

FACULDADE EVANGÉLICA MACKENZIE DO PARANÁ  
INSTITUTO DE PESQUISAS MÉDICAS

JANDER MOREIRA MONTEIRO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE RECEPTORES DE MEMBRANA CD114 E MORTALIDADE  
MOLECULAR EM MEDULOBLASTOMAS**

CURITIBA

2023

JANDER MOREIRA MONTEIRO

ASSOCIAÇÃO ENTRE RECEPTORES DE MEMBRANA CD114 E MORTALIDADE EM  
MEDULOBLASTOMAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Instituto de Pesquisas Médicas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Princípios Cirurgia.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Gustavo Rassier Isolan

COORIENTADOR: Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif

CURITIBA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná)

M775 Monteiro, Jander Moreira.

Associação entre receptores de membrana CD114 e mortalidade em meduloblastomas / Jander Moreira Monteiro. — Curitiba, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Rassier Isolan.

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif.

Dissertação (mestrado) – Instituto Presbiteriano Mackenzie, Faculdade

Evangélica Mackenzie do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia, 2023.

1. Oncologia cirúrgica. 2. Neurocirurgia. 3. Terapia de alvo molecular.

4. Meduloblastoma. I. Título.

CDD 616.99481

JANDER MOREIRA MONTEIRO

**ASSOCIAÇÃO ENTRE RECEPTORES DE MEMBRANA CD114 E MORTALIDADE  
EM MEDULOBLASTOMAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Princípios da Cirurgia da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Instituto de Pesquisas Médicas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Princípios Cirurgia.

Aprovado em 03 de fevereiro de 2023

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Allan Fernando Giovanini  
Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná

Prof. Dr. Joel Lavinsky  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Ricardo Silva dos Santos  
Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul (PUCRS)

Dedico esta dissertação à minha família,  
pois sem eles nada seria possível.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha noiva, Jaqueline, que esteve do meu lado nas horas difíceis e sempre me incentivou a ser melhor.

Agradeço aos meus pais, que me ensinaram que a educação é o único caminho sem volta para mudar a vida das pessoas. Agradeço todo amor, apoio e a compreensão da minha ausência.

Agradeço ao Anakin, meu afilhado, para quem espero estar ajudando a criar um mundo melhor.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Gustavo Rassier Isolan, que tornou possível esse projeto e que sempre esteve empenhado em me passar um pouco do seu conhecimento.

Agradeço ao meu coorientador, Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif, por seu apoio e suas orientações a este trabalho.

Agradeço aos Drs. Ian Sousa, Guilherme Nascimento e Rayana Bighetti, que se dispuseram a compartilhar comigo seu conhecimento e muito contribuíram para a realização deste estudo.

Agradeço ao Centro Avançado de Neurologia e Neurocirurgia (CEANNE), por ampliar meus horizontes profissionais.

Agradeço a Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, por tudo que aprendi durante esta jornada.

Agradeço aos pacientes, cujos dados tornaram este estudo possível e proporcionam o avanço da ciência.

E agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram com para que este desafio pudesse ser vencido.

## RESUMO

**Introdução:** Os meduloblastomas são os tumores sólidos mais comuns da infância. Eles representam 8-30% dos cânceres cerebrais pediátricos. É um tumor de alto grau, de comportamento agressivo e prognóstico reservado, e cujo tratamento, que envolve cirurgia, quimioterapia e radioterapia, também apresenta uma alta morbidade. São classificados em 4 subgrupos moleculares: WNT, SHH, grupo 3 e grupo 4, com diferenças clínicas, genéticas e prognósticas importantes. Muitos estudos buscam desenvolvimento de novos quimioterápicos para os meduloblastomas através da identificação de genes cuja expressão sejam novos alvos moleculares para drogas, como receptores de membrana associados a replicação celular.

**Objetivo:** Avaliar a associação da expressão de CD114 com a mortalidade de pacientes portadores de meduloblastoma. **Metodologia:** Foi analisado bancos de dados de consórcio mundial para estudo de meduloblastomas (MAGIC). Esses dados foram analisados quanto a expressão do receptor de membrana CD114 nos diferentes tipos moleculares dos meduloblastomas e sua possível associação com a mortalidade. **Resultados:** Os resultados evidenciaram diferença na expressão do receptor de membrana CD114 entre o grupo 3 e os demais grupos moleculares, além de diferença entre o subtipo molecular SHH  $\gamma$  e os subtipos moleculares Grupo 3  $\alpha$  e Grupo 3  $\beta$ . Não houve diferença estatisticamente significativa entre os demais grupos e subtipos. Em relação a mortalidade, o estudo não demonstrou, através de curva de Kaplan-Meier, significância estatística na relação entre expressões baixas e elevadas desse gene e a mortalidade. **Discussão:** O meduloblastoma é uma doença heterogênea, com bastante variação genética e de vias de sinalização intracelular entre suas variantes. Isso foi demonstrado na incapacidade do estudo de comprovar padrões de expressão do receptor de membrana CD114 entre os diferentes grupos. Assim como este, outros estudos que buscaram relacionar a expressão de CD114 com mortalidade também não conseguiram demonstrar associação direta. É possível que este gene seja parte de uma via de sinalização celular maior, com eventual associação com recidivas tumorais, já que muitos indícios apontam para a relação desse gene com as células-tronco cancerígenas. **Conclusões:** Este estudo demonstrou que não há relação direta entre a expressão do receptor de membrana CD114 e a mortalidade em pacientes portadores de meduloblastoma. Entretanto, são necessários estudos adicionais sobre as vias de sinalização intracelulares associadas a esse receptor e ao seu gene, o CSF3R.

Palavras-chave: Neurocirurgia; Oncologia Cirúrgica; Terapia de Alvo Molecular; Meduloblastoma;

## ABSTRACT

**Introduction:** Medulloblastomas are the most common solid tumors in children. They represent 8-30% of pediatric brain cancers. They are a high-grade tumor, with an aggressive behavior and poor prognosis, and their treatment, which involves surgery, chemotherapy and radiotherapy, also has a high morbidity. They are classified into 4 molecular subgroups: WNT, SHH, group 3 and group 4, with important clinical, genetic and prognostic differences. Many studies seek to develop new chemotherapeutic agents for medulloblastomas through the identification of genes whose expression are new molecular targets for drugs, such as membrane receptors associated with cell replication. **Objective:** Assess the association between CD114 expression and mortality in patients with medulloblastoma. **Methodology:** Databases from the worldwide consortium for the study of medulloblastomas (MAGIC) were analyzed. These data were analyzed regarding the expression of the CD114 membrane receptor in the different molecular types of medulloblastomas and its possible association with mortality. **Results:** The results showed a difference in CD14 expression between Group 3 and the other molecular groups, in addition to a difference between the molecular subtype SHH  $\gamma$  and the molecular subtypes Group 3  $\alpha$  and Group 3  $\beta$ . There was no statistically significant difference between the other groups and subtypes. Regarding mortality, the study did not demonstrate, through the Kaplan-Meier curve, statistical significance in the relationship between low and high CD114 expressions and mortality. **Discussion:** Medulloblastoma is a heterogeneous disease, with a lot of genetic and intracellular signaling pathways variation among its variants. This was demonstrated in the study's inability to demonstrate patterns of CD114 membrane receptor expression between different groups. Like this one, other studies that sought to relate CD114 expression with mortality also failed to demonstrate a direct association. It is possible that this gene is part of a larger cellular signaling pathway, with an eventual association with tumor recurrence, since many indications point to the relationship of this gene with cancer stem cells. **Conclusions:** This study demonstrated that there is no direct relation between CD114 expression and mortality in patients with medulloblastoma. However, further studies are needed on the intracellular signaling pathways associated with this receptor and its gene, the CSF3R.

Key-words: Neurosurgery; Surgical Oncology; Molecular Targeted Therapy; Medulloblastoma;



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 – Corte histológico do meduloblastoma clássico.....                      | 17 |
| Figura 2 - Corte histológico do meduloblastoma desmoplásico/nodular. ....         | 18 |
| Figura 3 - Corte histológico do meduloblastoma de extensa nodularidade.....       | 19 |
| Figura 4 - Corte histológico do meduloblastoma de grandes células/anaplásico..... | 20 |
| Figura 5 - Classificação molecular dos meduloblastomas.....                       | 22 |
| Figura 6 - Padrão de distribuição da expressão de CSF3R.....                      | 35 |
| Figura 7 - Expressão de CSF3R nos grupos moleculares de meduloblastomas.....      | 36 |
| Figura 8 - Expressão de CSF3R nos subgrupos moleculares de meduloblastomas. ....  | 37 |
| Figura 9 - Expressão CSF3R x Sobrevida (mediana).....                             | 38 |
| Figura 10 – Expressão CSF3R x Sobrevida (percentil 25).....                       | 40 |
| Figura 11 – Expressão CSF3R x Sobrevida (percentil 75).....                       | 41 |

## **LISTA DE TABELAS**

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 – População do estudo. ....                                    | 34 |
| Tabela 2 – Diagnóstico histológico X molecular dos meduloblastomas..... | 35 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|         |   |
|---------|---|
| CD114   | <i>Cluster of Differentiation 114</i>                             |
| CTC     | Células-Tronco Cancerígenas                                       |
| DNA     | Ácido desoxirribonucleico   |
| EGFR    | Receptor de fator crescimento epidérmico                          |
| GCSF    | Fator estimulador de colônias granulocíticas                      |
| G-CSF-R | Receptor do fator estimulador de colônias granulocíticas          |
| LCA     | Grandes células/anaplásico  |
| MAGIC   | <i>Medulloblastoma Advanced Genomics International Consortium</i> |
| MMP     | Matrix metalloproteinases   |
| OMS     | Organização Mundial de Saúde                                      |
| PNET    | <i>Primitive Neuroectodermal Tumor</i>                            |
| RNA     | Ácido ribonucleico  |
| SHH     | <i>Sonic Hedgehog pathway</i>                                     |
| SNC     | Sistema Nervoso Central   |
| WNT     | <i>Wingless pathway</i>   |

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                                 | 11 |
| 1.1. OBJETIVOS .....                                | 12 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA .....                      | 13 |
| 2.1. MEDULOBLASTOMA .....                           | 13 |
| 2.1.1. Aspectos Gerais .....                        | 13 |
| 2.1.2. Epidemiologia.....                           | 14 |
| 2.1.3. Classificação.....                           | 15 |
| 2.1.3.1. Classificação histológica.....             | 16 |
| 2.1.3.2. Classificação molecular .....              | 20 |
| 2.1.3.2.1.WNT .....                                 | 22 |
| 2.1.3.2.2.SHH .....                                 | 23 |
| 2.1.3.2.3.Grupo 3 .....                             | 24 |
| 2.1.3.2.4.Grupo 4 .....                             | 25 |
| 2.1.4. Estratificação .....                         | 26 |
| 2.1.5. Tratamento.....                              | 26 |
| 2.1.5.1. Recidivas.....                             | 28 |
| 2.1.6. Novos alvos moleculares .....                | 29 |
| 2.1.6.1. Importância e novas pesquisas.....         | 29 |
| 2.1.6.2. Células Tronco Cancerígenas (CTC).....     | 29 |
| 2.1.6.3. CSF3R.....                                 | 30 |
| 3. METODOLOGIA .....                                | 32 |
| 3.1. SELEÇÃO DE AMOSTRAS E COLETA DE DADOS .....    | 32 |
| 3.2. MENSURAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA .....           | 32 |
| 3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                      | 32 |
| 3.4. APROVAÇÃO DE COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ..... | 33 |
| 4. RESULTADOS .....                                 | 34 |
| 5. DISCUSSÃO.....                                   | 41 |
| 6. CONCLUSÃO .....                                  | 47 |
| 7. REFERÊNCIAS.....                                 | 48 |

## 1. INTRODUÇÃO

Os meduloblastomas são os tumores sólidos mais comuns da infância, representando 8-30% dos cânceres cerebrais pediátricos (ARCHER, MAHONEY, POMEROY, 2017; QUINLAN, RIZZOLO, 2017). Segundo classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), é um tumor de alto grau o que implica um comportamento agressivo e prognóstico, em geral, reservado. Seu tratamento também apresenta uma alta morbidade. Foi descrito com tal nome pela primeira vez por Harvey Cushing e Percival Bailey em 1925, previamente conhecido como *espongioblastoma cerebral* (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015). Sua antiga denominação foi abolida para afastar a ideia de uma origem glial. São tumores derivados do tubo neural primitivo que comumente surgem na fossa posterior e tendem a enviar focos de metástase via disseminação liquórica, podendo causar hidrocefalia.

Os meduloblastomas ocorrem predominantemente na primeira década de vida. Porém, não existe uma definição na literatura médica do pico de incidência, que varia entre 3 e 9 anos. Assim como não existe um fator predisponente bem estabelecido. Entretanto, algumas síndromes familiares raras, como Turcot, Gorlin e Li-Fraumeni, podem estar associadas (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015).

O tratamento dos meduloblastomas envolve cirurgia, radioterapia e quimioterapia. Apesar dos avanços importantes no tratamento repercutirem em aumento na sobrevida após o diagnóstico, essa abordagem combinada invasiva pode estar associada a maior morbidade, com sequelas neurológicas graves. Quanto ao prognóstico, os pacientes podem ser agrupados em “baixo risco” e “alto risco”, a depender de três fatores: idade, disseminação metastática ao diagnóstico e ressecção cirúrgica incompleta. Embora o prognóstico seja bom nos tumores ditos de “baixo risco”, outros fatores estão associados ao prognóstico desses pacientes, como sua análise molecular (QUINLAN, RIZZOLO, 2017).

O processo de aprimoramento do tratamento dos meduloblastomas tem sido direcionado na busca por novos quimioterápicos, direcionados para alvos moleculares específicos, como receptores de membrana associados à replicação celular. A busca por novos genes relacionados aos meduloblastomas também pode identificar marcadores prognósticos que ajudem a esclarecer porque, eventualmente, pacientes com estratificação semelhante evoluem de maneira diferente.

Um desses alvos moleculares em estudo é o receptor do fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF-R), também conhecido como CD114 (*Cluster of Differentiation 114*), codificado pelo gene CSF3R. Sua expressão já foi implicada na patogênese de vários tipos de tumores, incluindo carcinomas de ovário, câncer de bexiga e câncer de pele

(CHAKRABORTY, GUHA, 2007; HIRAI, *et al.*, 2001; SAVARESE, *et al.*, 2001). Células cancerígenas CD114+ demonstraram capacidade de se autorrenovar, gerar progênie diferenciada e recapitular uma subpopulação de células tumorais heterogêneas. Em células de meduloblastoma observou-se que uma subpopulação de células CD114+ apresentam um crescimento alterado, quimiorresistência e responsividade ao fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), droga por vezes utilizada em tratamentos oncológicos, inclusive nos meduloblastomas (HSU, *et al.*, 2013).

Se confirmado seu papel na patogênese do meduloblastoma, o CD114 poderia ser utilizado como alvo terapêutico no desenvolvimento de novas drogas ou mesmo como marcador diagnóstico e prognóstico da doença.

### 1.1.OBJETIVOS

Primário: Avaliar a associação da expressão de CD114 com a mortalidade de pacientes portadores de meduloblastoma.

