

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA E ANATOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA**

Maria Fernanda Barbirato da Mata Tiezzi

"Expressão de microRNAs associados a via serotoninérgica no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma e sua correlação com riscos para ansiedade e depressão"

Ribeirão Preto
2023

MARIA FERNANDA BARBIRATO DA MATA TIEZZI

“Expressão de microRNAs associados a via serotoninérgica no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma e sua correlação com riscos para ansiedade e depressão”

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica - opção:
Morfologia e Medicina Experimental.

Orientadora: Prof.^a. Dr^a. Daniela Pretti da Cunha Tirapelli

Ribeirão Preto
2023

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Tiezzi, Maria Fernanda Barbirato da Mata

Expressão de microRNAs associados a via serotoninérgica no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma e sua correlação com riscos para ansiedade e depressão”, 2023

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Pretti da Cunha Tirapelli.
93f.: il.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Departamento de Cirurgia e Anatomia.

Versão original. 1. glioblastoma, microRNA, biomarcador, serotonina, ansiedade, depressão.

Folha de avaliação

Nome: Tiezzi, Maria Fernanda Barbirato da Mata

Expressão de microRNAs associados a via serotoninérgica no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma e sua correlação com riscos para ansiedade e depressão”

Tese apresentada ao Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Doutora em Ciências Médicas.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr^a

Instituição:

Julgamento: _____

Prof. Dr

Instituição:

Julgamento: _____

Prof. Dr

Instituição:

Julgamento: _____

Prof. Dr

Instituição:

Julgamento: _____

Prof. Dr

Instituição:

Julgamento: _____

Agradecimentos

Agradeço a **Deus**, com certeza ELE esteve presente em muitos momentos dessa jornada, sempre me amparando, guiando, iluminando meu caminho e me fazendo forte a cada dia!

Ao meu marido, **Daniel Guimarães Tiezzi**, pelo apoio, por estar comigo sempre, incondicionalmente.

Aos meus filhos, **Isabela, Maria Antonia e José Armando**. Obrigada pela parceria de sempre, pelas gargalhadas, pelos momentos incríveis que vivemos, pelas conversas até altas horas da madrugada, pela companhia. Vocês alegram minha vida e trazem total sentido pra minha existência.

Aos meus avós, **Alzira e Armando** (in memoriam), impossível esquecer tamanho amor que sempre tiveram por nós, seus netos. Sigo seguindo seus exemplos de amor, caridade, amor ao próximo, sendo sempre humilde e mansa de coração. Sinto saudade todos os dias.

Ao meu pai **Francisco José** (in memoriam) “Naquela mesa tá faltando ele e a saudade dele está doendo em mim”.

À minha mãe, **Zilda**, exemplo de mulher. Sempre me incentivou e não mediu esforços para me ajudar todas as vezes que gritei socorro. Obrigada por tanto!

À minha madrinha, **Maria Helena**, obrigada por todo incentivo, pelo carinho e amor que sempre teve por mim e pela minha família.

À minha irmã, **Juliana**, tenho tanto a agradecer!

Ao meu irmão **Daniel**, obrigada pela força e amizade!

Ao meu afilhado **Pedro**, presente de Deus.

À **Profª Drª Daniela Tirapelli**, pelo convite para ser sua aluna de Doutorado. Obrigada pela dedicação, carinho e orientação. Aprendi muito com você.

Ao **Prof Luís Fernando Tirapelli**, que se mostrou sempre cordial e solícito.

Ao meu amigo e parceiro de laboratório **Fermino Sanches**, obrigada por tudo que fez por mim, sempre disposto e presente em todas as etapas dessa jornada.

Ao meu amigo **Rogério**, técnico do laboratório, que sempre se mostrou disposto a me ajudar. Obrigada por toda dedicação e amizade.

Ao pessoal do laboratório de Biologia Molecular da FMRP-USP, muito obrigada pela parceria e por todos os ensinamentos. Agradeço especialmente à **Profª Drª Andressa**

Romualdo por todo apoio, pelas dicas no trabalho, pelo carinho que sempre me tratou. Gratidão à **Letícia Turra** que também sempre me ajudou em minhas dúvidas. Agradeço também em especial ao **Vagner (Coco), Marcela**, amigos que fiz durante minha estada no laboratório.

Agradeço também ao Mucio Assis que prontamente nos ajudou, colaborando de forma enriquecedora em nosso trabalho.

À **Juliana Pischiottin da Silva Moraes** (secretária do Departamento de Cirurgia e Anatomia da FMRP-USP), obrigada pela ajuda com toda a burocracia, pela paciência e carinho.

Aos amigos do “**Almoço Cheiroso**”, **Ariane, Daniela, Paulão, Valéria, Kaká, Izadora, Claudinha, Luana, e Rose**, vocês fizeram meus dias muito mais alegres, vou sentir falta do nosso cafezinho lá na cozinha.

Aos amigos da “**Salinha Vip**”, **Cris, Fabi, Rafael, Profª Draª Juliana, Letícia, Carol, Marília, Suellen, Valéria, Michele, Ana, Luana e Renata**, obrigada por todos os momentos. Vocês não imaginam a alegria de poder tê-los como amigos!

Em especial a **Cristiana Padovan**, minha amiga! Obrigada pela ajuda com as amostras, pela alegria que você irradia. Com certeza passamos por momentos alegres e difíceis e você sempre com essa garra, e alegria de viver. Agradeço também a **Renata Scichieri** por toda a ajuda com as amostras e por tudo que aprendi com você. À **Fabiana Buono**, amiga que vou levar pra vida!

Ao pessoal da cirurgia experimental da FMRP-USP, obrigada pela ajuda e acolhida.

Às técnicas de laboratório **Cecília Jordani** e **Clarisse**, obrigada por toda ajuda.

À todos os meus amigos e amigas (**Solange, Adriana, Maria Rita, Cris Arantes, Latia**), certamente vocês fizeram essa jornada ser mais alegre, mais tranquila.

A **UNOESTE**, faculdade onde estudei a Psicologia, obrigada!

À **FMRP-USP** que me acolheu e abriu portas pra que eu pudesse aprender sempre mais.

Ao **Departamento de Cirurgia e Anatomia da FMRP/USP e seus funcionários** pela acolhida.

Aos **pacientes** que mesmo diante do momento mais crítico de suas vidas, concordaram em participar desse projeto, mesmo sabendo que o benefício não seria para eles e sim para futuros pacientes.

Ao grupo de cuidados paliativos do HCRP/USP, **Profª Dra Nereida Kilza da Costa**

Lima, docente, Adriana Garbelini, enfermeira, Bruna Teixeira, T.O, Mariana de Jesus Ignácio, secretária e Dr Rodrigo Eboli. Gratidão por me acolher, me ensinar na prática o verdadeiro significado da palavra “amor ao próximo” e “compaixão”.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) -Código de Financiamento 001.”

Dedicatória

Dedico esse trabalho à minha família, à minha orientadora Daniela Tirapelli, aos pacientes e seus familiares e a todos que de alguma forma me ajudaram na concretização desse sonho.

“Quem tem um porquê enfrenta qualquer coisa!!!”

Viktor Frankl

RESUMO

TIEZZI, Maria Fernanda Barbirato da Mata. “Expressão de microRNAs séricos associados a via serotoninérgica no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma e sua correlação com riscos de ansiedade e depressão”. 2023. 93p. Tese (Doutorado). Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

O glioblastoma multiforme é considerado o mais frequente e agressivo dos tumores primários malignos do sistema nervoso central, correspondendo à quarta causa mais comum de morte por câncer. Esses tumores ocorrem com maior frequência em indivíduos do sexo masculino, caucasianos e com faixa etária entre 45 e 70 anos. Apesar dos tratamentos atuais, tais como cirurgia, quimioterapia e radioterapia, o prognóstico de pacientes com diagnóstico de glioblastoma é considerado ruim e a grande maioria dos pacientes apresenta sobrevida menor que dois anos, demonstrando a necessidade de tratamentos adicionais, assim como novas abordagens no diagnóstico precoce destes tumores. Na última década, tem se destacado na literatura o interesse no uso dos microRNAs como biomarcadores em vários tipos de tumores. O papel dos miRNAs na regulação de uma grande variedade de alvos torna esses pequenos RNAs uma ferramenta promissora no auxílio da detecção precoce de várias doenças, podendo ser explorados tanto no diagnóstico como no desenvolvimento de novos alvos terapêuticos. Nos últimos anos, também têm se destacado pesquisas que indicam a importância dos aspectos psicológicos associados às expectativas dos pacientes com diagnóstico de câncer, pois eles podem influenciar no prognóstico desses indivíduos. Dessa forma, a proposta deste trabalho foi avaliar o papel dos miRNAs como biomarcadores associados a aspectos de ansiedade e depressão através da investigação do perfil de expressão de microRNAs reguladores de via serotoninérgica no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma.

Palavras chave: glioblastoma, microRNA, biomarcador, serotonina, ansiedade, depressão.

ABSTRACT

TIEZZI, Maria Fernanda Barbirato da Mata. Expression of serum microRNAs associated with the serotonergic pathway in the plasma of patients diagnosed with glioblastoma and their correlation with the risks of anxiety and depression. 2023. 93p. Department of Surgery and Anatomy, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo.

Glioblastoma multiforme is considered the most frequent and aggressive of the primary malignant tumors of the central nervous system, corresponding to the fourth most common cause of cancer death. These tumors occur more frequently in males, caucasians and aged between 45 and 70 years old. Despite current treatments, such as surgery, chemotherapy and radiotherapy, the prognosis of patients diagnosed with glioblastoma is considered poor and the vast majority have a survival less than two years, demonstrating the need for additional treatments, as well as new diagnostic approaches to these tumors early. In the last decade, there is an interest in the use of microRNAs as biomarkers in various types of tumors has been highlighted in the literature. The role of miRNAs in the regulation of a wide variety of targets make these small RNAs a promising tool in helping to early detect various diseases which can be explored both in diagnosis and in the development of new therapeutic targets. In recent years, research has also shown the importance of psychological aspects associated with the expectations of patients diagnosed with cancer, as they can influence the prognosis of these individuals. Thus, the purpose of this study was to evaluate the role of miRNAs as biomarkers associated with aspects of anxiety and depression by investigating the expression profile of microRNAs that regulate the serotonergic pathway in the plasma of patients diagnosed of glioblastoma..

Keywords: glioblastoma, microRNA, biomarker, serotonin, anxiety, depression.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Sobrevida global dos pacientes diagnosticados com Glioblastoma.....	51
Figura 2.	Expressão dos microRNAs 16, 21, 221, 222 no plasma e de pacientes diagnosticados com glioblastoma e que apresentam ou não risco para com e sem depressão.....	57
Figura 3.	Expressão dos microRNAs 16, 21, 221, 222 em pacientes diagnosticados com glioblastoma e que apresentam ou não risco para a ansiedade.....	58
Figura 4.	Gráfico de dispersão da Expressão dos microRNAs 16, 21, 221, 222 e o escore de ansiedade.....	60
Figura 5.	Gráfico de dispersão da expressão dos microRNAs 16, 21, 221, 221 e o escore de depressão.....	61
Figura 6.	Quantil-Quantil para a distribuição do escore de ansiedade e depressão e expressão microRNAs.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Dados clínicos e epidemiológicos.....	44
Tabela 2.	Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com glioblastoma e que apresentam ou não risco para Transtorno de Humor.....	54
Tabela 3.	Expressão dos microRNAs 16, 21, 221, 222 no plasma de pacientes com glioblastoma e presença de risco para depressão.....	55
Tabela 4.	Expressão dos microRNAs 16, 21, 221, 222 no plasma de pacientes com glioblastoma e presença de risco para ansiedade.....	56
Tabela 5.	Correlação entre o escore de ansiedade, depressão e a expressão dos microRNAs.....	59

LISTA DE SIGLAS

HCFMRP - USP Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto -
Universidade de Ribeirão Preto

SNC Sistema Nervoso Central

GBM Glioblastoma

QV Qualidade de Vida

INCA Instituto Nacional do Câncer

OMS Organização Mundial da Saúde

miRNA microRNA

mRNA RNA mensageiro

TMZ temozolamida

a.c Antes de Cristo

d.c Depois de Cristo

5HT 5 Hydroxytryptamine

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
	1.1. Câncer	20
	1.2. Tumores do Sistema Nervoso.....	22
	1.3. Astrocitomas grau IV - Glioblastomas.....	24
	1.4. Gliomas de alto grau e qualidade de vida.....	25
	1.5. Psico-oncologia.....	26
	1.6. Ansiedade e depressão.....	29
	1.7. Glioblastoma e depressão.....	33
	1.8. microRNAs	36
	1.9. Biomarcadores.....	37
2.	OBJETIVOS	42
3.	PACIENTES E MÉTODOS	44
	3.1 Pacientes.....	44
	3.2 Métodos.....	45
4.	RESULTADOS	51
5.	DISCUSSÃO	64
6.	CONCLUSÕES	75
7.	REFERÊNCIAS	77
	Anexos	88

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A palavra câncer origina-se do latim *cancro*, que significa caranguejo. Esta analogia relaciona-se à característica de infiltração do câncer - semelhante às pernas do crustáceo (FARINHAS, 2013), ou seja, refere-se à ideia de que o câncer torna sua vítima prisioneira da mesma forma que o caranguejo - até a morte. Tal pensamento ilustra o peso que o câncer tem em nosso contexto social, assim como as crenças a ele relacionadas (CARVALHO, 2008); (MÉNDEZ, 1998).

O câncer apresenta um crescimento desordenado de células, podendo invadir tecidos e órgãos. É também considerado um problema de saúde pública, uma vez que, o número de pessoas acometidas pela doença aumentou muito nos últimos anos. O surgimento da doença pode estar associado a estímulos externos, quando relacionadas ao meio ambiente: hábitos ou costumes de uma sociedade específica; ou estímulos internos, quando ligados a predisposições genéticas e à capacidade do organismo de se defender de agressões externas, sendo que ambas podem estar inter-relacionadas (BRAY; FERLAY; SOERJOMATARAM; SIEGEL *et al.*, 2018; CARVALHO, 2008; SONTAG, 1984). Apesar de hoje vivermos uma era de muita evolução tecnológica e científica onde tratamentos e novas drogas são estudadas e identificadas, o estigma do câncer ainda deixa sua marca na vida de muitos pacientes. Segundo alguns autores, apesar da doença, sua etiologia e seus tratamentos serem objetos de pesquisa incessante, o medo ainda permanece estigmatizado em nossa sociedade, impactando de modo negativo na vida dessas pessoas acometidas pela doença e por extensão suas famílias ((FARINHAS, 2013). É o que afirma (GIMENES; CARVALHO; CARVALHO, 2000), quando diz que até o início do século XX o diagnóstico de câncer era considerado sentença de morte, porém, atualmente esse panorama da doença oncológica vem sofrendo mudanças importantes graças aos avanços da medicina no desenvolvimento de cirurgias, radioterapia, quimioterapia, hormonioterapia, imunoterapia, além das contribuições da psiquiatria e psicologia, por meio de estudos sobre fatores psicossociais que por vezes podem estar envolvidos na doença e no seu prognóstico (GIMENES; CARVALHO; CARVALHO, 2000; NEME, 1999).

Entretanto, alguns tipos de tumores ainda permanecem um desafio, em

especial pela sua agressividade e malignidade, entre eles, podemos destacar, o glioblastoma multiforme (GBM), um astrocitoma grau IV, que é o tumor maligno primário mais comum do sistema nervoso central (SNC), que ocorre em 1 em cada 10.000 pacientes ((DE ROBLES; FIEST; FROLKIS; PRINGSHEIM *et al.*, 2015). Muitos fatores fazem com que melhores resultados no tratamento do Glioblastoma sejam um desafio. Na maioria dos casos, a suspeita diagnóstica, o impacto da confirmação da doença, o próprio tratamento e a incerteza da cura, resultam em efeitos traumáticos na vida de qualquer indivíduo, fazendo com que sua qualidade de vida seja prejudicada (BICEGO; BROWN; RUDDICK; STOREY *et al.*, 2009). Devido a todo sofrimento causado por esse tipo de tumor e seu impacto na vida no paciente, há um grande interesse científico em compreender a patogênese dessa doença, uma vez que após os pacientes recebem o diagnóstico os mesmos passam por diversos tratamentos como ressecção cirúrgica total, quimioterapia, radioterapia, e mesmo assim ainda apresentam uma sobrevida média de 12 a 16 meses, com menos de 10% dos pacientes sobrevivendo cerca de 2 anos após o diagnóstico (CHANG; PARNEY; HUANG; ANDERSON *et al.*, 2005; GATELY; MCLACHLAN; DOWLING; PHILIP, 2017).

Alguns estudos demonstram a existência de marcadores associados à saúde mental que poderiam fornecer informações importantes quando analisados para a evolução do prognóstico e diagnóstico do paciente com gliomas de alto grau, entre eles tem se destacado na literatura, os microRNAs (miRNAs ou miRs) que fazem parte de um grupo de pequenos RNAs não-codificantes de proteínas, que apresentam fita simples, constituídos por aproximadamente 22 nucleotídeos e que tem como alvo os RNAs mensageiros (mRNAs) (RICARTE FILHO, 2006). Estes miRNAs agem como importantes reguladores da expressão gênica, atuando a nível pós-transcricional por meio da indução da degradação do mRNA ou bloqueio da síntese proteica (RICARTE FILHO, 2006). Esses miRNAs têm sido relacionados a diferentes processos biológicos tais como: diferenciação celular, proliferação, apoptose e metabolismo celular. Desta forma, são descritos como críticos na iniciação e progressão do câncer (KRETH, 2014). Consequentemente, estudos demonstram que, alguns deles poderiam ser considerados como biomarcadores clínicos para diagnóstico, prognóstico e como fator preditivo de resposta terapêutica (CAMPISI; GULINO; ACQUAVIVA; BELLIA *et al.*, 2010; DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010). Além dessa vantagem, a detecção de biomarcadores no soro e plasma é muito vantajosa por ser um procedimento não

invasivo, e que, portanto, apresenta diversas vantagens em relação à biópsia tecidual (DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010; TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014). Outro fator relevante no desenvolvido de ferramentas que auxiliem no prognóstico, é a avaliação dos níveis de algumas substâncias que tem como objetivo modular reações corporais, garantindo o bom funcionamento do organismo, balanceando o humor, bem estar e disposição, das quais podemos destacar a serotonina ou 5HT – hidroxitriptamina e que segundo alguns autores, está associada a muitos dos transtornos psiquiátricos. Segundo esses estudos, existem evidências biológicas de que o não tratamento dos mesmos se relaciona a uma piora no prognóstico dos pacientes com Transtorno de Humor (ARCHER; HUTCHISON; KORSZUN, 2008). Outros trabalhos demonstram também que pacientes com câncer e que desenvolvem depressão são 2.6 vezes mais suscetíveis a morrer do câncer nos primeiros 19 meses quando comparados com aqueles que não apresentam esse distúrbio (STOMMEL; GIVEN; GIVEN, 2002). Existe a crença de que o ser humano nasce, cresce, se desenvolve e morre tudo em uma sintonia plena. Falar sobre a morte ainda é tabu, e o seu medo é considerado um instinto de sobrevivência inato. Muitos pesquisadores demonstram em trabalhos que quando essas pessoas não pensam a respeito da sua própria morte, acabam por viverem de forma automática, muitos buscando novas possibilidades, novos desafios no trabalho, na vida pessoal, social e também na questão espiritual. Quando esse mesmo sujeito recebe um diagnóstico onde sua finitude é colocada em prova, onde a sintonia plena se vê ameaçada, a conscientização ou a certeza da sua finitude podem provocar sentimentos que interferem na maneira como essa pessoa vai reagir ao tratamento e a sua própria morte. Diante desse processo, muitas mudanças acontecerão na vida do indivíduo e muitos sentimentos e perguntas surgirão a partir desse momento. Junto com as tentativas de tratamentos e prolongamento da vida, esses pacientes irão experimentar um processo prolongado de morte com sintomas terminais uma vez que, na maioria dos casos, os mesmos serão transferidos do conforto do lar para um ambiente hospitalar, onde certamente há maior foco nos aspectos físicos da saúde do que nos aspectos psicossociais do cuidado, incluindo o sofrimento existencial. Um resultado consistente na literatura oncológica é que indivíduos com níveis mais altos de bem-estar existencial (por exemplo, menos medos associados à morte ou recorrência da doença) relatam melhor qualidade de vida (QV) e menor sofrimento emocional

(NORONHA DE PIERRI, 2011).

