

**AVALIAÇÃO CLÍNICO-HISTOLÓGICA DA
EXPRESSÃO DE MARCADORES
IMUNOISTOQUÍMICOS NAS HIPERPLASIAS E
NEOPLASIAS DE GLÂNDULAS PARATIREÓIDE PARA
A IDENTIFICAÇÃO DE PACIENTES COM CARCINOMA
DE PARATIREÓIDE**

JOILMA RODRIGUES DE LIMA

**Dissertação apresentada à Fundação Antônio
Prudente para a obtenção do título de Mestre
em Ciências**

Área de Concentração: Oncologia

**Orientador: Dr. José Guilherme Vartanian
Co-Orientador: Dr. Clóvis Antônio Lopes
Pinto**

São Paulo

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Lima, Joilma Rodrigues de

Avaliação clínico-histológica da expressão de marcadores imunoistoquímicos nas hiperplasias e neoplasias de glândulas paratireóide para a identificação de pacientes com carcinoma de paratireóide /Joilma Rodrigues de Lima– São Paulo, 2012.

57p.

Dissertação (Mestrado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: José Guilherme Vartanian

Descritores: 1. GLÂNDULAS PARATIREÓIDES. 2. CARCINOMA. 3. IMUNOISTOQUÍMICA. 4. HIPERPLASIA. 5. MARCADORES BIOLÓGICOS. 6. GALECTINA.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **João e Jandira**, pelo amor e dedicação a nossa formação como ser humano, incentivo ao estudo e apoio incondicional.

Aos meus irmãos, **Joedla, Joildo César, Jeanne**, pela amizade e amor que nos une.

Ao meu esposo **Eloi**, estimulador do meu crescimento pessoal, adjuvante nas minhas grandes conquistas.

A minha irmã **Jéssica** e meus sobrinhos **Júlio César, Hestevão, Juliana, Heloísa e João Pedro** pela alegria e capacidade de modificar o mundo próprio da juventude.

As minhas filhas **Gabriela e Alice** razão das nossas escolhas e de nos tornarmos melhores.

A minha sogra, **Maria das Graças**, pelo admirável exemplo de mãe e avó.

Ao **Hospital A.C.Camargo e seus Pacientes**, responsáveis pelo sucesso deste projeto.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. José Guilherme Vartanian, Titular do Departamento de Cabeça e Pescoço, meu orientador, pela sua dedicação, pela confiança, participação, e seu exemplo.

Ao Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski, Diretor do Departamento de Cirurgia Cabeça e pescoço Hospital A.C.Camargo, incentivador e formador de conhecimento.

Ao Dr. Clóvis Antônio Lopes Pinto, meu co-orientador, do Departamento de Anatomia Patológica, pela eficiência, dedicação, disponibilidade e entusiasmo neste trabalho.

A Sra. Suely Francisco, bibliotecária do Hospital do Câncer, pela revisão desta tese além da presteza, experiência e profissionalismo.

A Sra Ana Maria Kuninari pela presença vigilante e carinhosa, indispensáveis para realização deste trabalho.

A todos os funcionários da biblioteca e Pós Graduação da Fundação Antônio Prudente, pela presença constante, eficiência e disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

Aos funcionários Serviço de Arquivo Médico e Estatístico (SAME), pela colaboração, dedicação e ajuda no levantamento dos prontuários.

Aos funcionários do arquivo da anatomia patológica pela presteza e bom humor ao nos disponibilizar as lâminas e blocos.

A José Ivanildo Neves, funcionário do Departamento de Anatomia Patológica, pela solicitude e rapidez em atender-nos. Sempre com cordialidade e carinho.

A Srta Júlia, do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, pela ajuda nas atividades diárias e constante apoio.

A Srta Ana Lúcia Nóbrega Francisco, pela amizade, companheirismo, incentivo, orientações e ensinamentos que foram decisivos para conclusão deste trabalho e pelo incontestável exemplo de dedicação.

Ao Dr. Mauro Kasuo Ikeda, médico titular do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, pelas orientações e ensinamentos que me ajudam na vida e neste trabalho. Principalmente por sua especial amizade.

Ao Dr. José Magrin, médico titular do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, incentivador deste trabalho, pelo exemplo profissional e de vida.

Ao Dr. Márcio Carlos Machado, médico titular do serviço de Endocrinologia, Amigo e colaborador, sempre presente e disposto a ajudar.

Ao Dr. Felipe Hening Gaia Duarte, médico titular do serviço de Endocrinologia, pelo carisma marcante em nossa convivência e pela. Amizade.

Ao Dr. Genival, médico titular do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, por sua colaboração, amizade e companheirismo nas nossas tarefas.

Aos companheiros do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, pela amizade, confiança e apoio diários.

Aos inúmeros residentes, amigos e colegas de trabalhos que de várias formas, estão presentes no dia-a-dia, pelo apoio e amizade, indispensáveis para as tarefas diárias e a realização deste trabalho.

RESUMO

Lima JR. **Avaliação clínico-histológica da expressão de marcadores imunoistoquímicos nas hiperplasias e neoplasias de glândulas paratireóide para a identificação de pacientes com carcinoma de paratireóide.** São Paulo; 2012. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

O carcinoma de paratireóide é o tipo menos comum de câncer de origem endócrina e corresponde a menos de 0,005% dos cânceres humanos. O diagnóstico histopatológico diferenciando de outras condições como o adenoma e a hiperplasia de paratireóide é difícil sendo o carcinoma de paratireóide por vezes diagnosticado inequivocamente através da documentação de metástases à distância. Assim, novas estratégias e ferramentas que auxiliem nesse diagnóstico diferencial são de relevância clínica. Este estudo teve como objetivo identificar marcadores imunohistoquímicos diferencialmente expressos em pacientes portadores de carcinoma, adenoma e hiperplasia de paratireóide tratados no Hospital A.C. Camargo em comparação com tecido de paratireóide normal, estabelecendo marcadores que se associem ao fenótipo maligno. A casuística foi composta por sete pacientes portadores de carcinoma de paratireóide, vinte casos com os diagnósticos de adenoma, dois adenomas atípicos e cinco hiperplasias de paratireóide, além de tecido de duas glândulas normais. Todos os pacientes foram submetidos à tratamento cirúrgico no Hospital A.C. Camargo no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2011. Os marcadores imunohistoquímicos utilizados foram: Ki-67, p27, galectina-3, p53, VEGF, Claudina 7, e-caderina, metaloproteinase 2 e 9. A expressão do Ki67, VEGF, Claudina 7, e caderina, metaloproteinase 2 e 9 não diferiu entre os grupos nas nossas amostras. A proteína p53 não foi expressa em nenhum adenoma. A proteína p27 teve expressão >10% em 11 das 19 amostras de adenomas analisadas. A expressão de galectina-3 foi significativamente maior no grupo dos carcinomas em relação as demais

histologias ($p= 0,027$). Apesar do número reduzido da amostra, foi evidenciado uma expressão diferenciada de galectina-3 em pacientes com carcinoma de paratireoide, o que sugere que a galectina-3 pode ser um marcador útil no diagnóstico desta rara neoplasia.

SUMMARY

Lima JR. **[Clinical and histological evaluations of the expression immunohistochemical markers in the hyperplasias and neoplasm of the parathyroids glands to identification of the parathyroid carcinoma]**. São Paulo; 2012. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

The parathyroid carcinoma is the less common type of cancer from endocrine origin, and it corresponds to less than 0.005% of human cancers. The pathological diagnosis differentiating from other conditions such as parathyroid adenoma and hyperplasia is difficult, in which parathyroid carcinoma could be often unequivocally diagnosed by documenting distant metastases. Thus, new strategies and tools that aid in differential diagnosis are of clinical relevance. This study aimed to identify differentially expressed immunohistochemical markers in patients with carcinoma, parathyroid adenoma and hyperplasia treated at Hospital A.C. Camargo compared to normal parathyroid tissue, providing markers which could be associated with the malignant phenotype. This series consisted of seven patients with parathyroid carcinoma, twenty cases with a diagnosis of adenoma, two with atypical adenomas and five parathyroid hyperplasia, and tissue from two normal glands. All patients underwent surgical treatment at Hospital A.C. Camargo from January 2000 to December 2011. Immunohistochemical markers used were: Ki-67, p27, galectin-3, p53, VEGF, Claudin 7, E-cadherin, metalloproteinase 2 and 9. The expression of Ki67, VEGF, Claudin 7, E-cadherin, metalloproteinase 2 and 9 did not differ between the groups in our samples. The p53 protein was not expressed in any adenoma. The p27 protein expression was > 10% in 11 of 19 adenomas analyzed samples. The expression of galectin-3 was significantly higher in the group of carcinomas compared with other histologies ($p = 0.027$). Despite the small sample size, it was evident a differential expression of galectin-3 in patients with parathyroid carcinoma, which suggests that galectin-3 can be a useful marker in diagnosis of this rare tumor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fotomicrografia de corte histológico corado por hematoxilina-eosina de paratireóide normal (40x).....	3
Figura 2	Fotomicrografia de paratireóide normal HE (200x).....	4
Figura 3	Campo cirúrgico de paratireoidectomia. Mostrando glândula tireóide tracionada medialmente e paratireóide à direita.....	10
Figura 4	Glândula paratireóide ressecada.....	10
Figura 5	Fotomicrografia de adenoma de paratireóide HE (20x).....	20
Figura 6	Fotomicrografia de adenoma de paratireóide variante folicular HE (200x).....	21
Figura 7	Fotomicrografia de adenoma atípico de paratireóide HE (400x).	21
Figura 8	Fotomicrografia de hiperplasia da paratireóide (HE 20x).....	22
Figura 9	Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide HE (40x).....	23
Figura 10	Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide HE (200x).....	23
Figura 11	Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide, área rica em traves fibrosas HE (40x).....	24
Figura 12	Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide com infiltração da cápsula tumoral HE (40x).....	24
Figura 13	Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide com formação de trombo tumoral HE (200x).....	25

Figura 14	Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide com invasão vascular, endotélio corado com CD31 (100x).....	25
Figura 15	Fotomicrografia da expressão do anticorpo para E-caderina na membrana celular(400x).....	28
Figura 16	Fotomicrografia da expressão do anticorpo para claudina-7 na membrana e citoplasma celulares(400x).....	28
Figura 17	Fotomicrografia da expressão do anticorpo para galectina-3 no citoplasma da célula (400x).....	29
Figura 18	Fotomicrografia da expressão do anticorpo para metaloproteinase 2 no citoplasma da célula (200x).....	29
Figura 19	Fotomicrografia da expressão do anticorpo para Ki67 no núcleo (200x).....	30
Figura 20	Fotomicrografia da expressão do anticorpo para p27 no núcleo (400x).....	30
Figura 21	Fotomicrografia da expressão do anticorpo para TP53 no núcleo (400x).....	31
Figura 22	Casos de carcinoma de paratireóides tratados no H. do Câncer A.C.Camargo.....	34
Figura 23	Média do tamanho dos nódulos de paratireóide no tecido normal, hiperplasia, adenoma e carcinoma de paratireoide.....	36
Figura 24	Comparação da expressão de galectina-3 nas amostras de tecido normal, adenoma, adenoma atípico, hiperplasia e carcinoma da paratireóide.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Descrição do grupo estudado.....	19
Tabela 2	Varição da idade dos pacientes nos pacientes com carcinoma, adenoma e hiperplasia de paratireóide.....	34
Tabela 3	Manifestações clínicas mais relatadas pelos pacientes com carcinoma da paratireóide.....	35
Tabela 4	Níveis de cálcio (mg/dL) e PTH (pg/ml) nos pacientes com carcinoma, adenoma e hiperplasia da paratireóide.....	35
Tabela 5	Avaliação do tamanho dos tumores de paratireóide.....	36
Tabela 6	Resultados da imunohistoquímica nas amostras de carcinomas, adenomas, hiperplasias e tecido normal da paratireóide.....	38
Tabela 7	Comparação das médias dos valores de PTH, cálcio e tamanho dos nódulos com a expressão de Galectina-3.....	40
Tabela 8	Expressão da proteína p27 no tecido normal e tumores de paratireóide.....	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Levantamento de séries de carcinoma de paratireóide na literatura.....	6
Quadro 2	Classificação de risco Talat e Schulte.....	8
Quadro 3	Preparo das amostras.....	26
Quadro 4	Descrição anticorpos utilizados.....	27
Quadro 5	Dados demográficos e cirúrgicos dos pacientes com carcinoma de paratireóide.....	37
Quadro 6	Dados histológicos dos pacientes com carcinoma da paratireóide.....	37
Quadro 7	Classificação histológica e de risco dos pacientes com carcinoma de paratireóide segundo esquema desenvolvido por (SCHULTE et al. 2012).....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

Claud 7	claudina 7
CP	carcinoma de Paratireóide
EC	esvaziamento cervical
Gal 3	galectina 3
H	Hospital
HE	Hematoxilina-eosina
HPP	Hiperparatireoidismo Primário
MMP2	metaloproteinase 2
MMP9	metaloproteinase 9
NEM	neoplasia endócrina múltipla
OMS	Organização Mundial da Saúde
PT	paratireoidectomia parcial
PTH	parathormônio
TP	tireoidectomia parcial
TT	tireoidectomia total

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	2
1.1	Referencial Teórico	2
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	METODOLOGIA	18
3.1	Casuística.....	18
3.2	Histologia.....	19
3.3	Imunohistoquímica	26
4	RESULTADOS.....	34
5	DISCUSSÃO	43
6	CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

ANEXOS

Anexo 1 Ficha de avaliação clínico-epidemiológica

Anexo 2 Carta de aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa (CEP)

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O diagnóstico do carcinoma de paratireóide, tumor raro que geralmente tem comportamento agressivo, é feito na maioria dos pacientes já com doença avançada. Apresentando invasão dos tecidos adjacentes ou metástases, este quadro interfere negativamente no prognóstico dos pacientes acometidos por este câncer.

Devido à escassez de grandes séries na literatura, mesmo casuísticas pequenas podem ser importantes para aprimorar o conhecimento desta doença, permitindo que no futuro se desenvolvam novas abordagens diagnósticas e terapêuticas nos casos de carcinomas de paratireóide.

Espera-se que os estudos imunohistoquímicos para definição de marcadores moleculares possibilitem o aprimoramento do diagnóstico, rastreamento de indivíduos de maior risco e estabelecimento de novas alternativas terapêuticas para os pacientes com carcinoma de paratireóide.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

As glândulas paratireóides em 87% dos indivíduos são em número de quatro, localizadas na região cervical, posteriormente a glândula tireóide. No adulto, cada uma mede de 4 a 6 mm e pesa em torno de 40 mg (JUNQUEIRA e CARNEIRO 2004). Em condições patológicas, encontram-se frequentemente em tamanho maior.

