

**AVALIAÇÃO CLÍNICA DE PORTADORES DE
MESOTELIOMA PLEURAL E PERITONEAL MALIGNO E
CARACTERIZAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA
LOCAL**

GABRIELA VENTURI

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

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Dr. Vladmir Cláudio Cordeiro de Lima

Co-Orientador: Dr. Clóvis Antônio Lopes Pinto

São Paulo

2020

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada Ensino Apoio ao aluno da Fundação Antônio Prudente*

V469 Venturi, Gabriela
Avaliação clínica de portadores de mesotelioma pleural e peritoneal maligno e caracterização da resposta inflamatória local / Gabriela Venturi – São Paulo, 2020.
67p.
Dissertação (Mestrado)-Fundação Antônio Prudente.
Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.
Orientador: Vladimir Cláudio Cordeiro de Lima

Descritores: 1. Mesotelioma/Mesothelioma. 2. Inflamação/Inflammation. 3. Imuno-Histoquímica/Immunohistochemistry. 4. Estudos Retrospectivos/Retrospective Studies

Elaborado por Suely Francisco CRB 8/2207

*Todos os direitos reservados à FAP. A violação dos direitos autorais constitui crime, previsto no art. 184 do Código Penal, sem prejuízo de indenizações cabíveis, nos termos da Lei nº 9.610/08

DEDICATÓRIA

Dedico este projeto a todos que me influenciaram positivamente na minha trajetória. Em especial ao Dr. Vladimir, meu orientador, pelo incentivo, paciência, compreensão durante todo o projeto.

Dedico esta monografia ao meu marido Júlio que deu todo o suporte e apoio para que eu pudesse desenvolver este projeto. Gratidão no coração por fazer parte da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Vladimir de Lima pela oportunidade e apoio na elaboração deste trabalho.

Ao Dr. Clóvis Antonio Lopes Pinto, pela orientação e apoio.

Ao Dr. Steven Cao, pelo acolhimento e suporte no período em que estive na Austrália.

Aos meus pais e irmãs que sempre me incentivaram a estudar e me desenvolver.

A todas minhas amigas que me acompanharam nessa jornada.

RESUMO

Venturi G. **Avaliação clínica de portadores de mesotelioma pleural e peritoneal maligno e caracterização da resposta inflamatória local.** [Dissertação]. São Paulo: Fundação Antônio Prudente; 2020.

Introdução: O mesotelioma maligno é uma doença rara e agressiva que tem origem no mesotélio e está comumente associada à exposição ao amianto. As opções terapêuticas são limitadas devido ao estágio avançado no qual a maioria dos pacientes é diagnosticado e à má resposta aos tratamentos sistêmicos existentes. Espera-se que a incidência deste tumor aumente na próxima década. Estudos adicionais são necessários para melhor compreensão de sua patogênese e para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. **Material e métodos:** Foi realizado levantamento retrospectivo dos dados de pacientes diagnosticados com mesotelioma maligno pleural e peritoneal, tratados no A.C.Camargo Cancer Center desde de 1998 até dezembro de 2018. Os dados demográficos, clínicos e de tratamento foram coletados a partir das informações contidas em prontuário, codificadas e registradas em ficha de coleta específica. Sobrevida global foi calculada pelo método de Kaplan-Meier e comparada entre os subgrupos de interesse pelo teste de log-rank. Para a análise do infiltrado inflamatório foram selecionadas 25 amostras de mesotelioma pleural e 25 de mesotelioma. A avaliação da composição do infiltrado inflamatório foi realizada numa amostra independente de 47 casos incluídos num TMA disponível no acervo do A.C.Camargo Cancer Center, com anticorpos contra CD3, CD8, CD4, CD68, CD163, FOXP3 e CD20. A intensidade do infiltrado e o número de células do infiltrado foram comparados pelo teste Mann-Whitney. **Resultados:** Identificamos 146 casos de mesotelioma. O mesotelioma pleural foi mais frequente em pacientes do sexo masculino e em pacientes com história prévia de exposição ao amianto. Os pacientes com mesotelioma pleural também apresentaram pior performance status ao diagnóstico e receberam radioterapia mais frequentemente. Já os pacientes com mesotelioma peritoneal apresentavam-se mais frequentemente no estágio IV. O infiltrado inflamatório foi mais intenso no compartimento pleural (estromal) dos mesoteliomas pleurais e observou-se um maior número de células com marcação para CD68 também neste subgrupo. Os pacientes com mesotelioma pleural apresentaram pior sobrevida global. A performance clínica esteve associada à sobrevida global nos tumores de ambas topografias. Os pacientes portadores de

mesotelioma pleural que receberam radioterapia apresentaram maior sobrevida global.

Conclusão: Os mesoteliomas pleurais e peritoneais estão associados a características clínicas distintas. Observamos uma diferença na intensidade e composição do infiltrado inflamatório nos mesoteliomas pleurais, possivelmente relacionada à infiltração por macrófagos. O mesotelioma peritoneal está associado com melhor sobrevida apesar de um maior número de pacientes ser diagnosticado em estágio avançado. A performance clínica influencia significativamente a sobrevida dos pacientes com mesotelioma.

Descritores: Mesotelioma. Inflamação. Imuno-Histoquímica. Estudos Retrospectivos.

SUMMARY

Venturi G. **Clinical evaluation of patients with malignant pleural and peritoneal mesothelioma and characterization of the local inflammatory response.** [Dissertação]. São Paulo: Fundação Antônio Prudente; 2020.

Introduction: Malignant mesothelioma is a rare and aggressive disease that originates in the mesothelium and is commonly associated with exposure to asbestos. Therapeutic options are limited due to the advanced stage in which most patients are diagnosed and the poor response to existing systemic treatments. The incidence of this tumor is expected to increase in the next decade in Brazil. Additional studies are needed to better understand its pathogenesis and to develop new therapeutic strategies. **Material and Methods:** We retrospectively collected data from patients diagnosed with malignant pleural and peritoneal mesothelioma, treated at the A.C.Camargo Cancer Center from 1998 to 2018. Demographic, clinical and treatment data were recovered from medical records, coded and recorded in a specific form. Overall survival was calculated using the Kaplan-Meier method and compared between subgroups of interest using the log-rank test. For the analysis of the inflammatory infiltrate, 25 samples of pleural mesothelioma and 25 of mesothelioma were selected. The evaluation of the composition of the inflammatory infiltrate was performed in an independent sample of 47 cases (pleural and peritoneal), included in a TMA available in the Pathology archive of A.C.Camargo Cancer Center, using antibodies against CD3, CD8, CD4, CD68, CD163, FOXP3 and CD20. The intensity of the infiltrate and the number of cells of the infiltrate were compared using the Mann-Whitney test. **Results:** We identified 146 cases of malignant mesothelioma. Pleural mesothelioma was more frequent among male patients and patients with a previous history of asbestos exposure. Patients with pleural mesothelioma had also poorer performance status at diagnosis and received radiation therapy more frequently. Patients with peritoneal mesothelioma were more frequently diagnosed in stage IV. Pleural mesotheliomas were associated with a more intense inflammatory infiltrate in the pleural (stromal) compartment and a larger number of CD68 positive cells. Patients with pleural mesothelioma had worse overall survival. Clinical performance was associated with overall survival in both topography, and patients with pleural mesothelioma who received radiotherapy had longer overall survival. **Conclusion:** Pleural and peritoneal mesotheliomas are associated with different clinical

characteristics. We observed a difference in the intensity and composition of the inflammatory infiltrate in pleural mesotheliomas, possibly related to macrophage infiltration. Peritoneal mesothelioma is associated with better survival despite the fact that more patients are diagnosed at an advanced stage. Clinical performance significantly influences the survival of patients with mesothelioma.

Keywords: Mesothelioma. Inflammation. Immunohistochemistry. Retrospective Studies

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Resposta imune inata e adaptativa	16
Figura 2	Fluxograma dos casos clínicos e casos disponíveis para avaliação do infiltrado inflamatório.	32
Figura 3	Microfotografia de amostras representativas de imunomarcção contra CD8	37
Figura 4	Microfotografia de amostras representativas de imunomarcção contra CD4	38
Figura 5	Microfotografia de amostras representativas de imunomarcção contra CD3	38
Figura 6	Comparação do número de células com marcação para CD3 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal.....	40
Figura 7	Comparação do número de células com marcação para CD4 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA	40
Figura 8	Comparação do número de células com marcação para CD68 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA	41
Figura 9	Comparação do número de células com marcação para CD8 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA	41

Figura 10	Comparação do número de células com marcação para CD20 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA.....	42
Figura 11	Comparação do número de células com marcação para FOXP3 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA.....	42
Figura 12	Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural e Peritoneal identificados no A.C.Camargo Cancer Center no período de 1998 a 2018.....	43
Figura 13	Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o <i>performance status</i> avaliado pelo ECOG.....	44
Figura 14	Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com o <i>performance status</i> avaliado pelo ECOG.....	45
Figura 15	Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno de acordo a administração de radioterapia.....	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação Histológica do Mesotelioma Maligno	10
Tabela 2	Marcadores imuno-histoquímicos para diagnóstico e diferenciação do Mesotelioma Maligno Epitelióide.....	11
Tabela 3	Anticorpos e condições utilizados na imuno-histoquímica para avaliação do infiltrado inflamatório em mesotelioma peritoneal e pleural.....	29
Tabela 4	Análise descritiva dos casos de Mesotelioma Pleural versus Mesotelioma Peritoneal identificados no A.C.Camargo Cancer Center no período de 1998 a 2018.....	34
Tabela 5	Associação de características clínicas, demográficas e de tratamento com a topografia do mesotelioma.....	35
Tabela 6	Comparação da intensidade do infiltrado inflamatório dos pacientes com mesotelioma pleural versus peritoneal dos pacientes identificados no A.C.Camargo Cancer Center	36
Tabela 7	Descrição do número de células com marcação positiva para os anticorpos estudados (CD3, CD20, CD68, CD4, FOXP3 e CD8) encontrados nas amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA	39

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BAP1	<i>BRCA1 associated protein-1</i> (proteína-1 associada a BRCA1)
BRICS	Brasil, Rússia, Índia, China
CRS	Cirurgia Citorredutora
EGFR	Fator de Crescimento Epidérmico
EORTC	Organização Europeia para a Pesquisa e o Tratamento do Câncer
EUA	Estados Unidos da América
HGF	Crescimento de Hepatócitos
HIPEC	Quimioterapia Intraperitoneal Hipertérmica
IGF	Fator Semelhante à Insulina
MH	Células Mesoteliais Humanas
MM	Mesotelioma Maligno
MMD	Mesotelioma Maligno Difuso
MMP	Mesotelioma Pleural Maligno
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBCR	Registro de Câncer da População Brasileira
PDGF	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PE	Pneumonectomia Extrapleural
RNS	Espécies Reativas de Nitrogênio
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SEER	<i>Surveillance Epidemiology na End Results</i>
SRMP	<i>Soluble Mesothelin-Related Protein</i>
TC	Tomografia Computadorizada
TGF-β	Fator de Crescimento Transformador Beta
TILs	Linfócitos Infiltrantes Tumorais
TMA	<i>Tissue Microarray</i>
TNFA	Fator de Necrose Tumoral-Alfa
VEGF	Fator de Crescimento do Endotélio Vascular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Epidemiologia.....	1
1.2	Papel do Amianto na Patogênese do Mesotelioma.....	33
2	CARCINOGENESE DO MESOTELIOMA.....	5
2.1	Genes e vias bioquímicas envolvidas no Mesotelioma Maligno.....	6
2.1.1	Mutação de <i>BAP1</i>	6
2.1.2	Metilação de DNA e microRNAs na Patogênese do Mesotelioma	7
2.2	Apresentação clínica, diagnóstico e classificação	8
2.3	Biomarcadores em Mesotelioma	13
2.4	Sistema Imunológico	16
2.4.1	Processo Inflamatório	17
2.4.2	Inflamação e seu papel no Mesotelioma.....	17
2.5	Tratamento do Mesotelioma	18
2.5.1	Cirurgia.....	18
2.5.2	Quimioterapia	21
3	JUSTIFICATIVA	25
4	OBJETIVOS	26
4.1	Objetivo Geral	26
4.2	Objetivos Específicos	26
5	MATERIAL E MÉTODOS	27
5.1	Casuística.....	17
5.1.1	Critérios de inclusão	27
5.1.2	Critérios de exclusão.....	27
5.2	Coleta de dados e caracterização da amostra.....	27
5.3	Análise histológica e imuno-histoquímica.....	28
5.4	Análise Estatística.....	29

5.5	Financiamento.....	30
6	RESULTADOS	31
6.1	Fluxo de seleção de casos	31
6.2	Dados Demográficos e Clínicos	32
6.3	Avaliação da Intensidade do Infiltrado Inflamatório nos Mesoteliomas Pleurais e Peritoneais.....	36
6.4	Avaliação da composição do infiltrado inflamatório nos mesoteliomas pleurais e peritoneais	37
6.5	Análise de Sobrevida Global	43
7	DISCUSSÃO	47
8	CONCLUSÕES.....	54
9	REFERÊNCIAS.....	55

ANEXOS

Anexo 1 Cartas de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP

Anexo 2 Certificado do trabalho apresentado no Next Frontiers to Cure Cancer no dia 18 de maio de 2019.

Anexo 3 Certificado do Observship realizado no Hospital Oncológico Chris O'Brien Life House / Austrália.

APÊNDICES

Apêndice 1 Ficha Coleta de dados

Apêndice 2 Curvas de sobrevida global de acordo com características clínicas e de tratamento

1 INTRODUÇÃO

1.1 EPIDEMIOLOGIA

O mesotelioma é um câncer raro e está associado à exposição ocupacional e ambiental ao amianto em mais de 80% dos casos (Marinaccio et al. 2012). O primeiro caso reportado de Mesotelioma Maligno (MM) associado ao asbesto foi em 1967, nos EUA, em que houve uma epidemia de mineradores com MM e foi demonstrado a relação entre a exposição ao amianto com o desenvolvimento da doença. Este câncer era extremamente raro até a segunda metade do século 20, porém a incidência vem aumentando significativamente e, atualmente, são diagnosticados 2.000 a 3.000 novos casos de MM por ano nos EUA. O aumento contínuo da incidência de mesotelioma pleural maligno (MPM) tem sido associado ao uso disseminado de amianto no século passado (Grondin et al. 1990).

A verdadeira magnitude da epidemia de mesotelioma a nível global ainda é desconhecida, principalmente devido à falta de dados dos países industrializados, e estimativas recentes sugerem que a epidemia não está desaparecendo. Atualmente, o ônus da utilização do amianto está concentrado no grupo dos BRICS (no Brasil, na Rússia, na Índia e na China), com exceção da África do Sul (Delgermaa et al. 2011).

O amianto era amplamente utilizado na construção naval e indústrias entre os anos de 1940 e 1970 nos EUA e na Europa. Cerca de 70.000 novos casos de MPM são esperados nos Estados Unidos ao longo dos próximos 20 anos. Na Europa, o pico de incidência de MPM era previsto para ocorrer no período entre 2015-2020, com uma incidência prevista de 250.000 casos em 40 anos (Carbone et al. 2002).

Os dados epidemiológicos sobre o mesotelioma maligno variam amplamente entre os países. As taxas mais altas são relatadas em alguns países industrializados, como Reino Unido, Austrália e Nova Zelândia, enquanto algumas das taxas mais baixas relatadas são do Japão, Eslovênia e outros países da Europa central. A maior taxa de incidência relatada é do Reino Unido, com 3,6 e 0,7 casos por 100.000 pessoas para homens e mulheres, respectivamente (Kim et al. 2017). Enquanto isso, os Estados Unidos têm uma incidência na faixa intermediária, de cerca de 1,94 e 0,41 por 100.000 homens e mulheres, respectivamente. Nos EUA, de 2003 a 2008, foram registrados mais de 3.000 casos por ano, com um pico de 3.284 casos em 2005 e uma redução de 2,6% ao ano desde então. Estimativas sugerem que haverá aproximadamente

94.000 casos de mesotelioma pleural e 15.000 casos de mesotelioma peritoneal diagnosticados entre 2005 e 2050 nos EUA (Price e Ware 2004).

No Brasil, a utilização de amianto iniciou-se nos anos 40 e, atualmente, é considerado um dos principais países envolvidos na produção, consumo e exportação. O município de Minaçu, localizado na região norte do estado de Goiás, tem a maior mina de amianto em atividade no Brasil, conhecida como Cana Brava, descoberta em 1962 (Morales-Soriano et al. 2018).

Uma pesquisa registrou 50 óbitos associados ao mesotelioma maligno em 1980, no Brasil, aumentando para 179 mortes em 2003, e totalizando 2.414 óbitos entre os anos de 1983 a 2003, porém, até o momento os casos de mesotelioma têm permanecido subnotificados, resultando na baixa incidência no país (Algranti et al. 2015).

Os dados de consumo disponíveis de 1961 a 2012 nos permitem estimar que mais de 6.000.000 t de asbesto permanecem no país como fibras brutas, produtos transformados contendo amianto, materiais e detritos. A produção e o consumo de produtos contendo amianto estão concentrados na Região Sudeste, principalmente no Estado de São Paulo, onde metade das indústrias típicas de amianto se instalou (Tsao et al. 2009).

Mais de 98% do consumo interno é utilizado na fabricação de produtos de cimento-amianto, principalmente materiais para telhados. Estima-se que cerca de 40 a 50% das residências brasileiras tenham produtos de fibrocimento instalados (Algranti et al. 2015). A produção de materiais de fibrocimento é compartilhada por sete grupos industriais. O grupo Eternit brasileiro responde por 100% da mineração de crisotila (uma das formas minerais do amianto) no Brasil, 100% das exportações e 50% da transformação do amianto no país (Silva e Etulain 2010).

A doença acomete predominantemente homens (5:1), e o risco aumenta com a idade, entre os 45 aos 85 anos. Em um estudo recente realizado no Brasil, evidenciou-se que o mesotelioma pleural maligno é o tipo de câncer pleural com maior mortalidade entre jovens de até 30 anos (Tsao et al. 2009).

O mesotelioma maligno é mais comumente encontrado na pleura, sendo o peritônio a segunda localização mais comum. Nos EUA, dos 2.500 casos em homens, 85% foram diagnosticados na pleura e 7% no peritônio. Dos 700 casos em mulheres, 73% foram diagnosticados na pleura e 18% no peritônio (Bridida et al. 2007)

Até agora, os casos de mesotelioma permanecem obscurecidos no Brasil por causa da taxa de incidência relativamente baixa, período de latência longo, diferenças nos perfis

econômicos regionais e pouca conscientização por parte dos profissionais de saúde em suspeitar e identificar a doença.

1.2 PAPEL DO AMIANTO NA PATOGÊNESE DO MESOTELIOMA

Asbesto e *amianto* são nomes comerciais de um grupo heterogêneo de minerais facilmente separáveis em fibras. Apresentando composições químicas e cristalográficas diversas, essas fibras têm usos e classificações comerciais que variam muito de um mineral para outro. Listam-se mais de 350 minerais com estrutura fibrosa, encontrados como minerais essenciais ou acessórios nas rochas magmáticas e metamórficas (Becklake 1998). O amianto é um mineral amplamente utilizado ao redor do mundo durante décadas, principalmente entre os anos de 1950 e 1970, na fabricação de produtos, tais como: fibrocimento para a produção de caixas, telhas, lonas de freios de automóveis, entre outros. O mineral é classificado em seis variações: serpentina (crisotila – amianto branco), anfíbolios (amosita, actinolita – amianto marrom), e antofilita, crocidolita e tremolita (amianto azul) (IARC 1973).

A associação entre exposição ao amianto anfíbolio e desenvolvimento de MM é bem aceita. Em particular, a crocidolita é geralmente considerada o tipo de amianto mais oncogênico. Considera-se que as fibras longas e finas (especialmente $\geq 8,0\mu\text{m}$ de comprimento e $\leq 0,25\mu\text{m}$ de largura) são mais perigosas, porque elas têm biopersistência mais longa na pleura. Essas fibras são capazes de penetrar no pulmão e causar danos teciduais repetidos, reparo tecidual e inflamação local (Yang et al. 2009).

A exposição ao amianto e outros minerais fibrosos contribui para a asbestose e alguns tipos de câncer de pulmão, e é a principal causa de mesotelioma, que surge de células mesoteliais da pleura, peritônio e pericárdio (Carbone et al. 2002).

Embora a relação entre exposição às fibras de amianto e a patogênese do mesotelioma seja bem aceita ainda não existe uma hipótese unificadora de como exatamente isso acontece. Donaldson et al. (2010) enfatizam que há translocação de uma fração de partículas e fibras depositadas para o espaço pleural, com essa translocação há uma retenção da fibra que serve então como fator iniciante para a lesão mesotelial e a inflamação, e com o tempo para patologias pleurais, incluindo o mesotelioma (Donaldson et al. 2010).

Alguns cientistas sugerem que as fibras de amianto desempenham um papel importante na patogênese do MM porque as fibras de crisotila induzem danos ao DNA e anomalias cromossômicas em células mesoteliais (Cugell e Kamp 2004). Outros autores propuseram, em vez disso, que o crisotila não causa MM e que é o anfíbolio que frequentemente contamina a

crisotila que causa o MM (Kane 1993). Portanto, ainda não há um consenso de como ocorrem esses eventos.

Dos dois tipos básicos de amianto, as fibras anfibólicas são as mais carcinogênicas. Sua maior biopersistência e maior teor de ferro catalisam a produção de radicais reativos de oxigênio. Quando inaladas, as fibras são muito grandes para serem fagocitadas por macrófagos pulmonares e, ao longo dos anos, voltam a penetrar nas superfícies serosas da pleura, do pericárdio e do peritônio. A crocidolita é considerada o tipo de amianto mais oncogênico. De fato, acredita-se que as fibras longas e finas da crocidolita, sejam as mais perigosas, pois são capazes de penetrar no pulmão, resultando em ciclos repetidos de dano e reparo nos tecidos, bem como inflamação local (Donaldson et al. 2010).

O amianto pode levar a uma variedade de outras condições, tais como placas pleurais benignas, espessamento pleural difuso, pleurite benigna com efusão e asbestose. Placas pleurais são marcadores mais comuns de exposição ao asbesto. Todas as fibras de asbesto têm igual capacidade de induzir placas pleurais, porém a extensão das placas não apresenta relação clara com exposição cumulativa (Capelozzi 2001).

No entanto, não se sabe por que o MPM ocorre em relativamente poucos indivíduos dentro da grande população total exposta ao asbesto. Apenas 2% a 10% dos indivíduos com exposição pesada e prolongada ao amianto desenvolve MPM. Por outro lado, até 80% dos pacientes com MPM têm histórico de exposição ao asbesto (Yang et al. 2009).

2 CARCINOGENESE DO MESOTELIOMA

O mecanismo de carcinogênese MPM induzida pelo amianto não é totalmente compreendido. Células mesoteliais humanas (MH) são muito suscetíveis à citotoxicidade do amianto, e muitos eventos patogênicos podem contribuir para a carcinogênese durante o longo período de latência entre a exposição ao asbesto e o desenvolvimento do tumor (Zucali et al. 2011).

Um trabalho recente demonstrou papéis críticos para o fator de necrose tumoral-alfa (TNFA) e a sinalização do fator nuclear-kB (NF-kB) nas respostas das células MH ao asbesto. A crocidolita causa acúmulo de macrófagos na pleura e no pulmão, e esses macrófagos liberam TNFA quando entram em contato com as fibras. A crocidolita também induz células MH a expressar o receptor de TNFA, TNF-R1, bem como a secretar TNFA (provocando assim respostas parácrinas e autócrinas) (Yang et al. 2016).

A ativação da via NF-kB pelo TNFA permite que as células mesoteliais com danos no DNA induzidos pelo asbesto se dividam ao invés de morrer e, se houver danos genéticos suficiente, as células MH podem eventualmente evoluir para MPM. De fato, o amianto causa rupturas na fita de DNA mediadas por radicais livres cuja produção é catalisada por ferro. Além disso, ao causar a liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS), as fibras de amianto podem indiretamente induzir genotoxicidade, incluindo substituições de base, deleções, rearranjos, inserções, trocas de cromátides-irmãs e aberrações cromossômicas, o que pode levar a um amplo espectro de mutações em células de mamíferos (Xu et al. 2002).

A liberação crônica de HMGB1 em torno de áreas de depósitos de amianto sustenta o processo inflamatório. Esses resultados fornecem uma lógica que liga a morte celular mesotelial induzida pelo asbesto à reação inflamatória crônica que está associada à carcinogênese associada ao amianto (Galffy et al. 1999).

Várias outras citocinas e fatores de crescimento têm sido implicados na carcinogênese pelo asbesto: interleucinas como IL-6 e IL-8, que estão envolvidas no desenvolvimento de novos capilares sanguíneos e no crescimento tumoral; fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que também promove a angiogênese tumoral; fator de crescimento de hepatócitos (HGF), que estimula a migração de células do mesotelioma e a invasão tumoral; fator de crescimento transformador beta (TGF- β), que está implicado no crescimento do tumor; fator de

crescimento derivado de plaquetas (PDGF), que regula a proliferação de células MPM; e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), que promove a proliferação tumoral e a migração celular (Galffy et al. 1999).

2.1 GENES E VIAS BIOQUÍMICAS ENVOLVIDAS NO MESOTELIOMA MALIGNO

O conhecimento dos processos celulares que favorecem ou auxiliam no processo de desenvolvimento do câncer é de extrema importância para a criação de possíveis terapias que visem ativar ou desativar determinadas vias bioquímicas, tendo como efeito principal a supressão do crescimento tumoral (Narasimhan et al. 1998).