Dessa forma, se conseguíssemos identificar precocemente, através de um exame simples e não invasivo, pacientes que poderiam vir a desenvolver transtornos como esses, poderíamos intervir de forma a evitar ou amenizar tais sintomas a fim de que esse paciente tenha a sua qualidade de vida e adesão ao tratamento preservados. Por isso existe, há alguns anos, o interesse em estudar os níveis da serotonina, uma vez que este é um neurotransmissor envolvido principalmente na excitação de órgãos e constrição de vasos sanguíneos, envolvido também na regulação da vigília, sono e comportamentos alimentares. Dessa forma, a diminuição de sua liberação no SNC está associada a transtornos afetivos e de humor, tais como: agressividade, depressão e ansiedade, ideação suicida e transtorno obsessivo compulsivo, o que pode acarretar na dificuldade ou não de adesão ao tratamento (DE DEURWAERDÈRE; DI GIOVANNI, 2022; KARMAKAR; LAL, 2021). Com todos esses dados disponíveis, poderíamos conduzir a trajetória do tratamento desse paciente de forma mais assertiva, tendo em mãos indicadores de possíveis complicações, evitando exames desnecessários e invasivos, podendo dessa forma, otimizar os tratamentos, priorizando a qualidade de vida do paciente, seu bem estar físico, emocional, espiritual e social (CHEN; BA; MA; CAI *et al.*, 2008)

1.1 Câncer

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer é definido como um conjunto de doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo, assim, espalhar-se para todo o corpo e promovendo o surgimento de metástases (MUKHERJEE, 2012). Com a divisão celular ocorrendo de forma rápida, essas células passam a ser vistas como agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas (LAN; HESSELGRAVE; CIARLEGLIO; OGDEN *et al.*, 2013; POMPILI; TELERA; VILLANI; PACE, 2014).

As causas de câncer podem ser consideradas de origens externas ou internas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural. As causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-

determinadas, ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. Esses fatores causais podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais (Marília A. de Freitas Aguiar; Paula Azambuja Gomes; Roberta Alexandra Ulrich; Simone de Borba Mantuani, 2019; INCA, 2017).

Existe a necessidade de muita conscientização sobre essa doença porque ela está se tornando uma epidemia global, tendendo a aumentar nos próximos anos. Segundo dados do INCA, atualmente, 7,6 milhões de pessoas no planeta morrem em decorrência da doença a cada ano. Dessas, 4 milhões têm entre 30 e 69 anos. É preciso que haja um plano emergencial de conscientização da população sobre o câncer, seus primeiros sintomas, medidas de prevenção e sobre como e onde procurar ajuda caso isso ocorra. Ou seja, é preciso disseminar informações sobre prevenção e controle da doença. A previsão para 2025 é de que 6 milhões de mortes prematuras por ano aconteçam.

Ainda de acordo com o INCA - Instituto Nacional do Câncer, para cada ano do triênio 2023-2025, são esperados 704 mil novos casos de câncer no Brasil, destacando-se as regiões sul e sudeste. No total estimou-se ocorrências de 21 tipos de câncer que são mais vistos no país. O tumor mais incidente no Brasil e com maior malignidade é o de pele não melanoma (31,3% do total de casos), o segundo é o câncer de mama que acomete mulheres (10,5%), próstata (10,2%), cólon e reto (6,5%), pulmão (4,6%) e por fim o câncer de estômago (3,1%) In: INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). Tipos de câncer. [Brasília, DF]: Instituto Nacional do Câncer, 2010. Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/estomago/definicao>.

Portanto, é importante a atuação dos profissionais da saúde na prevenção da doença, uma vez que quase 80% dos casos de câncer estão relacionados com fatores ambientais e 20% a fatores hereditários. Dessa forma, recomenda-se trabalhar a prevenção primária, que se faz presente na orientação à população quanto à exposição aos fatores de risco. Estes incluem o tabagismo, hábitos sexuais e alimentares, obesidade, etilismo, exposição solar, dentre outros. A prevenção secundária consiste na realização de exames de rastreamento como forma de detecção precoce da doença. Dentre esses exames estão a mamografia, colonoscopia, exame de próstata, papanicolau e depois disso, oferecer tratamento

adequado a fim de curar ou minimizar as consequências da doença. A tentativa de curar a doença já instalada por falta de cuidados primários e secundários é o que chamamos de prevenção terciária (CARVALHO, 2008). Muitos são os sinais de que algo não vai bem com sua saúde. O aparecimento de massas tumorais ou nódulos, presença de aftas na boca, hábitos intestinais desregulados, dor ou dificuldade para engolir, manchas na pele, perda de peso injustificada, todos esses sinais são considerados suspeitos de neoplasias e assim sendo, é de extrema importância a realização de exames para que se chegue a um diagnóstico a fim de traçar uma melhor abordagem terapêutica. O tratamento para neoplasias depende de algumas variáveis, entre elas, o tamanho e localização do tumor. Pode-se optar por cirurgia, quimioterapia, radioterapia, imunoterapia, terapias biológicas, terapia-alvo molecular e terapia endócrina (MALZYNER; CAPONERO, 2013).

1.2. Tumores do SNC

Os tumores do Sistema Nervoso Central (SNC) apresentam altas taxas de morbidade e mortalidade global, destacando-se os gliomas difusos infiltrativos por serem os tumores primários mais frequentes do SNC, nos quais se incluem os astrocitomas, oligodendrogliomas e oligoastrocitomas. As taxas de sobrevivência para os gliomas difusos não apresentam melhora significativa durante as últimas décadas, ressaltando a necessidade de uma melhor compreensão dessas neoplasias e uma nova abordagem para o seu tratamento. No mundo, os tumores do SNC representam 1,9% de todas as neoplasias malignas, com incidência de 3,9 casos a cada 100 mil homens e 3,0 casos a cada 100 mil mulheres. De acordo com o INCA a incidência do câncer cerebral maligno é inferior a 1%. Estimou-se que nos anos de 2020 a 2022, 11.090 novos casos de tumores cerebrais seriam diagnosticados (5.870 em homens e 5.220 em mulheres). Esses números evidenciaram um risco estimado de 5.61 casos novos a cada 100 mil homens e 4.85 para cada 100 mil mulheres. No estado de São Paulo, a taxa estimada de novos casos é de 4.36 casos para cada 100 mil homens e 2.62 casos para cada 100 mil mulheres (INCA, 2017).

Os gliomas de alto grau são os tumores cerebrais malignos mais comuns do SNC, de origem neuroepitelial, desenvolvidos a partir das células da glia (DE ALMEIDA SASSI; LUNARDI BRUNETTO; SCHWARTSMANN; ROESLER *et al.*, 2012;

LOUIS; OHGAKI; WIESTLER; CAVENEE *et al.*, 2007). Esses tumores representam cerca de 30 a 40% de todos os tumores intracraniais, compreendendo um grupo com características genética e histológicas heterogêneas, tornando-se, na sua grande maioria refratários ao tratamento oncológico, impactando e deteriorando de forma negativa a qualidade e sobrevida global dos pacientes. (DE ALMEIDA SASSI; LUNARDI BRUNETTO; SCHWARTSMANN; ROESLER *et al.*, 2012). Os gliomas de alto grau são divididos em: astrocitoma grau III (anaplásico), astrocitoma grau IV (glioblastoma), oligoastrocitoma anaplásico e oligodendroglioma anaplásico, de acordo com suas características histopatológicas e moleculares (OSTROM; BAUCHET; DAVIS; DELTOUR *et al.*, 2014). No ano de 2016, a Organização Mundial de Saúde divulgou uma nova classificação dos tumores do Sistema Nervoso Central, que incluiu também parâmetros moleculares, além das características morfológicas como critérios para o diagnóstico da doença. Cientistas de diversos países estabeleceram bases deste novo conceito absorvendo avanços dessa nova era molecular, incluindo alterações genéticas associadas à etiopatogênese de tumores do SNC. Características essenciais como: mutações, deleções, ampliações, inserções e outras alterações genotípicas, passaram a ser apontadas como características importantes na identidade dos tumores estudados. Dessa forma, com a nova classificação da Organização Mundial da Saúde, houve reestruturação dos gliomas difusos, meduloblastoma e outros tumores embrionários, adicionando alguns novos critérios, excluindo outros que já não têm relevância biológica. Essa nova classificação propõe, dessa maneira, uma nomenclatura que associa o diagnóstico morfológico à sua assinatura molecular. É o caso dos glioblastomas, observando-se a presença ou não da característica genética de mutação no gene IDH (IDH-tipo selvagem e IDH-mutante). Em resumo, a nova Classificação dos Tumores do SNC de 2016, proposta pela Organização Mundial da Saúde favorece a definição de padrões moleculares, novas terapias alvos, padronizando ensaios clínicos e estudos experimentais, definindo dessa maneira uma categorização mais precisa para fins epidemiológicos, além disso, houve a criação de uma categoria temporária (NOS) – *not otherwise specified* na ausência de dados moleculares (LOUIS; OHGAKI; WIESTLER; CAVENEE *et al.*, 2007).

1.3. Astrocitoma grau IV – Glioblastoma

É um tumor primário maligno mais comum e que atinge um grupo específico de células denominadas células da glia, as quais participam nas funções dos neurônios e composição do cérebro. Possui uma incidência de 3,19 casos a cada 100.000 pessoas/ano, observando-se uma prevalência principalmente em adultos e idosos. Com base em sua histologia, os GBMs apresentam figuras de mitose muito evidentes, proliferação microvascular e necrose. O tratamento é baseado em cirurgia e quimiorradioterapia com sobrevida mediana de aproximadamente 14 a 18 meses. Esse tipo tumoral localiza-se, geralmente, nos hemisférios cerebrais, embora possa ser encontrado em qualquer parte do cérebro ou da medula espinhal. Possui elevado grau de malignidade, englobando um elevado número de células e um contato estreito com os vasos sanguíneos, com uma grande capacidade de infiltração e crescimento ao longo do tecido cerebral. No entanto, raramente se espalha para outras zonas do corpo, ou seja, são raros os casos de metástases. Sua frequência aumenta com a idade, embora possa ser encontrado em qualquer faixa etária (HIRTZ; RECH; DUBOIS-POT-SCHNEIDER; DUMOND, 2020).

Os glioblastomas podem ser classificados como glioblastoma primário e secundário. O GBM primário é o tipo mais comum, apresentando um crescimento rápido e extremamente agressivo, e geralmente ocorre após os 55 anos de idade. Já o glioblastoma secundário apresenta um crescimento mais lento, representando cerca de 10% dos glioblastomas, sendo frequentemente encontrado em pessoas com menos de 45 anos (DAVIS, 2016; SIZOO, 2010).

De acordo com a OMS, o astrocitoma é um tumor do SNC, originado de astrócitos, células com formato semelhante a estrelas que sustentam os neurônios. É o tipo mais comum de gliomas e podem ser benignos ou malignos. Podem ser divididos em quatro diferentes graus. A identificação desses graus é feita por meio de análises histopatológicas, além da utilização de exames de imagem como a ressonância magnética. Quanto mais agressivo é o tumor, maior é o seu grau. Quanto menor, mais tempo de sobrevida, o que pode ultrapassar 10 anos em tumores de baixo grau (grau I), sendo que em casos de pacientes acometidos com o tumor alto grau (grau IV) geralmente é menor que um ano.

1.4. Gliomas de alto grau e qualidade de vida (QV)

Atualmente fala-se muito em qualidade de vida, principalmente para pessoas que estão vivenciando uma doença que ameaça sua vida. Essa busca por uma vida saudável tornou-se uma meta constante para pessoas que vivenciam com muitas atividades simultâneas, estresse, falta de tempo para o lazer e para família, incluindo-se dessa maneira todos os problemas de saúde e situações que causam desconforto e insatisfação (TIEZZI, 2017). O termo “Qualidade de Vida” (QV) tem sido usado por diversos setores com interesses diversos. Nos hospitais, centros de pesquisa, universidades e importantes organizações internacionais empenham-se para mostrar o que “Qualidade de Vida” realmente significa e o que se precisa fazer para alcançá-la (FLECK, 2000). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (1995), qualidade de vida é definida como “a percepção do indivíduo de sua inserção na vida no contexto da cultura e sistemas de valores nos quais ele vive e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações”. Dessa forma, partindo do pressuposto de que saúde é o completo bem-estar físico, psíquico e social, o inverso disso nos parece à falta dela (BIGATÃO, 2014). Diante de uma situação ameaçadora da vida e da possibilidade de alguns pacientes evoluírem para estágios onde o prognóstico é ruim, faz-se necessário e importante identificar fatores que possam estar associados à melhora ou à piora de sua qualidade de vida. Essa identificação pode possibilitar o planejamento de ações que maximizem fatores influenciadores na QV dos pacientes com o intuito de prevenir, eliminar ou minimizar aquilo que contribui para piorá-la. Pacientes que recebem um diagnóstico de câncer precisam de algum tempo para se ajustar e pensar nessa nova realidade que se apresenta e naquilo que é considerado mais importante em suas vidas. Aceitar a doença e conviver com a possibilidade de novos sentimentos como, raiva, medo, choque e descrença podem acarretar estresse emocional, sentimentos esses normais diante da situação vivenciada e que podem dificultar o entendimento de algumas informações médicas sobre a doença e seu tratamento (CARVALHO, 2008; ONCOGUIA, 2018).

À medida que a doença atinge fases mais avançadas ou terminais, os sintomas podem se intensificar e comprometer a capacidade de realização das

atividades e cuidados diários. É o que acontece com pacientes acometidos por tumores cerebrais como gliomas de alto grau, que se mostram muito agressivos, apresentando recidiva na maioria das vezes, o que torna difícil as chances de cura, originando assim, inúmeros comprometimentos neurológicos. Déficits funcionais também são citados como sendo algumas das sequelas, e são ocasionados não somente pelo tumor, mas também como consequência dos tratamentos como a radioterapia e quimioterapia (NORONHA DE PIERRI, 2011). Outros sintomas também característicos desses tumores variam de leves a intensos, dependendo da sua localização e tamanho do tumor no cérebro. Dores de cabeça, alterações da motricidade como perda da força ou alteração do caminhar, alterações visuais, alterações da fala, dificuldades cognitivas como de raciocínio ou atenção, alterações da personalidade como apatia, vômitos, crises convulsivas são alguns dos sintomas apresentados pelos pacientes portadores desse tipo de tumor. Dessa forma, as decisões sobre o tratamento devem ser individualizadas para cada caso, levando em consideração o quadro clínico ou a existência de tratamentos prévios, devendo-se priorizar sempre a qualidade de vida do paciente (DOMINGUES, 2013). Haja vista toda essa alteração na vida do indivíduo observa-se que essa questão da doença, o força a privações em relação a sua saúde, da integridade psicológica, da sua vida, cercado-o por medos, incertezas, angústias, instalando, por vezes, um estado de crise, desorganizando sua vida (TELES, 2002).

O sofrimento que vem acompanhado do adoecimento irá alterar o modo como esse indivíduo perceberá sua qualidade de vida, impactando de forma intensa aspectos relacionados aos âmbitos físicos, psíquicos e sociais, modificando o dia a dia desses pacientes (LOUIS; PERRY; REIFENBERGER; VON DEIMLING *et al.*, 2016). Um dos profissionais que irá atuar de forma a minimizar todo esse impacto na vida do paciente oncológico e seus familiares é o psico oncologista ((OTTATI; SOUZA CAMPOS, 2015).

1.5. Psico-oncologia

A psico - oncologia é a área do conhecimento da psicologia da saúde, que vai prestar cuidados aos pacientes com câncer e sua família e a todos os profissionais envolvidos no tratamento desse paciente (CARVALHO, 2008;

HOLLAND, 1989). Desde a antiguidade, questões emocionais são ligadas ou associadas ao surgimento do câncer. Hoje em dia essa concepção já está bem mais estabelecida em nossa sociedade, o que nos leva a entender a necessidade de se combinar o tratamento do câncer com todas as questões biopsicossociais que envolvem o ser humano. Para Hipócrates, que viveu nos anos de (460-370 a.C), a saúde era caracterizada quando o indivíduo atingia uma harmonia, um equilíbrio entre instâncias internas e o meio ambiente. Séculos mais tarde, Galeno, (131-201 d.C), observou que mulheres deprimidas tinham uma maior tendência ao desenvolvimento do câncer do que as que se mostraram mais dispostas e de bem com vida. No século XVII, Descartes (1596-1650) identificou um sistema dicotômico de pensamento. Ele dividiu-o em duas instâncias: *res cogitans* e *res extensa*, exercendo grande influência no pensamento ocidental. Essa visão de divisão nos trouxe a dificuldade de enxergar o homem na sua totalidade, na sua integralidade, porém trouxe um grande desenvolvimento científico e tecnológico. Esse desenvolvimento nos mostrou a proximidade entre mente e corpo, suas relações e interdependências, fazendo com que passássemos a olhar o indivíduo como um todo, revelando dessa forma, a interação de aspectos físicos e psíquicos (SONTAG, 1984).

Desde muito cedo na história, o câncer sempre foi uma doença abafada, escondida por muitos, porque sempre veio carregada de estigmas e medos, como a inevitabilidade da morte, sua origem que a princípio a ligavam com a promiscuidade sexual, à falta de higiene além de se pensar ser uma doença contagiosa. Seu diagnóstico era dado somente a familiares e o doente muitas vezes desconhecia sua enfermidade, prática usada até pouco tempo. O paciente se tornava mero espectador, sem o direito de saber da sua real situação, sobre diagnóstico e prognóstico, ou seja, o paciente não opinava sobre uma condição que o envolvia diretamente. A ele restava cooperar sobre as decisões que eram tomadas por terceiros em relação à sua vida. Essa situação trazia consequências na comunicação entre médicos e familiares. O contato médico-paciente era comprometido, o que deixava o paciente isolado, sem saber o que estava acontecendo com ele. Além desses estigmas, o câncer passou a simbolizar as emoções contidas, aquilo que ficava guardado dentro de nós, aquilo que não éramos capazes de lidar, virava uma doença. Quantas vezes já ouvimos “esse políticos são o câncer desse país”, usado como metáfora de comportamento e condições sociais que significavam destruição ou desintegração moral ou social,

enfazando o preconceito (Marília A. de Freitas Aguiar; Paula Azambuja Gomes; Roberta Alexandra Ulrich; Simone de Borba Mantuani, 2019; SONTAG, 1984).