As paratireóides são constituídas por células epiteliais. Duas células representam o componente epitelial da glândula: uma célula principal com citoplasma claro e as células oxifílicas com citoplasma granular, ambas produtoras do hormônio paratormônio (PTH). No estroma, as células são principalmente constituídas pelos adipócitos (JUNQUEIRA e CARNEIRO 2004) (Figuras 1-2)

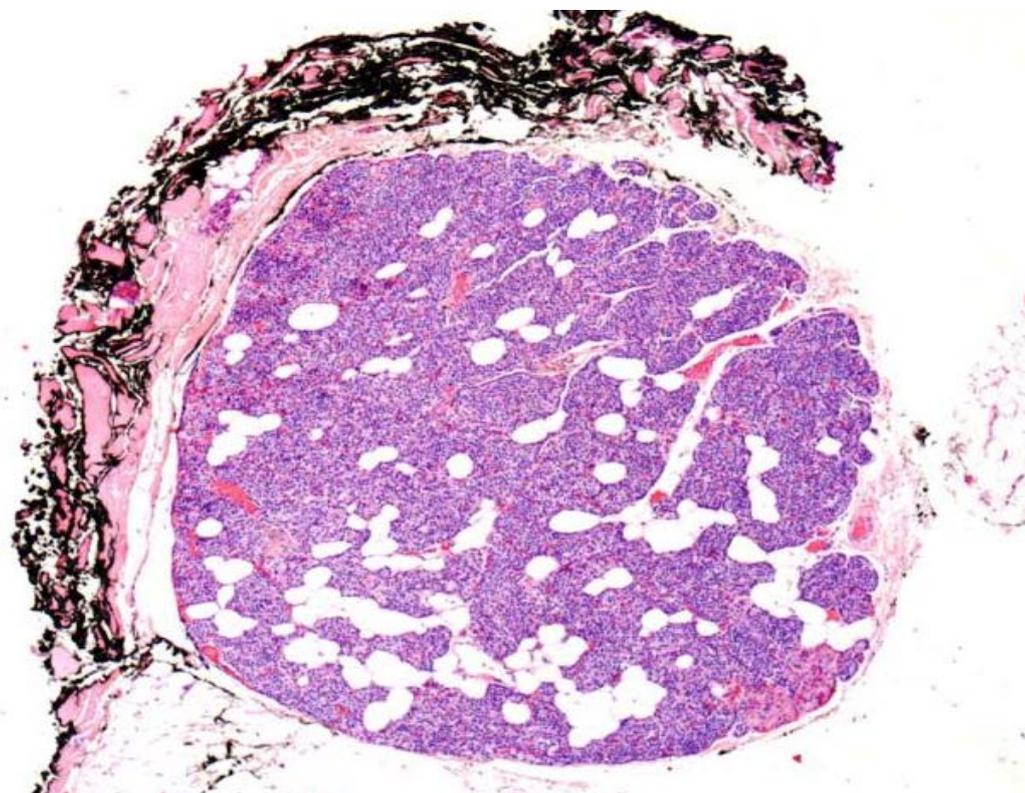


Figura 1 - Fotomicrografia de corte histológico corado por hematoxilina-eosina de paratireóide normal (40x).

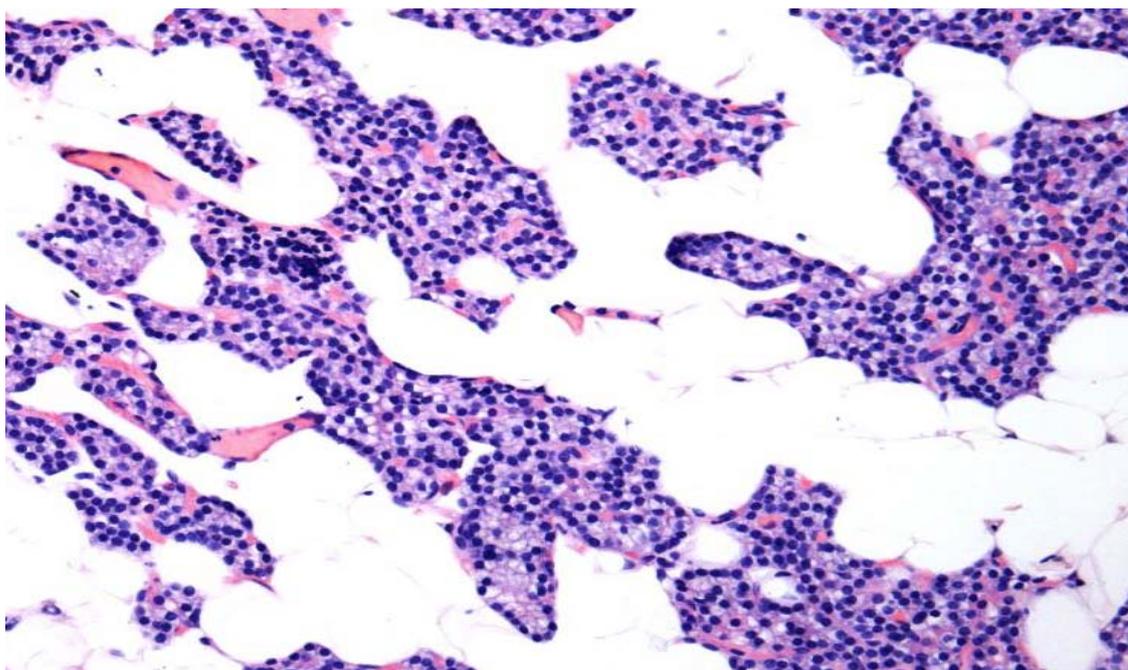


Figura 2 - Fotomicrografia de paratireóide normal HE (200x).

A principal função do PTH é a manutenção da concentração sérica normal do cálcio, em torno de 8,5 a 10 mg/dL (VIEIRA et al. 2005).

Condições anormais podem levar a um aumento das concentrações do PTH, condições estas denominadas de hiperparatireoidismo. De acordo com o fator desencadeante, o hiperparatireoidismo pode ser dividido em primário (doença localizada na glândula paratireóide), secundário como na deficiência da vitamina D ou terciário como na insuficiência renal.

O hiperparatireoidismo primário (HPP) é uma das endocrinopatias mais freqüentes e a causa mais comum de hipercalcemia em pacientes ambulatoriais, com uma prevalência de 42 casos em cada 100.000 habitantes (SHIOTA et al. 1997). A causa mais freqüente de hipercalcemia em pacientes internados é a hipercalcemia humoral maligna (SHIOTA et al. 1997).

O hiperparatireoidismo primário na maioria das vezes apresenta-se de forma isolada, manifestado através de adenoma produtor de PTH esporádico. Entretanto, pode fazer parte dos tumores que compõe as Neoplasias Endócrinas Múltiplas (NEM): NEM Tipo 1 (hiperparatireoidismo devido geralmente a hiperplasia de paratireóides, adenomas hipofisários e tumores pancreáticos, entre outros) com alterações descritas no gene MEN1 e NEM Tipo 2 (carcinoma medular de tireóide, feocromocitoma e hiperparatireoidismo) com alterações no oncogene RET (VIEIRA et al. 2005; MONTENEGRO et al. 2006). Há ocorrência de tumores de paratireóide na Síndrome de Hiperparatireoidismo e tumores de mandíbula (fibromas ossificantes de mandíbula e maxila, tumores uterinos, anormalidades renais incluindo Tumor de Wilms, doença policística) o gene acometido é o HRPT2, ocorrendo carcinoma de paratireóide em 15% destes pacientes (BRADLEY et al. 2006).

Uma causa rara de hiperparatireoidismo primário é o carcinoma de paratireóide (CP) 0,4 a 1% e com casuística no Japão que chega a 5% dos casos de HPP (OBARA e FUJIMOTO 1991). É o tipo menos comum de câncer de origem endócrina e corresponde a menos de 0,005% dos cânceres humanos (BUSALDY et al. 2004), tendo prevalência semelhante entre os sexos masculino e feminino diferentemente do HPP que é de 4:1 (sexo feminino:masculino) (VIEIRA et al. 2005). O Quadro1 sumariza a descrição de casos da literatura de carcinoma de paratireóide.

Quadro 1 - Levantamento de séries de carcinoma de paratireóide na literatura.

Autor, ano, local	Nº de pacientes	Sexo M/F
Schantz e Castleman 1973, Havard Med School	70	34/36
Wynne et al. 1992, Mayo Clinic	43	21/22
Hakain et al. 1993, Cleveland Clinic	07	04/03
Kebebew et al. 2001, UCSF	18	13/05
Busardy et al. 2004, MD Anderson	27	16/11
Kurkby-Bott et al. 2004	07	05/02
Montenegro et al. 2006, HC/FMUSP	04	02/02
Vieira et al. 2005, UNIFESP	07	01/06
Ranvier et al. 2007, California University	28	19/09
Enamoto et al. 2010, Noguchi Thyroid Clin Japan	12	05/07
Erovic et al. 2012, The Pricess Margaret Hospital	16	06/10
Harari et al. 2011, California University	37	23/14

Classicamente, o hiperparatireoidismo primário apresenta-se com hipercalcemia e suas manifestações clínicas decorrentes. No entanto, tem crescido o número de pacientes assintomáticos ao diagnóstico de hiperparatireoidismo primário (BILEZIKIAN et al. 2002) fazendo-se supor que a real prevalência desta condição esteja subestimada. Por outro lado, esta apresentação clínica assintomática geralmente não é verificada nos pacientes acometidos pelo carcinoma de paratireóide. No diagnóstico podem apresentar hipercalcemia maior que 12 mg/dL, massa cervical palpável e firme, nefrocalcinose, nefrolitíase, osteoporose, úlcera péptica, fraqueza muscular entre outros achados (SCHANTZ e CASTLEMAN 1973).

Porém, apesar do quadro clínico comumente exuberante, os pacientes com carcinoma de paratireóide só terão o diagnóstico no intra-operatório se houver massa tumoral invadindo estruturas adjacentes (CLAYMAN et al. 2004). Assim, o diagnóstico é confirmado no período pós-

operatório, através do exame histopatológico revelando invasão vascular e/ou capsular, crescimento trabecular, alto índice mitótico, necrose e bandas fibrosas (DELELLIS 2005). Infelizmente, em outros casos o diagnóstico é somente confirmado após recidiva local ou pela documentação de metástase a distância, comprometendo a abordagem terapêutica e controle oncológico (ENAMOTO et al. 2010). Em 2004 a Organização Mundial da Saúde (OMS) fixou como critérios para diagnóstico histológico de carcinoma de paratireóide a invasão capsular, perineural ou vascular, ou a evidência de metástase (BONDENSON et al. 2004).

Além da raridade desta afecção, outro fator limitante para a identificação desta doença é a dificuldade no diagnóstico histopatológico. Isto porque a diferenciação com outras condições como o adenoma e a hiperplasia de paratireóide é difícil quando não há evidência de invasão dos órgãos vizinhos ou no exame histopatológico invasão vascular. Por vezes o diagnóstico somente é confirmado na recidiva da doença, quando não é detectada a invasão no exame histopatológico inicial (BUSALDY et al. 2004).

O sistema TNM usado para estadiamento do carcinoma de paratireóide define o T (tamanho do tumor) como Tx não informado, T1 tumor primário <3cm, T2 tumor primário >3 cm, T3 tumor primário de qualquer tamanho com invasão de tecidos vizinhos, T4 invasão massiva da traquéia ou esôfago ou recorrência local. O N (linfonodo), Nx não informado, N0 ausência de acometimento, N1 metástases linfáticas regionais. M (metástases), Mx não informado, M0 ausência e M1 presença de metástases a distância. Dividindo os tumores no Estadio I T1N0M0, Estadio

II T2N0M0, Estadio III a T3N0M0, TIIIb T4N0M0 e TIIIc qualquer T N1M0, EstadioIV qualquer T qualquer N e M1. Como esta classificação não leva em conta os achados histopatológicos de invasão vascular independentemente do tamanho do tumor (TALAT et al. 2010) propuseram uma classificação adaptando o T, baseado nas características histológicas e não no tamanho do tumor, para avaliação do risco de recidiva tumoral (Quadro2).

Quadro 2 - Classificação de risco Talat e Schulte.

Critérios de classificação Histológica
Diferenciação
T
Tx informação não disponível
T1 evidência de invasão capsular
T2 invasão de tecidos vizinhos sem comprometimento de órgãos vitais
T3 evidência de invasão vascular
T4 invasão de órgãos vitais
N
Nx linfonodo não avaliado
N0 sem metástases linfonodais
N1 com metástases linfonodais
M
Mx metástase à distância não avaliada
M0 sem evidência de metástase à distância
M1 com evidência de metástase à distância
Estadiamento
I T1 or T2 N0M0
II T3 N0 M0
III Qualquer T, N1 M0, or T4
IV Qualquer N, M1
Alto e Baixo risco
Baixo invasão de cápsula combinada com invasão de tecidos vizinhos
Alto invasão vascular e/ ou metástase linfonodal e/ou invasão de órgãos vitais e/ou metástases à distância

No hiperparatireoidismo primário o tratamento preconizado é a exérese apenas da paratireóide acometida, geralmente um adenoma (Figuras 3-4). Já no carcinoma de paratireóide, o tratamento proposto consiste na exérese cuidadosa em bloco do tumor com preservação da cápsula da paratireóide e todos os tecidos imediatamente envolvidos, com hemi-tireoidectomia ipsilateral (Figuras 3-4). Torna-se mandatória a exploração da cadeia linfonodal paratraqueal ipsilateral, com esvaziamento da mesma se houver evidência de doença metastática. O mesmo se aplica a cadeia jugular lateral ipsilateral quando a cadeia paratraqueal estiver envolvida. A ressecção tipo “shaving” ou exérese da traquéia e parede do esôfago podem ser realizadas se tais estruturas estiverem envolvidas. Quando no pré-operatório já existe paralisia da prega vocal o nervo laríngeo deve também ser removido (OWEN et al. 2011; WEI e HARRARIS 2012).

Adicionalmente, devido ao risco de progressão locorregional, há indicação de radioterapia adjuvante quando recorrência da doença ou invasão importante das estruturas vizinhas, sendo utilizado de 40-70 Gy (MUNSON et al. 2003; WEI e HARRARIS 2012). Metástases pulmonar e cerebral podem ocorrer com relativa frequência. A taxa de sobrevida no carcinoma de paratireóide varia de 45 a 86% em cinco anos de seguimento (MARCOCCI et al. 2008).

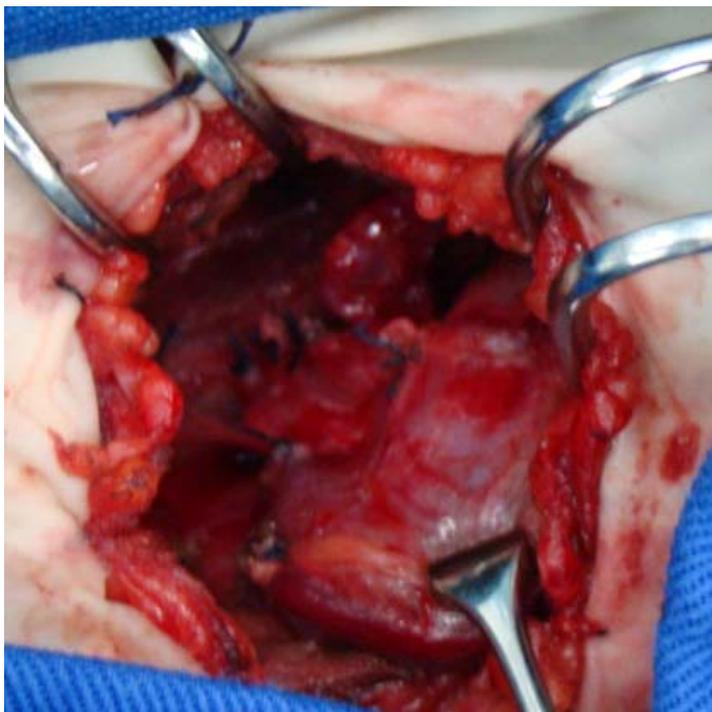


Figura 3 - Campo cirúrgico de paratireoidectomia. Mostrando glândula tireóide tracionada medialmente e paratireóide à direita.



Figura 4 - Glândula paratireóide ressecada.

A ocorrência de hipercalcemia é a maior morbidade a ser controlada quando não é possível o controle da doença cirurgicamente, por comprometimento local extenso ou metástases irrissecáveis. No tratamento da hipercalcemia tem se utilizado as medidas clínicas como hidratação, uso de diuréticos e corticosteróides. Associando-se o uso de bifosfonatos e calciomiméticos (MARCOCCI et al. 2008). Em especial o cinacalcet tem demonstrado ser uma importante terapia adjuvante para os casos de hiperparatiroxiose inoperáveis (SILVEBERG et al. 2007).