No caso particular do Mesotelioma Maligno (MM), os genes que possuem seus papéis bem estabelecidos são os seguintes: *p16 INK4a*, *p14ARF*, *NF2* e *BAP1*. Entretanto, apesar dos papéis bem estabelecidos dos genes *TP53* e *PTEN* em diversos outros tipos de câncer, o papel desses ainda é controverso no MM (Narasimhan et al. 1998).

De fato, a literatura demonstra que o *p16 INK4a* e o *p14ARF* estão deletados em 80-90% dos casos de MM (Bolden et al. 2006). Do ponto de vista histológico, o MM do tipo epitelial apresenta aproximadamente 70% de alteração nesses genes, enquanto os demais (bifásico e sarcomatoide) apresentam taxas próximas a 100% (Narashimhan et al. 1998).

Quando interage com as células mesoteliais, o amianto desencadeia a ativação de múltiplas vias de sinalização celular. A via do NF-kB leva à transcrição de múltiplos genes pró-sobrevivência que bloqueiam a apoptose e promovem o desenvolvimento do tumor (Yang et al. 2010). As fibras de crocidolita também estimulam a via de sinalização de ERK1/2 (*extracellular signal regulated kinase 1/2*) via autofosforilação do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), que aumenta a atividade da proteína ativadora AP-1 e a mitose das células mesoteliais (Ramos-Nino et al. 2002).

2.1.1 Mutação de *BAP1*

Estudos sobre o efeito de mutações germinativas no desenvolvimento do câncer trouxeram um grande avanço, pois frequentemente o câncer é associado ao efeito de mutações somáticas relacionadas ou não a fatores externos, tais como amianto, cigarro e radiação, entre outros. Diante disso, é de suma importância melhor compreender quais genes e por quais mecanismos as mutações germinativas atuam no desenvolvimento do MM, pois pessoas que

possuem tais suscetibilidades genéticas devem evitar ao máximo a exposição aos fatores condicionantes desse câncer. Para tanto, são necessárias técnicas capazes de detectar essas mutações na população de forma acessível e reprodutível, pois até o momento tal monitoramento é realizado em pequena escala ou dentro de estudos investigacionais (Strizzi et al. 2001).

O gene *BAP1* é um supressor de tumor localizado no cromossomo 3p21.3 e codifica a proteína *BRCA1 associated protein-1* (proteína-1 associada a BRCA1), a qual possui um importante papel na regulação da progressão do ciclo celular, na modulação da cromatina, na transcrição gênica e no reparo de DNA (Cheung et al. 2013). A proteína BAP1 está localizada no núcleo e funciona como uma enzima deubiquitinante, regulando especificamente o remodelamento da cromatina, funcionando como um mediador de respostas de danos ao DNA e supressão do crescimento (Bott et al. 2011).

Evidências recentes têm mostrado que a BAP1 desempenha um papel na modulação da apoptose induzida pelo cálcio e, conseqüentemente, a sua mutação pode resultar no acúmulo de células danificadas pelo DNA e maior suscetibilidade ao desenvolvimento de malignidade (Bononi et al. 2017).

Recentemente, mutações germinativas no *BAP1* foram detectadas em famílias com elevados índices de incidência de MM, caracterizando assim uma síndrome que predispõe ao desenvolvimento de MM (Cheung et al. 2013). Além dessas mutações germinativas, mutações somáticas no gene *BAP1* também foram identificadas em aproximadamente 20% dos MM (Zauderer et al. 2013).

O diagnóstico precoce em indivíduos suspeitos com síndrome *BAP1* é fundamental para prevenir o surgimento de doenças associadas com as mutações desse gene. Dessa forma, torna-se necessária uma abordagem multidisciplinar que envolva médicos de família, patologistas e geneticistas, a fim de detectar, acompanhar, aconselhar e tratar indivíduos e famílias acometidos por essa síndrome (Cheung et al. 2013).

2.1.2 Metilação de DNA e microRNAs na Patogênese do Mesotelioma

Estudos recentes apontam a metilação de DNA e os microRNAs como fortes fatores que auxiliam no desenvolvimento do câncer e como ferramentas a serem exploradas no tratamento e diagnóstico do mesmo. Em MM, a análise do perfil de metilação de vários genes foi capaz de distinguir entre tecidos normais e malignos, fato que é de grande importância devido à dificuldade da distinção entre os mesmos (Christensen et al. 2009), além de poder se tornar uma ferramenta importante para o diagnóstico de MM (Goto et al. 2009).

Estudos de microRNA têm demonstrado resultados interessantes. Os microRNAs são capazes de regular e modular a expressão gênica, sendo a expressão desses bastante alterada no câncer (Jansson e Lund 2012). De fato, foram demonstradas diferenças entre a expressão dos microRNAs entre tecidos normais e malignos, além de perfis de expressão específicos de microRNAs em cada tipo histológico de MM. Ademais, intensas pesquisas têm sido desenvolvidas, sendo proposto o uso desses em MM como ferramenta de diagnóstico, marcadores de prognóstico e como um possível tratamento para o MM (Guled 2009).

2.2 APRESENTAÇÃO CLÍNICA, DIAGNÓSTICO E CLASSIFICAÇÃO

A incidência de mesotelioma maligno permanece em crescimento, e a detecção precoce e o tratamento efetivo da doença mantêm-se difíceis (Yang et al. 2009).

O mesotelioma maligno pleural é um câncer agressivo, raro, com baixa sobrevida. O período de latência entre o tempo de exposição inicial e o diagnóstico é cerca de 30 anos. A doença geralmente acomete os pacientes entre os 50 e 70 anos de idade. Em média, após o diagnóstico, pacientes com a doença localizada sobrevivem entre 12 a 36 meses, e pacientes com doença avançada, entre 8 a 14 meses. A maioria dos pacientes recém-diagnosticados apresentam doença avançada, e o tratamento de primeira linha prolonga a sobrevida em cerca de 3 meses em média (Khan et al. 2006).

Devido ao longo período de latência, há dificuldade de diagnosticar precocemente a doença, pois não há métodos de imagem ou marcadores sanguíneos sensíveis ou específicos para identificar esta patologia em estágio inicial (Pass et al. 2009).

Raramente, o mesotelioma pleural é localizado, benigno e prontamente ressecável para a cura (Yang et al. 2009).

Os sintomas clínicos iniciais para a maioria dos pacientes com MPM são dor torácica constante e dispneia progressiva. A dispneia normalmente é resultado da presença de derrame pleural, e a dor torácica é causada pela invasão tumoral da parede torácica. Outros sintomas frequentes são tosse seca, febre, astenia, perda de peso e sudorese noturna. A doença é geralmente unilateral (95%), localizada predominantemente no hemitórax direito. As manifestações clínicas aparecem quando o câncer se encontra em estádios mais avançados e o período entre a apresentação inicial até o diagnóstico é em média de 3 meses (Khan et al. 2006).

Exames de imagem, citologia, anatomia patológica e exame clínico são métodos para realizar o diagnóstico do MPM. Radiografias de tórax e exame físico irão confirmar derrame

pleural entre 80 a 90% dos casos, porém conforme a doença avança existe uma tendência de existir menos fluido pleural (Khan et al. 2006).

A tomografia com contraste é um exame sensível e mostrará o derrame pleural, o tamanho dos linfonodos do hilo e do mediastino e a presença de massas pleurais. Este exame, agregado à ressonância magnética do tórax com contraste, incluindo imagens coronal e sagital, são exames especialmente importantes para pacientes com potencial de cirurgia curativa (Khan et al. 2006).

A biópsia guiada é considerada um exame informativo para realizar o diagnóstico em 87% dos casos, porém o exame que permite precisão de 95% na investigação da doença é a biópsia guiada por vídeo-toracoscopia (Khan et al. 2006).

A classificação histológica do mesotelioma é mostrada na Tabela 1. Os principais tipos histológicos são: epitelioide (50-70%), sarcomatoide (7%-20%) e misto ou bifásico (20-35%). Além dos três tipos histológicos de mesotelioma maligno, existem vários subtipos incomuns e raros com potencial de diagnóstico incorreto, como mesotelioma sarcomatóide desmoplásico, mesotelioma de pequenas células e mesotelioma maligno linfo-histiocitóide (susceptível de erro de diagnóstico diferencial com o linfoma de Hodgkin ou não-Hodgkin) (Henderson et al. 1998). Os subtipos histológicos são: tubular, papilar, de células gigantes, de células pequenas, mixoide e sarcomatoide. Pacientes com tumores sarcomatoides e bifásicos têm sobrevida significativamente pior quando comparados a pacientes com mesotelioma epitelioide. O tipo desmoplásico é raro, correspondendo provavelmente a 1–2% dos casos, e as variantes aparecem esporadicamente. Diversos estudos recentes abordaram esse tópico, revelando um comportamento agressivo de MM epitelioídes com características pleomórficas (Meyerhoff et al. 2015).

Análises histológicas ajudam a determinar os subtipos que estão presentes no tecido, entretanto o material da biópsia deve ser submetido à análise imuno-histoquímica, pois suas características morfológicas podem ser semelhantes às do adenocarcinoma de pulmão (Khan et al. 2006; Galateau-Salle et al. 2015).

Tabela 1 - Classificação Histológica do Mesotelioma Maligno.

1.	Mesotelioma epitelióide
2.	Mesotelioma sarcomatóide
2.1	Mesotelioma desmoplásico
3.	Mesotelioma bifásico
4.	Variantes
4.1	Mesotelioma difuso
4.2	Mesotelioma anaplásico
4.3	Mesotelioma bem diferenciado
5.	Outros

Fonte: Meyerhof et al. (2015)

As colorações imuno-histoquímicas são atualmente o método de escolha para investigação do tipo de câncer, devido à simplicidade e facilidade dessa técnica. Muitos anticorpos foram desenvolvidos para uso em técnicas de imuno-histoquímica que visam diagnosticar o mesotelioma. Não há nenhum marcador conhecido com 100% de sensibilidade e 100% de especificidade para mesotelioma ou adenocarcinoma, de modo que os painéis de anticorpos para células mesoteliais e carcinomas são necessários para complementar o diagnóstico. Portanto, é recomendada utilização de painéis de anticorpos com marcadores positivos e negativos para obtenção de um resultado mais específico (Henderson et al. 2013) (Tabela 2).

A circunstância mais comum na qual a imuno-histoquímica favorece o diagnóstico de mesotelioma maligno é a separação da variante epitelióide de outros carcinomas que podem envolver a pleura. O diagnóstico diferencial mais comum neste cenário é o carcinoma primário do pulmão. Devido à especificidade e à sensibilidade, a calretinina, as citoqueratinas 5/6, WT-1 e D2-40 são empregados como marcadores mesoteliais, e o antígeno carcinoembrionário (CEA), B72.3, Bg8, BerEP4 e MOC-31 como marcadores de carcinoma. Nessa situação, recomenda-se o uso de pelo menos dois desses marcadores mesoteliais e dois desses marcadores de carcinoma, além do TTF-1 (Husain et al. 2013).

Tabela 2 - Marcadores imuno-histoquímicos para diagnóstico e diferenciação do Mesotelioma Maligno Epitelióide.

Marcadores Mesoteliais		
Marcadores	Sensibilidade	Especificidade versus Adenocarcinoma de Pulmão
Calretinina	> 90%	90%–95%
CK5/6	75%–100%	80%–90%
WT1	70%–95%	~100%
D2-40	90%–100%	85%
Adenocarcinoma (Marcadores Epiteliais Positivos)		
Marcadores	Sensibilidade	Especificidade versus Mesotelioma Maligno
MOC31	95%–100%	85%–98%
BerEP4	95%–100%	74%–87%
BG8 (Lewis Y)	90%–100%	93%–97%
B72.3	25%–85%	> 95%
Monoclonal	80%–100%	> 95%
Órgão Específico: Pulmão		
Marcadores	Sensibilidade	Especificidade versus Mesotelioma Maligno
TTF1 (8G7G3/1)	~80%	Alto
Napsin A	~80%	Alto

Fonte: Henderson et al. (2013)

A morfologia do Mesotelioma Maligno Difuso-MMD epitelióide assemelha-se ao do carcinoma de células escamosas, nesta situação, a avaliação da expressão de p40 ou p63 é útil, porque a coloração nuclear com estes anticorpos é forte e difusamente positiva no carcinoma de células escamosas, o que não ocorre no mesotelioma (Galateau-Salle et al. 2015).

O mesotelioma peritoneal, também é de difícil diagnóstico, devido aos seus sintomas vagos e inespecíficos. A queixa inicial mais comum é a distensão abdominal, presente em 30 a 80% dos pacientes. A dor abdominal é o segundo sintoma mais comum em 27 a 58% dos pacientes que apresentam essa queixa (Gelder et al. 1989). A dor é geralmente difusa e inespecífica, embora em casos raros o paciente possa apresentar abdome agudo devido à obstrução intestinal maligna (Sethna e Sugarbaker 2005).

Frequentemente, também se queixam de saciedade precoce, perda de peso e náusea. Outras apresentações raras incluem hérnia de início recente, febre de origem desconhecida, sudorese noturna e o diagnóstico ocasional encontrado na laparoscopia (Sugarbaker et al. 2000).

Devido à natureza não específica destes sintomas, o diagnóstico muitas vezes é tardio. O tempo médio entre o diagnóstico e o início dos sintomas iniciais geralmente é aproximadamente de 4 a 6 meses. Devido a este tempo da apresentação dos sintomas até o diagnóstico, não é surpreendente que quase todos os casos de mesotelioma peritoneal tenham alguma disseminação em toda a cavidade abdominal (Kaya et al. 2014).

Ainda não existe uma modalidade de imagem específica para diagnóstico no mesotelioma peritoneal maligno. No entanto, a modalidade de primeira linha amplamente aceita é a tomografia computadorizada (TC), que geralmente é um dos primeiros exames de imagem obtidos quando um paciente apresenta dor e distensão abdominal. O uso de imagens adicionais raramente é necessário para o estadiamento, a menos que clinicamente indicado, pois a disseminação extra-abdominal é rara (Deraco et al. 2008).

Na TC, o mesotelioma peritoneal maligno aparece como uma massa de tecido mole, sólida e heterogênea, com margens irregulares que aumentam com o uso de contraste intravenoso (Busch et al. 2002). A falta de um local primário sem envolvimento linfonodal ou metástases à distância ajuda a diferenciar o mesotelioma peritoneal de outras malignidades intra-abdominais (Deraco et al. 2008). A ascite é encontrada em 60 a 100% dos pacientes recém-diagnosticados (Kebapci et al. 2003). Outros achados incluem espessamento ou massas no omento, nódulos mesentéricos, espessamento peritoneal, envolvimento diafragmático, recorte dos órgãos intra-abdominais, como fígado e baço, e ascite loculada (Ros et al. 1991).

Marcadores séricos têm utilidade limitada para fins de diagnóstico em mesotelioma peritoneal maligno. A maioria das pesquisas sobre marcadores séricos foi feita em mesotelioma pleural. Alguns pacientes demonstraram ter elevações em CA-125, alfa-fetoproteína, CEA, mesotelina, osteopontina e fibulina-3. Infelizmente, a sensibilidade destes testes é muito baixa para serem usados para fins de diagnóstico (Kebapci et al. 2003). Os níveis séricos de proteína relacionada à mesotelina (SRMP) mostraram-se mais promissores, com uma sensibilidade de 60%. Embora não seja útil para fins de diagnóstico em mesotelioma peritoneal maligno, o CA-125 e a mesotelina prometem ser marcadores de resposta ou vigilância tumoral. Se inicialmente elevado, o CA-125 sérico geralmente se normaliza aos níveis basais após o tratamento e se correlaciona com a progressão da doença pós-tratamento (Baratti et al. 2007).

Muitos pacientes apresentam ascite em exame citológico de fluido de paracentese abdominal. No entanto, devido ao baixo número de células malignas encontradas na ascite e à

significativa diversidade citológica das células tumorais, a análise citológica do líquido é frequentemente inconclusiva e tem baixo rendimento diagnóstico (Brida et al. 2007).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o mesotelioma peritoneal é dividido em três subtipos histológicos: epitelióide, sarcomatóide e bifásico/misto, semelhantemente ao mesotelioma pleural. Esta divisão é relevante para fins prognósticos e terapêuticos. O subtipo epitelióide é composto de células que se assemelham a células mesoteliais normais em um padrão tubulopapilar ou trabecular com figuras mitóticas incomuns (Kim et al. 2017). O subtipo sarcomatóide é composto de células fusiformes fortemente compactadas, com presença ocasional de elementos osteóides, ou musculares malignos. O subtipo bifásico é definido como contendo componentes epitelióides e sarcomatóides, com cada um contribuindo com pelo menos 10% da histologia geral (Levy et al. 2008).

O subtipo epitelióide é o mais comum, correspondendo a aproximadamente 75% dos casos de mesotelioma peritoneal, e também tem o melhor prognóstico. Aproximadamente, 25% dos mesoteliomas peritoneais são bifásicos, enquanto o subtipo sarcomatóide é extremamente raro. Ambos os subtipos têm um prognóstico significativamente pior, semelhante às variantes correspondentes do mesotelioma pleural (Sugarbaker et al. 2003). Em um estudo, a sobrevida mediana de pacientes com subtipos epitelióides em mesotelioma peritoneal foi de 55 meses em comparação com 13 meses para o subtipo bifásico (Liu et al. 2014).

O mesotelioma peritoneal pode ser difícil de diagnosticar baseado apenas em padrões histológicos, tornando marcadores imuno-histoquímicos importantes no diagnóstico. Nenhum marcador imuno-histoquímico é específico para mesotelioma peritoneal. Em vez disso, painéis de marcadores são usados para diferenciar o mesotelioma peritoneal de outros tumores mais comuns que podem ter características histológicas semelhantes. O mesotelioma peritoneal é positivo para EMA, calretinina, CK 5/6, WT-1, e mesotelina e negativo para marcadores de carcinoma como CEA, Ber-EP4, LeuM1, Bg8, TTF-1 e B72. 3 Esses marcadores ajudam a diferenciar o mesotelioma peritoneal maligno do carcinoma papilar seroso primário do peritônio, carcinomas ovarianos serosos, adenocarcinoma colorretal envolvendo o peritônio e tumores serosos limítrofes. A recomendação atual é usar dois marcadores de mesotelioma e dois marcadores de carcinoma (Husain et al. 2013).

2.3 BIOMARCADORES EM MESOTELIOMA

Os biomarcadores são úteis no manejo de três aspectos clínicos do mesotelioma: diagnóstico precoce, prognóstico e predição dos resultados do tratamento. De fato, o

mesotelioma continua sendo uma doença rara e o pequeno número de pacientes mais a pouca acessibilidade de uma população tumoral uniforme tornam a busca por um biomarcador específico muito difícil (Robinson et al. 2005).

Para o diagnóstico precoce, o biomarcador sérico ideal para o mesotelioma deveria prever o desenvolvimento de mesotelioma em indivíduos expostos ao amianto, diferenciar mesotelioma de doença benigna da pleura/peritônio ou câncer metastático, ser útil para todos os subtipos patológicos e se correlacionar com a extensão da doença para monitorar a resposta ao tratamento e prever o prognóstico (Scherpereel e Lee 2007).

Em recente investigação na Austrália, 84% dos pacientes com mesotelioma apresentaram o marcador sérico SMRP (*soluble mesothelin-related protein*) elevado no plasma. Esta proteína é detectada em um exame simples de sangue. O marcador elevado está presente em apenas 2% dos pacientes com doenças pleuras, desta forma, o resultado deste exame poderia ser útil no diagnóstico de MPM, podendo ser uma alternativa para monitorar a resposta ao tratamento e um método para rastreamento de indivíduos em risco (Khan et al. 2006).

Os biomarcadores osteopontina, proteína solúvel relacionada à mesotelina (SMRP), e o fator potenciador de megacariócito (MPF), atualmente, mostram-se os mais promissores para o diagnóstico, mas cada um tem algumas limitações (Robinson et al. 2005). A osteopontina é um marcador da duração da exposição ao amianto, mas falta especificidade para mesotelioma, enquanto, para ambos, SMRP e MPF, falta sensibilidade para detectar subtipos não epiteliais. Os níveis séricos de SMRP, MPF e osteopontina foram medidos em 66 pacientes com mesotelioma, 20 controles saudáveis e outros 81 com doença pulmonar relacionada ao asbesto, efusões pleurais benignas ou outros tipos de câncer. Com uma especificidade de 95%, a sensibilidade para detecção de mesotelioma foi de 34% para MPF, 47% para osteopontina e 73% para SMRP. A combinação dos três biomarcadores não melhorou a sensibilidade (Creaney et al. 2008).

Fatores prognósticos são importantes para o manejo do mesotelioma maligno, pois pode ajudar tanto no desfecho clínico, como na decisão do plano terapêutico, quanto melhor for a performance estatus do paciente melhor será a chance de resposta ao tratamento, e isso aumentará sua sobrevida (Steele et al 2005). Indicadores prognósticos estabelecidos, como o subtipo histológico, a idade e o sexo, podem fornecer algumas informações sobre a previsão da sobrevida do paciente, no entanto, existem poucos indicadores prognósticos definitivos e específicos usados rotineiramente para prever os resultados prováveis em pacientes individuais.

A Organização Europeia para a Pesquisa e o Tratamento do Câncer (EORTC) propõe performance status ruim, leucocitose, tipo sarcomatoide e sexo masculino estão associados a um pior prognóstico (Curran et al. 1998).

Indicadores prognósticos adicionais previamente identificados incluem níveis de fator de crescimento endotelial (VEGF), mesotelina e fibulina-3 no soro e derrame pleural, ou expressão de aquaporina-1 no tecido, no entanto, estes não são usados rotineiramente na tomada de decisões clínicas. A identificação de marcadores prognósticos robustos pode permitir regimes individualizados de manejo do paciente, com melhora da sobrevida do paciente e da qualidade de vida (Henderson et al. 2013).

Muitos biomarcadores correlacionam vias bioquímicas com resultados clínicos específicos e são úteis para gerar hipóteses que conduzem a novos ensaios clínicos iniciais. Alguns estudos demonstraram que a perda de p16 está associada à menor sobrevida. Em particular, a análise de 99 amostras de MM revelou que a deleção homozigótica de p16 é um fator prognóstico adverso significativo nos mesoteliomas pleurais, com uma mediana de sobrevida de 10 meses para casos com perda de p16 versus 34 meses para casos sem perda de p16 ($p=0,001$) (Borczuk et al. 2016), esse resultado é consistente com um estudo prévio de Cristaudo et al. em 2007, que identificou a perda da imunorreatividade p16 como um preditor independente de pior sobrevida em mesoteliomas peritoneais (Cristaudo et al. 2007).

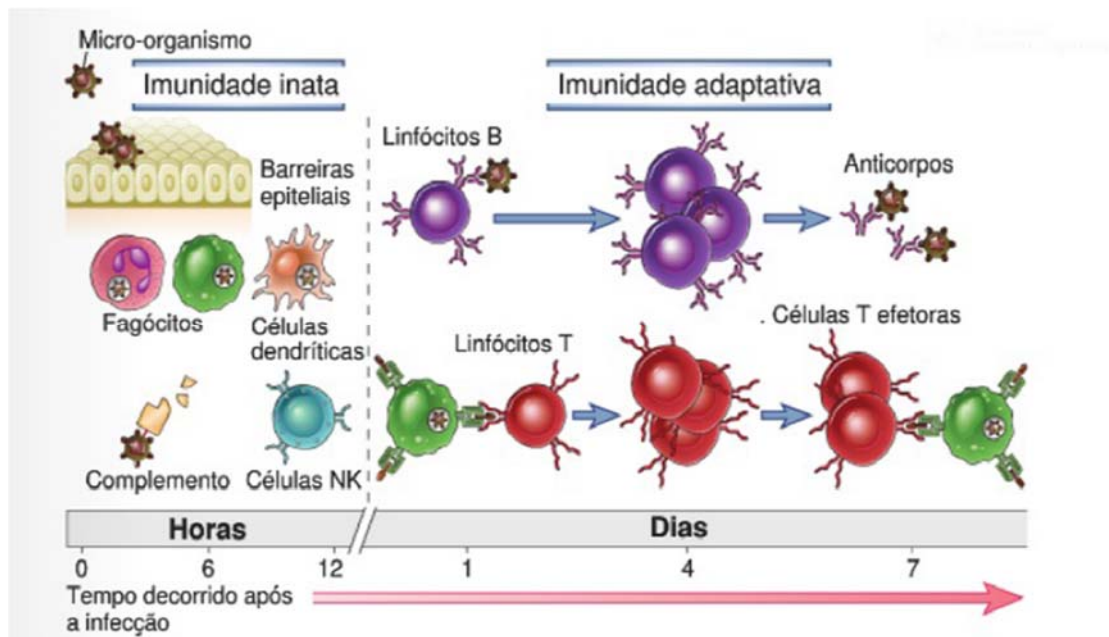
A sinalização dependente do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) desempenha um papel crucial na fisiopatologia das células mesoteliais. Muitos estudos têm avaliado a interação entre os fatores pró-angiogênicos circulantes, incluindo VEGF, e o desfecho clínico. Entretanto, a confiabilidade do VEGF circulante como biomarcador da angiogênese ainda é limitada (Galateau-Salle et al. 2015).