Desde o fim do século XIX, a Oncologia vem trazendo novidades em pesquisa e tratamento. Na área da cirurgia o advento da anestesia e técnicas cirúrgicas possibilitou a retirada de tumores, tendo como resultado uma grande chance de cura. Dessa forma, começou-se a pensar na ideia do diagnóstico precoce, fazendo com que a intervenção prevenisse a tão temida metástase. Assim, antigos estigmas foram derrubados surgindo um esforço de educação pública para o câncer, ou seja, agora havia uma preocupação para que as mulheres fossem mais bem informadas sobre os primeiros sinais da doença, alertando-as sobre a importância de se diagnosticar precocemente a doença, evitando dessa forma a finitude da vida. Na segunda metade do século XX, começaram a aparecer medicamentos que poderiam tratar o câncer. Um deles foi a mostarda nitrogenada, um gás usado como arma química na Segunda Guerra Mundial. Na década de 1950, uma nova era no tratamento do câncer era vislumbrada, um caso de coriocarcinoma foi tratado com sucesso usando o quimioterápico metotrexate como tratamento. Assim, visando aumentar a sobrevivência e cura dos pacientes acometidos pelo câncer, os médicos começaram a usar a associação de quimioterapia, radioterapia e cirurgia, ampliando dessa forma, o número de casos tratados com sucesso. Todos esses achados tiveram um impacto na relação médico-paciente. O que antes era velado, agora as informações a respeito do diagnóstico, prognóstico e tratamento estavam sendo compartilhadas com a família e com o próprio paciente que passou a participar de forma ativa em seu tratamento. Hoje em dia, os casos de sucesso no tratamento abrangem um número maior de tumores fazendo com que o câncer não seja mais uma sentença de morte, mas sim uma doença crônica, resultando em inúmeros pacientes curados ou pessoas que não foram curadas, mas que convivem com a doença, controlando-a, minimizando sintomas e vivendo com qualidade de vida. Todas essas questões levaram ao surgimento de uma área da psicologia voltada aos cuidados de pacientes, sobreviventes do câncer e todas as implicações biopsicossociais que acompanham a cronicidade da doença. Dessa forma, no decorrer da prática médica, percebeu-se que aspectos psicossociais estavam envolvidos na incidência, evolução e remissão do câncer, o que fez com que muitos profissionais passassem a se preocupar com os aspectos psicológicos que se

apresentavam no adoecimento (HOLLAND, 1989). O desenvolvimento de novas técnicas de abordagem psicológica se fez necessário, visando melhorar a qualidade de vida dos pacientes e de sua família que agora se via dentro de um novo contexto de vida.

Sendo assim, no Brasil temos a definição de Psico - oncologia, elaborada pela psicóloga Maria da Glória Gimenes, em 1993. Para ela, essa área representa a interface entre a psicologia e medicina que utiliza conhecimentos educacionais, profissionais e metodológicos advindos da psicologia da saúde, aplicando-os na assistência ao paciente oncológico, à sua família e aos profissionais de saúde envolvidos com a prevenção, o tratamento, a reabilitação e a fase terminal da doença. A psico - oncologia atua também na área de pesquisa e no estudo de variáveis psicológicas e sociais relevantes para a compreensão da incidência do câncer, sua recuperação e tempo de sobrevivência após o diagnóstico e por fim, na organização de serviços oncológicos que visem ao atendimento integral do paciente (físico e psicológico), enfatizando a formação e o aprimoramento dos profissionais de saúde envolvidos nas diferentes etapas do tratamento (CARVALHO, 2008; TESTON, 2018)

1.6. Ansiedade e depressão

Ansiedade e depressão podem aparecer em diferentes períodos do tratamento de pacientes oncológicos, alterando sua qualidade de vida (BIGATÃO, 2014).

Depressão é uma doença bastante comum no mundo todo, atingindo aproximadamente 280 milhões de pessoas. É uma condição diferente das flutuações de humor a que estamos habituados diante dos desafios da vida. Passa a ser preocupante especialmente quando recorrente e de intensidade moderada e ou grave, podendo dessa forma se tornar um problema sério de saúde, trazendo dificuldade no trabalho, na escola e no convívio familiar. Sabemos que existem alguns tratamentos conhecidos para tais transtornos, porém, mais de 75% das pessoas em países de baixa e média renda não têm acesso a medicamentos e tratamentos. Estudos populacionais em países ocidentalizados sugerem uma prevalência pontual de depressão clínica entre 2% e 5%. Os principais fatores de risco para o desenvolvimento da depressão incluem sexo feminino, história familiar de transtorno

afetivo, baixo status socioeconômico, pouco apoio social, doença física e eventos estressantes na vida. O impacto da depressão no funcionamento biológico e social de uma pessoa está em um espectro de gravidade que pode variar de leve a devastador (Depression, World Health Organization, 2021. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>> Acesso em: 22/02/2023).

O processo de diagnosticar um quadro depressivo no câncer é difícil porque alguns dos seus sintomas aparentes podem ser em decorrência do câncer ou do seu tratamento. A chamada contaminação por critério apresenta um problema considerável para os clínicos que tentam diagnosticar a depressão no glioma. Com exceção dos pensamentos suicidas, todos os sintomas de Transtorno de Depressão Maior (TDM) poderiam ser explicados de forma plausível por consequências diretas ou indiretas do tumor, seu tratamento ou ambos (ROONEY, 2011; ROONEY, 2014). TDM é um distúrbio mental, caracterizado por uma depressão persistente e pela perda de interesse em atividades, prejudicando de forma significativa a vida da pessoa, levando muitas vezes a perdas profissionais, prejuízo físico e psíquico, além da considerável mortalidade por suicídio ou por associação com outras doenças. É considerado uma das mais prevalentes e graves doenças entre todas as enfermidades médicas. Apresenta episódios de longa duração e taxas importantes de cronicidade e de recorrência. Ainda muito estudado, esse transtorno tem como causa possíveis combinações que podem ser de origem biológica, psicológica e social. Os estudos na área ainda sugerem que tais fatores podem até causar mudanças na função cerebral, incluindo alteração na atividade de determinados circuitos neuronais no cérebro (GORINSKI; BIJATA; PRASAD; WIRTH *et al.*, 2019; PRIETO, 2005). Dados de pesquisa apontam que a maioria dos pacientes com glioma se encaixam o suficiente para receber tratamento ativo, lidando relativamente bem com o diagnóstico, mas que uma minoria considerável (na ordem de 15-20%) se tornará clinicamente deprimidos ou que, esses sintomas aparecerão logo após a cirurgia, aumentando ao longo do período de seis meses.

Dessa forma, esses achados indicam a necessidade de estudos sobre depressão em cuidados paliativos e pacientes gravemente incapacitados funcionalmente, visando melhorar a qualidade de vida e a sobrevida. (PACE, 2009; ROONEY, 2011). Qualidade de vida, sintomas de ansiedade e depressão foram

avaliados em pacientes com diagnóstico de meningioma e glioma de alto grau, submetidos à neurocirurgia oncológica. Observou-se que no período pré-operatório os pacientes dos grupos tumorais apresentaram mais sintomas ansiosos do que os dos grupos controle, indicando que os procedimentos cirúrgicos podem também gerar fortes alterações psicoativas nos pacientes (BIGATÃO, 2014).

Sabendo do impacto que a doença tem na vida do paciente, tanto a nível biológico, psicológico ou social, é natural que algumas questões em relação à finitude da vida venham à tona, gerando sofrimento e ansiedade (POMPILI; TELERA; VILLANI; PACE, 2014). No contexto psicossocial, esse indivíduo vai se ver de frente a uma nova realidade, enfrentando dificuldades com relação a alteração da rotina diária, visitando frequentemente ambientes hospitalares, encarando tratamento médicos. Certamente será necessário eleger um cuidador ou buscar uma rede de apoio, uma vez que, o tratamento poderá resultar em mutilações, alteração da imagem corporal e isolamento social (MIRANDA; LANNA; FELIPPE, 2015; NUCCI, 2004).

Todas essas questões biopsicossociais e dúvidas sobre a doença e seu percurso podem de alguma forma, desencadear sofrimento psicológico, demonstrado através de sintomas de ansiedade e depressão, impotência, desesperança, medo e raiva, uma vez que um diagnóstico desse tipo é tido ainda como uma sentença de morte. Dessa forma, identificar precocemente riscos de ansiedade e depressão em pacientes oncológicos, fará com que medidas protetivas em relação à qualidade de vida do paciente sejam feitas, a fim de identificar e priorizar diagnóstico e tratamento desses pacientes (FARINHAS, 2013). Uma das formas de identificar precocemente tais riscos é medindo níveis de determinados neurotransmissores. Percebe-se então que pacientes com o diagnóstico de Glioblastoma durante seus tratamentos e trajetória da doença, apresentam um impacto negativo em suas vidas, uma vez que a função cerebral depende dos controles dos níveis ou da resultante interação dos receptores dos mais diversos neurotransmissores conhecidos, que participam da regulação do processo de comunicação sináptica. Estes receptores têm sido estudados por seu potencial papel relacionado ao controle do desenvolvimento de plasticidade neuronal, ao estado de despertar, ao ciclo sono-vigília e nas mais variadas manifestações de distúrbios neuropsiquiátricos, como transtornos do déficit de atenção e hiperatividade, ansiedade e depressão, distúrbio afetivo, esquizofrenia, distúrbio obsessivo compulsivo, dependência alcóolica, anorexia nervosa e

recuperação após lesão cerebral traumática, doença de Parkinson, isquemia e epilepsia, ou seja, qualquer alteração nos níveis destas substâncias podem gerar diversos transtornos e sintomas (MUGGE; MANSOUR; CRIPPEN; ALAM *et al.*, 2020).

Os neurotransmissores são definidos como pequenas moléculas ou mensageiros químicos responsáveis pela comunicação das células no SN, ou seja, são moléculas que transportam, estimulam e equilibram os sinais entre os neurônios, ou células nervosas do corpo. Na sua maioria, são provenientes de precursores de proteínas e encontrados nos terminais sinápticos dos neurônios. Essas moléculas são liberadas na fenda sináptica agindo em receptores pós-sinápticos localizados no neurônio pós-sináptico. Esses receptores se abrem e liberam na maioria das vezes íons (substância química), dando origem ao que chamamos de transmissão sináptica, onde um impulso nervoso é passado para outra célula. As respostas dadas pelos neurônios a um estímulo vão depender da característica do neurotransmissor e do receptor, essas respostas podem ser excitatórias ou inibitórias, podendo afetar uma ampla variedade de funções físicas e psicológicas, incluindo frequência cardíaca, sono, apetite, humor e medo (GORINSKI; BIJATA; PRASAD; WIRTH *et al.*, 2019).

Existem inúmeros neurotransmissores e estes podem ser classificados de acordo com a categoria que pertencem (aminoácidos, monoaminas e peptídeos). O glutamato, aspartato, glicina, serina e gama – aminobutírico (GABA) se enquadram na categoria dos aminoácidos. Dopamina, serotonina, melatonina, epinefrina e norepinefrina caracterizam os neurotransmissores na categoria das monoaminas. Calcitonina, glucagon, vasopressina, ocitocina e beta-endorfina já são os neurotransmissores na categoria dos peptídeos (GORINSKI; BIJATA; PRASAD; WIRTH *et al.*, 2019). A serotonina, também conhecida como 5-hydroxytryptamine (5 HT), se enquadra na classificação das aminas, encontrando-se, sobretudo no mesencéfalo, tálamo, hipotálamo e amígdala cerebral. É um neurotransmissor envolvido principalmente na excitação de órgãos e constrição de vasos sanguíneos. Por ser um neurotransmissor que tem efeito significativo no humor, na emoção e ansiedade, também está envolvida na regulação da vigília, sono e questões alimentares; sendo assim será o foco das nossas análises no presente estudo. Dessa forma, a diminuição da sua liberação no SNC está associada a transtornos afetivos e de humor, como agressividade, depressão e ansiedade, ideação suicida e transtorno obsessivo compulsivo. Algumas das drogas que tratam da depressão preocupam-se

em elevar os níveis de serotonina no cérebro. Drevets et al, afirmaram que a desregulação no sistema da serotonina tem sido considerado um ponto central na etiologia da desordem depressiva maior e o principal receptor de serotonina inibitório 5-HT1AR parece desempenhar um papel fundamental na neuropatologia da depressão. Neste outro estudo, pesquisadores observaram que o 5-HT1AR está envolvido na regulação dos estados de depressão e ansiedade, demonstrando que camundongos deficientes em 5-HT1AR possuíam aumento das respostas relacionadas à ansiedade, condicionamento ao medo e comportamento de congelamento aumentado. Sua superexpressão induzida durante o início do período pós-natal no prosencéfalo, mas não nos núcleos da rafe, foi considerado suficiente para resgatar o fenótipo comportamental dos camundongos, reforçando a ideia que o 5-HT1AR pós-sináptico é importante na desordem psiquiátrica, além de demonstrar que sua diminuição pode levar a distúrbios de ansiedade e estresse em camundongos e primatas (GORINSKI; BIJATA; PRASAD; WIRTH *et al.*, 2019). Apesar dos esforços, as rotas moleculares que prejudicam o sistema da serotonina na depressão clínica e no suicídio permanecem ainda não totalmente elucidadas.

Há mais de 40 anos, estudos demonstram uma analogia entre eventos estressantes e focos da epidemiologia psiquiátrica (HOLMES; RAHE, 1967). A depressão está entre as principais causas de incapacidade em todo o mundo. No entanto, não são todas as pessoas que quando enfrentam uma situação ou vivenciam situações estressantes, desenvolvem o transtorno. Muitas teorias de genética comportamental, afirmam que o risco da depressão advindo de eventos estressantes da vida é mais elevado entre pessoas que estão em alto risco genético. Além de observar essa correlação entre predisposição genética e eventos estressores, Caspi et al., 2003 descobriram neste estudo que uma ou duas cópias do alelo curto de um polimorfismo do promotor 5 - HT, quando associado com o stress, aumenta o risco de desenvolver o transtorno depressivo (CASPI; SUGDEN; MOFFITT; TAYLOR *et al.*, 2003).

1.7. Glioblastoma e Depressão

O glioblastoma multiforme (GBM), um astrocitoma em estágio IV, é o tumor maligno primário do sistema nervoso central (SNC) mais comum que ocorre em

1 em cada 10.000 pacientes e possui prognóstico bastante reservado, indicando um tempo médio de sobrevivência de 14 a 15 meses (DE ROBLES; FIEST; FROLKIS; PRINGSHEIM *et al.*, 2015).

Muitos estudos têm sido feitos com o intuito de introduzir novas terapias no tratamento do Glioblastoma. Apesar dos avanços nas abordagens diagnósticas e terapêuticas e dos recentes e consideráveis esforços de pesquisa, o protocolo de tratamento ainda é seguido de ressecção cirúrgica, radioterapia e a quimioterapia com temozolamida. Recentes estudos apontam que características patológicas e moleculares, perfil de expressão de genes, tem se mostrado como possíveis biomarcadores úteis para determinar prognóstico, comportamento do tumor e resposta ao tratamento, indicando uma nova abordagem para o tratamento do GBM (YUAN; ZHANG; LIU; LU *et al.*, 2017).

O paciente que recebe um diagnóstico de câncer pode ver sua vida sendo alterada em diversos aspectos e enfrentá-los nem sempre é uma tarefa fácil. A doença geralmente vem acompanhada de muitos sintomas físicos como dor e outros de ordem emocional ou espiritual como raiva, medo, choque e descrença podendo assim, afetar de forma negativa o prognóstico e a adesão ao tratamento (ALACACIOGLU; YAVUZSEN; DIRIOZ; YILMAZ, 2009). Em 1947, a OMS caracterizou saúde como “um estado de bem-estar físico, mental e social total e não exclusivamente a ausência de doença”. Atualmente essa caracterização foi reelaborada e passou-se a entender que a saúde não é somente a ausência de doença, que o bem-estar físico, emocional e social também são partes integrantes do conceito de saúde e que este é subjetivo, por ser considerado como um status de bem-estar e por levar em consideração o contexto histórico de uma sociedade.

Cicely Saunders, na década de 1960, foi pioneira em enxergar o ser humano de forma holística, dando ênfase no conceito de “dor total”, onde o componente físico da dor pode se modificar frente a questões de ordem emocional, social e espiritual. A questão da dor física é concreta aos nossos olhos, e quando essa dor incapacita o indivíduo fazendo-o perder muitos dos seus papéis sociais antes desenvolvidos, causa uma intensa degradação moral desse sujeito. A dor emocional ou psíquica é subjetiva, é diferente para cada um. Muitas pessoas referem sentimentos de desesperança, perda do controle de sua vida, uma vez que as alterações de humor são frequentes, causando indisposição com cuidadores e família.

Alguns relatam também que no meio desse caos físico e emocional, muitas ressignificações acontecem. Existe também a dor social, ou seja, a perda de diversos papéis que antes do adoecimento a pessoa tinha. O papel de provedor da família, o papel frente aos amigos, frente à sociedade, gerando sentimentos de abandono e isolamento. A dor da alma, também conhecida como dor espiritual, refere-se à perda do sentido e significado da vida. Dessa forma, o conceito de “Dor Total” engloba todos esses fatores, sendo todos eles importantes e relevantes para que todos os sintomas possam ser minimizados, priorizando a qualidade de vida desse indivíduo (SEYMOUR; CLARK; WINSLOW, 2005).

De acordo com estudos, neoplasias cerebrais e sintomas psiquiátricos datam da década de 1930 (MADHUSOODANAN; DANAN; MOISE, 2007). No estudo de (MADHUSOODANAN; OPLER; MOISE; GORDON *et al.*, 2010), comprovou-se o que foi visto no estudo de (KESCHNER M, 1938), onde se observou que 78% dos 530 pacientes com tumores cerebrais apresentaram sintomas psiquiátricos. Desses 530, 18% apresentaram tais sintomas como sendo a primeira manifestação clínica de um tumor cerebral. De acordo com a região onde o tumor se encontra, os sintomas podem se apresentar de maneiras diferentes. Neste mesmo estudo, os cientistas conseguiram identificar uma associação entre sintomas de anorexia e tumores hipotalâmicos, associação entre sintomas psicóticos e tumores pituitários, sintomas de memória e tumores talâmicos, transtornos de humor e tumores frontais (MADHUSOODANAN; OPLER; MOISE; GORDON *et al.*, 2010).

No estudo de Cheema *et al.*, 2010, pacientes com GBM que apresentaram lesão nos lobos frontal esquerdo e temporal, poderão apresentar como sintomas de depressão, anedonia, pouca energia, insônia e ideação suicida. Habermeyer *et al.*, 2008 demonstraram que pacientes diagnosticados com GBM, com lesão no lobo frontal direito apresentaram depressão e delirium como sintomas (HABERMEYER; WEILAND; MAGER; WIESBECK *et al.*, 2008). Todos esses exemplos para mostrar que independente da localização do tumor, a depressão vai estar presente, fazendo com que o prognóstico e a adesão ao tratamento sejam dificultadas por todas as questões que envolvem o transtorno.

