 mil habitantes, ou seja, espera-se que em 2020, cerca de 18 mil pessoas sejam acometidas por algum tipo de neoplasia renal maligna.

O carcinoma de células renais é a neoplasia do rim que mais frequentemente acomete a população. Em 2018 estimou-se que mundialmente surgiram 403000 novos casos de CCR e ocorreram aproximadamente 175000 mortes em consequência de neoplasias renais malignas. O CCR tem uma prevalência duas vezes superior em homens, ocorre predominantemente na sexta a oitava década de vida e atinge de maneira semelhante as diferentes etnias (ATKINS; CHOUEIRI, 2020).

Conforme dados do National Cancer Institute (NIC) dos Estados Unidos da América (EUA), quanto à extensão da doença, 65% dos pacientes diagnosticados com CCR apresentam doença limitada ao rim, 17% apresentam doença com disseminação para linfonodos regionais e cerca de 16% apresentam já a doença metastática. Ainda, segundo dados do NIC dos EUA, o tamanho dos tumores diagnosticados apresenta uma diminuição constante, provavelmente pelo maior número de descobertas incidentais de tumores feitas pelo uso crescente de exames de imagem.

Dentre os fatores de risco associados ao CCR estão: tabagismo, hipertensão, obesidade, doença renal cística adquirida, doença renal crônica, exposições ocupacionais a compostos como cádmio e derivados de petróleo, ingestão prolongada de analgésicos como acetaminofeno e AAS, fatores genéticos predisponentes, exposição à quimioterapia citotóxica, infecção crônica pela hepatite C, doença falciforme e litíase renal (ATKINS; CHOUEIRI, 2020).

Ainda segundo Atkins e Choueiri (2020), a Diabetes Mellitus tem sido associada a um aumento modesto do risco de CCR, assim como alguns fatores clínicos. Outrossim, sobreviventes de câncer infantil tem risco aumentado de desenvolvimento de CCR, especialmente se o tratamento foi feito com radioterapia direcionada ao rim ou com cisplatina. Por outro lado, a ingestão leve a moderada de álcool demonstrou estar associada a um fator protetor no risco de desenvolvimento de CCR.

#### 2.1.7.4 Diagnóstico, Estadiamento e Prognóstico

Os sinais e sintomas que ocorrem com maior frequência em portadores de CCR são: hematuria, dor em flanco e massa abdominal palpável, constituindo a tríade clássica do CCR. Ainda, sintomas como perda de peso, varicoceles escrotais, anorexia, febre e síndromes paraneoplásicas podem acometer o paciente. Contudo, a maioria dos pacientes não apresenta sintomas até estágio avançado da doença, quando já compromete estruturas adjacentes ou órgãos distantes. Nos casos iniciais e assintomáticos, a descoberta da neoplasia ocorre geralmente de maneira acidental, por exames de imagem (EBLE; TOGASHI; PISANI, 2004; MUGLIA; PRANDO, 2015; ATKINS, 2018).

O diagnóstico pode se dar por exames de imagem, nos quais seja possível identificar massas com características específicas de malignidade e que preencham os critérios de diagnóstico. Além disso, para o diagnóstico tecidual, a nefrectomia total ou parcial é utilizada para a obtenção de tecido, embora biópsias possam ser realizadas para este fim (ATKINS, 2018; PIERORAZIO; CAMPBELL, 2020).

Segundo as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Células Renais de 2014, o estadiamento da neoplasia é realizada seguindo-se o sistema TMN de Classificação de Tumores Malignos (Quadro 1), a graduação histológica nuclear de Fuhrman (Quadro 2), além de achados clínicos do paciente e exames laboratoriais (BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção à Saúde, 2014).

Quadro 1: Estadiamento TNM para Carcinomas de Células Renais

<b>TUMOR PRIMÁRIO (T)</b>	
<b>Categoria T</b>	<b>Crítérios T</b>
TX	O tumor primário não pode ser avaliado
T0	Nenhuma evidência de tumor primário
T1	Tumor $\leq 7$ cm na maior dimensão, limitado ao rim
T1a	Tumor $\leq 4$ cm na maior dimensão, limitado ao rim
T1b	Tumor $> 4$ cm mas $\leq 7$ cm na maior dimensão, limitado ao rim
T2	Tumor $> 7$ cm na maior dimensão, limitado ao rim
T2a	Tumor $> 7$ cm mas $\leq 10$ cm na maior dimensão, limitado ao rim
T2b	Tumor $> 10$ cm, limitado ao rim
T3	O tumor se estende para as principais veias ou tecidos perinefricos, mas não para a glândula adrenal ipsilateral e para além da fáscia de Gerota

T3a	O tumor se estende para a veia renal ou seus ramos segmentares, invade o sistema pélvico-ciliar, invade a gordura perirrenal e / ou do seio renal, mas não além da fáscia de Gerota		
T3b	O tumor se estende para a veia cava abaixo do diafragma		
T3c	O tumor se estende para a veia cava acima do diafragma ou invade a parede da veia cava		
T4	O tumor invade além da fáscia de Gerota (incluindo extensão contígua na glândula adrenal ipsilateral)		
<b>LINFONODOS REGIONAIS (N)</b>			
<b>Categoria N</b>	<b>Crítérios N</b>		
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados		
N0	Sem metástase de linfonodos regionais		
N1	Metástase no (s) linfonodo (s) regional (ais)		
<b>METÁSTASE À DISTÂNCIA (M)</b>			
<b>Categoria M</b>	<b>Crítérios M</b>		
M0	Sem metástase à distância		
M1	Metástase à distância		
<b>GRUPOS DE ESTADIO</b>			
<b>Quando T é:</b>	<b>N é:</b>	<b>M é:</b>	<b>O estadio será:</b>
T1	N0	M0	I
T1	N1	M0	III
T2	N0	M0	II
T2	N1	M0	III
T3	NX, N0	M0	III
T3	N1	M0	III
T4	Qualquer N	M0	IV
Qualquer T	Qualquer N	M1	IV

FONTE: Adaptado de BRIERLEY; GOSPODAROWICZ; WITTEKIND (2017).

O sistema de estadiamento TNM (*Tumor, Nodes, Metastases* – em inglês) é usado para organizar todas as variantes histológicas do CCR. Este sistema é apoiado pelo Comitê Conjunto Americano de Câncer e pela União Internacional para o Controle do Câncer. Esses critérios se utilizam da extensão anatômica da doença para definir grupos de estágios prognósticos. Nesse

sistema, os tumores limitados ao rim são classificados em T1 ou T2 com base no tamanho. Os tumores T3 se estendem para a veia renal ou para os tecidos perinefricos, mas não além da fáscia de Gerota, enquanto os tumores T4 se estendem para além da fáscia de Gerota, incluindo extensão direta na glândula adrenal ipsilateral. As metástases para linfonodos e à distância são classificadas como ausentes ou presentes (ATKINS, 2018).

Enquanto o TNM se utiliza da extensão anatômica da doença, a graduação proposta por Fuhrman divide os tumores em alto ou baixo grau e é baseada em critérios que levam em conta o tamanho, a irregularidade e a proeminência dos núcleos celulares. A classificação de Fuhrman tem papel fundamental no prognóstico dos pacientes com CCR (BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção à Saúde, 2014).

Quadro 2: Graduação Histológica segundo Fuhrman

Grau I	Núcleo arredondado e uniforme, até 10 micrômetro de diâmetro, nucléolo invisível ou pequeno.
Grau II	Núcleo levemente irregular, diâmetro de até 15 micrômetro de diâmetro, nucléolo visível e pequeno
Grau III	Núcleo moderadamente irregular, diâmetro de até 20 micrômetro de diâmetro, nucléolo grande
Grau IV	Núcleo irregular e pleomórfico, multilobular, cromatina agrupada e diâmetro maior que 20 micrômetros de diâmetro

FONTE: Adaptado de BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção À Saúde (2014).

Para a avaliação prognóstica de cada caso, as Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Células Renais de 2014 recomendam a adoção de um de dois modelos propostos. O primeiro foi desenvolvido na Universidade da Califórnia, em Los Angeles, o segundo é denominado sistema de estadiamento integrad, este último, se utilizando do estadio TNM, do grau histológico de Fuhrman e da capacidade funcional do paciente, tem validade externa para a predição de sobrevida em pacientes portadores de CCR, independentemente da fase da neoplasia (BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção à Saúde, 2014).

Por fim, alguns autores, dentre eles Vickers (2010) e Choueiri (2020), destacam a importância da utilização de marcadores moleculares para a formulação de um melhor prognóstico. Choueiri (2020) traz como exemplos de marcadores potencialmente associados a um pior prognóstico os seguintes: expressão humana do homólogo B7 1 (B7H1/PD-L1) e 4

(B7H4), baixos níveis de anidrase carbônica IX (CAIX), altos níveis do marcador de proliferação Ki-67, entre outros.

#### 2.1.7.5 Tratamento

Alguns pacientes que apresentem tumores renais, e que não apresentem elegibilidade para o tratamento cirúrgico, podem ser acompanhados por vigilância ativa até o ponto em que o tumor apresente alguma progressão radiológica, a partir de então, pode ser indicado um tratamento definitivo ou ablativo, como a crioterapia (BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção à Saúde, 2014; ATKINS, 2020b).

Nos demais casos, a extensão da doença deve ser considerada. Pacientes que apresentam a doença localizada podem ser submetidos à cirurgia como tratamento definitivo, sendo na maioria das vezes curativa. A abordagem cirúrgica pode consistir em nefrectomia parcial (poupadora de néfrons) ou radical, sendo a primeira considerada preferencial quando possível. Contudo, acompanhamento pós-cirúrgico deve ser feito e alguns fármacos, como o sunitinibe, podem ser utilizados em pacientes específicos (ATKINS, 2020b; PIERORAZIO; CAMPBELL, 2020).

Pacientes que apresentam CCR avançado geralmente possuem metástases a distância e um maior grau de acometimento. Nesses casos terapia sistêmica, cirurgia e radioterapia podem ter um papel dependendo da extensão da doença. Além disso, a imunoterapia com anticorpos monoclonais direcionados se tornou parte integrante do manejo do CCR. Geralmente a imunoterapia está baseada nas seguintes classes de fármacos utilizados: Inibidores programados do ponto de verificação da PD-1 (nivolumabe e pembrolizumabe); Inibidores programados do ponto de verificação do PD-L1 (avelumabe e atezolizumabe); Anticorpos anti-citotóxicos da proteína 4 (CTLA-4) associados a linfócitos T (ipilimumab) e inibidores do VEGF (axitinibe , sunitinibe , pazopanibe e bevacizumabe) (ATKINS, 2020a; GEORGE; JONASCH, 2020).

#### 2.1.7.6 A via da Proteína de Morte Programada (PD) e os tumores

As células T autorreativas que, eventualmente não sofrem apoptose no processo de seleção negativa, podem reconhecer autoantígenos nos tecidos e acabar por gerar uma resposta auto-imune. Com o objetivo de evitar tal situação, o organismo possui pontos de controle, através de vias de inibição, sendo elas CTLA-4 e da Proteína de Morte Celular Programada. Essas vias de inibição integram um importante mecanismo para a autotolerância periférica, contudo, também se apresentam como um meio de evasão imune eficaz utilizado por células tumorais (ALVES; GUEDES, 2016).

A PD-1 é um receptor inibitório presente nas células T ativadas. Quando o PD-1 se liga ao seu ligante, o PD-L1, encontrado em tecidos em eventos específicos, a capacidade da célula T de produzir uma resposta imune eficaz é modulada negativamente (SOSMAN, 2020).

Os tecidos periféricos capazes de expressar PD-L1 constitutivamente ou após a exposição a Interferon (IFN), compreendem tecidos hematopoiéticos e não-hematopoiéticos. A expressão de PD-L1 por diversos tumores ocorre por meio de mecanismo intrínseco, pelo processo oncogênico ou pela indução direta de células T ativadas ou pela liberação de citocinas, como o IFN-gama, provenientes de células T ativadas (MORENO; RIBAS, 2015).

Tumores que apresentam expressão de PD-L1, têm apresentado inibição da imunidade tumoral específica por células T, associação com o aumento da agressividade da neoplasia, aumento da produção de citocinas e diminuição da citotoxicidade de células T ativadas (IWAI et al., 2002). Ainda, A interação PD-1: PD-L1 demonstrou inibir diretamente a apoptose da célula tumoral, promover a exaustão periférica das células efectoras T e promover a conversão de células efectoras T em células Treg (SHOUSHTARI; HELLMANN, 2020).

A utilização de PD-L1 como marcador prognóstico tem se mostrado útil em pacientes portadores de CCR. A presença de PD-L1 na neoplasia é associada a um pior prognóstico, enquanto em outras neoplasias essa associação é controversa (ALVES; GUEDES, 2016; PARDOLL, 2012).

Quanto ao seu valor no tratamento de neoplasias, os inibidores programados do ponto de verificação da PD-1 (nivolumabe e pembrolizumabe) e os inibidores programados do ponto de verificação do PD-L1 (avelumabe e atezolizumabe), se demonstraram eficientes em pacientes portadores de CCR positivos para PD-L1, proporcionando uma sobrevida livre de progressão a longo prazo maior que em pacientes portadores de CCR positivos para PD-L1 sem uso desses inibidores. Além disso, seu uso como marcador para resposta à imunoterapia em CCR tem sido documentado (SHOUSHTARI; HELLMANN, 2020; SOSMAN, 2020).