Secundário: Avaliar a diferença da expressão de CD114 entre os subtipos moleculares de meduloblastomas.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. MEDULOBLASTOMA**

#### **2.1.1. Aspectos Gerais**

O meduloblastoma é um tumor maligno do sistema nervoso, de incidência maior na infância, predominantemente na primeira década de vida (QUINLAN, RIZZOLO, 2017). O meduloblastoma é um tumor de alto grau, localmente invasivo e capacidade de disseminação liquórica e implantes secundários à distância. Apresenta diferentes subtipos histológicos e moleculares, cada um com seu comportamento característico em relação a recorrência, invasividade, metástase e prognóstico. Recebeu sua nomenclatura atual na década de 1920, dada por Harvey Cushing e Percival Bailey, com intuito de reforçar sua origem diferente dos gliomas (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015). Os meduloblastomas, diferente dos gliomas, são tumores derivados do tubo neural primitivo, ou de seus remanescentes (nos casos de surgimento em crianças maiores e adultos), e mais comumente surgem na fossa posterior. Subtipos diferentes têm predileção por locais diferentes, variando principalmente entre vérmis e hemisférios cerebelares. Devido a sua localização na fossa posterior, comumente causam hidrocefalia e hipertensão intracraniana, além de sintomas relacionados à alteração da função cerebelar e de pares cranianos.

Devido a seu comportamento variável, seu quadro clínico pode ser insidioso, iniciando com sintomas inespecíficos, como tontura, cefaleia, náuseas e vômitos (QUINLAN, RIZZOLO, 2017). Em vigência de déficit neurológico, seu diagnóstico pode ser facilitado, já que um exame de imagem do sistema nervoso central faz-se necessário. Porém, muitas vezes esse exame é postergado devido à baixa suspeita diagnóstica inicial. O fato de os pacientes, inicialmente, procurarem atendimento por médicos generalistas também não ajuda a aumentar a suspeição. Um exame físico minucioso é fundamental para levantar suspeita, pois o diagnóstico precoce pode causar impacto significativo no tratamento e prognóstico do paciente (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Os sintomas, inicialmente leves, tendem a progredir junto com a doença. Devido a sua relação próxima ao quarto ventrículo, não é incomum que os pacientes evoluam com hidrocefalia e hipertensão intracraniana. Nos casos em que sintomas agudos não sobressaiam, quadro de cefaleia, tontura, náuseas e vômitos podem ser atribuídos a quadros infecciosos de vias aéreas superiores ou distúrbios gastrointestinais, comuns na infância. Conforme a doença continua a progredir, entretanto, mais sintomas neurológicos vão surgir, como ataxia, diplopia, turvação visual ou alterações de pares cranianos baixos. Infelizmente, o intervalo de tempo

entre o início de sintomas inespecíficos e déficits neurológicos ao exame físico pode ser grande, atrasando o diagnóstico. É importante destacar também que o efeito de massa do tumor, e seu consequente efeito inflamatório local, podem causar atraso do desenvolvimento neuropsicomotor da criança, impedindo-a de atingir os marcos do desenvolvimento adequados para idade, além de irritabilidade, dificuldade de alimentação e de ganho de peso.

Os sintomas neurológicos associados à doença estão relacionados principalmente à compressão local. Conforme dito, hidrocefalia ocorre caso haja compressão do sistema ventricular. Lesões do vérmis cerebelar estão associadas a ataxia de marcha e tronco, enquanto lesões de hemisférios cerebelares causam dismetria e ataxia de membros. Nos casos de disseminação leptomeningea, o paciente pode cursar com crises convulsivas, déficit motor ou mesmo síndromes medulares.

O tempo entre início de sintomas e diagnóstico, geralmente, é menor do que 90 dias, devido a progressão rápida da doença. Na média, esse período gira em torno de 65 dias, com crianças menores tendendo a maior demora no diagnóstico, por sintomas mais insidiosos. Ainda que apenas sintomas inespecíficos estejam presentes, o médico assistente deve buscar sintomas que podem ser sutis, como nistagmo, distúrbio de nervos cranianos, dificuldade de olhar para cima (sinal do sol poente), abaulamento de fontanelas e atraso do desenvolvimento neuropsicomotor. Em caso de suspeita, exame de imagem faz-se necessário (QUINLAN, RIZZOLO, 2017; WILNE, *et al.*, 2012).

### **2.1.2. Epidemiologia**

Meduloblastomas correspondem de 15 a 30% dos tumores cerebrais na população pediátrica e 7-8% de todos os tumores cerebrais (QUINLAN, RIZZOLO, 2017). É considerado a neoplasia maligna cerebral pediátrica mais comum, apesar de alguns estudos considerarem tumores de origem glial ligeiramente mais prevalentes (RICKERT, PAULUS, 2001). Tem uma incidência anual estimada entre 0,5 e 2 novos casos por 100.000 pessoas, 350 novos casos por ano nos Estados Unidos. A maioria dos casos ocorre na primeira década de vida, com picos de incidência variando na literatura entre 3 e 10 anos. O sexo masculino é ligeiramente mais afetado, com uma relação de 1,5-2:1, apesar dessa relação variar entre os subtipos moleculares. Não há diferença entre etnias (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015; QUINLAN, RIZZOLO, 2017). Apesar de ser predominantemente uma doença pediátrica, ele também ocorre em adultos. Os dados da literatura são bastante divergentes quanto a incidência em adultos, sendo considerados raros na maioria dos estudos (incidência média estimada em 0,05 casos anuais por



100,000 pessoas), normalmente antes dos 40 anos. Alguns autores, entretanto, consideram que esse número pode chegar a até 30% dos casos (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015; NORTHCOTT, *et al.*, 2019).

Menos de 5% dos casos parecem estar associados a condições hereditárias. As síndromes familiares com relação mais bem estabelecida com os meduloblastomas são as síndromes de polipose adenomatosa familiar (síndrome de Turcot) e do carcinoma nevoide basocelular (síndrome de Gorlin-Goltz). Apesar desse número relativamente baixo, até 18% dos pacientes com meduloblastoma na infância desenvolve outras neoplasias malignas ao longo dos próximos 30 anos de vida. Além do fator genético-hereditário, provavelmente esse dado também se deve ao efeito colateral do tratamento (quimioterapia/radioterapia) (NORTHCOTT, *et al.*, 2019).

### **2.1.3. Classificação**

A histopatogênese dos meduloblastomas ainda não está completamente estabelecida. Estudos sugerem que tipos histológicos distintos surgem de diferentes camadas celulares do cerebelo, com mecanismos de sinalização intracelulares diferentes (tipo desmoplásico surgiria da camada granular externa do cerebelo; o tipo clássico da matriz subventricular).

Até 2016, os meduloblastomas eram agrupados, juntamente outros tumores embrionários (ependimoblastoma, tumor rabdóide/teratóide atípico, meduloepitelioma, entre outros), numa denominação de tumores neuroectodérmicos primitivos (do inglês *primitive neuroectodermal tumor* – PNET). O meduloblastoma era considerado um PNET infratentorial (JOZWIAK, GRAJKOWSKA, WLODARSKI, 2007). Entretanto, a classificação dos tumores do sistema nervoso central da OMS, em 2016, aboliu essa nomenclatura em favor de uma nova classificação baseada em aspectos moleculares. Apesar de ainda manter a ideia de se tratarem de tumores embrionários, os meduloblastomas e os demais PNETs foram separados em categorias diferentes. Tal mudança foi mantida na nova classificação dos tumores do sistema nervoso central da OMS de 2021. Ainda segundo a OMS, os meduloblastomas, em todas suas classificações, são considerados lesões de alto grau (malignas) (LOUIS, *et al.*, 2016; LOUIS, *et al.*, 2021).

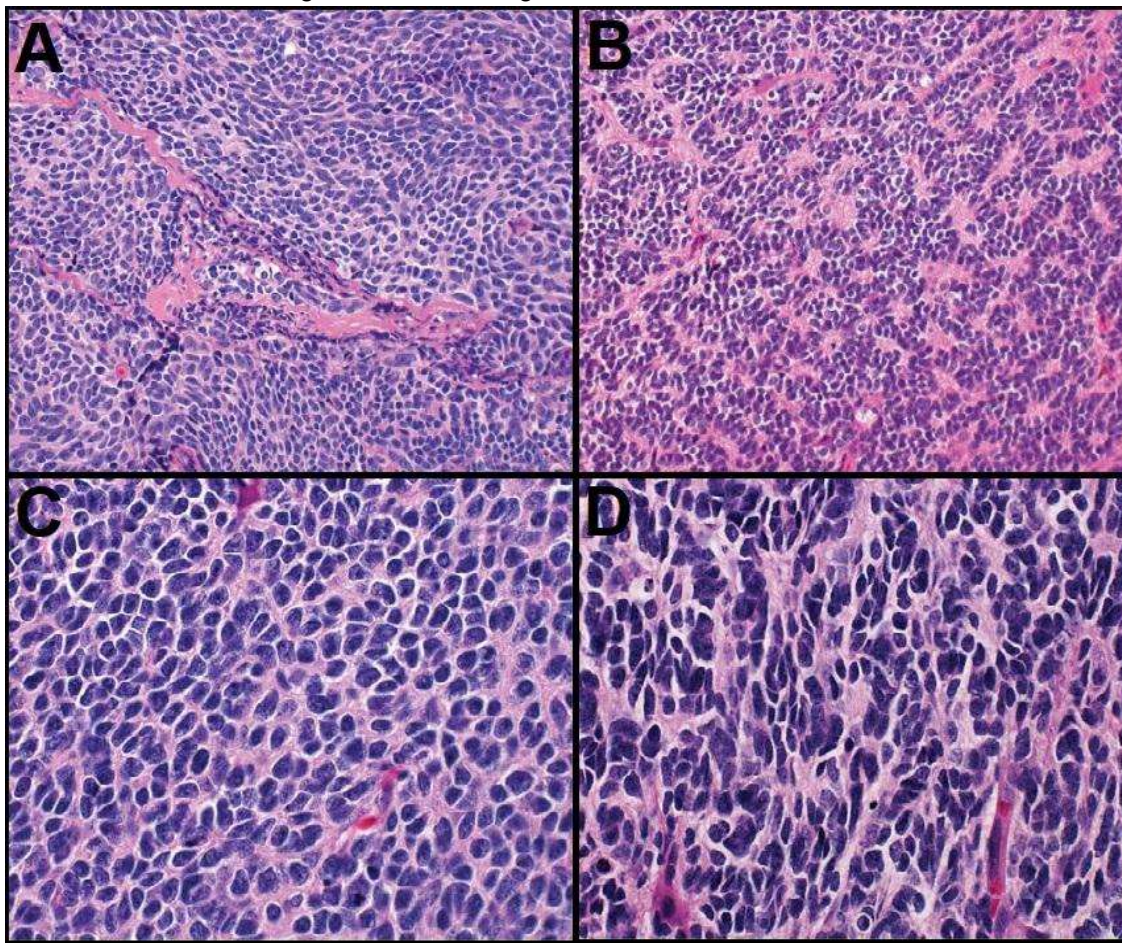
### 2.1.3.1. Classificação histológica

Classicamente, os meduloblastomas são classificados baseado em aspectos histológicos. Eles se apresentam como grupamentos celulares densos, com núcleo hipercromático e citoplasma escasso. Figuras de mitose são frequentes e as células indiferenciadas. Se houver alguma diferenciação, ela comumente ocorre para células neuronais (ao invés de gliais) (QUINLAN, RIZZOLO, 2017; ORR, 2020).

Os quatro tipos histológicos de meduloblastoma, reconhecidos pela OMS, são: clássico, células grandes/anaplásico, desmoplásico/nodular e de extensa nodularidade. Cada um com suas especificidades histopatológicas e prognóstico distintos.

O meduloblastoma clássico é o mais comum (figura 1). Caracteriza-se por alta celularidade e índice mitótico. Suas células são pequenas, redondas ou ovaladas e apresentam núcleos hipercromáticos e pleomórficos e citoplasma pequeno. As rosetas de Homer-Wright (células tumorais organizadas ao redor de uma região central contendo uma estrutura celular neuronal chamada de neurópilo; achado histológico classicamente atribuído aos meduloblastomas), podem ser encontradas neste subgrupo, associadas a alta atividade mitótica. Pode haver alguma desmoplasia (proliferação de tecido conjuntivo associado a neoplasia maligna), porém menos intensamente do que no tipo desmoplásico. A presença de necrose é variável. Ele tem tendência à disseminação pial através da superfície cerebelar (JOZWIAK, GRAJKOWSKA, WLODARSKI, 2007; ORR, 2020; QUINLAN, RIZZOLO, 2017).

Figura 1 – Corte histológico do meduloblastoma clássico.

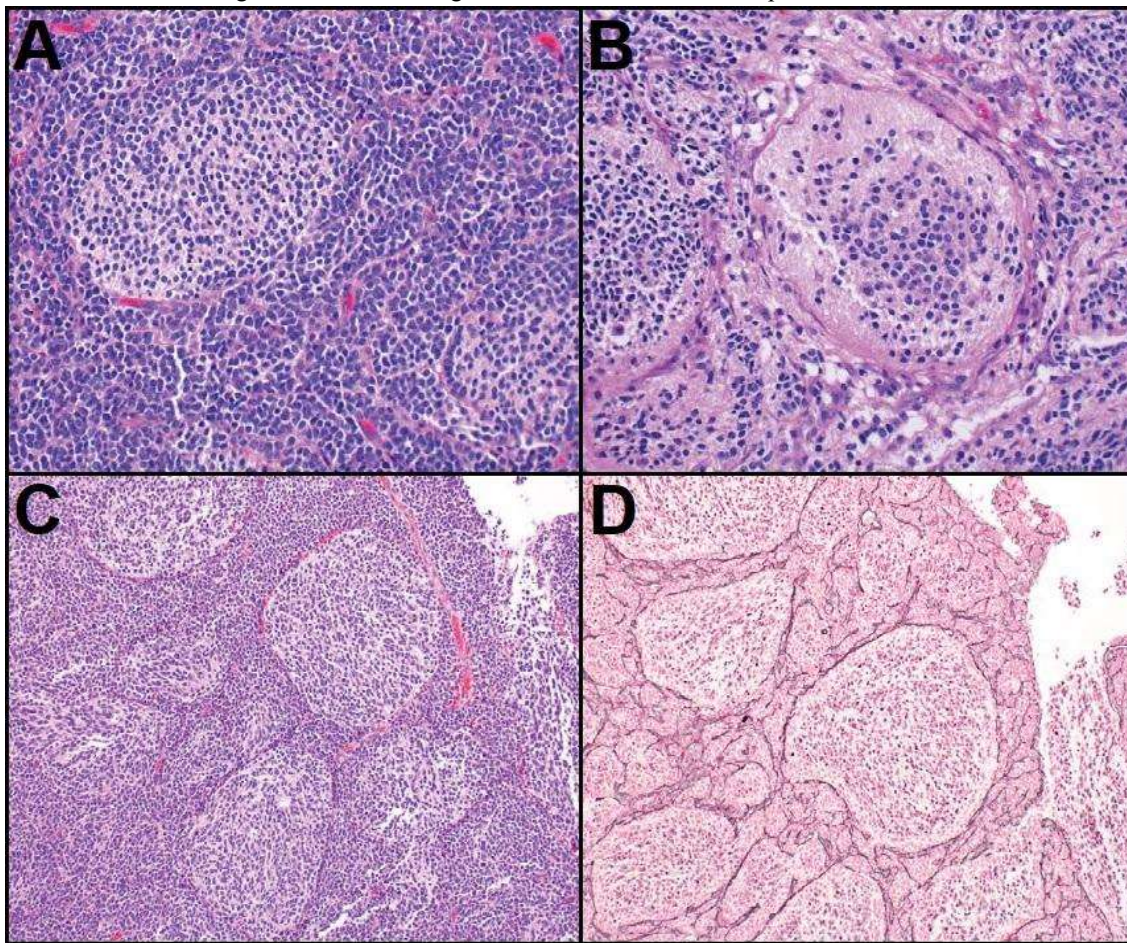


Fonte: ORR, 2020. Com autorização de *Wiley Online Library*.

Legenda: A) O tipo histológico clássico se caracteriza por células pequenas com núcleo ovóide, B) Rosetas de Homer Wright, C) Ausência de pleomorfismo celular significativo, D) Pequenos aumentos celulares, entretanto, podem ocorrer.