Os mesoteliomas são frequentemente associados a grandes derrames pleurais, o transporte da água através das células, é regulado e facilitado por proteínas relacionadas à membrana conhecidas como aquaporinas (AQP1). O papel desta proteína no desenvolvimento do câncer foi confirmado para vários tumores. A expressão de aquaporina influencia a patogênese, o crescimento e o potencial metastático de uma variedade de tumores, incluindo os adenocarcinomas de pulmão. As células neoplásicas que expressam níveis elevados de AQP1 proliferam mais rapidamente do que aquelas com menor expressão de aquaporina. Esta proteína parece promover diretamente também o crescimento de células de MPM. O mecanismo exato ainda não está claro, mas alterações na expressão de AQP1 alteram a expressão de moléculas que regulam o ciclo celular (Jagirdar et al. 2013).

2.4 SISTEMA IMUNOLÓGICO

As células que compõem o sistema imunológico são derivadas de duas linhagens progenitoras principais: células progenitoras mielóides e linfóides. Todas estas células, por sua vez, se originam na medula. Então nós temos os monócitos, neutrófilos, eosinófilos e basófilos, plaquetas e eritrócitos que são originadas das progenitoras mielóides, e os linfócitos B, linfócitos T e as células Natural-Killer das células progenitoras linfóides (Abbas et al. 2013).

Temos dois tipos de sistema de imunidade principais, a inata e a adquirida (adaptativa). A imunidade inata é a linha de defesa inicial. É inespecífica, reconhece estruturas comuns a vários agentes patogênicos, não possui memória, ou seja, a resposta é a mesma em seguidas exposições porque ela não guarda memória de infecções anteriores, e é composta por barreiras físicas e químicas, como por exemplo os epitélios e as substâncias antibacterianas encontradas nos epitélios, fagócitos (neutrófilos e linfócitos), células NK, proteínas do sangue (sistema de complemento e mediadores solúveis) e citocinas (Abbas et al. 2013).



Fonte: Retirado de Abbas et al. (2013).

Figura 1- Resposta imune inata e adaptativa. Os mecanismos da imunidade inata são responsáveis pela defesa inicial contra as infecções. Alguns mecanismos como barreiras epiteliais previnem as infecções e outros mecanismos como por exemplo, fagócitos, células NK eliminam os microrganismos. A resposta imunológica adquirida se desenvolve mais tarde, sendo mediada principalmente pelos linfócitos. Os anticorpos bloqueiam infecções e eliminam os microrganismos extracelulares, enquanto os linfócitos T erradicam patógenos intracelulares.

A imunidade adaptativa é iniciada mais tardiamente, é altamente específica e possui memória, ou seja, existe uma potencialização da resposta em exposições seguidas, como essa resposta possui memória, irá agir de forma mais eficiente após cada re-exposição, e é dependente de linfócitos T (imunidade celular), linfócito B e anticorpos (imunidade humoral) (Abbas et al. 2013).

2.4.1 Processo Inflamatório

A inflamação é um componente da defesa normal do hospedeiro contra dano tecidual e infecções e é uma das principais reações da imunidade inata (Abbas et al. 2013).

A resposta inflamatória começa com uma injúria, infecção ou dano tecidual e é seguida por liberação de mediadores químicos (histaminas, prostaglandinas e citocinas), esse tecido danificado recruta rapidamente mediadores da defesa do hospedeiro à localização necessária, incluindo células como fagócitos (neutrófilos, monócitos) e linfócitos (Abbas et al. 2013).

2.4.2 Inflamação e seu papel no Mesotelioma

A avaliação de linfócitos infiltrantes tumorais (TILs) em amostras de tumor podem fornecer informações prognósticas importantes em diversos tipos de tumores sólidos, e também pode ser útil na previsão da resposta aos tratamentos. No entanto, ainda não foi implementado como biomarcador clínico de rotina (Minnema-Luiting et al. 2018).

O papel do microambiente imune é pouco conhecido no mesotelioma, mas o efeito potencial dos TILs no prognóstico do mesotelioma está começando a ser descrito. Estudos iniciais baseados em IHQ sugeriram um efeito prognóstico favorável dos TILs no mesotelioma (Kumagai et al. 2010).

No caso de mesotelioma pleural, um estudo mostrou que presença de níveis elevados de linfócitos CD8 infiltrantes está associada a melhor prognóstico em pacientes submetidos à pneumonectomia extrapleural para mesotelioma maligno da pleura (Liu et al. 2008).

Agentes ambientais infecciosos desempenham papel crítico na produção de danos nos tecidos e reações inflamatórias em várias malignidades. Além disso, citocinas, quimiocinas e fatores angiogênicos produzidos em estados inflamatórios crônicos proporcionam um microambiente favorável à sobrevivência celular e angiogênese (Kumagai et al. 2010).

A inflamação crônica desempenha um papel fundamental na patogênese do MPM. Embora os mecanismos da carcinogênese ainda não sejam totalmente compreendidos, a inflamação crônica está envolvida na patogênese do MPM como resultado da exposição ao

amianto e há uma crescente consciência da relação entre o grau de resposta inflamatória local e sistêmica e o prognóstico de pacientes com MPM (Suzuki et al. 2011).

A presença de uma reação inflamatória sistêmica em pacientes com diagnóstico de câncer é considerada como reflexo da liberação de citocinas pelo próprio tumor ou uma resposta do doente em direção ao tumor. Além de estarem envolvidos na patogênese da caquexia relacionada ao câncer e do declínio nutricional, a inflamação sistêmica mostrou-se estar associada com desfechos clínicos, como sobrevida global e resposta ao tratamento sistêmico (Linton et al. 2012).

Além do seu envolvimento na patogênese, a inflamação sistêmica pode ser avaliada para prever resultados clinicamente significativos, como a sobrevida global e a resposta sistêmica ao tratamento. Vários estudos demonstraram que fatores prognósticos baseados na resposta inflamatória, que incluem a combinação de proteína C reativa sérica e albumina, combinação de contagem de neutrófilos e linfócitos (por exemplo, a relação neutrófilos-linfócitos, NLR) e uma combinação de contagem de plaquetas e linfócitos, estão associados à sobrevida em pacientes com vários tipos de câncer, incluindo MPM (Yamagishi et al. 2015).

2.5 TRATAMENTO DO MESOTELIOMA

2.5.1 Cirurgia

O desenvolvimento do tratamento para o mesotelioma pleural maligno é limitado devido à baixa incidência deste tipo de doença. Desta forma, existem poucos estudos randomizados (Tsao et al. 2009).

Seu prognóstico permanece pobre, pois a maioria dos pacientes apresenta doença irresecável no momento do diagnóstico ou é considerada inoperável pela idade ou comorbidades médicas. Para tumores ressecáveis, são utilizadas técnicas que incluem vídeo-toracoscopia, pleurectomia/decorticação, pneumonectomia extrapleural e radioterapia (Khan et al. 2006).

Os três procedimentos cirúrgicos mais utilizados no tratamento do mesotelioma são: toracoscopia com pleurodese, pleurectomia/decorticação e pneumonectomia extrapleural (Fernández Infante e Michel 2005).

A pleurectomia/decorticação é a opção cirúrgica terapêutica que se destina a diminuir a carga tumoral. Este procedimento é realizado através de uma toracotomia e consiste na remoção da pleura parietal, incluindo a porção sobre o mediastino, o pericárdio e o diafragma (muitas vezes exigindo a remoção de parte do diafragma) e remoção da pleura visceral para decorticar

o pulmão. Este tratamento proporciona boa palição e evita o retorno de um derrame sintomático, mas geralmente há uma alta taxa de recidiva locorregional (80% a 90%), e geralmente não é considerado um procedimento potencialmente curativo (Khan et al. 2006).

A pneumonectomia extrapleural (PE) é considerada mais agressiva, pois envolve a ressecção em bloco da pleura parietal e visceral, juntamente com os pulmões envolvidos, os linfonodos mediastinais, o diafragma e o pericárdio. Pacientes com mesotelioma do tipo não-epitelial apresentam pior controle quando submetidos à PE (Yamagishi et al. 2015).

A pleurodese é um procedimento para aliviar o acúmulo de líquido no espaço pleural. Envolve a drenagem do fluido por toracoscopia sob anestesia geral ou sedação, ou pela inserção de um dreno torácico por toracostomia. Após a remoção do fluido, produtos químicos esclerosantes são introduzidos na cavidade para impedir que o fluido se acumule novamente. Uma revisão recente, examinou a eficácia de diferentes produtos químicos e descobriu que o talco era mais eficaz do que outros esclerosantes. As evidências disponíveis também mostraram que a pleurodese toracoscópica é uma técnica mais eficaz (Shaw e Agarwal 2004).

Em um estudo publicado em 2008, foram identificados pacientes com mesotelioma pleural maligno submetidos à pneumonectomia extrapleural ou pleurectomia/decorticação em três instituições. De 1990 a 2006, 663 pacientes (538 homens e 125 mulheres) foram submetidos à tais procedimentos. A idade média foi de 63 anos (variação de 26 a 93 anos). A mortalidade operatória foi de 7% para pneumonectomia extrapleural (N=527/385) e 4% para pleurectomia/decorticação (N=513/278). Diferenças significativas de sobrevida foram observadas para os estágios I a IV ($p < 0,001$), histologia epitelióide versus não epitelióide ($p < 0,001$), pneumonectomia extrapleural versus pleurotomia/decorticação ($p < 0,001$), terapia multimodal versus cirurgia isolada ($p < 0,001$) e gênero ($p < 0,001$). A análise multivariada demonstrou um de risco de morte 1,4x maior para pneumonectomia extrapleural ($p = 0,001$), controlando para estágio, histologia, gênero e terapia multimodal. Pacientes submetidos à pleurectomia/decorticação tiveram melhor sobrevida do que aqueles submetidos à pneumonectomia extrapleural; no entanto, os motivos são multifatoriais e estão sujeitos a viés de seleção. Atualmente, a escolha da ressecção deve ser adaptada à extensão da doença, comorbidades dos pacientes e tipo de terapia multimodal planejada (Flores et al. 2008).

Porém no Reino Unido foi realizado um estudo randomizado controlado multicêntrico em 12 hospitais, todos os pacientes receberam quimioterapia à base de platina anteriormente, e os pacientes foram divididos aleatoriamente para realizar pneumonectomia extrapleural ou não. Foram incluídos 112 pacientes entre 2005 e 2008 porém somente 50 foram elegíveis ao estudo nesse estudo, não foi observado vantagem de sobrevida no grupo submetido à pneumonectomia

extrapleural em comparação com o grupo sem EPP e não foram relatadas diferenças significativas entre os grupos nas análises de qualidade de vida. Em resumo, os resultados desse estudo não fornecem evidências de benefício da PPE na terapia trimodal em relação à quimioterapia isoladamente, para sobrevivência ou qualidade de vida (Treasure et al. 2011).

Devido à raridade do mesotelioma peritoneal com taxas de incidência nos países industrializados variando entre 0,5-3 e 0,2-2 casos por milhão para homens e mulheres, não houve ensaios controlados randomizados sobre as melhores estratégias de tratamento (Boffeta 2007).

A maioria dos dados foi baseada em relatos retrospectivos de experiências de uma única instituição. Uma das primeiras publicações que descrevem o tratamento do mesotelioma peritoneal maligno foi apresentada em 1983, por Antman et al. Dos 18 pacientes tratados com cirurgia citorrretora (CRS) e quimioterapia sistêmica baseada em doxorrubicina, 14 pacientes tinham doença mensurável. Seis dos 14 responderam ao tratamento com uma sobrevida mediana de 22 meses, em comparação com a sobrevida mediana de 5 meses para os oito pacientes que não responderam ao tratamento (revisado em Kim et al. 2017).

Desde então, a CRS e a quimioterapia intraperitoneal tornaram-se as terapias de primeira linha padrão consensual para mesotelioma peritoneal. A quimioterapia peritoneal pode ser administrada na forma de quimioterapia intraperitoneal aquecida (HIPEC) ou quimioterapia pós-operatória precoce, embora a maioria dos protocolos institucionais tenha usado o HIPEC. Os dados do CRS-HIPEC para mesotelioma peritoneal foram amplamente baseados em estudos retrospectivos de uma única instituição com dois estudos multi-institucionais. A mediana da sobrevida global variou de 30 a 92 meses (Helm et al. 2015).

O maior registro multi-institucional de dados retrospectivos para pacientes com mesotelioma peritoneal tratado com CRS-HIPEC incluiu 405 pacientes em 29 centros. A mediana da sobrevida global foi de 53 meses e a sobrevida em 5 anos foi de 47% (Yan et al. 2009). Outro estudo multi-institucional, combinando os dados para 211 pacientes de três centros dos EUA, de pacientes com mesotelioma peritoneal tratado com CRS-HIPEC relataram uma sobrevida global mediana de 38 meses com uma sobrevida em 5 anos de 41% (Alexander et al. 2013). Uma metanálise recente de 20 estudos que incluiu 1.047 pacientes com MPM submetidos a CRS-HIPEC mostrou uma sobrevida de 5 anos de 42% nos 67% de pacientes que alcançaram uma citorredução completa ou quase completa antes de HIPEC (Helm et al. 2015).

O CRS-HIPEC após recorrência também se mostrou eficaz em um estudo que relatou sobrevida global mediana de 54 meses para aqueles submetidos a um segundo procedimento em comparação com 77 meses para aqueles após CRS-HIPEC inicial (Hemelandu et al. 2015).

2.5.2 Quimioterapia

Quimioterapia sistêmica é o tratamento alternativo para aqueles que são inelegíveis ou desejam buscar tratamento não cirúrgico. A quimioterapia perioperatória também tem sido usada em pacientes com histologia de alto risco ou doença extensa, embora a eficácia da quimioterapia perioperatória ainda esteja sendo investigada (Kim et al. 2017).

A maioria dos estudos de agentes quimioterápicos foi feita para o mesotelioma pleural, excluindo os casos de mesotelioma peritoneal maligno. Apesar de algumas diferenças significativas na biologia entre os locais da doença, assumiu-se que a eficácia dos agentes quimioterápicos era semelhante (Kim et al. 2017).

Em 2003, Vogelzang e associados publicaram os resultados de um estudo randomizado de fase III que mostrou uma sobrevida mediana de 12,1 meses com pemetrexede mais cisplatina, em comparação com 9,3 meses no grupo tratado somente com cisplatina. O grupo com pemetrexede também teve um tempo maior para a progressão da doença (5,7 vs. 3,9 meses) e uma taxa mais alta de resposta objetiva (41% vs. 17%) quando comparado ao grupo da cisplatina (Vogelzang et al. 2003).

Os regimes baseados em pemetrexede são atualmente a quimioterapia sistêmica de primeira linha na maioria das instituições, embora não haja consenso sobre qual agente ou agentes complementares devam ser usados para suplementar o pemetrexede (Kim et al. 2017).

A eficácia do pemetrexede, isoladamente ou em combinação com cisplatina para mesotelioma peritoneal, foi relatada em dois estudos que demonstraram que a sobrevida mediana para o pemetrexede em monoterapia foi de 8,7 meses em comparação com 13,1 meses para os doentes que receberam cisplatina também. A taxa de resposta foi de 26% e a taxa de controle da doença (estável + resposta) foi de 71,2%. Esses resultados foram semelhantes para pacientes sem tratamento prévio com quimioterapia, em comparação àqueles previamente tratados com outro agente (Carteni et al. 2009).

A substituição da cisplatina pela carboplatina mostrou eficácia semelhante, com 24% de resposta objetiva e 76% de controle da doença. A carboplatina tende a ser mais bem tolerada do que a cisplatina, de modo que esse esquema foi proposto para pacientes em tratamento paliativo e idosos (Campbell e Kindler 2011).

O uso de gencitabina com pemetrexede para mesotelioma peritoneal irrecorrível foi estudado como um subconjunto de um dos maiores estudos prospectivos para o tratamento de mesotelioma pleural. Este estudo mostrou uma taxa de resposta de 15%, taxa de controle da doença de 50%, tempo de 10,4 meses para a progressão da doença e sobrevida mediana de 26,8

meses. Devido à toxicidade, apenas 75% dos pacientes completaram o curso planejado (Simon et al. 2008).

Outras combinações de medicamentos, incluindo cisplatina com irinotecano, gencitabina com cisplatina/carboplatina e vinorelbina sozinha, foram estudadas na doença pleural e sua eficácia na mesotelioma peritoneal ainda é desconhecida (Steele et al. 2000).

Atualmente, os dados apoiam pemetrexede com cisplatina/carboplatina como o regime de quimioterapia de primeira linha com outras combinações de medicamentos reservados para a terapia de segunda linha (Kim et al. 2017).

Em outro estudo mais recente, o tratamento com a combinação de cisplatina, pemetrexede e bevacizumabe esteve associado com uma sobrevida de 16,1 meses comparado com 18,8 meses para os pacientes tratados com pemetrexede e cisplatina apenas (Zalcman et al. 2016).

Desta forma, a combinação de quimioterapia a base se platina com pemetrexede continua sendo o regime sistêmico para o tratamento adjuvante e paliativo de mesotelioma pleural, uma vez que produz resposta tumoral mais alta, com impacto positivo na qualidade de vida dos pacientes (Linton et al. 2012).

Atualmente, vêm sendo estudadas novas terapias, porém as terapias-alvo requerem um estudo e conhecimento das vias moleculares alteradas neste tumor mais aprofundado. Estudos pré-clínicos indicam que o bloqueio simultâneo de múltiplos componentes das principais vias de sinalização pode ser uma valiosa opção terapêutica para mesotelioma pleural. Esta abordagem pode também permitir o emprego de doses mais baixas de fármacos individuais, com a vantagem de reduzir a toxicidade para os pacientes. No tratamento do mesotelioma pleural, as evidências pré-clínicas e clínicas, também sugerem que a eficácia de terapias-alvo pode ser significativamente melhorada pela combinação com quimioterapia (Bonelli et al. 2016).

Entretanto, apesar das múltiplas alterações moleculares e da desregulação das vias de sinalização evidenciadas no mesotelioma pleural não se identificou um alvo relevante, provavelmente devido à complexa interconexão entre diferentes vias de sinalização, o que limita a eficácia de abordagens terapêuticas com agentes específicos (Kane 1993). Outro fator relevante que impede o desenvolvimento de novas terapias é o fato de que em mesoteliomas é comum a inativação de genes supressores tumorais por eventos genéticos ou epigenéticos ao invés da presença de mutações condutoras, alvos mais difíceis de se desenvolver terapias específicas (Bonelli et al. 2016).

O uso de inibidores de *checkpoints* imunes revolucionou o tratamento de diversos tipos de tumores nos últimos anos (Suzuki et al. 2011). A imunoterapia é uma modalidade de tratamento que direciona o sistema imunológico do paciente a eliminar células tumorais. Exemplos de abordagens imunoterapêuticas sob investigação clínica incluem inibidores de receptores inibitórios (*immune checkpoints*) de células T ou agonistas das vias de ativação de células T, o emprego de citocinas, tais como IL-12 e IL-15, vacinas terapêuticas, eliminação de células imunossupressoras e modulação de outros componentes da resposta imune (Antonia et al. 2014).

O equilíbrio imunológico é mantido através da combinação de vias de sinalização ativadoras e inibitórias. As vias sinalizadoras podem trabalhar em combinação para modular direta ou indiretamente a atividade de células efetoras, como as células T citotóxicas e as células NK. A atividade antitumoral é regulada através destas redes de sinalização que ativam e inibem, como os *checkpoints* imunológicos (dentre eles o CTLA-4 e o PD-1), e equilibram a resposta imunológica (Leung e Suh 2014).

O CTLA-4 é um receptor presente nas células T que desempenha papel fundamental na prevenção da hiperativação de células T (Husain et al. 2013). A sinalização através de CTLA-4 diminui a ativação das células T e a capacidade das células T de memória sustentarem uma resposta imunológica (Chambers et al. 1998).

Observou-se uma maior inibição do crescimento tumoral quando o anticorpo monoclonal anti-CTLA-4 foi administrado entre os ciclos de cisplatina em modelos de mesotelioma em modelos murinos (Bonelli et al. 2016). Além disso, o bloqueio de CTLA-4 alternado com o tratamento com cisplatina inibiu a proliferação de células tumorais, ao passo que o número de linfócitos T infiltrando o tumor aumentou. Esta estratégia terapêutica também resultou na expressão aumentada de genes que codificam para IL-2, IFN-gama, granzima B e perforina, sugerindo que o tratamento com anticorpo anti-CTLA-4 entre ciclos de quimioterapia pode aumentar a resposta imune antitumoral (Calabro et al. 2015).

O PD-1 também é um *checkpoint* imune nas células T citotóxicas, e possui dois ligantes: PD-L1 e o PD-L2. A superexpressão do receptor de PD-1 desempenha papel fundamental na exaustão de células T, e é um fator importante durante a resposta imunológica normal, para prevenir a ocorrência da autoimunidade (Nishimura et al. 2001).

A exaustão de células T inicia-se quando a exposição repetida a antígenos tumorais aumenta de maneira estável. Conforme a sinalização não controlada de PD-1 aumenta, as células T começam a perder sua capacidade de responder. Com o passar do tempo, as células T exaustas se tornam cada vez mais incapacitadas, perdendo funções essenciais como a

capacidade de se reproduzir, de combater as células tumorais e de sobreviver. PD-L1 apresenta expressão elevada em MPM (Freeman et al. 2000). A expressão de PD-L1 positivo foi relatada em 40% de 106 amostras de mesotelioma, sendo 21% no subtipo epitelióide, 94% no subtipo de sarcomatóide e 57% no subtipo bifásico (Calabro et al. 2016).

Alguns estudos relataram pior sobrevida em casos de mesotelioma maligno com expressão de PD-L1 tumoral (Combaz et al. 2016; Cedres et al. 2015), enquanto outros relataram nenhuma diferença significativa na sobrevida entre casos de mesotelioma maligno com e sem expressão de PD-L1 (Khanna et al. 2016).

Em paralelo com a investigação de novas abordagens terapêuticas para o tratamento de MPM, intensos esforços de investigação concentram-se na identificação de biomarcadores no prognóstico e na progressão da doença, uma vez que tal estratégia pode ajudar no avanço da imunoterapia personalizada (Silva e Etulain 2010). A interação entre o tumor e o sistema imune difere em cada paciente e a resposta a tais terapias pode ser afetada pelo estado do sistema imune, pelas características tumorais individuais e pelo estágio do tumor (Quispel-Janssen et al. 2017).

Espera-se que os ensaios conduzidos para avaliação de biomarcadores melhorem os resultados dos pacientes, desta maneira, são investigados biomarcadores seletivos de resposta, especialmente para terapias como a imunoterapia com anti-CTLA-4 e anti-PD-1/PD-L1 (Ouazzani et al. 2011).

Como vimos, existem várias pesquisas em andamento para o tratamento do mesotelioma, no entanto essa grave doença ainda representa uma necessidade médica não atendida e carece de estudos prospectivos e randomizados para uma melhor compreensão da sua fisiopatologia, bem como para proporcionarmos tratamentos mais efetivos aos pacientes.

3 JUSTIFICATIVA

O mesotelioma maligno é uma doença maligna rara e agressiva, há poucos estudos específicos nesta área devido à baixa incidência, tornando o tratamento restrito e muitas vezes não personalizado.

Estudos adicionais são fundamentais para uma compreensão completa da patogênese do mesotelioma maligno e o desenvolvimento de novas terapias.

Logo, torna-se de grande importância um estudo mais aprofundado desta doença no Brasil, considerando que a incidência deste tumor aumentará na próxima década e que o prognóstico desta doença ainda é usualmente ruim.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar as características clínicas e a intensidade e composição do infiltrado inflamatório em mesotelioma pleural e peritoneal maligno.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características demográficas e clínicas dos pacientes diagnosticados com mesotelioma maligno pleural e peritoneal no A.C.Camargo Cancer Center.
- Avaliar se há diferença na composição e intensidade do infiltrado inflamatório entre o mesotelioma pleural maligno e o mesotelioma peritoneal maligno.
- Comparar a sobrevida global entre mesotelioma pleural e peritoneal.
- Avaliar o impacto das características clínico-patológicas na sobrevida global de pacientes com mesotelioma pleural e peritoneal

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 CASUÍSTICA

Foi realizado levantamento retrospectivo dos dados de pacientes diagnosticados com mesotelioma maligno pleural e peritoneal, tratados e acompanhados no A.C.Camargo Cancer Center de janeiro 1998 até dezembro de 2018.

O levantamento de dados foi feito a partir do sistema RECRUIT, um banco de dados do A.C.Camargo Cancer Center.

Nesse sistema, os casos a partir de 1998 foram levantados, utilizando-se os termos “Mesotelioma”, “Mesotelioma and Pleural” e “Mesotelioma AND Peritoneal”.

5.1.1 Critérios de inclusão

Para os pacientes incluídos na análise clínica e de sobrevida:

Ter diagnóstico histologicamente confirmado de mesotelioma maligno primário da pleura ou peritônio;

Ter recebido tratamento no A.C.Camargo Cancer Center;

Possuir dados completos em prontuário;

Disponer de lâminas e blocos para revisão anátomo-patológica.

5.1.2 Critérios de exclusão

Para os pacientes incluídos na análise clínica e de sobrevida:

Tumores da pleura de outra histologia;

Diagnóstico de segunda neoplasia invasiva com intervalo inferior a 5 anos do diagnóstico de mesotelioma.

