

**FACULDADE EVANGÉLICA MACKENZIE DO PARANÁ**

**CURSO DE MEDICINA**

**GABRIEL SOARES MARTINS DE SOUZA**

**VITTORIA GALHARDI MOTTER**

**AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DO PDL-1 EM CÂNCER GÁSTRICO**

**CURITIBA**

**2020**

**FACULDADE EVANGÉLICA MACKENZIE DO PARANÁ**

**CURSO DE MEDICINA**

**GABRIEL SOARES MARTINS DE SOUZA**

**VITTORIA GALHARDI MOTTER**

**AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DO PDL-1 EM CÂNCER GÁSTRICO**

**CURITIBA**

**2020**

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

S729 Souza, Gabriel Soares Martins de.

Avaliação da imunexpressão do PDL-1 em câncer gástrico / Gabriel Soares Martins de Souza, Vittoria Galhardi Motter. — Curitiba, 2020.

Orientadora : Profa. Dra. Ana Cristina Lira Sobral.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Presbiteriano Mackenzie, Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curso de Medicina, 2020.

1. Neoplasias gástricas. 2. Imunoterapia . 3. Biomarcadores. I. Motter, Vittoria Galhardi. II. Título.

CDD 616.99433

GABRIEL SOARES MARTINS DE SOUZA

VITTORIA GALHARDI MOTTER

## **AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DO PDL-1 EM CÂNCER GÁSTRICO**

Trabalho Científico de Curso apresentado ao Curso de Medicina da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná como requisito parcial ao título de médico.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra<sup>a</sup>. Ana Cristina Lira Sobral

### BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

---

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

CURITIBA

2020

Dedicamos este trabalho aos nossos pais, irmãos e familiares pela confiança depositada em nós e pelo incansável apoio emocional e financeiro ofertado ao longo de nossas vidas e durante a realização deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

À Dra. Ana Cristina Sobral, pelos ensinamentos científicos, profissionais e pessoais recebido ao longo dos dois anos de organização deste trabalho.

À Dra. Danielle Giacometti Sakamaoto, diretora técnica do Laboratório Byori, instituição de origem dos dados utilizados neste trabalho.

À todos os funcionários do laboratório do Laboratório Byori, pela dedicação ao cuidado com os pacientes e pelos prontuários de ótima qualidade elaborados.

À Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná por nos oferecer a oportunidade de apresentar este trabalho e pela graduação de qualidade oferecida aos seus discentes, com grande incentivo à pesquisa científica na área médica, bem como pela excelente formação oferecida

À todos os funcionários da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná pela dedicação em oferecer um atendimento de qualidade e em harmonia familiar que torna os nossos longos dias dedicados dentro da faculdade mais leves e prazerosos

Nunca ande por trilhas, pois assim só irá até onde outros já foram

**Alexander Graham Bell**

## RESUMO

O câncer gástrico tem alta incidência mundial e é o terceiro em causas de morte no Brasil. Com isso, a busca por tratamentos mais efetivos e com menos efeitos colaterais levou os pesquisadores à análise do sistema imunológico e seu papel nesses tumores. O checkpoint imunológico aparece e corrobora com a teoria de que existe nas células tumorais ligantes que modulam os mecanismos de carcinogênese e a atividade imunológica do microambiente tumoral. A correção mais pesquisada está entre a molécula PD-1 e seu ligante PDL-1, de modo que a presença de PDL-1 nas células tumorais torna-se um possível alvo terapêutico e preditor de prognóstico e, para isso, é importante identificar sua presença nas células tumorais. **Objetivos:** Avaliar a expressão de PDL-1 em tecido tumoral de pacientes com adenocarcinoma gástrico (ACG) e correlacionar com dados demográficos e histológicos. **Materiais e Métodos:** Trata-se de um estudo retrospectivo observacional com levantamento de laudos anatomopatológicos de pacientes submetidos à biópsia por endoscopia digestiva alta e que possuíam ACG. Os laudos analisados tem origem do laboratório Byori Anatomia Patológica e os dados foram organizados conforme as variáveis sexo, idade, tipo histológico, grau de diferenciação, presença ou não de invasão, presença ou não de ulceração. **Resultados:** As variáveis demográficas, sexo e idade, não tiveram p-valor significativo, com valores de 0,17 e 0,25 respectivamente. Quanto ao tipo histológico, o p-valor foi de 0,21, não mostrando valor significativo, assim como a variável ulceração, com p-valor de 0,33 e a variável grau de invasão, com p-valor de 0,63. Já na variável grau de diferenciação o p-valor foi de 0,046 tendo, portanto, diferença significativa na imunoexpressão de PDL-1. **Conclusão:** A expressão do PDL-1 foi heterogênea entre as variáveis listadas. O achado de diferença significativa entre a variável grau de diferenciação e a presença de PDL-1 encontra divergência na literatura. A variável grau de invasão, sem diferença significativa nesse trabalho, apresenta dados significativos na literatura. Assim como a idade e presença de PDL-1, sem relação significativa nesse trabalho, mas com dados significativos na literature. Entretanto, deve-se atentar para diferentes critérios de classificação nos diferentes trabalhos.

Palavra-chave: Câncer gástrico; imunoterapia; biomarcadores



## ABSTRACT

Gastric cancer has a high incidence worldwide and is the third in causes of death in Brazil. With this, the search for more effective treatments with less side effects led researchers to analyse the immune system and its role in these tumor. The immunological checkpoint appears and corroborates with the theory that it exists in the binding tumor cells that modulate the mechanisms of carcinogenesis and the immunological activity of the tumor microenvironment. The most researched correlation is between the PD-1 molecule and its binder PDL-1, so that the presence of PDL-1 in tumor cells becomes a possible therapeutic target and predictor of prognosis and, for this, it is important to identify its presence in tumor cells. **Objectives:** To evaluate PDL-1 expression in tumor tissue of patients with gastric adenocarcinoma (ACG) and correlate it with demographic and histological data. **Materials and Methods:** This is a retrospective observational study with a survey of the anatomopathological reports of patients undergoing biopsy by upper digestive endoscopy and who had ACG. The analysed reports originate from the Byori Anatomia Patológica laboratory and the data were organised according to the variables sex, age, histological type, degree of differentiation, presence or not of invasion, presence or not of ulceration. **Results:** The demographic variables, gender and age, had no significant p-value, with values of 0.17 and 0.25 respectively. Regarding the histological type, the p-value was 0.21, not showing significant value, as well as the ulceration variable, with p-value of 0.33 and the invasion degree variable, with p-value of 0.63. In the differentiation degree variable the p-value was 0.046 and, therefore, there was a significant difference in PDL-1 immun-expression. **Conclusion:** The PDL-1 expression was heterogeneous among the listed variables. The finding of significant difference between the degree of differentiation variable and the presence of PDL-1 finds divergence in the literature. The variable degree of invasion, without significant difference in this work, presents significant data in the literature. As well as the age and presence of PDL-1, with no significant relationship in this work, but with significant data in the literature. However, different classification criteria should be considered in the different papers.

Keywords: Gastric cancer; immunotherapy; biomarkers

## LISTA DE ILUTRAÇÕES

Figura 1	<b>Inativação da célula T pela interação PD-1/PDL-1 tumoral.....</b>	<b>26</b>
Figura 2	<b>Bloqueio da interação PD-1/PDL-1 tumoral por anti PDL-1.....</b>	<b>27</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	<b>Relação da Imunoexpressão de PDL-1 e sexo.....</b>	<b>33</b>
Tabela 2	<b>Relação da Imunoexpressão de PDL-1 e idade.....</b>	<b>33</b>
Tabela 3	<b>Relação da Imunoexpressão de PDL-1 e presença de ulceração no adenocarcinoma gástrico.....</b>	<b>34</b>
Tabela 4	<b>Relação da Imunoexpressão de PDL-1 e tipo histológico do adenocarcinoma gástrico.....</b>	<b>34</b>
Tabela 5	<b>Relação da Imunoexpressão de PDL-1 e presença de ulceração no adenocarcinoma gástrico.....</b>	<b>34</b>
Tabela 6	<b>Relação da Imunoexpressão de PDL-1 e caráter invasivo do adenocarcinoma gástrico.....</b>	<b>35</b>

## LISTA DE SIGLAS

ACG – Adenocarcinoma gástrico

CG – Câncer gástrico

EBV – Epstein Barr vírus

GCLS – Carcinoma gástrico com estroma linfoide

HER2 - Human Epidermal growth factor Receptor-type 2

IHQ – Imuno-histoquímica

IMT – Imunoterapia

IMS – Instabilidade microssatélite

INCA – Instituto Nacional do Câncer

LB – linfócito B

OMS – Organização mundial da saúde

PD-1 – *Programmed Cell Death Protein*

PDL-1 – *Programmed Cell Death Protein Ligand*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1	OBJETIVOS.....	15
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	15
2.1	ADENOCARCINOMA GÁSTRICO.....	16
2.1.1	Epidemiologia.....	16
2.1.2	Etiologia.....	16
2.1.3	Classificação.....	17
2.1.4	Diagnóstico e Estadiamento.....	18
2.1.5	Vias imunológicas.....	19
2.1.5.1	Imunoterapia.....	19
2.2	HER2.....	21
2.3	EPSTEIN-BARR VÍRUS.....	22
2.3.1	Relação CG e EBV.....	24
2.4	PDL-1.....	25
2.4.1	Expressão em outros cânceres.....	27
2.4.2	Custos.....	29
2.4.3	Expressão em câncer gástrico.....	30
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	30
3.1	APECTOS ÉTICOS.....	30
3.2	AMOSTRA.....	31
3.2.1	Leitura das amostras.....	31
3.3	ORGANIZAÇÃO DOS DADOS.....	31
3.4	ESTATÍSTICA.....	31
<b>4</b>	<b>RESULTADO</b> .....	33
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	36
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	39
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	40
	<b>ANEXO</b> .....	45

## 1 INTRODUÇÃO

O câncer gástrico (CG) é o 5º câncer mais comumente diagnóstico no Brasil e ocupa o 3º lugar em letalidade, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA). As causas conhecidas que se relacionam ao CG são principalmente infecções prévias por *H. Pylori* e hereditariedade. No entanto, mesmo tendo etiologias similares, o CG é uma doença heterogênea e, portanto, seu tratamento também apresenta respostas variáveis para cada caso. Dessa forma, o uso de terapêuticas padronizadas como quimioterapia, radioterapia e cirurgia, por não atingir o objetivo de dar qualidade de vida e diminuir mortalidade, levou a comunidade científica a buscar alternativas mais focadas e individualizadas. (CHEN; HAN, 2015)

Por essa razão, o interesse na pesquisa envolvendo a relação entre CG e o sistema imunológico ganhou atenção nos últimos anos. Em vista de ser uma alternativa de abordagem mais eficiente e menos danosa ao paciente, apareceram estudos sobre inibidores do ponto de verificação imunológico nas células tumorais, que já estão em uso para tumores malignos como o de pequenas células no pulmão, e poderiam agora ser usados no CG. (Song et al., 2015) Foram detectados vários, entre eles e o foco desse trabalho: *Programmed Cell Death Protein 1* (PD-1) e *Programmed Cell Death Protein Ligand 1* (PDL-1).