O meduloblastoma desmoplásico/nodular, além rico em desmoplasia, tem por característica a presença de arquitetura nodular, áreas centrais pobres em reticulina (tipo de fibra colágena do tecido conjuntivo) contendo células tumorais com diferenciação neurocítica rodeadas de áreas ricas em reticulina altamente povoadas de células indiferenciadas, ricas em figuras de mitose (figura 2). Origina-se da camada granular externa do cerebelo (JOZWIAK, GRAJKOWSKA, WLODARSKI, 2007; ORR, 2020; QUINLAN, RIZZOLO, 2017).

Figura 2 - Corte histológico do meduloblastoma desmoplásico/nodular.

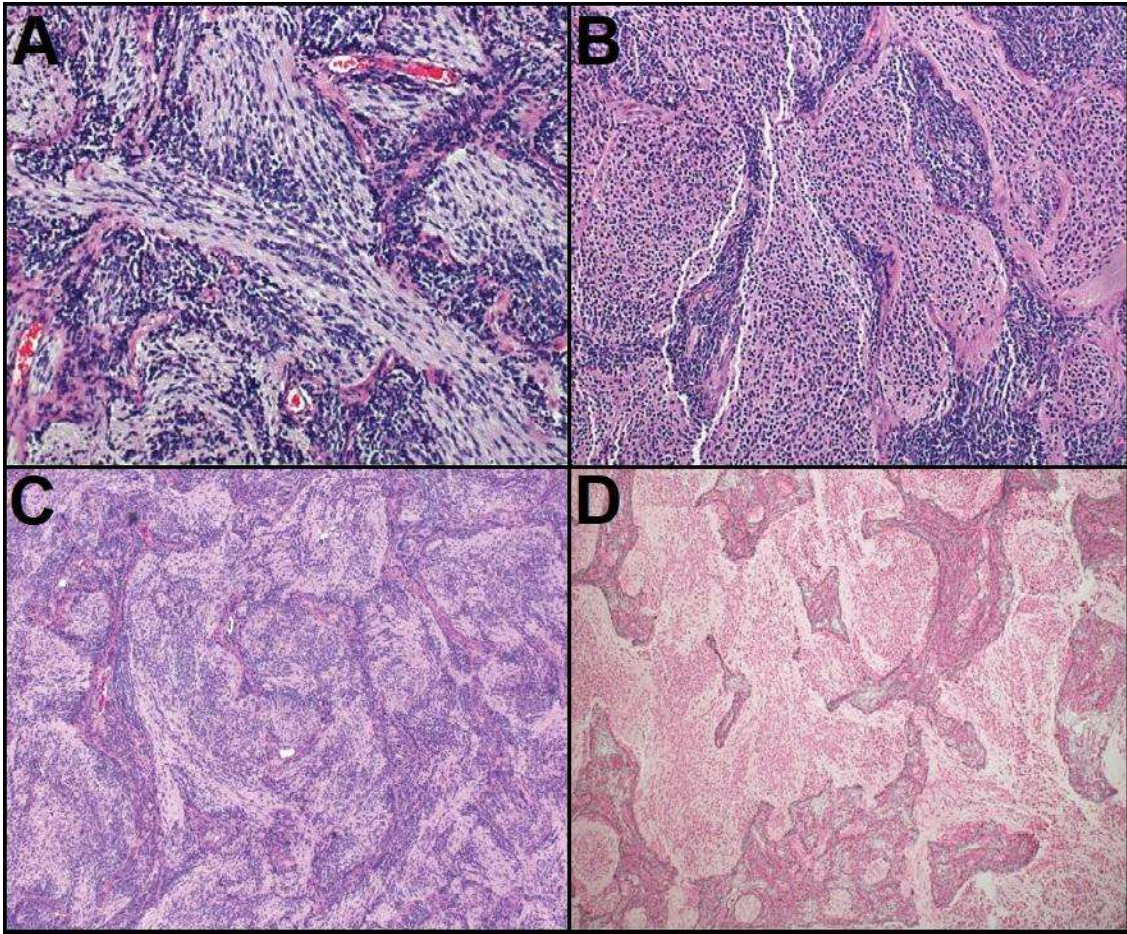


Fonte: ORR, 2020. Com autorização de *Wiley Online Library*.

Legenda: A, B e C) Os meduloblastomas desmoplásico/nodular são caracterizados por nódulos de diferenciação neurocística circundados por áreas de mais primitivas/indiferenciadas, D) O depósito perireticular de reticulina evidencia as áreas de desmoplasia.

O meduloblastoma de extensa nodularidade, no passado conhecido como *neuroblastoma cerebelar*, é uma variação restrita a crianças (figura 3). Apresenta, como seu nome sugere, uma arquitetura nodular mais robusta do que o desmoplásico/nodular. A área lobular é mais extensa e alongada, formando um tecido semelhante ao neurópilo. Assim como a variante desmoplásica/nodular, tem prognóstico melhor do que a variante clássica (ORR, 2020; QUINLAN, RIZZOLO, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Figura 3 - Corte histológico do meduloblastoma de extensa nodularidade.

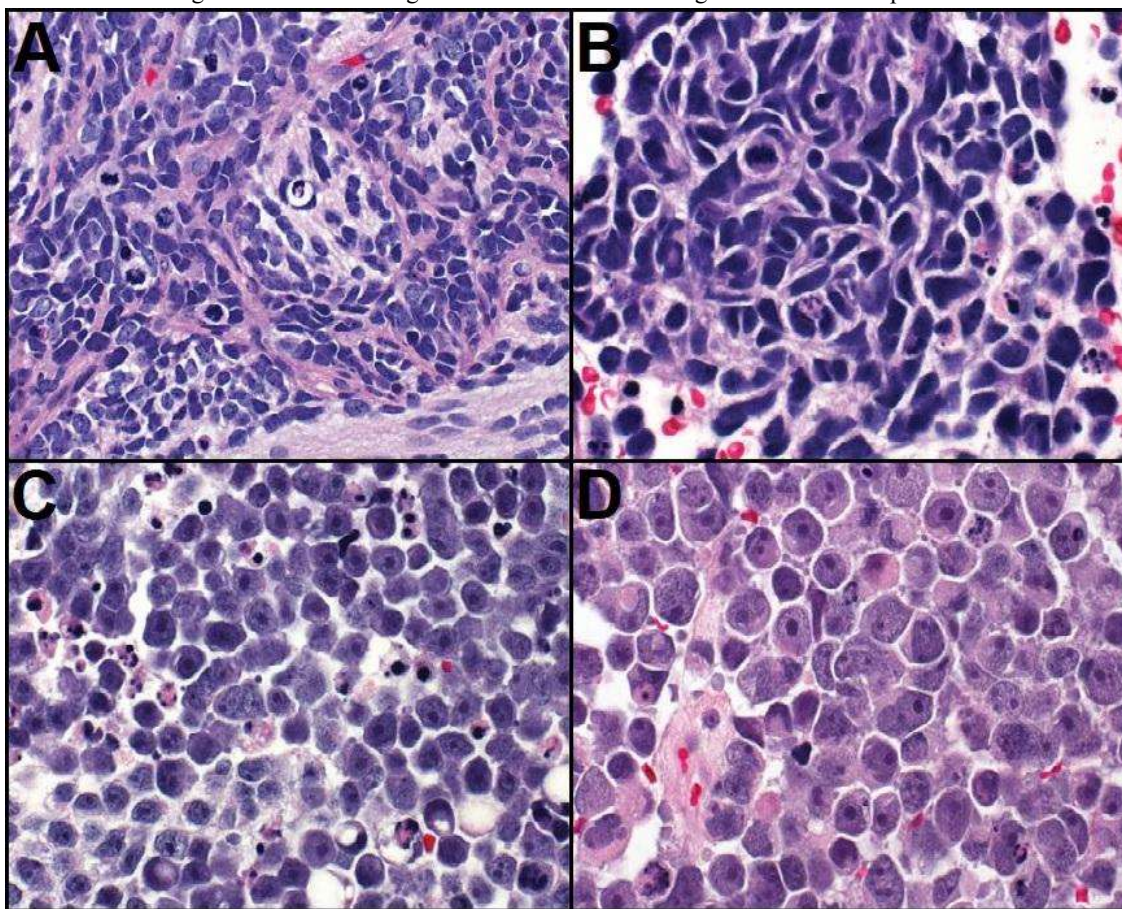


Fonte: ORR, 2020. Com autorização de *Wiley Online Library*.

Legenda: A, B e C) Essa variação histológica se caracteriza por apresentar elementos nodulares mais robustos, além de elementos internodulares mais diferenciados em relação a variante desmoplásica/nodular, D) Seus nódulos podem coalescer, formando padrões irregulares. Também apresentam deposição de reticulina nas regiões internodulares.

O meduloblastoma de grandes células/anaplásico é o de pior prognóstico (figura 4). Apresenta células grandes, arredondadas, núcleo vesicular e nucléolos proeminentes, daí o nome dessa classificação. Assim como as variantes desmoplásica/nodular e de extensa nodularidade, meduloblastomas de células grandes e anaplásicos sobrepõem-se em características em comum, diferenciados apenas pelo grau de anaplasia (pleomorfismo nuclear, atipia mitótica e corpos apoptóticos). Quanto maior o grau de anaplasia, pior o prognóstico (JOZWIAK, GRAJKOWSKA, WLODARSKI, 2007; ORR, 2020; QUINLAN, RIZZOLO, 2017).

Figura 4 - Corte histológico do meduloblastoma de grandes células/anaplásico.



Fonte: ORR, 2020. Com autorização de *Wiley Online Library*.

Legenda: A e B) Esse subtipo, como seu nome sugere, caracteriza-se por uma combinação de variantes de células grandes e de células anaplásicas. Entre as características anaplásicas, destacam-se aumento do tamanho da célula, pleomorfismo celular, mudanças no formato celular (*molding* e *wrapping*), figuras de mitose e corpos apoptóticos, C e D). No componente de células grandes, é observado células grandes, descoesas, com nucléolos proeminentes.

Outros padrões histológicos já foram descritos, porém não são reconhecidos pela OMS como variantes histológicas. São raros, como os medulomioblastomas e meduloblastomas melanóticos. Geralmente, apresentam outros tipos celulares misturados com as variantes previamente descritas, como células rabiomioblásticas, ou acúmulo de melanina no citoplasma tumoral, respectivamente aos exemplos citados (JOZWIAK, GRAJKOWSKA, WLODARSKI, 2007; ORR, 2020; QUINLAN, RIZZOLO, 2017).

#### 2.1.3.2. Classificação molecular

Desde a classificação de tumores do sistema nervoso central da OMS de 2016, os meduloblastomas são classificados por critérios histopatológicos e moleculares. Essa mudança





se deu com objetivo de sistematizar sua heterogeneidade biológica e molecular. Notou-se, assim, um maior entendimento do prognóstico da doença, uma vez que um mesmo subtipo histológico pode ter evolução diferente a depender do tipo molecular. Além disso, a classificação molecular foi o que tornou clara a diferença entre os meduloblastomas e os demais tumores embriogênicos, anteriormente agrupados juntos como PNETs (LOUIS, *et al.*, 2016; LOUIS, *et al.*, 2021; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017). Sabe-se hoje, através do agrupamento molecular, que os 4 subtipos de meduloblastomas se originam de células precursoras diferentes. E, ao contrário dos gliomas de alto grau, a filiação ao grupo molecular se mantém em caso de recidiva, o que pode lançar luz sobre estudos sobre células-tronco cancerígenas (CTC) e resistência oncológica (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Baseado em critérios moleculares de alterações genômicas ou vias de ativação celular, os meduloblastomas foram divididos em 4 grupos: Wingless (WNT), Sonic Hedgehog (SHH), Grupo 3 e Grupo 4. Cada subgrupo apresenta prognósticos distintos. Os tumores WNT geralmente tem bom prognóstico; os SHH têm bom prognóstico em crianças, intermediário em adultos; Grupo 3 tem prognóstico reservado e o Grupo 4, intermediário. Essa nova classificação criou um novo entendimento sobre esses tumores e expandiu os horizontes para pesquisas em novos alvos moleculares. A figura 5 exemplifica bem algumas características diferentes entre cada tipo molecular tumoral (QUINLAN, RIZZOLO, 2017).

Estudos recentes buscam ainda maior identificação de cada grupo, já havendo propostas de criação de subgrupos dentro dos 4 principais. Novas subclassificações buscam responder porque ainda há prognósticos diferentes dentro de um mesmo subgrupo, como o SHH em crianças e adultos, e assim novas vias de sinalização celular vão sendo identificadas.

Os tumores do Grupo 3 e Grupo 4, também chamados de não-WNT/não-SHH, recebem essa nomenclatura devido a não ter sido identificada uma única via molecular atribuída a suas patogêneses. Estudos demonstram que, possivelmente, os tumores desses grupos apresentam um espectro de mutações transcricionais que o definem como de um ou de outro grupo (WILLIAMSON, *et al.*, 2022).

Figura 5 - Classificação molecular dos meduloblastomas.

|                                       | WNT  | SHH  | Grupo 3  | Grupo 4   |
|---------------------------------------|--|--|--|---|
| Faixa Etária                          |       |   |  |          |
| Metástase ao diagnóstico              | <5%  | 20%  | 40%-50%  | 35%-40%   |
| Proporção                             | 1:1  | 1:1  | 2:1  | 2:1   |
| Variações somáticas                   | <i>CTNNB1</i> (90%)<br><i>SMARCA4</i> (25%)<br><i>DDX3X</i> (50%)<br><i>TP53</i> (12%) | <i>PTCH1</i> (25%)<br><i>SUFU</i> (10%, lactentes)<br><i>SMO</i> (15%, adultos)<br><i>TERT</i> (20%, adultos)<br><i>IDH1</i> (< 5%, adultos)<br><i>TP53</i> (15%, crianças)<br><i>MLL2</i> (12%) | <i>SMARCA4</i> (10%)<br><i>CTDNEP1</i> (5%)<br><i>MLL2</i> (4%)                    | <i>KDM64</i> (10%)<br><i>MLL3</i> (5%)  |
| Variações germinativas                | <i>AFC</i> (< 5%)  | <i>PTCH1</i> (25% lactentes, 10% crianças/adultos)<br><i>SUFU</i> (20% lactentes)<br><i>TP53</i> (8% crianças/adultos)   |  |   |
| Número de cópias de aberrações focais |  | <i>MYCN</i> (8%)<br><i>GLI2</i> (5%)   | <i>MYC</i> (15%)<br><i>O1X2</i> (7%),<br><i>GFI1/1b</i> ativação (25%)             | <i>SNCAIP</i> (10%)<br><i>MYCN</i> (6%)<br><i>CDK6</i> (5%)<br><i>GFI1/1b</i> ativação (5%) |
| Número de cópias de aberrações amplas | Monossomia 6 (85%)   | 9q (35%)<br>10q (22%)<br>17p (18%)   | i17q (22%)<br>8 (29%) 10 (45%) 11 (30%) 16 (48%)<br>1q (23%) 7 (25%)<br>18 (20%)   | i17q (70%)<br>8p (49%) 11p (28%)<br>X (80% de mulheres)<br>7q (40%) 18q (20%)               |
| Padrão de recidiva                    | Local e metastático  | Predominantemente local  | Metastático  | Metastático   |
| Alto risco                            |  | <i>TP53</i> mutação<br>Amp <i>MYCN</i>   | Lactentes<br>Metástases  | Metástases  |
| Baixo risco                           | Idade < 16 anos  | Lactentes  |  | Perda de todo cromossomo 11   |

Fonte: RAMASWAMY, TAYLOR, 2017. Com autorização de *Wiley Online Library*.