Para uma melhor compreensão da ansiedade e depressão em pacientes oncológicos, tem se destacado na literatura algumas pesquisas que tem como objetivo compreender vias moleculares associadas à regulação dos receptores

de neurotransmissores. Neste contexto, com o desenvolvimento de novas técnicas no campo da biologia molecular, foram descobertas pequenas moléculas de RNA, denominadas de microRNAs (miRNA), que tem importante papel no controle das vias moleculares de receptores de neurotransmissores, em especial, os receptores serotoninérgicos, os quais foram o alvo desse estudo em questão.

1.8. MicroRNAs

MicroRNAs fazem parte do grupo de pequenos RNAs, não-codificantes de proteínas, que apresentam fita simples, constituídos por aproximadamente 22 nucleotídeos e que tem como alvo os RNAs mensageiros (mRNAs) (RICARTE FILHO, 2006). De acordo com o banco de dados da miRBase Versão 20 (www.mirbase.org/), mais de 24 mil miRNAs em humano foram descobertos até o momento. Estes miRNAs agem como importantes reguladores da expressão gênica, atuando a nível pós-transcricional, por meio da indução da degradação do mRNA ou bloqueio da produção da proteína (RICARTE FILHO, 2006). Exercem seus efeitos regulatórios ligando-se à região 3' não traduzida do mRNA alvo. Quando há complementaridade perfeita entre miRNA e seu mRNA alvo, ocorre a degradação do mRNA, e, quando a complementaridade é imperfeita, a produção da proteína final é bloqueada (BARTEL, 2009). Dado que a sequência do miRNA maduro é curta e a complementaridade exata não é necessária para o silenciamento, um grande número de diferentes mRNAs podem ser regulados por uma única espécie de miRNA (HOMMOND, 2006) e podem ainda, agir de forma cooperativa (KRETH, 2014).

Os miRNAs têm sido relacionados com processos como diferenciação celular, proliferação, apoptose e metabolismo celular. Desta forma, são descritos como críticos na iniciação e progressão do câncer (HOMMOND, 2006; KRETH, 2014) e, conseqüentemente, alguns deles poderiam ser considerados como biomarcadores clínicos para diagnóstico, prognóstico e como fator preditivo de resposta terapêutica (CAMPISI; GULINO; ACQUAVIVA; BELLIA *et al.*, 2010; DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010). Muitos trabalhos são realizados com o objetivo de melhorar o entendimento das alterações de expressão dos miRNAs na gênese dos gliomas, assim como no prognóstico e potencial papel na terapia e no diagnóstico destes tumores (KARSY, 2012). Estudos demonstram que os miRNAs encontrados no soro e

plasma têm uma forte correlação com a classificação e evolução clínica (CHEN; BA; MA; CAI *et al.*, 2008). sendo de grande interesse o uso desse material por se tratar de um procedimento não invasivo (HERMANSEN, 2006; TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014). Dessa forma, o estudo dos microRNAs, seu perfil de expressão podem apresentar-se alterado frente a uma patologia, quando comparado com o perfil de expressão normal. A detecção desses pequenos RNAs circulantes em fluidos humanos é fonte de muitos estudos e nos mostra a sua potencial aplicação no diagnóstico, prognóstico e avaliação do tratamento. Sua aplicação prática como biomarcador é bastante relevante principalmente em doenças nas quais os sinais ou sintomas aparecem numa fase mais tardia e/ou avançada da doença, ou os sintomas são transversais a várias doenças, ou em doenças onde o diagnóstico envolve a realização de técnicas invasivas e desconfortáveis para os doentes, levando a uma piora na qualidade de vida desse indivíduo.

Frente a uma patologia, o perfil de expressão dos miRNAs pode apresentar-se significativamente alterado, comparativamente com o perfil de expressão normal. A detecção dos miRNAs em fluidos humanos levou ao estudo da possível utilização biomédica destes miRNAs circulantes como possíveis biomarcadores. Vários estudos mostram a sua potencial aplicação no diagnóstico, prognóstico, avaliação de tratamento e, adicionalmente, como tratamento (SAAVEDRA; MOLINA-MÁRQUEZ; SAAVEDRA; ZAMBRANO *et al.*, 2016).

A sua aplicação prática como biomarcador em diagnóstico é bastante relevante em doenças nas quais os sinais aparecem numa fase mais tardia e/ou avançada da doença, ou os sintomas são transversais a várias doenças, ou em doenças onde o diagnóstico envolve a realização de técnicas invasivas e desconfortáveis para os doentes (MOHR; MOTT, 2015).

1.9. Biomarcadores

Biomarcadores são características biológicas objetivamente mensuráveis que são utilizadas como indicadores de um estado patológico (DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010; TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014) e permitem também diferenciar vários subtipos e graus dos tumores (TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014). Com o avanço da biologia molecular e consequente conceito

de doença decorrente de alterações de todos os biosistemas, os potenciais biomarcadores incluem perfil genômico, transcriptoma e análise proteômica (DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010). O interesse no uso dos miRNAs como biomarcadores vem aumentando nos últimos anos. Seu papel na regulação de uma grande variedade de alvos torna estes pequenos RNAs uma ferramenta promissora no auxílio da detecção precoce de doenças, podendo ser explorados no diagnóstico, prognóstico e novos alvos terapêuticos. No entanto, a utilização de um único miRNA como biomarcador é limitada devido à falta de especificidade e sensibilidade. Faz-se necessário uma análise da expressão alterada de um conjunto de miRNAs para a utilização destes pequenos RNAs como biomarcadores na detecção de gliomas (DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010).

Os miRNAs podem ser detectados não só a partir de tecidos frescos ou congelados, mas também a partir de fluidos corporais, tais como líquido cefalorraquidiano e sangue, incluindo soro e plasma. (TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014). No entanto, pesquisas recentes demonstraram que os miRNAs presentes no plasma são biomarcadores sensíveis e específicos de vários tipos de câncer, incluindo os gliomas, tendo uma forte correlação com a classificação e curso clínico. A detecção de biomarcadores no soro e plasma é atraente por ser um procedimento não invasivo, e que, portanto, apresenta diversas vantagens em relação à biópsia tecidual (DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010; HERMANSEN, 2006; TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014).

Os miRNAs são liberados por células a partir de exossomos ou complexos miRNA/proteína (TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014). Exossomos são vesículas lipídicas que contêm uma gama de moléculas, incluindo mRNA, miRNA, DNA e proteínas. Essas vesículas são liberadas pelas células e têm função na comunicação celular (THÈRY, 2002). A biogênese dos exossomos é um processo específico e seletivo, de forma que apenas certos miRNAs são incorporados e liberados para a circulação. Como resultado, miRNAs desregulados dentro das células dos gliomas podem não estar presentes dentro dos exossomos e, portanto, miRNAs biomarcadores de tecido e soro/plasma precisam ser investigados independentemente (TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014).

Em gliomas, os miRNAs hipoexpressos são na sua maioria supressores tumorais, ou seja, miRNAs que têm a função de inibir oncogenes. De forma contrária,

miRNAs hiperexpressos em gliomas são, na maioria das vezes, designados como oncogenes e inibem genes que têm grande importância celular (THON, 2013). Em uma visão clínica, estudos demonstraram que, além do potencial uso diagnóstico, alguns miRNAs estão associados com progressão maligna em gliomas, tais como miR-21, miR-124 e miR-128 (DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010). Além disso, altos níveis de miR-21, miR-182, miR-196a/miR-196b e baixos níveis de miR-181b, miR-195, miR-196b e miR-328 foram associados com mau prognóstico em gliomas (HERMANSEN, 2006). Outro estudo comparou expressões diferenciais de miRNAs em tumores astrocíticos e oligodendrogliais, encontrando nove miRNA hiperexpressos e 28 hipoexpressos mais do que duas vezes nos astrocitomas em relação aos oligodendrogliomas, destacando-se durante o estudo uma hiper expressão para o miR-21 e uma hipoexpressão para os miR-124 e miR-128 (ZHANG; ZHAO; GAO; ZHANG, 2012).

Embora os miRNAs pareçam ser biomarcadores extremamente promissores, até agora não existem miRNAs sendo clinicamente utilizados para gliomas (TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014). Ainda há a necessidade de uma considerável quantidade de dados para validar os miRNAs como biomarcadores para tumores do SNC. Para tal, se faz necessário aumentar o número de amostras analisadas, a significância estatística dos dados, melhorar a padronização dos métodos e o número de miRNAs a se analisar. Ainda, a comparação da análise de miRNA com estudos de transcriptoma e proteoma representa o maior desafio para a compreensão clínica e gestão de doenças (DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010). Diante do exposto, se conseguíssemos identificar precocemente, através de um exame simples e não invasivo, pacientes que poderiam vir a desenvolver transtornos como esses, poderíamos intervir de forma a evitar ou amenizar tais sintomas a fim de que esse paciente tenha a sua qualidade de vida e adesão ao tratamento preservados. Por isso existe, há alguns anos, o interesse em estudar os níveis da Serotonina, uma vez que este é um neurotransmissor envolvido principalmente na excitação de órgãos e constrição de vasos sanguíneos, envolvido também na regulação da vigília, sono e questões alimentares. Dessa forma, a diminuição de sua liberação no SNC está associada a transtornos afetivos e de humor, como agressividade, depressão e ansiedade, ideação suicida e transtorno obsessivo compulsivo, o que pode acarretar na dificuldade ou não de adesão ao tratamento.

Com todos esses dados disponíveis, poderíamos conduzir a trajetória do tratamento desse paciente de forma mais assertiva, tendo em mãos indicadores de possíveis complicações, evitando exames desnecessários e invasivos, podendo dessa forma, otimizar os tratamentos, priorizando a qualidade de vida do paciente, seu bem estar físico, emocional, espiritual e social.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Analisar a expressão de microRNAs reguladores de serotonina no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma, avaliando o possível papel diferencial como biomarcadores associados a risco para ansiedade e depressão.

2.2. Objetivos específicos

- Quantificar a expressão dos microRNAs reguladores de serotonina: miR-16, miR-21, miR-221 e miR-222 no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma e correlacionar com risco para transtorno de ansiedade;
- Quantificar a expressão dos microRNAs reguladores de serotonina: miR-16, miR-21, miR-221 e miR-222 no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma e correlacionar com risco para transtorno de depressão;
- Avaliar a sobrevida global dos pacientes com diagnóstico de glioblastoma assim como outras variáveis clínicas e sociais da nossa casuística: idade, escolaridade, tabagismo, ingestão de álcool e práticas de atividades físicas, estado civil e religião, correlacionando tais parâmetros com risco para transtorno de ansiedade e depressão.

PACIENTES E MÉTODOS

3. PACIENTES E MÉTODOS

3.1. Pacientes

No presente trabalho foram utilizadas amostras de plasma coletadas de 13 pacientes com diagnóstico histológico confirmado de gliomas de alto grau segundo os critérios da OMS. A coleta das amostras de sangue foi realizada durante o tratamento cirúrgico realizado pela Divisão de Neurocirurgia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP/USP), no período de 02/2018 à 06/2022. Todos os pacientes envolvidos na pesquisa foram abordados no pré-operatório para a obtenção de assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e para a aplicação dos testes propostos. As amostras de sangue foram coletadas em quantidade aproximada de 10mL e posteriormente centrifugadas por 15 minutos a 3000 rpm e o sobrenadante foi removido para tubos livres de RNase. Este material foi armazenado em *freezer* - 80°C e catalogado no Biorrepositório da Divisão de Neurocirurgia do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, alocado no Laboratório de Biologia Molecular do referido Departamento.

Tabela 1 - Dados Clínicos e epidemiológicos – Dados clínicos e epidemiológicos dos pacientes incluídos nesse trabalho: M – masculino. F – feminino. **Escolaridade:** 1 – ensino fundamental. 2 – ensino médio/superior. **Estado civil:** 1- casado. 2 – solteiro. 3 – divorciado. **Tabagismo:** 1 – sim. 2 – não. **Álcool:** 1 - sim. 2 – não. **Atividade física:** 1 – sim. 2- não. **Religião:** 1 – sim. 2 – não. **Óbito:** 1 – sim. 2 – não.

ID	Sexo	Idade	Escolaridade	Estado civil	Tabagista	Álcool	Atividade física	Religião	Óbito
1	F	36	1	1	2	2	2	2	Sim
2	M	70	1	1	2	2	1	1	Sim
3	F	60	2	1	1	2	2	2	Não
4	M	81	2	1	1	2	2	1	Sim
5	F	68	1	1	2	2	1	1	Sim
6	M	60	1	1	1	1	1	1	Sim
7	F	67	1	3	2	2	2	1	Sim
8	M	77	1	1	1	1	2	1	Sim
9	F	78	1	2	2	2	2	1	Sim
10	M	90	1	1	1	2	1	1	Não
11	F	53	1	2	2	2	2	1	Sim
12	F	64	1	1	1	2	2	1	Sim
13	F	40	1	1	2	2	2	2	Sim

3.1.1. Seleção dos alvos

Os miRNAs selecionados foram analisados pela ferramenta mirPath V.3, disponível online no Diana Tools (<http://snf-515788.vm.okeanos.grnet.gr/>). Esta ferramenta identifica as vias de sinalização da base de dados KEGG (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) que potencialmente são reguladas pela expressão dos miRNAs. Consideramos as vias significantes para os valores de p ajustado pelo FDR menor que 0.05. Assim, foram identificados na análise 4 miRNAs: miR-16, miR-21, miR-221, miR-222 que apresentavam como alvos a via da sinapse serotoninérgica. Os alvos foram confirmados baseados no banco de dados do miRTarBase (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/php/download.php>) e também na literatura. São eles: (DWIVEDI, 2018); (SIMONSON; DAS, 2015); (GHEYSARZADEH; SADEGHIFARD; AFRAIDOONI; POOYAN *et al.*, 2018); (CASPI; SUGDEN; MOFFITT; TAYLOR *et al.*, 2003); (DE DEURWAERDÈRE; DI GIOVANNI, 2022); (DREVETS; FRANK; PRICE; KUPFER *et al.*, 2000).

3.2. Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido junto ao Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP-USP). O projeto teve aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (processo nº HCRP nº 8356/2017 e os participantes dessa pesquisa consentiram com a doação do sangue ao assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, antes da realização da cirurgia.

Para avaliação dos escores de ansiedade, depressão foram utilizados os seguintes instrumentos que foram aplicados pela aluna:

3.2.1. Instrumentos

3.2.1.1. Avaliação de Ansiedade e Depressão

Foi utilizada a Escala de Medida de Ansiedade e Depressão Hospitalar (*Hospital Anxiety and Depression Scale – HAD*). Esta escala é formada de 14 itens

divididos em duas subescalas, cada uma delas consta de sete itens bem definidos para cada transtorno de humor, sendo que sete pesquisam ansiedade (HAD-A) e sete, depressão (HAD-D). Para cada item existem quatro alternativas com uma pontuação, conforme a alternativa assinada, que vai de 0 a 3, sendo que a soma da pontuação obtida para os itens de cada subescala fornece uma pontuação total que vai de 0 a 21. Tendo como ponto de corte 8 para ansiedade e 9 para depressão (ZIGMOND; SNAITH, 1983).

3.2.2. PCR em tempo real

3.2.2.1. Extração de RNA

A extração do RNA foi realizada utilizando o RNeasy Mini Kit (QIAGEN), com protocolo adaptado a partir das orientações do fabricante. Em um tubo falcon estéril e livre de RNase de 15 mL, foi adicionado 4 mL de Trizol LS Reagent® (Invitrogen, EUA) a 400µL de plasma. Depois de homogeneizado, o material ficou em repouso por 5 min em temperatura ambiente. Após isso, foi adicionado 800ul de clorofórmio (proporção 1:5 com a quantidade de Trizol® inicial), misturando vigorosamente por 30 segundos. O material foi deixado em repouso novamente por 3 minutos em temperatura ambiente e posteriormente foi centrifugado por 15 minutos a 12.000g a 4°C. Ao final da centrifugação houve um sistema de 3 fases: incolor=RNA, branco=DNA, vermelho=proteína. A fase incolor foi transferida para outro falcon de 15 ml, e foi adicionado 1,5 vezes o volume conseguido da fase incolor de etanol 100% e vigorosamente a amostra foi agitada.

Em seguida, foi adicionado 700µl dessa solução na coluna RNeasy MinElute Spin®, centrifugado a > 8000 g por ao menos 15 seg. O líquido resultante foi descartado e repetido o passo anterior com o resto da solução até o final da mesma, sempre descartando o líquido resultante. Posteriormente, foi adicionado 700µl de Tampão RWT (Buffer RWT do Kit) em cada coluna, centrifugando também a > 8000 g por ao menos 15 seg, sempre descartando o líquido resultante. Posteriormente, foi adicionado 500µl de Tampão RPE (Buffer RPE do Kit) em cada coluna, centrifugando também a > 8000 G por ao menos 15 seg, e descartando o líquido resultante. Foi adicionado 500µl de Tampão RPE (Buffer RPE do Kit) em cada coluna, centrifugando

também a > 8000g, desta vez por 2 minutos, descartando, o líquido resultante. Foi centrifugado com o máximo da centrífuga por 1 minuto, descartando líquido resultante. Foi trocado o coletor da coluna e adicionou-se 30µl de água RNA-free. Foi centrifugado a > 8000 g por 1 minuto e foi transferido para um Eppendorf o líquido resultante, congelando-o a -80°C imediatamente.

Para a verificação da integridade do RNA obtido, as amostras foram analisadas em Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies) com RNA 6000 Pico chip. Também foi utilizado um equipamento chamado Thermo Scientific NanoDrop 2000, um espectrofotômetro que fornece a concentração de RNA em uma amostra de 1 a 2µl. Além da concentração, este aparelho nos fornece valores de uma razão referentes à pureza das amostras (razão 260/280). A faixa ideal a ser obtida para essa razão é de 1,70 a 2,00.

3.2.2.2. Síntese de DNA complementar (cDNA) para miRNA

Foi realizada a transcrição reversa utilizando o kit comercial High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems). Para a síntese do cDNA do miRNA para cada 5 ng de RNA, adicionou-se 0,75µl de RT Buffer; seguido de 0,075µl de dNTPs; 1,5µl de Primers específicos (miRNA ou controle endógeno) e 0,5µl da enzima MultiScribe™, 0,094µl de RNase out (1.9U), completando com água DEPC para um volume final de 7,5µl. As amostras foram levadas para um termociclador por 30 min a 16°C, 30 min a 42°C, 5 min a 85°C e resfriadas a 4°C, posteriormente as amostras foram armazenadas em freezer -20°C. Para utilizar o cDNA sintetizado na reação de PCR em tempo real, deve-se diluí-lo 1:4 em água DEPC

3.2.2.3.RQ-PCR dos microRNAs

O método de PCR em tempo real foi utilizado para a confirmação da expressão diferencial dos miRNAs. Para a análise quantitativa da expressão, foram utilizados os sistemas disponíveis comercialmente TaqMan Assay-on-demand, compostos por oligonucleotídeos e sondas (Applied Biosystems).