O PD-1 foi isolado em 1992 a partir de um hibridoma de células T murinas e em 1999, em um estudo independente, foi descoberto o PDL-1, usando clonagem molecular. Esses dois estudos, um ano depois, se fundiram e demonstraram que o PDL-1 é um parceiro biológico obrigatório e funcional do PD-1. A interação entre PDL-1 e PD-1 tem papel fundamental na supressão das respostas às células T in vivo, especialmente no microambiente tumoral. (CHEN; HAN, 2015)

O PD-1 é uma proteína de membrana tipo 1 presente na superfície de células T ativadas, células B e macrófagos, atuando como um “freio” natural do sistema imunológico. Isso ocorre, pois, ao conectar-se em seu ligante PDL-1 há uma supressão das atividades das células T, além de inibir o crescimento das mesmas. (GROCHOT, 2018)

Após a compreensão desse funcionamento, novos estudos têm por objetivo antagonizar o complexo PD-1/PDL-1 para o tratamento de tumores (Maron-Gutierrez et al., 2008). Esse bloqueio seria importante para amplificar a atuação das células T

no microambiente tumoral (Bilgin et al., 2017). Essa técnica já vem sendo aplicada em algumas neoplasias com o intuito de inibir o PD-1 por meio de um anticorpo específico e o estudo já obteve bons resultados no carcinoma de pulmão do tipo não pequenas células, no câncer de próstata e melanoma (Smith et al., 2012)

Ao que foi visto até então, a vinculação da expressão de PDL-1 nas células tumorais trariam respostas mais objetivas a esse tipo de tratamento. A identificação de PDL-1 nas células malignas, portanto, mostra-se importante, pois pode predizer a eficácia da terapia imunomoduladora. (Bilgin et al., 2017). Por essa razão, o seguinte trabalho reuniu amostras de ACG de diferentes pacientes e testou sua positividade para o PDL-1, correlacionando com características demográficas e histológicas do tumor em vista de identificar se há alguma característica entre as listadas que mais se correlaciona à presença ou ausência do PDL-1.

## **1.1 OBJETIVOS**

Avaliar a imunexpressão do PDL-1 em adenocarcinoma gástrico e correlacioná-lo com o seu padrão histológico e dados demográficos.

## **2 REVISÃO BIBLIGRÁFICA**

### **2.1 Adenocarcinoma Gástrico**

#### **2.1.1 Epidemiologia**

Segundo Bray et al (2018), o câncer gástrico foi responsável por mais de 1 milhão (1.033.701) de novos casos e por 782.685 mortes em 2018. Assim ocupa a 5ª posição dos cânceres mais diagnosticados e o 3º de maior letalidade, com crescente incidência do câncer em países de alta renda. No Brasil, segundo o INCA, foram 14.314 óbitos decorrentes do câncer gástrico em 2017, sendo 9.207 em homens e 5.107 mulheres. A expectativa é que em 2020 o número de novos casos seja de 21.230.

Ainda segundo o INCA, o Paraná é o estado com maior incidência estimada do câncer gástrico entre homens e o Ceará de mulheres. O estudo do Ministério da Saúde (2018) mostra que independentemente da região do país, homens, idosos e indivíduos de classes sociais mais baixas são os mais frequentemente. No Brasil, segundo o INCA, o ACG atinge homens por volta dos 60-70 anos e cerca de 65% dos pacientes têm mais de 50 anos de idade.

De acordo com Cutsem et al. (2018), a Ásia oriental possui a maior incidência deste tipo de câncer, acompanhada pela América Latina e Europa central e oriental. Em contrapartida as taxas norte americanas europeias geralmente são baixas, muito decorrente da baixa prevalência do *H. pylori*. Para Bray et al. (2018), assim como os EUA, a Europa têm apresentados, em estudos recentes, diminuição da incidência de câncer gástrico. Ainda, conforme Banks et al. (2019), apesar da baixa prevalência, estudos demonstraram uma incidência crescente de ACG entre jovens brancos nos EUA, juntamente com um estudo sueco demonstrando uma incidência crescente de lesões gástricas pré-malignas entre adultos com idade entre 35 e 44 anos.

#### **2.1.2 Etiologia**

O *H. pylori* é o principal fator de risco para o câncer gástrico, de comum acordo entre os autores Bray et al. (2018), Banks et al. (2019) e Mejías-Luque et al. (2019). Segundo Bray et al. (2018) a infecção estaria envolvida em cerca de 90% dos casos de CG non-cardia. De acordo com Wawro et al. (2019), a infecção por esta bactéria



também está associada à idade, escolaridade e fatores socioeconômicos e de higiene. Entretanto, existem outros fatores de risco envolvidos, como o consumo de alimentos conservados em salga e baixa ingestão de frutas, conforme Bray et al (2018), tabagismo conforme Banks et al. (2019) e consumo de álcool, conforme Bray et al. (2018), Wawro et al. (2019) e Alberts (2003).

Ainda, segundo Mejías-Luque et al. (2019), se não for tratada, a inflamação crônica induzida pelo *H. pylori* pode eventualmente progredir para o CG, de acordo com a cascata sugerida por Correa, sobre a progressão gradual de lesões precursoras em direção ao câncer gástrico do tipo intestinal. A progressão compreende a gastrite crônica não atrófica, gastrite atrófica e metaplasia intestinal, para displasia e a *H. pylori* tem sido aceita como o iniciador dessa cascata, de acordo com Song et al. (2015). Assim, conforme Mejías-Luque et al. (2019), se não for tratada, a inflamação crônica induzida pelo *H. pylori* pode eventualmente progredir para o câncer gástrico. Entretanto, segundo Cutsem et al. (2018), ainda não está definido se a erradicação do *H. pylori* na ausência de tecidos displásicos ou neoplásicos previne o desenvolvimento do câncer gástrico.

Muitos estudos, como do Ministério da Saúde (2018), Zilberstein et al. (2013) e Cutsem et al. (2018) citam a relação hereditária do CG, que chega a 3%. Segundo Cutsem et al. (2018), dentre as formas hereditárias pode-se citar o câncer gástrico hereditário difuso, adenocarcinoma gástrico e polipose proximal do estômago e câncer gástrico intestinal familiar. De acordo com o Ministério da Saúde (2018) e Zilberstein et al. (2013) é importante o estudo da adenomatose familiar, doenças prévias que integram a cascata de Correa, anemia perniciosa e pólipos adenomatosos gástricos.

A suspeita de que o uso prolongado de inibidores de bomba de prótons possa ser fator de risco para o desenvolvimento de lesão pré-maligna ou maligna no estômago não se confirmou em revisão sistemática publicada por Song et al. (2014). Contudo, os autores classificaram a evidência como de baixa qualidade, devido a questões ligadas à metodologia dos estudos incluídos. (MINISTÉRIO DA SAÚDE. 2018)

### **2.1.3 Classificação**

Segundo INCA o ACG é o mais comum dentre os tumores de estômago com prevalência de 95%, os demais tipos são menos comuns, dentre eles os linfomas (3%)

e sarcomas, dentre eles o GIST. De acordo com o Ministério da Saúde (2018), cada um destes diferentes tipos possui o seu padrão histológico, potencial evolutivo e tratamento diferentes.

De acordo com Bray et al. (2018), o CG pode ser dividido topograficamente em noncardia, mais distais e cardia, proximais. Outra classificação é de Lauren, que segundo Alberts, Ministério da Saúde (2018), Cutsem et al. (2018) e Kumar et al. (2010) diferencia o CG, através de aspectos microscópicos e macroscópicos, em intestinal e difuso. Ainda de acordo com Alberts (2003) e Kumar et al. (2010) a proporção de cada tipo varia conforme o continente e país e para Kumar et al. (2010) o tipo difuso é distribuído de maneira relativamente mais uniforme entre os países.

O tipo intestinal, têm tendência de formar tumores mais volumosos e com estruturas glandulares, apesar de ter capacidade infiltrativa, enquanto a evolução tende para agregação celular em formação exofítica ou padrão ulcerado. Por sua vez, o tipo difuso têm potencial de infiltrar a prede gástrica, formados frequentemente por células em anel de sinete e lago de mucina, que dissecam os planos teciduais. (KUMAR ET AL., 2010.)

Segundo Kumar et al. (2010), o tipo intestinal está relacionado a lesões precursoras e de acordo com este autor e Ministério da Saúde (2018) o acometimento predomina em homens, principalmente idosos, que para Kumar et al.(2010) é o principal responsável pela queda da incidência ao longo dos anos. O levantamento da Ministério da Saúde (2018) sugere que o tipo difuso predomina em mulheres jovens com tipo sanguíneo A e está associado a um pior prognóstico, com extensão submucosa e metástase precoce. Por fim, segundo Kumar et al. (2010), diferentemente do tipo intestinal, o tipo difuso não possui lesões precursoras definidas.

A classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), criada em 2000, propôs a classificação histológica em quatro tipos básicos: papilífero, Tubular, de células em anel de Sinete e Mucinoso. A Sociedade Brasileira de Patologia, a característica fundamental na classificação da SBP é a morfologia da célula e secundariamente o seu arranjo. (ALMEIDA, 2009)

#### **2.1.4 Diagnóstico e Estadiamento**

De acordo com o Ministério da Saúde (2018), o diagnóstico do câncer gástrico pode ser estabelecido a partir de queixas gástricas, geralmente do trato digestivo alto, como plenitude, sangramento digestivo alto ou baixo, náusea e vômito ou ainda de sintomas constitucionais, dentre eles a perda de peso, anorexia e astenia. Os sintomas que mais se destacam são dispepsia, anorexia, perda de peso e dor abdominal. Apesar disso, segundo Cutsem et al. (2018), a maioria dos pacientes não possuem sintomas nos estágios iniciais do câncer gástrico, assim o diagnóstico comumente é tardio e conforme o Ministério da Saúde (2018) os sintomas não são patognomônicos, o que dificulta ainda mais o diagnóstico.

Para o Ministério da Saúde (2018) e Cutsem et al. (2018) a suspeita clínica e o exame físico guiam o médico na investigação e na suspeita de câncer gástrico o paciente deve ser submetido a endoscopia digestiva alta com biópsia.

Com exceção do Japão e da Coreia do Sul, a maioria dos CG em todo o mundo são diagnosticados em um estágio tardio, resultando em prognóstico ruim com sobrevida média de 5 anos em 29%. (BANKS ET AL., 2019)

Conforme o Ministério da Saúde (2018), após o estabelecimento do diagnóstico histopatológico os recursos de imagem permitem estabelecer o estadiamento da lesão., sendo a tomografia computadorizada de abdômen indicadas para definir o estadiamento e planejar o tratamento. O estudo de Cutsem et al. (2018) sugerem o uso da ultrassonografia endoscópica, porém o Ministério da Saúde (2018) sugere que mais estudos devem ser realizados sobre o seu uso de rotina, uma vez que apresentou baixo desempenho em estágios superficiais (T1a vs. T1b) e na avaliação do comprometimento linfonodal.

### **2.1.5 Vias imunológicas**

Segundo Liang et al. (2014) o interesse na identificação de fatores prognósticos nos pacientes com CG pode ajudar a orientar a tomada de decisão clínica em relação ao tratamento e aos prognósticos. Para Röcken (2017), o estabelecimento de uma categorização gera esperança não apenas de uma melhoria da classificação morfo-molecular do câncer gástrico, mas também para novos tratamentos. Então foi pro-

posta uma classificação molecular que abrange 4 subtipos, são eles: instabilidade microsatélite (IMS), positivo para Epstein Barr vírus (EBV), instabilidade cromossômica e genomicamente estáveis.

### **2.1.5.1 Imunoterapia**

De acordo com Pinto (2016), por conta dos frustrantes resultados obtidos pelo uso de terapêuticas padronizadas no tratamento de tumores há anos, como radioterapia, quimioterapia e cirurgia, a comunidade científica tem se mobilizado na busca de novas alternativas, dentre elas os biomarcadores imunológicos. Segundo Grochot (2018), há mais de 100 anos estudos buscam mostrar a relação entre o sistema imunológico e o desenvolvimento e cura do câncer, assim o foco da imunoterapia (IMT) está na resposta imune local no microambiente tumoral. Ainda de acordo com este autor, essa ideia baseia-se na existência de antígenos tumor-específicos que se conectam a estruturas presente nas células tumorais, ou seja, o objetivo da IMT é reestabelecer a imunidade anticâncer.

Na última década a compreensão sobre a função do sistema imunológico na carcinogênese de vários tumores expandiu. Uma dessas descobertas é a vigilância imunológica, que seria a capacidade do sistema imune em reconhecer e eliminar células tumorais do organismo. Outro conceito é o de evasão tumoral que se estrutura em 3 fases. A primeira, chamada fase de eliminação, as células tumorais são reconhecidas e abolidas. Na fase dois, ou de equilíbrio, as células tumorais tornam-se mais resistentes, o que dificulta serem combatidas pelo sistema imune e acabam promovendo mutações passadas às gerações subsequentes. O sistema imunológico seleciona essas células pelo processo de “imunoedição” até que começa a fase de escape. Nessa última fase, decorrente das mutações pré estabelecidas, as células tumorais já não são mais pegadas pelo sistema imune e, com isso, proliferam-se até desenvolver sintomatologia clínica no paciente. (PINTO, 2016)

As mutações sofridas pelas células tumorais, no âmbito genético, alteram a atuação das células T, que agora ficam impossibilitadas de remover as células anômalas do organismo. (GROCHOT, 2018)

A IMT têm se mostrado eficaz em tumores sólidos, como pulmão e rim, com atuação na resposta imune do microambiente tumoral e com o objetivo de reestabelecer a imunidade anticâncer. A presença maciça de PDL-1 no microambiente tumoral e sua relação direta com análises clínico-patológicas sugere uma via reguladora anti-neoplásica (GROCHOT, 2018)

## 2.2 HER-2

Segundo Liang et al. (2014), o *Human Epidermal growth factor Receptor-type 2* (HER2), um importante membro da família HER, é codificado por um gene localizado no cromossomo 17q21 e na tumorigênese o HER2 foi identificado como um oncogene para modular a proliferação, invasão, apoptose das células tumorais e ainda, de acordo com Wang et al. (2017), a angiogênese de muitos tumores sólidos. Ainda de conforme Liang et al. (2014), a amplificação do gene HER2 e a superexpressão de proteínas no câncer gástrico foram relatadas pela primeira vez em 1986 e, desde então, foram confirmadas por inúmeros estudos e hoje, é uma prática comum determinar o status HER2 do tecido tumoral gástrico por imuno-histoquímica (IHQ), sendo a análise FISH, uma técnica de base molecular que detecta a amplificação do gene HER, padrão ouro em relação a imunohistoquímica. Assim, o estudo de Liang et al. (2014) apresenta o HER2 como uma molécula promissora, pois atualmente oferece uma oportunidade para tratamento direcionado com a terapia com anticorpos trastuzumab.

Os estudos de Liang et al. (2014) e Wang et al. (2017) apresentam taxas mais alta de HER2 positiva no tipo intestinal. O estudo de Wang et al. (2017) ainda complementa a superexpressão de HER2 parece estar associada ao CG do tipo intestinal geralmente bem diferenciado, mas o câncer difuso é pouco diferenciado, o que significa que a superexpressão do HER2 está correlacionada com a classificação da OMS e a classificação de Lauren. No entanto, segundo Liang et al. (2014), como nem todos os tumores do tipo intestinal têm superexpressão do HER2, esse pode não ser o único fator envolvido e traz que, desde que a superexpressão do HER2 no câncer gástrico foi publicada pela primeira vez em 1986, muitos estudos relataram a frequência da positividade do HER2 no câncer gástrico de várias regiões do mundo e as taxas de superexpressão no câncer gástrico foram relatadas entre 9 e 38%.

No estudo de Katakao, eles relataram que não foi encontrada correlação entre a positividade do HER2 e fatores T ou N ou estágio TNM. Alguns estudos anteriores, incluindo todos os estágios patológicos, também não relataram correlação entre o estágio patológico e a superexpressão do HER2. No entanto, em uma série de 260 cânceres gástrico, Okegawa e colaboradores descobriram que a superexpressão do HER2 era um fator independente e se correlacionava com invasão serosa e LNM. Os resultados de Zhang et al demonstraram que a expressão positiva para HER2 foi estatisticamente maior nas lesões de fase III-IV do que nas lesões de fase I e II. (LIANG ET AL, 2014)

De acordo com Liang et al. (2014) a superexpressão de HER2 no câncer de mama, resultando em subtipos positivos para HER2, está associada a um prognóstico muito ruim em comparação com o negativo para HER2, mas diferentemente do câncer de mama, seu significado prognóstico para pacientes com câncer gástrico permanece controverso. Para Wang et al. (2017) os principais fatores prognósticos foram definidos para explicar o estadiamento e as estratégias terapêuticas adequadas no CG, no entanto, os fatores são imprecisos e os pacientes com prognóstico semelhantes no estadiamento podem estar em estágios diferentes. Segundo estes autores essa pode ser a principal fonte de controvérsias em torno do valor prognóstico da superexpressão de HER2. De acordo com Liang et al. (2014) ainda, a maioria das publicações da literatura confirma a forte associação entre a superexpressão de HER2 e a sobrevida dos pacientes, assim o estabelecimento de um sistema de pontuação HER2 preciso e confiável, juntamente com informações clínicas, pode nos ajudar a determinar melhor se um paciente com CG é um candidato potencial à terapia direcionada.

A sociedade Japonesa de Patologia recomenda que o teste HER2 seja realizado rotineiramente em pacientes com CG metastático ou recorrente. Os algoritmos de teste desenvolvidos para HER2 envolvem o IHQ primeiro, seguido pelo FISH para pacientes com IHQ 2+. (LIANG ET AL, 2014)

### **2.3 Epstein-Barr Vírus**

Os agentes infecciosos comprovadamente constituem um fator ambiental relacionado ao desenvolvimento do CG. Quando em contato com a mucosa gástrica, pro-

movem reações como inflamação crônica, hipocloridria e atrofia gástrica. Em decorrência disso, a mucosa fica exposta a mudanças do seu microambiente e isso aumenta o risco de transformação maligna. Entre os agentes infecciosos associados à neoplasia gástrica estão o *H. Pylori* e o EBV classificados pela OMS como carcinógenos de classe I. (GROCHOT, 2018)

De acordo com Grochot (2018) o EBV é um membro da subfamília gama-herpesvírus com ampla distribuição mundial e, segundo, Pinto (2016) sua atividade oncogênica se dá por uma molécula linear de DNA dupla fita e seu genoma pode codificar até 100 proteínas virais, as quais regulam a expressão dos genes virais, replicação do DNA viral e na modulação da resposta imune do hospedeiro.