Devido à dificuldade para determinar precocemente a natureza maligna das lesões na glândula paratireóide, vários centros têm se dedicado a investigação de marcadores moleculares e de imunohistoquímica, como genes supressores tumorais e proteínas reguladoras do ciclo celular envolvidos na sua gênese.

Especificamente em paratireóide, vários autores tem estudado estes marcadores. CETANI et al. (2004) observaram na análise imunohistoquímica ausência de expressão da proteína Rb em dez pacientes com carcinoma de paratireóide e expressão positiva nos 53 casos de adenoma estudados. STOJADINOVIC et al. (2003) mostraram maior expressão de Ki-67 em carcinomas de paratireóide e p27 positivo em adenomas de paratireóide, propondo um fenótipo para tumores não malignos de paratireóide p27+, bcl2+ ki67 baixo e mmdm2+. BERGERO et al. (2005) em seu estudo demonstraram que 92,3% dos carcinomas de paratireóide expressavam positivamente galectina-3 e só 3,3% dos adenomas. RANVIER et al. (2009) demonstraram também por imunohistoquímica a perda de expressão de

parafibromina e superexpressão de galectina-3 quando comparado carcinoma com adenoma de paratireóide. SHATTUCK et al. (2003) encontraram mutação no gene HRPT2 em 10 de 15 casos esporádicos de carcinoma de paratireóide.

O melhor entendimento sobre como se dá a tumorigênese da paratireóide é uma importante etapa a ser vencida. E o estudo com marcadores imunohistoquímicos nos auxilia na caracterização do processo de angiogênese, crescimento e mobilidade tumoral.

A galectina-3 é uma proteína da família das lecitinas, importante na interação matriz-célula e célula-célula. Desempenha um papel já bastante demonstrado na regulação do ciclo celular, apoptose e reparação de danos celulares, tendo sido demonstrada a sua superexpressão em diferentes tumores humanos como carcinoma colorretal, linfoma de grandes células, carcinoma de mama, carcinoma hepatocelular e carcinoma de tireóide (BERGERO et al. 2005).

O Ki-67 é um antígeno associado a proliferação celular que se expressa em todas as fases do ciclo celular, exceto na fase G0 (25). A proteína p27 regula a passagem da fase G1 para S no ciclo celular, podendo ser vista como supressor tumoral (LUMACHI et al. 2006). Tanto o Ki-67 quanto o p27 também já são bastante estudados. Muitos tumores demonstram alterações na expressão destes marcadores.

O TP53 é um gene supressor tumoral localizado no núcleo, que tem como função parar a progressão do ciclo celular para a fase S quando houver necessidade de reparo do DNA e induzir a apoptose quando o dano

não poder ser reparado. Desta maneira, impede a formação e proliferação de células cancerosas. Está alterado em mais de 50% dos tumores humanos (CRYNS et al. 1994; LUMACHI et al. 2006).

A parafibromina é uma proteína codificada pelo gene HRPT2, membro das polimerases associadas ao PAF-1 que regula a transcrição do alongamento e modificação das histonas. A inativação do gene HRPT2 parece estar relacionada ao crescimento tumoral, sendo sua mutação presente no carcinoma de paratireóide (BRADLEY et al. 2006; JUHLIN et al. 2007; JUHLIN e HOOG 2010).

A E-caderina é uma molécula chave na adesão célula a célula, sua perda de expressão relaciona-se com maior potencial de migração celular e recidiva local (SADALLA et al. 2011).

A Claudina 7 fa parte das proteínas que compõe as junções intercelulares, fazendo que as células estejam ligadas firmemente entre si, sua expressão varia entre os tecidos e a perda de expressão correlaciona-se a estágios avançados (SADALLA et al. 2011).

O VEGF é um importante marcador de angiogênese, passo importante para sobrevivência tumoral (ELLIS e HICKLIN 2008).

As metaloproteinases são proteínas que atuam na degeneração da matriz celular, permitindo a invasão tumoral. São descritas mais de 20 metaloproteinases, sendo a 2 e a 9 as mais implicadas neste fenômeno (WIEGAND et al. 2005).

Queremos avaliar se estes marcadores imunohistoquímicos estão envolvidos na tumorigênese paratireoideana.

Assim, com o objetivo de auxiliar no diagnóstico, avaliação do prognóstico e definição terapêutica do carcinoma de paratireóide, mais estudos serão necessários para elucidar o papel da expressão destes e outros marcadores imunohistoquímicos nas lesões da paratireóide.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Descrição das características clínicas e histopatológicas dos pacientes com carcinoma de paratireóide tratados no Hospital A. C. Camargo, no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2011.

2.2 OBJETIVO GERAL

Identificar marcadores imunohistoquímicos diferencialmente expressos nos pacientes portadores de carcinoma, adenoma, hiperplasia de paratireóide e paratireóide normal tratados no Hospital A.C.Camargo estabelecendo um painel de marcadores que se associem ao fenótipo maligno

METODOLOGIA

3 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo retrospectivo realizado através da coleta de dados dos prontuários médicos do Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do Hospital A.C.Camargo da Fundação Antônio Prudente e registrados em fichas específicas (Anexo 1).

O Projeto de Pesquisa nº 1652/12, foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP, do Hospital A.C.Camargo da Fundação Antônio Prudente/SP (Anexo 2).

3.1 CASUÍSTICA

A casuística foi composta por pacientes portadores de carcinoma de paratireóide submetidos à tratamento cirúrgico pelo Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia do Hospital A.C.Camargo no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2011. Para efeito comparativo especialmente em relação aos dados de imunohistoquímica, foram também utilizados registros de pacientes portadores de doenças benignas da paratireóide (adenoma e hiperplasia) tratados no mesmo período, além de amostras de tecido de paratireóide normal.

Neste período foram identificados sete pacientes com diagnóstico de carcinoma de paratireóide em prontuário, vinte pacientes com adenoma,

cinco com hiperplasia e dois com adenoma atípico. Foram também incluídos dois tecidos de paratireóide normal (Tabela 1).

Tabela 1 - Descrição do grupo estudado.

	<i>Carcinoma</i>	<i>Adenoma</i>	<i>Adenoma atípico</i>	<i>Hiperplasia</i>	<i>Normal</i>
Nºde pacientes	07	20	02	05	02
Sexo F/M	5/2	16/4	1/1	3/2	2/0

i. Critérios de inclusão

Pacientes submetidos a tratamento cirúrgico primário de doenças na glândula paratireóide (carcinoma, adenoma e hiperplasia) no Hospital A. C. Camargo e com material disponível em blocos de parafina para o preparo de lâminas para a técnica de imunohistoquímica.

ii. Critérios de exclusão

Pacientes com diagnóstico de Neoplasia Endócrina Múltipla; material tumoral armazenado inadequado e/ou indisponível para a realização do estudo proposto.

3.2 HISTOLOGIA

Foi realizada uma revisão crítica de todos os cortes histológicos dos pacientes estudados, por um único membro do Departamento de Patologia do Hospital A.C.Camargo, para confirmação diagnóstica.

O diagnóstico histopatológico de adenoma de paratireóide foi considerado por neoplasias de células claras ou oxifílicas com cápsula fina ao redor, rodeada por glândula normal rica em gordura (Figuras 5-8). Os adenomas com alguma característica de malignidade (presença de bandas fibrosas, atividade mitótica elevada, crescimento trabecular e invasão incompleta de cápsula) foram considerados como atípicos.

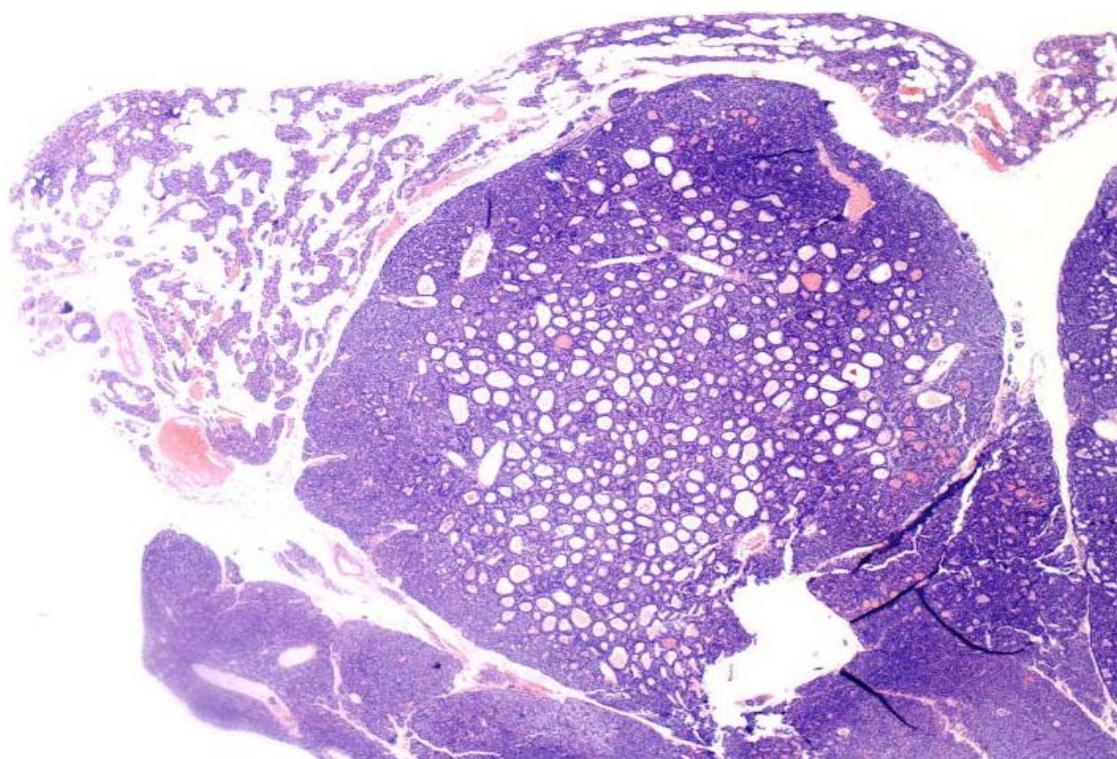


Figura 5 - Fotomicrografia de adenoma de paratireóideHE (20x).

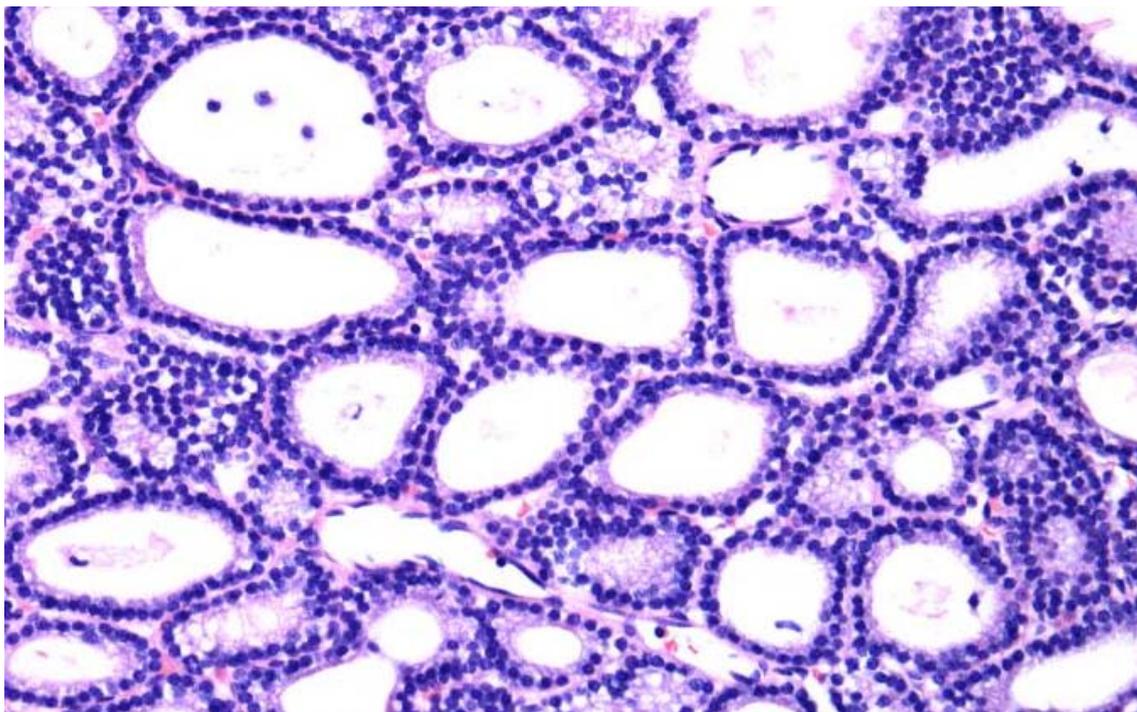


Figura 6 - Fotomicrografia de adenoma de paratireóide variante folicular HE (200x).

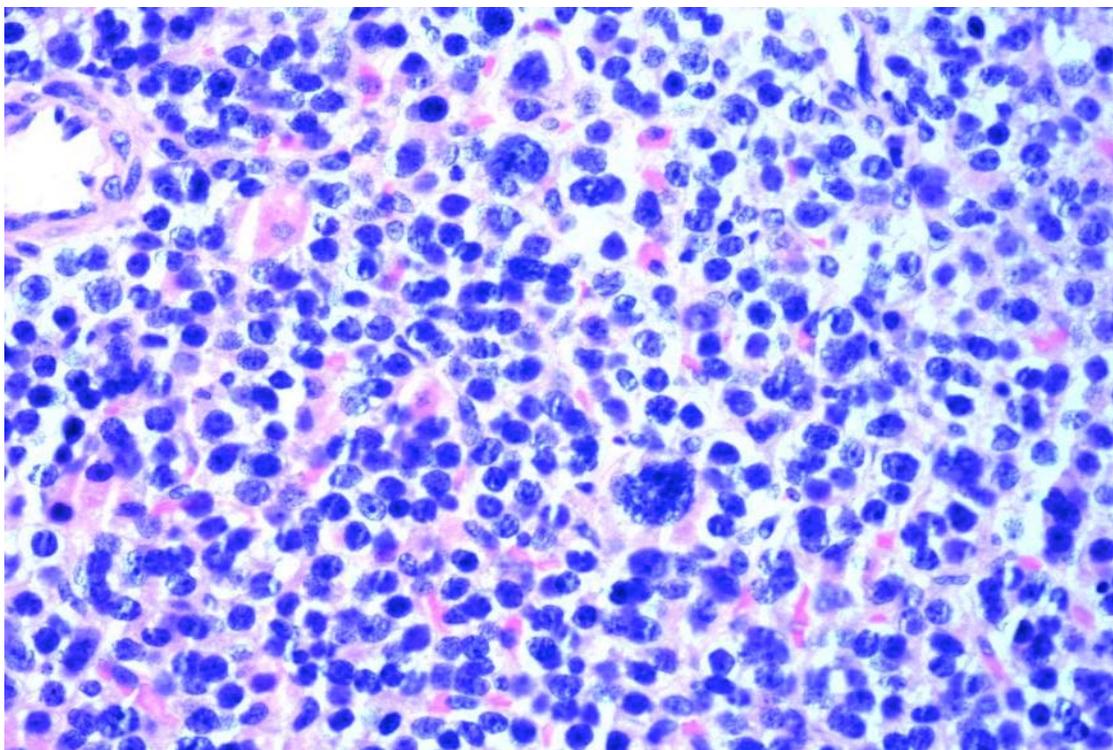


Figura 7 - Fotomicrografia de adenoma atípico de paratireóide HE (400x).