Considerou-se as diferenças causadas por quantidades distintas de cDNA utilizadas nas reações, os valores de CT determinados para as diferentes

amostras, foram normatizados. O CT determinado para uma amostra (para um determinado miRNA) é subtraído do CT determinado para um gene *housekeeping* (neste caso o U6) na mesma amostra, originando o chamado Δ CT. Os valores de Δ CT podem, para um mesmo gene, ser comparados de maneira diferente, obtendo-se uma quantificação relativa da expressão deste gene em diferentes amostras. A cada ciclo, o número de cópias em uma reação de PCR duplica. Assim, o número de ciclos que separa o Δ CT de uma amostra do Δ CT do calibrador, neste caso utilizamos a média das amostras do grupo controle, tendo como resultado $\Delta\Delta$ CT. Esta diferença, em termos de nível de expressão gênica relativa, é obtida de forma aproximada, aplicando a fórmula $2^{-\Delta\Delta$ CT.

As reações de amplificação por Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) quantitativo em tempo real (RQ-PCR) foram realizadas em duplicata numa placa de 96 poços, utilizando o reagente Taqman Master Mix (Applied Biosystems, EUA). A reação teve um volume final de 10 μ l, utilizando 5 μ l do reagente específico Taqman Master Mix, 0,5 μ l de cada sonda específica e 4,5 μ l de cDNA diluído. Um aparelho de detecção de PCR em tempo real 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems) foi utilizado juntamente com o software 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems) para a obtenção dos valores de CT.

As condições padrão de amplificação serão 95°C por 10 minutos, seguidos por 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto (anelamento e extensão simultânea). Os dados foram então exportados para planilhas do software Excel para cálculo dos valores de $2^{-\Delta\Delta$ CT e utilizaremos o software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Prism, Inc, San Diego, CA, EUA), para gerar os gráficos e calcular a significância estatística.

3.2.3. Análise estatística

Para avaliar as diferenças entre os grupos com e sem distúrbio do humor, foi utilizado o teste exato de Fisher para variáveis categóricas e o teste de Mann-Whitney para variáveis contínuas sem distribuição normal. A expressão dos miRNAs foi normalizada pelo \log_{10} e os valores considerados *outliers* foram excluídos para a análise (1 amostra). A normalidade foi verificada pelo gráfico quantil-quantil (ANEXO D) e testada com o teste de Shapiro-Wilk. O teste de Pearson foi utilizado

para análise de correlação entre os escores de depressão e ansiedade com a expressão dos miRNAs. As curvas de Kaplan-Meier foram usadas para estimar a análise de sobrevivência, e as diferenças entre os grupos foram testadas pelo teste de log-rank. A curva de sobrevivência foi baseada na data do diagnóstico da doença (data da cirurgia) e o tempo de observação foi definido na data do óbito ou foi censurado na data da última visita médica. Foi definido o nível de significância em 0,05 e todas as análises foram conduzidas usando o software R versão 4.1.2 [R Core Team (2021), Viena, Áustria].

RESULTADOS

4. RESULTADOS

Dados clínicos epidemiológicos

Para a obtenção dos dados clínicos, utilizamos o prontuário eletrônico dos pacientes. Neste trabalho, coletamos amostras de sangue durante a cirurgia de 13 pacientes com diagnóstico confirmado de GBM (gliomas grau IV, OMS), sendo 8 pessoas do sexo feminino e 5 do sexo masculino, com idades entre 36 e 90 anos. O grupo controle foi composto por 6 mulheres e dois homens, com idades variando entre 20 e 54 anos, sem diagnóstico ou risco para TH. O grupo controle foi criado apenas no sentido de normalizar a expressão dos microRNAs.

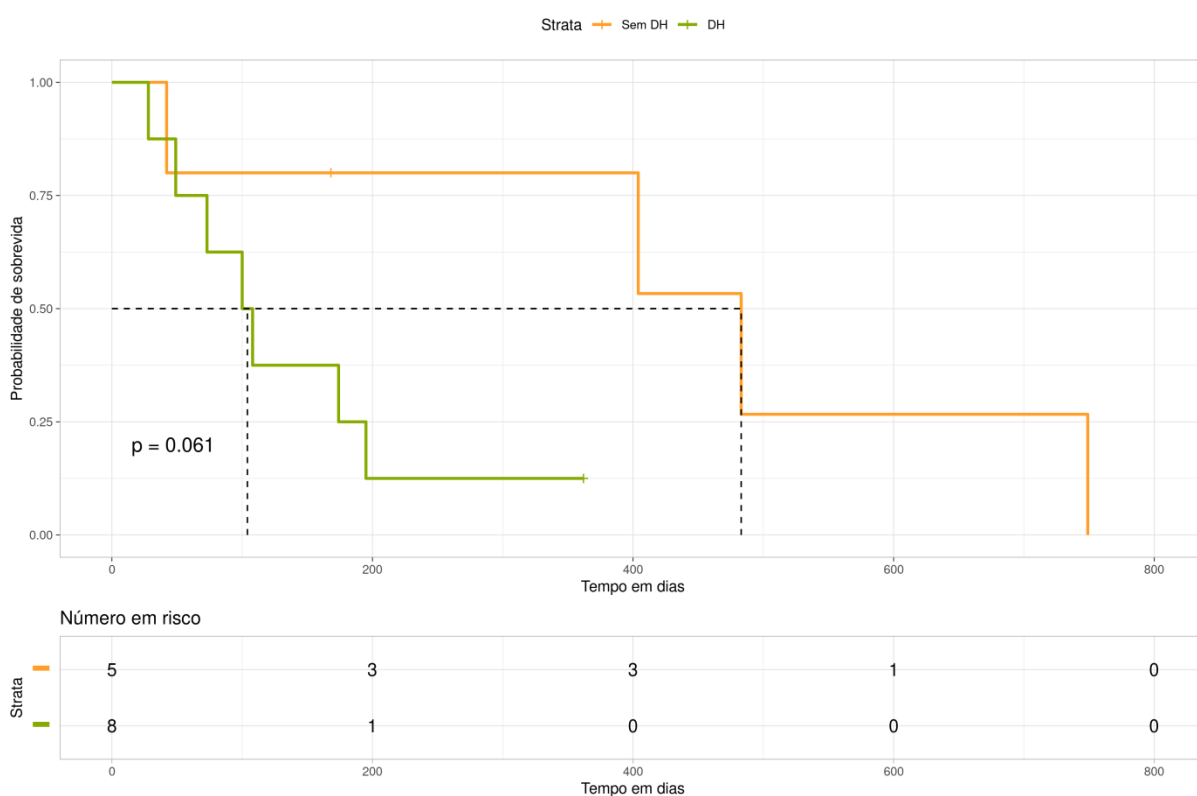


Figura 1: Sobrevida global de 13 pacientes com diagnóstico de GBM de acordo com a presença ou não de distúrbio do humor (DH).

Transtorno do humor e variáveis clínicas e sociais. Foi analisada a associação entre a presença de TH e variáveis clínicas e sociais. A mediana da idade no grupo de pacientes com ansiedade foi de 68 anos (IQR= 10) e no grupo sem ansiedade foi de 68 anos (IQR= 17,5). Não encontramos diferença significativa ($p= 0,6$). A mediana da idade nos grupos sem depressão foi de 70 anos (IQR= 41) e nos grupos com depressão foi de 65,5 anos (IQR = 10,25). Não encontramos diferença significativa ($p= 0,82$).

A mediana da idade para pacientes diagnosticados com GBM e que apresentavam risco para TH foi de 65,5 e o IQR foi de 10.25. Já em pacientes sem risco para transtorno de humor, a mediana foi de 70 e o IQR foi 41 ($p = 0.8$).

Em relação ao sexo, pacientes diagnosticados com GBM e que apresentavam risco para TH 6 (75%) eram do sexo feminino e 2 (25%) eram do sexo masculino. Já para os que não apresentavam risco para TH, 2 (40%) eram do sexo feminino e 3 (60%) do sexo masculino ($p = 0.3$).

Em relação ao estado civil, pacientes diagnosticados com GBM e que apresentavam risco para TH, 5 (62.5%) eram casados e 3 (37.5%) eram solteiros ou divorciados. Para pacientes que não apresentavam risco para TH 5 (100%) eram casados e 0% eram solteiros ou divorciados ($p = 0.3$).

Em relação ao tabagismo, pacientes diagnosticados com GBM e que apresentavam risco para TH, 4 (50%) eram fumantes e 4 (50%) não eram fumantes. Para pacientes que não apresentavam risco para TH 2 (40%) eram fumantes e 3 (60%) não eram fumantes ($p = 1$).

Em relação à escolaridade, pacientes diagnosticados com GBM e que apresentavam risco para TH, 4 (50%) tinham ensino primário e fundamental. Em pacientes diagnosticados sem risco para TH, 1(20%), tinham ensino primário e fundamental. Pacientes diagnosticados com GBM com risco para TH, 4 (50%) tinham ensino médio/superior, e pacientes diagnosticados com GBM sem risco para TH, 4 (80%), tinham ensino médio/superior ($p = 0.6$).

Em relação à atividade física, pacientes diagnosticados com GBM e que apresentavam risco para TH, 2 (25%) praticavam alguma atividade física. Em pacientes diagnosticados com GBM, sem risco para TH, 2 (40%), praticavam alguma atividade física. Pacientes diagnosticados com GBM com risco para TH, 6 (75%) não praticavam atividade física, e pacientes diagnosticados com GBM sem risco para TH, 3 (60%), não praticavam atividade física ($p = 1$).

Em relação à religião, 6 (75%) dos pacientes diagnosticados com GBM e que apresentavam risco para TH eram católicos. Já os evangélicos diagnosticados com GBM, 1 (12.5%) apresentavam risco para TH. Além disso, pacientes diagnosticados com GBM com risco para TH, 1 (12,5%) não tinham religião. Ademais, pacientes diagnosticados com GBM e que não apresentavam risco para TH obtiveram-se 3 (60%), 2 (40%) e 0% para católicos, evangélicos e sem religião, respectivamente ($p = 0.7$).

Analisando o consumo de álcool, observou-se que em paciente com diagnóstico de GBM e que apresentavam risco para TH 2 (25%) consumiam bebidas alcoólicas e 6 (75%) não consumiam bebida alcoólica. Para os pacientes diagnosticados com GBM e que não apresentavam risco para TH 0% consumiam bebida alcoólica e 5 (100%) não consumiam bebida alcoólica ($p = 0.5$). Em relação à cor, observou-se que em paciente com diagnóstico de GBM e que apresentavam risco para TH, 8 (100%) eram brancos e 0% pardos ou pretos. Para os pacientes diagnosticados com GBM e que não apresentavam risco para TH 3 (60%) eram brancos e 2 (40%) eram pardos ou pretos ($p = 1$). A tabela abaixo resume os dados aqui apresentados.

Tabela 2 Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com GBM com e sem risco para TH.

	TH	Sem TH	P
Idade (mediana e IQR)	65,5 (10.25)	70 (41)	0.8
sexo			
feminino	6 (75%)	2 (40%)	
masculino	2 (25%)	3 (60%)	0.3
Estado civil			
casado	5 (62.5%)	5 (100%)	
solteiro/divorciado	3 (37.5)	0	0.2
Tabagismo			
sim	4 (50%)	2 (40%)	
não	4 (50%)	3 (60%)	1
escolaridade			
primário e fundamental	4 (50%)	1 (20%)	
médio/ superior	4 (50%)	4 (80%)	0.6
atividade física			
sim	2 (25%)	2 (40%)	
não	6 (75%)	3 (60%)	1
religião			
católico	6 (75%)	3 (60%)	
evangélico	1 (12.5%)	2 (40%)	
sem religião	1 (12.5%)	0 (0%)	0.7
álcool			
sim	2 (25%)	0 (0%)	
não	6 (75%)	5(100%)	0.5
cor			
branca	8 (100%)	3 (60%)	
parda/preta	0 (0%)	2 (40%)	1

Transtorno de humor e expressão dos microRNAs. Analisamos a expressão dos microRNAs 16, 21, 221 e 222 e a presença ou não de depressão. No microRNA 16, a mediana da expressão do microRNA foi de 0,16 (IQR= 0,4) em pacientes com depressão e 0,08 (IQR= 0,3) em pacientes sem depressão ($p=0,9$). No microRNA 21, a mediana da expressão do microRNA foi de 0,26 (IQR= 0,5) em pacientes com depressão e 0,24 (IQR= 0,7) em pacientes sem depressão ($p=0,7$). No microRNA 221, a mediana da expressão do microRNA foi de 0,64 (IQR = 0,94) em pacientes com depressão e 0,69 (IQR= 1) em pacientes sem depressão ($p=0,9$). No microRNA 222, a mediana da expressão do microRNA foi de 0,44 (IQR= 0,5) em pacientes com depressão e 0,32 (IQR= 0,65) em pacientes sem depressão ($p=0,7$). A tabela x resume os resultados

Tabela 3 Expressão dos miRNAs miR-16, miR-21, miR-221 e miR-222 no plasma de pacientes com GBM e presença de risco para depressão.

microRNA	Com depressão	Sem depressão	P
miR 16	0,16 (0,4)	0,08 (0,3)	0,9
miR 21	0,26 (0,5)	0,24 (0,7)	0,7
miR 221	0,64 (0,94)	0,69 (1)	0,9
miR 222	0,44 (0,5)	0,32 (0,65)	0,7

Analizamos a expressão dos microRNAs 16, 21, 221 e 222 e a presença ou não de ansiedade. No microRNA-16, a mediana da expressão do microRNA foi de 0,23 (IQR= 0,36) em pacientes com ansiedade e de 0,1 (IQR= 0,30) em pacientes sem ansiedade ($p= 0,75$). No microRNA-21, a mediana da expressão do microRNA em pacientes com ansiedade foi de 0,24 (IQR= 0,75) e 0,27 (IQR= 0,27) em pacientes sem ansiedade ($p= 1$). No microRNA-221, a mediana da expressão do microRNA foi de 0,81 (IQR= 0,89) em pacientes com ansiedade e 0,46 (IQR= 0,93) em pacientes sem ansiedade ($p= 0,75$). No microRNA-222, a expressão da mediana no microRNA foi de 0,62 (IQR= 0,39) em pacientes com ansiedade e de 0,23 (IQR= 0,59) em pacientes sem ansiedade ($p= 0,34$).

Tabela 4 Expressão dos microRNAs miR-16, miR-21, miR-221 e miR-222 no plasma de pacientes com GBM e presença de risco para ansiedade

	Com ansiedade	Sem ansiedade	P
miR 16	0,23 (0,36)	0,1 (0,30)	0,75
miR 21	0,24 (0,75)	0,27 (0,27)	1
miR 221	0,81 (0,89)	0,46 (0,93)	0,75
miR 222	0,62 (0,39)	0,23 (0,59)	0,34

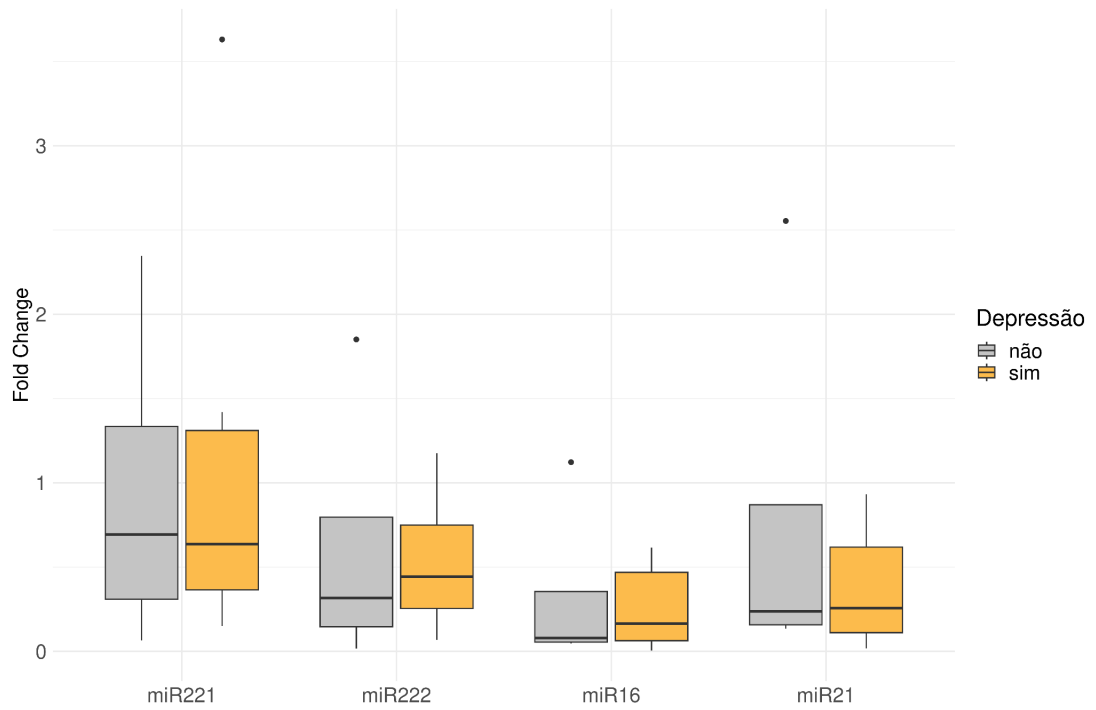


Figura 2. Expressão dos miRNAs miR-16, miR-21, miR-221 e miR-222 no plasma de pacientes com GBM com e sem risco para depressão.

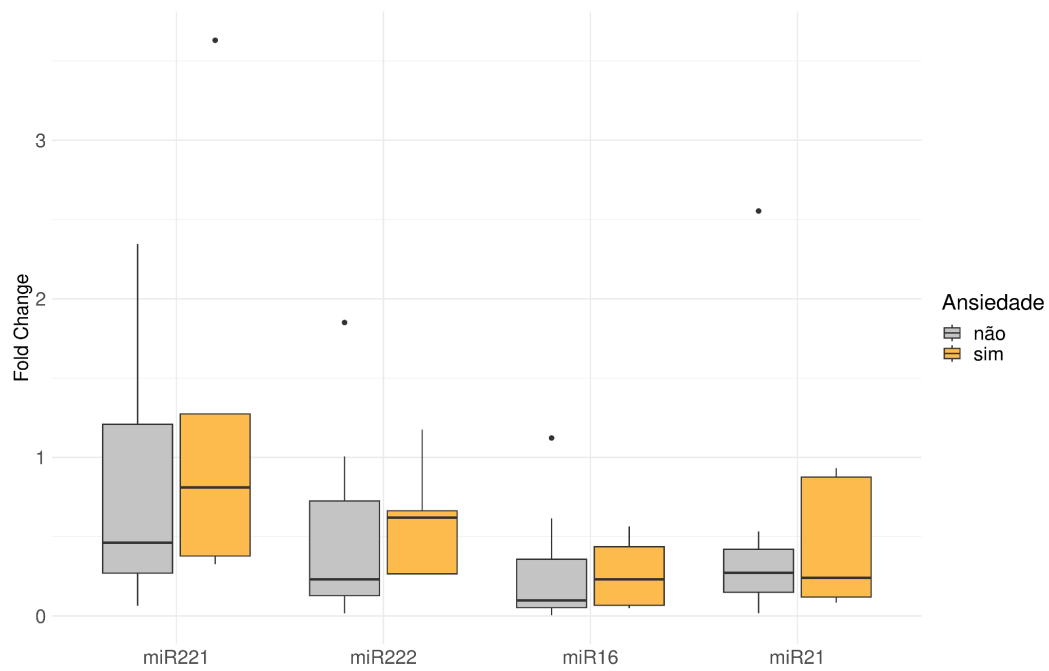


Figura 3 – Expressão dos microRNAs miR-16, miR-21, miR-221 e miR-222 no plasma de pacientes com GBM com e sem risco para ansiedade.