#### 2.1.3.2.1. WNT

Os meduloblastomas denominados wingless (WNT) representam o subtipo molecular menos frequentes, correspondendo a aproximadamente 11% dos casos. Tem um pico de incidência entre 6 e 11 anos, distribuição equilibrada entre os sexos, intervalo entre início dos sintomas e diagnóstico maior em relação aos demais e bom prognóstico. Estudos mostram que pacientes com menos de 16 anos tem até 90% de sobrevida em 5 anos, sendo inclusive proposto descalonamento do tratamento nesses pacientes (tratamento menos agressivo). Raramente evolui com metástases. Frequentemente invade o recesso lateral do tronco encefálico,



possivelmente devido a sua origem no lábio rômico inferior da placa alar do mesencéfalo (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Dentre as alterações genéticas características desse grupo, ativações somáticas no exon 3 da beta-catenina (gene CTNNB1) são encontradas em aproximadamente 90% dos tumores. Outra alteração comum é a monossomia 6, presente em 70 a 80%. Outras alterações, menos frequentes, são mutações somáticas nos genes TP53, SMARCA4 e DDX3X. Ao contrário dos tumores SHH, nesta variante as alterações no gene TP53 não têm pior prognóstico. Mutações germinativas no gene APC, compatíveis com a síndrome de Turcot, podem ser encontradas em tumores WNT que não apresentam mutações CTNNB1, o que reforça a importância de aconselhamento genético nos portadores da síndrome (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

#### 2.1.3.2.2. SHH

Os tumores deste grupo são caracterizados geneticamente pela ativação da via Sonic Hedgehog (SHH). Essa é uma das principais vias de crescimento e diferenciação celular (CHOUDHRY, *et al.*, 2014). Eles representam em torno de 25% dos meduloblastomas, atingem todas as idades (distribuição bimodal com pico na primeira infância e em adultos), tem um intervalo entre início dos sintomas e diagnóstico curto, raramente já são metastáticos ao diagnóstico e ocorrem em todas as idades. Devido a sua provável origem na camada granular externa do cerebelo, geralmente ocorrem dentro do parênquima cerebelar e não no quarto ventrículo (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

De uma maneira geral, o prognóstico é satisfatório, com uma sobrevida média em 5 anos em torno de 70%. Entretanto, ao contrário dos tumores WNT, aqui a mutação do gene TP53 tem um importante fator prognóstico. Pacientes com mutação de TP53 apresentam uma sobrevida em 5 anos de menos de 40%, enquanto nos pacientes com TP53 selvagem (sem mutação) ela pode chegar a 80%. A presença dessa mutação faz o paciente ser estratificado como de alto risco, haja vista maior risco de recorrência e maior resistência ao tratamento. Essa mutação é tão importante nesses tumores que a OMS subclassifica os meduloblastomas SHH como TP53 mutante e TP53 selvagem. Esse gene está associado ao controle de dano, reparo e morte celular, sendo, por isso, muito associado a oncogênese. Sua mutação amplifica a expressão do gene MYCN, relacionado a crescimento e proliferação celular, e cromotripsia (quebra e reparo aleatório de cromossomos, processo associado a oncogênese) (ARCHER, MAHONEY, POMEROY, 2017; CHOUDHRY, *et al.*, 2014; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Meduloblastomas SHH estão ainda associados a mutações do gene PTCH1, também relacionado à síndrome de Gorlin-Goltz. A identificação dessa mutação é importante porque, nesses pacientes, a radiação está associada a um maior risco de desenvolvimento de neoplasias secundárias, como carcinomas basocelulares e meningiomas (ARCHER, MAHONEY, POMEROY, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Esse grupo apresenta também mutações em outros genes, como SMO, PTCH, GLI1, GLI2 e SUFU. Devido a essa variedade de mutações genéticas e no avanço dos estudos com metilação de DNA, outras subdivisões desse grupo já estão em estudo para melhor individualizar o prognóstico e tratamento desses pacientes (ARCHER, MAHONEY, POMEROY, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

#### 2.1.3.2.3. Grupo 3

Os meduloblastomas do grupo 3 são caracterizados por vias de ativação associados a fotorreceptores, gabaérgicas (relacionados ao ácido gama amino-butírico) e amplificação do MYC. São comuns em crianças mais jovens, têm preferência pelo sexo masculino, curto intervalo entre sintomas e diagnóstico e, em até 50% dos casos, já são metastáticos ao diagnóstico. São encontrados na linha média, na parede do quarto ventrículo junto ao tronco encefálico (ARCHER, MAHONEY, POMEROY, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Esse grupo tem o prognóstico mais reservado, atingindo sobrevida de até 50% em 5 anos. Um dos principais fatores prognósticos é a amplificação de MYC, que acomete de 10 a 20% dos tumores. Quando presente, a sobrevida em 5 anos não atinge 20%. Essa amplificação se dá através da ampliação do gene MYC, rearranjo dos genes PRVT1-MYC no cromossomo 8q24, ou ainda a mecanismos desconhecidos. Outros genes também apresentam prognósticos ruins, como GF11 e OTX, principalmente quando associados à amplificação MYC. Devido ao prognóstico ruim desse grupo, e da aparente importância da expressão de MYC, os objetivos de estudos recentes têm sido pesquisar drogas capazes de inibir essa via. Estudos que buscam inibir a proliferação celular através desse mecanismo estão em fase pré-clínica nos Estados Unidos. Embora seja uma pequena parte dos pacientes, estes são os pacientes de maior mortalidade (ARCHER, MAHONEY, POMEROY, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017; WILLIAMSON, *et al.*, 2022).

#### 2.1.3.2.4. Grupo 4

Assim como os tumores do grupo 3, os meduloblastomas do grupo 4 ainda não têm a patogênese completamente estabelecida. Correspondem a até 30% dos meduloblastomas, acometem predominantemente crianças de 3 a 16 anos (idade média de 7 anos), sexo masculino (relação 2:1), e já são metastáticos em 30 a 40% dos casos ao diagnóstico (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017; TAYLOR, *et al.*, 2012). Tem por característica pouco realce ao contraste à ressonância nuclear magnética (TAYLOR, *et al.*, 2012). Devido ao tempo longo entre sintomas e diagnóstico, comumente os pacientes já se apresentam hidrocefálicos e são submetidos a derivação ventricular mais frequentemente (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Sua alteração histológica típica é um isocromossomo (duplicação) 17q que ocorre em até 80% dos casos. Essa é uma alteração que também ocorre nos tumores do grupo 3, porém em menor frequência (aproximadamente 23% dos casos). Outra alteração em comum é a amplificação de MYC, porém no grupo 4 parece não haver relação com o prognóstico, ao contrário dos tumores SHH e do grupo 3. Essas mutações genéticas em comum, aparentemente com maior relação prognóstica em neste ou aquele tipo tumoral, reforçam a ideia de alterações genéticas comuns, porém num espectro de incidência, o que diferenciaria um grupo do outro. Outras mutações possíveis são a deleção isolada do cromossomo 17p, perda do cromossomo X (que ocorre em até 80% dos desses tumores nos pacientes do sexo feminino), mutação da histona desmetilase KDM6A (10% dos casos), duplicação do gene SNCAIP (10% dos casos) ou amplificação do gene CDK6. Outras aberrações citogenéticas possíveis ocorrem nos cromossomos 8p, 7q, 11p e 18q. Estudos apontam múltiplas mutações associadas a diferenciação neuronal nos tumores do grupo 4. Apesar de quase um terço dos meduloblastomas serem caracterizados como dessa variante, os mecanismos patogênicos associados a este subgrupo são os menos esclarecidos dos quatro (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017; TAYLOR, *et al.*, 2012; WILLIAMSON, *et al.*, 2022).

Tem um prognóstico considerado intermediário, apesar de algumas mutações estarem associadas a melhor prognóstico, como a perda do cromossomo 11, associada a uma sobrevivência em 5 anos de 90%. Pacientes desse grupo possivelmente se beneficiam de radioterapia, em vista do prognóstico ruim de crianças com esse tipo de tumor que não são submetidas a radiação (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

#### **2.1.4. Estratificação**

Atualmente, os protocolos de tratamento dos meduloblastomas são baseados em estratificação de risco. Os pacientes são divididos em risco moderado ou alto baseado em critérios clínicos e radiológicos, com algumas variações a depender da literatura (americana ou europeia).

São considerados de alto risco os pacientes que preencham pelo menos um dos seguintes critérios: idade menor do que 3-5 anos (idade alvo varia entre europeus e norte-americanos), lesão residual maior que 1,5 cm<sup>2</sup> após ressecção cirúrgica, disseminação metastática e, em alguns estudos, tumores classificados histologicamente como anaplásicos ou grande-células (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015; QUINLAN, RIZZOLO, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Em 1969, Chang propôs uma estratificação baseada em tamanho e invasividade local somado a disseminação a distância. Entretanto, estudos posteriores demonstraram que os critérios locais parecem não influenciar tanto no prognóstico, exceto pelo volume residual pós-cirurgia e a presença de metástases (QUINLAN, RIZZOLO, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

A idade é um fator que deve ser levado em conta nestes pacientes, porque crianças menores do que 3-5 anos devem ser poupadas de tratamento radioterápico. Estudos demonstram que, no longo prazo, estes pacientes apresentam distúrbios cognitivos severos devido à radiação, além dos outros riscos associados a esta modalidade de tratamento (neoplasias associadas a radiação, distúrbios hematológicos). Pacientes que não atingiram essa idade-alvo são considerados de alto risco e submetidos a protocolos de quimioterapia diferenciados, com resultados satisfatórios a depender do tipo histológico/molecular (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015; QUINLAN, RIZZOLO, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

São considerados de risco moderado pacientes que não preenchem critérios para alto risco: pacientes maiores do que 3-5 anos com ressecção cirúrgica radical e sem metástases ao diagnóstico.

#### **2.1.5. Tratamento**

O tratamento do meduloblastoma se baseia em 3 pilares: cirurgia, radioterapia e quimioterapia. O tratamento cirúrgico busca a maior ressecção possível, desde que não cause prejuízo funcional ao paciente. O protocolo de radiação, que é dividida entre o leito tumoral e o neuro-eixo, não é aplicada em pacientes com menos de 3 anos devido aos efeitos colaterais

de longo prazo. Nestes, a quimioterapia adjuvante é reforçada. Corticoides são administrados para redução do inchaço cerebral (QUINLAN, RIZZOLO, 2017).

A cirurgia era a única opção de tratamento até a década de 1950. Harvey Cushing, um dos pioneiros da neurocirurgia moderna, observou, na década de 1920, que pacientes com ressecções mais extensas tinham prognóstico melhor. Ele aprimorou e difundiu técnicas cirúrgicas para ressecção completa desses tumores, ainda na era pré-microscópio cirúrgico (QUINLAN, RIZZOLO, 2017). Apesar desses avanços, a mortalidade no pós-operatório imediato chegava a 30%. Outro fato observado por ele é que, mesmo com ressecção completa, as recidivas eram inevitáveis (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017). Hoje em dia, com técnicas cirúrgicas modernas, microscópio cirúrgico, maior conhecimento da anatomia microcirúrgica e monitorização neurofisiológica intraoperatória, a cirurgia tornou-se mais segura, sendo possível ressecções mais amplas sem causar déficit neurológico no paciente. Um tumor residual maior que 1,5 cm<sup>2</sup> está associado a pior prognóstico e esse paciente passa a ser considerado de alto risco (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Em meados de 1950, começou-se a estudar o uso de radiação no tratamento desses pacientes. A sobrevida em 3 anos atingiu a marca de 50% em pacientes previamente operados que eram submetidos a radiação de 50 Gy em fossa posterior e 30 Gy no neuroeixo. Devido a sua capacidade de disseminação liquórica, a radioterapia, além de tratamento direto de lesões detectáveis em exames de imagem, passou a atuar como profilaxia para possíveis implantes secundários. A radioterapia, entretanto, é associada à alta morbidade no longo prazo. É bem descrito que pacientes submetidos a radioterapia podem apresentar doenças hematológicas, lesões neoplásicas secundárias, perda auditiva e, em crianças, déficits cognitivos. Devido a isso, em crianças menores do que 3-5 anos, evita-se radioterapia. Este é, inclusive, critério de risco (idade < 3-5 anos). Apesar do avanço da radioterapia, seus riscos associados dificilmente deixarão de existir para essa faixa etária (QUINLAN, RIZZOLO, 2017; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Desde a década de 1990, a quimioterapia adjuvante passou a fazer parte do tratamento padrão para meduloblastomas. Os protocolos atuais são baseados em vincristina, cisplatina, lomustina, carboplatina e etoposide. Em pacientes não submetidos a radioterapia, suas doses podem ser ajustadas para compensar a falta da radiação. Estudos mostraram que, em pacientes menores de 5 anos não submetidos a radiação, a combinação de cirurgia radical e quimioterapia tem sobrevida em 5 anos que varia de 40% a cura, a depender do tipo histológico (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

Atualmente, pacientes de alto risco com idade superior a 3-5 anos são submetidos a cirurgia radical, irradiação de neuro-eixo de 36-39 Gy, com incremento a 55 Gy no leito tumoral, seguido de quimioterapia. Tal estratégia tem sobrevida média de 60-65% em 5 anos. Pacientes de risco moderado, normalmente, recebem dose de radiação em neuro-eixo de 23,4 Gy, seguido de incremento a 55 Gy no leito tumoral, além de quimioterapia. Sua sobrevida em 5 anos passa de 80% (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

#### 2.1.5.1. Recidivas

Apesar do avanço dos protocolos e das técnicas de tratamento do meduloblastoma, pouco se avançou no tratamento das recidivas. Pacientes previamente irradiados que recidivam têm taxa de cura menor que 10%. Já foram propostos protocolos de nova cirurgia, re-irradiação e novos regimes de quimioterapia, além da combinação entre essas opções, sem muito sucesso. Em caso de crianças que não foram submetidas a radioterapia, esta pode ser uma opção, apesar das prováveis sequelas neurológicas (MILLARD, DE BRAGANÇA, 2015; RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

O local e o tempo da recorrência estão relacionados ao tipo molecular do tumor. Sabidamente, tumores do grupo 3 ou SHH recorrem antes do grupo 4, com sobrevida menor. Grupo 3 e 4 têm tendência a recidivas a distância, enquanto SHH, local. Tumores do grupo 3, inclusive, estão associados a recidivas difusas (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017; TAYLOR, *et al.*, 2012).

Uma das barreiras do tratamento das recidivas é a heterogeneidade dos tumores primário e recidivado. Embora o subgrupo molecular mantenha-se o mesmo, provavelmente devido a mesma origem celular da doença em ambas circunstâncias, ocorrem mudanças genéticas significativas, como amplificações MYC e mutação de TP53. Isso sugere que o tratamento oncológico seleciona as células cancerígenas resistentes, cujo mecanismo de proliferação não é afetado pelo tratamento. Essas mudanças celulares justificam a necessidade de nova análise molecular das recidivas e, principalmente, do estudo de novos marcadores celulares que sirvam de alvo para novas terapias (RAMASWAMY, TAYLOR, 2017).

## 2.1.6. Novos alvos moleculares

### 2.1.6.1. Importância e novas pesquisas

Nos últimos 30 anos, a sobrevida nos pacientes com meduloblastoma não sofreu grande mudança, mesmo com avanços na neurocirurgia, anestesia, radioterapia e diagnóstico por imagem. O advento da quimioterapia foi o último fator que impactou de maneira significativa o tratamento.

Essa estagnação no prognóstico dos pacientes com meduloblastoma deve se manter enquanto o foco das pesquisas se mantiver no aperfeiçoamento dos protocolos vigentes. A expectativa é que estudos mais personalizados, com foco na análise molecular tumoral e busca de novos alvos para drogas sejam o futuro da pesquisa em neuro-oncologia e, especificamente, nos meduloblastomas.