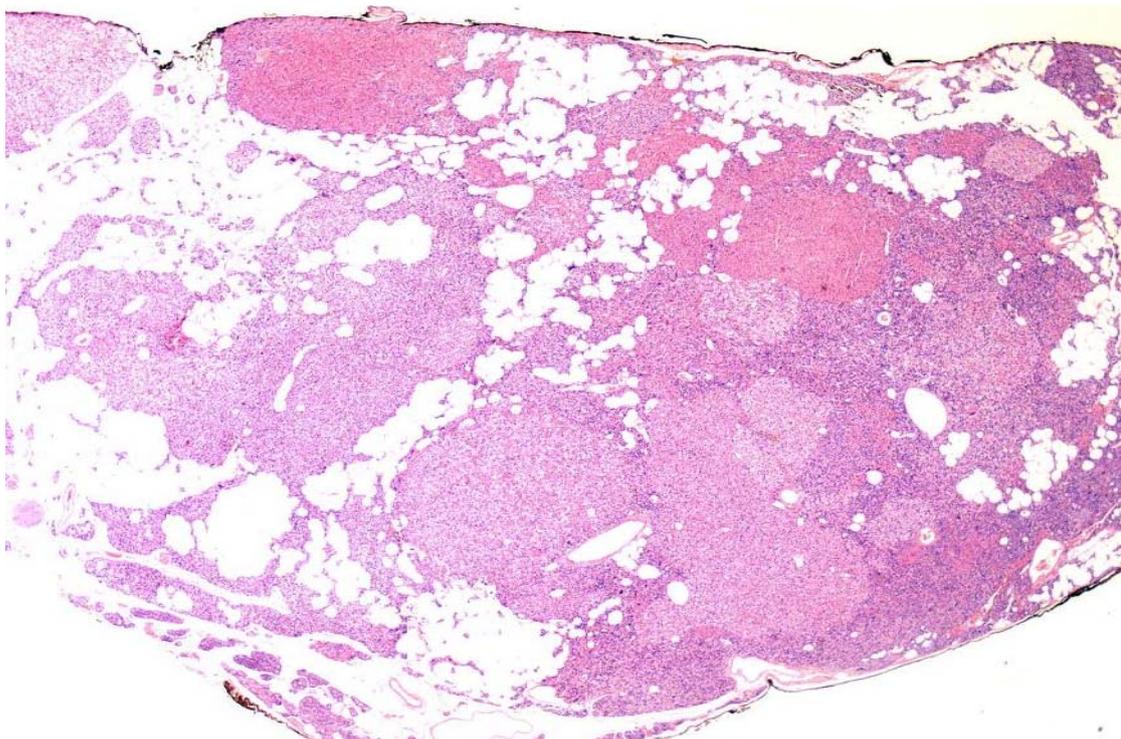


Figura 8 - Fotomicrografia de hiperplasia da paratireóide (HE 20x).

Os critérios histopatológicos que foram utilizados para o diagnóstico de carcinoma de paratireoide foram: invasão vascular, perineural, cápsular ou de tecidos adjacentes. Segundo critérios da OMS 2004 (Figuras 9-14).

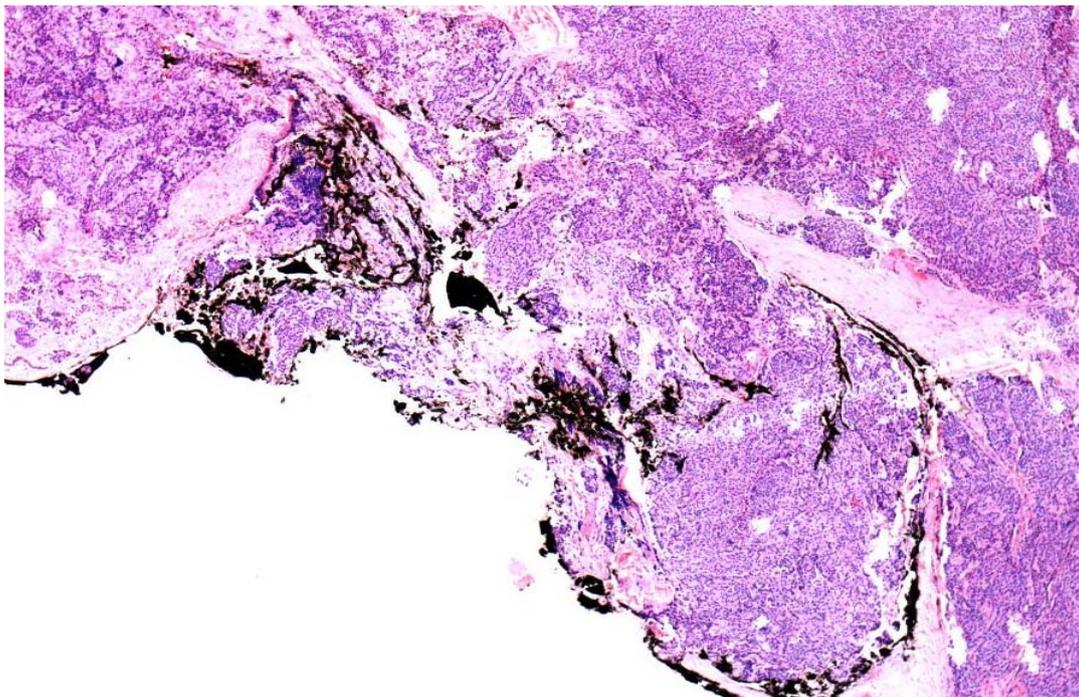


Figura 9 - Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide HE (40x).

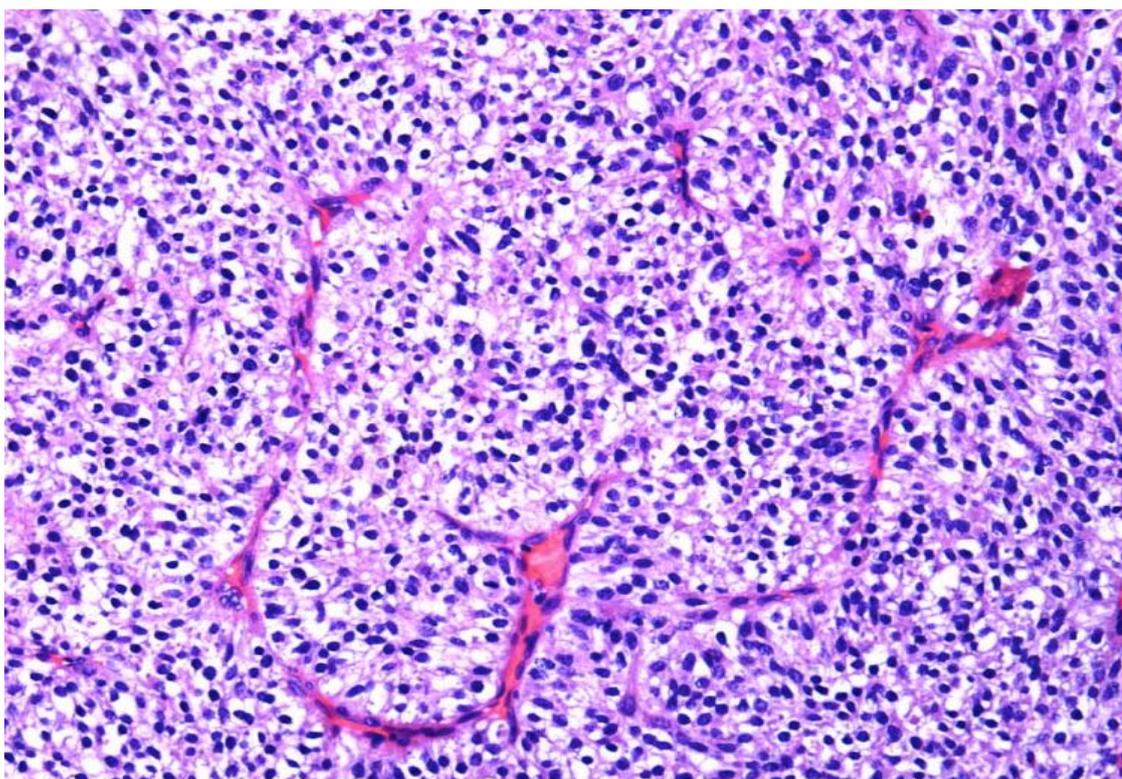


Figura 10 - Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide HE (200x).

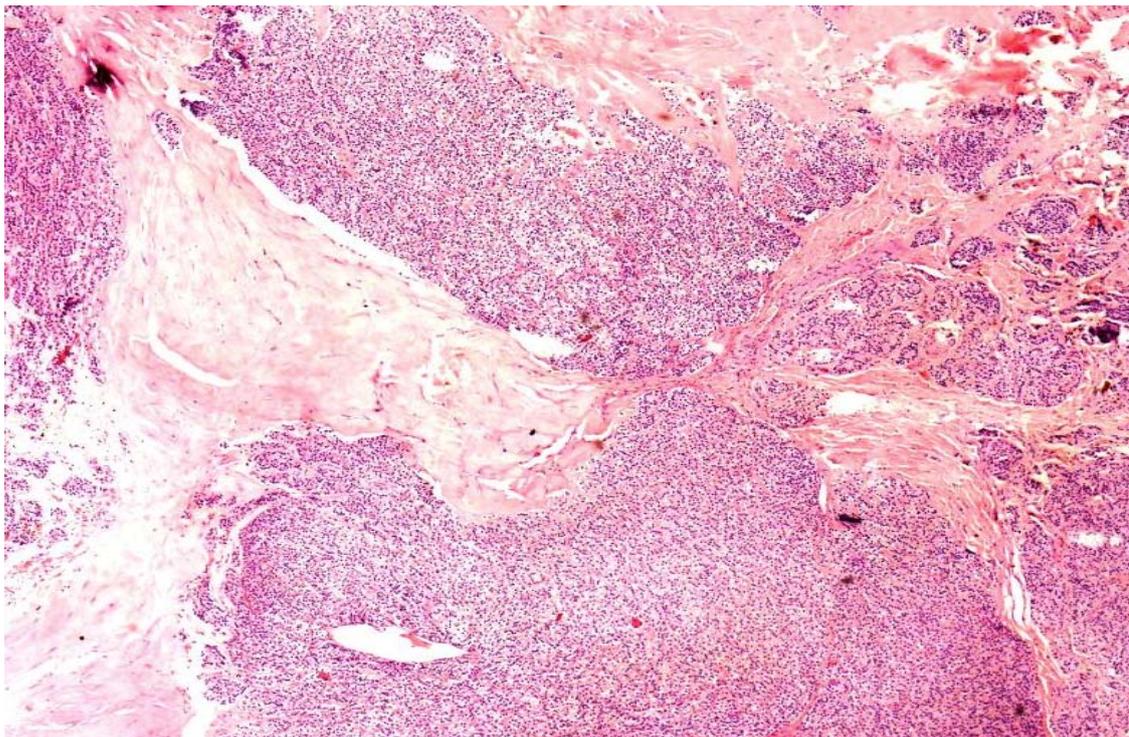


Figura 11 - Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide, área rica em traves fibrosas HE (40x).

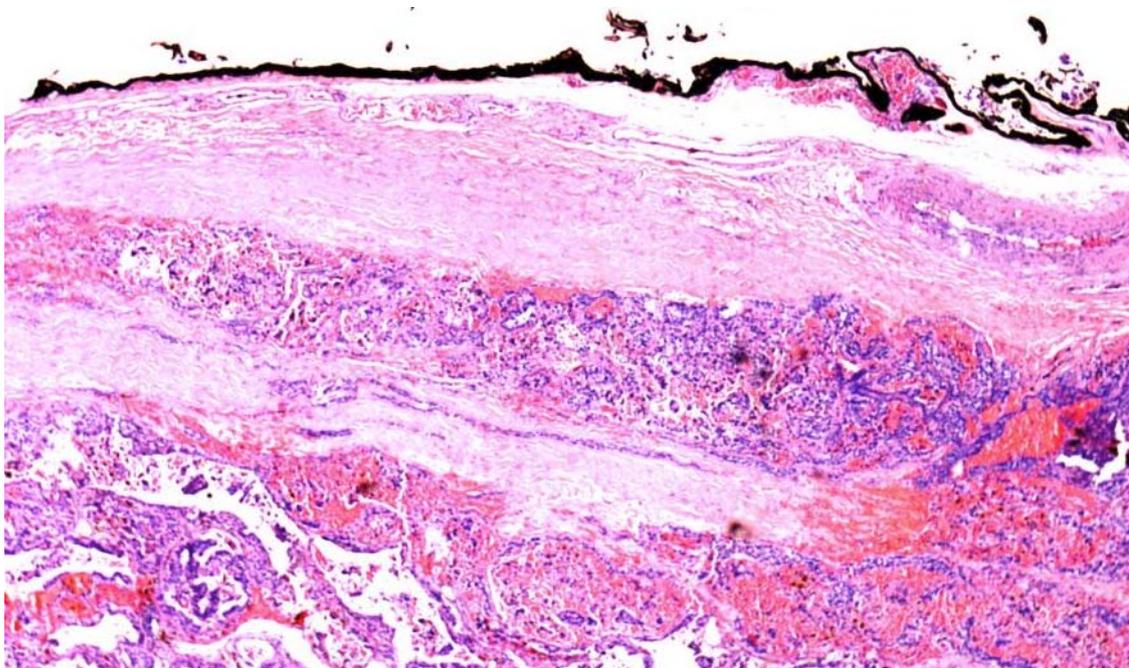


Figura 12 - Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide com infiltração da cápsula tumoral HE (40x).

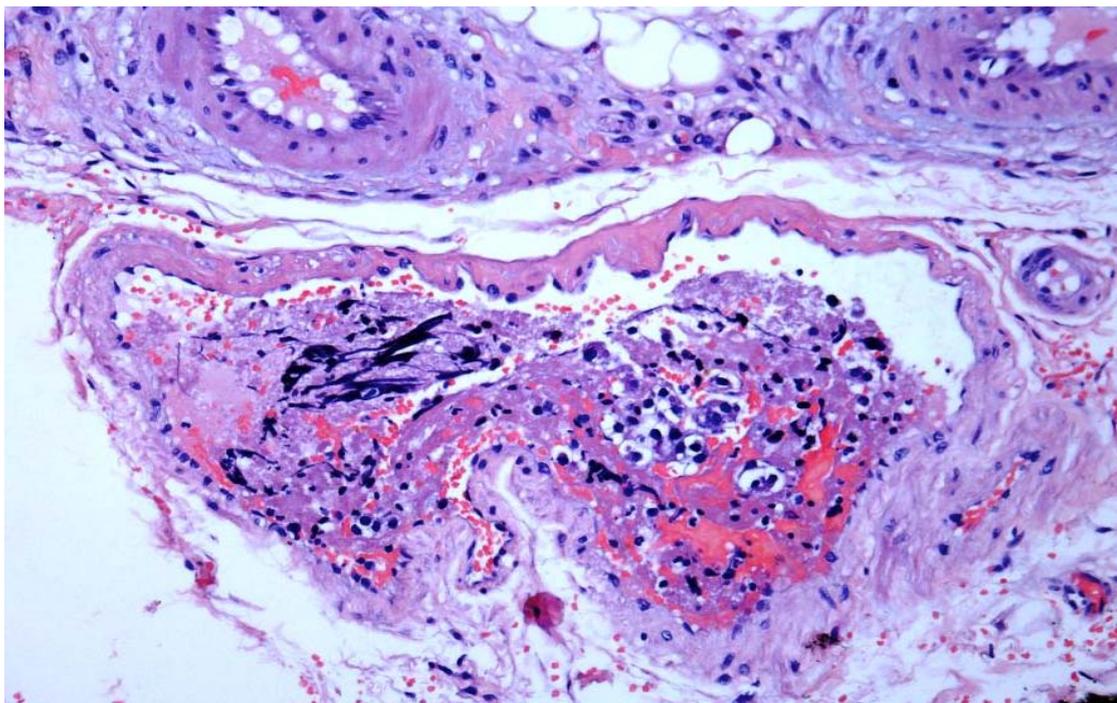


Figura 13 - Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide com formação de trombo tumoral HE (200x).