5.2 COLETA DE DADOS E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Os dados demográficos, clínicos e de tratamento foram coletados a partir das informações contidas em prontuário, codificadas e registradas em ficha de coleta específica (Apêndice 1). Posteriormente, os dados foram adicionados no sistema RedCap para realização de análise estatística.

Todos casos foram revisados pelo Dr. Clóvis Antonio Lopes Pinto, do Departamento de Anatomia Patológica, para confirmação do diagnóstico de mesotelioma maligno e reclassificação quando necessário.

5.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

A avaliação do infiltrado inflamatório foi realizada em dois momentos. No primeiro momento, a avaliação do infiltrado inflamatório foi feita a partir das lâminas coradas com H&E disponíveis no acervo do Departamento de Anatomia Patológica de casos de mesotelioma pleural e peritoneal maligno tratados no A.C.Camargo Cancer Center no período de 1998 até 2018 dos pacientes, sendo separados 25 casos de cada topografia. Num segundo momento, empregou-se imuno-histoquímica (IHQ) para se avaliar a composição do infiltrado inflamatório em um *Tissue Microarray*-TMA contendo 47 casos de mesotelioma peritoneal e pleural, também disponível no acervo da Anatomia Patológica do A.C.Camargo Cancer Center.

A avaliação do infiltrado inflamatório em cada lâmina foi feita no compartimento pleural ou peritoneal (chamados em conjunto de estromal) e intratumoral, em alguns casos não havia o compartimento intratumoral ou pleural, casos assim foram excluídos da análise. A quantificação do infiltrado foi dividida em: grau 0, ausência de infiltrado; grau 1, baixa intensidade; grau 2, intensidade moderada; e grau 3, intensidade alta. Quando não houve a possibilidade de avaliar o infiltrado é porque ou não havia aquele compartimento ou não era avaliável por artefatos técnicos. Para fins de análise, os casos com infiltrado 0 e 1 foram agrupados, bem como os casos com infiltrado 2 e 3. As amostras não avaliáveis foram omitidas da análise estatística.

Os pacientes que foram selecionados para a análise da intensidade do infiltrado inflamatório, não são os mesmos para os quais foram feitas as reações de imuno-histoquímica, pois utilizamos os blocos e lâminas que estavam disponíveis na instituição.

Foram analisados os seguintes marcadores nas reações de imuno-histoquímica: CD20 (linfócitos B), CD3, CD4 e CD8 (linfócitos T), FOXP3 (linfócitos T regulatórios – Treg), CD68 (macrófagos) e CD163 (macrófagos da resposta M2).

Foram realizadas reações imuno-histoquímicas seguindo as diluições e condições de reação padronizadas para cada anticorpo (Tabela 3).

A análise dos anticorpos foi realizada em microscópio ótico. Foi registrada o número total de células com marcação positiva para cada um dos marcadores avaliados dividido pela área do tumor avaliada, no total, foram avaliadas 50 lâminas, 25 de mesotelioma pleural e 25

de mesotelioma peritoneal, e no TMA, 47 blocos, sendo 27 de mesotelioma pleural e 20 de peritoneal.

Tabela 3 - Anticorpos e condições utilizados na imuno-histoquímica para avaliação do infiltrado inflamatório em mesotelioma peritoneal e pleural.

Nome	Fabricante	Clone	Controle positivo	Padronização
CD3	ABCAM	SP7	Amígdala	60cc2/60ab 1:50
CD8	ABCAM	144B	Amígdala	60cc2/60ab 1:200 com bloq 1% - ultraview
CD4	ABCAM	BC/1F6	Amígdala	60 cc1/60 ab 1:50 ultraview
CD68	ABCAM	KP1	Amígdala	60cc2/60ab 1:500
FOXP3	ABCAM	mAbcam 22510	Amígdala	64 CC1/60 AB E 36CC1/32AB 1:50
CD163	BIO SB	BIO10D6	Placenta	36CC1/32 AB 1:50
CD20	ABCAM	EP459Y	Amígdala	64 CC1/60AB 1:50

A avaliação do infiltrado inflamatório e das reações de imuno-histoquímica, bem como a contagem de células, foram realizadas em microscópio ótico, por estimativa visual, pelo Dr. Clóvis Pinto, patologista experiente em câncer torácico.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi empregada estatística descritiva para caracterização da amostra com determinação de frequências, médias, medianas e medidas de dispersão central. Foi empregado o valor de mediana para dicotomizar séries de variáveis contínuas quando necessário.

O teste de qui-quadrado, ou exato de Fisher, foi usado para testar a associação entre variáveis categóricas, e o teste de Mann-Whitney para comparação entre variáveis contínuas.

O método de Kaplan–Meier foi empregado para calcular as curvas de sobrevida global. O seguimento mediano foi calculado pelo método do Kaplan-Meier inverso. A sobrevida global foi definida como o intervalo de tempo entre a data do diagnóstico e a morte por qualquer causa. O impacto das diversas variáveis clínicas, demográficas e patológicas relevantes na sobrevida global dos pacientes foi avaliado através do teste de log-rank.

Consideramos estatisticamente significativas as análises cujos valores de p foram menores que 0,05. Empregamos o pacote estatístico SPSS 17.0 for Windows e R.

5.5 FINANCIAMENTO

Esse estudo foi conduzido em parte com verba proveniente dos projetos (Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia-INCITO): INCT FAPESP Nº 50943/2014-1 e INCT CNPq Nº 465684/2014-6.

6 RESULTADOS

6.1 FLUXO DE SELEÇÃO DE CASOS

Foram incluídos no sistema RedCap 146 casos de pacientes com Mesotelioma Maligno. Desses 146 casos de mesotelioma maligno, 74 casos foram de mesotelioma pleural e 69 casos de Mesotelioma peritoneal que foram então incluídos na análise clínica. Um caso de túnica testicular e 2 casos de túnica vaginal foram excluídos.

Para a avaliação do infiltrado inflamatório havia 25 lâminas de mesotelioma pleural disponíveis para serem avaliadas. Foi possível a avaliação do infiltrado inflamatório no compartimento intratumoral em 23 dos 25 casos e em 16 casos foi possível fazer a avaliação do compartimento pleural. Em 2 e em 9 casos, respectivamente, não foi possível fazer a avaliação do infiltrado inflamatório por falta de material ou por não haver o compartimento pleural naquela lâmina.

No caso do mesotelioma peritoneal, das 25 lâminas foi possível realizar a avaliação do infiltrado inflamatório no compartimento intratumoral em todas as lâminas, já no compartimento peritoneal, só possível se fazer tal avaliação em 10 lâminas.

O fluxo de seleção de pacientes, lâminas e blocos, bem como os motivos de exclusão, com os respectivos números estão demonstrados na Figura 2 abaixo.

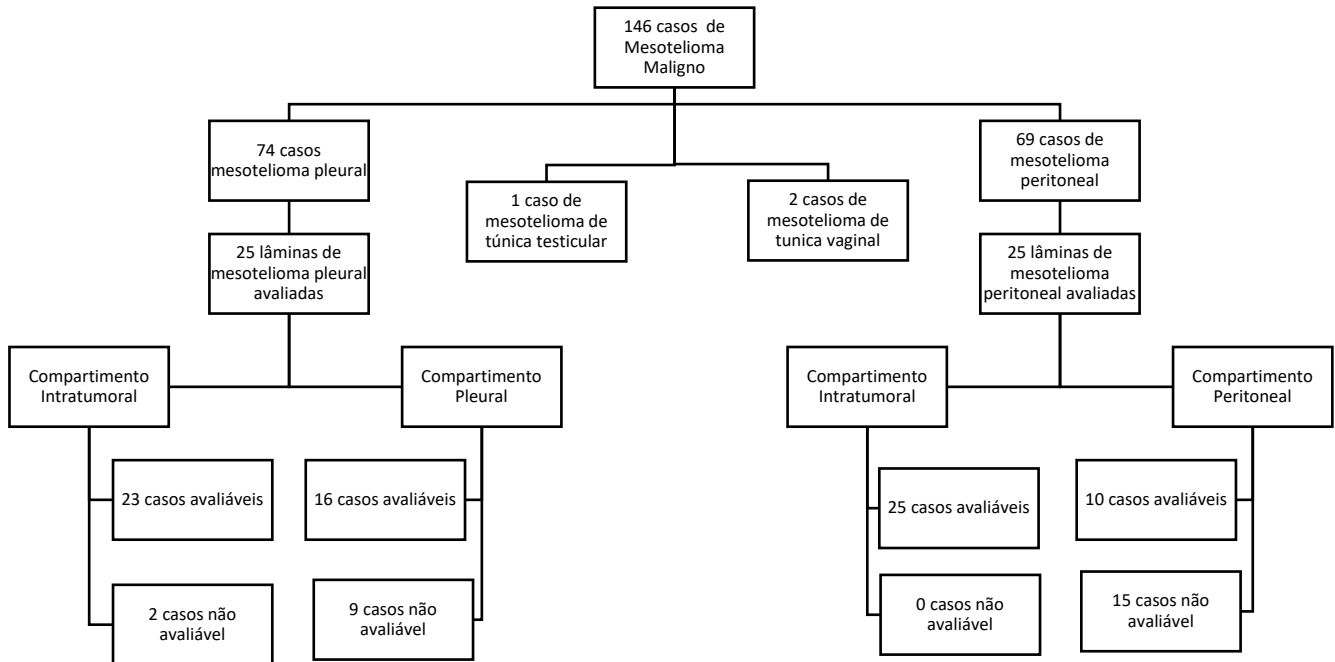


Figura 2 - Fluxograma dos casos clínicos e casos disponíveis para avaliação do infiltrado inflamatório.

Não realizamos a análise clínica dos pacientes contidos no TMA, pois vários eram casos muito antigos, para as quais não dispúnhamos de dados clínicos.

6.2 DADOS DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS

Percebemos um número elevado de casos sem informação registrada nos prontuários, para várias das variáveis estudadas.

A mediana de idade ao diagnóstico em pacientes com mesotelioma pleural foi de 63,5 anos, 60,8% eram homens, em sua maioria (97,3%) da raça branca. Cinquenta e dois por cento dos pacientes apresentava história de exposição ao amianto, 36,8% era fumantes e em 73,0% apresentava ECOG 0+1 (Tabela 4).

O subtipo histológico mais frequente foi o epitelióide (82,7%) e a maioria dos pacientes apresentavam-se no estágio III (38,1%) e IV (50,0%). Referente ao estadiamento TNM, os

estádios T3+T4+TX agrupados representaram 81,8% dos casos, N1+N2+NX, 52,3%, e M0, 66,0%.

Quanto ao tratamento, 46,6% realizou algum tipo de cirurgia, a maioria não realizou radioterapia (79,7%), e 54,8% recebeu quimioterapia.

Oitenta e um por cento dos pacientes apresentou progressão de doença em algum momento e 63,6% faleceu (Tabela 4).

Em relação ao mesotelioma peritoneal, os pacientes tiveram uma mediana de idade de 51,5 anos e a maioria era de mulheres (58,0%), da raça branca (89,8%). Noventa e quatro por cento tinha história de exposição ao amianto, 86,4 % não eram fumantes, e a maioria apresentava ECOG 0 ou 1 (88,7%).

O subtipo histológico epitelióide também foi o mais prevalente entre os mesoteliomas peritoneais, aparecendo em 82,7% dos casos. A maioria dos pacientes encontravam-se no estágio IV (81,8%), e os estádios T3+T4+TX agrupados foram observados em 77,8% dos pacientes, N1+N2+NX, em 70,0%, e M1+MX, em 80,0% (Tabela 4).

Em relação ao tratamento, 28% fez tratamento cirúrgico, 42,8% não realizou radioterapia e 58,0% recebeu quimioterapia. Progressão de doença foi observada em 63,3% e 25,0% dos pacientes faleceram no período de acompanhamento (Tabela 4).

Tabela 4 - Análise descritiva dos casos de Mesotelioma Pleural versus Mesotelioma Peritoneal identificados no A.C.Camargo Cancer Center no período de 1998 a 2018.

Variável	Categoria	N Pleural	Pleural	N Peritoneal	Peritoneal
Sexo	Masculino	45	60,8%	29	42,0%
	Feminino	29	39,2%%	40	58,0%
Raça	Branca	37	97,3%	44	89,8%
	Outras	1	0,7%	5	10,2%
Exposição ao amianto	Sim	13	52,0%	1	5,5%
	Não	12	48,0%	17	94,5%
Fumante	Sim	14	36,8%	4	13,8%
	Não	24	63,2%	25	86,4%
ECOG	0 + 1	46	73,0%	47	88,7%
	2 + 3	17	27,0%	6	11,3%
Tipo Histológico	Epitelioide	43	82,7%	41	87,2%
	Sarcomatoide	4	7,8%	2	4,3%
	Bifásico	5	9,6%	4	8,5%
Estadiamento	I	3	7,1%	3	9,2%
	II	2	4,8%	1	3,0%
	III	16	38,1%	2	6,0%
	IV	21	50,0%	27	81,8%
Estadiamento T	T1+T2	8	18,2%	2	22,2%
	T3+T4+TX	36	81,8%	7	77,8%
Estadiamento N	N0	21	47,7%	3	30,0%
	N1+N2+NX	23	52,3%	7	70,0%
Estadiamento M	M0	29	66,0%	2	20,0%
	M1+Mx	15	34,0%	8	80,0%
Cirurgia	Sim	35	46,6%	40	58,0%
	Não	39	52,7%	29	42,0%
Radioterapia	Sim	15	20,3%	2	3,4%
	Não	59	79,7%	57	96,6%
Quimioterapia	Sim	40	54,8%	38	60,3%
	Não	33	45,2%	25	39,7%
Progressão	Sim	40	81,6%	31	63,3%
	Não	9	18,4%	18	36,7%
Status no último seguimento	Vivo sem doença	0	0 %	10	15,6%
	Vivo com doença	5	7,9%	26	40,6%
	Morte por câncer	40	63,5%	16	25,0%
	Perda de segmento	18	28,6%	12	18,7%

As frequências correspondem aos casos informativos para cada variável.

Ao compararmos as características clínicas e demográficas entre os mesoteliomas pleurais e peritoneais, observamos associação entre a topografia do tumor com sexo e exposição ao amianto, sendo o mesotelioma pleural mais comum entre homens e mais frequentemente associado à história de exposição ao amianto (Tabela 5).

Da mesma forma, os pacientes portadores de mesotelioma pleural apresentavam pior performance status (ECOG 2+3) e receberam radioterapia mais frequentemente. Em contrapartida, um maior número de pacientes portadores de mesotelioma peritoneal apresentavam-se como estágio IV. Não observamos associação da topografia com as demais variáveis (Tabela 5).

Tabela 5 - Associação de características clínicas, demográficas e de tratamento com a topografia do mesotelioma.

Variável	Categoria	Pleural		Peritoneal		p
		N	%	N	%	
Sexo	Masculino	45	31,5	29	20,3	0,030
	Feminino	29	20,3	40	27,9	
Raça	Branca	37	42,5	44	50,6	0,50
	Outras	1	1,2	5	5,7	
Exposição ao amianto	Sim	13	30,2	1	2,3	0,002
	Não	12	28,0	17	39,5	
Fumante	Sim	14	20,9	4	6,0	0,08
	Não	24	35,8	25	37,3	
ECOG	0 + 1	46	39,7	47	40,5	0,03
	2 + 3	17	14,6	6	5,2	
Tipo Histológico	Epitelióide	43	43,5	41	41,5	0,9
	Sarcomatóide	4	4,0	2	2,0	
	Bifásico	5	5,0	4	4,0	
Estadiamento	I	3	4,0	3	4,0%	0,01
	II	2	2,6	1	1,3%	
	III	16	21,4%	2	2,7%	
	IV	21	28,0%	27	36,0%	
Estadiamento T	T1+T2	8	15,1%	2	3,8%	0,77
	T3+T4+TX	36	68,0%	7	13,1%	
Estadiamento N	N0	21	38,9%	3	5,5%	0,48
	N1+N2+NX	23	42,6%	7	13,0%	
Estadiamento M	M0	29	53,7%	2	3,7%	0,08
	M1+Mx	15	27,7%	8	15,3%	
Cirurgia	Sim	35	24,5%	40	28,0%	0,24
	Não	39	27,3%	29	20,2%	
Radioterapia	Sim	15	11,3%	2	1,5%	0,01
	Não	59	44,4%	57	42,8%	
Quimioterapia	Sim	40	29,4%	38	28,0%	0,74
	Não	33	24,3%	25	18,3%	

As frequências correspondem aos casos informativos para cada variável. As associações foram testadas pelo teste do Qui-quadrado de Pearson ou pelo teste exato de Fisher. As associações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

6.3 AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO NOS MESOTELIOMAS PLEURAI E PERITONEAIS

Não observamos diferença na intensidade do infiltrado inflamatório entre as amostras de mesotelioma pleural e peritoneal na avaliação do compartimento intratumoral, porém, na avaliação do compartimento estromal (intrapleural ou intraperitoneal) observamos uma associação entre a intensidade do infiltrado inflamatório e a topografia do tumor, sendo o infiltrado mais intenso no compartimento estromal dos mesoteliomas pleurais (Tabela 6). As amostras empregadas na avaliação da intensidade do infiltrado inflamatório são diferentes das amostras em que avaliamos a composição dos marcadores tumorais.

Tabela 6 - Comparação da intensidade do infiltrado inflamatório dos pacientes com mesotelioma pleural versus peritoneal dos pacientes identificados no A.C.Camargo Cancer Center.

Compartimento	Intensidade do Infiltrado	Topografia				p
		Pleura		Peritoneal		
		N	%	N	%	
Intratumoral	0+1	9	47,4	10	52,6	0,3
	2+3	16	55,2	13	44,8	
Estromal (intrapleural ou intraperitoneal)	0+1	4	40,0	6	60,0	0,02
	2+3	12	75,0	4	25,0	

As frequências foram comparadas pelo teste do Qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fisher. As associações foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

6.4 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO NOS MESOTELIOMAS PLEURAIIS E PERITONEAIS

Foi realizado a marcação com os anticorpos previamente listados num TMA (2005 e 2010) contendo amostras disponíveis de tumores de pacientes com diagnóstico de mesotelioma pleural e peritoneal do A.C.Camargo Cancer Center.

A média e a mediana do número de células encontradas com marcação positiva para cada anticorpo testado encontram-se descritos na Tabela 7.

As figuras abaixo são fotos representativas de amostras com níveis diferentes de marcação para alguns dos anticorpos avaliados (CD8, CD4 e CD3) (Figuras 3 a 5).

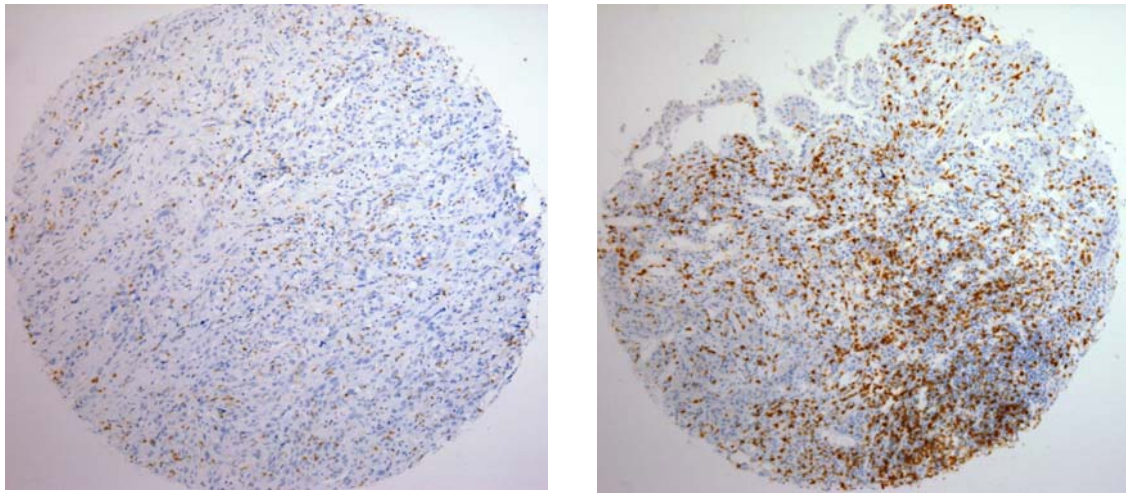


Figura 3 – Microfotografia de amostras representativas de imunomarcção contra CD8. Na primeira imagem à esquerda observamos uma baixa contagem de células com marcação para CD8, enquanto à direita vemos uma amostra com marcação intensa.

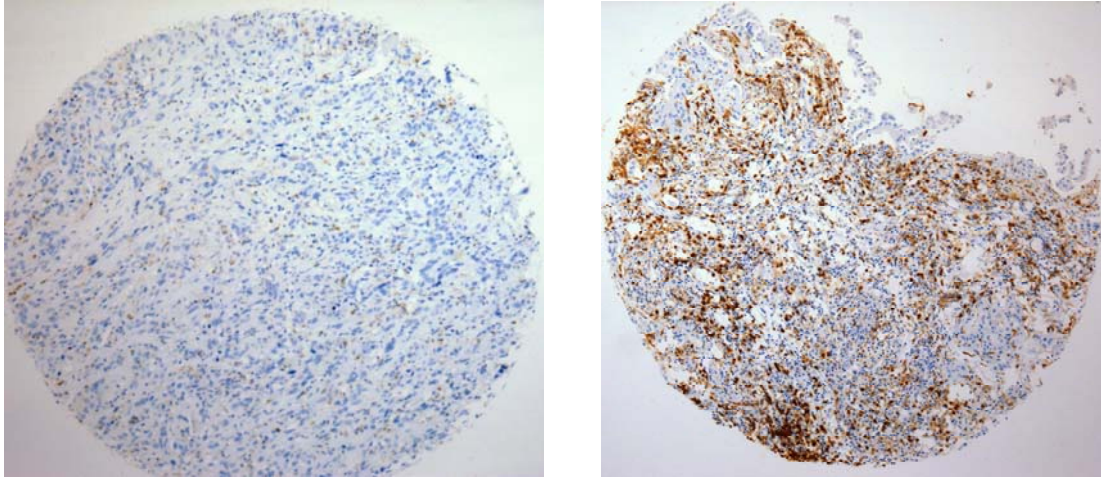


Figura 4 – Microfotografia de amostras representativas de imunomarcção contra CD4. Na primeira imagem à esquerda observamos uma baixa contagem de células com marcação para CD4, enquanto à direita vemos uma amostra com marcação intensa.

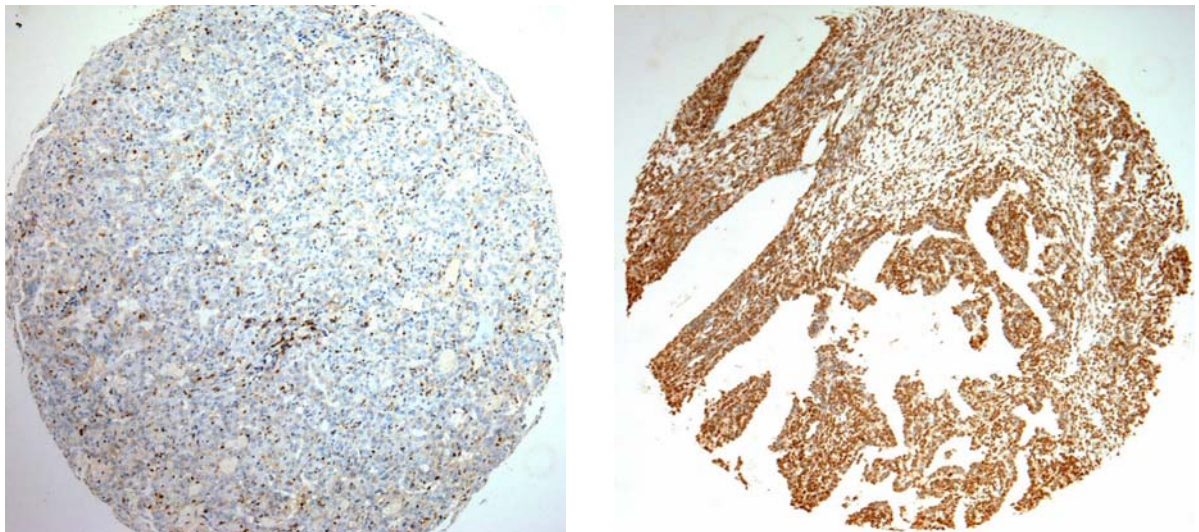


Figura 5 – Microfotografia de amostras representativas de imunomarcção contra CD3. Na primeira imagem à esquerda observamos uma baixa contagem de células com marcação para CD3, enquanto à direita vemos uma amostra com marcação intensa.

Tabela 7 - Descrição do número de células com marcação positiva para os anticorpos estudados (CD3, CD20, CD68, CD4, FOXP3 e CD8) encontrados nas amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA.

TOPOGRAFIA		N	Média	Mediana
CD3	PERITONEO	14	99,2	74,5
	PLEURA	17	133,7	40,0
	Total	31	118,1	52,0
CD20	PERITONEO	16	57,1	5,0
	PLEURA	20	11,6	3,0
	Total	36	31,8	4,0
CD68	PERITONEO	16	7,6	6,0
	PLEURA	17	3,2	0,0
	Total	33	5,3	4,0
CD4	PERITONEO	14	29,2	6,0
	PLEURA	19	21,9	11,0
	Total	33	25,0	8,0
CD8	PERITONEO	16	50,1	18,0
	PLEURA	17	56,7	48,0
	Total	33	53,5	32,0
FOXP	PERITONEO	15	2,6	0,0
	PLEURA	18	0,6	0,0
	Total	33	1,5	0,0

As células positivas para cada marcador foram contatadas em cada “core” por avaliação visual sob microscopia ótica. Os valores foram descritos como médias e medianas.