A busca por novos marcadores prognósticos e novos alvos terapêuticos se baseia em melhor entender o perfil genético do tumor, entender sua patogênese e seu mecanismo de replicação, identificar marcadores e mecanismos intracelulares de suas células-tronco cancerígenas e, através dessas informações, escolher alvos que possam bloquear a progressão da doença ou induzir morte celular através de quimioterapia específica para cada tipo celular. Esse tipo de terapia poderia, inclusive, reduzir os efeitos colaterais dos tratamentos vigentes e aumentar a qualidade de vida dos pacientes. Seria possível, por exemplo, substituir radioterapia de neuro-eixo por quimioterapia guiada apenas para células tumorais (PAUL, *et al.*, 2020).

### 2.1.6.2. Células-Tronco Cancerígenas (CTC)

Células-tronco cancerígenas (CTC) são tipos celulares presentes em neoplasias que apresentam propriedades tanto de autorrenovação quanto de diferenciação em outras células daquele câncer. Foram descritas pela primeira vez em 1994, em estudos de leucemia mieloide aguda, e representam uma revolução no entendimento da patogênese do câncer. Geralmente representam uma pequena população de células presentes na doença, com capacidade de resistência à quimioterapia e à radioterapia. Quando o tratamento não consegue erradicar sua presença, esse tipo celular proporciona o retorno da doença, dessa vez expressando características de resistência ao tratamento, devido ao fato de que a população celular que agora prolifera é derivada de células com essa característica. O entendimento deste mecanismo ajuda a explicar a falha das terapias oncológicas atuais em lidar com as doenças recidivadas (PAUL, ZAGE, 2021).

### 2.1.6.3. CSF3R

Em 2015, foi descrito pela primeira vez que um grupo de tumores distintos, entre eles o meduloblastoma, possuem uma população de células que apresentavam o receptor do fator estimulador de colônia granulocítica (GCSFR), marcador de superfície celular também conhecido como CD114, cuja expressão se dá pelo gene GSF3R (ZHANG, *et al.*, 2015). Esse receptor estava associado com células cancerígenas com capacidade de renovação e diferenciação, as células-tronco cancerígenas (CTC). Essas células tumorais CD114+, em estudos de neuroblastoma, apresentavam características semelhantes às células-tronco pluripotentes da crista neural, apresentavam resistência a quimioterapia e aumentavam sua proporção em relação as demais em metástases pós-quimioterapia. Um estudo subsequente (ZAGE, WHITTLE, SHOHET, 2017) demonstrou que, quando expostas ao fator estimulador de colônia granulocítica (G-CSF, do inglês *Granulocyte colony-stimulating factor*), essas linhagens de neuroblastoma CD114+ respondiam com proliferação e aumento da proporção em relação as células CD114-. O contrário também parece ocorrer, já que inibidores desse receptor demonstraram sensibilizar neuroblastomas à quimioterapia. Esses dados sugerem que células CD114+ sejam de fato tronco cancerígenas e que, ao torná-las alvo para novas terapias, seria possível tornar mais eficiente o tratamento (PAUL, *et al.*, 2020; PAUL, ZAGE, 2021).

Os GCSFR encontram-se presentes também nos meduloblastomas, apesar de sua associação com a patogenia da doença ainda não ser tão bem estabelecida quanto em outros tumores. Estudos em linhagens celulares e em animais de experimentação demonstraram que as células CD114+ são mais resistentes à quimioterapia, crescem mais lentamente e também respondem ao G-CSF. Isso é preocupante devido ao fato de que, em alguns protocolos de quimioterapia mieloablativa, principalmente em crianças nas quais se evita radioterapia, o G-CSF faz parte do tratamento. Na prática, isso significa que o tratamento quimioterápico pode estar estimulando crescimento tumoral e resistência quimioterápica (PAUL, *et al.*, 2020; PAUL, ZAGE, 2021).

Outros marcadores de superfície já foram identificados em células-tronco cancerígenas (CTC) dos meduloblastomas. As proteínas de superfície CD 133 e CD15, expressas através dos genes PROM1 e FUT4, respectivamente, são as mais bem estudadas. Estudos já demonstraram que não há co-expressão entre esses marcadores e o CD114, o que indica que esta possa ser uma linhagem tumoral diferente das demais (PAUL, ZAGE, 2021).



Assim como nos neuroblastomas, células tumorais CD114+ também são selecionados pelo tratamento oncológico, aumentando sua proporção entre as demais após exposição à quimioterapia. Elas também respondem com proliferação ao G-CSF, inclusive ativando uma das vias de sinalização intracelular tumoral mais bem estudadas, a via JAK-STAT. A presença do G-CSF inclusive aumenta a resistência direta da célula ao quimioterápico que age neste mecanismo. A via de sinalização JAK-STAT, também conhecida como IL-6, é uma das mais importantes vias de sinalização intracelular. Ela está relacionada a vários processos celulares, como proliferação e diferenciação celular e apoptose e tem papel importante na regulação imunológica e na hematopoese. Através da ligação com citocinas (como o G-CSF), o receptor é fosforilado em sua porção intracelular através do ligante JAK. Isso permite que a proteína STAT também seja fosforilada no meio intracelular para que possa, então, modular a expressão gênica intranuclear (XIN, *et al.*, 2020).

### 3. METODOLOGIA

Esse estudo foi realizado através de análise de um banco de dados público elaborado pelo consórcio mundial para o estudo de meduloblastomas, o *Medulloblastoma Advanced Genomics International Consortium (MAGIC)*. Tal consórcio conta com amostras de mais de 2000 meduloblastomas advindas de centros de excelência no tratamento de tumores cerebrais. Elas são provenientes, principalmente, da América do Norte (Canadá e Estados Unidos da América), mas também recebe contribuições da Europa, Ásia e América do Sul (inclusive Brasil). *MAGIC* banco de dados disponível para download em:

< <https://ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE85217> >. Acesso em: 15 junho 2019.

#### 3.1. SELEÇÃO DE AMOSTRAS E COLETA DE DADOS

O banco de dados utilizado neste estudo foi elaborado usando informações de pacientes em cujas amostras de tumor foi avaliada a expressão gene CSF3R. Dessa forma, 763 amostras foram incluídas para análise. Foram selecionados dados relativos à população estudada (dados epidemiológicos) e a expressão gênica. Os dados analisados são relativos a gênero, idade, sobrevivência e mortalidade, classificações histológica e molecular dos tumores, e expressão do gene CSF3R.

#### 3.2. MENSURAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA

Para a mensuração da expressão gênica de CSF3R, foi realizada análise *in silico* do conjunto de produtos transcritos pela célula tumoral (RNAs mensageiros, ribossômicos, transportadores e os microRNAs) de um dado organismo, órgão, tecido ou linhagem celular), também chamado de transcriptoma. As informações obtidas através da análise de transcriptoma são posteriormente submetidas a análise *in silico*.

Análise *in silico* é a utilização de algoritmos de computação para analisar o transcriptoma celular. Existem vários protocolos e são várias as possíveis análises. Através da análise das proteínas codificadas pela célula é possível, por uma espécie de transcrição reversa, decodificar o gene que a produziu e, com a proteína e seu gene registrados, é possível aferir a ativação e atividade de cada gene monitorado. Tal análise foi realizada para identificar a expressão do gene alvo do nosso estudo.

#### 3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A variável resposta avaliada nesse estudo foi expressão do gene CSF3R, que foi transformada em logaritmo binário ( $\log_2$ ) para tornar os dados homocedásticos (de variação

constante), devido a valores discrepantes no banco de dados. Para verificar a normalidade da distribuição dos dados foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov e a visualização gráfica por meio do gráfico Q-Q plot. Por não atender as pressuposições de normalidade, o efeito dos subgrupos moleculares de meduloblastoma sobre a expressão gênica foi verificada por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste post-hoc de Dunn para comparação das distribuições de cada subgrupo molecular.

A análise de Kaplan-Meier (KM) foi utilizada para estimar a mediana do tempo de sobrevivência e seus respectivos intervalos de confiança. O método de KM é uma estatística não paramétrica usada para estimar a probabilidade de sobrevivência a partir dos tempos de sobrevivência observados. As curvas de sobrevivência do gráfico de KM fornecem uma relação do tempo, em anos, com a probabilidade de sobrevivência, que pode ser usado para estimar o tempo médio de sobrevivência de um paciente. Para determinar se um fator avaliado no prontuário médico pode ser associado estaticamente com diferenças nas curvas de sobrevivência, foi realizado o teste de Log-rank. Esse teste não paramétrico assume como hipótese nula que não há diferença na sobrevivência entre os dois grupos testados, não havendo suposições prévias sobre as distribuições de sobrevivência. Essencialmente, o teste de log-rank compara o número observado de eventos em cada grupo com o que seria esperado se a hipótese nula fosse verdadeira (ou seja, se as curvas de sobrevivência fossem idênticas), uma estatística similar ao teste de qui-quadrado.

#### 3.4. APROVAÇÃO DE COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Como este estudo analisa dados secundários, proveniente de banco de dados de domínio público, e sem identificação dos participantes da pesquisa, ele não foi submetido para análise em comitê de ética em pesquisa (sistema CEP-CONEP), em conformidade com a resolução n° 510 do Conselho Nacional de Saúde, de 07 de abril de 2016. Entretanto, durante elaboração deste banco de dados, cada instituição participante teve aprovação em comitê de ética e pesquisa local para participação no *MAGIC*.

#### 4. RESULTADOS

Dados de 763 pacientes foram incluídos neste estudo. Foram analisadas amostras de tumores primários de pacientes diagnosticados com meduloblastoma. A Tabela 1 apresenta dados descritivos relativos à idade, gênero e sobrevida desses pacientes, distribuídos para cada tipo molecular tumoral.

Tabela 1 – População do estudo.

| Variável                 | WNT               | SHH              | Grupo 3         | Grupo 4          | Todos            |     |
|--------------------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|-----|
| Idade (anos)             | 10,8 (8,0 – 16,0) | 8,8 (2,1 – 21,5) | 5,1 (3,1 – 8,0) | 8,0 (5,8 – 11,0) | 8,0 (4,8 – 12,0) |     |
| Sexo                     | Masculino         | 29               | 128             | 99               | 216              | 472 |
|                          | Feminino          | 35               | 82              | 38               | 92               | 247 |
| Proporção entre os sexos | 0,8               | 1,6              | 2,6             | 2,3              | 1,9              |     |
| Sobrevida (anos)         | 4,2 (2,7 – 8,3)   | 3,9 (2,1 – 7,0)  | 3,0 (1,4 – 6,7) | 4,2 (2,3 – 6,8)  | 4,0 (2,1- 6,9)   |     |

Fonte: O Autor, 2021.

Classicamente, os meduloblastomas eram classificados em subtipos histológicos. Essa classificação vem perdendo relevância desde a mudança proposta pela OMS na *Classificação dos Tumores do SNC* de 2016. A partir desse momento, passou-se a utilizar a classificação molecular para esses tumores e vários estudos tem aprofundado o conhecimento sobre a genômica dessa doença desde então. A Tabela 2 mostra a relação entre a classificação histológica (linhas) e molecular (colunas) dos meduloblastomas. Essa tabela mostra o quanto um mesmo subtipo histológico pode apresentar amplo espectro de comportamento biológico, desde benigno a muito agressivo. O subtipo clássico, por exemplo, foi representado em ligeira maioria pelo subtipo molecular Grupo 4. Entretanto, o restante se divide de maneira razoavelmente equilibrada entre os 3 outros subtipos moleculares. Da mesma maneira, o subtipo histológico de grandes células/anaplásico (LCA), apresentou classificação molecular muito semelhante entre 3 grupos distintos: SHH, grupo 3 e grupo 4.

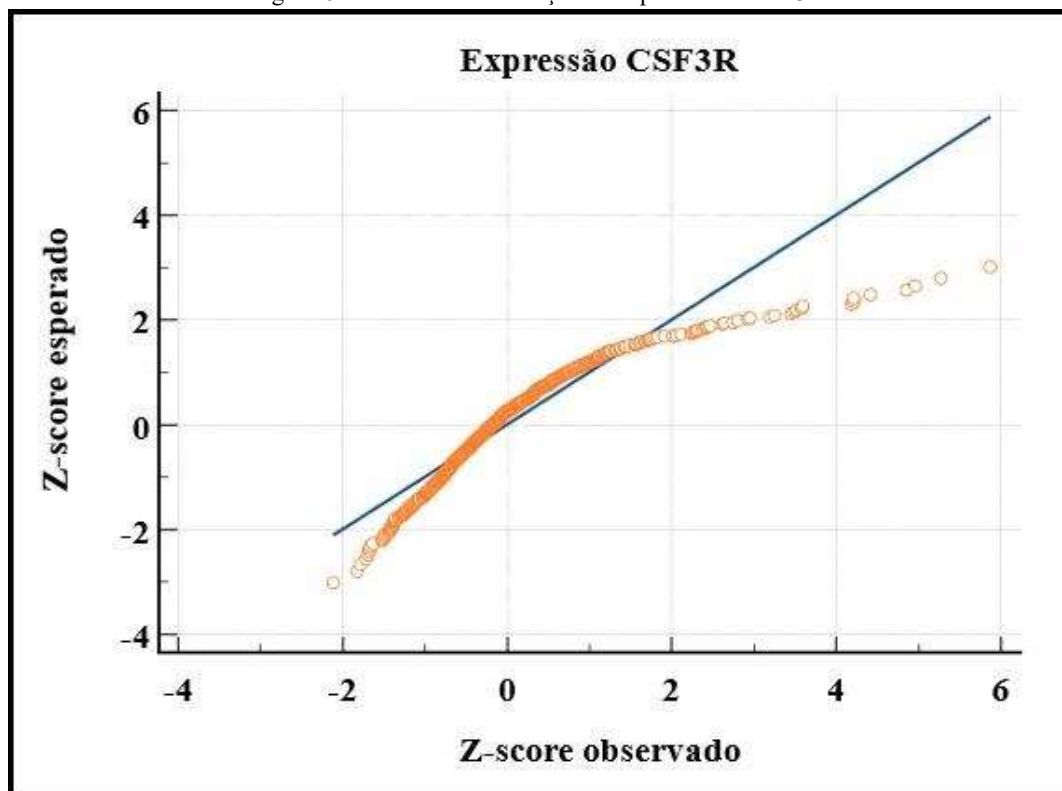
Tabela 2 - Diagnóstico histológico X molecular dos meduloblastomas

| Variável     | WNT        | SHH        | Grupo 3    | Grupo 4        | Total      |
|--------------|------------|------------|------------|----------------|------------|
| Clássico     | 40 (10,3%) | 78 (20,2%) | 68 (17,6%) | 201<br>(51,9%) | 387 (100%) |
| Desmoplásico | 5 (4,6%)   | 73 (67%)   | 8 (7,3%)   | 23 (21,1%)     | 109 (100%) |
| MBEN         | 0 (0%)     | 10 (55,6%) | 2 (11,1%)  | 6 (33,3%)      | 18 (100%)  |
| LCA          | 5 (7%)     | 20 (28%)   | 25 (35%)   | 22 (30%)       | 72 (100%)  |

Fonte: O Autor, 2021.

Para definir se a expressão do gene CSF3R segue distribuição normal, foi realizado teste de Kolmogorov-Smirnov, que confirmou a hipótese nula de que não segue. Essa análise é demonstrada na Figura 6 em gráfico Q-Q plot.

Figura 6 - Padrão de distribuição da expressão de CSF3R.