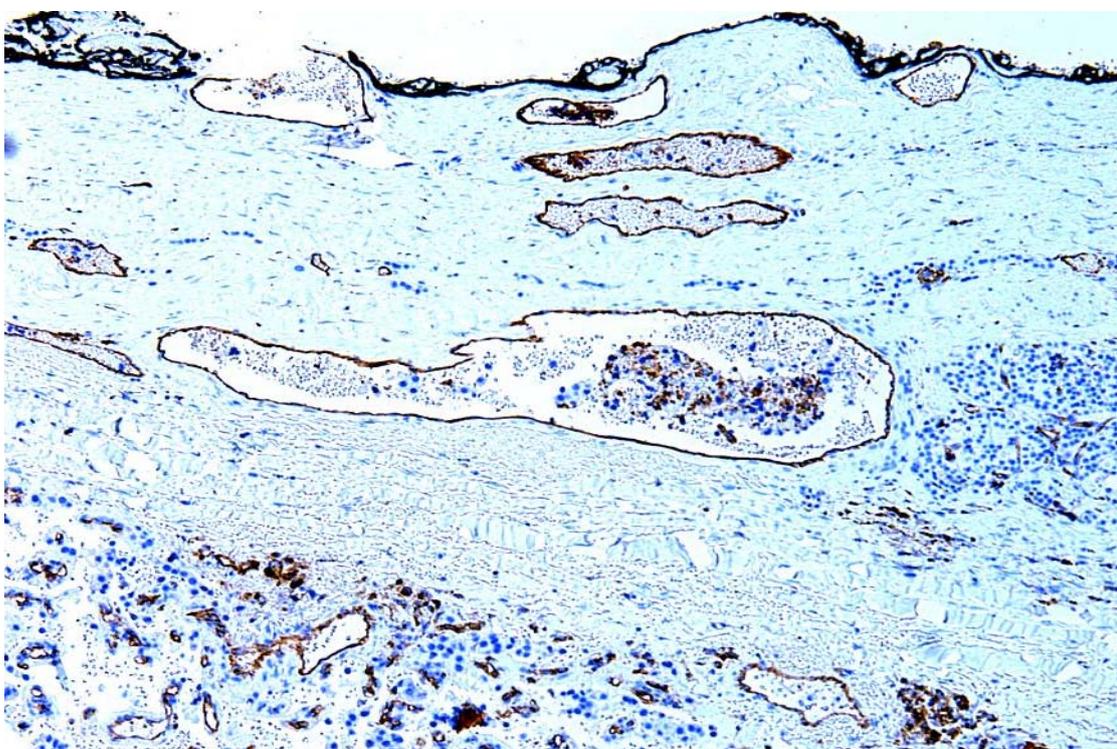


Figura 14 - Fotomicrografia de carcinoma da paratireóide com invasão vascular, endotélio corado com CD31 (100x).

Após correta identificação dos casos de carcinoma de paratireóide, amostras tumorais foram obtidas através de novos cortes histológicos de 3µm dos blocos de parafina juntamente com amostras de casos com os diagnósticos de adenoma e hiperplasia de paratireóide, além de tecido de glândula normal. Todos foram submetidos ao preparo das amostras segundo Protocolo Envision Flex/HRP (Quadro 3).

Quadro 3 - Preparo das amostras.

<i>PROTOCOLO ENVISION FLEX/HRP</i>
1- Desparafinização e Recuperação antigênica por calor em solução FLEX pH alto (DAKO)
2- Lavagem em tampão de Lavagem (Wash buffer- DAKO)
3- Bloqueio peroxidase endógena (água oxigenada 10 V)
4- Lavagem em tampão
5- Aplicação do anticorpo primário 30 minutos, temperatura ambiente
6- Lavagem em tampão (2 x 5' cada)
7- Aplicação Envision FLEx+ Mouse (Linker) 20 minutos, temperatura ambiente
8- Lavagem em tampão (2x 5' cada)
9- Aplicação Envision FLEX/HRP. 20 minutos, temperatura ambiente
10- Lavagem em tampão (2 x 5' cada)
11- Aplicação DAB (Substrate Working Solution (mix), 5 minutos
12- Lavagem em água corrente 5 minutos
13- Contra-coloração em Hematoxilina de Harris, 2 minutos
14- Lavagem em água corrente, 5 minutos
15- Desidratação, montagem

3.3 IMUNOHISTOQUÍMICA

O estudo de imunohistoquímica foi realizado através dos anticorpos para Ki-67, p27, galectina-3, VEGF, Claudina 7, E-caderina, metaloproteinase 2 e metaloproteinase 9 (Quadro 4).

Quadro 4 - Descrição anticorpos utilizados.

<i>Anticorpo</i>	<i>Clone</i>	<i>Marca</i>	<i>Controle</i>
Ki-67	30--9	Ventana	Tonsila
Galectina	9C4	Thermo Scientific	Pele Normal
Claudina 7	Poly	Invitrogen	Colon Normal
p27	5X53G8	Dako	Tonsila
MMP2	Poly	Neomarkers	Placenta
MMP9	Poly	Neomarkers	Placenta
E-Caderina	36	Ventana	Mama Normal
TP53	D07	Dako	Caso +
VEGF	VG1	Dako	Colon Normal

A análise da expressão imunohistoquímica das proteínas supracitadas foi realizada por um único patologista. As representações histológicas dos tumores foram avaliadas ao microscópio óptico em aumento de 400x. A expressão imunoistoquímica dos anticorpos P27, TP53 e Ki-67 são nucleares. A E-caderina a expressão é padrão membrana. Foram consideradas as expressões citoplasmáticas e de membrana para a proteína claudina 7. Os anticorpos VEGF, metaloproteinase 2 e 9 e galectina-3 as expressões são citoplasmáticas(Figuras 15-21).

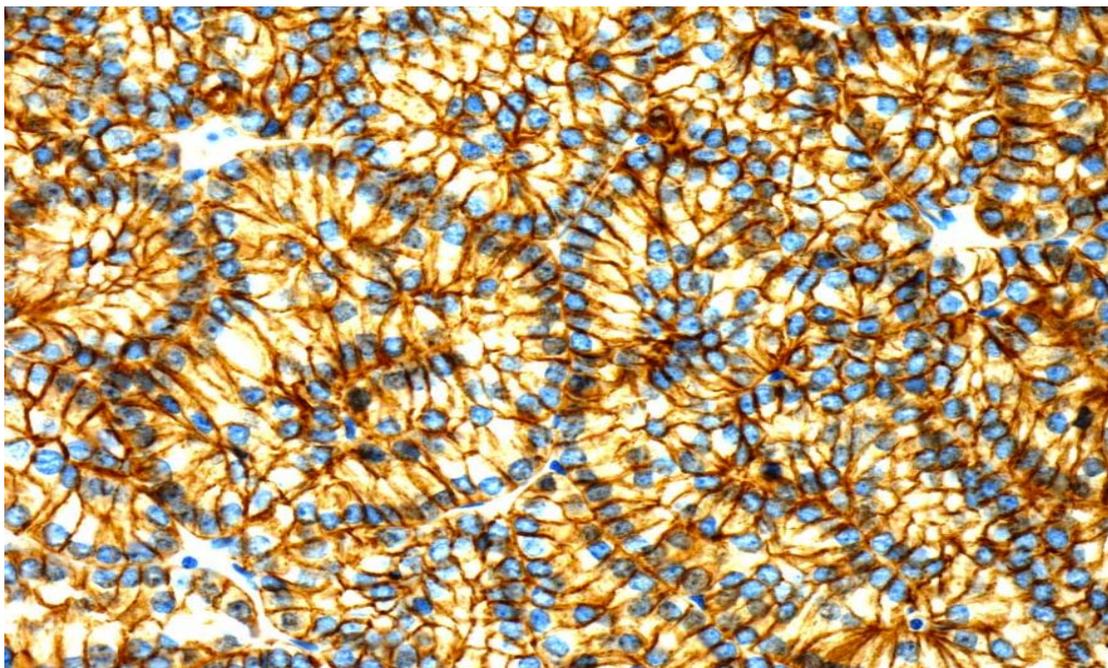


Figura 15 - Fotomicrografia da expressão do anticorpo para E-caderina na membrana celular(400x).

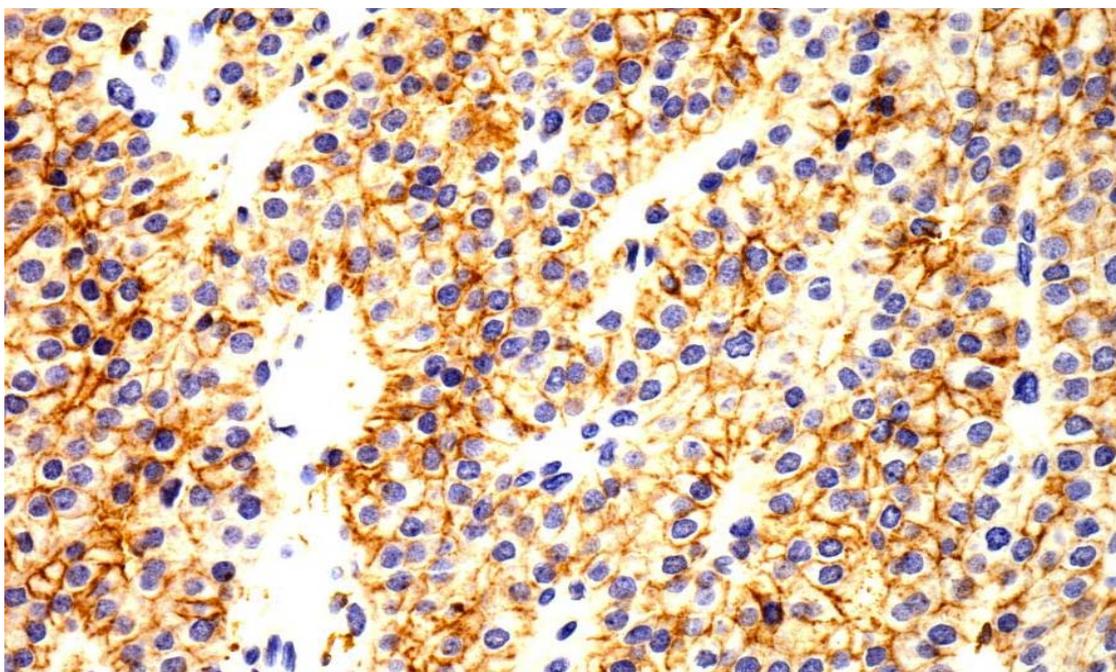


Figura 16 - Fotomicrografia da expressão do anticorpo para claudina-7 na membrana e citoplasma celulares(400x).

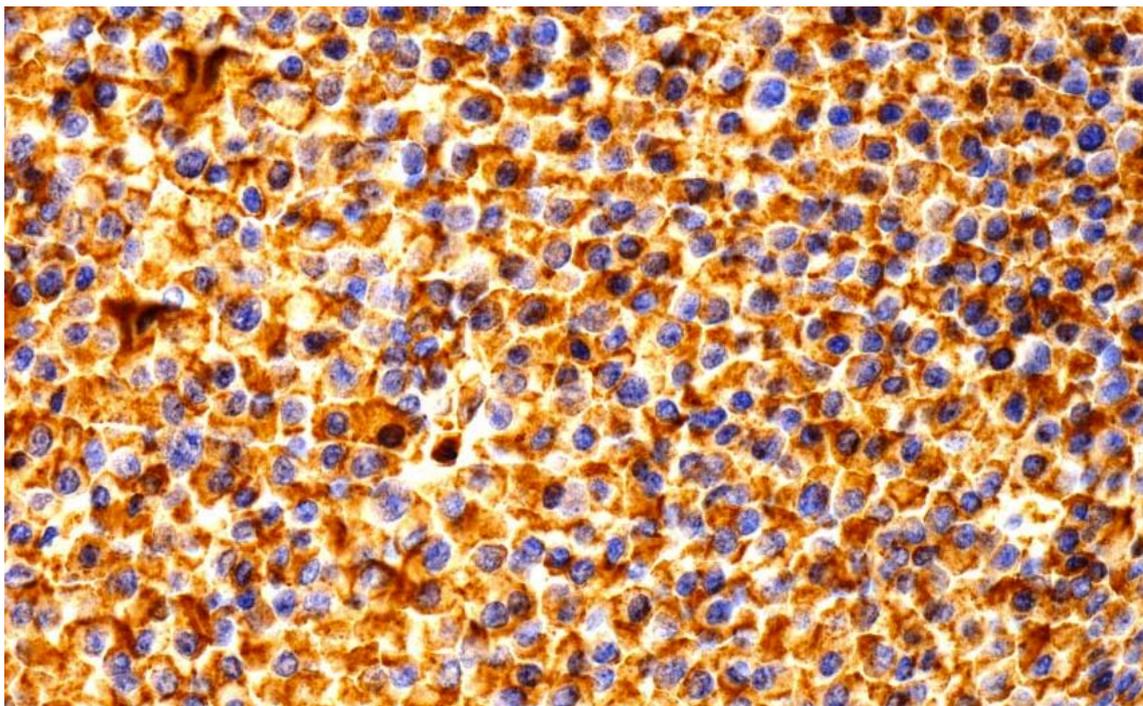


Figura 17 - Fotomicrografia da expressão do anticorpo para galectina-3 no citoplasma da célula (400x).

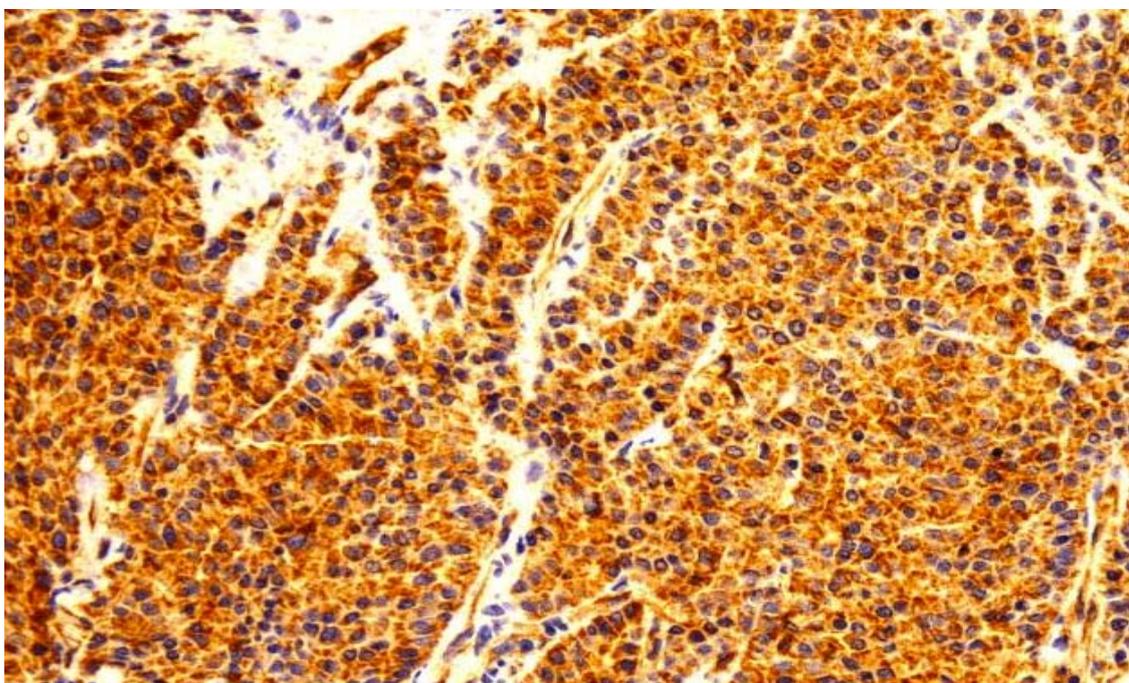


Figura 18 - Fotomicrografia da expressão do anticorpo para metaloproteinase 2 no citoplasma da célula (200x).