Cerca de 90% da população mundial encontra-se infectada por esse vírus e sua transmissão ocorre por meio da saliva, conforme o estudo de Grochot (2018) e os pacientes são assintomáticos na maioria dos casos, com a manutenção de uma forma latente durante toda a vida, segundo estudo de Pinto (2016).

Segundo Pinto (2016), o EBV inicialmente invade as células epiteliais da orofaringe, nasofaringe e glândulas salivares, local em que estabelece a replicação e produção de proteínas virais. Essa etapa é denominado fase lítica. Em seguida, o EBV invade os linfócitos B (LB) das tonsilas, onde o genoma viral (inicialmente linear) é transportado para o núcleo e assume a forma circular (emissora), mantendo-se latente com o formato de DNA episomal extracromossômico. De acordo com Grochot. (2018), por conta disso, os LB de memória permanecem infectados com o EBV que, em estado de latência, limita a síntese de proteínas virais.

O vírus latente expressa seus genes em um dos três padrões conhecidos como “programas de latência”, em que ocorre a expressão de alguns genes virais. O resultado desses genes incluem seis antígenos nucleares do EBV, três proteínas latentes de membrana, duas pequenas moléculas de RNA e transcritos da região BamHI-A do genoma viral. Esses genes, porém, não são expressos ao mesmo tempo nas diversas células de tecidos ou linhagens tumorais EBV-positivas. Por isso, foi estabelecida a existência de quatro tipos de latência, com padrões distintos de expressão de genes virais. (GROCHOT, 2018)

Conforme Grochot. (2018), o EBV foi classificado como carcinógeno do grupo I pela *International Agency for Research on Cancer* e muitos autores seguem investigações quanto a função das proteínas virais expressas e a participação delas no aparecimento das neoplasias. De acordo com Pinto, cada programa de latência é marcado pela produção de um conjunto limitado e distinto de proteínas e RNA virais, com propriedades oncogênicas específicas.

### **2.3.1 Relação CG e EBV**

O EBV é sabidamente responsável pelo desenvolvimento de doenças como a mononucleose infecciosa, alguns tipos de linfoma e neoplasias epiteliais. Em relação ao CG, as pesquisas apontam o EBV como agente infeccioso causador do carcinoma gástrico com estroma linfóide (GCLS) segundo a OMS- também conhecido como carcinoma medular ou carcinoma do tipo linfoepiteliome-like. Sua incidência atinge 4% dos CG e é caracterizado por apresentar infiltração linfocitária. O EBV-positivo é visto em 80% dos GCLS e 9% dos demais adenocarcinomas. (LIMA ET AL, 2011)

Nas neoplasias gástricas que apresentam EBV-positivo, o vírus encontra-se em latência tipo I, onde ocorre crescimento monoclonal das células epiteliais infectadas que expressam genes do EBV-latente. Mas, o que precisa ser melhor compreendido é como o vírus atinge as células gástricas. A hipótese mais provável é que o EBV entra no linfócito B pela ligação da proteína gp350 ao receptor CD21. Esse, porém, não está presente no epitélio gástrico. Dessa forma, o que se entende é que a infecção do vírus na célula epitelial gástrica ocorra essencialmente através de contato direto célula-célula entre linfócito infectado e a célula gástrica. (LIMA ET AL, 2011)

A vinculação do EBV com a carcinogênese do CG se deve pela presença molecular de RNA viral EBER nas células tumorais, mas não nas células epiteliais normais, e pela detecção de emissoras de EBV monoclonal. O EBER pode ser relevante na carcinogênese do CG em decorrência do aumento promovido por ele do oncogene MYC. Sua expressão está associada a mais de 50% dos cânceres e relacionada à pior prognóstico. O MYC tem potencial de induzir instabilidade genômica, proliferação, angiogênese e crescimento celular descontrolado. Outro processo que tem como responsável o EBV e contribui na carcinogênese do CG é sua capacidade de fazer metilação de genes supressores tumorais. (MURPHY ET AL, 2009)



Os CG EBV-positivos apresentam características patológicas relevantes. Entre elas o fato de que a maioria deles tem alta expressão de CD274 (que codifica o PDL-1). Isto é, ao investigar um CG comprovadamente EBV- positivo, as chances dele ser PDL-1 positivo são altas. (MURPHY ET AL, 2009)

## **2.4 PDL-1**

O código genético do PD-1, segundo Pereira et al. (2017) e Scognamiglio et al. (2008) foi isolado a primeira vez em 1992 das células T de um camundongo. Ele é uma glicoproteína transmembrana tipo I expressa pelo gene CD274, encontrado no cromossomo.

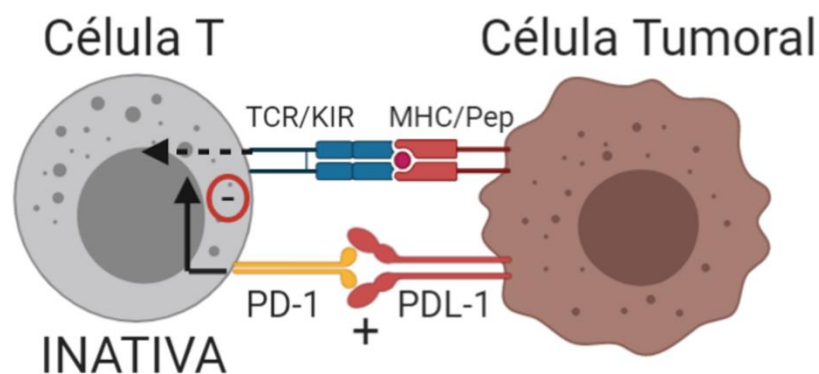
Em 1999 foi descoberta a molécula que interage com o PD-1, o PDL-1. Foi comprovado que o PDL-1 age como inibidor das respostas das células T humanas. Anos depois, no laboratório de Freeman, Wood e Honjos foi estabelecida a relação entre PD-1 e PDL-1. O PDL-1 foi determinado como um ligante e parceiro funcional do PD-1, em seguida comprovou-se que a deficiência de PDL-1 aumentava os riscos no desenvolvimento de doenças autoimunes. Posteriormente ficou claro que a interação PD-1/PDL-1 suprime a atuação das células T, especialmente no microambiente tumoral. Outro ligante do PD-1 foi encontrado, o PDL-2 e sua principal diferença com o PDL-1 está nas diferentes moléculas com que cada um interage. (CHEN; HAN, 2015)

De acordo com Liang et al. (2014), o PD-1 e seus dois ligantes, PDL-1 e PDL-2, fazem parte da superfamília CD28-B7. Segundo Yearley et al. (2017) o PD-L2 tem sua expressão mais reduzida, sendo notado em células apresentadoras de antígenos e em estudos recentes sua presença foi constatada em alguns tumores humanos, mas ainda há carência de informações que o levem a ser um possível alvo terapêutico.

O PDL-1, por sua vez, também conhecido como CD274 e B7-H1, é um biomarcador preditivo encontrado em células tumorais e/ou do estroma, e é capaz de mapear a chance de respostas positivas (favoráveis) ou negativas (toxicidade) após o uso de determinada terapêutica. Entretanto, em dadas circunstâncias esse marcador pode se tornar o próprio alvo do tratamento e pode ser avaliado para escolha terapêutica adequada. (GROCHOT, 2018)

O PDL-1 se liga especificamente ao seu receptor PD-1, uma proteína de membrana tipo 1, presente na superfície de linfócitos relacionados ao sistema imune, como as células T ativadas, células B ou macrófagos. Em alguns tumores sólidos, o PDL-1 pode se ligar ao PD-1 presente nas células tumorais e essa ligação é capaz de ativar a sinalização ajusante do receptor de PD-1 nas células T, inibindo, dessa forma, a proliferação, a geração e a liberação de citoxinas das células T. Essa regulação negativa feita pelo sistema imunológico tem por objetivo prevenir a autoimunidade e a infecção crônica. Porém, muitas células malignas também usam desse mecanismo para evitarem a atuação do sistema imunológico em suas células. Esse comportamento leva a uma resistência imune do tumor, ilustrado na FIGURA 1. (WU ET AL., 2019)

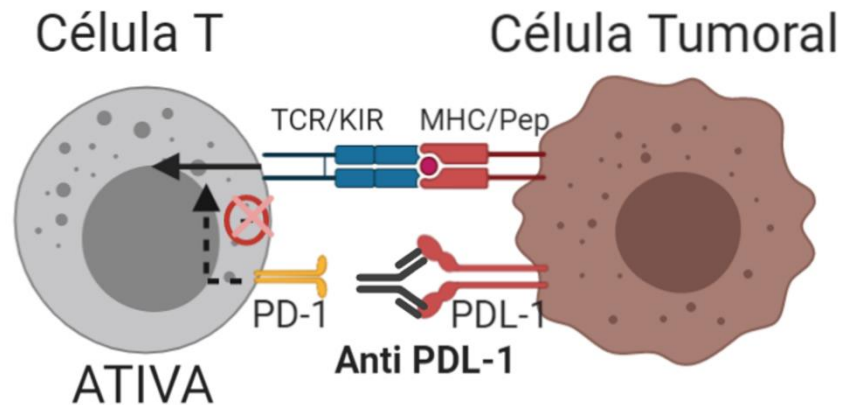
**FIGURA 1 – INATIVAÇÃO DE CÉLULA T PELA INTERAÇÃO PD-1/PDL-1 TUMORAL**



FONTE: O AUTOR

A interação entre PD-1 e PDL-1 estimula sinais que levam à supressão da atividade da célula T, o que culmina na permanência das células malignas. No entanto, ao ocorrer quebra da ligação entre PD-1/PDL-1 (FIGURA 2), há uma reativação da célula T e, conseqüentemente das respostas mediadas pelo sistema imune. Com isso, torna-se viável a produção de citocinas, proliferação de células T e, o mais desejado, eliminação das células tumorais. KIR é um receptor do tipo imunoglobulina de células assassinas. (WU ET AL, 2019)