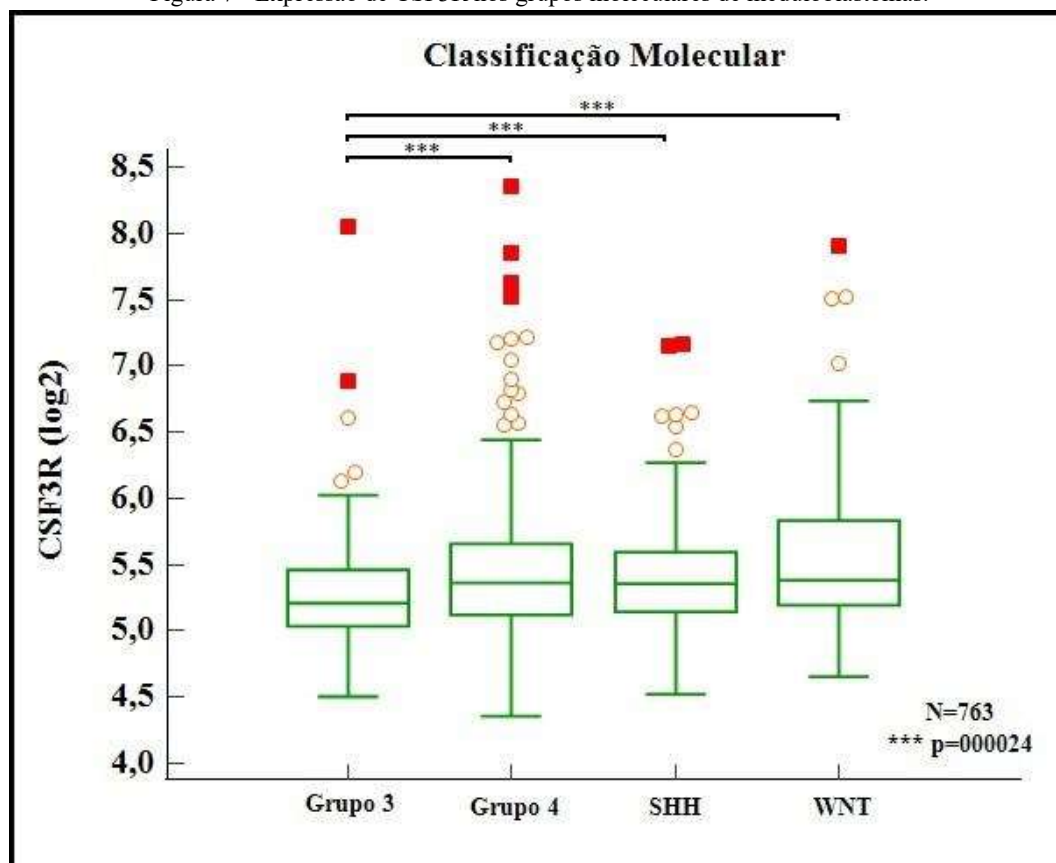


Fonte: O Autor. Compilado através de MedCalc® versão 20.115 (MedCalc Software Ltda, Ostende, Bélgica)

Após a definição de que a expressão gênica não segue distribuição normal, foi realizado teste de Kruskal-Wallis para determinar se os diferentes padrões expressão do gene CSF3R entre os grupos apresenta significância estatística, o que se confirmou ( $p < 0,001$ ). Posteriormente, foi feito post-hoc o teste de Dunn para avaliar entre quais grupos essa diferença

era relevante. O teste evidenciou que os tumores do grupo 3 apresentam padrão de expressão gênica de CSF3R diferente dos demais grupos (WNT, SHH e grupo 4). A figura 7 mostra a relação do padrão de expressão do gene CSF3R entre os 4 principais tipos moleculares de meduloblastomas, ressaltando a diferença entre os tumores do grupo 3 e os demais.

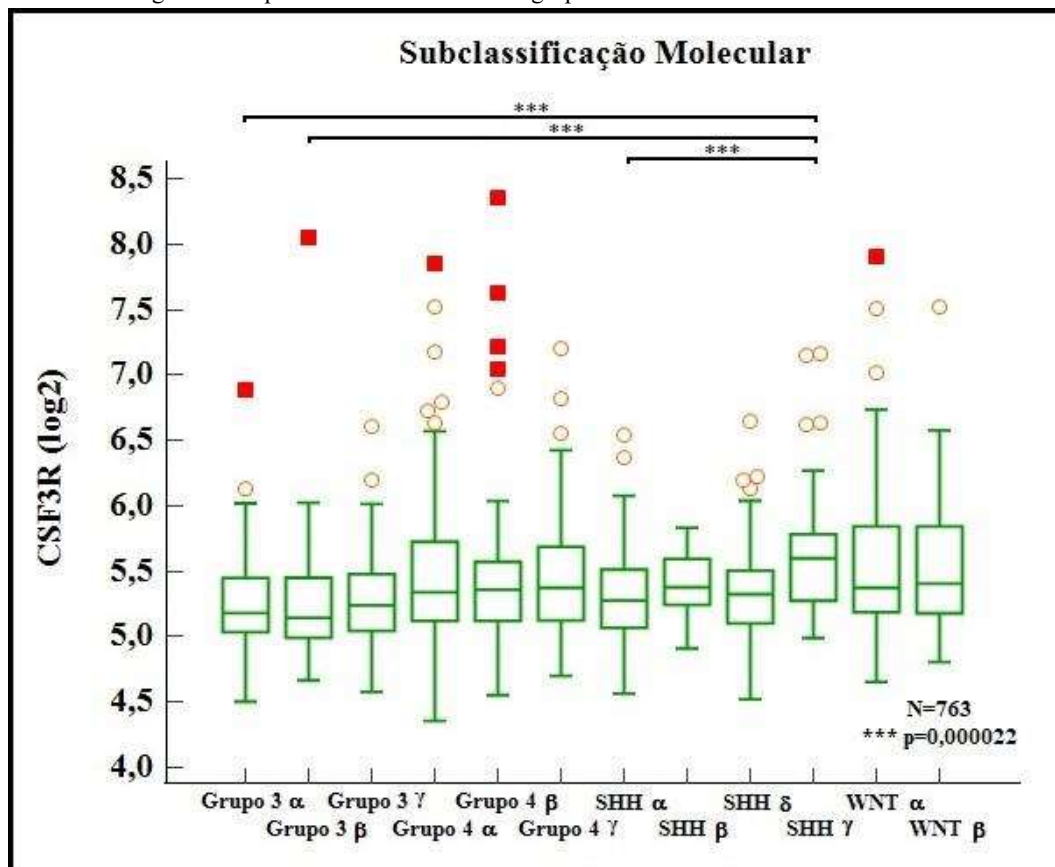
Figura 7 - Expressão de CSF3R nos grupos moleculares de meduloblastomas.



Fonte: O Autor. Compilado através de MedCalc® versão 20.115 (MedCalc Software Ltda, Ostende, Bélgica)

A análise (teste de Kruskal-Wallis, seguido de post-hoc de Dunn) da expressão gênica de CSF3R entre os grupos moleculares dos meduloblastomas foi novamente realizada, mas agora usando os subgrupos moleculares propostos por Cavalli *et al* (2017). Os resultados mostraram que o subgrupo SHH gamma apresentou padrão de expressão diferente dos subgrupos Grupo 3 alfa, Grupo 3 Beta e SHH alfa ( $p < 0,001$ ). A figura 8 mostra a relação do padrão de expressão do gene CSF3R entre os 12 subgrupos moleculares dos meduloblastomas.

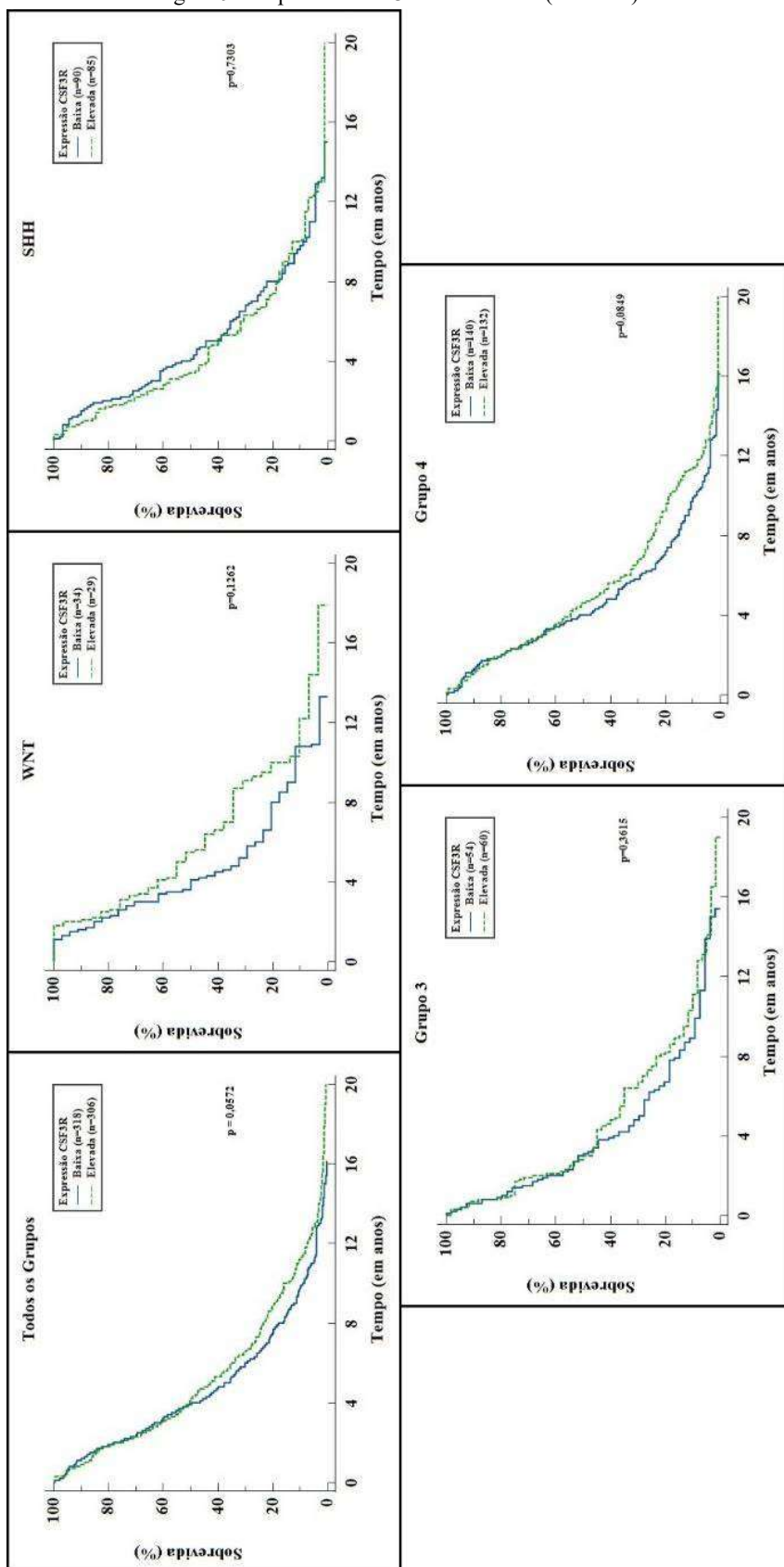
Figura 8 - Expressão de CSF3R nos subgrupos moleculares de meduloblastomas.



Fonte: O Autor. Compilado através de MedCalc® versão 20.115 (MedCalc Software Ltda, Ostende, Bélgica)

O impacto da expressão do gene CSF3R foi analisada em relação à sobrevida dos pacientes. Tal expressão foi caracterizada com “baixa” e “elevada”, usando como critério para tal o valor da mediana. O intervalo de tempo analisado foi medido em anos. O resultado dessa análise foi demonstrado, na Figura 9, em curvas de Kaplan-Meier, mostrando cada subgrupo separadamente e o total da amostra. Nenhuma dessas análises atingiu significância estatística ( $p < 0,05$ ).

Figura 9 - Expressão CSF3R x Sobrevida (mediana).

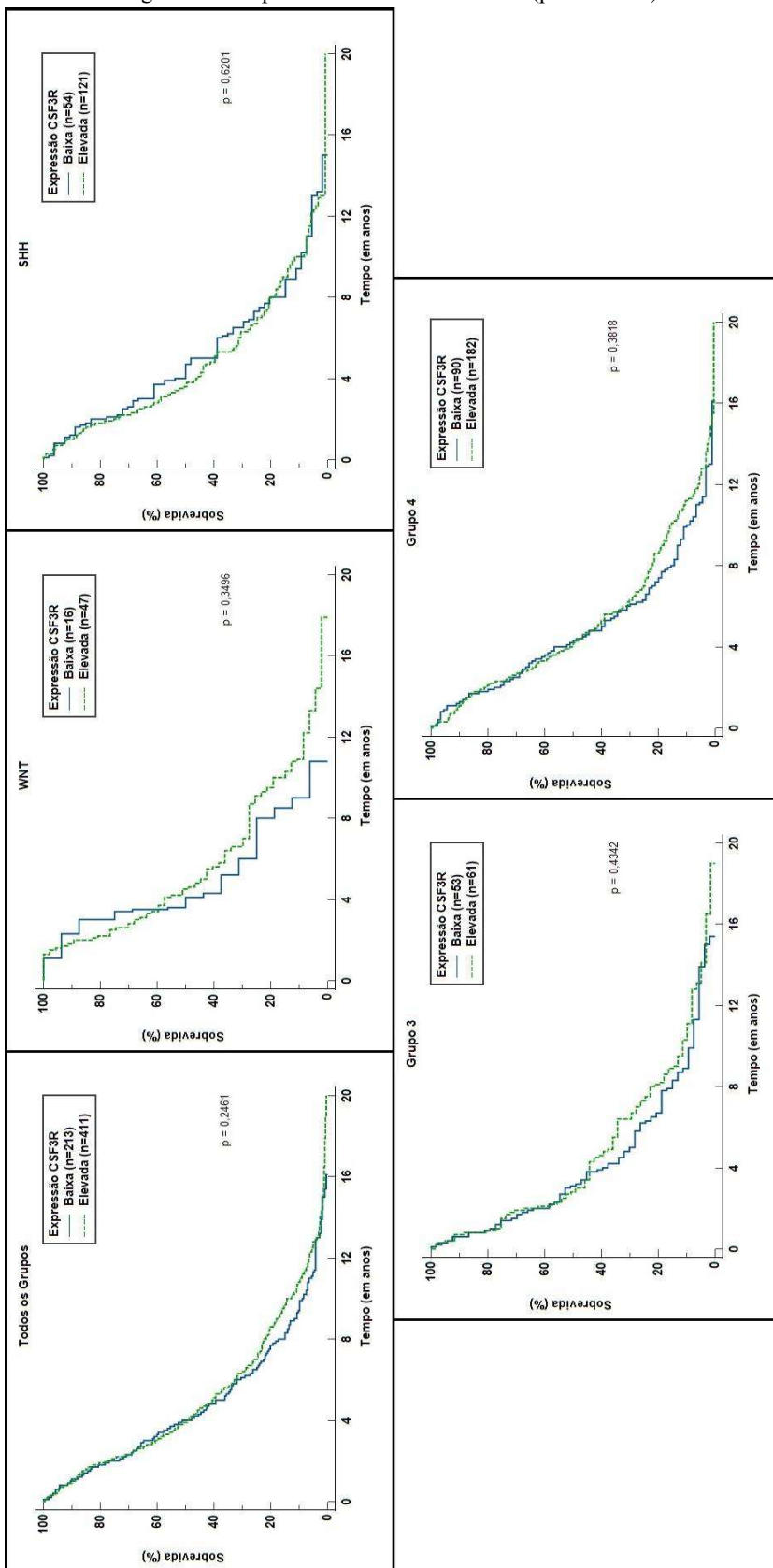


Fonte: O Autor. Compilado através de MedCalc® versão 20.115 (MedCalc Software Ltda, Ostende, Bélgica)