## **2.1.8 Metodologia**

### **2.1.8.1 Tipo de estudo**

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

### **2.1.8.2 Local e período de realização**

O estudo será realizado no Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo – RS, de novembro de 2020 a agosto de 2021.

#### 2.1.8.3 População e amostragem

A população que servirá de base para o estudo será constituída de pacientes com diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de células renais, que realizaram o procedimento cirúrgico no HSVP e cujos laudos anatomopatológicos foram realizados no laboratório de patologia do mesmo hospital no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2015. Será feita uma 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 200 pacientes.

Critérios de inclusão: pacientes que realizaram procedimento cirúrgico (nefrectomia radical, parcial ou biópsia renal) no HSVP, devido a carcinoma de células renais, e com análise anatomopatológica realizada no laboratório de Patologia do mesmo hospital.

Critérios de exclusão: serão excluídos do estudo casos dos quais os prontuários não se consiga acessar, ou, cujos prontuários e laudos anatomopatológicos não contenham as informações necessárias. Será critério de exclusão também, aqueles casos nos quais 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: Reação imuno-histoquímica positiva para PD-L1 em carcinoma de células renais.

Variáveis independentes: idade, sexo, presença de tabagismo, hipertensão arterial, obesidade, tipo histológico de tumor, Grau Nuclear de Fuhrman, TNM, resposta ao tratamento convencional, resposta à imunoterapia quando presente e prognóstico dos pacientes.

Instrumentos de coleta de dados: Será efetuado o levantamento dos dados registrados no sistema de pesquisa de laudos anatomopatológico e prontuário eletrônico do laboratório citado. Os dados coletados do programa serão transcritos para uma ficha (apêndice A) e posteriormente armazenados em uma planilha eletrônica, observando-se os critérios de inclusão e exclusão.

#### 2.1.8.5 Logística

O estudo se realizará abrangendo o período de janeiro de 2000 até dezembro de 2015, através de um levantamento dos casos de carcinoma de células renais, no Serviço de registro de

Câncer do HSVP. Após a listagem dos casos, o acadêmico fará a busca na biblioteca deste hospital, 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 (nefrectomia radical ou parcial, ou biópsia renal por neoplasia) 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. O acadêmico fará a retirada deste material do arquivo e os casos serão, então, encaminhados para a realização da reação imuno-histoquímica para a proteína PD-L1 no mesmo laboratório. O estudo imuno-histoquímico dos casos para avaliação da expressão da proteína PD-L1, será feito com anticorpo SP263 (Ventana). 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-PD-L1 e com marcação da reação com cromógeno marrom (DAB) e com contra coloração com Hematoxilina de Haris. O laboratório onde será realizada a imuno-histoquímica localiza-se dentro do Hospital São Vicente de Paulo. A imuno-histoquímica será feita pela técnica em química do laboratório, a qual já realiza os procedimentos de rotina do local, e, quem analisará e interpretará as lâminas das reações será a médica especialista em patologia do laboratório, pesquisadora principal do presente estudo e o acadêmico. 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 da proteína PD-L1. 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, o acadêmico pesquisador 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 marrom intensa na membrana plasmática. A leitura das lâminas será feita pelo acadêmico e sua orientadora (duplo cego) no mesmo local. A realização destes processos dentro da pesquisa proposta será iniciada tão logo obtivermos a aprovação do CEP institucional e a aprovação da Comissão de Pesquisa do HSVP e deverá compreender os períodos de 2020/2 e 2021/1.

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 PD-L1 (clone SP263). O acadêmico pesquisador 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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 10 v. O passo seguinte será a incubação com o anticorpo primário da proteína PD-L1 com reação em membrana plasmática, 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 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

A dupla digitação dos dados coletados será em planilha eletrônica e as análises estatísticas a partir destes dados serão feitas no programa 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 o marcador tumoral o tratamento e o prognóstico será avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson.

#### 2.1.8.7 Aspectos éticos

Este estudo será realizado de acordo com a Resolução n°466/2012 da Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP). Será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), por meio do sistema eletrônico Plataforma Brasil. Para tanto, será solicitada Ciência e Concordância da instituição onde será realizada a coleta dos dados e a seleção das amostras (Anexo 1). Considerando-se que serão utilizados dados clínico-patológicos e amostras biológicas armazenadas em

prontuários e blocos de parafina de pacientes atendidos em período anterior a realização do estudo, muitos dos quais já vieram a óbito ou em caso de sobrevivência estão com os dados cadastrais desatualizados e não mantêm vínculo com o hospital, dificultando o contato com a equipe de pesquisa, solicita-se dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Portanto, nos apêndices, encontra-se o Termo de Dispensa de TCLE (apêndice B). Além deste, também será assinado o Termo de Compromisso para uso de dados em arquivo (Apêndice C).

Por fim, registra-se que os dados ficarão armazenados em um pendrive que ficará guardado em um armário fechado por cadeado na Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Passo Fundo, aos quais somente os pesquisadores terão acesso. Após 5 anos esses dados serão destruídos.

Riscos: Existe o risco de identificação do paciente. Entretanto, visando minimizar esse risco, os nomes serão substituídos por números no momento da extração dos dados do sistema. Caso a identificação ocorra, o paciente comprometido será excluído da amostra e o Hospital São Vicente de Paulo será comunicado sobre o ocorrido.

Benefícios: Devido à natureza do estudo, não existem benefícios diretos para os participantes, portanto não haverá devolutiva para estes. No entanto, os mesmos serão beneficiados de forma indireta, assim como toda a comunidade, uma vez que a identificação da proteína pesquisada nos casos de carcinoma de células renais seja associada com dados clínico-patológicos, haverá uma contribuição com o tratamento de futuros pacientes acometidos, pois esse tratamento será realizado de forma mais específica, o que aumenta o tempo de sobrevida e as chances de cura. O estudo, ao ser finalizado, será disponibilizado à instituição participante, via e-mail ou impresso, como for preferido, para que a mesma tenha conhecimento dos resultados obtidos. 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.

### **2.1.9 Recursos**

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



<b>ENVIO DE RELATÓRIO FINAL AO CEP-UFFS</b>											X
<b>PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS</b>											X

### 2.1.11 Referências

ALVES, Veridiana S. S.; GUEDES, Virgílio. Anti-PD-1 e Anti-PD-L1: Novas perspectivas para o tratamento de diversos tipos de câncer. **Sociedade de Patologia do Tocantins**. [S.l.], v. 3, n. 1, 2016.

ARGANI, Pedram; LADANYI, Marc. Renal carcinomas associated with Xp11.2 translocations / TFE3 gene fusions. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 37-38.

ATKINS, Michael B. Antiangiogenic and molecularly targeted therapy for advanced or metastatic clear cell renal carcinoma. 2020a. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/antiangiogenic-and-molecularly-targeted-therapy-for-advanced-or-metastatic-clear-cell-renal-carcinoma>>. Acesso em: 4 jun. 2020.

ATKINS, Michael B. Clinical manifestations, evaluation, and staging of renal cell carcinoma. 2018. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-evaluation-and-staging-of-renal-cell-carcinoma>>. Acesso em: 04 jun. 2020.

ATKINS, Michael B. Overview of the treatment of renal cell carcinoma. 2020. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-treatment-of-renal-cell-carcinoma>>. Acesso em: 3 jun. 2020.

ATKINS, Michael B.; CHOUEIRI, Toni K. Epidemiology, pathology, and pathogenesis of renal cell carcinoma. 2020. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-pathology-and-pathogenesis-of-renal-cell-carcinoma>>. Acesso em: 30 de mar. de 2020.

BELLMUNT, Joaquim. Treatment of metastatic urothelial cancer of the bladder and urinary tract. 2020. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/treatment-of-metastatic-urothelial-cancer-of-the-bladder-and-urinary-tract>>. Acesso em: 5 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde; Secretaria de Atenção À Saúde. **Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Células Renais**. 2014. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/23/MINUTA-PT-SAS-DDT-rim-15-12-2014.pdf>>. Acesso em: 05 jun. 2020.

BRIERLEY J.; GOSPODAROWICZ M.; WITTEKIND Ch. **TNM Classification of Malignant Tumours**. 8 ed. Chichester, West Sussex, UK: Wiley Blackwell; 2017.

CHOUERI, Toni K. Prognostic factors in patients with renal cell carcinoma. 2020. **UpToDate**. Disponível em: < <https://www.uptodate.com/contents/prognostic-factors-in-patients-with-renal-cell-carcinoma>>. Acesso em: 4 jun. 2020.

CHOUERI, Toni K.; PAL, Sumanta K. The treatment of advanced non-clear cell renal carcinoma. 2020. **UpToDate**. Disponível em: < <https://www.uptodate.com/contents/the-treatment-of-advanced-non-clear-cell-renal-carcinoma>>. Acesso em: 4 jun. 2020.

DAVIS, Charles J. Renal medullary carcinoma. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 35-36.

DELAHUNT, Brett; BETHWAITE, Peter B.; NACEY, John N. Outcome prediction for renal cell carcinoma: evaluation of prognostic factors for tumours divided according to histological subtype. **Pathology**. [s.l.], v. 39, n. 5, p. 459-465. out. 2007.

DELAHUNT, Brett; EBLE, John N. Papillary renal cell carcinoma. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 27-29.

EBLE, John N. Multilocular cystic renal cell carcinoma. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 26.

EBLE, John N.; TOGASHI, Kaori; PISANI, Paola. Renal cell carcinoma. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 12-14.

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA. NATIONAL CANCER INSTITUTE. **Cancer Stat Facts: Kidney and Renal Pelvis Cancer**. Disponível em: <<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/kidrp.html>>. Acesso em: 24 mai. 2020.

FLEITZ, Julie M. et al. Renal Cell Carcinoma in Long-Term Survivors of Advanced Stage Neuroblastoma in Early Childhood. **Pediatric Radiology**. [s.l.], v. 33, n. 8, p. 540-545. ago. 2003.

FREITAS, Alexandra M. de Souza; HARTMANN, Antônio A.; FREITAS, Tiarajú A. Renal tumors: evaluation of prognostic factors in 98 cases from a reference hospital in Porto Alegre, Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 50, n. 1. fev. 2014.

GEORGE, Daniel; JONASCH, Eric. Systemic therapy of advanced clear cell renal carcinoma. 2020. **UpToDate**. Disponível em: < <https://www.uptodate.com/contents/systemic-therapy-of-advanced-clear-cell-renal-carcinoma>>. Acesso em: 08 mai. 2020.

GRIGNON, David J. et al. Clear cell renal cell carcinoma. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 23-25.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. 2019. **Ministério da Saúde amplia tratamento para câncer renal**. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/noticias/ministerio-da-saude-amplia-tratamento-para-cancer-renal>>. Acesso em: 22 mai. 2020.

IWAI, Yoshiko et al. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. [s.l.], v. 99, n. 19, p. 12293-12297, set. 2002.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J C. **Robbins & Cotran Patologia – Bases Patológicas das Doenças**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

LERMA, Edgar V. et al. Renal manifestations of sickle cell disease. 2019. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/renal-manifestations-of-sickle-cell-disease>>. Acesso em: 18 mai. 2020.

LINEHAN, William Marston et al. The genetic basis of cancer of the kidney. **Clinical Cancer Research**, [s.l.] v. 10, n. 18, p. 6282-6289. Set. 2004.

MEDEIROS, L. Jeffrey. Renal cell carcinoma associated with neuroblastoma. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 39.

MORENO, B. Homet; RIBAS, A. Anti-programmed cell death protein-1/ligand-1 therapy in different cancers. **British Journal of Cancer**. [s.l.], v. 112, n. 9, p. 1421-1427, abr. 2015.

MUGLIA, Valdair F.; PRANDO Adilson. Carcinoma de células renais: classificação histológica e correlação com métodos de imagem. **Radiologia Brasileira**. [s.l.], v. 48, n. 3, p. 166-174, mai./jun. 2015.

PAL, Sumanta K. et al. Characterization of Clinical Cases of Collecting Duct Carcinoma of the Kidney Assessed by Comprehensive Genomic Profiling. **European Urology**. [s.l.], v. 70, n. 3, p.516-521, set. 2016.

PARDOLL, Drew M. The blockade of immune checkpoints in câncer immunotherapy. **Nature Reviews Cancer**. [s.l.], v. 12, n. 4, p. 252-264, mar. 2012.

PIERORAZIO, Phillip M.; CAMPBELL, Steven C. Diagnostic approach, differential diagnosis, and management of a small renal mass. 2020. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/diagnostic-approach-differential-diagnosis-and-management-of-a-small-renal-mass>>. Acesso em: 08 mai. 2020.

RAKOZY, C. et al. Low-grade tubular-mucinous renal neoplasms: morphologic, immunohistochemical, and genetic features. **Modern Pathology**. [s.l.], v. 15, n. 11, p. 1162-1171, nov. 2002.

RICHIE, Jerome P.; CHOUËIRI, Toni K. Role of surgery in patients with metastatic renal cell carcinoma. 2020. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/role-of-surgery-in-patients-with-metastatic-renal-cell-carcinoma>>. Acesso em: 29 mai. 2020.