Analizamos a correlação entre o escore de ansiedade, depressão e a expressão dos microRNAs. Para o microRNA-16, o índice de correlação foi de -0,07 (p= 0,8) para depressão e para a ansiedade, o índice de correlação foi de - 0,09 (p= 0,7). Para o microRNA 21, o índice de correlação foi de - 0,17 (p= 0,6) para a depressão e para a ansiedade, o índice de correlação foi de - 0,16 (p= 0,6). Para o microRNA 221, o índice de correlação foi de 0,21 (p= 0,5) para a depressão e para a ansiedade, o índice de correlação foi de 0,05 (p= 0,9). Para o microRNA 222, o índice de correlação foi de 0,03 (p= 0,9) para a depressão e para a ansiedade, o índice de correlação foi de -0,04 (p=0,9).

Como podemos notar não identificamos nenhuma correlação entre os escores de ansiedade e depressão e a expressão dos microRNAs

Tabela 5 - Correlação entre o escore de ansiedade, depressão e a expressão dos microRNAs, mostrados na figura 3 e 4

Escore	miR 16		miR 21		miR 221		miR 222	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Depressão	-0,07	0,8	- 0,17	0,6	0,21	0,5	0,03	0,9
ansiedade	- 0,09	0,7	- 0,16	0,6	0,05	0,9	- 0,04	0,9

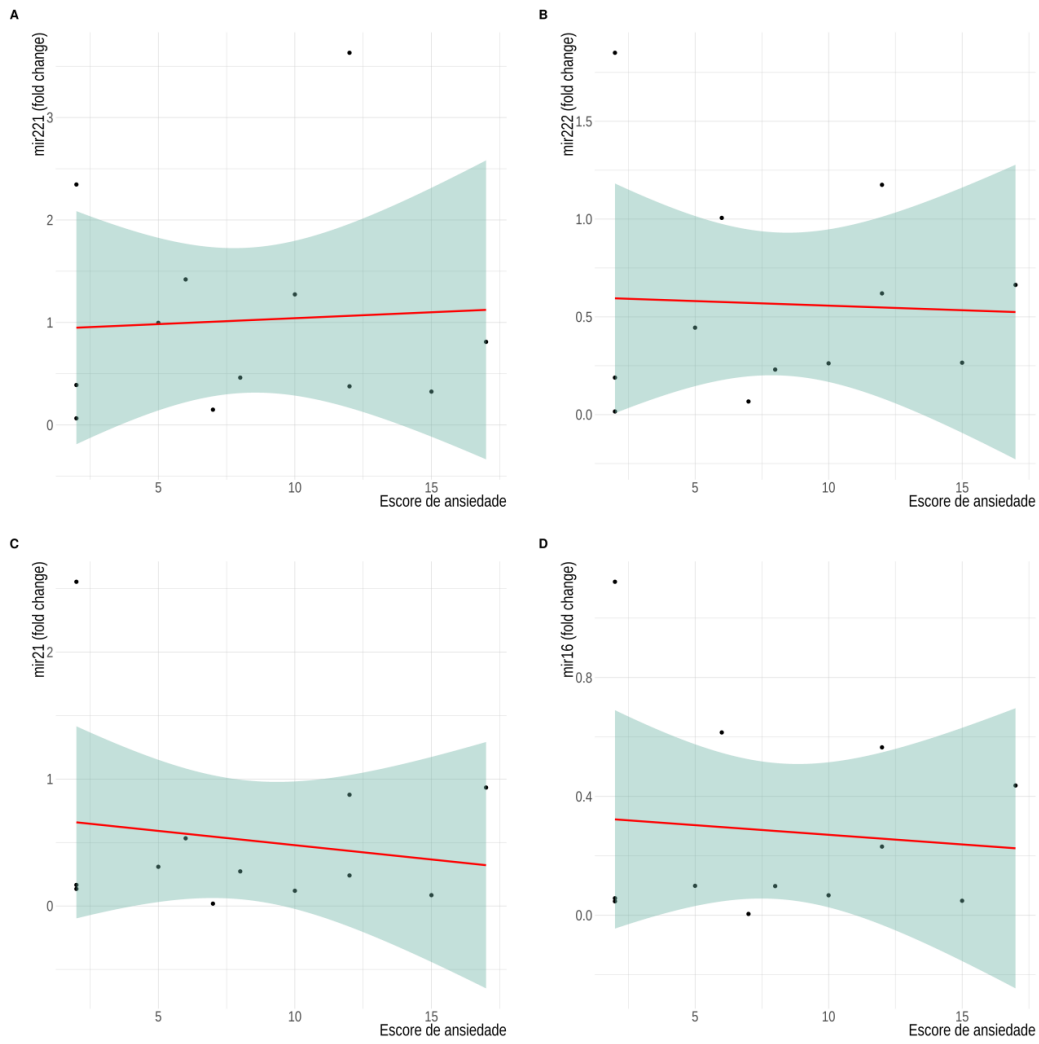


Figura 4 - Gráfico de dispersão da expressão dos miRNAs 221, 222, 21 e 16 e o escore de ansiedade. A linha vermelha e o sombreado representam a regressão linear e o intervalo de confiança 95%, respectivamente.

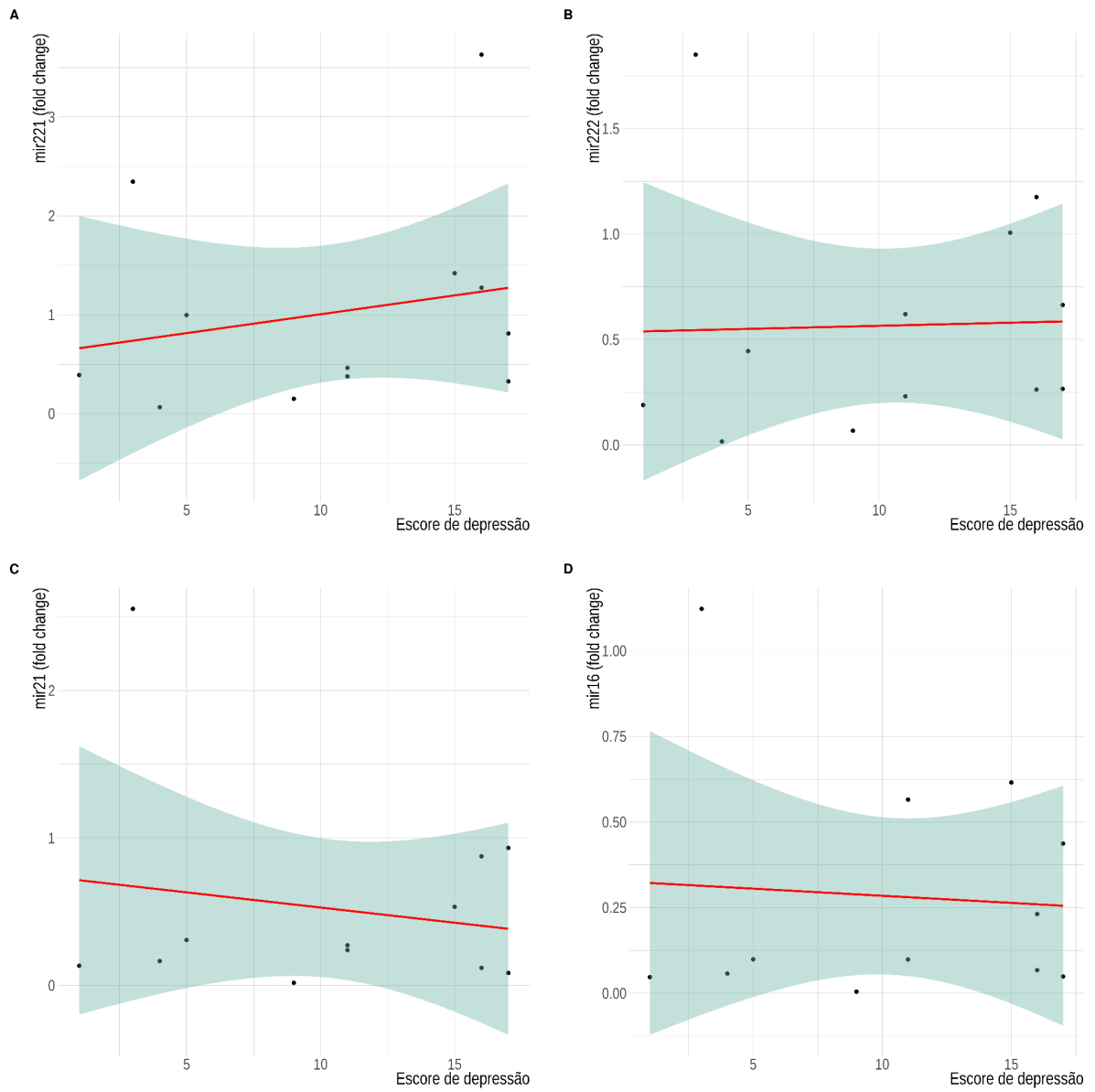


Figura 5 - Gráfico de dispersão da expressão dos miRNAs 2221, 222, 21 e 16 e o escore de depressão. A linha vermelha e o sombreado representam a regressão linear e o intervalo de confiança 95%, respectivamente.

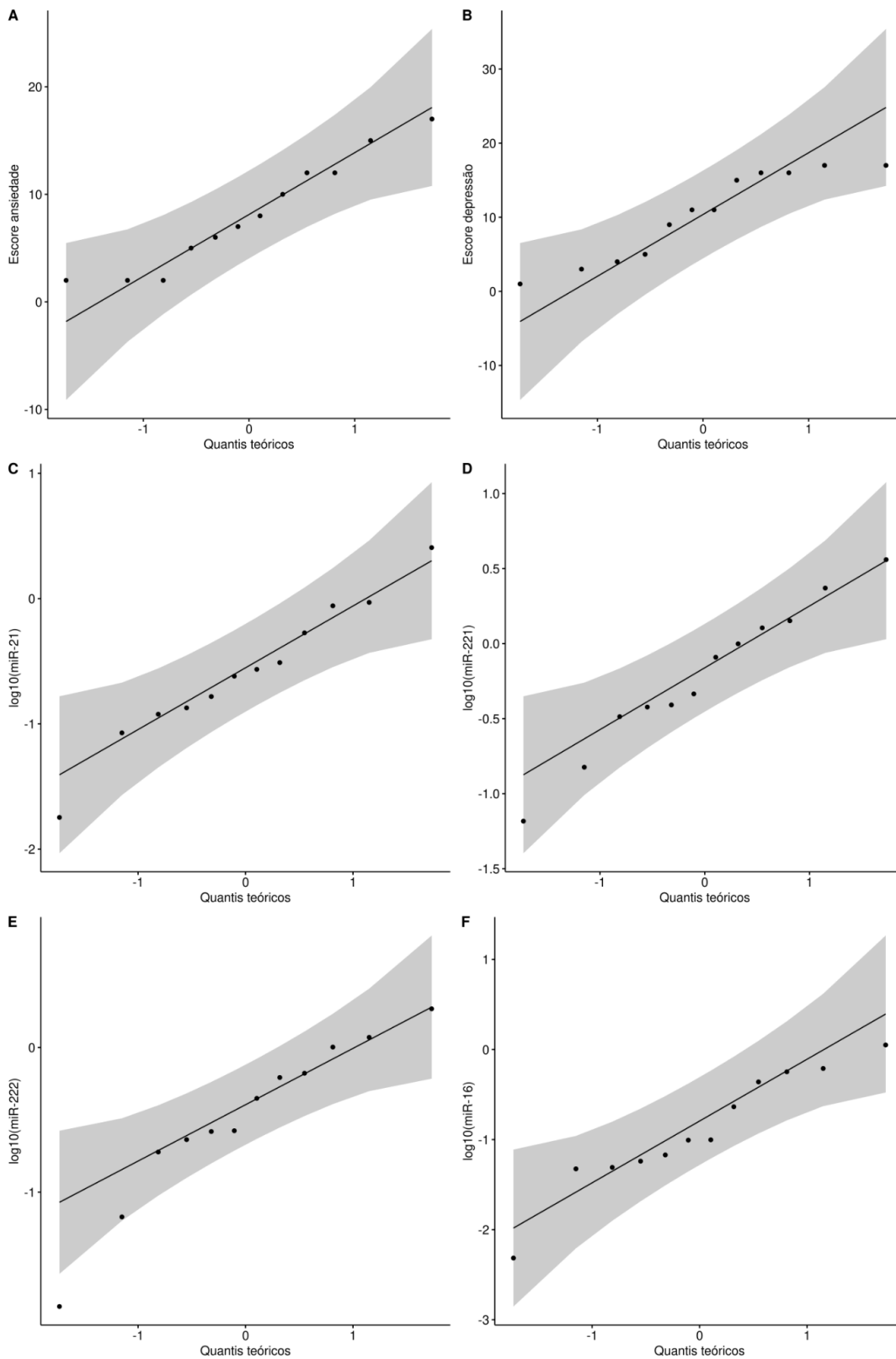


Figura 6 - Quantil-Quantil para a distribuição do escore de ansiedade e depressão e expressão microRNAs.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Em nosso trabalho, avaliamos 13 pacientes diagnosticados com Glioblastoma (GBM) - Glioma de alto grau (OMS) e que passaram por cirurgia no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP). Antes dos pacientes serem encaminhados para o centro cirúrgico para a obtenção do TCLE. Neste mesmo dia, em todos os pacientes, foram aplicados o questionário Hospital Anxiety and depression Scale (HAD), a fim de identificar risco para ansiedade e depressão. A coleta de sangue foi realizada durante a cirurgia e posteriormente armazenada no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para futuras análises. A coleta de sangue do grupo controle, que foi utilizada apenas para normalizar a expressão dos microRNAs, seguiu a mesma sequência. Coletamos também algumas informações sociodemográficas dos pacientes que estavam nos prontuários eletrônicos.

A seleção dos microRNAs: miR-16, miR-21, miR-221, miR-222, foi realizada utilizando-se a ferramenta mirPath V.3, disponível online no Diana Tools (<http://snf-515788.vm.okeanos.grnet.gr/>), que apresentavam como alvos a via da sinapse serotoninérgica assim como artigos científicos que comprovam que os referidos miRNAs regulam os alvos dessa via molecular (GHEYSARZADEH; SADEGHIFARD; AFRAIDOONI; POOYAN *et al.*, 2018); (TUMILSON; LEA; ALDER; SHAW, 2014); (ROSA; FORMOLO; YU; LEE *et al.*, 2022); (DE SMAELE; FERRETTI; GULINO, 2010).

Em nosso estudo, a casuística foi composta por 8 pessoas do sexo feminino e por 5 do sexo masculino com diagnóstico de GBM, com idade entre 36 e 90 anos, o que apresenta dados compatíveis com a literatura em relação à média etária dos pacientes + ou - 62 anos (OSTROM; BAUCHET; DAVIS; DELTOUR *et al.*, 2014).

Em relação a curva de sobrevida, observamos em nosso trabalho que pacientes que pontuaram escores compatíveis para risco de TH tiveram em média uma sobrevida de 370 dias e os pacientes que não pontuaram escores compatíveis para risco de TH viveram em média 780 dias desde o diagnóstico. Esses resultados são compatíveis com os achados de Bergerot e colaboradores que investigaram se havia relação entre os níveis de distress (sofrimento, angústia, aflição) e a sobrevida

global de pacientes recém diagnosticado com câncer de pulmão avançado. Um total de 24 pacientes foram recrutados para participar da pesquisa respondendo ao questionário (DT) Termômetro de Distress no primeiro ciclo de QTX. Desses pacientes, 54% foram identificados com distress moderado a grave, vivendo menos, em média 6,4 meses e observou se tbem um maior número de problemas físicos e emocionais quando comparados aos que apresentaram níveis mais baixos de distress. Isso nos demonstra que pacientes com distress podem ter uma pior sobrevida com agravamento de condições físicas e emocionais. No estudo de Gately e colaboradores (2017), os autores também observaram que a média de sobrevida dos pacientes do estudo com diagnóstico de GBM, foi de 12-14 meses com menos de 10% deles sobrevivendo pelo menos 2 anos do diagnóstico (BURRI; GONDI; BROWN; MEHTA, 2018; DAVIS, 2016; CRISTIANE DECAT BERGEROT ; BUSO, 2015; GATELY; MCLACHLAN; DOWLING; PHILIP, 2017).

Nos resultados do nosso estudo, observamos que a mediana de idade no grupo de pacientes com GBM, com risco para ansiedade foi de 65.5 anos (10.25) e no grupo de pacientes com GBM sem risco para ansiedade foi de 70 anos (41), com um $p=0.8$, sem diferenças significativas.

De acordo com o estudo de (WU; KLOCKOW; ZHANG; LAFORTUNE *et al.*, 2021), a incidência desse tipo de tumor aumenta conforme a idade e atinge as pessoas na faixa dos 75 a 84 anos na população americana. No Brasil, os GBMs representam cerca de 50-60% de todos os pacientes diagnosticados com diagnóstico de gliomas. De acordo com esse mesmo estudo, são mais incidentes em homens do que nas mulheres, numa proporção de 3:2, o que corrobora com as informações do estudo de Wu, 2021 acima citado, quando descreve a incidência maior em homens do que em mulheres assim como em caucasianos do que em outras etnias.

Em relação ao estado civil, pacientes diagnosticados com GBM e que apresentavam risco para TH, 5 (62.5%) eram casados e 3 (37.5%) eram solteiros ou divorciados. Para pacientes que não apresentavam risco para TH, 5 (100%) eram casados e 0% eram solteiros ou divorciados ($p = 0.3$).

Em relação ao estado civil, novamente nosso trabalho não mostrou dados significativos, porém, observamos que pacientes que não apresentavam risco para TH 5 (100%) eram casados. Esses dados corroboram os achados de (JORGETTO; MARCOLAN, 2021), que identificou problemas familiares, tristeza,

perda de relacionamentos afetivos, desemprego, solidão e inabilidade em vivenciar frustrações como sendo fatores de risco para sintomas depressivos. Identificaram também que família e espiritualidade são fatores protetivos.

Em nosso trabalho, com relação ao tabagismo, vimos que 4 (50%) dos pacientes com diagnóstico de GBM e que apresentavam risco para TH eram fumantes e 4 (50%) dos pacientes que apresentavam risco para TH, não eram fumantes. Nos pacientes que não apresentavam risco para TH, 2(40%) eram fumantes e 3(60%) não eram fumantes. Na literatura, muitos dos efeitos da substância que se encontra no cigarro, a nicotina, tem características para diminuir a ansiedade, sensações de euforia, algumas até percebidas como prazerosas fazem com que seu uso seja difícil de ser abandonado (CALHEIROS; OLIVEIRA; ANDRETTA, 2006).