**FIGURA 2 – BLOQUEIO DA INTERAÇÃO PD-1/PDL-1 TUMORAL POR ANTI PDL-**



FONTE: O AUTOR

As pesquisas mais recentes apontam que o bloqueio do PDL-1 da superfície celular é o suficiente para aumentar a citotoxicidade dos linfócitos T citotóxicos. Mas não é só na membrana que ele se encontra. Os formatos de PDL-1 conhecidos até o momento são o de membrana, representado por mPDL-1, o citoplasmático (cPDL-1), o nuclear (nPDL-1) e o sérico (sPDL-1). As estruturas dessas proteínas também são múltiplas, sendo a mais comum e alvo das pesquisas de inibição imunológica a transmembrana (WU ET AL, 2019)

Estudos têm se desenvolvido para antagonizar o complexo PD-1/ PDL-1 para o tratamento de tumores. Dentre eles o uso de anticorpos monoclonais para o bloqueio direto do PDL-1 e PD-1 estão em uso ascendente no CG. (LEPRIEUR, 2017)

Após o aumento dos dados sobre como ocorre a modulação do checkpoint imunológico, uma nova hipótese surgiu em relação a inibição do ponto de checagem imune e sua utilidade clínica. Essa ideia supõe que o sistema imune pode ativar a inibição do ponto de checagem e, com isso, evitar o escape de células tumorais à imunidade do hospedeiro. Ensaio in vitro e pré-clínicos mostraram que o bloqueio da interação PD-1/ PDL-1 pode aumentar a ativação de células T. (BILGIN ET AL, 2017)

#### 2.4.1 Expressão em outros cânceres

Segundo Bilgin et al. (2017) o uso de marcadores imunológicos como uma nova via de tratamento ao câncer já vem sendo estudada e aplicada em alguns tipos de tumores, como é o caso dos marcadores CTLA-4 e PD-1 que foram averiguados em tumores sólidos em um estudo de fase III. Em um estudo realizado por Scognamiglio

et al., em 2016, foram estudados tumores sólidos e hematopoiéticos por meio de IHQ para averiguar a presença de PDL-1 e estabelecer parâmetros de avaliação corretos e específicos para diferentes tipos de tumores.

No câncer epitelial, 60% das amostras expressaram PDL-1, sendo em 10% delas uma expressão considerada “moderada/ intensa”. No câncer de ovário a porcentagem de expressão foi baixa, menor que 1%. No câncer de tireóide, a expressão ocorreu em < 10%, assim como no câncer de cólon. No CA de pulmão não-pequenas-células foram detectados 10% de expressão e no câncer renal 20%. No melanoma a expressão do PDL-1 subiu para 60% das amostras. (SCOGNAMIGLIO ET AL, 2016)

A falta de dados na literatura quanto a expressão desse marcador imunológico nos diferentes tipos de tumores dificultam a análise comparativa dos dados acima obtidos. No entanto, o checkpoint imune direcionado, como o PD-1 e PDL-1 demonstram ter enorme validade terapêutica em diferentes tumores, inovando o modo como são feitas as escolhas aos tratamentos. Os inibidores de PD-1 ou PDL-1 administrados como agentes únicos resultaram em regressão tumoral durável em alguns pacientes. Porém, ainda não foi esclarecido se a expressão desses marcadores na membrana de células tumorais e linfócitos no microambiente tumoral pode ser útil na estratificação dos pacientes para tratamento com imunoterapia específica. (SCOGNAMIGLIO ET AL, 2016)

Atualmente, o tratamento com inibidores de PD-1/ PDL-1 independe da sua expressão in vivo. Porém, seria aconselhável incluir um relatório de diagnóstico de um valor associado à expressão de PDL-1 em células tumorais a fim de servir como ferramenta ao oncologista para a escolha de quais pacientes seriam mais responsivos às terapias específicas. Dados discordantes sobre o valor prognóstico da expressão de células tumorais PDL-1 no câncer estão em discussão na literatura. O cenário ainda é repleto de dúvidas, especialmente por conta da restrita oferta de informações precisas e reprodutíveis da expressão do PDL-1 em diferentes tipos de tumores. (SCOGNAMIGLIO ET AL, 2016)

Em 2012, por meio de um ensaio clínico, foi testada a segurança e viabilidade do Nivolumab, um anticorpo específico no bloqueio de PD-1. Na fase I do estudo haviam 296 pacientes com diagnósticos de melanoma, câncer de pulmão do tipo não

pequenas células, câncer de próstata, câncer renal e câncer de colo retal, todos foram tratados com a mesma medicação. Esse estudo foi o primeiro ensaio clínico que sugeriu que os níveis de PDL-1 podem ser usados como um biomarcador preditivo para a resposta ao tratamento anti-PD1. Nessa pesquisa, 61 amostras de tumores pré-tratamento de 42 pacientes (18 com melanoma, 10 com câncer de pulmão não-pequenas-células, 7 com câncer colorretal, 5 com câncer de células renais e 2 com câncer de próstata) foram analisadas quanto a expressão IHQ de PDL-1 na superfície das células tumorais. Dos 42 pacientes, 25 amostras foram positivas para a expressão de PDL-1. Destes 25, 9 (36%) demonstraram respostas objetivas ao tratamento com Nivolumab. Nenhum dos 17 pacientes que tiveram tumores negativo para PDL-1 apresentaram resposta objetiva. A partir desse ensaio clínico concluiu-se que anticorpo anti-PD1 trouxe respostas positivas em cerca de 1 a cada 4 pacientes com câncer de pulmão não-pequenas-células, melanoma ou câncer de células renais. Os efeitos adversos não foram vistos como impeditivos para seu uso. A princípio, os dados demonstraram uma vinculação entre a expressão de PDL-1 nas células tumorais e respostas objetivas ao tratamento com anticorpo anti- PD1. (SMITH ET AL, 2012)

Outro ensaio clínico, realizado por Brahmer et al. (2012), reafirmou a eficácia da terapêutica anti- PDL-1 em pacientes com tumor sólido já em fase avançada da doença. De acordo com Bilgin et al. (2017) a expressão do PDL-1 pode predizer a eficácia da terapia anti PD1/ PDL-1 nos vários tipos de tumores sólidos e sua apresentação já mostrou eficácia em várias dos tumores, o que reafirma a importância de evidenciar esse mesmo achado nos cânceres gástricos.

#### **2.4.2 Custos**

Os custos do tratamento com Nivolumabe e com Pembrolizumabe comparado ao Ipilimumabe, foram comparados em pacientes com melanoma avançado sob a perspectiva do sistema de saúde suplementar brasileiro. A avaliação levou em conta o custo-efetividade das terapias imunomoduladoras anti-PDL-1 já aceitas para uso no Brasil. O tempo máximo de tratamento considerado no estudo foi de 96 meses. O Nivolumabe como primeira linha de tratamento custa em média R\$ 433.362, por ampola, enquanto que o Pembrolizumabe custa R\$ 466.677, por ampola. O custo por infusão sai em média R\$13.673,82 para o Nivolumabe, R\$ 22.375,34 para o Pembro-

lizumabe e 67.441,25 para o Ipilimumabe. O trabalho conclui que a aplicação de imunomoduladores anti-PDL-1 no tratamento de melanoma avançado é clinicamente eficaz enquanto primeira linha de tratamento, aumentando a sobrevida geral do paciente. Os resultados obtidos também mostraram que ambos os medicamentos apresentam vantagens clínicas maiores a custos menores, o que corrobora com a premissa de que são uma opção de extrema importância e segurança aos pacientes, promovem aumento de sobrevida e são financeiramente melhores ao sistema de saúde (TANAKA ET AL, 2015)

### **2.4.3 Expressão em câncer gástrico**

Mesmo com resultados promissores em outros tumores, o estudo do PDL-1 em CG ainda é recente e pouco explorado. As investigações concentram na população asiática, pois são os que apresentam maior incidência, mas de modo geral sua frequência nos CG é bastante variável, sendo visto na população ocidental uma expressão entre 2- 30,1% nas células gástricas e entre 18-88,4% das células do sistema imunológico. (PEREIRA ET AL, 2017)

Segundo Wu et al. (2006), a investigação do PDL-1 revela-se importante na correlação com o tamanho, profundidade de invasão, metástase linfonodal, e tempo de sobrevida dos pacientes. No entanto, conforme Pereira et al. (2017), a importância da expressão do PDL-1 quanto ao prognóstico do paciente ainda é algo que provoca controversas, em vista de trabalhos que o revelam como biomarcador de pior prognóstico, melhor prognóstico, além de outros que mostram a ausência de relação com a sobrevida. Essas variáveis associam-se com fatores como diferença nas populações de estudo e principalmente a falta de um padrão quanto aos métodos de avaliação.

## **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

Trata-se de um estudo retrospectivo observacional com levantamento de laudos anatomopatológicos de pacientes submetidos à biópsia por endoscopia digestiva alta e que possuíam adenocarcinoma gástrico. O presente trabalho foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e foi aprovado no dia 10/12/2019 (ANEXO I)

### **3.1 Aspectos éticos**

Todos os materiais utilizados pelo presente trabalho seguem sob a responsabilidade dos pesquisadores, com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade.

### **3.2 Amostra**

A seleção dos pacientes obedeceu critério de conveniência, com a inclusão dos pacientes maiores de 18 anos, submetido à biópsia de adenocarcinoma gástrico para avaliação da imunexpressão do marcador PDL-1. Os laudos anatomopatológicos com dados insuficiente foram descartados, são eles: idade, sexo, diagnóstico, tipo histopatológico e grau de diferenciação. Os laudos de pacientes menores de 18 anos de idade e aqueles pacientes cujo material biológico não foi submetido à técnica imuno-histoquímica adequada para a marcação de PDL-1 foram descartados.

Os casos estudados são provenientes do arquivo de blocos e lâminas histopatológicas do Laboratório Byori Anatomia Patológica obtidos entre janeiro de 2018 e junho de 2019. Neste período foram selecionados 19 pacientes, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão do presente trabalho. Os blocos de parafina contendo amostras da neoplasia foram selecionadas para a confecção de lâminas histopatológicas para a marcação e conseguinte avaliação do PDL-1. Após a seleção os casos foram revisados para seleção da área amostral submetida ao imunomarcador PDL-1.