SHOUSHTARI, Alexander N.; HELLMANN, Matthew. Principles of cancer immunotherapy. 2020. **UpToDate**. Disponível em: < <https://www.uptodate.com/contents/principles-of-cancer-immunotherapy>>. Acesso em: 08 mai. 2020.

SOSMAN, Jeffrey A. Immunotherapy of advanced melanoma with immune checkpoint inhibition. 2020. **UpToDate**. Disponível em: <<https://www.uptodate.com/contents/immunotherapy-of-advanced-melanoma-with-immune-checkpoint-inhibition>>. Acesso em: 11 jun. 2020.

SRIGLEY, John R. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 40.

SRIGLEY, John R.; MOCH, Holger. Carcinoma of the collecting ducts of Bellini. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 33-34.

STÖRKEL, Stephan; MARTIGONI, Guido; VAN DEN BERG, Eva. Chromophobe renal cell carcinoma. In: EBLE, John N. et al. (Ed.). **Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs**. Lyon: IARCpress, 2004. p. 30-32.

VICKERS, Michael M. Prognostic and Predictive Biomarkers in Renal Cell Carcinoma. **Targeted Oncology**. [s.l.], v. 5, n. 2, p.85-94, jun. 2010.

WILSON, Carmen L. et al. Renal Carcinoma After Childhood Cancer: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study. **Journal of National Cancer Institute**. [s.l.], v. 105, n. 7, p.504-508, abr. 2013.

YAMAZAKI Ken et al. Overexpression of KIT in chromophobe renal cell carcinoma. **Oncogene**. [s.l.], v. 22, p. 847-852, 2003.

## 2.1.12 Apêndices

## APÊNDICE A - Ficha de Transcrição

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIIS****ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1**

<b>UFFS-PESQUISA: Análises Imunoistoquímica e Sérica de Marcadores Tumorais em Carcinomas Pancreáticos</b>	
Pesquisador Responsável: Daniela Augustin Silveira. Contato: danausilveira@gmail.com Acadêmico: Luigi Marcos Bigolin. Contato: luigi.bigo@hotmail.com	
<b>Número do Questionário</b>	NQUES __ __ __
<b>Número do Registro do Anatomo-patológico</b>	NRAP ____
<b>Nome do Entrevistador</b>	ENTRE __
<b>Data Coleta</b>	DATA__/_/_/____
<b>IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE</b>	
<b>Idade:</b> __ <i>anos completos</i>	IDAD __
<b>Sexo</b> (1) Feminino (2) Masculino (3) Não especificado	SEXO__
<b>HÁBITOS DE VIDA E CONDIÇÕES CLÍNICAS</b>	
<b>Tabagista:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado (4) Ex-tabagista	TABA__
<b>Se sim, tempo que fumou em anos:</b> _____	TEMP__
<b>Hipertensão:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	HAS__
<b>Obesidade:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	OBES__
<b>REAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA</b>	
<b>Reação Imuno-histoquímica PD-L1</b> (1) Positiva (2) Negativa (3) Não Realizada	PDL1__
<b>ACHADOS DIAGNÓSTICOS E PATOLÓGICOS</b>	
<b>Procedimento:</b> (1) Nefrectomia total; (2) Nefrectomia Parcial; (3) Biópsia Renal	PROC__
<b>Sintomas apresentados:</b> (1) Assintomático (2) Dor lombar (3) Febre (4) Cólica renal (5) Oligúria/anúria (6) Hematúria (7) Perda ponderal (8) Outros: _____	SINT____
<b>Subtipo Histológico:</b> (1) Células Claras (2) Papilar (3) Cromóforo (4) Ductos Coletores (5) Cístico Multilocular (6) Variante Medular (7) Variante Tubulomucinoso / Células Fusiformes (8) Translocação Xp11 (9) Associado ao Neuroblastoma	TIHIST__

<b>Grau Nuclear de Fuhrman:</b> (1) I (2) II (3) III (4) IV	GFUR__
<b>Outros achados histopatológicos:</b> _____	
<b>ESTADIAMENTO</b>	
<b>T:</b> (1) TX (2) T0 (3) T1 (4) T2 (5) T3 (6) T4 (7) Não especificado	TAMA__
<b>N:</b> (1) NX (2) N0 (3) N1 (4) Não especificado	NODE__
<b>M:</b> (1) M0 (2) M1 (3) Não especificado	META__
<b>TNM:</b> (1) I (2) II (3) III (4) IV	TNM__
<b>TRATAMENTO</b>	
<b>Tratamento:</b> (1) Adjuvante (2) Neoadjuvante (3) Ressecção cirúrgica (4) Quimioterapia (5) Radioterapia (6) Imunoterapia (7) Sem tratamento (8) Outro _____	TRAT__
<b>PROGNÓSTICO/DESFECHO</b>	
<b>Recidiva tumoral:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	RECI__
<b>Óbito:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado/não se aplica	OBIT__
<b>Sobrevida (somente se paciente veio a óbito):</b> _____ dias após o diagnóstico confirmado	SOBR_____
<b>Situação atual (somente se paciente vivo):</b> (1) Em tratamento (2) Cura (3) Sem informação	SITU__

APÊNDICE B – 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

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP/UFFS

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIIS**  
ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1

Esta pesquisa será desenvolvida por Luigi Marcos Bigolin, discente de Graduação em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus de Passo Fundo/RS sob orientação da Profa. Ma. Daniela Augustin Silveira e coorientação Profa. Da. Jossimara Poletini.

O presente estudo visa avaliar o padrão de expressão do PD-L1 em pacientes diagnosticados com carcinoma de células renais, submetidos a nefrectomia, no período de janeiro de 2000 até dezembro de 2015, cujos procedimentos cirúrgicos foram realizados no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), Passo Fundo – RS e as análises anatomopatológicas dos tumores foram realizadas no laboratório de Patologia do mesmo hospital.

O estudo se justifica por pesquisar o carcinoma de células renais, a neoplasia renal mais comum, sendo responsável por cerca de 2 a 3% de todas as neoplasias malignas em adultos. Apresenta uma incidência mundial de cerca de 209.000 casos por ano com uma mortalidade alta, de aproximadamente 102.000 casos por ano. Somado a isso, determinadas proteínas que influem na resposta imune contra o tumor, como a PD-L1, são expressas, dificultando o manejo e a resposta ao tratamento. Ao relacionar a presença da proteína PD-L1 à evolução e desfechos da doença, possibilita um melhor conhecimento acerca do comportamento da neoplasia e a resposta imune desencadeada, de modo que um diagnóstico e identificação de neoplasias positivas para PD-L1 possam ser feitas e tratamentos mais específicos possam ser recomendados. Ainda, atualmente, são poucos os estudos brasileiros relacionando a expressão de PD-L1 a dados anatomopatológicos, clínicos, prognósticos e de tratamento em pacientes com carcinoma de células renais. Ao concluir-se o estudo, os serviços de saúde da região na qual o estudo foi desenvolvido poderão se utilizar dos resultados para o aprimoramento de condutas e manejo de pacientes, influenciando diretamente no prognóstico e desfecho destes pacientes.

Serão incluídos pacientes que realizaram procedimento cirúrgico (nefrectomia total, parcial ou biópsia) no HSVP, devido a carcinoma de células renais, e com análise anatomopatológica realizada no laboratório de Patologia do mesmo hospital. serão excluídos do estudo casos dos quais os prontuários não se consiga acessar, ou, cujos prontuários e laudos anatomopatológicos não contenham as informações necessárias. Será critério de exclusão também, aqueles casos nos quais as amostras tumorais emblocadas em parafina não estejam adequadamente preservadas para a realização da reação imuno-histoquímica.

Devido à natureza do estudo, não existem benefícios diretos para os participantes, portanto não haverá devolutiva para esses. No entanto, os mesmos serão beneficiados de forma indireta, assim como toda a comunidade, uma vez que a identificação da proteína pesquisada nos casos de carcinoma de células renais seja associada com dados clínico-patológicos, haverá uma contribuição com o tratamento de futuros pacientes acometidos, pois esse tratamento será realizado de forma mais específica, o que aumenta o tempo de sobrevida e as chances de cura.

O estudo, ao ser finalizado, será disponibilizado à instituição participante, via e-mail ou impresso, como for preferido, para que a mesma tenha conhecimento dos resultados obtidos. 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.

Existe o risco de identificação do paciente. Entretanto, visando minimizar esse risco, os nomes serão substituídos por números no momento da extração dos dados do sistema. Caso a identificação ocorra, o paciente comprometido será excluído da amostra e o Hospital São Vicente de Paulo será comunicado sobre o ocorrido.

Este estudo será realizado de acordo com a Resolução nº466/2012 da Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP). Será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), por meio do sistema eletrônico Plataforma Brasil. Para tanto, será solicitada Ciência e Concordância da instituição onde será realizada a coleta dos dados e a seleção das amostras. Considerando-se que serão utilizados dados clínico-patológicos e amostras biológicas armazenadas em prontuários e blocos de parafina de pacientes atendidos em período anterior a realização do estudo, muitos dos quais já vieram a óbito ou em caso de sobrevivência estão com os dados cadastrais desatualizados e não mantém vínculo com o hospital, dificultando o contato com a equipe de pesquisa, solicita-se dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Passo Fundo, 15 de dezembro de 2020



---

Profa. Ma. Daniela Augustin Silveira – UFFS

Pesquisador Responsável

APÊNDICE C – Termo de compromisso para uso de dados

**ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DE CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIAS**  
**ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1**

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 a 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.

Passo Fundo, 28 de setembro de 2020



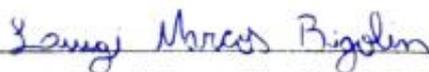
---

Profa. Ma. Daniela Augustin Silveira – UFFS  
Pesquisador Responsável



---

Profa. Dra. Jossimara Poletini – UFFS  
Pesquisador



---

Luigi Marcos Bigolin – UFFS  
Pesquisador

### 2.1.13 Anexos

#### ANEXO 1 – Termo de Ciência e Concordância da Instituição



Passo Fundo, 28 de outubro de 2020.

#### Declaração de Autorização de Pesquisa

O Hospital São Vicente de Paulo autoriza a realização do projeto de pesquisa intitulado “**Análise Imuno-Histoquímica em Carcinomas de Células Renais**”, cuja pesquisadora responsável é a Dra. Daniela Augustin Silveira, condicionada a parecer positivo emitido por Comitê de Ética em Pesquisa do sistema CEP/CONEP.

Antes de iniciar a execução do projeto, o pesquisador responsável deverá disponibilizar cópia do parecer positivo do Comitê de Ética em Pesquisa à Gerência de Ensino e Pesquisa do Hospital São Vicente de Paulo.

A direção ressalta a necessidade de cumprimento da legislação brasileira relativa à pesquisa envolvendo seres humanos, notadamente a resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e disposições complementares, os Códigos de Ética profissionais e o Manual de Conduta Ética do Hospital São Vicente de Paulo na condução do projeto.

*De acordo*

*29/10/20*

**Cristine Pilati**  
Vice Diretora Técnica Médica  
CREMERS 21.665

## 2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA

### 2.2.1 Apresentação

O relatório tem como objetivo detalhar o projeto de pesquisa “Análise Imuno-histoquímica em Carcinomas de Células Renais: Estudo da Proteína PD-L1”, desenvolvido pelo acadêmico Luigi Marcos Bigolin, sob orientação da Profa. Ma. Daniela Augustin Silveira e coorientação da Profa. Dra. Jossimara Poletini. O presente relatório visa elucidar como se desenvolveu o trabalho e quais alterações foram realizadas no decorrer do mesmo.

### 2.2.2 Desenvolvimento

O Projeto de Pesquisa foi desenvolvido no segundo semestre letivo de 2020 e submetido para a avaliação e aprovação do Hospital São Vicente de Paulo, o qual emitiu um Termo de Ciência e Concordância no dia 29/10/2020 (Anexo 1 do Projeto de Pesquisa). Em seguida, no dia 19/11/2020, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (CEP-UFFS), retornando com uma única pendência no dia 08/12/2020. A pendência foi resolvida e o projeto submetido novamente no dia 15/12/2020, sendo aprovado pelo CEP-UFFS, no dia 19/12/2020 (Anexo 1 do Relatório de Pesquisa).

#### 2.2.2.1 Logística e coleta de dados

Com relação a logística e coleta de dados, a seleção dos laudos no arquivo eletrônico do Laboratório de Patologia do HSVP foi realizada nos meses de março e abril de 2021 pelo acadêmico, sob a supervisão da orientadora Profa. Daniela Augustin Silveira. A partir desse banco de dados, pela busca do termo “Rim” foram selecionados apenas os casos de Neoplasias Renais, no período de 01/01/2000 até 31/12/2015. Durante a análise dos laudos selecionados, foram encontrados 167 casos de Carcinomas de Células Renais que se enquadravam nos critérios de inclusão. Foram excluídos 33 casos conforme os critérios estabelecidos na elaboração do projeto.