Observamos um maior número de células com marcação positiva para CD68 nos mesoteliomas pleurais quando comparado aos peritoneais ($p=0,03$; Figura 6).

Não observamos diferença no número de células com marcação positiva para CD3, CD4, CD8, FOXP3, CD20 (Figuras 7 a 11) entre os mesoteliomas pleurais e peritoneais.

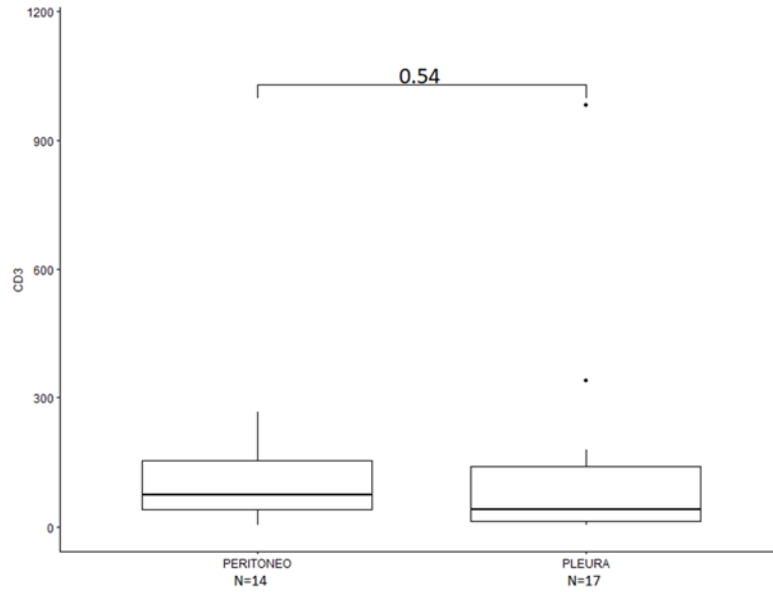


Figura 6 - Comparação do número de células com marcação para CD3 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA. Os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, e as diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

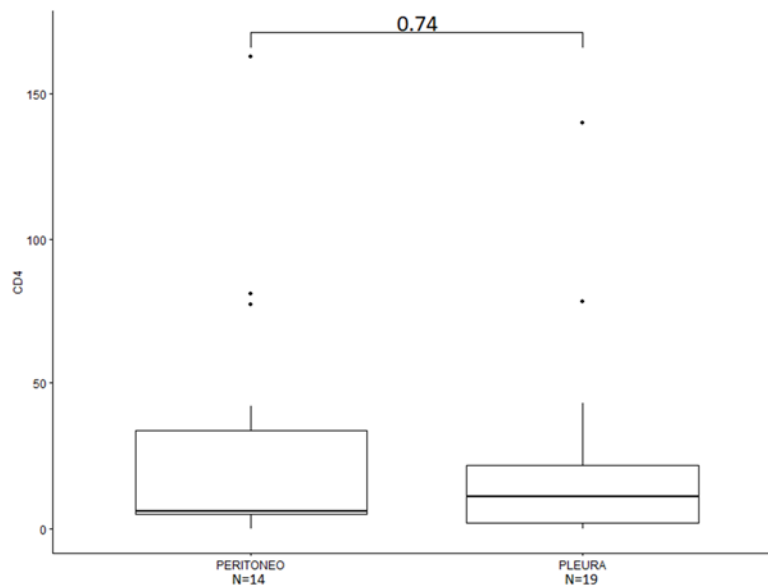


Figura 7 - Comparação do número de células com marcação para CD4 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA. Os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, e as diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

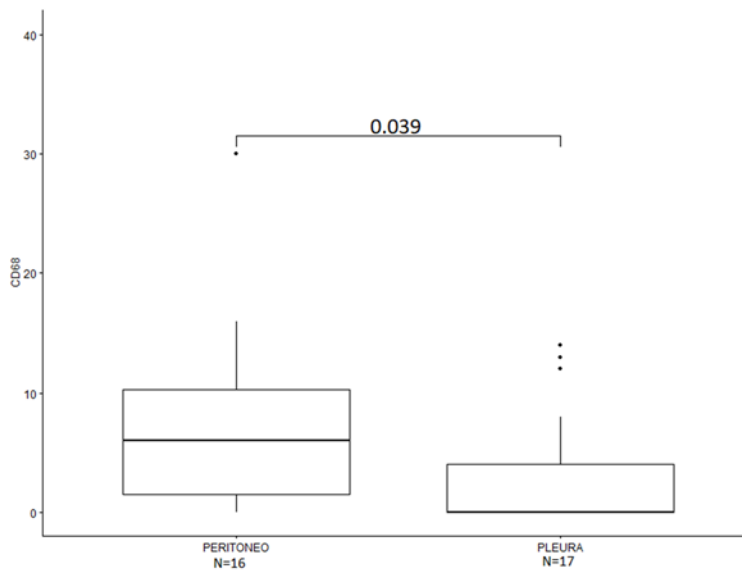


Figura 8 - Comparação do número de células com marcação para CD68 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA. Os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, e as diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

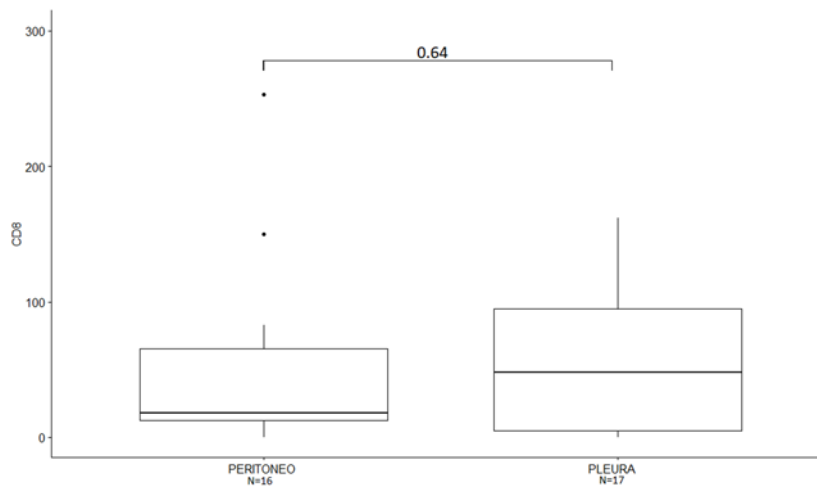


Figura 9 - Comparação do número de células com marcação para CD8 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA. Os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, e as diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

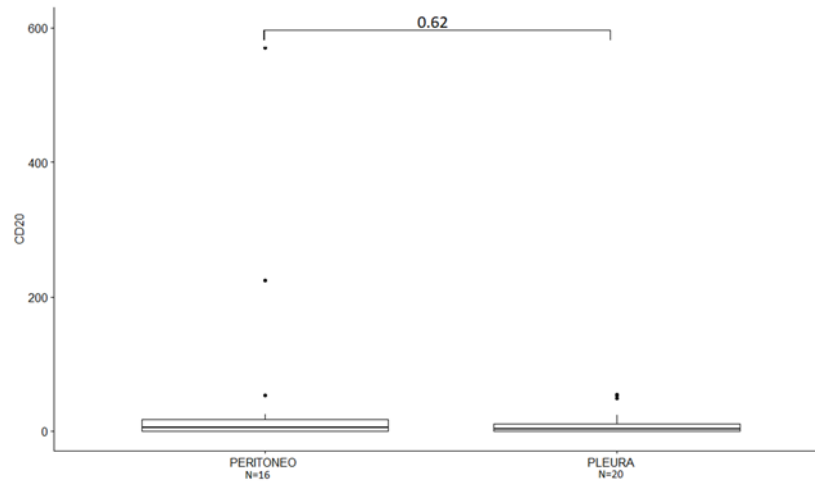


Figura 10 - Comparação do número de células com marcação para CD20 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA. Os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, e as diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

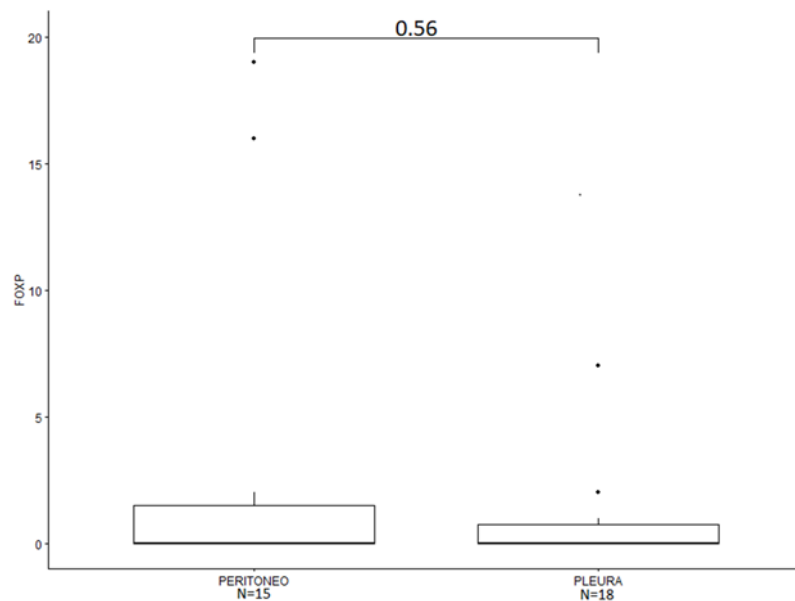


Figura 11 - Comparação do número de células com marcação para FOXP3 no infiltrado inflamatório das amostras de mesotelioma pleural e peritoneal incluídas no TMA. Os grupos foram comparados pelo teste de Mann-Whitney, e as diferenças encontradas foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$.

6.5 ANÁLISE DE SOBREVIDA GLOBAL

O seguimento mediano dos pacientes portadores de mesotelioma pleural foi de 36,0 meses, enquanto que, para os pacientes portadores de mesotelioma peritoneal, foi de 22,9 meses.

A sobrevida global mediana dos pacientes portadores de mesotelioma pleural foi de 11,0 meses versus 110,0 meses para os pacientes com mesotelioma peritoneal ($p < 0,001$) (Figura 12).

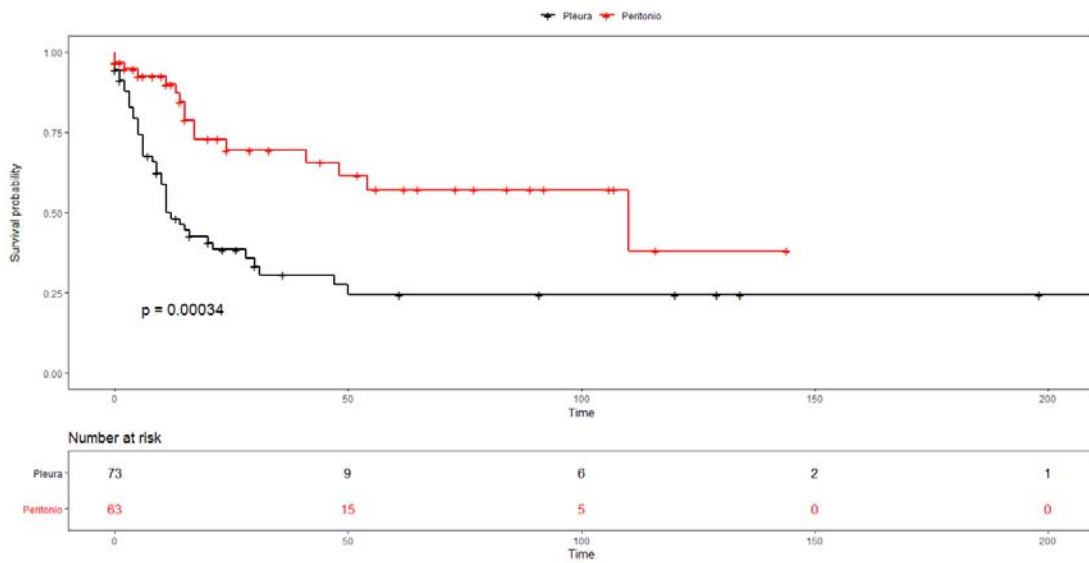


Figura 12 - Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural e Peritoneal identificados no A.C.Camargo Cancer Center no período de 1998 a 2018. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

Entre os mesoteliomas peritoneais, o único fator associado com sobrevida global foi o *performance status* (performance clínica) avaliado pelo escore ECOG, sendo pior com o aumento do ECOG (Figura 13).

Da mesma forma, a performance clínica avaliada pelo escore ECOG também esteve associado com a sobrevida global entre os mesoteliomas pleurais, havendo uma redução da probabilidade de sobrevida com o aumento do escore do ECOG (Figura 14).

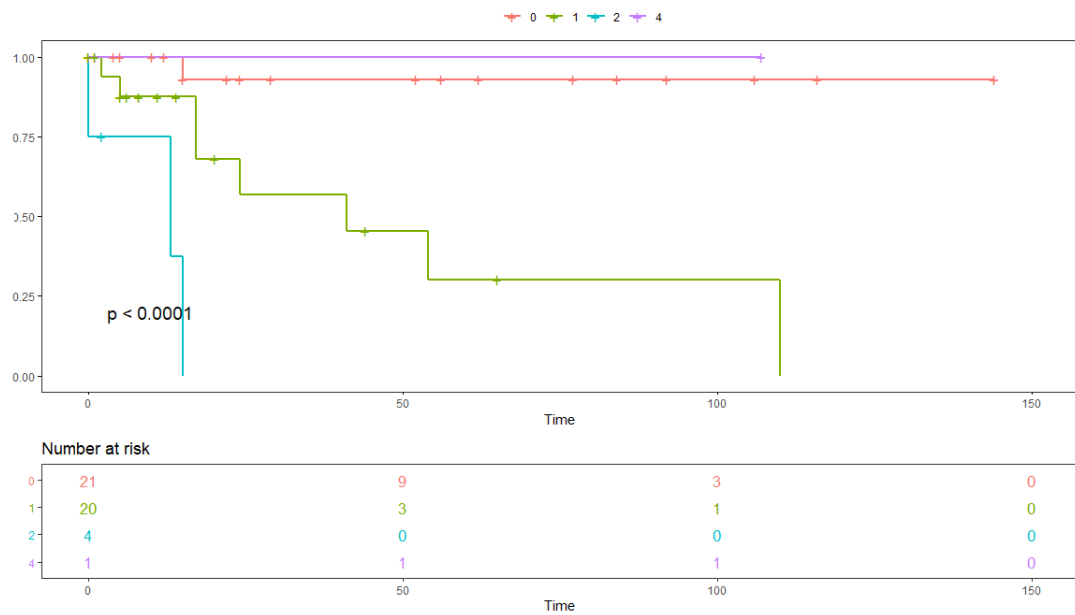


Figura 13 - Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o *performance status* avaliado pelo ECOG. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

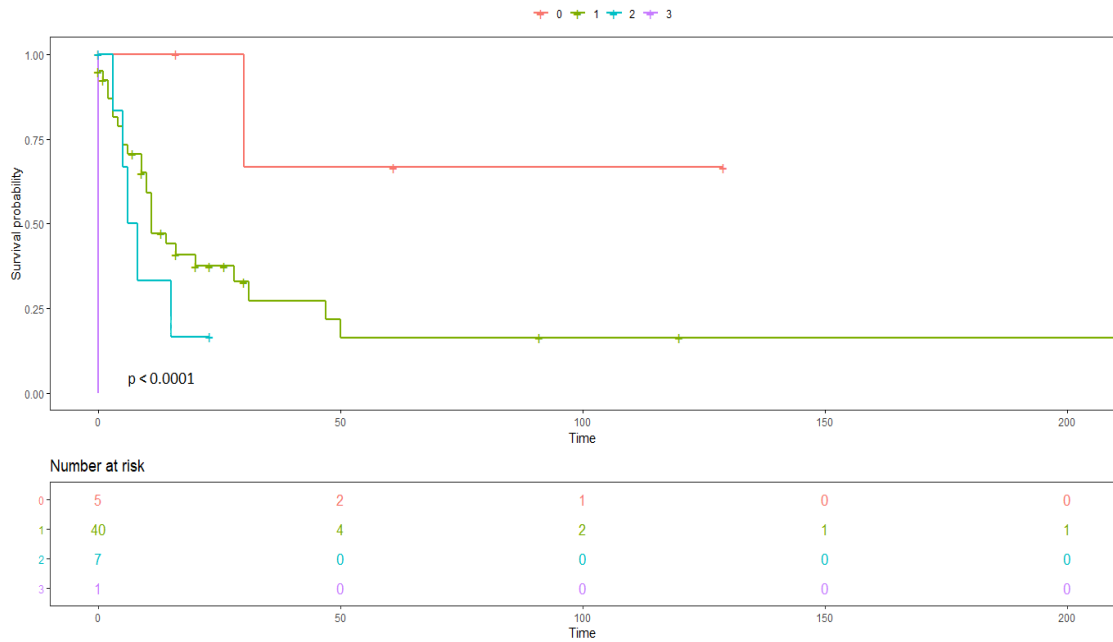


Figura 14 - Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com o *performance status* avaliado pelo ECOG. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

Entre os pacientes portadores de mesotelioma pleural, ter recebido radioterapia também esteve associado com um discreto aumento de sobrevida global (Figura 14), talvez refletindo uma doença de menor volume ao diagnóstico, embora com significância marginal ($p=0,05$).

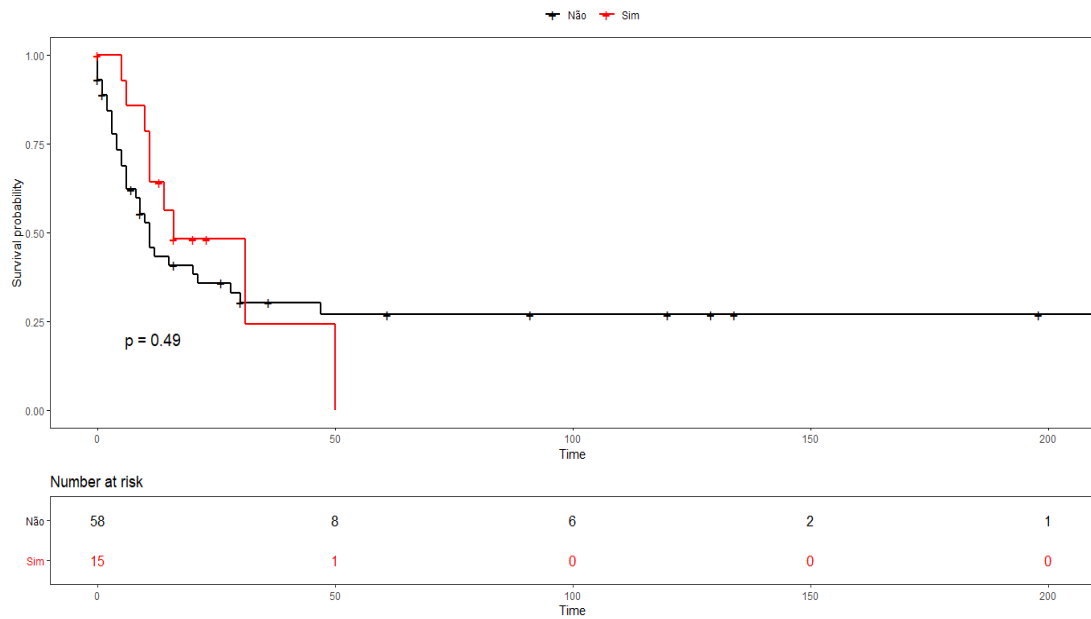


Figura 15 - Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno de acordo a administração de radioterapia. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

Não observamos diferenças na sobrevida global relacionadas às demais características clínicas, demográficas e de tratamento (Apêndice 2).

7 DISCUSSÃO

Este estudo forneceu uma descrição abrangente dos pacientes com mesotelioma maligno da pleura e do peritônio tratados no A.C. Camargo Cancer Center, incluindo características clínicas, sobrevida, tratamentos, análise do infiltrado inflamatório, e fatores prognósticos.

Nesse levantamento, evidenciamos que entre os casos de mesotelioma maligno, 50,7% são representados por mesoteliomas pleurais e 47,3%, peritoneais, e que o subtipo epitelioide foi mais frequente tanto entre os mesoteliomas pleurais (82,7%) quanto entre os peritonias (87,2%).

No Brasil, os dados sobre mesotelioma são limitados, no Registro de Câncer de População Brasileira (PBCR), as cidades que apresentam maior prevalência de mesotelioma pleural são Aracajú, Belo Horizonte, Cuiabá, Fortaleza, Goiânia e São Paulo. Cerca de 75% dos casos foram diagnosticados em São Paulo. Nesse estudo de registro, o levantamento foi realizado entre 2003 e 2007 e foram coletados um total de 82 casos de mesotelioma (51 homens e 31 mulheres), mostrando, semelhantemente ao nosso dado, uma maior prevalência de mesotelioma pleural entre homens (Terracini et al. 2015).

Em seu estudo, Terra et al. em 2008, avaliaram a experiência com o diagnóstico e a terapia do mesotelioma pleural maligno durante os anos de 2000 a 2005 em um hospital público terciário de São Paulo. Foram analisados 17 pacientes, 14 homens e 3 mulheres, com idade média de 54,1 (13-75) anos. Os espécimes de biópsia para exame histopatológico foram obtidos por meio de pleuroscopia em 9 pacientes (53%), agulha de Cope em 5 (29,5%) e biópsia pleural aberta em 3 (17,5%). Os tipos histológicos observados foram: epitelioide em 14 pacientes (82%), sarcomatoide em 1 (6%) e bifásico em 2 (12%) (Terra et al. 2008).

Esses dados são semelhantes aos encontrados por Gerwen et al. (2019) que fizeram um levantamento no *National Cancer Database* (EUA) entre 2004 e 2013. Foram levantados 16.267 casos de pacientes com mesotelioma pleural maligno, sendo observado que 78,7% dos pacientes eram do sexo masculino, 93,0%, da raça branca e 35,0% tinha tumores com histologia epitelioide.

Outro estudo coletou casos de mesotelioma pleural avançado em instituições de tratamento oncológico de nove países da América Latina (Argentina, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Panamá, México, Peru, Nicarágua e Venezuela). No período entre janeiro de 2008 e março de 2016, foram indentificados 302 pacientes pelo registro MESO-CLICap. Nessa

pesquisa, a média de idade foi 61,1 anos, 63,2% eram homens, 65,9% eram fumantes e 38,7% tiveram exposição ao amianto, a maioria dos pacientes tinham ECOG entre 0-1 (87,5%), tumores do subtipo epitelióide (37,7%) e estavam no estágio III ou IV (62,3%) (Rojas et al. 2019). Todos esses dados são compatíveis com os encontrados no nosso estudo. Vale salientar, contudo, que o estudo acima citado inclui 55 pacientes da amostra ora apresentada.

Um estudo realizado em 6 hospitais da Itália, selecionou 214 pacientes com mesotelioma pleural entre os anos de 2005 a 2011. Os pacientes eram principalmente do sexo masculino (64%), com uma média de idade de 75 anos e a maioria com ECOG de 0 a 1 (94%). Mais de dois terços dos pacientes tinham um subtipo histológico epitelióide, com estágio I-II em 149 pacientes (62%) e III-IV em 92 (38%) (Ceresolli et al. 2014).

Em relação ao mesotelioma peritoneal, o subtipo histológico epitelióide foi mais prevalente no nosso estudo (41,5 %), e 36% dos pacientes apresentavam-se no estágio IV. De forma diferente do observado para mesotelioma pleural, o mesotelioma peritoneal foi mais comum em mulheres 27,9%, da raça branca 50,6 % e com ECOG de 0 a 1 (40,5 %).

Uma análise retrospectiva em um hospital da Turquia, no período de 2003 a 2014, selecionou 35 pacientes com mesotelioma peritoneal maligno e observou que a média de idade foi de 59 anos, sendo o subtipo histológico prevalente o epitelióide (68,6%) (Kaya et al. 2014).

Em um estudo realizado nos EUA, 442 pacientes com mesotelioma foram incluídos em 2011, captados pelo programa *Surveillance Epidemiology and End Results* do *National Cancer Institute-SEER* e indentificaram-se fatores que se associavam com mortalidade e resposta a tratamento. A maioria dos pacientes (N=389; 89,5%) apresentava mesotelioma pleural; houve 53 casos que foram classificados como mesotelioma não pleural. Em comparação aos pacientes com mesotelioma não pleural, os pacientes com mesotelioma pleural tendiam a ser mais velhos, do sexo masculino e com mais comorbidades, histórico de exposição ao tabagismo e ao amianto, histologia sarcomatoide ou bifásica e estágio conhecido. Notavelmente, pacientes com menos de 50 anos constituíram 23,3% daqueles com mesotelioma não pleural, em comparação com apenas 3,1% daqueles com mesotelioma pleural. Além disso, mais da metade (54,5%) de todos os pacientes com mesotelioma não pleural eram do sexo feminino, em comparação com 21,1% dos pacientes pleurais. Esses achados são semelhantes aos da nossa corte (Enewold et al. 2017).

A maioria dos casos de mesotelioma é atribuída à exposição ocupacional ou ambiental ao amianto. O risco de desenvolver mesotelioma após a exposição ao amianto aumenta continuamente com o tempo desde a exposição, e parece atingir um pico 45 anos após a

exposição para o mesotelioma pleural, enquanto o risco de mesotelioma peritoneal não demonstra pico e aumenta continuamente (Reid et al. 2014).