#### **3.2.1 Leitura das amostras**

A detecção da expressão tumoral de PDL-1 no ACG foi realizado com o anticorpo 22CR PharmDX, aprovado pelo FDA e Anvisa, através da plataforma automatizada Autostainer Link 48 da Dako, com controles positivos e negativos. A leitura das lâminas imunomarcadas foram comparadas com duas lâminas de tecido gástrico normal em caráter de controle.

### **3.3 Organização dos dados**

Os dados foram laudados e tabelados em uma planilha na plataforma Excel 2013 conforme as variáveis sexo, idade, tipo histológico, grau de diferenciação, presença ou não de invasão e presença ou não de ulceração.

### **3.4 Estatística**

Variáveis qualitativas foram descritas pelas frequências absolutas e relativas. A variável Idade, por ser quantitativa, foi descrita pela sua média e desvio padrão. A amostra foi dividida em dois grupos de acordo com o PDL-1 positivo ou negativo, e estes grupos foram comparados. Quando comparando variáveis qualitativas, foi utilizado o teste exato de Fisher. Quando comparando a idade entre os dois grupos, foi utilizado o teste t de Student.

Todas as análises foram realizadas utilizando o software R de computação estatística, considerando sempre o nível de 5% de significância.



## 4 RESULTADOS

Em relação às características demográficas, observa-se na tabela 1, que não houve diferença significativa quanto ao resultado da imunexpressão do PDL-1 e sua relação com o sexo, com p-valor de 0,17. Entre os que obtiveram PDL-1 positivo, 28,6% foram do sexo feminino e 71,4% eram do sexo masculino. Ao passo que os pacientes que não marcaram PDL-1 eram compostos de 66,7% do sexo feminino e 33,3% do sexo masculino.

**TABELA 1 – RELAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DO PDL-1 E SEXO**

	PDL-1 Positivo	PDL-1 Negativo	p-valor
Feminino	2 (28,6%)	8 (66,7%)	0,17
Masculino	5 (71,4%)	4 (33,3%)	
Total Geral	7 (100%)	12 (100%)	

Fonte: elaboração própria

Na avaliação das idades, observado na tabela 2, pacientes que apresentaram PDL-1 positivo tinham uma média de idade de 57,6 anos, com desvio padrão de 15,9 anos. Entre os pacientes PDL-1 negativos a média de idade foi de 65,8 anos, com desvio padrão de 10,9 anos. Esses valores não apresentaram diferença significativa, com p-valor de 0,25.

**TABELA 2 – RELAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DO PDL-1 E IDADE**

Média de idade geral	PDL-1 Positivo	PDL-1 Negativo	p-valor
62,7 (13,2)	57,6 (15,9)	65,8 (10,9)	0,25

Fonte: elaboração própria

Na avaliação do tipo histológico, tabela 3 os dados da presente pesquisa não revelaram diferença significativa, com p-valor de 0,21. Dentre os que marcaram PDL-1, 42,9% foram do padrão histológico de adenocarcinoma tubular, 14,3% de adenocarcinoma tubular com células em anel de sinete, 28,6% de adenocarcinoma tubulopapilar e 14,6% de carcinoma tubular in situ. Não houve amostra de adenocarcinoma com células em anel de sinete positiva para PDL-1. Já nas avaliações em que a marcação do PDL-1 foi negativa, 41,7% do padrão histológico encontrado foi de adenocarcinoma com células em anel de sinete, 33,3% foi de adenocarcinoma tubular, 8,3% de adenocarcinoma tubular com células em anel de sinete e 8,3% de adenocarcinoma tubulopapilar. Não houve amostra de carcinoma in situ com PDL-1 negativo.

**TABELA 3 – RELAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE PDL-1 E TIPO HISTOLÓGICO DO ADENOCARCINOMA GÁSTRICO**

	PDL-1 Positivo	PDL-1 Negativo	p-valor
Carcinoma Ecamoso in Situ	1 (14,6%)	0	0,21
Adenocarcinoma com Células em Anel de Sinete	0	5 (41,7%)	
Adenocarcinoma Tubular	3 (42,9%)	4 (33,3%)	
Adenocarcinoma Tubular com Células em Anel de Sinete	1 (14,3%)	1 (8,3%)	
Adenocarcinoma Tubulo-Papilar	2 (28,6%)	1 (8,3%)	
Total Geral	6	11	

Fonte: elaboração própria

Em se tratando do grau de diferenciação, tabela 4, verificou-se diferença significativa da imunopressão do PDL-1, com p-valor de 0,046. Das amostras PDL-1 positivas, 42,9% eram do tipo bem diferenciada, 42,9% eram moderadamente diferenciadas e 14,3% eram pouco diferenciadas. Nas apresentações de PDL-1 negativo, 8,3% foram bem diferenciados, 16,7% foram moderadamente diferenciados e 66,7% foram pouco diferenciados.

**TABELA 4 – RELAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE PDL-1 E GRAU DE DIFERENCIAÇÃO DO ADENOCARCINOMA GÁSTRICO**

	PDL-1 Positivo	PDL-1 Negativo	p-valor
Bem Diferenciado	3 (42,9%)	1 (8,3%)	<b>0,046</b>
Moderadamente Diferenciado	3 (42,9%)	2 (16,7%)	
Pouco Diferenciado	1 (14,3%)	8 (66,7%)	
Total Geral	10 (100%)	11 (100%)	

Fonte: elaboração própria

Sobre a presença ou ausência de ulceração, tabela 5, não houve diferença significativa quanto a imunopressão do PDL-1, com p-valor de 0,33. As apresentações PDL-1 positivas tiveram 71,4% delas ulcerativas e 28,6% não ulcerativas. Ao passo que, pacientes PDL-1 negativos eram 33,3% de caráter ulcerativo e os outros 58,3% foram não ulcerativos.

**TABELA 5 – RELAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE PDL-1 E PRESENÇA DE ULCERAÇÃO NO ADENOCARCINOMA GÁSTRICO**

	PDL-1 Positivo	PDL-1 Negativo	p-valor
Ulcerado	5 (71,4%)	4 (33,3%)	0,33
Não Ulcerado	2 (28,6%)	7 (58,3%)	
Total Geral	7 (100%)	11 (100%)	

Fonte: elaboração própria

Por fim, não aconteceu diferença significativa, com p-valor de 0,73, em relação a invasão e a imunexpressão do PDL-1, tabela 6. Das amostras PDL-1 positivas, 57,1% tinham apresentação invasora e os outros 42,9% eram não invasor. Nas amostras PDL-1 negativas, encontrou-se 33,3% de adenocarcinoma invasor e 58,3% de não invasor.

**TABELA 6 – RELAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DE PDL-1 E CARÁTER INVASIVO DO ADENOCARCINOMA GÁSTRICO**

	PDL-1 Positivo	PDL-1 Negativo	p-valor
Invasor	4 (57,1%)	4 (33,3%)	0,63
Não Invasor	3 (42,9%)	7 (58,3%)	
Total Geral	8	11	

Fonte: elaboração própria

## 5 DISCUSSÃO

No que diz respeito aos dados encontrados por esta pesquisa, não houve diferença significativa de idade média dos pacientes e sexo quando comparados com a imunexpressão do PDL-1. O estudo de Wu et al. (2006) também não encontrou correlação entre a imunolocalização do PDL-1, a idade (p-valor de 0,672) e sexo do paciente (p-valor de 0,862), vale ressaltar que os parâmetros de idade utilizadas foram diferentes da utilizada pelo presente estudo, com a divisão dos pacientes em mais ou menos que 60 anos de idade.

Outro estudo, de Zhang et al. (2015), com 132 pacientes também não encontrou diferença significativa entre a idade dos pacientes, categorizados na oportunidade em maiores ou menores de 62 anos idade, com p-valor de 0,082. Referente ao sexo do paciente, o mesmo estudo de Zhang et al. (2015) não encontrou nenhuma diferença significativa da expressão de PDL-1 entre o sexo masculino e feminino, com p-valor de 0,297.

A metanálise de Zhang et al. (2016a), com base em um total de 674 estudos corrobora com os dados encontrados no presente trabalho, de que não há relação significativa entre a idade e a expressão do PDL-1, com um p-valor de 0,51.

Entretanto, o estudo de Li et al. (2016) com 137 paciente encontrou uma diferença significativa de idade nos pacientes com PDL-1 positiva, sendo mais comum nos pacientes mais jovens que a idade média do trabalho (59,2 anos) com p-valor de 0,019. Este estudo não encontrou diferença entre os sexos quanto à presença de PDL-1, com p-valor de 0,911.

Quanto ao tipo histológico do tumor, no presente estudo não houve diferença significativa em relação a expressão de PDL-1, com p-valor de 0,21. Da mesma forma, um estudo realizado por Tatsuro Tamura Et Al. (2015), e apresetnado por Tamura et al. (2015) demonstrou não haver associação significativa entre PDL-1 e o tipo histológico do tumor, representado por um p-valor de 0,8943, o que, de acordo com o autor, mostrou ser um dado de pouco relevância na avaliação do prognóstico do paciente.

Em uma metanálise realizada por Zhang et al. (2016a) notou-se uma heterogeneidade nos dados que correlacionam PD- L1 e diferenciação histológica, com p-valor

de 0.002. Isto é, mais estudos correlacionando tais variáveis precisam ser feitos para que haja embasamento suficiente para estabelecer a relação entre tipo histológico e PDL-1 e assim, com possíveis escolhas de tratamento e determinação de prognóstico.

A variável grau de diferenciação do tumor apresentou diferença significativa entre o grupo de PDL-1 positivo e PDL-1 negativo no presente estudo. Esse dado conflita com o estudo de Wu et al. (2006) onde não foi encontrada diferença significativa entre a imunexpressão de PDL-1 e diferentes graus de diferenciação do tumor, com um p-valor de 0,224 quando comparado tumores de alto grau com o de baixo grau.

No estudo de Zhang et al. (2015), com 132 pacientes, a variável de diferenciação categorizou tumores com células em anel de sinete, pouco diferenciado, moderadamente diferenciado e muito diferenciado e não houve diferença significativa na imunexpressão do PDL-1 com p-valor de 0,346.