Após a listagem dos casos, o acadêmico fez a busca dos laudos anatomopatológicos e prontuários eletrônicos dos pacientes inclusos neste estudo, na biblioteca do Hospital São Vicente de Paulo. Além disso, foi feita a retirada do material destinado à imuno-histoquímica, que se encontrava emblocado em parafina e guardado no depósito deste mesmo Hospital. A partir disso, os dados foram coletados e transcritos para a Ficha de Coleta de Dados (Apêndice A do Projeto de Pesquisa) e posteriormente duplamente digitados em banco criado no EpiData versão 3.1 (distribuição livre) e, em seguida, transferidos para o programa estatístico PSPP

(distribuição livre) para a realização das análises. Tendo em posse os resultados, realizou-se a discussão comparando-os à literatura médica mundial.

#### 2.2.2.2 Perdas e recusas

No decorrer do trabalho percebeu-se que não seria possível realizar todas as análises de Imuno-histoquímica dentro do período pré-estabelecido. Por esta razão, os pesquisadores optaram por realizar as análises dos casos seguindo o critério de maior preservação do tecido tumoral emblocado, desse modo, os blocos mais recentes foram selecionados, os quais estavam compreendidos no período de 2010 até 2015, totalizando um total de 68 amostras. Essas 68 amostras foram seccionadas para a realização de lâminas histopatológicas, coradas por H.E. para que se delimitasse a região do tumor, bem como se visualizasse a viabilidade do mesmo, evitando áreas de necrose. Após delimitação do tumor nas lâminas sob microscopia, se sobrepôs sua localização nos blocos de parafina para que essas amostras fossem submetidas à técnica de Microarranjo tecidual (TMA – Tissue microarray, em inglês), na qual uma parte do tecido tumoral é extraída dos blocos de parafina “doadores” e reincorporados em um único bloco receptor (microarranjo) em coordenadas de matriz definidas, permitindo a análise sob condições idênticas e padronizadas – otimizando e aprimorando a análise, o que não seria possível caso se procedesse com a análise lâmina a lâmina como havia sido inicialmente preconizado. Vale ressaltar que os casos que estavam compreendidos entre os anos de 2000 até 2009, apesar de não passarem pela análise da proteína PD-L1, foram estudados, tendo os dados obtidos em prontuários utilizados para caracterização da amostra.

Além disso, as variáveis: “anos de tabagismo” “recidiva tumoral”, e “situação atual” não puderam ser computadas e analisadas por não estarem adequadamente descritas nos prontuários acessados. Ademais, a variável “óbito por câncer” foi adicionada ao questionário e análise, assim como a sintomatologia presente no momento da admissão do paciente, os quais não havia sido citada no projeto. Todas as alterações no questionário podem ser observadas no Apêndice A do Relatório de Pesquisa. É importante ressaltar que ambas variáveis adicionadas no projeto estavam presentes nos mesmos prontuários que as demais, assim como foram coletadas à mesma maneira, seguindo os processos metodológicos e preceitos éticos que foram inicialmente descritos que foram inicialmente descritos. No que tange a parte de análises estatísticas, a análise de correlação entre as variáveis pelo coeficiente de Correlação de Pearson não pode ser feita, pois os dados submetidos para a análise se encontravam categorizados, de modo que o teste de Qui-quadrado é o mais adequado para se utilizar nessas ocasiões.

### 2.2.3 Considerações finais

Por fim, no mês de junho de 2021, sintetizou-se o material produzido neste volume final, composto pelo projeto de pesquisa, relatório de atividades e artigo científico, o qual segue os moldes do Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.

### 2.2.4 Apêndices

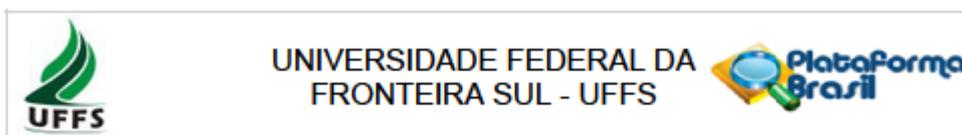
#### APÊNDICE A - Ficha de Transcrição Modificada

<b>UFFS-PESQUISA: Análises Imunoistoquímica e Sérica de Marcadores Tumorais em Carcinomas Pancreáticos</b>	
Pesquisador Responsável: Daniela Augustin Silveira. Contato: danausilveira@gmail.com Acadêmico: Luigi Marcos Bigolin. Contato: luigi.bigo@hotmail.com	
<b>Número do Questionário</b>	NQUES ___ __ __
<b>Número do Registro do Anatomo-patológico</b>	NRAP ____
<b>Nome do Entrevistador</b>	ENTRE __
<b>Data Coleta</b>	DATA ___/___/_____
<b>IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE</b>	
<b>Idade:</b> ___ <i>anos completos</i>	IDAD __
<b>Sexo</b> (1) Feminino (2) Masculino (3) Não especificado	SEXO __
<b>HÁBITOS DE VIDA E CONDIÇÕES CLÍNICAS</b>	
<b>Tabagista:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado (4) Ex-tabagista	TABA__
<b>Se sim, tempo que fumou em anos:</b> _____	TEMP__
<b>Hipertensão:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	HAS__
<b>Obesidade:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	OBES__
<b>REAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA</b>	
<b>Reação Imuno-histoquímica PD-L1</b> (1) Positiva (2) Negativa (3) Não Realizada	PDL1__
<b>ACHADOS DIAGNÓSTICOS E PATOLÓGICOS</b>	
<b>Procedimento:</b> (1) Nefrectomia total; (2) Nefrectomia Parcial; (3) Biópsia Renal	PROC__
<b>Sintomas apresentados:</b> (1) Assintomático (2) Dor lombar (3) Febre (4) Cólica renal (5) Oligúria/anúria (6) Hematúria (7) Perda ponderal (8) Outros: _____	SINT_____
<b>Subtipo Histológico:</b> (1) Células Claras (2) Papilar (3) Cromóforo (4) Ductos Coletores (5) Cístico Multilocular (6)	TIHIST__

Variante Medular (7) Variante Tubulomucinoso / Células Fusiformes (8) Translocação Xp11 (9) Associado ao Neuroblastoma	
<b>Grau Nuclear de Fuhrman:</b> (1) I (2) II (3) III (4) IV	GFUR__
<b>Outros achados histopatológicos:</b> _____	
<b>ESTADIAMENTO</b>	
<b>T:</b> (1) TX (2) T0 (3) T1 (4) T2 (5) T3 (6) T4 (7) Não especificado	TAMA__
<b>N:</b> (1) NX (2) N0 (3) N1 (4) Não especificado	NODE__
<b>M:</b> (1) M0 (2) M1 (3) Não especificado	META__
<b>TNM:</b> (1) I (2) II (3) III (4) IV	TNM__
<b>TRATAMENTO</b>	
<b>Tratamento:</b> (1) Adjuvante (2) Neoadjuvante (3) Ressecção cirúrgica (4) Quimioterapia (5) Radioterapia (6) Imunoterapia (7) Sem tratamento (8) Outro _____	TRAT__
<b>PROGNÓSTICO/DESFECHO</b>	
<b>Recidiva tumoral:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado	RECI__
<b>Óbito:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado/não se aplica	OBIT__
<b>Óbito por Câncer:</b> (1) Sim (2) Não (3) Não especificado/não se aplica	OBITCA__
<b>Sobrevida (somente se paciente veio a óbito):</b> _____ dias após o diagnóstico confirmado	SOBR_____

## 2.2.5 Anexos

### ANEXO 1 – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Fronteira Sul



UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
FRONTEIRA SUL - UFES

Plataforma  
Brasil

#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA EM CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIAS  
ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1

**Pesquisador:** Daniela Augustin Silveira

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 40208420.2.0000.5564

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFES

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.477.185

##### Apresentação do Projeto:

**Título da Pesquisa:** ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA EM CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIAS  
ESTUDO DA PROTEÍNA PD-L1

**Pesquisador:** Daniela Augustin Silveira

**CAAE:** 40208420.2.0000.5564

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFES

##### TRANSCRIÇÃO DO RESUMO:

“De caráter observacional, transversal, descritivo e analítico, o presente estudo visa avaliar o padrão de expressão do PD-L1 em pacientes diagnosticados com carcinoma de células renais, submetidos a nefrectomia. Para tanto, neste estudo, serão avaliadas amostras de pacientes submetidos à nefrectomia radical, nefrectomia parcial ou biópsia renal por neoplasia, no período de janeiro de 2000 até dezembro de 2015, cujos procedimentos cirúrgicos foram realizados no Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), Passo Fundo – RS e as análises anatomopatológicas dos tumores foram realizadas no laboratório de Patologia do mesmo hospital. Após um levantamento dos casos que será realizado no Serviço de

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
**Bairro:** Área Rural **CEP:** 89.815-899  
**UF:** SC **Município:** CHAPECO  
**Telefone:** (49)2049-3745 **E-mail:** cep.ufes@ufes.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.477.185

registro de Câncer do HSVP, no período pré-determinado, faremos a busca das amostras do tumor emblocadas em parafina e acondicionadas no arquivo do Laboratório de Patologia. Cada caso selecionado será, então numerado e encaminhado para a realização da reação imuno-histoquímica para a proteína PD-L1. A determinação da expressão tumoral da PD-L1 será contabilizada nas lâminas pelo acadêmico e por sua orientadora (duplo cego) considerando-se a reação positiva quando houver coloração marrom de membrana plasmática, ou seja, expressão da proteína PD-L1, 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 dados dos pacientes serão coletados a partir de prontuário eletrônico do hospital ao qual o laboratório pertence e a partir dos laudos anatomopatológicos no laboratório citado. Após a análise imuno-histoquímica ser concluída, os resultados serão relacionados às variáveis sexo, idade do paciente, presença ou ausência de tabagismo, hipertensão arterial, obesidade, subtipo histológico do tumor, estadiamento tumoral, grau nuclear de Fuhrman e sobrevida dos pacientes. Ao relacionar a expressão da proteína PD-L1 a essas características, será verificado se a mesma se associa àquelas que, de acordo com a literatura revisada, são indicativas de pior prognóstico. Se a hipótese for confirmada, o estudo contribuirá para que a expressão da proteína PD-L1 seja utilizada futuramente para compor o perfil das neoplasias, auxiliando na acurácia do prognóstico, o que resulta em uma conduta terapêutica mais adequada, podendo reforçar o importante papel da imunoterapia em casos de carcinomas positivos para PD-L1.\*

COMENTÁRIOS:

Adequado.

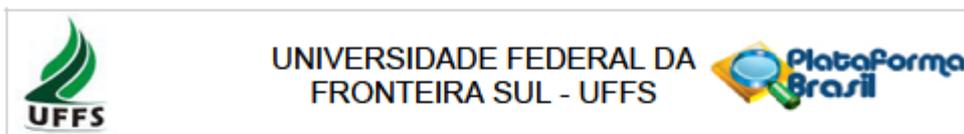
**Objetivo da Pesquisa:**

OBJETIVO DA PESQUISA:

TRANSCRIÇÃO HIPÓTESE:

\*A expressão da proteína PD-L1 se relaciona com as características clínico-patológicas de

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899  
 UF: SC Município: CHAPECO  
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

pacientes com carcinomas de células renais. A presença da proteína PD-L1 na neoplasia estará relacionada com uma maior agressividade tumoral e pior prognóstico para o paciente. Pacientes com neoplasias positivas para a proteína PD-L1 e que receberam tratamento imunoterápico terão um melhor prognóstico."

COMENTÁRIOS:

Adequada.

TRANSCRIÇÃO OBJETIVO PRIMÁRIO:

"Avaliar a expressão da proteína PD-L1 em carcinomas de células renais e relacioná-la com dados clínico-patológicos obtidos através de prontuários."

COMENTÁRIOS:

Adequado.

TRANSCRIÇÃO OBJETIVO SECUNDÁRIO:

"Investigar a expressão da proteína PD-L1 em carcinomas de células renais, e relacioná-la com características clínico-patológicas, avaliando se está associada a maior agressividade tumoral e pior prognóstico para o paciente. Analisar se imunoterapia em carcinomas de células renais com expressão da proteína PD-L1 está associada a um melhor desfecho para o paciente."

COMENTÁRIOS:

Adequado.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

AVALIAÇÃO DOS RISCOS E BENEFÍCIOS:

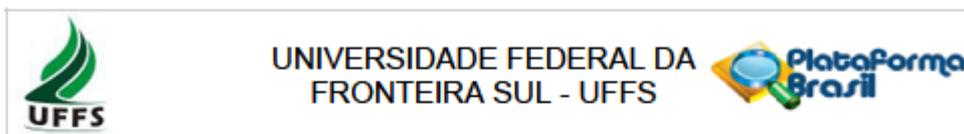
TRANSCRIÇÃO – Riscos:

"Existe o risco de identificação do paciente. Entretanto, visando minimizar esse risco, os nomes serão substituídos por números no momento da extração dos dados do sistema. Caso a identificação ocorra, o paciente comprometido será excluído da amostra e o Hospital São Vicente de Paulo será comunicado sobre o ocorrido."

COMENTÁRIOS:

Adequado.