Em nosso estudo, os dados referentes à escolaridade indicam que 4 (50%) dos pacientes com risco para TH tinham apenas o nível primário e fundamental. No grupo de pacientes com risco para TH, 4 (50%) tinham nível superior. No grupo de pacientes que não apresentava risco para TH, 1 (20%), tinham ensino primário ou fundamental, e 4 (80%), tinham ensino médio ou superior. De acordo com a literatura, o nível de escolaridade pode ter impacto na resposta ao tratamento do doente. No estudo de Silva, D. S. 2022, os autores identificaram que mulheres com menor escolaridade se mostraram inclinadas a não procurar tratamento quando foram comparadas com mulheres que apresentavam escolaridade superior. No trabalho também é descrito a associação da baixa escolaridade a estágios mais avançados da doença. Em recente estudo de Silva e Figueiredo (2022), os autores chegaram à conclusão que o nível de alfabetização é importante para indicar níveis de desenvolvimento socioeconômico de uma sociedade, o que pode muitas vezes, influenciar vários aspectos da vida de um sujeito, como a saúde. Neste trabalho, também enfatizaram que o nível de escolaridade, melhora a qualidade de vida e da saúde tem relação estreita e direta, portanto, achados assim nos levam acreditar que pessoas com maior escolaridade têm uma melhor compreensão do processo saúde-doença, maior clareza em relação às consequências do não tratar, possuem uma maior rede de apoio e conhecimento aos acessos à rede de saúde (SILVA; PINTO; FIGUEIREDO, 2022).

Apesar dos dados do nosso trabalho não apresentarem diferença significativa em relação à prática de atividade física em pacientes oncológicos, muitos

artigos evidenciam que ela reduz o risco de câncer, uma vez que o sedentarismo está associado ao surgimento de alguns tipos de câncer. No estudo de Ortega e colaboradores (1998), os autores observaram que muitos fatores podem influenciar no crescimento do tumor e que a prática de atividade física que promove a ativação do sistema imunológico, apresentando papel protetor contra neoplasias. Nessa revisão de literatura, uma amostra de 614 mulheres com idade média de 51 anos, tiveram como intervenção a prática de atividades físicas durante 19 semanas e tempo de execução de 54 minutos. Observaram que essa exposição à prática de atividade física, causou impactos positivos em aspectos funcionais e emocionais avaliados. Dessa forma, chegaram à conclusão que tal prática pode ser um excelente aliado como ferramenta terapêutica no tratamento e prevenção de doenças, melhorando a qualidade de vida das pessoas (ORTEGA; PETERS; BARRIGA; LÖTZERICH, 1998).

Em relação sobre a prática religiosa, alguns estudos têm identificado que a religião e espiritualidade são importantes agentes na saúde física e mental dos indivíduos, agindo como possível fator preventivo, reduzindo dados sobre óbitos e doenças segundo Hummer e colaboradores (2004) que observaram que a frequência religiosa também funciona através dos laços sociais e de fatores baseados no comportamento das pessoas para diminuir os riscos de morte. Já neste outro estudo que tiveram como objetivo compreender a relação entre espiritualidade e religião e o câncer, os autores observaram que o paciente oncológico busca na espiritualidade, uma forma de enfrentamento do momento vivido, no intuito de diminuir o sofrimento e garantir maior esperança de cura com os tratamentos recomendados (HUMMER; ELLISON; ROGERS; MOULTON *et al.*, 2004).

Em nossos resultados não encontramos diferença estatística significativa em relação à religião. Entretanto, podemos observar aumento representativo do número de trabalhos na literatura abordando o papel da religião e da espiritualidade associado tanto ao câncer quanto a transtorno de humor sendo promissores seus achados.

Nossos dados sobre a ingestão de bebidas alcoólicas também apresentaram diferença estatística significativa, entretanto, é sabido que o uso exagerado do álcool provoca quadros patológicos, interferindo assim na saúde do indivíduo, nas relações sociais e automaticamente gerando um problema de saúde pública, segundo Nielsen e Andersen (2022), o álcool é uma substância psicotrópica

depressora do sistema nervoso central, promovendo alterações simultâneas de inúmeras vias neuronais, acarretando dessa forma, repercussões neurológicas, biológicas e conseqüentemente comportamentais. Neste estudo, os autores chegaram à conclusão que os transtornos de humor como a ansiedade e a depressão podem levar ao abuso e dependência prejudicial do álcool. Todas essas questões juntas mais a identificação de uma doença mental pode levar a um pior prognóstico, inflando o nosso sistema de saúde e aumentando níveis de mortalidade (NIELSEN; ANDERSEN, 2022).

Skarstein e colaboradores afirmam que durante o curso da doença oncológica e seus efeitos colaterais, ansiedade e depressão, também aparecem como um sintoma comum. Os autores investigaram níveis de ansiedade e depressão em pacientes em tratamento para a doença oncológica versus pacientes que estavam sendo atendidos em ambulatório, apenas para seguimento, sem evidência de doença. Utilizaram a mesma escala HAD para avaliar o risco para tal transtorno. Observaram uma prevalência de 19% de ansiedade e 5% de depressão nos casos de pacientes em tratamento radioterápico (SKARSTEIN; AASS; FOSSÅ; SKOVLUND *et al.*, 2000).

De acordo com o estudo, o paciente oncológico diante do impacto do diagnóstico, doença, tratamento e suas conseqüência, pode desenvolver sentimentos como ansiedade, depressão e muitos outros transtornos mentais. Tal sofrimento não deve ser ignorado uma vez que isso pode interferir na qualidade de vida do paciente e de seus familiares, afetando de forma negativa sua reabilitação e adesão ao tratamento (SCANNAVINO; SORATO; LIMA; FRANCO *et al.*, 2013).

De acordo com Satin, Linden, & Phillips, 2009, paciente com diagnóstico de câncer apresentam risco elevado de depressão quando comparado com a população geral, e como toda essa questão podem interferir no processo de tratamento (SATIN; LINDEN; PHILLIPS, 2009).

Os sobreviventes de longo prazo do glioblastoma apresentam déficits neurológicos, comprometimento da cognição, sofrimento psicológico, função social reduzida e incerteza futura. Esses problemas resultam na incapacidade de retornar ao trabalho e dificuldades financeiras. A independência nas atividades cotidianas, memória de trabalho e qualidade de vida geral parece estar preservada, entretanto, continuam a ter uma carga significativa de sintomas e necessidades de cuidados. Atualmente, há uma escassez de literatura estudo que abordem este tópico. Mais

pesquisas são necessárias para descrever com precisão essas questões, a fim de melhorar os cuidados de suporte a serem implementados na comunidade e no ambiente ambulatorial (HOPWOOD; HOWELL; MAGUIRE, 1991) .

Nenhum dos resultados das variáveis clínicas e sociais da nossa casuística: idade, escolaridade, tabagismo, ingestão de álcool e práticas de atividades físicas, estado civil e religião apresentaram diferenças estatísticas significativas associados aos riscos para transtornos de ansiedade e depressão, o que nos permite sugerir que número de pacientes possa influenciar de forma muito representativa nos resultados de tais parâmetros. Cabe ressaltar que, o tamanho da amostra e o desenho experimental do nosso trabalho foram alterados em virtude da pandemia da COVID-19.

Além da importância comprovada na literatura das variáveis clínicas e sociais analisadas em nosso trabalho, também é crescente na literatura o número de estudos que demonstraram a potencialidade dos microRNAs como biomarcadores tanto para vários tipos de tumores quanto para transtornos de humor. Estudos recentes tem buscado elucidar modulação dos microRNAs nas vias moleculares associando o câncer a transtornos de humor. Entretanto, ainda são poucos os estudos com foco em câncer e microRNAs reguladores de alvo de vias moleculares alteradas em pacientes com diagnóstico de ansiedade e depressão, demonstrando assim a necessidade de mais pesquisas sobre o assunto.

Entre as vantagens da utilização dos miRNAs circulantes exibem um potencial promissor para servir como biomarcadores de vários tipos de tumores, por serem não invasivos e eficazes para aplicação clínica. Eles podem ser valiosos em vários aspectos, incluindo triagem de câncer em estágio inicial, classificação de subtipos e previsão de sensibilidade a drogas para seleção de estratégia de tratamento e triagem de quimio ou radiorresistência de tumores para prognóstico de resultados e recorrências. Espera-se que estudos em larga escala promovam ainda mais a sensibilidade, especificidade e aplicabilidade de potenciais biomarcadores de miRNA circulantes no futuro.

Desde 1993, com a descoberta dos microRNAs, muitos estudiosos procuram formas de relacionar algumas patologias com a desregulação dos mesmos. Muitos trabalhos com foco em doenças neurológicas, demonstram que microRNAs

podem ser analisados de uma forma menos invasiva, no sangue/plasma/soro de pacientes.

No trabalho de Maffioletti et al, 2016, os autores descrevem os microRNAs: let-7d, miR 34a5p, miR 17-5, miR 24-3p, miR 16, miR 124, miR 133a, miR 144-5p, miR 652, miR 381 como candidatos a biomarcadores no diagnóstico da depressão, sendo que, alguns apresentaram-se com baixos níveis de expressão: miR 16, miR 135a, miR 200c, 320 a, miR 381, miR 517b, miR 636, miR 1202, miR 1243, e os que outros apresentaram altos níveis de expressão: Let-7d-3p, miR-17-5p, miR-24-3p, miR-34a-5p, miR-107, miR-124-3p, miR-132, miR-133a, miR148a miR-182 miR-221-3p, miR-223-3p, miR-425-3p, miR-494, miR-579, miR-589, miR-652, miR-941. Os autores também destacam que o grande desafio é a identificação precoce da depressão e tratamento dos pacientes que se encontram com uma doença que ameaça sua vida a fim de que a adesão ao tratamento seja sempre uma constância, melhorando assim sua qualidade de vida. Também contextualizam que cada indivíduo enfrentará a doença de forma singular, e que essa a doença irá se manifestar diferente, tanto em sintomas como em tempo. Sabemos também que muitos pacientes com sintomas depressivos e que foram tratados com medicamentos, não obtiveram resultados positivos, o que pode indicar agravamento da situação. Os autores ainda ressaltam a potencialidade dos microRNAs como biomarcadores, visto que, já é descrito na literatura que, medicamentos podem modular o perfil de expressão dos microRNAs no sangue dos pacientes com diagnóstico de depressão antes e após tratamento com antidepressivos, como por exemplo hiperexpressos: miR-26b, miR-103, miR-124 miR-128, miR-133a, miR-135a, miR-183, miR-335, miR-494, miR-589, miR-664, miR-941 e miR-1202 e hipoexpressos: miR-16 miR-24-3p miR-34c-5p miR-132 miR-425-3p miR-652 miR-770-5p (MAFFIOLETTI; CATTANEO; ROSSO; MAINA *et al.*, 2016).

Dos microRNAs descritos no trabalho de Maffioletti e colaboradores (2016), analisamos em nosso estudo a expressão do microRNA-21, entretanto, os nossos resultados não corroboram com os achados descritos pelos autores visto que, em nossa casuística, o miR-21 não apresentou correlação para o risco para transtorno de ansiedade assim como para o risco de depressão em seus padrões de expressão (MAFFIOLETTI; CATTANEO; ROSSO; MAINA *et al.*, 2016).

Gheysarzadeh e colaboradores (2018), em estudo de caso-controle com

o objetivo de identificar microRNA com potencial para biomarcador sérico para depressão, utilizaram 39 pacientes com depressão e 36 controles sem diagnóstico de depressão, saudáveis. Para calcular níveis da expressão gênica dos microRNAs, utilizaram o método do PCR em tempo real. Estudaram alguns microRNAs. Os autores destacam que os microRNAs podem ser usados como biomarcadores de diagnóstico de depressão. Porém, reforçam que é preciso ficar atento às desvantagens do uso dos microRNAs, como por exemplo, que os mesmos podem apresentar alterações em seu perfil de expressão em várias doenças, tais como: câncer, infecções e outros distúrbios e, portanto, podem não ser específicos para a depressão. Os autores também relatam que o miR-16 regula fortemente a expressão do transportador de serotonina (SERT), que está associado à depressão, sendo, portanto, um promissor candidato a biomarcador da doença (FÉLIX, 2018).

Assim como o miR-21, em nosso estudo, o miR-16 também não se apresentou diferencialmente expresso para os riscos dos transtornos de ansiedade e depressão. Entretanto, ambos apresentam-se comprovadamente associados quanto com transtorno de depressão assim como regulando vias moleculares importantes em vários tipos de tumores, entre eles os tumores cerebrais com destaque para os glioblastomas (GHEYSARZADEH; SADEGHIFARD; AFRAIDOONI; POOYAN *et al.*, 2018).

Outros microRNAs estão sendo identificados como promissores ferramentas para diagnóstico e monitoramento dos Transtornos de Humor, como por exemplo, estudo recente de Fan *et al.*, 2022, os autores descrevem o miR-221 como biomarcador plasmático para transtorno de depressão. Estudos também comprovam que alterações nos níveis de expressão deste microRNA apresentam valor prognóstico preditivo em tumores altamente malignos como adenocarcinomas pancreáticos, entre outros (FAN; CHEN; ZHOU; HU *et al.*, 2022). O miR-221-3p aumenta a capacidade de proliferação, migração, invasão e resistência a drogas, assim como inibe a apoptose no câncer de pâncreas (WU; HUANG; YANG; ZHU *et al.*, 2020)

Feng e colaboradores, 2019 descrevem que os microRNAs modulam vários genes associados a doenças neurológicas assim como que os mesmos apresentam-se como promissores biomarcadores. Também descrevem que o miRNA miR-221-3p apresenta altos níveis de expressão no líquido cefalorraquidiano e no soro

de pacientes com Transtorno Depressivo Maior. Os autores observaram em seu estudo que a expressão do miR-221-3p no grupo de humor depressivo leve, sendo 2,21 vezes maior do que no grupo controle e no grupo de humor depressivo moderado-grave 3,66 vezes mais do que o grupo controle (FENG et al, 2019).

Muitos estudos descrevem que os miRNAs podem atuar como oncogenes centrais (oncomiRs) ou como supressores tumorais de acordo com seus genes alvos. Os miRNAs miR-221/miR-222 são superexpressos na maioria dos tumores epiteliais. Além disso, apresentam reduções significativas nos níveis de expressão em tumores primários da próstata quando comparados com ao tecido adjacente ao mesmo. Estudos também comprovam que os miR 221/222 contribuem para o crescimento e progressão de células tumorais, portanto, apresentando papéis promissores como ferramentas de diagnóstico, prognóstico e remediação, incluindo os gliomas, com destaque para os Glioblastomas. Várias pesquisas relataram que os miR-221/222 em espécimes de tecido de gliomas e cultura de células de gliomas podem controlar diretamente a apoptose via P53. Também destaca-se na literatura o papel dos outros tipos de tumores: bexiga, pâncreas, colorretal, tireoide, mama, pulmão, câncer, estômago e leucemias, sendo os miR-221/222 modulador chaves da transformação neoplásica, invasão e metástase (LI et 2013).

Apesar da notória potencialidade dos miR-221/222, em nossos resultados não observamos correlação para o risco para transtorno de ansiedade assim como para o risco de depressão nos níveis de expressão mesmos. Entretanto, podemos sugerir que o número pequeno de pacientes da nossa casuística pode ter influenciado em nossos achados.

Os transtornos de ansiedade são as condições psiquiátricas prevalentes na população mundial influenciam na qualidade de vida dos pacientes acometidos por essa doença, sendo seu tratamento de alta complexidade demandando grande necessidade de novas abordagens terapêuticas com maior eficácia e apresentem poucos efeitos colaterais. Neste contexto, os microRNAs regulam vias moleculares que comprovadamente estão envolvidas no desenvolvimento de transtornos de ansiedade e, portanto, os mesmos apresentam potencial para servir como biomarcadores dessa doença, bem como são candidatos promissores a alvos para tratamento farmacológico. Estudos atuais, incluindo estudos pré-clínicos e clínicos de transtornos de ansiedade vêm sendo discutidos e considerados cada vez mais

(DWIVEDI, 2018)

Em nossos resultados, nenhum dos microRNAs estudados, miR-16, miR-21, miR-221 e miR-222 apresentaram correlação significativa com o risco para transtornos de ansiedade. Também não encontramos na literatura a associação direta dos mesmos com a referida doença, sendo evidente a necessidade de mais estudos para elucidar o possível potencial dos microRNAs tanto no desenvolvimento de novas ferramentas para diagnóstico e monitoramento da doença quanto para que os mesmos possam ser considerados como alvos farmacológicos para novas abordagens terapêuticas.

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

- A expressão dos microRNAs reguladores de serotonina, miR-16, miR-21, miR-221 e miR-222, no plasma de pacientes com diagnóstico de glioblastoma, não apresentou potencial como biomarcadores diferenciais associados a risco para ansiedade e depressão.

- Não observamos diferenças entre as variáveis clínicas e sociais da nossa casuística: idade, escolaridade, estado civil, tabagismo, ingestão de álcool e práticas de atividades físicas e religião quando correlacionadas com risco para transtorno de ansiedade e depressão.

REFERÊNCIAS

7. REFERENCIAS

ALACACIOGLU, A.; YAVUZSEN, T.; DIRIOZ, M.; YILMAZ, U. Quality of life, anxiety and depression in Turkish breast cancer patients and in their husbands. **Med Oncol**, 26, n. 4, p. 415-419, Dec 2009.

ARCHER, J.; HUTCHISON, I.; KORSZUN, A. Mood and malignancy: head and neck cancer and depression. **J Oral Pathol Med**, 37, n. 5, p. 255-270, May 2008.

BARTEL, D. P. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. **Cell**, 136, n. 2, p. 215-233, Jan 2009.

BICEGO, D.; BROWN, K.; RUDDICK, M.; STOREY, D. *et al.* Effects of exercise on quality of life in women living with breast cancer: a systematic review. **Breast J**, 15, n. 1, p. 45-51, 2009 Jan-Feb 2009.

BIGATÃO, M. D. R. Qualidade de vida e sintomas de ansiedade e depressão em pacientes com tumores cerebrais primários. CARLOTTI JR, C. G. *Jornal Brasileiro de Psiquiatria* 2014

BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA Cancer J Clin**, 68, n. 6, p. 394-424, 11 2018.

BURRI, S. H.; GONDI, V.; BROWN, P. D.; MEHTA, M. P. The Evolving Role of Tumor Treating Fields in Managing Glioblastoma: Guide for Oncologists. **Am J Clin Oncol**, 41, n. 2, p. 191-196, Feb 2018.

CALHEIROS, P. R. V.; OLIVEIRA, M. D. S.; ANDRETTA, I. Comorbidades psiquiátricas no tabagismo. . **2006**.

CAMPISI, A.; GULINO, M.; ACQUAVIVA, R.; BELLIA, P. *et al.* Reactive oxygen species levels and DNA fragmentation on astrocytes in primary culture after acute exposure to low intensity microwave electromagnetic field. **Neurosci Lett**, 473, n. 1, p. 52-55, Mar 2010.