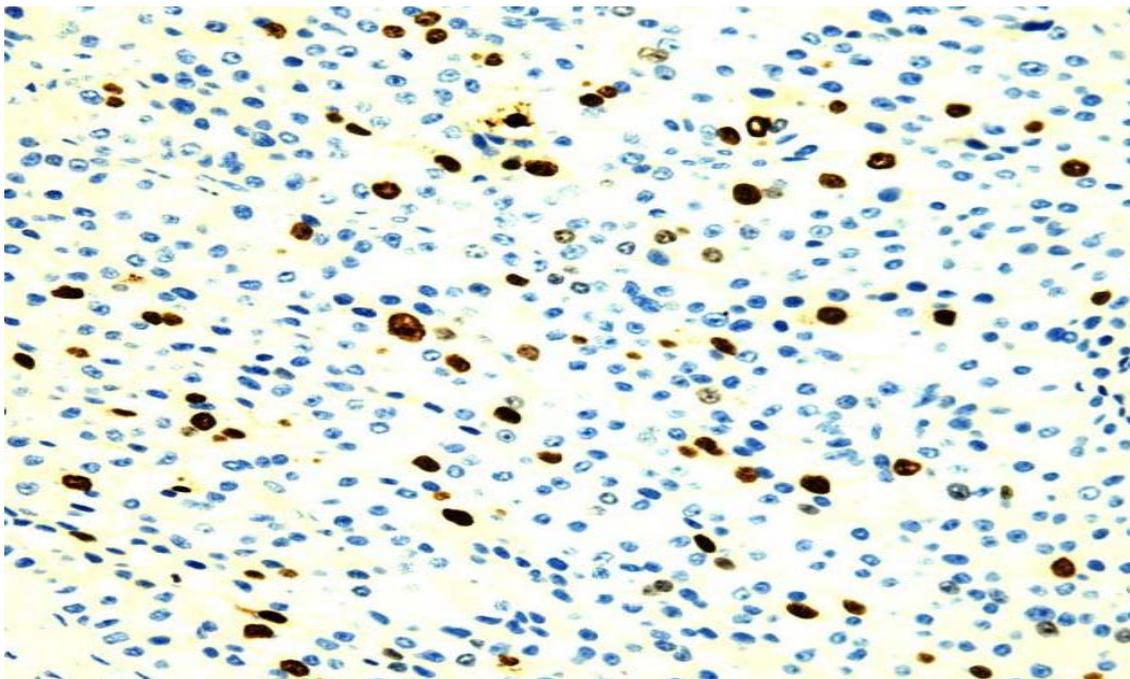


Figura 19 - Fotomicrografia da expressão do anticorpo para Ki67 no núcleo (200x).

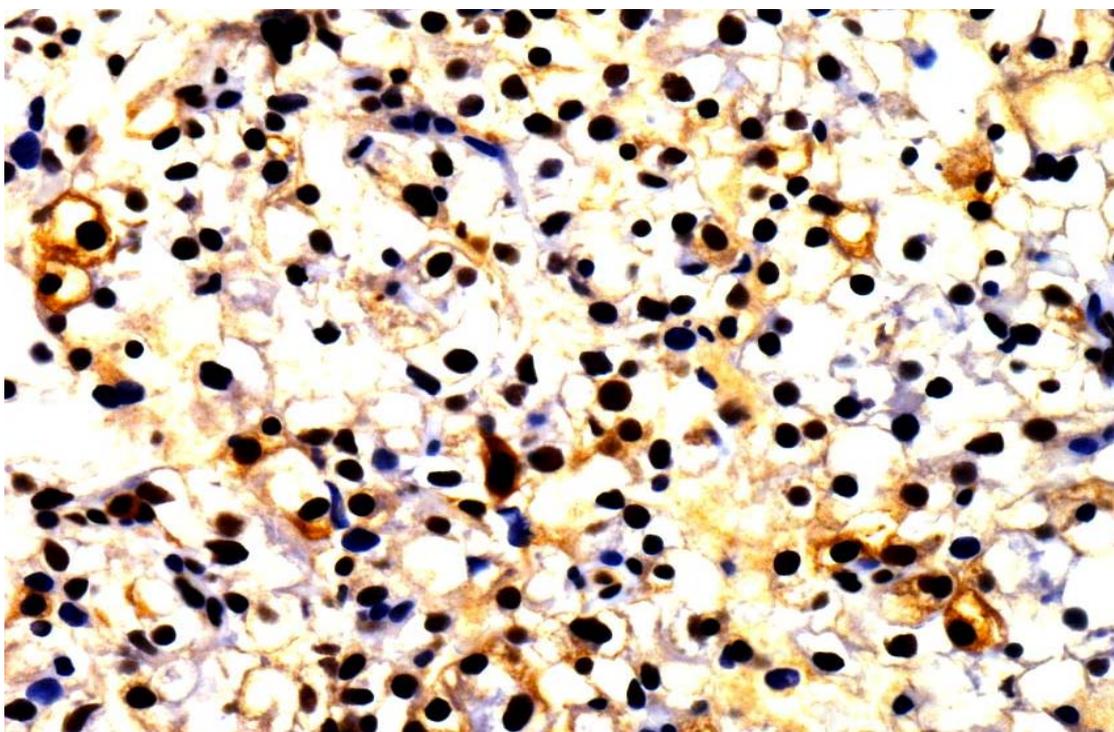


Figura 20 - Fotomicrografia da expressão do anticorpo para p27 no núcleo (400x).

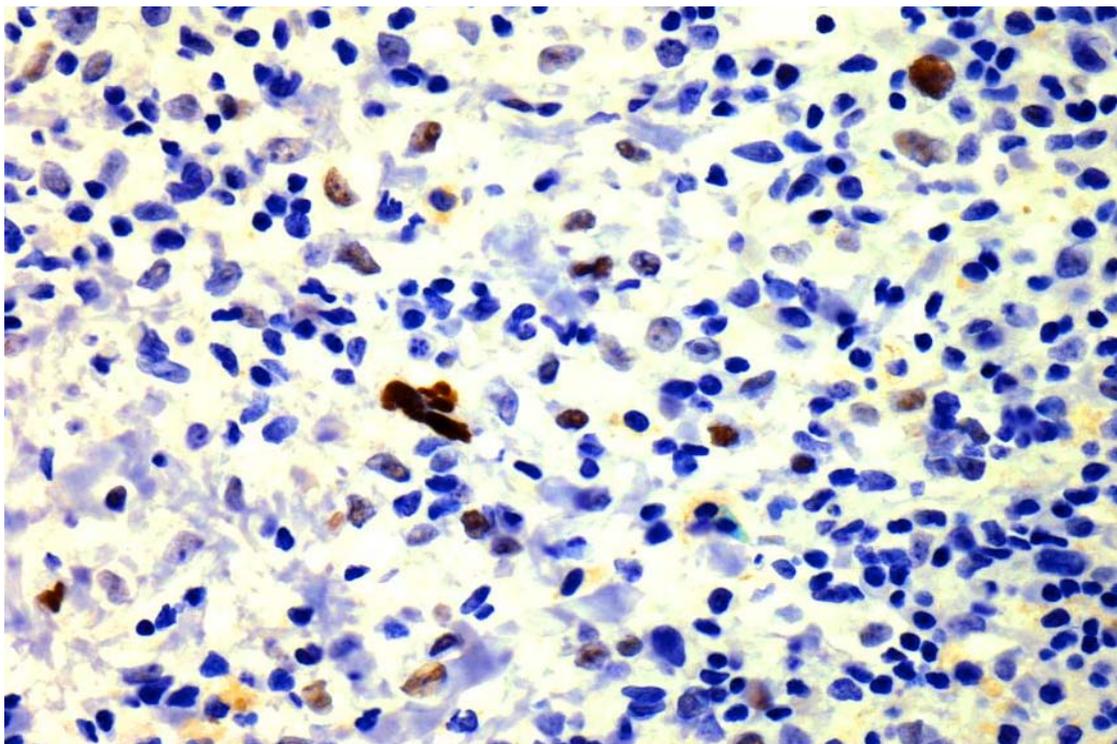


Figura 21 - Fotomicrografia da expressão do anticorpo para TP53 no núcleo (400x).

Com relação à avaliação das proteínas P27, TP53 e Ki-67 foram considerados escores de intensidade de positividade e de porcentagem de células marcadas em cada amostra tumoral.

Para a avaliação das proteínas MMP-2, MMP-9, galectina-3, claudina 7 e E-caderina, VEGF consideramos a graduação quanto à intensidade, definida como: negativa, expressão fraca, moderada ou forte.

Quanto ao número de células marcadas utilizaremos a seguinte graduação:

Para Ki-67 negativo, 1%, 1-10% e 10-50% e > 50% de células com expressão da proteína a ser analisada.

Para p27 negativo, 1%, 1-5%, 5-10%, 10-50% e >50% de células com expressão da proteína a ser analisada.

Para a análise estatística foi utilizado o *software for Windows Statistical Package for Social Science (SPSS)*, versão 16.0. Foi realizada uma análise descritiva dos resultados, utilizando-se para as variáveis categóricas, a distribuição de frequências, e para as numéricas, as medidas de tendência central e de variabilidade.

As associações das variáveis qualitativas como expressão imunohistoquímica foram efetuadas com o teste do qui-quadrado bi-caudal ou teste exato de Fisher. Para a comparação das médias das variáveis quantitativas, foram realizados os testes: T-student (para comparação de dois grupos) e ANOVA (para comparação de mais de dois grupos). A significância estatística foi determinada para um valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

Este foi um estudo retrospectivo que incluiu 7 pacientes com carcinoma de paratireóide com diagnóstico realizado do ano de 2000 a 2011 no Hospital A.C.Camargo, dados obtidos através do prontuário da instituição (Figura 22).

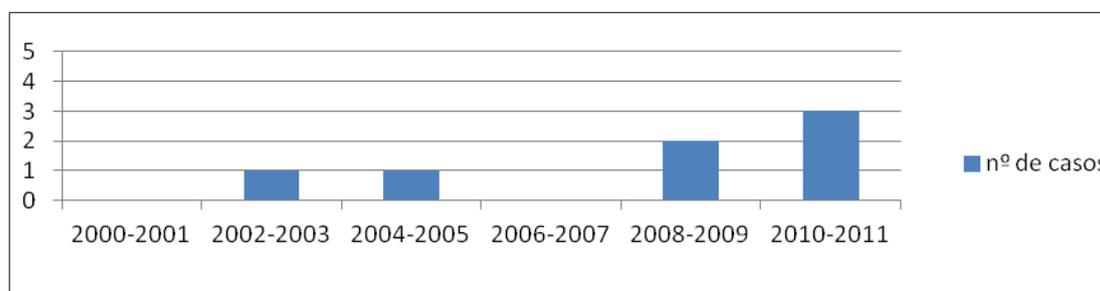


Figura 22 - Casos de carcinoma de paratireóides tratados no H. do Câncer A.C.Camargo.

A idade média do diagnóstico nos pacientes com carcinoma de paratireóide foi de 50 anos, com uma variação de 25 a 71 anos. Nos adenomas a média de idade foi 59 anos e 55 anos nas hiperplasias (Tabela 2).

Tabela 2 - Variação da idade dos pacientes nos pacientes com carcinoma, adenoma e hiperplasia de paratireóide.

		Carcinoma	Adenoma	Hiperplasia
Idade(anos)	Média	50	56,5	48,4
	Mediana	57	59	55
	Variação	25-71	21-78	17-63

A principal manifestação clínica ao diagnóstico nos paciente com carcinoma de paratireóide foi a litíase renal (Tabela 3). Os níveis de PTH (paratormônio) e cálcio sérico ao diagnóstico foram maiores no carcinoma e adenoma atípico da paratireóide (Tabela 4).

Tabela 3 - Manifestações clínicas mais relatadas pelos pacientes com carcinoma da paratireóide.

Sinais ou sintomas	Pacientes acometidos/total
Litíase renal	6/7
Fadiga	4/7
Fratura fêmur	1/7

Houve diferença entre os grupos no nível de cálcio pré-operatório ($p < 0,001$) e PTH pré operatório ($p = 0,063$), tendo a maior média nos carcinomas.

Tabela 4 - Níveis de cálcio (mg/dL) e PTH (pg/ml) nos pacientes com carcinoma, adenoma e hiperplasia da paratireóide.

		Carcinoma	Adenoma	Adenoma atípico	Hiperplasia	
	média	846,3	159,8	2268,5	267	
PTH	mediana	350,9	149	2268,5	211,2	$P < 0,001$
	variação	242->3000	88,9-346	179-4358	96-279	
Cálcio	média	12,65	11	11,75	11,1	
	mediana	12,2	11,3	11,75	11,04	$P < 0,063$
	variação	11-13,8	8,8-12,4	11-12,5	10,7-11,3	

O tamanho do tumor da paratireóide foi maior nos carcinomas com média de 2,7cm (Tabela 5)(Figura 23).

Tabela 5 - Avaliação do tamanho dos tumores de paratireóide.

Tamanho tumor (cm)	Carcinoma	Adenoma	Hiperplasia
Media	2,37	1,27	1
Mediana	2	1,1	0,8
Varição	1,5-4,7	0,5-2,4	0,2-1,8

$p=0,09$ ANOVA

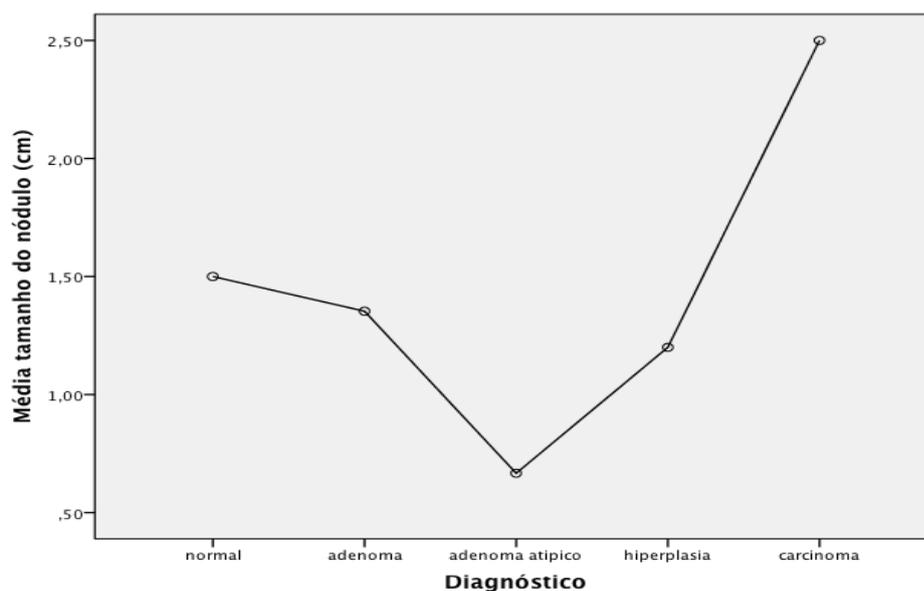


Figura 23 - Média do tamanho dos nódulos de paratireóide no tecido normal, hiperplasia, adenoma e carcinoma de paratireóide.