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899  
 UF: SC Município: CHAPECO  
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

**TRANSCRIÇÃO - Benefícios:**

"Devido à natureza do estudo, não existem benefícios diretos para os participantes, portanto não haverá devolutiva para estes. No entanto, os mesmos serão beneficiados de forma indireta, assim como toda a comunidade, uma vez que a identificação da proteína pesquisada nos casos de carcinoma de células renais seja associada com dados clínico-patológicos, haverá uma contribuição com o tratamento de futuros pacientes acometidos, pois esse tratamento será realizado de forma mais específica, o que aumenta o tempo de sobrevida e as chances de cura. 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."

**COMENTÁRIOS:**

Adequado.

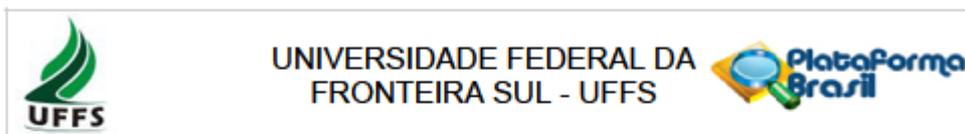
**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

**CONSIDERAÇÕES SOBRE A PESQUISA:**

**DESENHO: TRANSCRIÇÃO**

"Trata-se de um estudo quantitativo, observacional do tipo transversal descritivo e analítico. Será realizado no Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo – RS, de novembro de 2020 a agosto de 2021. A população base para o estudo será constituída de pacientes com diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de células renais, que realizaram o procedimento cirúrgico no HSVP, cujos laudos anatomopatológicos foram realizados no laboratório de patologia do mesmo hospital no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2015. Será feita uma 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

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
**Bairro:** Área Rural **CEP:** 89.815-899  
**UF:** SC **Município:** CHAPECO  
**Telefone:** (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

probabilística, de conveniência, incluirá aproximadamente 200 pacientes.

Variável dependente: Reação imuno-histoquímica positiva para PD-L1 em carcinoma de células renais.

Variáveis independentes: idade, sexo, presença de tabagismo, hipertensão arterial, obesidade, tipo histológico de tumor, Grau Nuclear de Fuhrman,

TNM, resposta ao tratamento convencional, resposta à imunoterapia quando presente e prognóstico dos pacientes.

Será efetuado o levantamento dos dados registrados no sistema de pesquisa de laudos anatomopatológico e prontuário eletrônico do laboratório

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

O estudo se realizará no período de janeiro de 2000 até dezembro de 2015, através de um levantamento dos casos de carcinoma de células renais,

no Serviço de registro de Câncer do HSVP. Após a listagem dos casos, o acadêmico fará a busca na biblioteca deste hospital, 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 (nephrectomia total ou parcial, ou biópsia renal por neoplasia) 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. O acadêmico fará a retirada deste material do arquivo e os casos serão,

então, encaminhados para a realização da reação imuno-histoquímica para a proteína PD-L1 no mesmo laboratório. O estudo imuno-histoquímico

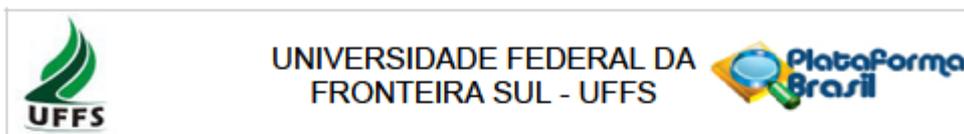
dos casos para avaliação da expressão da proteína PD-L1, será feito com anticorpo SP263 (Ventana). Para tanto serão utilizados cortes de 4 micra

do tecido tumoral parafinado e este será submetido a reação imuno-histoquímica através do KIT (HiDefDetection™) com a utilização do anticorpo

primário anti-PD-L1 e com marcação da reação com cromógeno marrom (DAB) e com contra coloração com Hematoxilina de Haris. O laboratório

onde será realizada a imuno-histoquímica localiza-se dentro do Hospital São Vicente de Paulo. A

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899  
 UF: SC Município: CHAPECO  
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

imuno-histoquímica será feita pela técnica em química do laboratório, a qual já realiza os procedimentos de rotina do local, que será acompanhada pelo acadêmico pesquisador. 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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 10 v. O passo seguinte será a incubação com o anticorpo primário da proteína PD-L1 com reação em membrana plasmática, 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.

Quem analisará e interpretará as lâminas será a médica especialista em patologia do laboratório, pesquisadora principal, e o acadêmico."

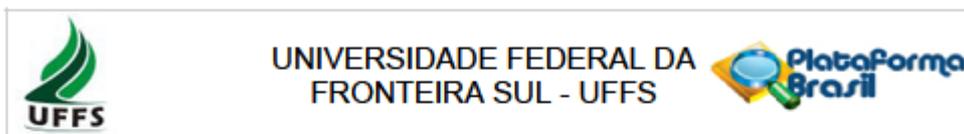
COMENTÁRIOS:

Adequado.

#### METODOLOGIA PROPOSTA: TRANSCRIÇÃO

"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 da proteína PD-L1. 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, o acadêmico pesquisador 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 marrom intensa na membrana plasmática. A leitura das lâminas será feita pelo acadêmico e sua orientadora (duplo cego) no mesmo local. Todos os

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899  
 UF: SC Município: CHAPECO  
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

dados coletados serão registrados em ficha de dados (apêndice A) para posterior digitação em planilha eletrônica. Após isso, os dados obtidos serão descritos e analisados. A realização destes processos dentro da pesquisa proposta será iniciada tão logo obtivermos a aprovação do CEP institucional e a aprovação da Comissão de Pesquisa do HSVP e deverá compreender os períodos de 2020/2 e 2021/1. Este estudo será realizado de acordo com a Resolução nº466/2012 da Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP). Será submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), por meio do sistema eletrônico Plataforma Brasil. Para tanto, será solicitada Ciência e Concordância da instituição onde será realizada a coleta dos dados e a seleção das amostras (Anexo 1). Considerando-se que serão utilizados dados clínico-patológicos e amostras biológicas armazenadas em prontuários e blocos de parafina de pacientes atendidos em período anterior a realização do estudo, muitos dos quais já vieram a óbito ou em caso de sobrevivência estão com os dados cadastrais desatualizados e não mantém vínculo com o hospital, dificultando o contato com a equipe de pesquisa, solicita-se dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Portanto, nos apêndices, encontra-se o Termo de Dispensa de TCLE (apêndice B). Além deste, também será assinado o Termo de Compromisso para uso de dados em arquivo (Apêndice C). Por fim, os dados ficarão armazenados em um pendrive que ficará guardado em um armário fechado por cadeado na Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Passo Fundo, aos quais somente os pesquisadores terão acesso. Após 5 anos esses dados serão destruídos. Devido à natureza do estudo, não existem benefícios diretos para os participantes, portanto não haverá devolutiva para estes. Haverá uma devolutiva do estudo à instituição participante, via email ou impresso, para que a mesma tenha conhecimento dos resultados obtidos. O estudo se justifica por pesquisar o carcinoma de células renais, a neoplasia renal mais comum. Sua incidência mundial é de cerca de 209.000 casos por ano com uma mortalidade alta, de aproximadamente 102.000 casos por ano. Somado a isso, determinadas proteínas que influem na resposta imune contra o tumor, como a PD-L1, são expressas,

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
**Bairro:** Área Rural **CEP:** 89.815-899  
**UF:** SC **Município:** CHAPECO  
**Telefone:** (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.477.185

dificultando o manejo e a resposta ao tratamento. Ao relacionar a presença da proteína PD-L1 à evolução e desfechos da doença, possibilita um melhor conhecimento acerca do comportamento da neoplasia e a resposta imune desencadeada, de modo que um diagnóstico e identificação de neoplasias positivas para PD-L1 possam ser feitas e tratamentos mais específicos possam ser recomendados. Ainda, atualmente, são poucos os estudos brasileiros relacionando a expressão de PD-L1 a dados anatomopatológicos, clínicos, prognósticos e de tratamento em pacientes com carcinoma de células renais. Ao concluir-se o estudo, os serviços de saúde da região poderão se utilizar dos resultados para o aprimoramento de condutas e manejo de pacientes, influenciando diretamente no prognóstico e desfecho destes pacientes."

**COMENTÁRIOS:**

Adequada.

**CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E DE EXCLUSÃO:**

**TRANSCRIÇÃO CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:**

"Serão incluídos pacientes que realizaram procedimento cirúrgico (nefrectomia total, parcial ou biópsia) no HSVP, devido a carcinoma de células renais, e com análise anatomopatológica realizada no laboratório de Patologia do mesmo hospital."

**COMENTÁRIOS:**

Adequado.

**TRANSCRIÇÃO CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:**

"Serão excluídos do estudo casos dos quais os prontuários não se consiga acessar, ou, cujos prontuários e laudos anatomopatológicos não contenham as informações necessárias. Será critério de exclusão também, aqueles casos nos quais as amostras tumorais emblocadas em parafina não estejam adequadamente preservadas para a realização da reação imuno-histoquímica."

**COMENTÁRIOS:**

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
**Bairro:** Área Rural **CEP:** 89.815-899  
**UF:** SC **Município:** CHAPECO  
**Telefone:** (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.477.185

Adequado.

#### METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS: TRANSCRIÇÃO

"A dupla digitação dos dados coletados será em planilha eletrônica e as análises estatísticas a partir destes dados serão feitas no programa 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 o marcador tumoral o tratamento e o prognóstico será avaliada por meio do coeficiente de correlação de Pearson."

COMENTÁRIOS:

Adequada.

Desfecho Primário:

"Relação entre a expressão da proteína PD-L1 em carcinomas de células renais com dados clínico-patológicos obtidos através de prontuários."

COMENTÁRIOS:

Adequado.

Desfecho Secundário:

"Não consta."

COMENTÁRIOS:

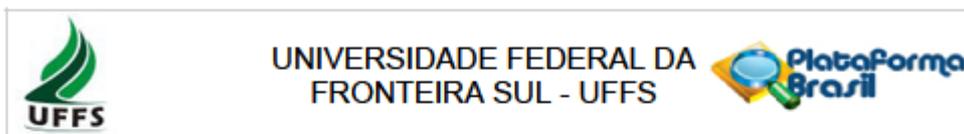
Adequado.

CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO:

COMENTÁRIOS:

Adequado.

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899  
 UF: SC Município: CHAPECO  
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

**CONSIDERAÇÕES SOBRE OS TERMOS DE APRESENTAÇÃO OBRIGATÓRIA:**

**FOLHA DE ROSTO**

**COMENTÁRIOS:**

Adequada.

**TERMO DE CIÊNCIA E CONCORDÂNCIA DAS INSTITUIÇÕES**

**COMENTÁRIOS:**

Adequada.

**QUESTIONÁRIOS**

"Não se aplica."

**COMENTÁRIOS:**

Adequados.

**Dispensa de TCLE:**

**COMENTÁRIOS:**

Adequado.

**TCUD:**

**COMENTÁRIOS:**

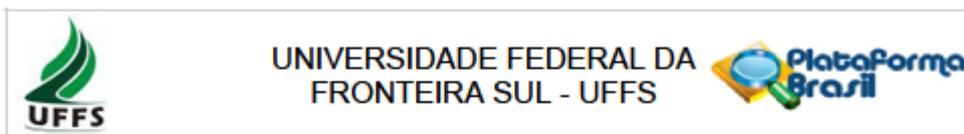
Adequado.

**RECOMENDAÇÕES:**

As sugestões a seguir, embora recomendáveis, são de modificação opcional:

# Considerando a atual pandemia do novo coronavírus, e os impactos imensuráveis da COVID-19 (Coronavirus Disease) na vida e rotina dos/as Brasileiros/as, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (CEP/UFFS) recomenda cautela ao/à pesquisador/a responsável e à sua equipe de pesquisa, de modo que atentem rigorosamente ao cumprimento das orientações amplamente divulgadas pelos órgãos oficiais de saúde (Ministério da

**Endereço:** Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
**Bairro:** Área Rural **CEP:** 89.815-899  
**UF:** SC **Município:** CHAPECO  
**Telefone:** (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

Saúde e Organização Mundial de Saúde). Durante todo o desenvolvimento de sua pesquisa, sobretudo em etapas como a coleta de dados/entrada em campo e devolutiva dos resultados aos/às participantes, deve-se evitar contato físico próximo aos/às participantes e/ou aglomerações de qualquer ordem, para minimizar a elevada transmissibilidade desse vírus, bem como todos os demais impactos nos serviços de saúde e na morbimortalidade da população. Sendo assim, sugerimos que as etapas da pesquisa que envolvam estratégias interativas presenciais, que possam gerar aglomerações, e/ou que não estejam cuidadosamente alinhadas às orientações mais atuais de enfrentamento da pandemia, sejam adiadas para um momento oportuno. Por conseguinte, lembramos que para além da situação pandêmica atual, continua sendo responsabilidade ética do/a pesquisador/a e equipe de pesquisa zelar em todas as etapas pela integridade física dos/as participantes/as, não os/as expondo a riscos evitáveis e/ou não previstos em protocolo devidamente aprovado pelo sistema CEP/CONEP;

# Sugere-se incluir dentro das etapas cronológicas o envio dos Relatórios Parciais (a cada 6 meses a partir da aprovação pelo CEP mediante emissão do parecer consubstanciado) e Relatório final (ao término do cronograma previsto pelo/a pesquisador/a);

# Sugere-se um aprofundamento metodológico profundo no projeto, e se necessário, procurar um/uma integrante do CEP/UFFS em seu Campus para maiores detalhes.