As informações referentes a exposição ao amianto estava incompleta na maioria dos prontuários do A.C.Camargo Cancer Center, porém nesse estudo, 52,0% dos pacientes com mesotelioma pleural tinham história de exposição ao amianto enquanto somente 5,5% dos casos peritoniais apresentavam tal exposição.

No estudo de Terra et al. (2008), a exposição ao amianto estava presente em apenas 12% (2/17) dos casos. Observou-se também que em cerca de 35% (6/17) dos prontuários revistos, não constava a ocupação (profissão) do paciente.

No estudo de Kaya et al. (2014), 82,9% dos pacientes tiveram exposição ao amianto e 48,6% dos casos apresentavam ECOG 1 (Kaya et al. 2014), já no estudo de Ceresolli et al. (2014), a exposição ao amianto foi documentada em 80% dos casos, dados bem diferentes dos encontrados na nossa população.

Esse fato deve ser ressaltado, pois apesar da sua importância, a coleta dessa informação é frequentemente negligenciada durante o atendimento médico, refletindo o desinteresse e, possivelmente, o desconhecimento.

Infelizmente, esse viés também é identificado em outros estudos epidemiológicos nacionais. A maior série de casos, publicada em 2003, analisando o registro de óbitos no Estado do Rio de Janeiro (1979-2000) identificou 73 prontuários de pacientes com MPM (comprovados ou suspeitos). Em 89% (65/73) não havia informações referentes à exposição ao asbesto (Pinheiro et al. 2003). Nosso estudo também tivemos esse viés, pois na maioria dos prontuários também não constava a informação de exposição ao amianto ou ocupação profissional.

No Brasil, não há informações oficiais sobre o número de indivíduos expostos ao amianto. No entanto, estima-se que haja pelo menos 240.000 trabalhadores expostos ao amianto somente nas indústrias de produção de fibrocimento e tijolo (Algranti et al. 2001). Logo, provavelmente a exposição descrita é subestimada devido à falta da coleta do dado de forma sistemática.

Em relação aos tratamentos realizados, na nossa pesquisa, a cirurgia foi realizada em 46,6% dos casos de mesotelioma pleural e 58,0% dos mesoteliomas peritoneais.

De acordo com Ros et al. (1991), 83 pacientes com mesotelioma ressecável, de acordo com a tomografia de tórax, foram submetidos à pleuropneumonectomia (ressecção do pulmão em conjunto com a pleura, diafragma e pericárdio), pleurectomia e decorticação, ou não ressecção. A melhor sobrevida foi observada para os pacientes submetidos à

pleuropneumonectomia, 14 meses, contra 10 meses para a pleurectomia e 7 meses para a não ressecção.

No estudo de Enewold et al. (2017), quase um terço (29,3%) dos pacientes com mesotelioma pleural não receberam tratamento e 27,1% foram submetidos à cirurgia, 18,4% receberam radiação e 62% receberam terapia sistêmica. Aproximadamente metade (56,9%) dos pacientes com mesotelioma pleural realizaram toracocentese terapêutica e 33,7% realizaram pleurodese. Entre os pacientes com mesotelioma não pleural, 21,5% não receberam tratamento, 51,8% foram submetidos à cirurgia, 4,9% receberam radiação e 61,6% receberam terapia sistêmica; nessa pesquisa, 11,3% dos pacientes com mesotelioma pleural realizaram RT e 29,4% tratamento sistêmico, enquanto 42,8 % dos pacientes com mesotelioma peritoneal não realizaram RT e 28,0% realizaram quimioterapia. Entre os pacientes com mesotelioma pleural que foram operados, 66,8% realizaram pleurectomia/decorticação e 17% tiveram pneumonectomia extrapleural, Entre os pacientes com mesotelioma pleural que receberam terapia sistêmica, a cisplatina mais o pemetrexede foi o regime de primeira linha mais comum (43,0%), e 29,1% receberam duas ou mais linhas de terapia, entre os pacientes com mesotelioma não pleural que receberam terapia sistêmica, os regimes à base de platina de primeira linha com pemetrexede foram menos comuns e mais pacientes (40,1%) receberam duas ou mais linhas de terapia. 24,5% dos pacientes com mesotelioma pleural realizaram cirurgia versus 28,0% dos pacientes com mesotelioma peritoneal (Enewold et al. 2017).

No nosso estudo, a sobrevida global mediana dos pacientes portadores de mesotelioma pleural foi de 11,0 meses versus 110,0 meses para os pacientes com mesotelioma peritoneal. O ECOG esteve associado com sobrevida global tanto entre os pacientes com mesotelioma pleural quanto entre aqueles com diagnóstico de mesotelioma peritoneal.

No estudo de Enewold et al. (2017), a sobrevida global mediana foi de 9 meses entre os pacientes com mesotelioma pleural e 18 meses entre os pacientes com mesotelioma não pleural. Ter recebido de cirurgia ou terapia sistêmica e, particularmente a combinação dessas duas modalidades, esteve associado a uma melhor sobrevida por todas as causas. Além disso, entre os pacientes com mesotelioma pleural, a idade mais jovem e o nível socioeconômico mais baixo foram associados a uma melhor sobrevida por todas as causas. O escore de comorbidade não foi associado a ter recebido tratamento, nem foi independentemente associado à sobrevida entre pacientes com mesotelioma pleural (Enewold et al. 2017).

O esquema mais utilizado nos casos por nós estudados foi a associação de cisplatina com pemetrexede. Em pacientes com pior condição clínica foi utilizada a monoterapia. No no nosso estudo, receber tratamento quimioterápico sistêmico não teve impacto sobre a sobrevida,

tanto em pacientes com mesotelioma pleural, quanto peritoneal. Embora os pacientes que receberam quimioterapia combinada pareçam ter tido uma sobrevida relativamente mais longa do que aqueles que receberam apenas cuidados de suporte, este resultado não foi significativo.

Hoje, os regimes de quimioterapia combinada à base de platina, particularmente a combinação de cisplatina e pemetrexede, são recomendados devido ao seu impacto positivo na sobrevida de pacientes com mesotelioma pleural (Michael e Neal 2017).

Um grande ensaio clínico comparando cisplatina isolada com pemetrexede + cisplatina e demonstrou que o regime combinado foi mais efetivo quanto à sobrevida mediana (12,1 vs. 9,3 meses), tempo de progressão da doença (5,7 vs. 3,9 meses) e taxa de resposta (41% vs. 17%). Os pacientes que receberam esquema combinado também apresentaram melhores resultados quanto a provas de função pulmonar e sintomas como dispnéia e dor (Vogelzang et al. 2003). Apesar da toxicidade observada, o esquema pemetrexede + cisplatina é considerado o tratamento padrão para o mesotelioma irresecável (Gralla et al. 2003).

É importante ressaltar que houve dificuldade na obtenção de dados de alguns prontuários, e muitas informações estavam incompletas, causando a perda de informação, o que pode ter introduzido vieses de avaliação para algumas das variáveis aqui descritas.

O papel do sistema imunológico no câncer está bem estabelecido e está criticamente envolvido na imunovigilância, imunoedição, progressão tumoral e escape imune (Dunn et al. 2004; Schreiber et al. 2011). Em muitos tumores sólidos, incluindo colorretal, pulmão, mama e orofaringe, os linfócitos infiltrantes de tumor (TILs) conferem um benefício na sobrevida (Pages et al. 2006).

Uma meta-análise de 23 estudos de tumores sólidos demonstrou que a presença de células CD8+ está associada com bom prognóstico e uma análise semelhante de seis estudos mostrou que a expressão de CD4 tem impacto significativo na sobrevida global (Gooden et al. 2011). Uma metanálise mais recente de quase 18.000 tumores em 39 cânceres encontrou níveis mais altos de frações de células T geralmente associados a uma melhor sobrevida (Gentles et al. 2015).

No mesotelioma, o impacto da intensidade de TIL é menos claro. Pequenos estudos anteriores sugeriram que a infiltração de células T CD8 do tumor está associada a uma melhor sobrevida (Anraku et al. 2008; Yamada et al. 2010). Recentemente, uma pesquisa maior demonstrou que a infiltração de células T CD4 no tumor confere uma vantagem de sobrevivência no mesotelioma epitelióide (Ujiiie et al. 2015).

Nós realizamos a avaliação da intensidade do infiltrado inflamatório em amostras de mesotelioma pleural e peritoneal e observamos uma maior intensidade de infiltrado inflamatório no compartimento estromal dos primeiros.

Em relação a composição do infiltrado inflamatório, a única diferença que observamos foi um maior número de células CD68+ entre os mesoteliomas peritoneais quando comparados aos mesoteliomas pleurais.

A maior parte da literatura apresenta os dados avaliando a presença de marcadores imunológicos na área do tumor contabilizando por porcentagem, não foi possível realizar esse tipo de avaliação no nosso estudo devido a falta de homogeneidade das amostras (Ujiiie et al. 2015; Chee et al. 2017; Marcq et al. 2017).

No estudo realizado por Chee et al. (2017), foi realizada avaliação de células do sistema imune inato e adaptativo usando imuno-histoquímica em amostras de mesotelioma pleural de pacientes tratados no período de 2004 a 2012 em um hospital dos EUA, sendo estabelecida uma coorte de 302 pacientes. Esse estudo procurou caracterizar a ligação entre a presença de células imunes no tumor e o prognóstico. A avaliação das células foi dividida entre aquelas encontradas em amostras de mesoteliomas epitelióides e não epitelióides. Foram encontradas no mesotelioma epitelióide contagem elevada de CD4 e CD20 e baixas contagens de FOXP3, CD68, e estes achados foram relacionados a melhor prognóstico (Chee et al. 2017). No grupo não epitelióide, baixas contagens de CD8 e FOXP3 foram associadas a um melhor prognóstico. Na análise multivariada, o FOXP3 permaneceu independentemente associado à sobrevida em ambos os grupos (Chee et al 2017).

Em outro estudo, que avaliou os marcadores imunológicos em mesotelioma pleural com histologia epitelióide, foram estudados 230 pacientes. De acordo com as análises realizadas, altas densidades de linfócitos tumorais que expressam CD4 e CD20 foram associadas a melhores desfechos clínicos. De acordo com análise multivariada, a presença de células CD20+ intratumoral esteve associada de forma independente à sobrevida (Ujiiie et al. 2015).

Na Itália e Eslovênia, um estudo retrospectivo em pacientes com diagnóstico de mesotelioma pleural, investigou a expressão de PD-L1 em 65 amostras. As amostras de subtipo sarcomatoide e bifásico foram caracterizadas por maior expressão de CD8 em linfócitos e de PD-L1 nas células tumorais, enquanto o epitelióide apresentou maior contagem de linfócitos peritumorais com marcação para CD4 e CD20. Contagens elevadas de linfócitos, macrófagos CD68 e expressão de PD-L1 foram associados a características patológicas de maior agressividade (necrose, classificação, Ki67). Os casos de mesotelioma pleural caracterizados por maior infiltrado de células CD8+ mostraram menor resposta à quimioterapia e pior

sobrevida (Pasello et al 2018). No subgrupo não epitelióide, a razão CD68+/CD8+ elevada apresentou impacto negativo no prognóstico, estando associada com menor sobrevida, e maior infiltrado de linfócitos T CD4+ foi associado a maior sobrevida em toda a população (Pasello et al 2018).

No nosso estudo, não foi possível realizar tal avaliação prognóstica dado ao tamanho e à natureza da amostra avaliada (TMA de arquivo), dessa forma, neste momento não podemos concluir qual o significado da maior presença de células imunes infiltrando o estroma das nossas amostras de mesotelioma, bem como do infiltrado macrofágico (células CD68+). Em contrapartida, não encontramos na literatura nenhum estudo comparando a intensidade do infiltrado inflamatório ou a composição do mesmo entre mesoteliomas pleurais e peritoneais. Como verificamos um desfecho em termos de sobrevida diferente entre estes dois subgrupos (pleural x peritoneal), com sobrevida global mais longa entre os mesoteliomas peritoneais, a despeito destes pacientes virem para nossa instituição em estágios mais avançados (a maioria vem encaminhada para realização de peritonectomia com quimioterapia intraperitoneal). Isso precisaria ser melhor avaliado numa coorte com dado de sobrevida e material patológico disponível para análise do infiltrado.

8 CONCLUSÕES

A topografia do mesotelioma esteve associada às seguintes características: sexo, ECOG, exposição ao amianto, estadiamento, ECOG e administração de radioterapia.

Em relação ao infiltrado inflamatório, observamos um infiltrado mais intenso no compartimento estromal (pleural) dos mesoteliomas pleurais, e um maior número células com marcação positiva para CD68 também entre os mesoteliomas pleurais.

Os pacientes com mesotelioma peritoneal apresentaram maior sobrevida global.

A performance *status* avaliado pelo ECOG esteve associado com sobrevida global tanto entre os pacientes com mesotelioma pleural quanto entre aqueles com diagnóstico de mesotelioma peritoneal.

A administração de radioterapia esteve associada à maior sobrevida global entre os pacientes portadores de mesotelioma pleural.

9 REFERÊNCIAS

Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia: funções e distúrbios do sistema imunológico*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2013. Nomenclatura, propriedades gerais e componentes; p.1-5.

Alexander HR Jr, Bartlett DL, Pingpank JF, Libutti SK, Royal R, Hughes MS, et al. Treatment factors associated with long-term survival after cytoreductive surgery and regional chemotherapy for patients with malignant peritoneal mesothelioma. *Surgery*. 2013;153(6):779-86.

Algranti E, Mendonça EM, DeCapitani EM, Freitas JB, Silva HC, Bussacos MA. Non-malignant asbestos-related diseases in Brazilian asbestos-cement workers. *Am J Ind Med*. 2001;40(3):240-54.

Algranti E, Saito CA, Carneiro AP, Moreira B, Mendonça EM, Bussacos MA. The next mesothelioma wave: mortality trends and forecast to 2030 in Brazil. *Cancer Epidemiol*. 2015;29(5):687-92.

Antman H, Corson JM, Li FP, Greenberger J, Sytkowski A, Henson DE, et al. Malignant mesothelioma following radiation exposure. *J Clin Oncol*. 1983;1(11):695-700.

Antonia SJ, Larkin J, Ascierto PA. Immuno-oncology combinations: a review of clinical experience and future prospects. *Clin Cancer Res*. 2014;20(24):20-4.

Anraku M, Cunningham KS, Yun Z, Tsao MS, Zhang L, Keshavjee S, et al. Impact of tumor-infiltrating T cells on survival in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2008;135(4):823-9.

Baratti D, Kusamura S, Martinetti A, Seregini E, Oliva DG, Laterza B, et al. Circulating CA125 in patients with peritoneal mesothelioma treated with cytoreductive surgery and intraperitoneal hyperthermic perfusion. *Ann Surg Oncol*. 2007;14(2):500-8.

Becklake M. Asbestos-related diseases. In: Stellman JM, editor. *Encyclopaedia of occupational health and safety*. Geneva: International Labour Office; 1998. p.50-63.

Bolden E, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*. 2006;5(9):769-784.

Boffeta P. Epidemiology of peritoneal mesothelioma: a review. *Ann Oncol*. 2007;18(6):985-90.

Bonelli M, Fumarola C, La Monica S, Alfieri R. New therapeutic strategies for malignant pleural mesothelioma. *Biochemical Pharmacol*. 2016;123(1):8-18.

Bononi A, Giorgi C, Patergnani S, Larson D, Verbruggen K, Tanji M. BAP1 regulates IP3R3-mediated Ca^{2+} flux to mitochondria suppressing cell transformation. *Nature*. 2017;546(7659):549-52.

Borczuk A, Borczuk AC, Pei J, Taub RN, Levy B, Nahum O, et al. Genome-wide analysis of abdominal and pleural malignant mesothelioma with DNA arrays reveals both common and distinct regions of copy number alteration. *Cancer Biol Ther*. 2016;15(3):328-35.

Bott M, Brevet M, Taylor BS, Shimizu S, Ito T, Wang L. The nuclear deubiquitinase BAP1 is commonly inactivated by somatic mutations and 3p21.1 losses in malignant pleural mesothelioma. *Nat Genet*. 2011;7(43):668-72.

Bridda A, Padoan I, Mencarelli R, Frego M. Peritoneal mesothelioma: a review. *Med Gen Med*. 2007;9(2):32.

Busch J, Kruskal JB, Wu B. Best cases from the AFIP. Malignant peritoneal mesothelioma. *Radiographics*. 2002;22(6):1511-5.

Calabro L, Morra A, Fonsatti E, Cutaia O, Fazio C, Annesi D. Efficacy and safety of an intensified schedule of tremelimumab for chemotherapy-resistant malignant mesothelioma: an open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Respir Med*. 2015;3(4):301-9.

Calabro L, Rossi G, Maio M. New horizons from immunotherapy in malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Dis.* 2018;10(Suppl 2):S322-S332.

Carbone M, Kratzke RA, Testa JR. The pathogenesis of mesothelioma. *Semin Oncol.* 2002;29(1):2-17.

Carteni G, Manegold C, Garcia GM, Siena S, Zielinski CC, Amadori D. Malignant peritoneal mesothelioma-results from the International expanded access program using pemetrexed alone or in combination with a platinum agent. *Lung Cancer.* 2009;64(2):211-8.

Capelozzi L. Asbesto, asbestose e câncer: critérios diagnósticos. *J Pneumol.* 2001;27(4):206-18.

Campbell NP, Kindler HL. Update on malignant pleural mesothelioma. *Semin Respir Crit Care Med.* 2011;32(1):102-10.

Cedres S, Ponce-Aix S, Zugazagoitia J, Sansano I, Enguita A, Navarro-Mendivil A. Analysis of expression of programmed cell death 1 ligand 1 (PD-L1) in malignant pleural mesothelioma (MPM). *PLoS One.* 2015;10(3): e 0121071.

Ceresolli G, Grosso F, Zucali PA, Mencoboni M, Pasello G, Ripa C. Prognostic factors in elderly patients with malignant pleural mesothelioma: results of a multicenter survey. *Br J Cancer.* 2014;111(2):220-6.

Chambers C, Sullivan TJ, Truong T, Allison JP. Secondary but not primary T cell responses are enhanced in CTLA-4 deficient CD8⁺ T cells. *Eur J Immunol.* 1998;28(10):3137-43.

Chee S, Lopez M, Mellows T, Gankande S, Moutasim KA, Harris S, et al. Evaluating the effect of immune cells on the outcome of patients with mesothelioma. *Br J Cancer.* 2017;117(9):1341-8.

Cheung M, Talarchek J, Schindeler K, Saraiva E, Penney LS, Ludman M, et al. Further evidence for germline BAP1 mutations predisposing to melanoma and malignant mesothelioma. *Cancer Genet.* 2013;205(5):668-72.

Christensen BC, Houseman EA, Godleski JJ, Marsit CJ, Longacker JL, Roelofs CR, et al. Epigenetic profiles distinguish pleural mesothelioma from normal pleura and predict lung asbestos burden and clinical outcome. *Cancer Res.* 2009;69(1):227-34.

Combaz L, Galateau-Sallé F, McLeer-Florin A, Le Stang N, David-Boudet L, Duruisseaux M, et al. Immune bio- markers PD-1/PD-L1 and TLR3 in malignant pleural mesotheliomas. *Hum Pathol.* 2016;52(1):9-18.

Creaney J, Yeoman D, Demelker Y, Segal A, Musk AW, Skates SJ, et al. Comparison of osteopontin, megakaryocyte potentiating factor, and mesothelin proteins as markers in the serum of patients with malignant mesothelioma. *J Thorac Oncol.* 2008;3(8):851-7.

Cristaudo A, Foddìs R, Vivaldi A, Guglielmi G. Clinical significance of serum mesothelin in patients with mesothelioma and lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2007;13(17):5076-81.

Cugell D, Kamp DW. Asbestos and the pleura: a review. *Chest.* 2004;125(3):1103-17.

Curran D, Sahnoud T, Therasse P, van Meerbeeck J, Postmus PE, Giaccone G. Prognostic factors in patients with pleural mesothelioma: the European Organization for Research and Treatment of Cancer experience. *J Clin Oncol.* 1998;16(1):145-52.

Delgermaa V, Takahashi k, Park EK, Le G. Global mesothelioma deaths reported to the World Health Organization between 1994 and 2008. *World Health Org.* 2011;89(10):716-24.

Deraco M, Bartlett D, Kusamura S, Baratti D. Consensus statement on peritoneal mesothelioma. *J Surg Oncol.* 2008;98(4):268-72.

Donaldson K, Murphy FA, Duffin R, Poland CA. Asbestos, carbon nanotubes and the pleural mesothelium: a review of the hypothesis regarding the role of long fibre retention in the parietal pleura, inflammation and mesothelioma. *Part Fibre Toxicol.* 2010;7:5.

Dunn P, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity.* 2004;21(2):137-48.

Enewold L, Sharon E, Thomas A. Patterns of care and survival among patients with malignant mesothelioma in the United States. *Lung Cancer*. 2017;112:102-8.

Fernández Infante B, Michel FJ. Mesotelioma pleural maligno. *Anales Sis San Navarra*. 2005;28(Suppl 1):29-35.

Flores R, Pass HI, Seshan VE, Dycoco J. Extrapleural pneumonectomy versus pleurectomy/decortication in the surgical management of malignant pleural mesothelioma: results in 663 patients. *J Thoracic Cardiovascular Surg*. 2008;165(3):620-6.

Freeman G, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med*. 2000;192(7):1027-34.

Galffy G, Mohammed KA, Dowling PA, Nasreen N, Ward MJ, Antony VB. Interleukin 8: an autocrine growth factor for malignant mesothelioma. *Cancer Res*. 1999;59(2):367-71.

Galateau-Salle F, Churg A, Roggli V, Travis WD. The 2015 world health organization classification of tumors of the pleura: advances since the 2004 classification. *J Thorac Oncol*. 2015;11(2):142-54.

Gelder T, Hoogsteden HC, Versnel MA, de Beer PH, Vandenbroucke JP, Planteydt HT. Malignant peritoneal mesothelioma: a series of 19 cases. *Digestion*. 1989;43(4):222-7.

Gerwen V, Alpert N, Wolf A, Ohri N, Lewis E, Rosenzweig KE, et al. Prognostic factors of survival in patients with malignant pleural mesothelioma: an analysis of the National Cancer Database. *Carcinogenesis*. 2019;40(4):529-36.

Gentles J, Newman AM, Liu CL, Bratman SV, Feng W, Kim D, et al. The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers. *Nat Med*. 2015;21(8):938-45.

Goto Y, Shinjo K, Kondo Y, Shen L, Toyota M, Suzuki H. Epigenetic profiles distinguish malignant pleural mesothelioma from lung adenocarcinoma. *Cancer Res*. 2009;69(23):9073-82.

Gooden J, de Bock GH, Leffers N, Daemen T, Nijman HW. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer*. 2011;105(1):93-103.

Gralla J, Hollen PJ, Liepa AM. Improving quality of life in patients with malignant pleural mesothelioma: results of the randomized pemetrexed + cisplatin vs cisplatin trial using the LCSS-meso instrument [abstract]. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2003;22:621.

Grondin P, Vergnolle C, Chavant L, Kader JC. Purification and characterization of a novel phospholipid transfer protein from filamentous fungi. *Int J Biochem*. 1990;22(1):93-98.

Guled M. CDKN2A, NF2, and JUN are dysregulated among other genes by miRNAs in malignant mesothelioma-A miRNA microarray analysis. *Genes Chromosomes Cancer*. 2009;48(7):615-23.

Helm J, Miura JT, Glenn JA, Marcus RK, Larrieux G, Jayakrishnan TT. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for malignant peritoneal mesothelioma: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(5):1686-93.

Hemelandu C, Bijelic L, Sugarbaker PH. Iterative cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for recurrent or progressive diffuse malignant peritoneal mesothelioma: clinicopathologic characteristics and survival outcome. *Ann Surg Oncol*. 2015;22(5):1680-5.

Henderson D, Attwood HD, Constance TJ, Shilkin KB, Steele RH. Lymphohistiocytoid mesothelioma: a rare lymphomatoid variant of predominantly sarcomatoid mesothelioma. *Ultrastruct Pathol*. 1998;12(4):367-84.

Henderson D, Reid G, Kao SC, van Zandwijk N, Klebe S. Challenges and controversions in the diagnosis of malignant mesothelioma: part 2. Malignant mesothelioma subtypes, pleural synovial sarcoma, molecular and prognostic aspects of mesothelioma BAP1, aquaporin-1 and microRNA. *J Clin Pathol*. 2013;66(10):854-61.

Husain A, Colby TV, Ordóñez NG, Allen TC, Attanoos RL, Beasley MB, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: 2012 update of the consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med.* 2013;137(1):647-67.

International Agency for Research on Cancer-IARC. Some inorganic and organometallic compounds. Lyon, International Agency for Research on Cancer; 1973. [IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man, v. 2].

Jagirdar R, Solenov EI, Hatzoglou C, Molyvdas PA, Gourgoulisianis KI, Zarogiannis SG. Gene expression profile of aquaporin 1 and associated interactors in malignant pleural mesothelioma. *Gene.* 2013;517(1):99-105.

Jansson M, Lund AH. MicroRNA and cancer. *Mol Oncol.* 2012;6(6):590-610.