Quatro pacientes com carcinoma da paratireóide são do sexo feminino e três do masculino.

A opção cirúrgica inicial foi paratireoidectomia (PT) em um caso, tireoidectomia parcial (TP) com paratireoidectomia em dois casos, paratireoidectomia com tireoidectomia parcial esvaziamento cervical do mesmo lado em três casos e tireoidectomia total, paratireoidectomia com esvaziamento cervical em um caso. Dois pacientes realizaram radioterapia externa (Quadro 5).

Quadro 5 - Dados demográficos e cirúrgicos dos pacientes com carcinoma de paratireóide.

<i>Características dos pacientes</i>	
sexo	
F	05
M	02
Cirurgia inicial	
Paratireoidectomia	01
Tireoidectomia parcial+PT	02
TP+PT+ Esvaziamento cervical	03
T. Total+PT+EC	01
Radioterapia	
sim	02
não	05
Total de pacientes	07

PT paratireoidectomia, TP tireoidectomia parcial, EC esvaziamento cervical

A invasão de cápsula foi o dado mais descrito no anátomo-patológico da primeira cirurgia, presente em 88,3% dos pacientes com carcinoma da paratireóide (Quadro 6).

Quadro 6 - Dados histológicos dos pacientes com carcinoma da paratireóide.

PACIENTES	INVASÃO VASCULAR	INVASÃO CAPSULAR	LINFONODOS COMPROMETIDOS
1	+	-	-
2	+	+	-
3	-	-	-
4	+	+	-
5	+	+	-
6	+	-	-
7	+	-	-

Um caso de adenoma da paratireóide e um caso de carcinoma foram excluídos para realização da imunohistoquímica por material inadequado. Houveram duas recidivas de um mesmo paciente com carcinoma de paratireóide, também analisadas na imunohistoquímica, por isto contamos com oito amostras tumorais analisadas no grupo de carcinoma.

Tabela 6 - Resultados da imunohistoquímica nas amostras de carcinomas, adenomas, hiperplasias e tecido normal da paratireóide.

Marcadores	Carcinoma	Adenoma	Adenoma atípico	Hiperplasia	Normal
Gal-3* Positivo	5/8	2/19	2/3	1/5	0/2
TP53 Positivo	3/8	2/19	0/3	1/5	0/2
p27					
<10%	4/8	8/19	0/3	3/5	1/2
10-50%	1/8	4/19	1/3	1/5	1/2
>50%	3/8	7/19	2/3	1/5	0/2
Ki67					
1-10%	7/8	18/19	3/3	5/5	2/2
>10%	1/8	1/19	0/3	0/5	0/2
MMP2 Positivo	6/8	10/19	2/3	1/5	0/2
MMP9	4/8	13/19	2/3	2/5	0/2
Claud-7 Positivo	2/8	3/19	0/3	0/5	1/2
VEGF Positivo	0/8	0/19	0/3	0/5	0/2
E-caderina Positiv fraco	7/8	19/19	3/3	5/5	2/2
Positiv forte	1/8	0/19	0/3	0/5	0/2

* $p=0,027$, Positiv=positivo

Não houve diferença de expressão do VEGF e E-caderina entre os grupos.

A Galectina-3 foi o único marcador com expressão diferencial significativa, sendo melhor visualizada na Figura 24.

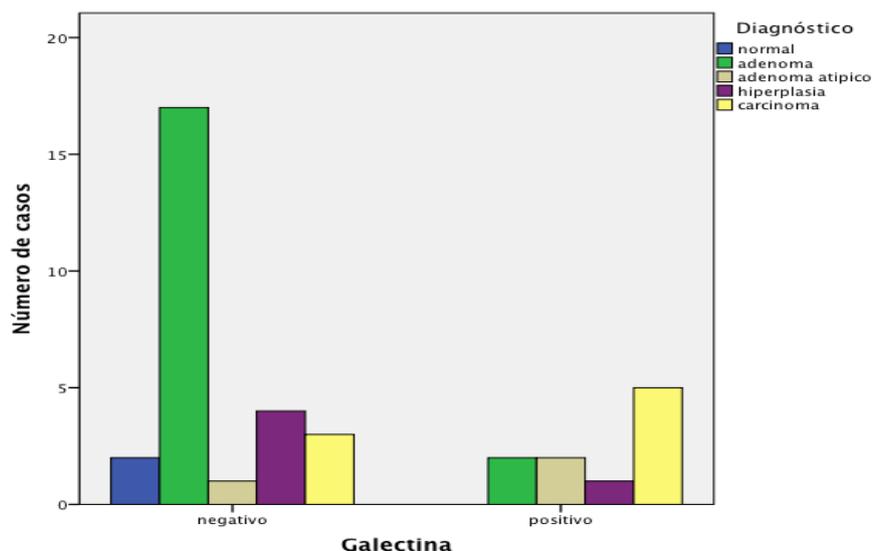


Figura 24 - Comparação da expressão de galectina-3 nas amostras de tecido normal, adenoma, adenoma atípico, hiperplasia e carcinoma da paratireoide.

Avaliando a associação da expressão de Galectina-3 com variáveis clínicas PTH, cálcio e tamanho dos nódulos, verificamos que os valores do cálcio eram maiores nos pacientes com galectina-3 positiva (Tabela 7).

Tabela 7- Comparação das médias dos valores de PTH, cálcio e tamanho dos nódulos com a expressão de Galectina-3.

Variável clínica	Galectina-3	Numero casos	Média (DP)	<i>p</i>
PTH	Negativo	26	287,3 (560,2)	0,156
	Positivo	10	728,3 (1285,3)	
Cálcio	Negativo	26	11,0 (1,1)	0,007
	Positivo	9	12,2 (1,1)	
Tamanho nódulo	Negativo	25	1,4 (1,0)	0,163
	Positivo	10	1,9 (0,7)	

Nenhum paciente que teve expressão positiva para a proteína TP53, teve expressão positiva para galectina-3.

Apenas seis pacientes tiveram amostras com expressão positiva para TP53, três eram carcinomas, dois adenomas e uma hiperplasia da paratireóide.

A proteína p27 teve expressão maior que 10% em 11 das 19 amostras dos adenomas (Tabela 8).

Tabela 8 - Expressão da proteína p27 no tecido normal e tumores de paratireoide. ($p=0,057$)

<i>p27</i>	<i>adenoma</i>	<i>carcinoma</i>	<i>hiperplasia</i>	<i>adenoma atípico</i>	<i>normal</i>	Total
<10%	8	4	3	0	1	12
10-50%	4	1	1	1	1	5
>50%	7	3	1	2	0	10
Total	19	8	5	3	2	27

O índice proliferativo avaliado pela expressão da proteína Ki67 foi <10%, em 35/37 (94,5%) das amostras (Tabela 6).

As metaloproteinases-2 e metaloproteinases-9 não tiveram um padrão de expressão entre os grupos analisados (Tabela 6).

A proteína claudina-7 teve sua expressão negativa em 31/37(83,7%) amostras (Tabela 6).

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Nosso estudo compreendeu o período de 2000 a 2011, contando com registros hospitalares e material histológico na parafina de boa qualidade.

Tivemos um número de casos registrados neste período de sete, confirmando sua baixa frequência na população (HUNDAHL et al. 1999; BUSAIDY et al. 2004; VIEIRA et al. 2005; MAROCCI et al. 2008). Porém existe um aumento no número de diagnósticos nesta instituição a partir de 2008. No Japão esta incidência já era descrita como mais alta chegando a 5% dos hiperparatireoidismos primário (OBARA e FUJIMOTO 1991). Houve aumento da incidência na Austrália-*Royal North Shore Hospital*, com registro de 15 novos casos de 2001-2010 onde a incidência foi de nenhum a três casos em dez anos (LEE et al. 2007; BROWN et al. 2011). Estes dados podem estar superestimados por se tratarem de instituições terciárias ou serviço de referência em oncologia.

A distribuição entre os gêneros teve predominância do feminino 5:2 como é visto nos adenomas, na literatura a distribuição nos carcinomas tende a ser igual (Quadro 1).

A média de idade ao diagnóstico foi de 50 anos, que tende a ser mais precoce que os adenomas, concordante com a descrição da base de dados de câncer dos EUA (HUNDAHL et al. 1999; MARCOCCI et al. 2008).

A manifestação clínica mais presente nos pacientes foi nefrolitíase (85,7%), justificando mais uma vez a necessidade de investigação de hiperparatireoidismo nestes casos (FRAKER 2008).

Dados presentes na literatura como no clássico artigo de SCHANTZ e CASTLEMAN (1973) mostram a média de cálcio sérico foi 15,2mg/dL e no MD *Anderson Cancer Center* 13,4mg/dL, este é um dado que se relaciona com uma doença mais agressiva (STOJADINOVIC et al. 2003; BUSAIDY et al. 2004; HARARI et al. 2011). No nosso trabalho a hipercalcemia pré-operatória também obteve maiores níveis no grupo dos carcinomas com média de 12,6mg/dL.

O nível elevado de PTH é um indicador para suspeita pré-operatória (WEI e HARRARIS 2012). Nosso estudo encontrou nível de PTH mais alto nos carcinomas e também nos adenomas atípicos.

Na literatura não houve relação do tamanho tumoral e mortalidade (RODGERS e PERRIER 2006; HARARI et al. 2011). No nosso estudo o tamanho tumoral foi significativamente diferente entre os grupos, sendo nos carcinomas a média de 2,7cm $P=0,09$.

A forma terapêutica com o intuito curativo, mais eficaz para o carcinoma de paratireóide, dependendo de uma suspeita clínica ou intra-operatória é a retirada cirúrgica em bloco do tumor (BUSAIDY et al. 2004; RODGERS e PERRIER 2006; MAROCCI et al. 2008; ENAMOTO et al. 2010; OWEN et al. 2011; WEI e HARRARIS 2012). Este procedimento foi realizado em 43% dos nossos pacientes.

Dois dos nossos pacientes foram submetidos a radioterapia adjuvante. Um por possuir infiltração dos tecidos vizinhos, não tendo margens livres e outro caso após recidiva local e metástase mediastinal. A eficácia da radioterapia para reduzir recorrência ainda permanece controversa. Na revisão do *Princess Margaret Hospital* – Canadá, 11 dos 16 pacientes tratados no período 1976 a 2005 foram submetidos a radioterapia adjuvante e 7 destes tiveram recorrência. Na experiência da *Mayo Clinic* – EUA, de 70 pacientes diagnosticados com carcinoma de paratireóide, 57 foram tratados com cirurgia e 4 com cirurgia e radioterapia adjuvante. Estes tiveram uma sobrevida livre de doença de 60 meses, podendo inferir-se uma radiosensibilidade tumoral. Também foram tratados com radioterapia, de forma paliativa, pacientes com metástase óssea e doença mediastinal irressecável (MUNSON et al. 2003; EROVIC et al. 2012).

A definição de critérios histopatológicos para diagnóstico do carcinoma de paratireóide foi feita em 1973 por SCHANTZ e CASTLEMAN. O crescimento celular com padrão trabecular, bandas fibrosas, figuras mitóticas, invasão capsular e invasão vascular (SCHANTZ e CASTLEMAN 1973). Reunião da OMS em 2004 definiu como critério mínimo para diagnóstico a invasão de cápsula com infiltração de tecidos moles adjacentes e critérios maiores invasão vascular com ou sem invasão de órgãos vitais; presença de metástase locorregional ou a distância; se houve ressecção completa; se há margem comprometida e seguimento pelo menos dois meses (BONDENSON et al. 2004). A invasão vascular tem se consolidado como fator preditor de recidiva local (MUNSON et al. 2003;

EROVIC et al. 2012). Dos nossos sete pacientes, um teve o diagnóstico confirmado na recidiva local e evoluiu com metástase mediastinal, os outros seis tiveram invasão de cápsula associadas em três deles a invasão vascular, sem recidiva até o momento.

Como o tamanho tumoral não estabeleceu-se como fator prognóstico a classificação TNM apresenta limitações por basear-se em parte neste critério (SOBIN et al. 2009). EROVIC et al. (2012) descreveram que todos os seus pacientes com invasão vascular tiveram recorrência da doença. Sendo proposto por TALAT et al. (2010) e SCHULTE et al. (2012) um TNM Histológico onde substituíram o tamanho do tumor pela invasão de cápsula, invasão dos tecidos vizinhos, invasão capsular e invasão de órgãos vitais. Validado em estudo com 82 pacientes (Quadro 2). Na nossa amostra 57% estão no Estadio II e 71% como Alto Risco (Tabela 8).

Quadro 7 - Classificação histológica e de risco dos pacientes com carcinoma de paratireóide segundo esquema desenvolvido por (SCHULTE et al. 2012).

Classificação		pacientes/total
TNM Histológico	Estadio I	2/7
	Estádio II	4/7
	Estádio III	1/7
	Estádio IV	0/7
Risco	Baixo	2/7
	Alto	5/7

A expressão de proteínas no tecido tumoral pelo método imunohistoquímico nos abriu um novo horizonte para compreensão da

tumorigênese, passo esse que antecede a compreensão da alteração molecular. É um método que possui limitações principalmente quanto sua especificidade e sensibilidade. Porém de fácil acesso na maior parte das instituições. Considerando a necessidade da célula tumoral migrar, nutrir-se, proliferar, resistência a morte celular (HANAHAN e WEINBERG 2011), escolhemos alguns antígenos celulares já utilizados na rotina histopatológica para avaliação do perfil das lesões de paratireóide: galectina-3, TP53, p27, Ki67, metalproteinases 2 e 9, Claudina 7 e VEGF.

Segundo trabalho de BERGERO et al. (2005), a galectina-3 foi superexpressa em 92,3% dos carcinomas e 3,3% dos adenomas de paratireóide. Foi o mais sensível (92,3%) e específico (96,7%) marcador, estava expresso em todos os carcinomas que desenvolveram metástase. Galectina-3 positivo associado a Ki67>6% foi específico em carcinomas. Os adenomas eram galectina-3 negativa, Ki67<6% e p27 preservado. RANVIER et al. (2009) descreveu a galectina-3 superexpressa (92,3%) em carcinomas comparado as outras lesões de paratireóide. A perda da expressão da parafibrina foi exclusiva dos carcinomas, mas ocorreu em 30% destes. Tendo boa especificidade, mas baixa sensibilidade. Das nossas amostras submetidas a imunohistoquímica 28% eram positivas para galectina-3, sendo metade delas casos de carcinoma (Figura 23). Este grupo continha um paciente com metástase, explicando os maiores valores de cálcio em pacientes galectina-3 superexpressa.

Uma mutação do gene TP53 pode prolongar a meia vida da proteína p53, que é de cerca 30 minutos, permitindo sua detecção por métodos

imunohistoquímicos Não pareceu se correlacionar com diagnóstico e prognóstico (CRYNS et al. 1994). Nos tumores endócrinos benignos não há expressão do TP53 (ANDERSON et al. 1983). A proteína TP53 foi positiva em 1/3 amostras de hiperplasia, 2/19 de adenoma e 3/8 de carcinoma de paratireóide. Sempre que o TP53 estava expresso a galectina-3 esteve negativa. Estes pacientes apresentaram diagnóstico de outros tumores malignos. O paciente com Hiperplasia teve câncer de mama, dos com adenoma um tem diagnóstico de carcinóide de apêndice e o outro câncer de tireóide. Dos três com carcinoma, um teve linfoma e meningioma, um tumor de cólon e o terceiro sem outro tumor descrito. A proteína TP53 não se expressou em nenhum adenoma de paratireóide. Entendemos que o melhor método para avaliação é o estudo do gene TP53.