#### CONCLUSÕES OU PENDÊNCIAS E LISTA DE INADEQUAÇÕES:

"Não se aplica."

#### Recomendações:

##### RECOMENDAÇÕES:

As sugestões a seguir, embora recomendáveis, são de modificação opcional:

# Considerando a atual pandemia do novo coronavírus, e os impactos imensuráveis da COVID-19 (Coronavirus Disease) na vida e rotina dos/as Brasileiros/as, o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal da Fronteira Sul (CEP/UFFS) recomenda cautela ao/à pesquisador/a responsável e à sua equipe de pesquisa, de modo que atentem rigorosamente ao

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899  
 UF: SC Município: CHAPECO  
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DA  
FRONTEIRA SUL - UFFS



Continuação do Parecer: 4.477.185

cumprimento das orientações amplamente divulgadas pelos órgãos oficiais de saúde (Ministério da Saúde e Organização Mundial de Saúde). Durante todo o desenvolvimento de sua pesquisa, sobretudo em etapas como a coleta de dados/entrada em campo e devolutiva dos resultados aos/às participantes, deve-se evitar contato físico próximo aos/às participantes e/ou aglomerações de qualquer ordem, para minimizar a elevada transmissibilidade desse vírus, bem como todos os demais impactos nos serviços de saúde e na morbimortalidade da população. Sendo assim, sugerimos que as etapas da pesquisa que envolvam estratégias interativas presenciais, que possam gerar aglomerações, e/ou que não estejam cuidadosamente alinhadas às orientações mais atuais de enfrentamento da pandemia, sejam adiadas para um momento oportuno. Por conseguinte, lembramos que para além da situação pandêmica atual, continua sendo responsabilidade ética do/a pesquisador/a e equipe de pesquisa zelar em todas as etapas pela integridade física dos/as participantes/as, não os/as expondo a riscos evitáveis e/ou não previstos em protocolo devidamente aprovado pelo sistema CEP/CONEP;

# Sugere-se incluir dentro das etapas cronológicas o envio dos Relatórios Parciais (a cada 6 meses a partir da aprovação pelo CEP mediante emissão do parecer consubstanciado) e Relatório final (ao término do cronograma previsto pelo/a pesquisador/a);

# Sugere-se um aprofundamento metodológico profundo no projeto, e se necessário, procurar um/uma integrante do CEP/UFFS em seu Campus para maiores detalhes.

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

#### CONCLUSÕES OU PENDÊNCIAS E LISTA DE INADEQUAÇÕES:

"Não se aplica."

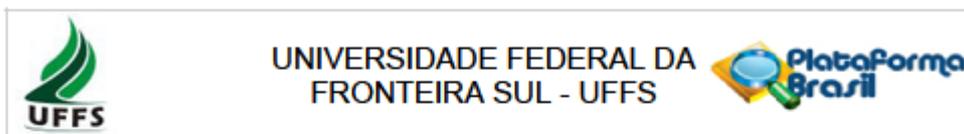
#### Considerações Finais a critério do CEP:

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

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899  
 UF: SC Município: CHAPECO  
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

documento "Deveres do Pesquisador".

Lembre-se que:

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

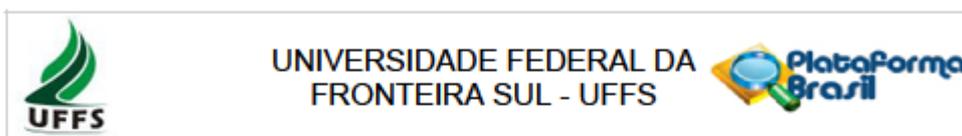
Contate a "central de suporte" da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

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_1665620.pdf	15/12/2020 15:46:10		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	apendiceB_dispenza_TCLE2.pdf	15/12/2020 15:43:38	LUIGI MARCOS BIGOLIN	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_cep_V2.docx	15/12/2020 15:42:53	LUIGI MARCOS BIGOLIN	Aceito
Outros	Carta_Pendencias_Luigi.doc	11/12/2020	LUIGI MARCOS	Aceito

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar  
 Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899  
 UF: SC Município: CHAPECO  
 Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 4.477.185

Outros	Carta_Pendencias_Luigi.doc	10:17:08	BIGOLIN	Aceito
Outros	Anexo1_Autorizacao_HSVP.pdf	19/11/2020 08:50:45	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Outros	Apendice_C_TCUD.pdf	19/11/2020 08:46:21	Daniela Augustin Silveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Apendice_B_Dispensa_de_TCLE.pdf	19/11/2020 08:46:03	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Outros	Apendice_A_Ficha_de_Transcricao.pdf	19/11/2020 08:45:52	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	19/11/2020 08:45:21	Daniela Augustin Silveira	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	19/11/2020 08:27:29	Daniela Augustin Silveira	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CHAPECO, 19 de Dezembro de 2020

---

**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:** 89.815-899  
**UF:** SC **Município:** CHAPECO  
**Telefone:** (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br

### 3 ARTIGO CIENTÍFICO

#### CARACTERIZAÇÃO DE CARCINOMAS DE CÉLULAS RENAIIS E SUA ASSOCIAÇÃO COM O LIGANTE DE MORTE PROGRAMADA 1 (PD-L1)

Luigi M. Bigolin<sup>1</sup>, Jossimara Poletini<sup>1</sup>, Daniela A. Silveira<sup>1,2</sup>

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

**Objetivo:** Caracterizar pacientes portadores de Carcinoma de Células Renais (CCRs) submetidos à nefrectomia radical ou parcial ou biópsia renal e avaliar a expressão da proteína PD-L1 nos tecidos tumorais e relacioná-la com dados clínico-patológicos. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, que incluiu todos os casos de CCRs de 2000 a 2015 analisados no laboratório de Patologia de um Hospital de referência do norte do Rio Grande do Sul. Os dados sociodemográficos e clínico patológico foram obtidos dos prontuários médicos. A expressão de PD-L1 foi determinada através da técnica de *Tissue Microarray Analysis* e imuno-histoquímica, relacionada com as características clínico-patológicos observadas, e o nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** Foram identificados 167 casos de CCRs, dos quais 89,1% foram de células claras. Obsevou-se que 69,5% dos pacientes eram do sexo masculino, 54,5% na faixa etária dos 60-79 anos e 31,7% tabagistas. De acordo com o estadiamento clínico (TNM), 55,8% dos casos encontrados estavam no Estadio I. Ainda, a positividade da proteína PD-L1 esteve associada a mortalidade ( $p < 0,05$ ) e uma sobrevida mais breve ( $p < 0,05$ ). **Conclusões:** Em adição a outros indicadores prognósticos bem consolidados, como o TNM e o Grau de Fuhrman, o PD-L1 tem potencial para ser utilizado como prognóstico em CCRs. **Palavras Chave:** Ligante de Morte Programada 1. Prognóstico. Imuno-Histoquímica. Análise de Sobrevida.

#### ABSTRACT

**Objective:** To characterize patients with Renal Cell Carcinoma (RCCs) undergoing radical or partial nephrectomy or renal biopsy and to evaluate the expression of PD-L1 protein in tumor tissues and relate to clinical and pathological data. **Methods:** This is a cross-sectional study, which included all cases of CCRs from 2000 to 2015 analyzed in the Pathology laboratory of a

reference hospital in northern Rio Grande do Sul. Sociodemographic, clinical and pathological data were obtained from medical records. The expression of PD-L1 was determined using the technique of Tissue Microarray Analysis and immunohistochemistry, and related to the observed clinical-pathological characteristics. **Results:** a total of 167 cases of RCC were identified, of which 89.1% were clear cells. It was noted that 69.5% of the patients were male, 54.5% in the 60-79 years age group and 31.7% smokers. According to clinical staging (NMT), 55.8% of the cases found were in Stage I. Furthermore, the positivity of the PD-L1 protein was associated with a higher chance of death ( $p < 0.05$ ) and a shorter survival ( $p < 0.05$ ). **Conclusions:** In addition, to well know prognostic indicators, such as TNM and Fuhrman Degree, PD-L1 has the potential to be used as a prognosis in CCRs.

**Keywords:** Programmed Death Ligand 1. Prognosis. Immunohistochemistry. Survival Analysis.

## INTRODUÇÃO

De origem no córtex renal, os Carcinomas de Células Renais (CCR) são neoplasias agressivas, que por vezes possuem caráter assintomático, nesses casos sendo descobertos incidentalmente em exames de imagem. Apesar de transparecer um caráter menos agressivo, estima-se que cerca de 40% dos pacientes portadores de CCR venham a óbito devido à progressão da doença (1).

Estima-se que no Brasil a incidência de neoplasias renais malignas seja em torno de 7 a 10 casos para cada 100 mil habitantes. O CCR é a neoplasia do rim que mais frequentemente acomete a população, sendo que o Carcinoma Renal de Células Claras (CRCC), um dos vários subtipos do CCR, compreende aproximadamente 75% dos casos (2).

O Ligante de Receptor de Morte Programada 1 (PD-L1) é um ligante que atua inibindo a imunidade mediada por células T. Dessa forma, neoplasias que apresentam essa expressão de forma aberrante, podem inibir a imunidade específica por células T contra a neoplasia. Portanto, a expressão de PD-L1 pode estar relacionada a uma maior agressividade da neoplasia, aumentando assim o risco de mortalidade (3).

Em um estudo de avaliação de fatores prognósticos em carcinomas renais, Freitas et al. observaram que marcadores moleculares, dentre eles o PD-L1 são promissores para uma maior acurácia no prognóstico de pacientes portadores de CCRs. Ainda, nesse mesmo estudo, o marcador PD-L1 mostrou importante associação com a presença de necrose tumoral, um indicador de agressividade da neoplasia (4).

Desenvolver uma melhor acurácia no prognóstico do CCR faz-se necessário, uma vez que, a partir desse se estabelece o tratamento e o manejo do paciente. Ao caracterizar o perfil da neoplasia, pode-se estimar seu potencial, o que acaba por interferir no prognóstico, na qualidade de vida do paciente assim como em sua sobrevida. Dessa forma, o presente estudo objetivou caracterizar pacientes portadores de CCRs e avaliar a expressão da proteína PD-L1 nos tecidos tumorais, bem como relacioná-la com dados clínico-patológicos.

## **MATERIAL E MÉTODO**

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 40208420.2.0000.5564.

A amostra foi composta por todos os pacientes com diagnóstico de CCRs, submetidos à nefrectomia radical ou parcial ou biópsia renal, cujos exames anatomopatológicos foram realizados pelo laboratório de patologia do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), na cidade de Passo Fundo – RS, entre janeiro de 2000 e dezembro de 2015.

As variáveis sociodemográficas e clínico-patológicas foram coletadas a partir dos prontuários médicos dos pacientes estudados e incluíram idade, sexo, tabagismo, hipertensão, IMC>30, procedimento realizado (nefrectomia radical ou parcial ou biópsia renal), sintomas apresentados na admissão, subtipo histológico do tumor, grau nuclear de Fuhrman (5), estadiamento (segundo os critérios do American Joint Committee on Cancer (AJCC) / Union for International Cancer Control) (6), primeiro tratamento realizado, óbito, óbito por câncer, sobrevida.

O estudo imuno-histoquímico dos casos para avaliação da expressão da proteína PD-L1, foi realizado com anticorpo SP263 (Ventana) (Roche Diagnostics, Indianapolis, EUA). Para tanto, foi utilizada a técnica de Microarranjo tecidual (TMA – Tissue microarray), na qual uma parte do tecido tumoral é extraída dos blocos de parafina “doadores” e reincorporados em um único bloco receptor (microarranjo) em coordenadas de matriz definidas, permitindo a análise sob condições idênticas e padronizadas. Os cortes de 4 micra foram submetidos à reação imuno-histoquímica através do KIT (HiDefDetection™, Cell Marque, Rocklin, CA, EUA) com a utilização do anticorpo primário anti-PD-L1 e com marcação da reação com cromógeno marrom (DAB) e com contra coloração com Hematoxilina de Harris, com controle positivo de tecido placentário em cada reação. Foram avaliados os casos quanto a positividade ou não da expressão da proteína PD-L1. A avaliação dos casos foi realizada por dois observadores médicos Patologistas (duplo cego), e a positividade da PD-L1 foi definida por CPS (“escore de

positividade combinada”) considerando  $CPS \geq 1$ , onde CPS é o número de PD-L1 positivo nas células (células tumorais, linfócitos e macrófagos) dividido pelo número total de células tumorais viáveis, multiplicado por 100. Como não existe ainda um protocolo específico para CPS de PD-L1 em Carcinomas Renais, a contagem foi baseada no protocolo utilizado para Carcinomas Uroteliais de bexiga, para os quais a avaliação de biomarcadores tumorais têm sido realizada e comparada com a utilização de diferentes drogas terapêuticas (Estudos em fase III) (7), onde: a expressão da PD-L1 em  $<1\%$  = zero, PD-L1 1-5%= 1, PD-L1  $>5\%$  = 5 e PD-L1  $>50\%$  = 50. O resultado foi expresso de forma categorizada como amostra PD-L1(+) quando este escore foi igual ou superior a 1 e casos PD-L1 (-) quando o mesmo foi menor que 1.