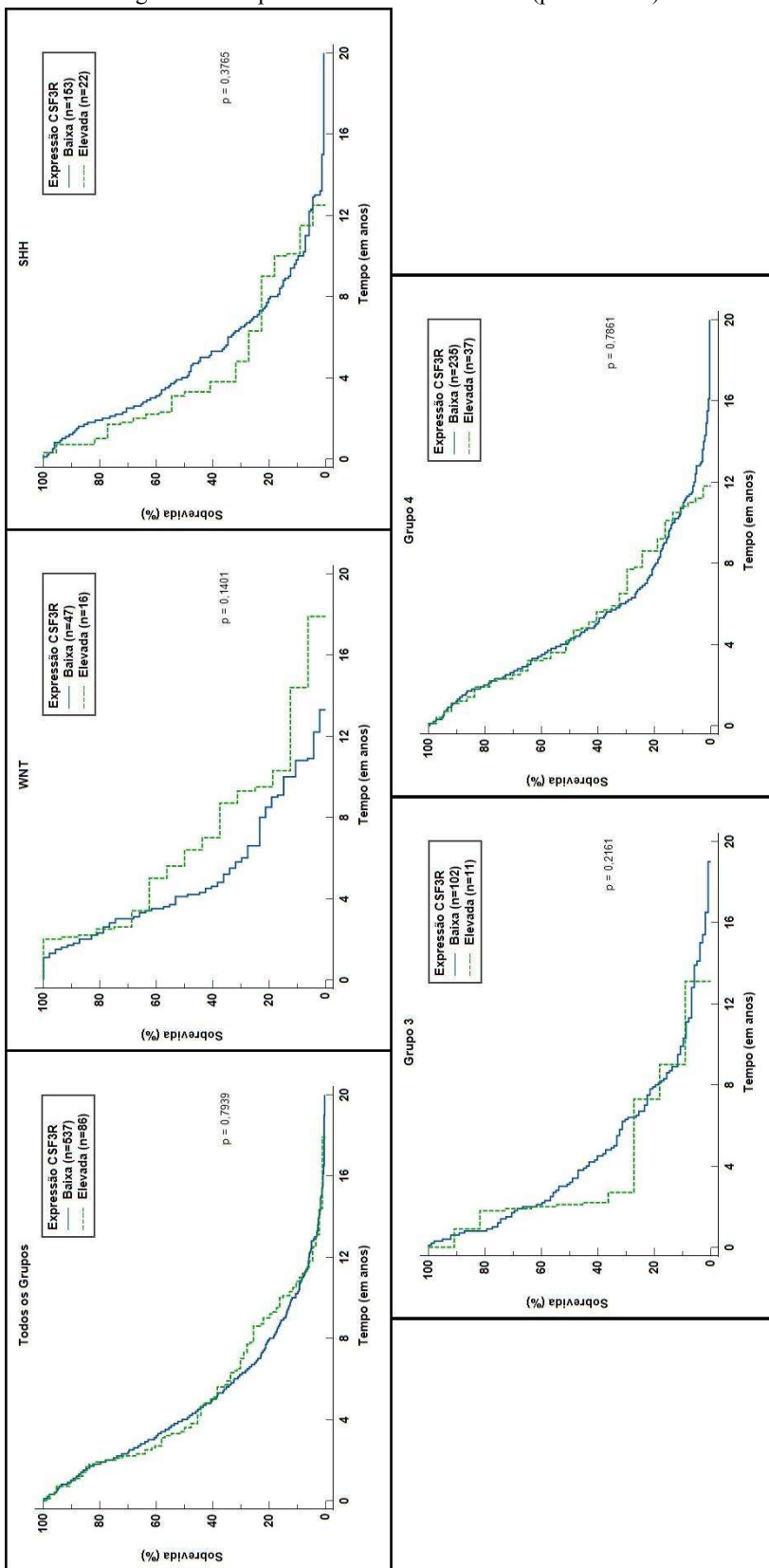
A mesma análise do impacto da expressão gênica de CSF3R na mortalidade foi realizada utilizando-se diferentes valores como parâmetros para expressão “baixa” e “elevada”. Na Figura 10, foi utilizado como critério o percentil 25, sendo os valores abaixo dele considerados uma expressão baixa do gene e, acima, uma alta expressão. Por sua vez, a Figura 11 fez a mesma análise, porém considera como ponto de corte o percentil 75. O intervalo de tempo também foi medido em anos e os resultados expressos em curvas de Kaplan-Meier. Essas análises também não atingiram significância estatística ( $p < 0,05$ ).

Figura 10 – Expressão CSF3R x Sobrevida (percentil 25).



Fonte: O Autor. Compilado através de MedCalc® versão 20.115 (MedCalc Software Ltda, Ostende, Bélgica)

Figura 11 – Expressão CSF3R x Sobrevida (percentil 75).



Fonte: O Autor. Compilado através de MedCalc® versão 20.115 (MedCalc Software Ltda, Ostende, Bélgica)

## 5. DISCUSSÃO

Os meduloblastomas são uma doença heterogênea. Apesar de genericamente identificarmos seus vários subtipos como uma única doença, hoje sabemos que cada subgrupo apresenta oncogênese, alterações genéticas e comportamento biológico distinto (CAVALLI, *et al.*, 2017; PAUL, *et al.*, 2020). Análises genômicas são hoje o padrão-ouro para categorização dos subtipos tumorais, apresentando ainda alguma sobreposição entre os grupos, porém menos do que a histologia clássica. Desde a classificação dos tumores do sistema nervoso central da OMS de 2016, os meduloblastomas são divididos em 4 subgrupos: WNT, SHH, Grupo 3 e Grupo 4 (LOUIS, *et al.*, 2016). Entretanto, ainda não se sabe com precisão o quão heterogêneo esses grupos ainda podem ser. Subclassificações foram propostas para cada um dos 4 tipos moleculares, com características clínicas ou celulares bem distintas (CHO, *et al.*, 2011; TAYLOR, *et al.*, 2012). Essa variação genética dentro os tipos e subtipos desses tumores se mostrou presente quando analisada a expressão gene CSF3R. O grupo 3 apresentou padrão de expressão diferente dos demais tipos moleculares, porém não houve significância estatística quando comparados os demais grupos entre si. Da mesma maneira, entre os subgrupos propostos por Taylor *et al.* (2012), SHH  $\gamma$  apresentou padrão de expressão diferente de Grupo 3  $\alpha$  e Grupo 3  $\beta$ , com significância estatística. Esses dados são compatíveis com a literatura e reforçam a heterogeneidade dentro dessa doença e dentro de seus tipos moleculares, mostrando o quanto o entendimento dessa doença ainda tem a progredir.

O fator estimulador de colônias granulocíticas (GCSF) foi primeiramente identificado em células da medula óssea e derivados. É uma glicoproteína que, através de seu ligante na membrana celular, o CD114, estimula crescimento, diferenciação e ativação de células de defesa (quimiotaxia, degranulação, fagocitose) (HIRAI, *et al.*, 2001). Ele é produzido, principalmente, por monócitos e macrófagos, mas também por fibroblastos, células endoteliais e pelo estroma da medula óssea. Sua produção é bastante aumentada em vigência de atividade inflamatória (KATAKURA, *et al.*, 2019; ZAGE, WHITTLE, SHOHET, 2017). Entretanto, foi demonstrado que células cancerígenas de diversas origens apresentam resposta estimulatória à presença do GCSF, como tumores malignos de bexiga, fígado, cavidade oral, pele, neuroblastomas e leucemias (CHAKRABORTY, GUHA, 2007; HIRAI, *et al.*, 2001; ZAGE, WHITTLE, SHOHET, 2017).

Assim como as células de defesa, as células cancerígenas também têm uma alça autócrina de produção do GCSF. A transfecção, introdução de material genético em uma célula, do gene CSF3R em linhagens celulares de osteosarcomas humanos tornou essas células auto-estimulatórias e capazes de sobreviver e proliferar independente de matrix extracelular, um

ganho evolutivo importante para a carcinogênese e perpetuação do câncer (HIRAI, *et al.*, 2001). Apesar dessa via ainda não ser tão bem estabelecida quanto nas células hematopoiéticas, tanto a resposta de crescimento, proliferação e diferenciação quanto a produção do fator estimulador já são comprovadas para alguns tipos tumorais (CHAKRABORTY, GUHA, 2007). Chakraborty e Guha, (2007) demonstraram que, em câncer de bexiga, a expressão aumentada do receptor de GCSF está associada a hiperexpressão da proteína de superfície beta 1 integrin, que tem como função a adesão celular. Neste tipo de câncer essa associação está relacionada a maior invasividade local do tumor. Além disso, a hiperexpressão de CD114 está, por si só, associada a maior taxa de crescimento e migração tumoral, além de diminuição de apoptose (CHAKRABORTY, GUHA, 2007). Kumar *et al.* (2014) encontraram resultados semelhantes estudando a expressão de CD114 e câncer de ovário. Além de sua expressão estar associada a maior agressividade da doença, uso exógeno de GCSF resultou em maior migração e menor taxa de apoptose/morte celular tumoral, além de ativação de vias de perpetuação tumoral (KUMAR, *et al.*, 2014). Isso torna a compreensão da expressão do gene CSF3R importante para conhecer a oncogênese de cada tipo tumoral e, eventualmente, buscar meios para bloqueá-la.

Hirai *et al.* (2001) demonstraram que em carcinomas escamosos de cavidade oral, queratose actínica e doença de Bowen (variante de carcinoma espinocelular), a expressão sabidamente elevada de CSF3R não está relacionada a aumento da mortalidade (HIRAI, *et al.*, 2001). Tal resultado é compatível com os resultados apresentados neste trabalho em relação aos meduloblastomas. Em seu estudo, foi comparada a expressão do gene CSF3R com a marcação do antígeno nuclear Ki-67, importante fator prognóstico em oncologia. Para as 3 doenças, a expressão do gene CSF3R, seja aumentada ou diminuída, não teve impacto no valor do Ki-67. Assim como no câncer de bexiga, Hirai *et al.* (2001) também levantaram hipóteses da associação com a invasividade local cancerígena em tumores de pele. A ativação elevada do CD114 está associada a uma atividade aumentada de matrix metalloproteinases (MMP), responsável pela degradação da lâmina basal da pele, o que facilitaria a disseminação tumoral local. Existem outros genes implicados na produção e atividade de MMP, como o que codifica, na membrana celular, o receptor de fator crescimento epidérmico (EGFR), cujo nome é a mesma sigla, EGFR. Ativação do gene EGFR também tem associação comprovada com a degradação da membrana basal da pele através de atividade de MMP. Entretanto, a relação entre esses dois genes, CSF3R e EGFR, ainda não está bem estabelecida. Como ainda não se tem bem definido os mecanismos de ação do gene CSF3R em células cancerígenas, é possível que este seja apenas parte de uma via em que interagem múltiplos mecanismos, cujo resultado

final seja um prognóstico desfavorável, enquanto este componente, isoladamente, não tenho essa associação direta (HIRAI, *et al.*, 2001).

Neste estudo, a curva de Kaplan-Meier para análise de sobrevida não mostrou diferença estatística entre os grupos com expressão de CSF3R elevada ou baixa. Esses dados são compatíveis com os poucos estudos sobre esse gene relacionados à sobrevida de pacientes oncológicos. Entretanto, não há, até o momento, outro estudo em que esta análise seja feita para pacientes portadores de meduloblastoma. Em uma tentativa de estabelecer valores de referência para a divisão entre os grupos a serem analisados, um de valores elevados e outro de valores baixos, foram usados os valores da mediana, e dos percentis 25% e 75%. Nenhuma dessas análises mostrou significância estatística em relação à mortalidade. Isso pode ter como causa um erro amostral, devido ao fato de que algumas análises, principalmente de subgrupo, tiveram valor de p que se aproxima de 0,05, estabelecido neste estudo como valor necessário para afastar a hipótese nula, ou seja, que os resultados encontrados se devem ao acaso. Uma outra dificuldade encontrada na análise dos dados é a mensuração da expressão gênica. Esses dados foram calculados a partir de amostras primárias de tumores. Sua expressão numérica apresenta variações muito expressivas, tornando a representação gráfica inviável. Por isso, essas mensurações são transformadas em logaritmo binário, o que permite as análises. Desse modo, podemos dizer que os diferentes grupos apresentam padrões de expressão do gene CSF3R diferentes, mas não se pode afirmar que, necessariamente, um grupo apresenta expressão mais elevada que outro. A maneira ideal para essa mensuração de expressão gênica seria através de linhagens celulares de células tumorais, em ambiente controlado em que fosse possível definir o que seria aumentado e estabelecer o ponto de corte para análise dos grupos, referência que o banco de dados não nos permite.

Um ponto importante da identificação da atividade do gene CSF3R nos meduloblastomas é o entendimento dos efeitos do tratamento oncológico na doença. Pacientes submetidos a quimioterapia e radioterapia, pilares do tratamento dos meduloblastomas, têm risco elevado de evoluir com aplasia de medula. Entre as crianças, que nem sempre são elegíveis para tratamento radioterápico, por vezes os protocolos utilizam doses mais altas de quimioterapia (GNANARAJ, *et al.*, 2018). Nesses casos, em situações de neutropenia grave e suas complicações, o uso do GCSF é o indicado para estimular a produção de células de defesa (PAUL, *et al.*, 2020; SMITH, *et al.*, 2015; ZAGE, WHITTLE, SHOHET, 2017). Entretanto, estudos em neoplasias malignas de pele e bexiga demonstraram, *in vitro*, aumento de replicação, diferenciação e migração de linhagens de células tumorais após estimulação com GCSF exógeno. Além disso, o bloqueio do CD114 através de anticorpos neutralizantes teve efeito

inibidor na proliferação e migração dessas células cancerígenas (CHAKRABORTY, GUHA, 2007; HIRAI, *et al.*, 2001; KATAKURA, *et al.*, 2019). Staar *et al.* (2001) demonstraram que o controle loco-regional de tumores de cabeça e pescoço em paciente que receberam tratamento profilático com GCSF é pior do que os que não receberam (STAAR, *et al.*, 2001). Russell e Shohet (2011) concluíram que não há evidência suficiente para o uso de altas doses de GCSF a fim de promover a recuperação da medula óssea após quimioterapia mieloablativa (RUSSELL, SHOHET, 2011). Ainda assim, o uso do GCSF é comum em oncologia. Todos esses resultados sugerem que, ainda que o efeito do gene CSF3R na mortalidade dos pacientes com meduloblastoma não apresente uma relação direta, outros fatores, como o tratamento, podem influenciar neste desfecho (CHAKRABORTY, GUHA, 2007; HIRAI, *et al.*, 2001; KATAKURA, *et al.*, 2019). Já existe evidência suficiente sobre o efeito estimulador do GCSF em diversos tipos de cânceres para que seu uso nas rotinas de quimioterapia seja reavaliado (ZAGE, WHITTLE, SHOHET, 2017).

Células-tronco cancerígenas (CTC) são células neoplásicas multipotentes com capacidade de autorrenovação, diferenciação em vários tipos celulares tumorais e, eventualmente, reconstituir toda uma população de células tumorais. Esse tipo celular já foi identificado em alguns tipos de câncer, inclusive nos meduloblastomas (NAZIO, *et al.*, 2021; PAUL, ZAGE, 2021). Quando presentes, tendem a apresentar pior prognóstico e maior resistência ao tratamento quimioterápico e maior taxa de recidivas (CIVENNI, *et al.*, 2011; SCHATTON, *et al.*, 2008). Vários marcadores de superfície celulares para as CTC já foram propostos na literatura. Entre eles, CD133, ALDH, CD44, EpCAM e CD271 (ZAGE, WHITTLE, SHOHET, 2017). Entretanto, devido a ampla heterogeneidade dessas células dentro de um grupo já bastante heterogêneo de células cancerígenas, a identificação exata e os mecanismos por meio do qual essas vias de sinalização celular funcionam não estão claros. Há inclusive possibilidade de um mesmo marcador atuar de maneira distinta em diferentes tipos de câncer (PAUL, *et al.*, 2020; PAUL, ZAGE, 2021).