Kane A. Epidemiology and pathology of asbestos-related diseases. *Rev Mineral Geochemistr.* 1993;28(1):347-59.

Kaya H, Sezgi C, Tanrikulu AC, Taylan M, Abakay O, Sen HS, et al. Prognostic factors influencing survival in 35 patients with malignant mesothelioma. *Neoplasma.* 2014;61(4):433-8.

Kebapci M, Vardareli E, Adapinar B, Acikalin M. CT findings and serum ca 125 levels in malignant peritoneal mesothelioma: report of 11 new cases and review of the literature. *Eur Radiol.* 2003;13(12):2620-6.

Khan IR, Robinson LA, Williams CC Jr, Garrett CR, Bepler G, Simon GR. Malignant pleural mesothelioma: a comprehensive review. *Cancer Control.* 2006;13(4):255-63.

Khanna S, Thomas A, Abate-Daga D, Zhang J, Morrow B, Steinberg SM, et al. Malignant mesothelioma ef- fusions are infiltrated by CD3(+) T cells highly expressing PD-L1 and the PD-L1(+) tumor cells within these effusions are susceptible to ADCC by the anti-PD-L1 antibody avelumab. *J Thorac Oncol.* 2016;11(11):1993-2005.

Kim J, Bragwadin S, Labow DM. Malignant peritoneal mesothelioma: a review. *Ann Transl Med.* 2017;5(11):236.

Kumagai N, Maeda M, Nishimura Y, Hayashi H. Dysregulation of the immune system caused by silica and asbestos. *J Immunotoxicol.* 2010;7(4):268-78.

Leung J, Suh WK. The CD28-B7 family in anti-tumor immunity: emerging concepts in cancer immunotherapy. *Immune Netw.* 2014;14(6):265-76.

Levy AD, Arnáiz J, Shaw JC, Sobin LH. From the archives of the AFIP: primary peritoneal tumors: imaging features with pathologic correlation. *Radiographics.* 2008;28(2):583-607; quiz 621-2.

Linton A, van Zandwijk N, Reid G, Clarke S, Cao C, Kao S. Inflammation in malignant mesothelioma-friend or foe? *Ann Cardiothorac Surg.* 2012;4(5):516-22.

Liu C, Lou Y, Lizee G, Qin H. Plasmacytoid dendritic cells induce NK cell dependent, tumor antigen-specific T cell cross-priming and tumor regression in mice. *J Clin Invest.* 2008;118(3):1165-75.

Liu S, Staats P, Lee M, Alexander HR, Burke AP. Diffuse mesothelioma of the peritoneum: correlation between histological and clinical parameters and survival in 73 patients. *Pathology.* 2014;46(7):604-9.

Marcq E, Siozopoulou V, De Waele J, van Audenaerde J, Zwaenepoel K, Santermans E, et al. Prognostic and predictive aspects of the tumor immune microenvironment and immune checkpoints in malignant pleural mesothelioma. *Oncoimmunology.* 2017;6(1):e1261241.

Marinaccio A, Binazzi A, Marzio DD, et al. Pleural malignant mesothelioma epidemic: incidence, modalities of asbestos exposure and occupations involved from the Italian National Register. *Int J Cancer.* 2012;130(9):2146-54

Michael R, Neal JW. Novel systemic therapy against malignant pleural mesothelioma. *Transl Lung Cancer Res.* 2017;6(3):295-314.

Minnema-Luiting J, Vroman H, Aerts J, Cornelissen R. Heterogeneity in immune cell content in malignant pleural mesothelioma. *Int J Mol Sci.* 2018;19(4):1041.

Meyerhoff RR, Yang CF, Speicher PJ, Gulack BC, Hartwig MG, D'Amico TA, et al. Impact of mesothelioma histologic subtype on outcomes in the Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *J Surg Res.* 2015;196(1):23-32.

Morales-Soriano R, Esteve-Pérez N, Segura-Sampedro JJ, Cascales-Campos P, Barrios P; Spanish Group of Peritoneal Malignancy Surface (GECOP). Current practice in cytoreductive surgery and HIPEC for metastatic peritoneal disease: Spanish multicentric survey. *Eur J Surg Oncol.* 2018;44(2):228-36.

Narasimhan S, Yang L, Gerwin BI, Broaddus VC. Resistance of pleural mesothelioma cell lines to apoptosis: relation to expression of BCL-2 and bax. *Am J Physiol.* 1998;275(1):165-71.

Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, Sasayama S, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor deficient mice. *Science.* 2001;291(5502):319-22.

Ouazzani A, Rondelet B, Sokolow Y, Ruiz Patino M, R Emmelink M, Cappello M. Localized malignant lymphohistiocytoid pleural mesothelioma. *Acta Chir Belg.* 2011;111(1):38-43.

Pages F, Galon J, Dieu-Nosjean MC, Tartour E, Sautès-Fridman C, Fridman WH. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. *Oncogene.* 2010;29(8):1093-102.

Pass H, Carbone M. Current status of screening for malignant pleural mesothelioma. *Semin Thorac Cardiovasc.* 2009;21(2):97-104.

Pasello G, Zago G, Lunardi F, Urso L, Kern I, Vlacic G, et al. Malignant pleural mesothelioma immune microenvironment and checkpoint expression: correlation with clinical-pathological features and intra-tumor heterogeneity over time. *Ann Oncol.* 2018;29(5):1258-65.

Pinheiro GA, Antão VC, Monteiro MM, Capelozzi VL, Terra-Filho M. Mortality from pleural mesothelioma in Rio de Janeiro, Brazil, 1979 - 2000: estimation from death certificates, hospital records, and histopathologic assessments. *Int J Occup Environ Health*. 2003;9(2):147-52.

Price B, Ware A. Mesothelioma trends in the United States: an update based on Surveillance, Epidemiology, and End Results Program data for 1973 through 2003. *Am J Epidemiol*. 2004;159(2):107-12.

Quispel-Janssen J, Zago G, Schouten R, Buikhuisen W, Monkhorst K, Thunissen E, et al. A phase II study of nivolumab in malignant pleural mesothelioma (NivoMes): with translational research (TR) biopsies. *J Thorac Surg*. 2017;12(1):S292-3.

Ramos-Nino ME, Timblin CR, Mossman BT. Mesothelial cell transformation requires increased AP-1 binding activity and ERK-dependent Fra-1 expression. *Cancer Res*. 2002;62(21):6065-9.

Reid A, de Klerk NH, Magnani C, Ferrante D, Berry G, Musk AW, et al. Mesothelioma risk after 40 years since first exposure to asbestos: a pooled analysis. *Thorax*. 2014;69(9):843-850.

Robinson BW, Musk AW, Lake RA. Malignant mesothelioma. *Lancet*. 2005;366(9483):397-408.

Rojas L, Cardona AF, Trejo-Rosales R, Zatarain-Barrón ZL, Ramírez-Tirado LA, Ruiz-Patiño A, et al. Characteristics and long-term outcomes of advanced pleural mesothelioma in Latin America (MeSO-CLICaP). *Thorac Cancer*. 2019;10(3):508-18.

Ros PR, Yuschok TJ, Buck JL, Shekitta K. Peritoneal mesothelioma: radiologic appearances correlated with histology. *Acta Radiol*. 1991;32(5):355-8.

Scherpereel A, Lee YC. Biomarkers for mesothelioma. *Curr Opin Pulm Med*. 2007;13(4):339-43.

Schreiber D, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-70.

Sethna K, Sugarbaker PH. Localized visceral invasion of peritoneal mesothelioma causing intestinal obstruction: a new clinical presentation. *Hepatogastroenterology*. 2005;52(64):1087-9.

Shaw P, Agarwal R. Pleurodesis for malignant pleural effusions. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(1):CD002916.

Silva ALG, Etulain CR. Avaliação do impacto econômico da proibição do uso do amianto na construção civil no Brasil. Campinas: Convenio de Cooperação Técnica; 2010. Disponível em: <https://bit.ly/2YYfmJT>. [2019 dez 12]

Simon G, Verschraegen CF, Jänne PA, Langer CJ, Dowlati A, Gadgeel SM, et al. Pemetrexed plus gemcitabine as first-line chemotherapy for patients with peritoneal mesothelioma: final report of phase II trial. *J Clin Oncol*. 2008;26(21):3567-71.

Steele JPC, Shamash J, Evans MT, Gower NH. Phase II study of vinorelbine in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Clin Oncol*. 2000;18(23):3912-7.

Steele JP, Klabatsa A, Fennell DA, Pallaska A, Sheaff MT, Evans MT, et al. Prognostic factors in mesothelioma. *Lung Cancer*. 2005;49 49 Suppl 1:S49-52.

Strizzi L, Catalano A, Vianale G, Orecchia S, Casalini A, Tassi G, et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor in human malignant mesothelioma. *J Pathol*. 2001;193(4):468-75.

Sugarbaker P, Hui Yan MD, Richard V, Grazi MD, Barry M, Shmookler MD. Early localized peritoneal mesothelioma as an incidental finding at laparoscopy: report of a case and implications regarding natural history of the disease. *Cancer*. 2000;89(6):1279-84.

Sugarbaker P, Welch LS, Mohamed F, Glehen O. A review of peritoneal mesothelioma at the Washington Cancer Institute. *Surg Oncol Clin N Am*. 2003;12(3):605-12.

Suzuki K, Kadota K, Sima CS, Sadelain M, Rusch VW, Travis WD, et al. Chronic inflammation in tumor stroma is an independent predictor of prolonged survival in epithelioid malignant pleural. *Cancer Immunol Immunother.* 2011;60(12):1721-8.

Terracini B, Pedra F, Otero U. Asbestos-related cancers in Brazil. *Cad Saude Publica.* 2015;31(5):903-5.

Terra M, Teixeira LR, Beyruti R, Takagaki TY, Vargas FS, Jatene FB. Mesotelioma pleural maligno: experiência multidisciplinar em hospital público terciário. *J Bras Pneumol.* 2008;34(1):13-20.

Treasure T, Lang-Lazdunski L, Waller D, Bliss JM, Tan C, Entwisle J, et al. Extra-pleural pneumonectomy versus no extra-pleural pneumonectomy for patients with malignant pleural mesothelioma: clinical outcomes of the Mesothelioma and Radical Surgery (MARS) randomised feasibility study. *Lancet Oncol.* 2011;12(8):763-71.

Tsao A, Wistuba I, Roth JA, Kindler HL. Malignant pleural mesothelioma. *J Clin Oncol.* 2009;27(12):2081-90.

Ujiiie H, Kadota K, Nitadori JI, Aerts JG, Woo KM, Sima CS. The tumoral and stromal immune microenvironment in malignant pleural mesothelioma: a comprehensive analysis reveals prognostic immune markers. *Oncoimmunology.* 2015;4(6):1009285.

Vogelzang N, Rusthoven JJ, Symanowski J, Denham C, Kaukel E, Ruffie P. Phase III study of pemetrexed in combination with cisplatin versus cisplatin alone in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Clin Oncol.* 2003;21(14):2636-44.

Xu A, Zhou H, Yu DZ, Hei TK. Mechanisms of the genotoxicity of crocidolite asbestos in mammalian cells: implication from mutation patterns induced by reactive oxygen species. *Environ Health Perspect.* 2002;110(10):1003-9.

Yamagishi T, Fujimoto N, Nishi H, Miyamoto Y, Hara N, Asano M, et al. Prognostic significance of the lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer.* 2015;90(1):111-7.

Yamada N, Oizumi S, Kikuchi E, Shinagawa N, Konishi-Sakakibara J, Ishimine A, et al. CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes predict favorable prognosis in malignant pleural mesothelioma after resection. *Cancer Immunol Immunother*. 2010;59(10):1543-9.

Yan T, Deraco M, Baratti D, Kusamura S, Elias D, Glehen O. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for malignant peritoneal mesothelioma: multi-institutional experience. *J Clin Oncol*. 2009;27(36):6237-42.

Yang H, Testa JR, Carbone M. Mesothelioma epidemiology, carcinogenesis and pathogenesis. *Curr Treat Options Oncol*. 2009;9(2):147-57.

Yang H, Rivera Z, Jube S, Nasu M. Programmed necrosis induced by asbestos in human mesothelial cells causes high-mobility group box 1 protein release and resultant inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(28):12611-6.

Yang H, Bocchetta M, Kroczyńska B, Elmishad AG, Chen Y, Liu Z, et al. TNF-alpha inhibits asbestos-induced cytotoxicity via a NF-kappaB dependent pathway, a possible mechanism for asbestos induced oncogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;103(27):1039-402.

Zalcman G, Mazieres J, Margery J, Greillier L, Audigier-Valette C, Moro-Sibilot D. Bevacizumab for newly diagnosed pleural mesothelioma in the mesothelioma, Avastin, cisplatin, pemetrexede study (MAPS): a randomized, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2016;387(10026):1405-14.

Zauderer M, Bott M, McMillan R, Sima CS, Rusch V, Krug LM, Ladanyi M. Clinical characteristics of patients with malignant pleural mesothelioma harboring somatic BAP1 mutations. *J Thorac Oncol*. 2013;8(11):1430-3.

Zucali P, Ceresoli GL, De Vincenzo F, Simonelli M, Lorenzi E, Gianoncelli L, et al. Advances in the biology of malignant pleural mesothelioma. *Cancer Treat Rev*. 2011;37(7):543-58.

Anexo 1 - Cartas de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP



A.C. Camargo Cancer Center
Centro Integrado de Diagnóstico, Tratamento, Ensino e Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA
EM PESQUISA - CEP

APROVAÇÃO

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – A.C. Camargo Cancer Center, em sua última reunião de **08/08/2017**, **aprovaram** a realização do projeto nº **2396/17** intitulado: **“Avaliação e caracterização da resposta inflamatória local e sistêmica em portadores de mesotelioma pleural maligno e sua associação com prognóstico”**

Pesquisador responsável: Vladimir Claudio Cordeiro de Lima.
Aluna: Gabriela Venturi (Mestrado).

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas ao CEP dentro de 06 meses em relatório (modelo CEP).

São Paulo, 16 de agosto de 2017.

Atenciosamente,

Dra. Sandra Caires Serrano
2ª. Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1



São Paulo, 03 de dezembro de 2020.

Ao

Dr. Vladimir Claudio Cordeiro de Lima

Aluna: Gabriela Venturi (Mestrado)

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 2396/17

“Avaliação clínica de portadores de mesotelioma pleural e peritoneal maligno e caracterização da resposta inflamatória local.”

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Antonio Prudente – A.C. Camargo Cancer Center, em sua última reunião de **24/11/2020**, **tomaram conhecimento** do seguinte documento:

- Solicitação de mudança de título para “Avaliação clínica de portadores de mesotelioma pleural e peritoneal maligno e caracterização da resposta inflamatória local”, em documento datado de 13 de outubro de 2020;
- Relatório final do projeto em referência, datado de 07 de outubro de 2020.

Atenciosamente,

Luciana Facure Moredó
1ª. Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

Anexo 2 - Certificado do trabalho apresentado no Next Frontiers to Cure Cancer no dia 18 de maio de 2019.

CERTIFICADO

O A.C. Camargo Cancer Center certifica que o autor **CAROLINA HARUMI CAVARSON** e os coautores **ADRIANO DE OLIVEIRA BESERRA; CLOVIS ANTONIO LOPES. PINTO; GABRIELA VENTURI; VLADMIR CORDEIRO LIMA; VILMA REGINA MARTINS; GLAUCIA NOELI MAROSO HAJJ** apresentaram o trabalho intitulado **EPIDEMIOLOGICAL AND MOLECULAR STUDY OF MALIGNANT MESOTHELIOMAS FROM A.C. CAMARGO CANCER CENTER**, no **Next Frontiers to Cure Cancer**, realizado de 16 a 18 de maio de 2019, na cidade de São Paulo/SP - Brasil.

São Paulo, 18 de maio de 2019



Dr. Jose Humberto Fregnani
Superintendente de Ensino



Dr. Victor Piana de Andrade
Diretor Médico



Dra. Vilma Regina Martins
Superintendente de Pesquisa

Anexo 3 – Certificado do Observship realizado no Hospital Oncológico Chris O'Brien Life House / Austrália.



26th February 2018

Gabriela Venturi
venturi.gabriela@gmail.com

Dear Gabriela

Re: Appointment to Chris O'Brien Lifehouse

I am writing in regards to your recent application for observer status at the Chris O'Brien Lifehouse. Your application has now been considered and I am pleased to appoint you as follows:

Aspect	Lifehouse Approval
Speciality	Observer – Medical Oncology
Term of Appointment	26 th February 2018 to 30 th March 2018
Supervisor	Steven Kao

Your appointment is conditional upon you continuing to meet the terms and conditions set out in the Chris O'Brien Lifehouse By-laws, policies and procedures.

An observer can:

- Observe clinical practice in Medical Oncology Unit.
- Participate in educational activities as approved by the supervisor
- Participate in team meetings and case review.

An observer cannot:

- Give any clinical advice.
- Prescribe treatment/medication.
- Discuss on the phone clinical matters on behalf of their supervisor.
- Communicate clinical information about a patient to another clinician, family or carers.
- Independently access a patient's medical information.
- Directly participate in any clinical case or procedures.

Andrea Moreno, Human Resources Advisor, will be your primary contact for matters related to working at Lifehouse. Andrea can be reached on **(02) 8514 0637** or via email at andrea.moreno@lh.org.au

Welcome to the team at Lifehouse. I look forward to having you work with us.

Yours sincerely,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Catherine Lambert".

Catherine Lambert
Director of Nursing & Clinical Operations

119-143 Missenden Road
Camperdown NSW 2050
T (02) 8514 0900
F (02) 8514 0901

PO BOX M5
Missenden Road
NSW 2050

ABN 70 388 962 804
CFN 17573
www.mylifehouse.org.au

Apêndice 1 - Ficha Coleta de dados

Ficha de levantamento de Mesotelioma

Dicas de preenchimento da ficha

Quando variáveis com valores contínuos estiverem com valor faltante, deixar o campo correspondente em branco ao preencher a tabela de Excel (não colocar 0).

ND = informação não disponível

1. Identificação

Iniciais: _____

Data de nascimento: ___ / ___ / ___

Número de Registro: _____

Profissão: _____

Sexo: (1) Masculino (2) Feminino

Etnia: (1) Asiático (2) Negro (3) Branco (4) Outros (99) Não disponível (ND)

Data da primeira consulta: ___ / ___ / ___

Primeira consulta na Oncologia: ___ / ___ / ___

Data do diagnóstico (diagnóstico patológico): ___ / ___ / ___

2. Fatores associados

Tabagismo (1) sim (2) não (99) ND

Número de maços/dia: _____

Duração do consumo em anos: _____

Carga tabágica (Maços-ano): _____

Etilismo (1) sim (2) não (99) ND

História de exposição à asbestos: (1) Sim (2) Não (99) ND

História familiar de câncer: (1) Sim (2) Não (99) ND

História de exposição à radiação: (1) Sim (2) Não (99) ND

Outras neoplasias (1) sim (2) não (99) ND

Cirurgias prévias: (1) sim (2) não

Quais: _____

Quando: _____

Comorbidades: (1) HAS (2) DM (3) ICo (4) Hipotireoidismo (5) DPOC (6) Nenhuma (7) Outras (8)

Qual? _____ (99) ND

3. Apresentação Clínica e Estadiamento

Principal sintoma inicial: (1) Tosse (2) Dispneia (3) Dor torácica (4) Perda de peso (5) Achado radiológico (assintomático) (6) Outro Qual? _____

Avaliação Inicial: (1) ressecável (2) irressecável (99) ND

Estágio clínico TNM inicial:

EC: (1) IA (2) IB (3) IIA (4) IIB (5) IIIA (6) IIIB (7) IV

T: (1) T0 (2) T1 (3) T2 (4) T3 (5) T4 (6) Tx

N: (1) N0 (2) N1 (3) N2 (4) N3 (5) Nx

M: (1) M0 (2) M1a (3) M1b (4) Mx

Mediastinoscopia: (1) Sim (2) Não Resultado: (1) Positivo (2) Negativo

Estadiamento por imagem: (1) Tomografia computadorizada apenas (2) PET-TC (3) PET-TC+tomografia computadorizada convencional (4) Outros

Avaliação de SNC: (1) Sim (2) Não Método: (3) TC (4) RM

EBUS: (1) Sim (2) Não Resultado: (1) Positivo (qual cadeia) (2) Negativo

EUS: (1) Sim (2) Não Resultado: (1) Positivo (qual cadeia) (2) Negativo

Método de diagnóstico: (1) Citológico (líquido pleural ou PAAF) (2) Histológico

Histologia: (1) Epitelióide

(2) Sarcomatóide

(3) Bifásico

(4) Mesotelioma pleural bem diferenciado

Perda de peso $\geq 5\%$: (1) Sim (2) Não (99) ND

ECOG: (1) 0 (2) 1 (3) 2 (4) 3 (5) 4 (99) ND

Lactato desidrogenase: _____ Albumina: _____

Hemograma ao diagnóstico (colocar número absoluto e não percentagem):

Hb: _____ Leucócitos: _____ Neutrófilos (bastões + segmentados): _____

Linfócitos: _____ Plaquetas: _____

4. Tratamento definitivo

4.1 Fez cirurgia? (1) Sim (2) Não

Qual? (1) Decorticação pleural

(2) Pleurodese apenas

(3) Pleuropneumectomia + linfadenectomia mediastinal

4.2 Fez quimioterapia? (1) Sim (2) Não

Intuito: (1) Paliativo

(2) Adjuvante

(3) Neoadjuvante

(4) neoadjuvante + adjuvante

Esquema: (1) Cisplatina + pemetrexede
(2) Carboplatina + pemetrexede
(3) Pemetrexede isolado
(4) Cisplatina + gencitabina
(5) Carboplatina + gencitabina
(6) Cisplatina isolada
(7) Outro Qual? _____

Início: ___/___/___ Fim ___/___/___

Redução de dose (1) sim (2) não - motivo _____

Suspensão temporária QT (1) sim (2) não – motivo: _____

Suspensão definitiva da QT (1) sim (2) não – motivo: _____

Recebeu outras linhas de quimioterapia: (1) Sim (2) Não

Se sim, quantas: _____

4.3 Fez radioterapia? (1) Sim (2) Não

RT: dose total: _____ Fracionamento: _____

Início: ___/___/___ Fim ___/___/___

Tipo: (1) 3D conformacional (2) IMRT

Houve interrupção? (1) Sim (2) Não

Se sim, duração da interrupção (dias): _____

5. Avaliação de resposta término de tratamento:

(1) RC (2) RP (3) DE (4) PD local (5) PD à distância

Método empregado: (1) Tomografia computadorizada

(2) RM

(3) PET/PET-TC

(4) Rx de tórax

Data: ___/___/___

6. Progressão: (1) Sim (2) Não

Data da PD: ___/___/___.

Tipo de progressão: (1) local (área de doença pré-existente)

(2) locorregional (pleura, pulmão e linfonodos não inicialmente acometidos, mas que não configura metástase à distância)

(3) metástase à distância

7. Último seguimento: Data: ___/___/___.