Os dados da literatura citados corroboram com a metanálise de Zhang et al. (2016b), realizada com 7 estudos e um total de 1143 pacientes, não foi encontrada diferença significativa da presença do PDL-1 e o grau de diferenciação, estratificado em pouco diferenciado, moderadamente diferenciado e altamente diferenciado, com p-valor de 0,89.

Entretanto, os dados do estudo de Saito et al. (2018) com, 157 pacientes, apresentou significância com um p-valor de 0,03 quando a expressão do PDL-1 foi comparada ao tumor diferenciado e indiferenciado. Apesar da estratificação diferente da realizada no presente trabalho, a tendência encontrada em nosso estudo é de predominância do PDL-1 positivo nos tumores bem diferenciados, enquanto que no trabalho de Saito et al. (2018) no indiferenciado.

A diferença de estratificação pode justificar tal diferença, mas o estudo de Ito et al. (2018), realizado com 152 pacientes apresentou a mesma estratificação de Saito et al. (2018), mas não obteve diferença significativa na expressão positiva do PDL-1 e o grau diferenciado e indiferenciado, com p-valor de 0,33.

O presente estudo demonstrou não haver diferença significativa quanto a relação da imuno expressão de PDL-1 e o grau de invasão do tumor. No entanto, Changping Wu et al. (2006) demonstrou em seu estudo um valor de p significativo, de 0.003 para a marcação de PDL-1 e o grau de invasão do tumor. De acordo com Wu et al. (2006), a imunomarcação de PDL-1 aumentou muito ( $p < 0.01$ ) quando o tumor infiltra a camada muscular profunda.

No estudo de Saito et al. (2018) houve diferença significativa, com p-valor  $< 0.0001$ , entre a imunoexpressão de PDL-1 e o grau de invasão do tumor. Dos tumores PDL-1 positivos, 83.3% eram invasores. Já os tumores PDL-1 negativos eram, em sua maioria, não invasores, representando 58.3%. O autor Saito et al. (2018) assegura haver uma relação entre a expressão de PDL-1 positiva ser um fator de pior prognóstico ao paciente.

Da mesma forma Leung et al. (2008) apresenta no estudo de Yanhua Wu Et Al. (2017), a relação imunoexpressão de PDL-1 e grau de invasão demonstrou diferença significativa, com p-valor 0.036, seguindo a proporção em que os tumores PDL-1 positivos são por maioria invasores, com um valor de 42,2%, sendo os tumores PDL-1 negativos, 76.5% deles não invasores. Da mesma forma, o trabalho assegura que a presença de PDL-1 na amostra revela-se como fator de pior prognóstico ao paciente.

Por fim, no estudo de Lihu Gu Et Al. (2017) apresentado por Gu et al. (2017), foi realizada uma metanálise que incluiu a relação entre imunoexpressão de PDL-1 e grau de invasão do tumor gástrico, demonstrando diferença significativa entre essas duas variáveis. Concluiu, por fim, que a correlação entre PDL-1 e prognóstico do câncer gástrico é que quando há positividade desse biomarcador, o prognóstico é pior.

Dessa forma, o seguinte trabalho, portanto, não corrobora com a literatura quanto ao achado estatístico entre PDL-1 positivo e grau de invasão do tumor. Isso, provavelmente decorre da pequena amostra utilizada neste trabalho, que não contempla toda a variabilidade da população.

O presente estudo não encontrou diferença significativa quanto a relação entre grau de ulceração e a imunoexpressão de PDL-1, com p valor de 0.33. A literatura não apresenta dados referentes à esta variável utilizada em nosso estudo. Portanto, mostrou-se como uma correlação de pouca relevância.

## 6 CONCLUSÃO

Neste estudo observou-se que o padrão de expressão de PDL-1 foi heterogêneo em relação às características demográficas e histológicas escolhidas para comparação. Isso decorre em partes pelo baixo número de casos utilizados na amostra, por ser um teste ainda pouco realizado, e pela falta de padronização quanto ao estabelecimento das variáveis e seus critérios dentro da literatura vigente.

A variável grau de invasão do tumor não obteve diferença significativa nesse trabalho. Quanto ao tipo histológico faltam estudos que mostrem a relevância dessa variável com a marcação de PDL-1, assim como da variável grau de ulceração do tumor.

Em relação aos dados demográficos, não foi constatado grau de importância na variável sexo quanto a marcação de PDL-1, estando de acordo com o descrito na literatura. Já em relação ao grau de diferenciação do tumor foram encontrados na literatura estudos que corroboram e que contradizem o achado de diferença significativo quanto a imunoexpressão de PDL-1.

## REFERÊNCIAS

- ALBERTS, S. R. Gastric cancer: epidemiology, pathology and treatment. **Annals of Oncology**, v. 14, n. 90002, p. 31ii – 36, 2003.
- BANKS, M.; GRAHAM, D.; JANSEN, M.; et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of patients at risk of gastric adenocarcinoma. **Gut**, v. 68, n. 9, p. 1545 LP – 1575, 2019. Disponível em: <<http://gut.bmj.com/content/68/9/1545.abstract>>. .
- BILGIN, B.; SENDUR, M. A. N.; BÜLENT AKINCI, M.; ŞENER DEDE, D.; YALÇIN, B. Targeting the PD-1 pathway: a new hope for gastrointestinal cancers. **Current Medical Research and Opinion**, v. 33, n. 4, p. 749–759, 2017. Taylor & Francis. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/03007995.2017.1279132>>. .
- BRAHMER, J. R.; TYKODI, S. S.; CHOW, L. Q. M.; et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 26, p. 2455–2465, 2012.
- BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.
- CHEN, L.; HAN, X. Anti – PD-1 / PD-L1 therapy of human cancer : past , present , and future Find the latest version : Anti – PD-1 / PD-L1 therapy of human cancer : past , present , and future. **Journal of Clinical Investigation**, v. 125, n. 9, p. 3384–3391, 2015.
- CORREA, P. A Human Model of Gastric Carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 48, n. 13, p. 3554 LP – 3560, 1988. Disponível em: <<http://cancerres.aacrjournals.org/content/48/13/3554.abstract>>. .
- CUTSEM, E. VAN; SAGAERT, X.; TOPAL, B.; HAUSTERMANS, K.; PRENEN, H. Gastric cancer Gastric cancer. **The Lancet**, v. 388, n. 10060, p. 2654–2664, 2018. Elsevier Ltd. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30354-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30354-3)>. .
- GIROUX LEPRIEUR, E.; DUMENIL, C.; JULIE, C.; et al. Immunotherapy



revolutionises non-small-cell lung cancer therapy: Results, perspectives and new challenges. **European Journal of Cancer**, v. 78, p. 16–23, 2017. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2016.12.041>>. .

GROCHOT, R. M. EXPRESSÃO DO PD-L1 EM NEOPLASIAS CERVICAIS E SEU IMPACTO EM SOBREVIVÊNCIA ASSOCIADO À INFILTRAÇÃO LINFOCITÁRIA PERITUMORAL E À EXPRESSÃO DE FOXP3. , p. 51, 2018.

GU, L.; CHEN, M.; GUO, D.; et al. PD-L1 and gastric cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 12, n. 8, p. 1–14, 2017.

ITO, M.; OSHIMA, Y.; YAJIMA, S.; et al. Is high serum programmed death ligand 1 level a risk factor for poor survival in patients with gastric cancer? **Annals of Gastroenterological Surgery**, v. 2, n. 4, p. 313–318, 2018.

KUMAR, V.; K., A. A.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. **Robbins e Cotran, Bases Patológicas das Doenças**. 8ª ed. Rio de Janeiro, 2010.

LEUNG, W. K.; WU, M.; KAKUGAWA, Y.; et al. Pd1 y pdl1 correlation. **The Lancet Oncology**, v. 9, n. 3, p. 279–287, 2008.

LI, Z.; LAI, Y.; SUN, L.; et al. PD-L1 expression is associated with massive lymphocyte infiltration and histology in gastric cancer. **Human Pathology**, v. 55, p. 182–189, 2016. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2016.05.012>>. .

LIANG, J. W.; ZHANG, J. J.; ZHANG, T.; ZHENG, Z. C. Clinicopathological and prognostic significance of HER2 overexpression in gastric cancer: A meta-analysis of the literature. **Tumor Biology**, v. 35, n. 5, p. 4849–4858, 2014.

LIANG, S. C.; LATCHMAN, Y. E.; BUHLMANN, J. E.; et al. Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses. **European Journal of Immunology**, v. 33, n. 10, p. 2706–2716, 2003.

DE LIMA, M. A. P.; FERREIRA, M. V. P.; BARROS, M. A. P.; et al. Detecção do vírus Epstein-Barr (EBV) em adenocarcinomas gástricos procedentes dos estados do Ceará e de São Paulo. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.

47, n. 2, p. 171–179, 2011.

MARON-GUTIERREZ, T.; NASCIMENTO, C. S.; MORALES, M. M.; ROCCO, P. R. M. Entendendo a fisiopatologia da silicose. **Pulmão RJ**, v. 17, n. 1, p. 33–37, 2008.

MEJÍAS-LUQUE, R.; LOZANO-POPE, I.; WANISCH, A.; et al. Increased LIGHT expression and activation of non-canonical NF- $\kappa$ B are observed in gastric lesions of MyD88-deficient mice upon *Helicobacter felis* infection. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2019.

MURPHY, G.; PFEIFFER, R.; CAMARGO, M. C.; RABKIN, C. S. Meta-analysis Shows That Prevalence of Epstein-Barr Virus-Positive Gastric Cancer Differs Based on Sex and Anatomic Location. **Gastroenterology**, v. 137, n. 3, p. 824–833, 2009. Elsevier Inc. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2009.05.001>>. .

PEREIRA, M.; RAMOS, M.; FARAJ, S.; et al. Vírus Epstein-Barr, Instabilidade De Microsatélite E Expressão De Pd-L1 Nos Adenocarcinomas Gástricos: Aspectos Clínico-Patológicos E Prognósticos. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva Express**, v. 28, n. Supl.5, p. 128–128, 2017.