Esta metodologia para a análise imuno-histoquímica foi escolhida na tentativa de se reproduzir as avaliações utilizadas na prática clínica, como também atender às evidências de que a expressão do PD-L1 em células imunes intra e peritumorais tem papel importante na manifestação do fenótipo de evasão imune e que, por isso, provavelmente o CPS expressa melhor o papel prognóstico (8).

Os dados adquiridos 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). A análise consistiu na distribuição das frequências das variáveis e 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 167 casos de CCR, e os dados sociodemográficos e clínicos dos pacientes estudados estão apresentados na Tabela 1. Observa-se que a maior prevalência de CCR se encontra entre a faixa etária dos 60 aos 79 anos (54,5%), seguida pela faixa etária dos 40-59 anos de idade, com predomínio de pacientes do sexo masculino (69,5%). Quanto às condições clínicas, é possível observar que 60% dos pacientes negavam o uso de tabaco, enquanto 31,7% afirmavam tabagismo. Predominaram pacientes com diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica (56%) e com IMC  $< 30$  (68%).

Ainda, em relação aos dados clínicos, é possível observar que o sintoma mais frequente entre os pacientes da amostra foi dor lombar, ocorrendo de forma isolada (25,6%) ou em associação com demais sinais ou sintomas presentes – cólica renal, hematúria, febre, perda ponderal, oligúria/anúria (9,8%). É importante destacar que houve um número significativo de pacientes assintomáticos na amostra (25,6%). Além disso, alguns pacientes apresentaram

sintomas diversos, os quais foram incluídos no item “Outros”, que inclui: dor abdominal, dor em flanco, dor em hipocôndrio, náusea/cefaleia/síncope, dispneia e disúria.

**Tabela 1.** Dados sociodemográficos e clínicos de uma amostra de pacientes diagnosticados com CCR que tiveram seu anatomopatológico analisado em um hospital terciário de Passo Fundo, RS, entre 2000 e 2015 (n=167).

Variáveis	n	%
Idade (anos completos)		
20-39	8	4,8
40-59	63	37,7
60-79	91	54,5
≥ 80	5	3,0
Sexo		
Feminino	51	30,5
Masculino	116	69,5
Tabagismo (n=120)		
Nunca	72	60,0
Sim	38	31,7
Ex-tabagista	10	8,3
Hipertensão Arterial Sistêmica (n=140)		
Sim	79	56,4
Não	61	43,6
IMC>30 (n=128)		
Sim	41	32,0
Não	87	68,0
Sinais e Sintomas no momento da admissão (n=113)		
Assintomáticos	29	25,6
Somente dor lombar	29	25,6
Dor lombar associada a demais sinais/sintomas	11	9,8
Cólica renal	1	0,9
Somente hematúria	11	9,8
Hematúria associada a outros sinais/sintomas	4	3,5
Somente perda ponderal	3	2,7
Perda ponderal associada a outros sinais/sintomas	2	1,8
Oligúria/Anúria associada a outros sinais/sintomas	1	0,9
Outros	22	19,4

CCR: Carcinoma de Células Renais; IMC: Índice de Massa Corpórea.

As características das neoplasias estudadas estão descritas na Tabela 2. Como esperado, a maioria dos casos foi classificada como CCR de células claras (89,1%), seguido do subtipo papilar, abrangendo 4,9% dos casos. Em relação ao grau Nuclear de Fuhrman, foi possível perceber que a maioria dos CCRs era classificada como Grau Nuclear II (70,2%), enquanto o Grau Nuclear IV se apresentou como o menos frequente (3,1%).

Na maioria dos casos, o tamanho do tumor primário foi classificado como T1 (57,2%), o acometimento de linfonodos regionais foi ausente (86,9%), assim como a ausência de

metástases à distância (93,0%). Nesse sentido, o estadiamento mais frequente se mostrou o estadio I da doença (55,8%). Ademais, duas perdas ocorreram na variável “procedimento que gerou o anatomopatológico”, onde apesar do laudo ter sido elaborado, o procedimento não estava descrito.

**Tabela 2.** Características histopatológicas dos tumores de pacientes diagnosticados com CCR que tiveram seu exame anatomopatológico analisado em um hospital terciário de Passo Fundo, RS, entre 2000 e 2015 (n=167).

<b>Variáveis</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Procedimento que gerou anatomopatológico (n=165)		
Nefrectomia Radical	133	80,6
Nefrectomia Parcial	27	16,4
Biópsia Renal	5	3,0
Subtipo Histológico (n=165)		
Células Claras	147	89,1
Papilar	8	4,9
Cromóforo	6	3,6
Cístico Multilocular	4	2,4
Grau Nuclear de Fuhrman (n=161)		
I	23	14,3
II	113	70,2
III	20	12,4
IV	5	3,1
Tumor primário (n=145)		
Tx	1	0,7
T1	83	57,2
T2	30	20,7
T3	26	17,9
T4	5	3,5
Linfonodos Regionais (n=145)		
NX	16	11,0
N0	126	86,9
N1	3	2,1
Metástases à distância (n=144)		
M0	134	93,0
M1	10	7,0
Estadiamento		
I	82	55,8
II	29	19,7
III	22	15,0
IV	14	9,5

CCR: Carcinoma de Células Renais

Na Tabela 3 é possível observar os dados obtidos sobre o tratamento e desfecho dos pacientes da amostra. Com relação ao primeiro tratamento realizado no hospital, é possível

perceber que a ressecção cirúrgica da lesão, seja ela uma nefrectomia radical ou parcial, é o tratamento de escolha, sendo que foi realizado em 94,6% dos pacientes da amostra.

Quanto aos óbitos e à sobrevida, do total de 167 pacientes da amostra, foram registrados em prontuário 57 óbitos, sendo que destes, 70% foram confirmados como óbito por câncer. A sobrevida dos pacientes varia, sendo em média  $4,09 \pm 2,5$  anos. Por fim, vale ressaltar que pode ter ocorrido uma subestimação dos dados de óbitos e sobrevida dos pacientes, visto que muitos dos óbitos não estão registrados em prontuário, desse modo não foi possível calcular a sobrevida destes pacientes.

**Tabela 3.** Primeiro tratamento e dados de óbito de pacientes diagnosticados com CCR que tiveram seu anatomopatológico analisado em um hospital terciário de Passo Fundo, RS, entre 2000 e 2015 (n=167).

Variáveis	n	%
Primeiro Tratamento Realizado no Hospital		
Nenhum	1	0,60
Ressecção Cirúrgica	158	94,6
Radioterapia	2	1,2
Quimioterapia	1	0,6
Imunoterapia	4	2,4
Outro	1	0,6
Óbitos (n=57)		
Óbito por Câncer	40	70,1
Óbito por outra causa	12	21,1
Causa não especificada	5	8,8
Sobrevida (n=57)		
≤12 meses	12	21,1
>12 meses	45	78,9

CCR: Carcinoma de Células Renais

A relação entre a expressão da proteína PD-L1 e demais variáveis, se encontra na tabela 4. A análise da presença da proteína PD-L1 foi realizada em 68/161 casos, e a seleção das amostras para a realização da imuno-histoquímica se deu pela maior preservação do tecido tumoral, desse modo, os blocos de anos mais recentes foram selecionados para a análise. Dos 68 casos submetidos à análise, todos apresentaram algum grau de expressão para PD-L1, havendo concordância total entre os dois observadores, sendo estes avaliados acordo com o escore de positividade combinada (CPS). A expressão positiva foi considerada válida somente em casos onde a expressão era maior ou igual a 1%.

Ainda na Tabela 4 se observa os resultados da aplicação o teste de Qui-quadrado na PD-L1 com demais variáveis. É possível constatar que as únicas análises com significância estatística são as que contém as variáveis “óbito” e “sobrevida” onde se observa que a maioria

dos pacientes com resultado PD-L1 teve seu óbito confirmado (6,0%) e sobreviveu menos de 12 meses (15%).

**Tabela 4.** Relação entre a expressão do ligante de morte programada 1 e as variáveis de estadiamento, tratamento, óbito e sobrevida dos pacientes incluídos no estudo (n=68).

Variáveis	PD-L1 Positivo (≥1%) (n=5)		PD-L1 Negativo (<1%) (n=63)		p*
	N	%	n	%	
Estadiamento (n=64)					0,25
I	1	1,6	33	51,6	
II	1	1,6	13	20,3	
III	2	3,1	10	15,6	
IV	1	1,6	3	4,7	
Primeiro Tratamento Realizado no Hospital (n=67)					0,77
Ressecção Cirúrgica	5	7,5	61	91,0	
Quimioterapia	0	0,0	1	1,5	
Óbitos (n=67)					<b>0,01</b>
Óbito confirmado	4	6,0	16,0	23,9	
Não especificado	1	1,5	46	68,7	
Óbito por Câncer (n=20)					0,53
Sim	3	15,0	14	70,0	
Óbito por outra causa	1	5,0	2	10,0	
Sobrevida (n=57)					<b>0,03</b>
≤12 meses	3	15,0	3	15,0	
>12 meses	1	5,0	13	65,0	

Fonte: Elaborado pelos Autores (2021).

## DISCUSSÃO

Neste estudo, foi possível observar um predomínio de idosos entre os pacientes com diagnóstico histopatológico confirmado de CCR, sendo que a faixa etária entre os 60-79 anos foi a mais acometida por este tipo de neoplasia, o que vai de acordo com a literatura internacional, na qual prevalências semelhantes são encontradas (9,10). Quanto ao sexo, o CCR se apresentou cerca de duas vezes mais comum em homens do que em mulheres, em concordância com estudos epidemiológicos de câncer (10,11).

No que tange ao tabagismo, em uma meta-análise publicada em 2016, o uso de tabaco foi associado com uma maior incidência e mortalidade de CCR (12). Na amostra do presente estudo 31,7% dos pacientes afirmava tabagismo, enquanto 8,3% se declarava ex-tabagista, porém, nenhuma análise foi realizada buscando comparar a incidência e a mortalidade. As condições clínicas “hipertensão arterial sistêmica” e “IMC>30”, tidas como fatores de risco estabelecidos para CCR (13,14), foram encontradas, respectivamente, em 56,4% e 32,0% dos

pacientes. Devido a escassez de dados nacionais da prevalência de tais condições em pacientes portadores deste tipo de neoplasia, sugere-se que mais estudos sejam feitos abordando tais aspectos.

Com relação à clínica apresentada por pacientes portadores de CCR, a literatura apresenta sinais clássicos de pacientes portadores de CCR, dentre os quais se incluem: dor em flanco, hematúria e massa abdominal. Contudo, em poucos pacientes esses sinais estão presentes (9%) , e, nos últimos anos, o diagnóstico incidental por meio de exames de imagem tem aumentado (1,15). Na amostra estudada, observa-se o caráter assintomático da doença em cerca de um quarto dos casos, e que, dor lombar isolada ou em associação com demais sinais e sintomas foi o achado clínico mais prevalente entre os pacientes da amostra. Além disso, a hematúria foi um achado clínico que esteve presente em aproximadamente 10% da amostra, contudo, houve limitação quanto à disponibilidade nos prontuários da descrição de demais sinais constituintes da tríade clássica do CCR.

O subtipo histológico mais frequente foi o de células claras, compreendendo 89,1% da amostra, seguido do subtipo papilar (4,9%) e cromóforo (3,6%). Quanto ao Grau nuclear de Fuhrman, o grau II se mostrou o mais prevalente entre os pacientes da amostra. Tanto o subtipo histológico CRCC quanto os graus nucleares mais avançados são considerados preditores de pior prognóstico nesses pacientes (10,16,17).

A respeito do tamanho do tumor primário “T”, no presente estudo foi observado um predomínio de tumores menores de 7cm (57,2%), enquanto em outros estudos a prevalência do tamanho menor que 7cm foi de aproximadamente 40% (18,19). O tamanho do tumor é parte do sistema TNM de estadiamento e permanece importante para o prognóstico, assim como o “N” e o “M”, que no vigente estudo tiveram prevalências de maiores para N0 (86,9%) e M0 (93,0%). Pacientes que apresentam tumores maiores, metástases para linfonodos locais e metástases à distância tem piores prognósticos e taxas de sobrevida bem menores daqueles que apresentam um TNM inferior.

Para além do sistema TNM de estadiamento, observa-se um crescente interesse em novos marcadores de prognóstico, visto que uma característica marcante dos CCRs é a elevada mortalidade pela doença, com taxas de sobrevivência constantes nos últimos anos (4,20). Somado a isso, proteínas como a PD-L1 podem ser utilizadas como alvos terapêuticos assim como marcadores prognósticos. Nesse sentido, no presente estudo buscou-se identificar alguma associação da expressão da proteína PD-L1 com componentes do prognóstico dos CCRs (TNM), assim como verificar sua possível relação com a sobrevida e óbito de pacientes portadores desta doença.