A expressão da claudina-7 é usada em vários cânceres para indicar prognóstico. Não diferiu entre os grupos nas nossas amostras, podendo ser por problema na fixação ou processamentos destas e perda da sua antigenicidade.

A matriz extra-celular tem uma composição complexa, sendo a expressão das metaloproteinases importantes para o entendimento da invasão e metástase, mas não encontramos um padrão de expressão entre os grupos.

O gene p27 é um potente supressor tumoral e a expressão de sua proteína está preservada nos adenomas, tendo sido observado esta característica também em nossa casuística. Como constatamos na

elaboração do fenótipo benigno: p27 + (>30%), Ki67 – (<5%), mdm2 + (>50%) (STOJADINOVIC et al. 2003).

A expressão de Ki67 aumentada indica proliferação tumoral, nas nossas amostras não houve variação dos mesmos.

O VEGF foi negativo em todas as amostras, com uma metodologia confiável, demonstrando não ser esta uma via importante na tumorigênese do carcinoma de paratireóide.

A perda da expressão da proteína Rb foi vista em 6 dos 10 casos de carcinoma de paratireóide (CETANI et al. 2004) e a ausência ou redução da expressão da parafibromina (SHATTUCK et al. 2003; BRADLEY et al. 2006), parecem ser um marcador importante. Ambos não foram avaliados neste estudo.

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES

6 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O carcinoma de paratireóide se confirmou como uma patologia rara, pelo baixo número de diagnóstico no período estudado (7 casos de 2000-2011), com predileção pelo sexo feminino após a segunda década de vida. Estes pacientes apresentaram níveis mais altos pré-operatórios de cálcio e PTH e tiveram a invasão de cápsula como achado histológico mais freqüente.

Apesar da amostra pequena a proteína galectina-3 foi significativamente mais expressa nos carcinomas, mostrando ser um importante marcador imunohistoquímico e a proteína E-caderina e VEGF não parecem participar da tumorigênese da paratireóide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anderson BJ, Samaan NA, Vassilopoulou-Sellin R, Ordonez NG, Hickey RC. Parathyroid carcinoma: features and difficulties in diagnosis and management. **Surgery** 1983; 94:906-15.

Bergero N, Pompa DR, Sarcedote C, et al. Galectin-3 expression in parathyroid carcinoma: imunohistochemical study of 26. **Hum Pathol** 2005; 36:908-14.

Bilezikian JP, Potts JT, Fuleihan GE, et al. Summary statement from a workshop on asymptomatic primary hiperparathyroidism: a perspective for the 21 st century. **J Clin Endocrinol Metab** 2002; 87:5353-61.

Bondenson L, Grimelius L, DeLellis RA. Parathyroid carcinoma. In: DeLellis RA, Lloyd RV, Heitz PU, Eng C, editors. **Pathology and genetics: tumour of endocrine organs**. Lyon: IARC Press; 2004. p.124-7. (World Health Organization Classification of Tumours, v.8. IARC WHO Classification of Tumours, nº 8).

Bradley KJ, Cavasco BM, Bowl MR, et al. Parafibromin mutations in hereditary hyperparathyroidism syndromes and parathyroid tumours. **Clin Endocrinol** 2006; 64:299-306.

Brown S, O'Neil C, Suliburk J, et al. Parathyroid carcinoma: increasing incidence and changing presentation. **Ann J Surg** 2011; 81:528-32.

Busaidy NL, Jimenez C, Habra MA, et al. Parathyroid carcinoma: a 22-year experience. **Head Neck** 2004; 26:716-26.

Cetani F, Pardi E, Viacava P, Pollina GD, et al. A reappraisal of the rb1 gene abnormalities in the diagnosis of parathyroid cancer. **Clin Endocrinol** 2004; 60:99-106.

Clayman GL, Gonzalez HE, El-Naggar A, Vassilopoulou-Sellin R. Parathyroid carcinoma: evaluation and interdisciplinary management. **Cancer** 2004; 100:900-5.

Cryns VL, Rubio MP, Thor AD, Louis DN, Arnold A. P53 abnormalities in human parathyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1994; 78:1320-4.

DeLellis RA. Parathyroid carcinoma: an overview. **Adv Anat Pathol** 2005; 12:53-61.

Ellis LM, Hicklin DJ. Pathways mediating resistance to vascular endothelial growth factor – targeted therapy. **Clin Cancer Res** 2008; 14:6371-5.

Enamoto K, Uchino S, Ito A, et al. The surgical strategy and the molecular analysis of patients with parathyroid cancer. **World J Surg** 2010; 34:2604-2610.

Erovcic BM, Goldstein DP, Kim D, et al. Parathyroid cancer: outcome analysis of 16 patients treated at the princess margaret hospital. **Head Neck** 2012 Jan 31. [Epub ahead of print].

Fraker DL. Parathyroid cancer. In: De Vita VT Jr., Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. **De Vita, Hellman, and Rosenberg's: cancer: principles and practice of oncology**. 8th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Lippincott Williams' & Wilkins; 2008. p.1682-90.

Harari A, Wring A, Ranvier GF, et al. Parathyroid carcinoma: a 43-year outcome and survival analysis. **J Clin Endocrinol Metab** 2011; 96:3679-86.

Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. Two hundred eighty - six cases of parathyroid carcinoma treated in the U.S. between 1985-1995: a National Cancer Data Base Report. The American College of Surgeons of Commission on Cancer and the American Cancer Society. **Cancer** 1999; 86:538-44.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. **Cell** 2011; 144:646-74.

Juhlin CC, Hoog A. Parafibromin as a diagnostic instrument for parathyroid carcinoma-lone ranger or part of the posse. **Int J Endocrinol** 2010; 12:1-5.

Juhlin CC, Vilablanca A, Sandelin K, et al. Parafibromin immune reactivity: its use as additional diagnostic marker for parathyroid tumor classification. **Endocrine-Related Cancer** 2007; 14:501-2.

Junqueira LC, Carneiro J. **Histologia básica**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. Glandulas endócrinas; p.409-13.

Lee PK, Jarosek SL, Virnig BA, Evasovich M, Tuttle TM. Trends in the incidence and treatment of parathyroid cancer in the United States. **Cancer** 2007; 109:1736-41.

Lumachi F, Ermani M, Marino F, et al. PCNA-LI, Ki-67 immunostaining, p53 activity and histopathological variables in predicting the clinical outcome in patients with parathyroid carcinoma. **Anticancer Res** 2006; 26:1305-8.

Marcocci C, Cetani F, Rubin MR, Silverberg SJ, Pinchera A, Bilezikian JP. Parathyroid carcinoma. **J Bone Mineral Res** 2008; 23:1869-77.

Montenegro FL, Tavare RM, Durazo MD. Clinical suspicion and parathyroid carcinoma management. **Sao Paulo Med J** 2006; 124: 42-4.

Munson ND, Foote RL, Northcutt RC, Tiegs RD, Fitzpatrick LA. Parathyroid carcinoma: is there a role for adjuvant radiation therapy? **Cancer** 2003; 98:2378-8.

Obara T, Fujimoto Y. Diagnosis and treatment of patients with parathyroid carcinoma: an update and review. **World J Surg** 1991; 15:738-44.

Owen RP, Silver CE, Pellitteri PK, Shaha AR, Devaney KO. Parathyroid carcinoma: a review. **Head Neck** 2011; 33:429-36.

Ranvier GG, Khanafshar E, Tacha D, Wong M, Kebebew E, Duh QY. Defining a molecular phenotype for benign and malignant parathyroid tumors. **Cancer** 2009; 115:334-44.

Rodgers ES, Perrier ND. Parathyroid carcinoma. **Curr Opin Oncol** 2006; 18:16-22.

Sadalla JC, Lourenço SV, Sotto MN, Baracat EC, Carvalho JP. Claudin and p53 expression in vulvar lichen sclerosis and squamous-cell carcinoma. **J Clin Pathol** 2011; 64:853-57.

Schantz A, Castleman B. Parathyroid carcinoma: a study of 70 cases. **Cancer** 1973; 31:600-5.

Schulte KM, Gill AJ, Barczynski M, et al. Classification of parathyroid cancer. **Ann Surg Oncol** 2012 Mar 21. [Epub ahead of print]

Shattuck TM, Valimaki S, Obara T, Gaz RD, Clark OH. Somatic and germline mutations of the hrpt2 gene in sporadic parathyroid carcinoma. **N Engl J Med** 2003; 349:1722-9.

Shiota D, Hauache OM, Vieira JGH. Avaliação da incidência e causas de hipercalcemia em Hospital de referência. **Arq Bras Endocrinol Metab** 1997; 41:35-9.

Silveberg SJ, Rubin MR, Faiman C, et al. Cinacalt hydrochloride reduces the serum calcium concentration in inoperable parathyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 2007; 92:3803-8.

Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. **TNM classification of malignant tumor**. 7th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2009. Thyroid gland; p.58-62.

Stojadinovic A, Hoos A, Nissan A, et al. Parathyroid neoplasm: clinical, histopathological, and tissue microarray based molecular analysis. **Hum Pathol** 2003; 34:54-64.

Talat N, Schulte KM. Clinical presentation, staging and long-term evolution of parathyroid cancer. **Ann Surg Oncol** 2010; 17:2156-74.

Vieira JG, Oher M, Hauache OM, Oliveira UM, Delana JM. Parathyroid carcinoma. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2005; 49:811-5.

Wei HC, Harraris A. Parathyroid carcinoma: update and guidelines for management. **Curr Treat Opin Oncol** 2012; 13:11-23.

Wiegand S, Dunne A, Muller HH, et al. Metaanalysis of the significance of matrix metalloproteinases for lymph node disease in patients with head e neck squamous cell carcinoma. **Cancer** 2005; 104:94-100.

ANEXOS

Anexo1 – Ficha de avaliação clínico-epidemiológica

FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA

1. Identificação: _ _ _ (p ex: 0 0 1)
2. Iniciais do nome do Paciente: _____(p ex JRL)
3. Registro Hospitalar (RGH): _____
4. Data de Admissão: dd/mm/aaaa
5. Sexo: () feminino () masculino
6. Data de Nascimento: dd/mm/aaaa
7. Naturalidade: cidade/estado/pais
8. Procedência(s): cidade/estado/pais
9. Tabagismo: () sim () não
10. Etilismo: () sim () não
11. Peso ao diagnóstico: ____kg
12. Altura ao diagnóstico: ____cm
13. Exames pré-operatórios:
PTH pg/mL; Cálcio mg/dL; Fósforo mg/dL; Fosfatase alcalina U/L; Calciúria mg/24h
Ultrassonografia cervical e de vias urinárias
Cintilografia Paratireóide
Densitometria óssea
14. Data da cirurgia(s) e técnica realizada: dd/mm/aaaa
15. Número Anátomo Patológico e descrição macro e microscópica: _____
16. Resultado Imunohistoquímica: _____
17. Resultado avaliação genética: _____
18. Exames pós-operatórios:
PTH pg/mL; Cálcio mg/dL; Fósforo mg/dL; Fosfatase alcalina U/L; Calciúria mg/24h(
0 – 1-3-6-12 meses pós operatório)
Ultrassonografia cervical e de vias urinárias (3 -12 meses pós operatório)
Densitometria óssea (6 - 12 meses pós operatório)
19. Recidiva da doença: () sim () não
20. Tratamento da recidiva: () não () cirurgia () radioterapia () quimioterapia
21. Medicações em uso:

São Paulo, 10 de abril de 2012.

Ao

Dr. José Guilherme Vartanian

Aluna: Joilma Rodrigues de Lima (Mestrado)

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1652/12

“Avaliação clínico-histológica da expressão de marcadores imunoistoquímicos nas hiperplasias e neoplasias de glândula paratireóide para a identificação de pacientes com carcinoma de paratireóide”.

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 10/04/2012, após analisarem as respostas aos questionamentos realizados em reunião de 28/02/2012, **aprovaram** a realização do estudo em referência, datado de 2 de abril de 2012 e tomaram conhecimento dos seguintes documentos:

- Folha de Rosto para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos;
- Termo de Compromisso do Pesquisador com as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde;
- Termo de Dispensa do Consentimento Livre e Esclarecido;
- Declaração sobre os Dados Coletados, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Declaração sobre Uso e Destino do Material Biológico, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Orçamento Financeiro Detalhado;
- Declaração de Infraestrutura e Instalações do Departamento de Anatomia Patológica;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Anatomia Patológica;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia.

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas à assistente do CEP dentro de 12 meses.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Fundação Antônio Prudente-Hospital do Câncer A C Camargo

PROJETO DE PESQUISA

Título: Avaliação clínico-histológica da expressão de marcadores imunoistoquímicos nas hiperplasias e neoplasias de glândula paratireóide para a identificação de pacientes com carcinoma de paratireóide

Pesquisador: José Guilherme Vartanian

Versão: 1

Instituição: Fundação Antônio Prudente-Hospital do Câncer
-A C Camargo

CAAE: 00943012.7.0000.5432

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 9334

Data da Relatoria: 10/04/2012

Apresentação do Projeto:

O estudo será realizado através de dados obtidos retrospectivamente dos prontuários médicos do Serviço de Arquivo Médico e Estatística (SAME) do Centro de Tratamento e Pesquisa Hospital do Câncer A C Camargo da Fundação Antonio Prudente.

Serão revisados os prontuários de pacientes portadores de Carcinoma de Paratireóide, Adenomas e Hiperplasia submetidos à tratamento cirúrgico no Departamento de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia, no período de janeiro de 1980 a dezembro 2011.

Será realizada uma revisão crítica de todas as lâminas histológicas por um único membro do Departameto de Patologia do Hospital AC Camargo.

Objetivo da Pesquisa:

- Levantamento dos pacientes com Carcinoma de Paratireóide tratados no Hospital A.C. Camargo e descrição das suas características clínicas.
- Identificar marcadores imunohistoquímicos diferencialmente expressos nos pacientes tratados no Hospital A. C. Camargo com diagnósticos de carcinoma de paratireóide, adenomas e hiperplasia de paratireóide em comparação com o tecido normal, com material extraído da parafina. Estabelecendo um painel de marcadores que se associem ao fenótipo maligno.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: ausentes.

Benefícios: melhora do tratamento e seguimento dos pacientes futuramente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante, mas necessitam-se melhoramentos na apresentação. Projeto sem formato científico. Deve ser escrito em texto corrente com mais ampla revisão da literatura.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Reescrever o projeto em formato científico inserindo o número de casos estimado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- 1) Reescrever o projeto em formato científico;
- 2) Inserir o número de casos estimado;
- 3) Descrever os critérios de inclusão e exclusão;
- 4) Retirar do projeto a FAP como instituição de financiamento ou apresentar carta desta instituição que comprove tal afirmação;
- 5) Adequar o cronograma do projeto.

Conclusão:

As pendências foram adequadamente resolvidas. O projeto foi reescrito, em formato científico adequado. O número de sujeitos recrutados no centro foi incluído (n=48), assim como os critérios de inclusão e exclusão de casos no estudo. O cronograma foi readequado. Foi corrigida a fonte de financiamento do projeto (recursos próprios do pesquisador). A revisão de literatura foi revista, reforçando a relevância do projeto frente aos resultados já existentes publicados por outros pesquisadores.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

As pendências foram adequadamente respondidas. Projeto aprovado, sem contra-indicações éticas para sua execução.

, 10 de Abril de 2012



Assinado por:

Luiz Paulo Kowalski