Paul *et al.* (2020) descreveram o CD114 um possível marcador de CTC em meduloblastomas em 2020 (PAUL, *et al.*, 2020). Esse receptor já foi descrito como marcador de CTC em neuroblastomas, sarcomas de Ewing e melanomas, com comprovada relação com recidivas (ZAGE, WHITTLE, SHOHET, 2017). Nos meduloblastomas, as células CD114+ apresentam todas as características esperadas em CTC: presença em um número pequeno e indiferenciado de células, maior resistência e maior crescimento percentual após tratamento quimioterápico, e potencial de diferenciação de células embriogênicas pluripotentes, além da capacidade de resposta a GCSF conferido pelo receptor. Nessas células, foram identificados

genes e vias de sinalização comuns a várias linhagens de meduloblastomas, como NRPI (GONG, *et al.*, 2018), MSI1 (VO, *et al.*, 2012), TWIST1 (KAHN, *et al.*, 2018), MYCN (ROUSSEL, ROBINSON, 2013) e OX2 (SKODA, *et al.*, 2016).

Novas terapias direcionadas a CTC possivelmente terão impacto positivo no tratamento oncológico, inclusive nos meduloblastomas. O CD114 é um alvo molecular em estudo, porém ainda não existem drogas em teste para as CTC's. O estudo de CTC apresenta dificuldades e limitações importantes. A população de CTC em amostras tumorais é pequena e os meios de cultura e as condições de análise *in vitro* dessas células impactam em seus fenótipos, o que dificulta a análise e extrapolação dos resultados de laboratório para os pacientes (MANORANJAN, *et al.*, 2013). Em relação aos meduloblastomas, a heterogeneidade dos seus diferentes grupos e subgrupos moleculares e suas diferentes células de origem são um fator a mais de dificuldade para entender as CTC e propor novos tratamentos. Expressões gênicas diferentes em cada subgrupo torna necessário conhecer cada subgrupo molecular extensamente para buscar uma possível via de sinalização comum, o que pode inclusive não existir (PAUL, *et al.*, 2020). Somente com o completo conhecimento da via intracelular CD114 poderemos entender seu real impacto em mortalidade e recidivas e, então, propor tratamentos personalizados a esta assinatura molecular. O entendimento de CTC e recidiva nos meduloblastomas serão a próxima revolução no tratamento dessa doença.

Um fator prático que influencia os dados desse estudo e pode ter algum impacto na mortalidade é a descentralização. O MAGIC é um consórcio internacional para coleta de amostras de meduloblastomas, em todo mundo, para estudo molecular e melhor entendimento de seu comportamento biológico. É bem relatado na literatura que ensaios multicêntricos têm resultados melhores e com maior validação externa. As diferenças entre os centros participantes tornam os resultados desses estudos mais robustos (KAHAN, HARHAY, 2015; KAHAN, MORRIS, 2013). Entretanto, o banco de dados do consórcio MAGIC não foi elaborado como um ensaio clínico, não tendo padronizado um tratamento ideal proposto para os pacientes. Os pacientes foram submetidos a protocolo de tratamentos estabelecidos localmente. Como esses tratamentos são complexos e multidisciplinares e dependem de fatores subjetivos, como experiência da equipe cirúrgica, o desfecho desses casos podem ter alguma diferença devido a particularidades locais. Portanto, estudos com melhor controle do tratamento podem apresentar dados de mortalidade mais homogêneos para análise de fatores que impactam na sobrevida dos pacientes.



## 6. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que não há relação direta entre a expressão do receptor de membrana CD114 e a mortalidade em pacientes portadores de meduloblastoma. Entretanto, são necessários estudos adicionais sobre as vias de sinalização intracelulares associadas a esse receptor e ao seu gene, o CSF3R, e da interação deles com outros genes associados à patogênese desses tumores. O conhecimento atual sobre esse gene ainda é limitado e há muitas questões para serem respondidas em relação ao seu papel nas recidivas tumorais e na sobrevida dos pacientes.

Apesar de ter sido encontrado diferença estatisticamente significativa entre alguns grupos e subgrupos moleculares do meduloblastoma, na maioria das análises essa diferença não teve significância. Isso reforça a dificuldade de caracterizar o padrão de expressão genética desses tumores e a importância de mais estudos na genômica dos meduloblastomas para seu melhor entendimento e individualização de seu tratamento.

## 7. REFERÊNCIAS

- ARCHER, Tenley C.; MAHONEY, Elizabeth L.; POMEROY, Scott L. Medulloblastoma: molecular classification-based personal therapeutics. **Neurotherapeutics**, Amsterdam, v. 14, n. 2, p. 265-73, 2017. DOI:<http://dx.doi.org/10.1007/s13311-017-0526-y>.
- CAVALLI, Florence M.G. et al. Intertumoral heterogeneity within medulloblastoma subgroups. **Cancer Cell**, Cambridge, v. 31, n. 6, p. 737-54, 2017. DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ccell.2017.05.005>.
- CHAKRABORTY, Arup; GUHA, Sushovan. Granulocyte colony-stimulating factor/granulocyte colony-stimulating factor receptor biological axis promotes survival and growth of bladder cancer cells. **Urology**, Tehran, v. 69, n. 6, p. 1210-5, 2007. DOI:<http://dx.doi.org/10.1016/j.urology.2007.02.035>.
- CHO, Yoon-Jae et al. Integrative genomic analysis of medulloblastoma identifies a molecular subgroup that drives poor clinical outcome. **Journal of Clinical Oncology**, Berlin, v. 29, n. 11, p. 1424, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1200/JCO.2010.28.5148>.
- CHOUDHRY, Zia et al. Sonic hedgehog signalling pathway: a complex network. **Annals of Neurosciences**, Uttar Pradesh, v. 21, n. 1, p. 28, 2014. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.5214/ans.0972.7531.210109>.
- CIVENNI, Gianluca et al. Human CD271-Positive melanoma stem cells associated with metastasis establish tumor heterogeneity and long-term growth human melanoma contains CD271-positive melanoma stem cells. **Cancer Research**, Baltimore, v. 71, n. 8, p. 3098-109, 2011. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-3997>.
- GNANARAJ, Jerome et al. Approach to pancytopenia: Diagnostic algorithm for clinical hematologists. **Blood Reviews**, Edinburgh, v. 32, n. 5, p. 361-7, 2018. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.blre.2018.03.001>.
- GONG, Caifeng et al. Stimulation of medulloblastoma stem cells differentiation by a peptidomimetic targeting neuropilin-1. **Oncotarget**, Albany, v. 9, n. 20, p. 15312, 2018. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.18632/oncotarget.24521>.
- GONG, Caifeng et al. Stimulation of medulloblastoma stem cells differentiation by a peptidomimetic targeting neuropilin-1. **Oncotarget**, Albany, v. 9, n. 20, p. 15312, 2018. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.ajpath.2012.07.031>.
- HIRAI, Koichiro et al. Expression of granulocyte colony-stimulating factor and its receptor in epithelial skin tumors. **Journal of Dermatological Science**, Amsterdam, v. 25, n. 3, p. 179-188, 2001. DOI: [http://dx.doi.org/doi:10.1016/s0923-1811\(00\)00131-6](http://dx.doi.org/doi:10.1016/s0923-1811(00)00131-6).
- HSU, Danielle M. et al. G-CSF Receptor Positive Neuroblastoma Subpopulations Are Enriched in Chemotherapy-Resistant or Relapsed Tumors and Are Highly Tumorigenic Defining Tumorigenic Cells in Neuroblastoma. **Cancer Research**, Baltimore, v. 73, n. 13, p. 4134-46, 2013. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-4056>.
- JOZWIAK, Jaroslaw; GRAJKOWSKA, Wieslawa; WLODARSKI, Pawel. Pathogenesis of medulloblastoma and current treatment outlook. **Medicinal Research Reviews**, New York, v. 27, n. 6, p. 869-90, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1002/med.20088>.

KAHAN, Brennan C.; HARHAY, Michael O. Many multicenter trials had few events per center, requiring analysis via random-effects models or GEEs. **Journal of Clinical Epidemiology**, Oxford, v. 68, n. 12, p. 1504-11, 2015. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.jclinepi.2015.03.016>.

KAHAN, Brennan C.; MORRIS, Tim P. Analysis of multicentre trials with continuous outcomes: when and how should we account for centre effects?. **Statistics in Medicine**, New York, v. 32, n. 7, p. 1136-49, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1002/sim.5667>.

KAHN, Suzana A. et al. Notch1 regulates the initiation of metastasis and self-renewal of Group 3 medulloblastoma. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2018. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1038/s41467-018-06564-9>.

KATAKURA, Fumihiko et al. Paralogs of common carp granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) have different functions regarding development, trafficking and activation of neutrophils. **Frontiers in Immunology**, Lausanne, v. 10, p. 255, 2019. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.3389/fimmu.2019.00255>.

KUMAR, J. et al. Granulocyte colony-stimulating factor receptor signalling via Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 in ovarian cancer. **British Journal of Cancer**, Edinburgh, v. 110, n. 1, p. 133-45, 2014. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1038/bjc.2013.673>.

LOUIS, David N. et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. **Acta Neuropathologica**, Heidelberg, v. 131, n. 6, p. 803-20, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1007/s00401-016-1545-1>.

LOUIS, David N. et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. **Neuro-oncology**, Charlottesville, v. 23, n. 8, p. 1231-51, 2021. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1093/neuonc/noab106>.

MANORANJAN, Branavan et al. Medulloblastoma stem cells: modeling tumor heterogeneity. **Cancer Letters**, Kidlington, v. 338, n. 1, p. 23-31, 2013. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.canlet.2012.07.010>.

MILLARD, Nathan E.; DE BRAGANCA, Kevin C. Medulloblastoma. **Journal of Child Neurology**, Hamilton, v. 31, n. 12, p. 1341-53, 2016. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1177/0883073815600866>.

NAZIO, Francesca et al. Targeting cancer stem cells in medulloblastoma by inhibiting AMBRA1 dual function in autophagy and STAT3 signalling. **Acta Neuropathologica**, Heidelberg, v. 142, n. 3, p. 537-64, 2021. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1007/s00401-021-02347-7>.

NORTHCOTT, Paul A. et al. Medulloblastoma. **Nature Reviews Disease Primers**, London, v. 5, n. 1, p. 1-20, 2019. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1038/s41572-019-0063-6>.

ORR, Brent A. Pathology, diagnostics, and classification of medulloblastoma. **Brain Pathology**, Oxford, v. 30, n. 3, p. 664-78, 2020. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1111/bpa.12837>.

PAUL, Megan Rose et al. Characterization of G-CSF receptor expression in medulloblastoma. **Neuro-oncology Advances**, Oxford, v. 2, n. 1, p. vdaa062, 2020. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1093/noajnl/vdaa062>.

PAUL, Megan Rose; ZAGE, Peter E. Overview and recent advances in the targeting of medulloblastoma cancer stem cells. **Expert Review of Anticancer Therapy**, London, v. 21, n. 9, p. 957-974, 2021. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1080/14737140.2021.1932472>.

QUINLAN, Alyssa; RIZZOLO, Denise. Understanding medulloblastoma. *Journal of the American Academy of PAs*, v. 30, n. 10, p. 30-36, 2017. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1097/01.JAA.0000524717.71084.50>.

RAMASWAMY, Vijay; TAYLOR, Michael D. Medulloblastoma: from myth to molecular. **Journal of Clinical Oncology**, Berlin, v. 35, n. 21, p. 2355-2363, 2017. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1200/JCO.2017.72.7842>.

RICKERT, Christian H.; PAULUS, Werner. Epidemiology of central nervous system tumors in childhood and adolescence based on the new WHO classification. **Child's Nervous System**, Berlin, v. 17, n. 9, p. 503-511, 2001. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1007/s003810100496>.

ROUSSEL, Martine F.; ROBINSON, Giles W. Role of MYC in medulloblastoma. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, New York, v. 3, n. 11, p. a014308, 2013. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1101/cshperspect.a014308>.

RUSSELL, Heidi; SHOHET, Jason M. G-CSF counteracts chemotherapy toxicity in neuroblastoma. **Nature Reviews. Clinical Oncology**, New York, v. 8, n. 1, p. 6-8, 2011. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1038/nrclinonc.2010.195>.

SAVARESE, Todd M. et al. Coexpression of granulocyte colony stimulating factor and its receptor in primary ovarian carcinomas. **Cancer Letters**, Kidlington, v. 162, n. 1, p. 105-115, 2001. DOI:[http://dx.doi.org/doi:10.1016/s0304-3835\(00\)00623-6](http://dx.doi.org/doi:10.1016/s0304-3835(00)00623-6).

SCHATTON, Tobias et al. Identification of cells initiating human melanomas. **Nature**, London, v. 451, n. 7176, p. 345-49, 2008. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1038/nature06489>.

SKODA, Jan et al. Cancer stem cell markers in pediatric sarcomas: Sox2 is associated with tumorigenicity in immunodeficient mice. **Tumor Biology**, v. 37, n. 7, p. 9535-9548, 2016. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1007/s13277-016-4837-0>.

SMITH, Thomas J. et al. Recommendations for the use of WBC growth factors: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. **Journal of Clinical Oncology**, Berlin, v. 33, n. 28, p. 3199-3212, 2015. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1200/JCO.2015.62.3488>.

STAAR, Susanne et al. Intensified hyperfractionated accelerated radiotherapy limits the additional benefit of simultaneous chemotherapy—results of a multicentric randomized German trial in advanced head-and-neck cancer. **International Journal of Radiation Oncology Biology Physics**, New York, v. 50, n. 5, p. 1161-71, 2001. DOI:[http://dx.doi.org/doi:10.1016/s0360-3016\(01\)01544-9](http://dx.doi.org/doi:10.1016/s0360-3016(01)01544-9).

TAYLOR, Michael D. et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. **Acta Neuropathologica**, Heidelberg, v. 123, n. 4, p. 465-72, 2012. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1007/s00401-011-0922-z>.

VO, Dat V. The RNA-binding protein Musashi1 affects medulloblastoma growth via a network of cancer-related genes and is an indicator of poor prognosis. **Am J Pathol**, Rockville, v. 181, n. 5, p 1762-1772, 2012. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.07.031.

WILLIAMSON, Daniel et al. Medulloblastoma group 3 and 4 tumors comprise a clinically and biologically significant expression continuum reflecting human cerebellar development. **Cell Reports**, Amsterdam, v. 40, n. 5, p. 111162, 2022. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.celrep.2022.111162>.

WILNE, Sophie et al. Progression from first symptom to diagnosis in childhood brain tumours. **European Journal of Pediatrics**, Berlin, v. 171, n. 1, p. 87-93, 2012. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1007/s00431-011-1485-7>.

XIN, Ping et al. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases. **International Immunopharmacology**, Amsterdam, v. 80, p. 106210, 2020. DOI:<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.intimp.2020.106210>.

ZAGE, Peter E.; WHITTLE, Sarah B.; SHOHET, Jason M. CD114: A new member of the neural Crest-Derived cancer stem cell marker family. **Journal of Cellular Biochemistry**, New York, v. 118, n. 2, p. 221-31, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/doi:10.1002/jcb.25656>.

ZHANG, Linna; AGARWAL, Saurabh; SHOHET, Jason M.; ZAGE, Peter E. CD114 Expression Mediates Melanoma Tumor Cell Growth and Treatment Resistance. **Anticancer Research**, v. 35, n. 7, p. 3787-3792, 2015. PMID: 26124323.