- Avaliação:
- (1) vivo sem doença
 - (2) vivo com doença em progressão
 - (3) vivo com doença estável
 - (4) morte pelo câncer
 - (5) morte por complicação do tto
 - (6) morte por outro fator
 - (7) perda de seguimento

Data da morte: ____ / ____ / ____

Apêndice 2 – Curvas de sobrevida global de acordo com características clínicas e de tratamento

Mesotelioma Peritoneal

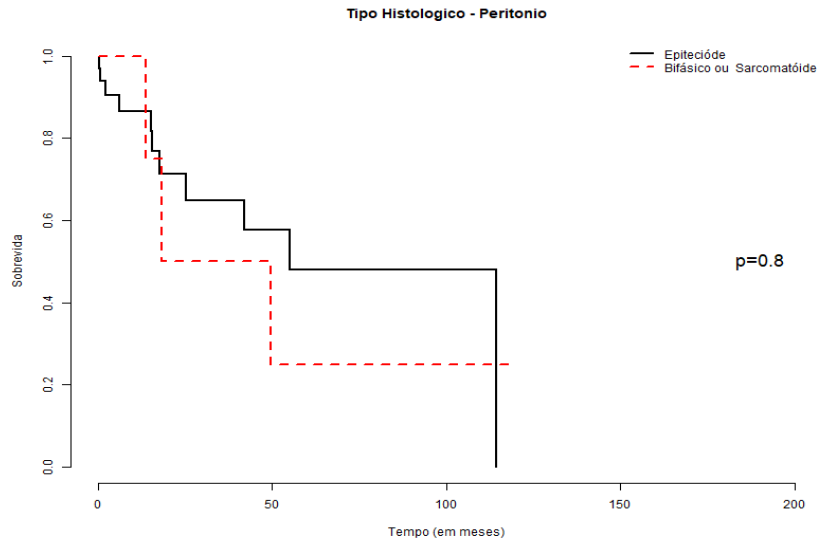


Figura A2.1. Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o tipo histológico. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

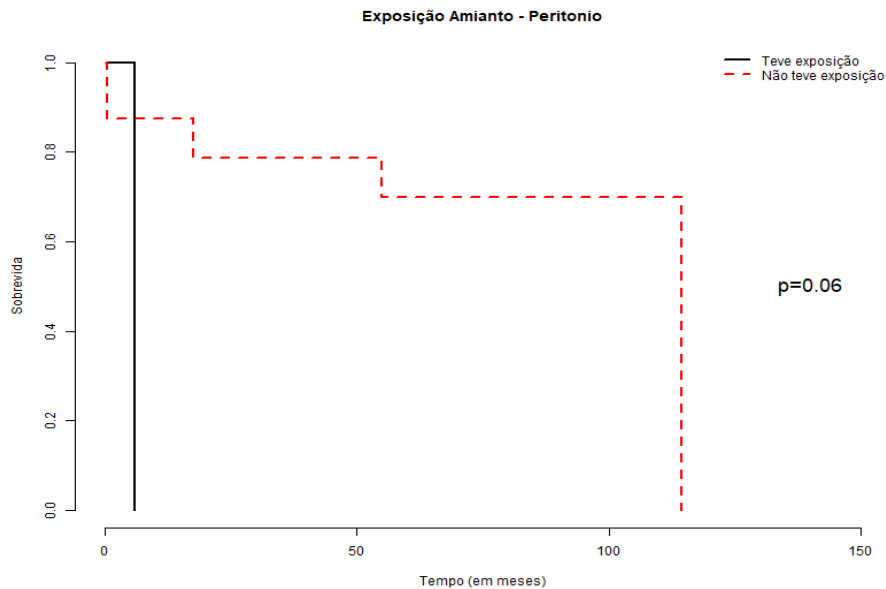


Figura A2.2 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com exposição ao amianto. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

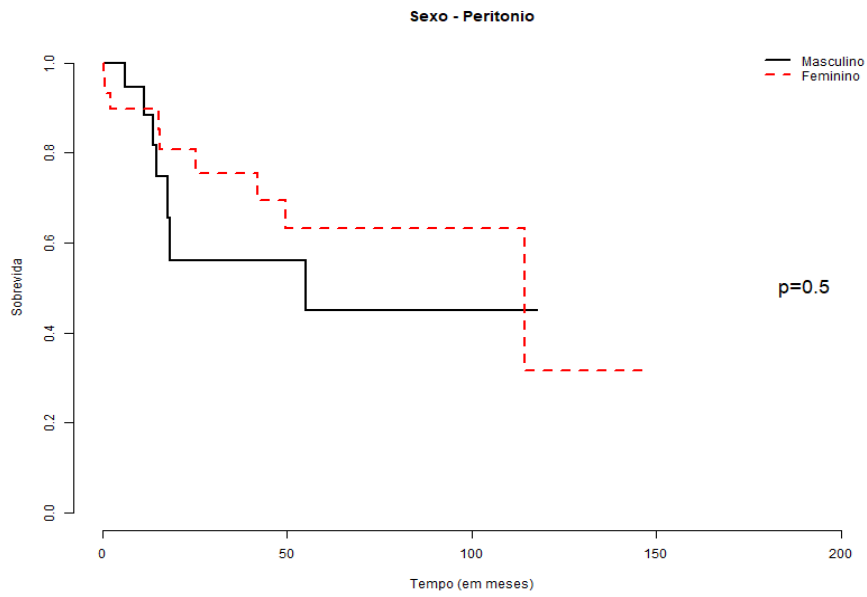


Figura A2.3 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o sexo. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

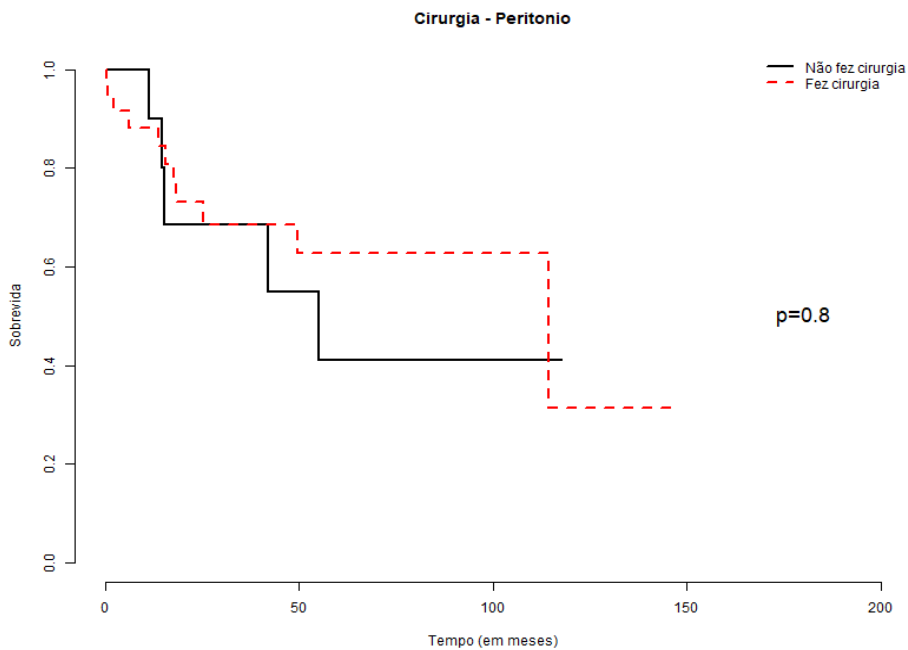


Figura A2.4 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o tratamento cirurgico. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

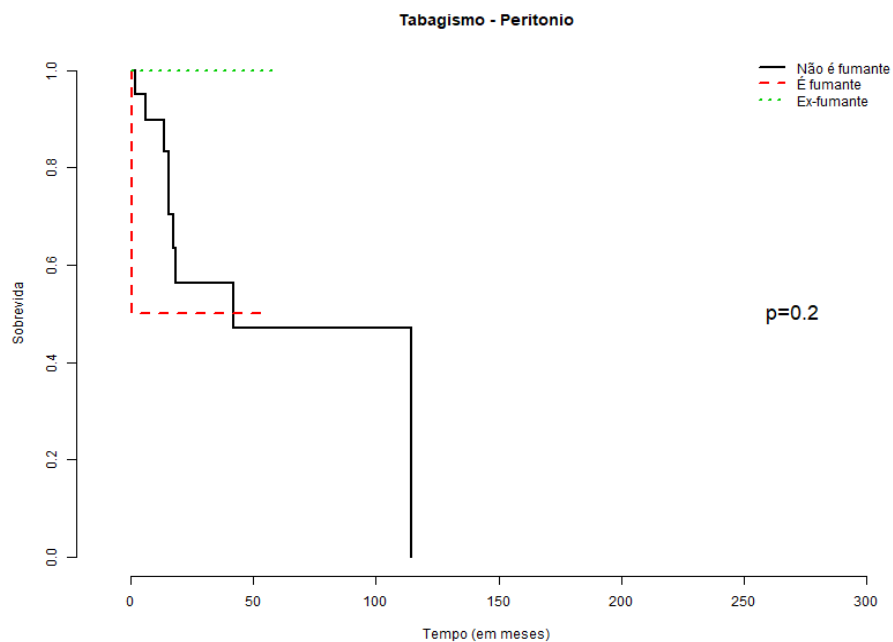


Figura A2.5 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o tabagismo. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

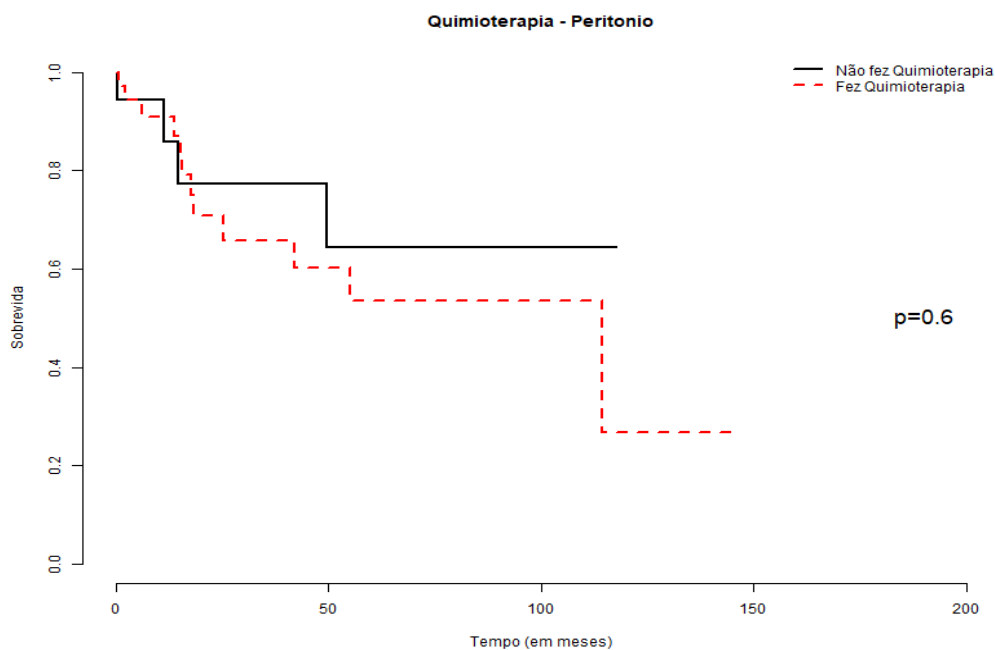


Figura A2.6 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o tratamento quimioterápico. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

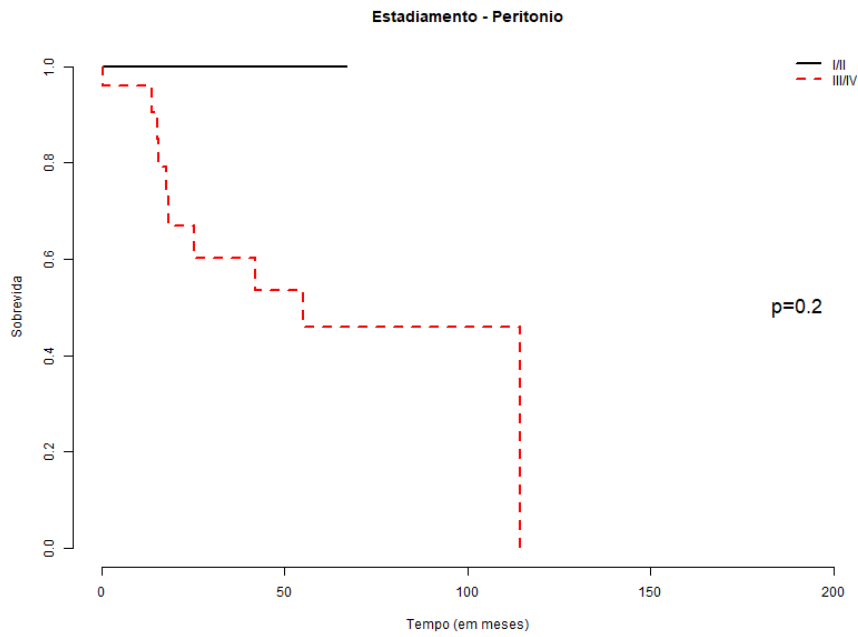


Figura A2.7 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o estadiamento. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

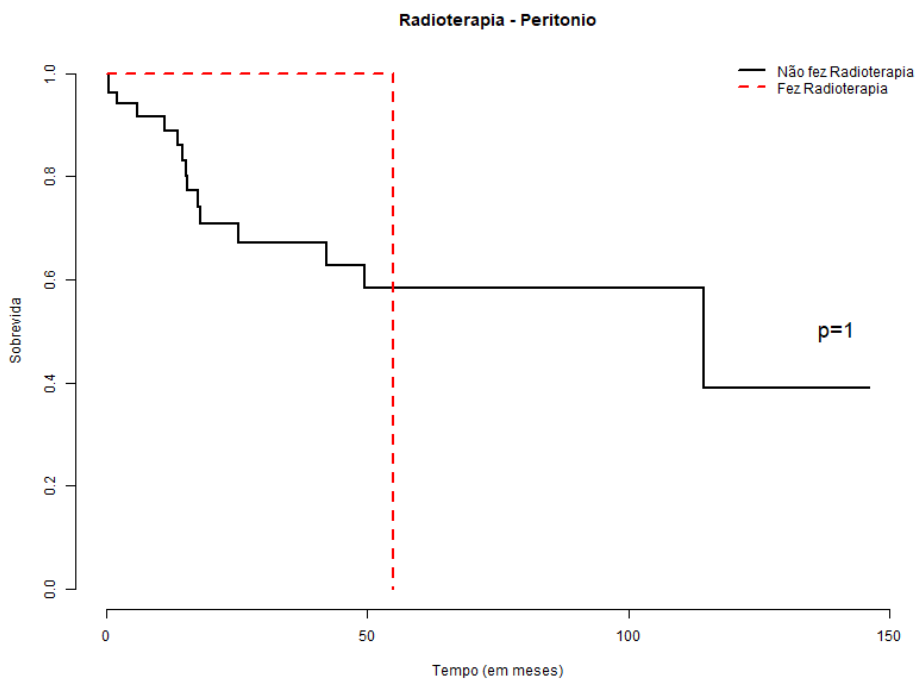


Figura A2.8 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Peritoneal de acordo com o tratamento de RT. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas.

Mesotelioma Pleural

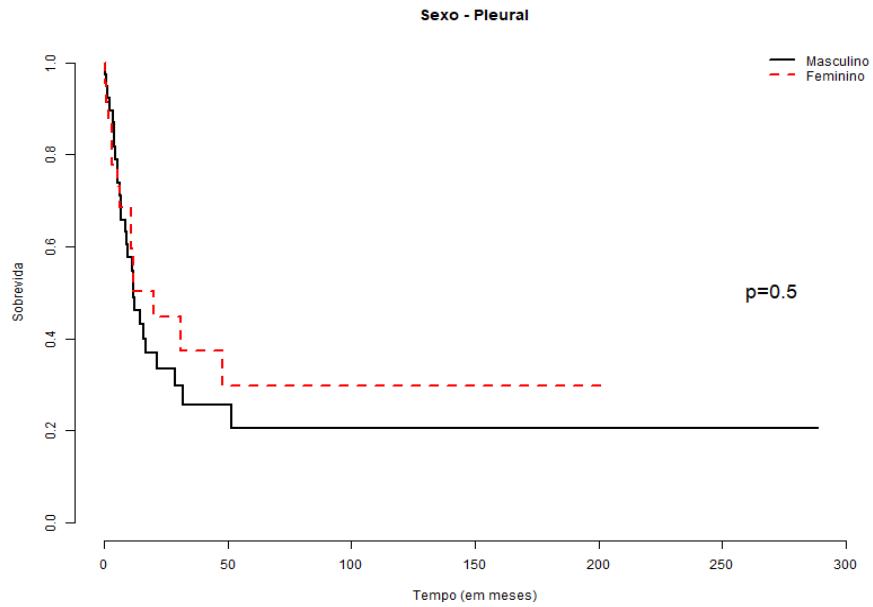


Figura A2.9 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com o sexo. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

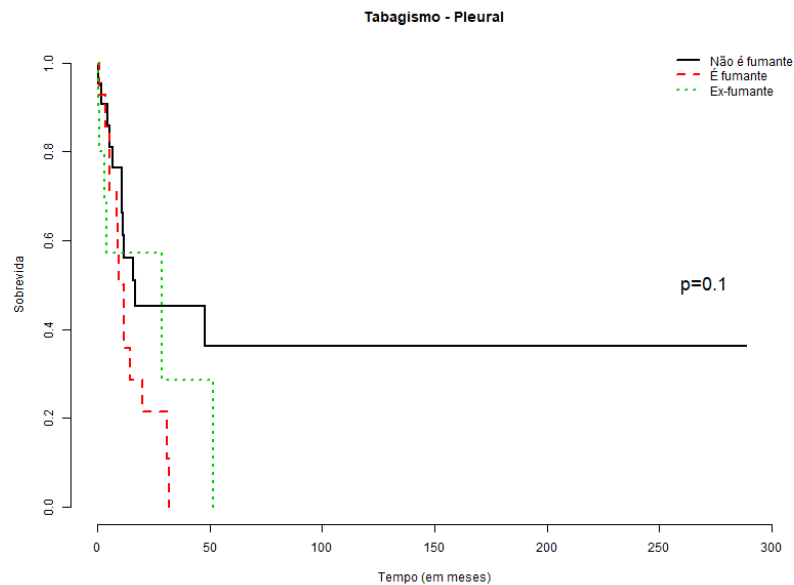


Figura A2.10 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com o tabagismo. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

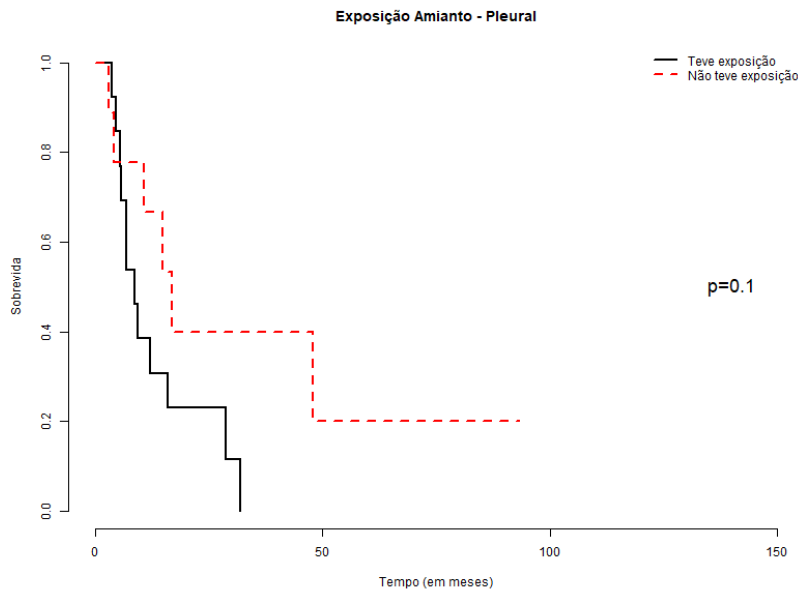


Figura A2.11 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com exposição ao amianto. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

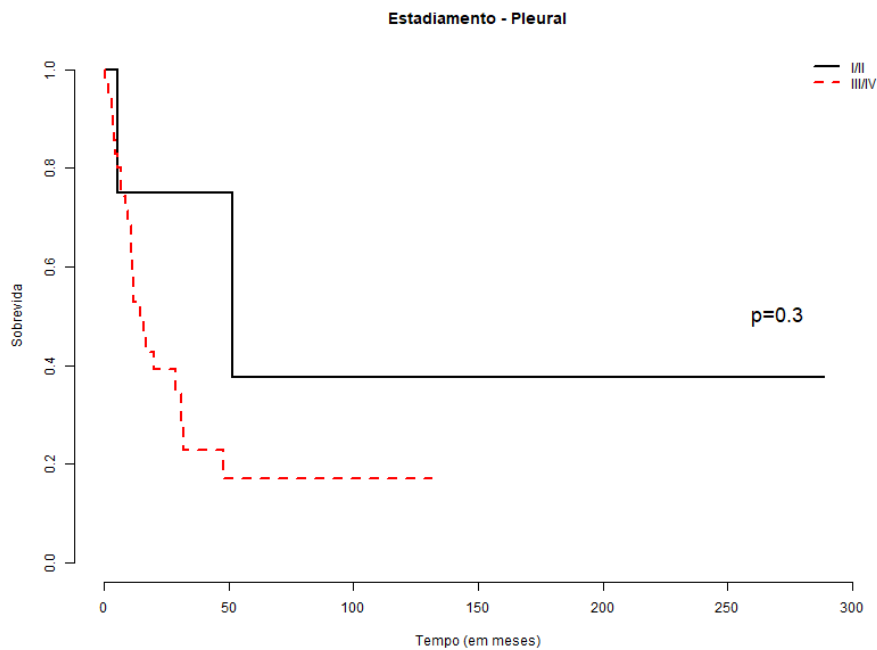


Figura A2.12 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com o estadiamento. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

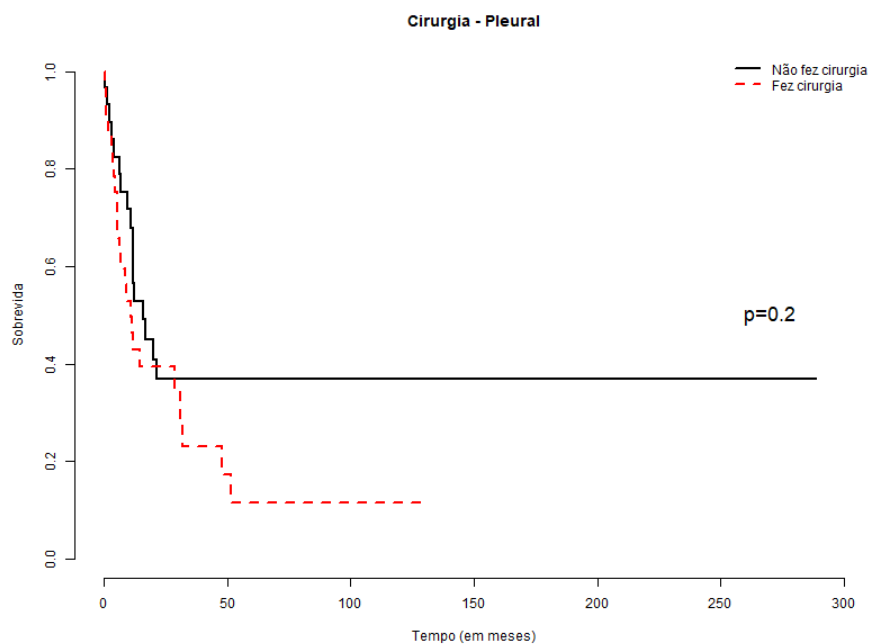


Figura A2.13 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com o tratamento cirúrgico. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

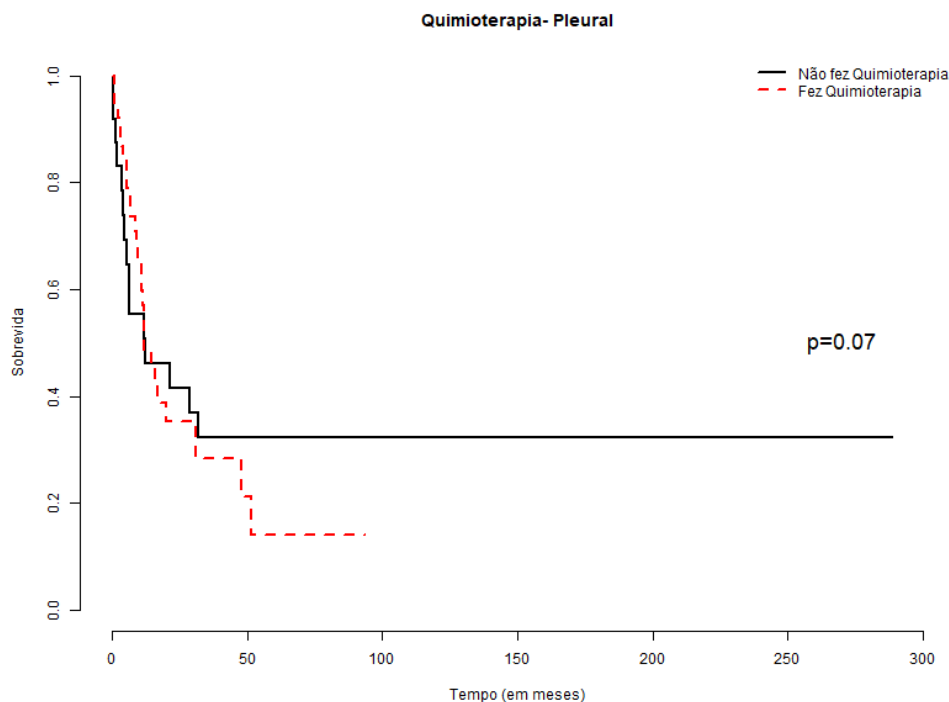


Figura A2.14 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com o tratamento quimioterápico. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativas

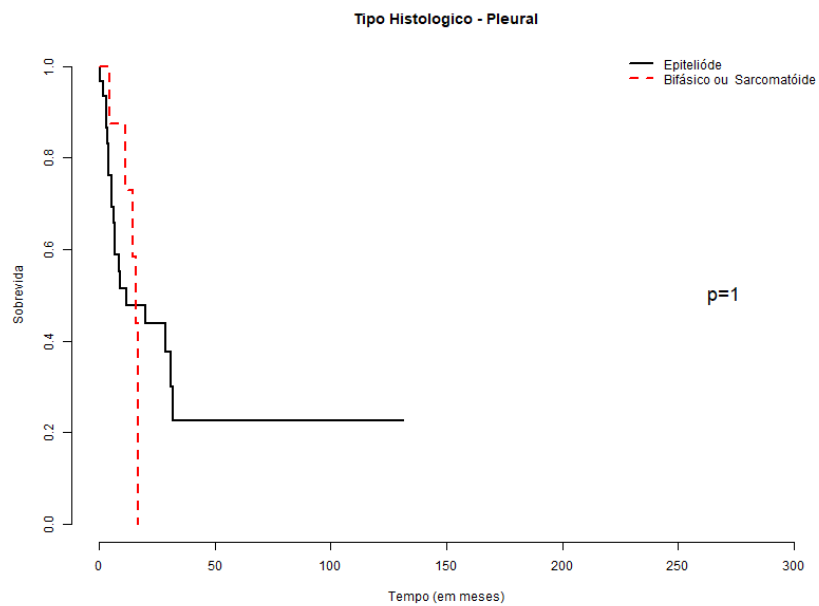


Figura A2.15 Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Mesotelioma Maligno Pleural de acordo com o tipo histológico. As curvas foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste do log-rank. Comparações com $p < 0,05$ foram consideradas estatisticamente significativa.