PINTO, G. D. J. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DO BIOMARCADOR PD-L1 EM TECIDO TUMORAL DE PACIENTES PORTADORES DE CARCINOMA DE PULMÃO E CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS  
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Fundação PIO XII – Hospital de Câncer de Ba. , p. 78, 2016.

RICARDO CAMILLO DE ALMEIDA. Adenocarcinoma do estômago : análise de aspectos morfológicos e do perfil imuno-histoquímico de mucinas dos tipos histológicos propostos na classificação da Sociedade Brasileira de Patologia , 2005. **Patologia**, 2009.

RÖCKEN, C. Molecular classification of gastric cancer. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v. 17, n. 3, p. 293–301, 2017. Taylor & Francis. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/14737159.2017.1286985>>. .

SAITO, H.; KONO, Y.; MURAKAMI, Y.; et al. Highly activated PD-1/PD-L1 pathway in gastric cancer with PD-L1 expression. **Anticancer Research**, v. 38, n. 1, p. 107–

112, 2018.

SAÚDE, M. DA. Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas: Adenocarcinomas de Estômago. , p. 5–28, 2018. Disponível em: <<http://conitec.gov.br>>. .

SCOGNAMIGLIO, G.; DE CHIARA, A.; DI BONITO, M.; et al. Variability in immunohistochemical detection of programmed death ligand 1 (PD-L1) in cancer tissue types. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 5, p. 1–11, 2016.

SMITH, D. C.; MCDERMOTT, D. F.; POWDERLY, J. D.; et al. new england journal. , p. 2443–2454, 2012.

SONG, H.; EKHEDEEN, I. G.; ZHENG, Z.; et al. Incidence of gastric cancer among patients with gastric precancerous lesions: Observational cohort study in a low risk Western population. **BMJ (Online)**, v. 351, 2015.

TAMURA, T.; OHIRA, M.; TANAKA, H.; et al. Programmed death-1 ligand-1 (PDL1) expression is associated with the prognosis of patients with stage II/III gastric cancer. **Anticancer Research**, v. 35, n. 10, p. 5369–5376, 2015.

TANAKA, S.; ARATANGY, G.; CARELLI, G.; et al. Custo-efetividade de terapias anti-PD-1 comparadas com ipilimumabe para o tratamento de melanoma avançado sob a perspectiva do sistema de saúde suplementar brasileiro. **Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, v. 9, n. Suppl1, p. 81–88, 2017.

WANG, H. B.; LIAO, X. F.; ZHANG, J. Clinicopathological factors associated with HER2-positive gastric cancer A meta-analysis. **Medicine (United States)**, v. 96, n. 44, p. 1–5, 2017.

WAWRO, N.; AMANN, U.; BUTT, J.; et al. Helicobacter pylori seropositivity: Prevalence, associations and the impact on incident metabolic diseases/risk factors in the population-based KORA study. **Frontiers in Public Health**, v. 7, n. APR, p. 1–8, 2019.

WU, C.; ZHU, Y.; JIANG, J.; et al. Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance. **Acta**

**Histochemica**, v. 108, n. 1, p. 19–24, 2006.

WU, Y.; CHEN, W.; XU, Z. P.; GU, W. PD-L1 distribution and perspective for cancer immunotherapy— blockade, knockdown, or inhibition. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. AUG, p. 1–15, 2019.

YEARLEY, J. H.; GIBSON, C.; YU, N.; et al. PD-L2 expression in human tumors: Relevance to anti-PD-1 therapy in cancer. **Clinical Cancer Research**, v. 23, n. 12, p. 3158–3167, 2017.

ZHANG, L.; QIU, M.; JIN, Y.; et al. Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression on gastric cancer and its relationship with clinicopathologic factors. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 8, n. 9, p. 11084–11091, 2015.

ZHANG, M.; DONG, Y.; LIU, H.; et al. The clinicopathological and prognostic significance of PD-L1 expression in gastric cancer: A meta-analysis of 10 studies with 1,901 patients. **Scientific Reports**, v. 6, n. November, 2016a. Nature Publishing Group.

ZHANG, M.; DONG, Y.; LIU, H.; et al. The clinicopathological and prognostic significance of PD-L1 expression in gastric cancer: A meta-analysis of 10 studies with 1,901 patients. **Scientific Reports**, v. 6, n. June, 2016b.

ZILBERSTEIN, B.; MALHEIROS, C.; GOMES LOURENÇO, L.; et al. CONSENSO BRASILEIRO SOBRE CÂNCER GÁSTRICO: DIRETRIZES PARA O CÂNCER GÁSTRICO NO BRASIL Brazilian consensus in gastric cancer: guidelines for gastric cancer in Brazil. **ABCD Arq Bras Cir Dig Artigo Original**, v. 26, n. 1, p. 2–6, 2013.

## ANEXO I – CARTA DE ACEITE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



FACULDADE EVANGÉLICA  
MACKENZIE DO PARANÁ



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DA IMUNOEXPRESSÃO DO PDL1 EM CÂNCER GÁSTRICO

**Pesquisador:** ANA CRISTINA LIRA SOBRAL

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 26692919.0.0000.0103

**Instituição Proponente:** INSTITUTO PRESBITERIANO MACKENZIE

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 3.757.678

**Apresentação do Projeto:**

Pesquisa retrospectiva observacional. Os pacientes serão definidos por amostra de conveniência, inclusive os pacientes maiores de 18 anos, submetido à biópsia de adenocarcinoma gástrico para avaliação da imunexpressão do imunomarcador PDL-1. Serão descartados os laudos anatomopatológicos sem dados suficientes para a pesquisa, idade, sexo, diagnóstico, tipo histopatológico segundo a classificação de Lauren e estadiamento do tumor. Serão descartados ainda laudos de pacientes menores de 18 anos de idade e aqueles pacientes cujo material biológico não foi submetido à técnica imuno-histoquímica adequada. Será realizada a coleta dos blocos de parafina e a confecção de lâminas histopatológicas contendo amostras da neoplasia. Os casos serão provenientes do arquivo de blocos e lâminas histopatológicas do Serviço de Anatomia Patológica do Laboratório Byori-Curitiba- PR. Após a seleção dos blocos e lâminas histopatológicas, os casos serão revisados a fim de selecionar as áreas amostrais. As lâminas amostrais serão submetidas ao imunomarcador PDL-1 pela técnica de imuno-histoquímica. Este processo será dividido em 2 fases distintas: a aplicação da técnica de imunohistoquímica padronizada no material do estudo e a leitura da área positiva (com imunomarcagem tecidual positiva). Após determinar a área média de expressão dos marcadores em cada região delimitada, será iniciada a coleta de dados dos laudos anatomopatológicos. O material com as informações ficará guardado sob a responsabilidade dos próprios pesquisadores, com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade.

Endereço: Rua Padre Anchieta, 2770  
 Bairro: Bigorrilho CEP: 80.730-000  
 UF: PR Município: CURITIBA  
 Telefone: (41)3240-5570 Fax: (41)3240-5584 E-mail: comite.etica@feapar.edu.br



FACULDADE EVANGÉLICA  
MACKENZIE DO PARANÁ



Continuação do Parecer: 3.757.678

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário: Avaliar a imunexpressão do PDL-1 em adenocarcinoma gástrico.

Objetivo Secundário: Estudar a relação entre o PDL-1 e o estadiamento do adenocarcinoma gástrico e avaliar a aplicabilidade da pesquisa de PDL-1 na realidade do SUS.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: Uma vez que o estudo será realizado por meio de coleta de dados em laudos histopatológicos, sem exposição dos participantes da pesquisa a nenhum tipo de tratamento que possa trazer alguma injúria física, o único risco a que esta pesquisa será exposta é a possibilidade da divulgação indevida dos dados. No entanto, os pesquisadores comprometem-se a seguir os critérios da ética, mantendo sigilo dos dados coletados durante todas as etapas do processo.

Benefícios: A partir da análise dos resultados, a pesquisa contribuirá para o planejamento e desenvolvimento de futuras ações de promoção de saúde e prevenção da doença para a população em questão.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Não há

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

Adequados.

**Recomendações:**

Não há.

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

Não foram encontrados óbices éticos, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional CNS nº 001 de 2013, manifesto pela aprovação do projeto de pesquisa.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná – CEP/FEMPAR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução 466/12 CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da pesquisa.

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento do projeto, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à

Endereço: Rua Padre Anchieta, 2770  
 Bairro: Bigorrilho CEP: 80.730-000  
 UF: PR Município: CURITIBA  
 Telefone: (41)3240-5570 Fax: (41)3240-5584 E-mail: comite.etica@fepar.edu.br



FACULDADE EVANGÉLICA  
MACKENZIE DO PARANÁ



Continuação do Parecer: 3.757.678

pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1482140.pdf	06/12/2019 13:48:39		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_pdl1_gabriel_vittoria_word_final.docx	06/12/2019 13:48:22	GABRIEL SOARES MARTINS DE SOUZA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_pdl1_gabriel_vittoria_pdf_final.pdf	06/12/2019 13:48:09	GABRIEL SOARES MARTINS DE SOUZA	Aceito
Outros	globocan_1.pdf	06/12/2019 13:46:54	GABRIEL SOARES MARTINS DE	Aceito
Outros	biomarcacao_pdl1_tecido_tumoral_1.pdf	06/12/2019 13:46:27	GABRIEL SOARES MARTINS DE	Aceito
Outros	revolucao_imunoterapia_5.pdf	06/12/2019 13:46:02	GABRIEL SOARES MARTINS DE	Aceito
Folha de Rosto	folharosto_assinada.pdf	05/12/2019 16:05:06	GABRIEL SOARES MARTINS DE	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autobyori.pdf	29/11/2019 16:19:33	ANA CRISTINA LIRA SOBRAL	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CURITIBA, 10 de Dezembro de 2019

Assinado por:  
Sonia Regina Barbosa  
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Padre Anchieta, 2770  
Bairro: Bigorilho CEP: 80.730-000  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3240-5570 Fax: (41)3240-5584 E-mail: comite.etica@fepar.edu.br