Ao estabelecer-se o teste de Qui-quadrado buscando comparar presença de PD-L1 com o estadiamento clínico do tumor (TNM), foi possível observar que os casos positivos para PD-L1 estiveram presentes nos estadios I, II e IV em igual proporção (1,6%), e no estadio III na porcentagem de 3,1%, não apresentando significância estatística neste caso ( $p > 0,05$ ). Comparando a presença de PD-L1 com os óbitos por câncer, foi possível perceber que 6% dos pacientes com positividade para PD-L1 tiveram óbito por câncer confirmado, enquanto apenas 1,5% dos casos positivos a causa do óbito foi outra que não em razão do carcinoma. Contudo, vale ressaltar que tais resultados com a ausência de significância estatística podem ter se dado em razão da amostragem de pacientes com PD-L1 positivo ser muito baixa, emergindo a necessidade de estudos que consigam abranger uma amostra maior com positividade desta proteína, para que se tenha uma observação adequada de suas potencialidades.

No que tange ao primeiro tratamento recebido no hospital, todos os casos positivados para PD-L1 receberam tratamento cirúrgico ( $p > 0,05$ ). Cabe ressaltar que a ideia inicial dos autores era procurar relação entre a positividade da proteína estudada e principalmente os resultados de tratamentos com imunoterapia nestes pacientes. Este estudo não foi possível pois do total da amostra analisada, apenas 4 pacientes foram submetidos ao tratamento imunoterápico, porém estes não se encaixavam nos critérios de inclusão para a análise Imuno-histoquímica realizada. Desse modo, com os dados obtidos para esta amostra, fica possível observar que o tratamento inicial de escolha é a nefrectomia, seja ela parcial (na tentativa de preservação de parte do parênquima renal) ou radical (extração completa do rim) (21,22). Além disso, se infere que a razão do alto número de nefrectomias nesta amostra é a prevalência superior de casos com estadiamento I do TNM, com doença limitada ao rim, sendo assim, a nefrectomia é considerada um tratamento curativo.

Ao realizar o teste de Qui-quadrado buscando comparar a positividade da proteína PD-L1 com os óbitos dos pacientes da mostra, pode-se perceber que 6,0% dos pacientes que tiveram seu óbito confirmado possuíam positividade para PD-L1, enquanto em 1,5% dos pacientes com positividade o óbito não pode ser confirmado. Nesse sentido, observou-se associação entre mortalidade e positividade de PD-L1 ( $p < 0,05$ ). Em estudos similares onde a expressão de PD-L1 era avaliada e relacionada com o desfecho do paciente com CCRs, resultados semelhantes foram obtidos, onde a mortalidade geral e específica por câncer eram observadas nesses pacientes (23,24).

Além disso, ao estabelecer-se o teste com as variáveis PD-L1 e sobrevida dos pacientes, pode-se constatar que 15% dos pacientes tiveram uma sobrevida menor de 12 meses com PD-L1 positivo, enquanto apenas 5% dos pacientes com a positividade confirmada teve uma

sobrevida maior de 12 meses. Em contrapartida, os pacientes que obtiveram resultado negativo no teste de PD-L1 (65% dos pacientes), tenderam a ter uma sobrevida maior, ultrapassando os 12 meses ( $p < 0,05$ ). Essa observação já foi constatada também em demais estudos abrangendo CCRs com positividade para PD-L1 (4,8,23–25), o que pode indicar o importante papel desempenhado por essa proteína na resposta imune específica contra os tumores, determinando uma maior agressividade e uma sobrevida mais breve.

Ademais, não somente o PD-L1 tem sido estudado como marcador prognóstico no CCR, incluindo aqui diversas proteínas e achados como promissores, dentre os quais pode-se citar a survivina, anidrase carbônica IX, Fator 1 alfa induzido por hipóxia (25–28). Nessa perspectiva, buscar compreender os mecanismos de funcionamento da resposta imune contra o tumor e sua relação com demais marcadores e em especial o PD-L1 pode proporcionar uma maior excelência e acurácia na definição do prognóstico individual de cada paciente, melhorando assim a terapia direcionada a cada caso e o consequente desfecho dos pacientes.

Por fim, em relação às limitações do estudo, é válido ressaltar que a utilização de dados de prontuários pode não refletir de maneira fidedigna a realidade, uma vez que diversas informações podem se encontrar ocultadas/não descritas ou ainda incorretamente registradas. Também é possível que tenha ocorrido um viés de informação no que se diz a respeito dos sinais e sintomas dos pacientes na admissão, de modo que a dor lombar observada na maioria dos pacientes, como tem prevalência elevada por outras razões, pode ter se apresentado como sintoma de uma comorbidade associada e não ligada ao CCR. Além disso, este estudo teve uma limitação numérica nos casos de positividade para PD-L1, o que pode ter ocorrido tanto pela real característica dos CCRs da amostra quanto pela qualidade e preservação comprometida do material.

## CONCLUSÕES

Os achados de condições sociodemográficas, assim como os achados clínicos, histológicos e patológicos de pacientes com diagnóstico confirmado de CCR, foram consistentes com os resultados da literatura. Além disso, é possível concluir também, que na amostra estudada, a expressão da proteína PD-L1 foi significativamente associada à mortalidade mais precoce em pacientes portadores de CCR ( $p < 0,05$ ). Nesse sentido, em adição a indicadores prognósticos bem consolidados, como o TNM e o Grau de Fuhrman, o PD-L1 tem potencial para ser utilizado como marcador prognóstico em CCRs. À vista disso mais estudos devem ser realizados com o objetivo de identificar e consolidar o potencial de marcador prognóstico e alvo terapêutico do PD-L1.

## REFERÊNCIAS

1. Muglia VF, Prando A. Carcinoma de células renais: classificação histológica e correlação com métodos de imagem\*. *Radiol Bras.* junho de 2015;48:166–74.
2. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes Da Silva (INCA). Ministério da Saúde amplia tratamento para câncer renal [Internet]. INCA - Instituto Nacional de Câncer. 2019 [citado 22 de junho de 2021]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/noticias/ministerio-da-saude-amplia-tratamento-para-cancer-renal>
3. Krambeck AE, Dong H, Thompson RH, Kuntz SM, Lohse CM, Leibovich BC, et al. Survivin and b7-h1 are collaborative predictors of survival and represent potential therapeutic targets for patients with renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 de março de 2007;13(6):1749–56.
4. Freitas AMS de, Hartmann AA, Freitas TA de. Renal tumors: evaluation of prognostic factors in 98 cases from a reference hospital in Porto Alegre, Brazil. *J Bras Patol E Med Lab.* fevereiro de 2014;50:57–63.
5. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* outubro de 1982;6(7):655–63.
6. TNM Classification of Malignant Tumours. 8<sup>o</sup> ed. Wiley-Blackwell; 2016. 272 p.
7. Farina MS, Lundgren KT, Bellmunt J. Immunotherapy in Urothelial Cancer: Recent Results and Future Perspectives. *Drugs.* julho de 2017;77(10):1077–89.
8. Yamashita K, Iwatsuki M, Harada K, Eto K, Hiyoshi Y, Ishimoto T, et al. Prognostic impacts of the combined positive score and the tumor proportion score for programmed death ligand-1 expression by double immunohistochemical staining in patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer Off J Int Gastric Cancer Assoc Jpn Gastric Cancer Assoc.* janeiro de 2020;23(1):95–104.
9. Thompson RH, Ordonez MA, Iasonos A, Secin FP, Guillonneau B, Russo P, et al. Renal cell carcinoma in young and old patients--is there a difference? *J Urol.* outubro de 2008;180(4):1262–6; discussion 1266.
10. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin.* janeiro de 2021;71(1):7–33.
11. Cancer today [Internet]. [citado 22 de junho de 2021]. Disponível em: <http://gco.iarc.fr/today/home>
12. Cumberbatch MG, Rota M, Catto JWF, La Vecchia C. The Role of Tobacco Smoke in Bladder and Kidney Carcinogenesis: A Comparison of Exposures and Meta-analysis of Incidence and Mortality Risks. *Eur Urol.* 1<sup>o</sup> de setembro de 2016;70(3):458–66.
13. Hidayat K, Du X, Zou S-Y, Shi B-M. Blood pressure and kidney cancer risk: meta-analysis of prospective studies. *J Hypertens.* julho de 2017;35(7):1333–44.

14. Adams KF, Leitzmann MF, Albanes D, Kipnis V, Moore SC, Schatzkin A, et al. Body size and renal cell cancer incidence in a large US cohort study. *Am J Epidemiol*. 1º de agosto de 2008;168(3):268–77.
15. Tomas G, Asgeir T, Vigdis P, Sverrir H, Jonas M, Gudmundur V E. Effect of incidental detection for survival of patients with renal cell carcinoma: results of population-based study of 701 patients. *Urology* [Internet]. dezembro de 2005 [citado 22 de junho de 2021];66(6). Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16360438/>
16. Patard J-J, Leray E, Rioux-Leclercq N, Cindolo L, Ficarra V, Zisman A, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 de abril de 2005;23(12):2763–71.
17. Gurgel MVSA, Alves J, Vieira GBF, Sales F de CD, Lima MVA. Preditores de mortalidade em pacientes submetidos à nefrectomia por carcinoma de células renais não metastático em um centro de referência no Nordeste Brasileiro. *Rev Colégio Bras Cir*. junho de 2017;44:257–62.
18. Ornellas A, Andrade D, Ornellas P, Wisnescky A, Schwindt A. Prognostic factors in renal cell carcinoma: analysis of 227 patients treated at the Brazilian National Cancer Institute. *Int Braz J Urol Off J Braz Soc Urol*. 1º de março de 2012;38:185–94.
19. Parker AS, Kosari F, Lohse CM, Houston Thompson R, Kwon ED, Murphy L, et al. High expression levels of survivin protein independently predict a poor outcome for patients who undergo surgery for clear cell renal cell carcinoma. *Cancer*. 1º de julho de 2006;107(1):37–45.
20. Dall'Oglio M, Srougi M, Ortiz V, Nesrallah L, Gonçalves PD, Leite KM, et al. Carcinoma de células renais incidentais e sintomáticos: fatores patológicos e sobrevida. *Rev Assoc Médica Bras*. 2004;50:27–31.
21. Van Poppel H, Da Pozzo L, Albrecht W, Matveev V, Bono A, Borkowski A, et al. A prospective, randomised EORTC intergroup phase 3 study comparing the oncologic outcome of elective nephron-sparing surgery and radical nephrectomy for low-stage renal cell carcinoma. *Eur Urol*. abril de 2011;59(4):543–52.
22. Colombo JR, Haber G-P, Jelovsek JE, Lane B, Novick AC, Gill IS. Seven years after laparoscopic radical nephrectomy: oncologic and renal functional outcomes. *Urology*. junho de 2008;71(6):1149–54.
23. Thompson RH, Kwon ED. Significance of B7-H1 overexpression in kidney cancer. *Clin Genitourin Cancer*. dezembro de 2006;5(3):206–11.
24. Thompson RH, Kuntz SM, Leibovich BC, Dong H, Lohse CM, Webster WS, et al. Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up. *Cancer Res*. 1º de abril de 2006;66(7):3381–5.
25. Kosari F, Parker AS, Kube DM, Lohse CM, Leibovich BC, Blute ML, et al. Clear cell renal cell carcinoma: gene expression analyses identify a potential signature for tumor aggressiveness. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 de julho de 2005;11(14):5128–39.

26. Klatte T, Seligson DB, Riggs SB, Leppert JT, Berkman MK, Kleid MD, et al. Hypoxia-inducible factor 1 alpha in clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 de dezembro de 2007;13(24):7388–93.
27. Gordan JD, Lal P, Dondeti VR, Letrero R, Parekh KN, Oquendo CE, et al. HIF-alpha effects on c-Myc distinguish two subtypes of sporadic VHL-deficient clear cell renal carcinoma. *Cancer Cell*. 9 de dezembro de 2008;14(6):435–46.
28. Jiang Z, Chu PG, Woda BA, Rock KL, Liu Q, Hsieh C-C, et al. Analysis of RNA-binding protein IMP3 to predict metastasis and prognosis of renal-cell carcinoma: a retrospective study. *Lancet Oncol*. julho de 2006;7(7):556–64.

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a expressão da proteína PD-L1 em CCRs e relacioná-la com dados obtidos em prontuário. Ao finalizar o projeto, é possível observar que, mesmo com algumas pequenas alterações na metodologia e perdas de dados devido a ausência de informações nos prontuários, o objetivo principal foi alcançado. Nesse sentido as observações feitas a partir deste estudo podem ajudar a futuramente desenvolver uma melhor acurácia no prognóstico do CCR. Observar e definir fatores prognósticos possibilita contribuir para uma melhor definição e aperfeiçoamento no tratamento desses pacientes, influenciando assim no desfecho desses pacientes.

## 5 ANEXOS

ANEXO 1 – Normas do Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.

### 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.

### 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 CONFLITO DE INTERESSES

De acordo com as diretrizes elaboradas pelo International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), atualizada em 2013, a autoria deve ser validada para: a) concepção e projeto do trabalho ou aquisição, análise e interpretação dos dados; b) redação inicial do artigo ou revisão crítica do seu conteúdo; c) aprovação final da versão para publicação; d) responsabilidade para todos os aspectos do trabalho, garantindo que questões relacionadas 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 DO TEXTO

### 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.

#### Cartas aos editores

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

#### REFERÊNCIAS

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

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

#### ABREVIACÕES E NOMES DE MEDICAMENTOS

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

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