CARVALHO, V. A. D. **Temas em psico-oncologia.** . 2008.

CASPI, A.; SUGDEN, K.; MOFFITT, T. E.; TAYLOR, A. *et al.* Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. **Science**, 301, n. 5631, p. 386-389, Jul 2003.

CHANG, S. M.; PARNEY, I. F.; HUANG, W.; ANDERSON, F. A. *et al.* Patterns of care for adults with newly diagnosed malignant glioma. **JAMA**, 293, n. 5, p. 557-564, Feb 2005.

CHEEMA, F.A.; BADR, A.; IQBAL, J. Glioblastoma multiforme presenting as treatment-resistant depression. The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences, 2010.

CHEN, X.; BA, Y.; MA, L.; CAI, X. *et al.* Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. **Cell Res**, 18, n. 10, p. 997-1006, Oct 2008.

CRISTIANE DECAT BERGEROT , P. G. B., AUGUSTO PORTIERI PRATA , TEREZA CRISTINA CAVALCANTI FERREIRA DE ARAUJO; BUSO, M. M. Relação entre nível de *distress* e sobrevida em pacientes com diagnóstico de câncer de pulmão com não pequenas células: estudo preliminar. 2015.

DAVIS, M. E. Glioblastoma: Overview of Disease and Treatment. **Clin J Oncol Nurs**, 20, n. 5 Suppl, p. S2-8, Oct 01 2016.

DE ALMEIDA SASSI, F.; LUNARDI BRUNETTO, A.; SCHWARTSMANN, G.;

ROESLER, R. *et al.* Glioma revisited: from neurogenesis and cancer stem cells to the epigenetic regulation of the niche. **J Oncol**, 2012, p. 537861, 2012.

DE DEURWAERDÈRE, P.; DI GIOVANNI, G. Pathophysiology of the Serotonin System in the Nervous System and Beyond. **Int J Mol Sci**, 23, n. 9, Apr 25 2022.

DE ROBLES, P.; FIEST, K. M.; FROLKIS, A. D.; PRINGSHEIM, T. *et al.* The worldwide incidence and prevalence of primary brain tumors: a systematic review and meta-analysis. **Neuro Oncol**, 17, n. 6, p. 776-783, Jun 2015.

DE SMAELE, E.; FERRETTI, E.; GULINO, A. MicroRNAs as biomarkers for CNS cancer and other disorders. **Brain Res**, 1338, p. 100-111, Jun 2010.

DOMINGUES, G. R., ALVES. *Psicologia Hospitalar*. ALVES, K. D. O. 2013.

DREVETS, W. C.; FRANK, E.; PRICE, J. C.; KUPFER, D. J. *et al.* Serotonin type-1A receptor imaging in depression. **Nucl Med Biol**, 27, n. 5, p. 499-507, Jul 2000.

DWIVEDI, Y. MicroRNAs in depression and suicide: Recent insights and future perspectives. **J Affect Disord**, 240, p. 146-154, Nov 2018.

FAN, D.; CHEN, X.; ZHOU, H.; HU, N. *et al.* Plasma microRNA-221-3p as a biomarker for POCD after non-cardiac surgery. **PLoS One**, 17, n. 10, p. e0275917, 2022.

FARINHAS, G. V. Impacto psicológico do diagnóstico de câncer na família: um estudo de caso a partir da percepção do cuidador. . WENDLING, M. I. v.17: p.111-129 p. 2013.

FENG, J.; WANG, M.; LI, M.; YANG, J.; JIA, J.; LIU, L.; ZHOU, J.; ZHANG, C.; WANG, X. Serum miR-221-3p as a new potential biomarker for depressed mood in perioperative patients. *Brain Research*, 2019. Oct 1;1720:146296. doi: 10.1016/j.brainres.2019.06.015. Epub 2019 Jun 15.

FLECK, M. P. D. A. O instrumento de avaliação de qualidade de vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL - 100) características e perspectivas. 2000.

FÉLIX, A. R. L. Blood MicroRNAs as biomarkers for Major Depressive Disorder: diagnostic and evaluation of treatment. 2018.

GATELY, L.; MCLACHLAN, S. A.; DOWLING, A.; PHILIP, J. Life beyond a diagnosis of glioblastoma: a systematic review of the literature. **J Cancer Surviv**, Feb 2017.

GHEYSARZADEH, A.; SADEGHIFARD, N.; AFRAIDOONI, L.; POOYAN, F. *et al.* Serum-based microRNA biomarkers for major depression: MiR-16, miR-135a, and miR-1202. **J Res Med Sci**, 23, p. 69, 2018.

GIMENES, M. G. G.; CARVALHO, M. M. I.; CARVALHO, V. A. **Um pouco da história da psico-oncologia no Brasil.** psicologia da saúde: Pioneira, 2000. 47-71 p.

GORINSKI, N.; BIJATA, M.; PRASAD, S.; WIRTH, A. *et al.* Attenuated palmitoylation of serotonin receptor 5-HT1A affects receptor function and contributes to depression-like behaviors. **Nat Commun**, 10, n. 1, p. 3924, 09 2019.

HABERMEYER, B.; WEILAND, M.; MAGER, R.; WIESBECK, G. A. *et al.* A clinical lesson: glioblastoma multiforme masquerading as depression in a chronic alcoholic. **Alcohol Alcohol**, 43, n. 1, p. 31-33, 2008 Jan-Feb 2008.

HERMANSEN, S. M. MicroRNA biomarkers in glioblastomas. 2006.

HIRTZ, A.; RECH, F.; DUBOIS-POT-SCHNEIDER, H.; DUMOND, H. Astrocytoma: A Hormone-Sensitive Tumor? **Int J Mol Sci**, 21, n. 23, Nov 30 2020.

HOLLAND, J. C. Handbook of psychooncology: Psychological care of the patient with cancer. ROWLAND, J. H. 1989.

HOLMES, T. H.; RAHE, R. H. The Social Readjustment Rating Scale. **J Psychosom**

Res, 11, n. 2, p. 213-218, Aug 1967.

HOMMOND, S. M. MicroRNAs as oncogenes. *Current opinion in Genetics & Developments*. 2006.

HOPWOOD, P.; HOWELL, A.; MAGUIRE, P. Psychiatric morbidity in patients with advanced cancer of the breast: prevalence measured by two self-rating questionnaires. **Br J Cancer**, 64, n. 2, p. 349-352, Aug 1991.

HUMMER, R. A.; ELLISON, C. G.; ROGERS, R. G.; MOULTON, B. E. *et al.* Religious involvement and adult mortality in the United States: review and perspective. **South Med J**, 97, n. 12, p. 1223-1230, Dec 2004.

INCA. Estimativa 2018 - Incidência de câncer no Brasil. 2017.

JORGETTO, G. V.; MARCOLAN, J. F. Risk and protective factors for depressive symptoms and suicidal behavior in the general population. **Rev Bras Enferm**, 74, n. suppl 3, p. e20201269, 2021.

KARMAKAR, S.; LAL, G. Role of serotonin receptor signaling in cancer cells and anti-tumor immunity. **Theranostics**, 11, n. 11, p. 5296-5312, 2021.

KARSY, M. Current Progress on Understanding in MicroRNAs in Glioblastoma Multiforme. 2012.

KESCHNER M, B. M., STRAUSS I. Mental symptoms associated with brain tumor: a study of 530 verified cases. 1938.

KRETH, S. Epigenetics in humans glioma. 2014.

LAN, M. J.; HESSELGRAVE, N.; CIARLEGLIO, A.; OGDEN, R. T. *et al.* Higher pretreatment 5-HT1A receptor binding potential in bipolar disorder depression is associated with treatment remission: a naturalistic treatment pilot PET study. **Synapse**,

67, n. 11, p. 773-778, Nov 2013.

LOUIS, D. N.; OHGAKI, H.; WIESTLER, O. D.; CAVENEE, W. K. *et al.* The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. **Acta Neuropathol**, 114, n. 2, p. 97-109, Aug 2007.

LOUIS, D. N.; PERRY, A.; REIFENBERGER, G.; VON DEIMLING, A. *et al.* The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. **Acta Neuropathol**, 131, n. 6, p. 803-820, Jun 2016.

MADHUSOODANAN, S.; DANAN, D.; MOISE, D. Psychiatric manifestations of brain tumors: diagnostic implications. **Expert Rev Neurother**, 7, n. 4, p. 343-349, Apr 2007.

MADHUSOODANAN, S.; OPLER, M. G.; MOISE, D.; GORDON, J. *et al.* Brain tumor location and psychiatric symptoms: is there any association? A meta-analysis of published case studies. **Expert Rev Neurother**, 10, n. 10, p. 1529-1536, Oct 2010.

MAFFIOLETTI, E.; CATTANEO, A.; ROSSO, G.; MAINA, G. *et al.* Peripheral whole blood microRNA alterations in major depression and bipolar disorder. **J Affect Disord**, 200, p. 250-258, Aug 2016.

MALZYNER, A.; CAPONERO, R. *Cancer e prevenção*. 2013.

Marília A. de Freitas Aguiar; Paula Azambuja Gomes;Roberta Alexandra Ulrich; Simone de Borba Mantuani. 2019.

MIRANDA, S. L.; LANNA, M. A. L.; FELIPPE, W. C. **Espiritualidade, depressão e qualidade de vida no enfrentamento do cancer: estudo exploratório.** 2015.

MOHR, A. M.; MOTT, J. L. Overview of microRNA biology. **Semin Liver Dis**, 35, n. 1, p. 3-11, Feb 2015.

MUGGE, L.; MANSOUR, T. R.; CRIPPEN, M.; ALAM, Y. *et al.* Depression and

glioblastoma, complicated concomitant diseases: a systemic review of published literature. **Neurosurg Rev**, 43, n. 2, p. 497-511, Apr 2020.

MUKHERJEE, S. **O imperador de todos os males: uma biografia do cancer**. Companhia das Letras, 2012.

MÉNDEZ, C. L. **A constituição do patológico: ensaio para ser lido em voz alta por duas pessoas**. 1998.

NEME, C. M. B. **Enfrentamento do câncer: ganhos terapêuticos com psicoterapia num serviço de psicooncologia em hospital geral**. 1999. - Departamento de Psicologia da Pontifícia Universidade Católica.

NIELSEN, B.; ANDERSEN, K. [Alcohol, anxiety, and depression]. **Ugeskr Laeger**, 184, n. 14, Apr 04 2022.

NORONHA DE PIERRI, J. Assessment of functional independence and quality of life after surgery for brain tumor. 2011.

NUCCI, N. A. G. **Qualidade de vida e câncer: um estudo compreensivo**. 2004.

ONCOGUIA, I. **Como lidar com o diagnóstico de câncer?** 2018.

ORTEGA, E.; PETERS, C.; BARRIGA, C.; LÖTZERICH, H. **A atividade física reduz o risco de câncer?** 1998.

OSTROM, Q. T.; BAUCHET, L.; DAVIS, F. G.; DELTOUR, I. *et al*. The epidemiology of glioma in adults: a "state of the science" review. **Neuro Oncol**, 16, n. 7, p. 896-913, Jul 2014.

OTTATI, F.; SOUZA CAMPOS, M. P. **Qualidade de vida e estratégias de enfrentamento de pacientes em tratamento oncológico**. 2015.

PACE, A., LORENZO. C. DI, GUARIGLIA, L. End of life issues in brain tumor patients. 2009.

POMPILI, A.; TELERA, S.; VILLANI, V.; PACE, A. Home palliative care and end of life issues in glioblastoma multiforme: results and comments from a homogeneous cohort of patients. **Neurosurg Focus**, 37, n. 6, p. E5, Dec 2014.

PRIETO, J. M. E. A. **Role of depression as a predictor of mortality among cancer patients after stem-cell transplantation.** 2005.

RICARTE FILHO, J. C. M. MicroRNAs: nova classe de reguladores gênicos envolvidos na função endócrina e câncer. 2006.

ROONEY, A. G. Frequency, Clinical Associations, and Longitudinal course of major depressive disorder in adults with cerebral gliomas. MCNAMARA, S. 2011.

ROONEY, A. G. Depression in glioma: a primer for clinicians and researchers. REIJNEVELD, J. C., & GRANT, R. 2014.

ROSA, J. M.; FORMOLO, D. A.; YU, J.; LEE, T. H. *et al.* The Role of MicroRNA and Microbiota in Depression and Anxiety. **Front Behav Neurosci**, 16, p. 828258, 2022.

SAAVEDRA, K.; MOLINA-MÁRQUEZ, A. M.; SAAVEDRA, N.; ZAMBRANO, T. *et al.* Epigenetic Modifications of Major Depressive Disorder. **Int J Mol Sci**, 17, n. 8, Aug 2016.

SATIN, J. R.; LINDEN, W.; PHILLIPS, M. J. Depression as a predictor of disease progression and mortality in cancer patients: a meta-analysis. **Cancer**, 115, n. 22, p. 5349-5361, Nov 15 2009.

SCANNAVINO, C. S. S.; SORATO, D. B.; LIMA, M. P.; FRANCO, A. H. J. *et al.* Psycho-oncology: The psychologist in the Barretos Cancer Hospital. SORATO, D. B.;LIMA, M.

P., *et al.* 2013.

SEYMOUR, J.; CLARK, D.; WINSLOW, M. Pain and palliative care: the emergence of new specialties. **J Pain Symptom Manage**, 29, n. 1, p. 2-13, Jan 2005.

SILVA, D. S.; PINTO, M. C.; FIGUEIREDO, M. A. A. Factors associated with delay in specialized treatment after diagnosis of cervical cancer in Bahia State, Brazil. **Cad Saude Publica**, 38, n. 5, p. e00022421, 2022.

SIMONSON, B.; DAS, S. MicroRNA Therapeutics: the Next Magic Bullet? **Mini Rev Med Chem**, 15, n. 6, p. 467-474, 2015.

SIZOO, E. M. Symptoms and problems in the end-of-life phase of high-grade glioma patients. BRAAM, L. 2010.

SKARSTEIN, J.; AASS, N.; FOSSÅ, S. D.; SKOVLUND, E. *et al.* Anxiety and depression in cancer patients: relation between the Hospital Anxiety and Depression Scale and the European Organization for Research and Treatment of Cancer Core Quality of Life Questionnaire. **J Psychosom Res**, 49, n. 1, p. 27-34, Jul 2000.

SONTAG, S. A doença como metáfora. 1984.

STOMMEL, M.; GIVEN, B. A.; GIVEN, C. W. Depression and functional status as predictors of death among cancer patients. **Cancer**, 94, n. 10, p. 2719-2727, May 2002.

TELES, S. T. A. A resiliência da criança leucêmica: um estudo de caso clínico. São Paulo 2002.

TESTON, E. F. E. A. feelings and difficulties experienced by cancer patients along the diagnostic and therapeutic itineraries. 2018.

THON, N. Personalized treatments strategies in glioblastoma. KRETH, F. W. 2013.

THÈRY, C. Exosomes: composition, biogenesis and function. ZITVOGEL, L., & AMIGORENA, S. 2002.

TIEZZI, M. F. B. D. M. Quality of life in Women with Breast Cancer treated with or Without chemotherapy. DE ANDRADE, J. M., ROMÃO, A.P.M.S., TIEZZI, D.G., LERRI, M.R., CARRARA, H.A.H., & LARA, L.A.S. Cancer Nursing 2017.

TUMILSON, C. A.; LEA, R. W.; ALDER, J. E.; SHAW, L. Circulating microRNA biomarkers for glioma and predicting response to therapy. **Mol Neurobiol**, 50, n. 2, p. 545-558, Oct 2014.

WU, W.; KLOCKOW, J. L.; ZHANG, M.; LAFORTUNE, F. *et al.* Glioblastoma multiforme (GBM): An overview of current therapies and mechanisms of resistance. **Pharmacol Res**, 171, p. 105780, Sep 2021.

WU, X.; HUANG, J.; YANG, Z.; ZHU, Y. *et al.* MicroRNA-221-3p is related to survival and promotes tumour progression in pancreatic cancer: a comprehensive study on functions and clinicopathological value. **Cancer Cell Int**, 20, p. 443, 2020.

YUAN, Y.; ZHANG, H.; LIU, X.; LU, Z. *et al.* MicroRNA signatures predict prognosis of patients with glioblastoma multiforme through the Cancer Genome Atlas. **Oncotarget**, 8, n. 35, p. 58386-58393, Aug 2017.

ZHANG, J.; ZHAO, H.; GAO, Y.; ZHANG, W. Secretory miRNAs as novel cancer biomarkers. **Biochim Biophys Acta**, 1826, n. 1, p. 32-43, Aug 2012.

ZIGMOND, A. S.; SNAITH, R. P. The hospital anxiety and depression scale. **Acta Psychiatr Scand**, 67, n. 6, p. 361-370, Jun 1983.

ANEXOS

ANEXO A - Escala de Medida de Ansiedade e Depressão Hospitalar (*Hospital Anxiety and Depression Scale – HAD*)

MARCOLINO, MATHIAS, PICCINI FILHO E COL.

Quadro 1 – Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão

Este questionário ajudará o seu médico a saber como você está se sentindo. Leia todas as frases. Marque com um "X" a resposta que melhor corresponder a como você tem se sentido na ÚLTIMA SEMANA. Não é preciso ficar pensando muito em cada questão. Neste questionário as respostas espontâneas têm mais valor do que aquelas em que se pensa muito. Marque apenas uma resposta para cada pergunta.	
A 1) Eu me sinto tenso ou contralido: 3 () A maior parte do tempo 2 () Boa parte do tempo 1 () De vez em quando 0 () Nunca	A 9) Eu tenho uma sensação ruim de medo, como um frio na barriga ou um aperto no estômago: 0 () Nunca 1 () De vez em quando 2 () Muitas vezes 3 () Quase sempre
D 2) Eu ainda sinto gosto pelas mesmas coisas de antes: 0 () Sim, do mesmo jeito que antes 1 () Não tanto quanto antes 2 () Só um pouco 3 () Já não sinto mais prazer em nada	D 10) Eu perdi o interesse em cuidar da minha aparência: 3 () Completamente 2 () Não estou mais me cuidando como deveria 1 () Talvez não tanto quanto antes 0 () Me cuido do mesmo jeito que antes
A 3) Eu sinto uma espécie de medo, como se alguma coisa ruim fosse acontecer: 3 () Sim, e de um jeito muito forte 2 () Sim, mas não tão forte 1 () Um pouco, mas isso não me preocupa 0 () Não sinto nada disso	A 11) Eu me sinto inquieto, como se eu não pudesse ficar parado em lugar nenhum: 3 () Sim, demais 2 () Bastante 1 () Um pouco 0 () Não me sinto assim
D 4) Dou risada e me divirto quando vejo coisas engraçadas: 0 () Do mesmo jeito que antes 1 () Atualmente um pouco menos 2 () Atualmente bem menos 3 () Não consigo mais	D 12) Fico esperando animado as coisas boas que estão por vir: 0 () Do mesmo jeito que antes 1 () Um pouco menos do que antes 2 () Bem menos do que antes 3 () Quase nunca
A 5) Estou com a cabeça chela de preocupações: 3 () A maior parte do tempo 2 () Boa parte do tempo 1 () De vez em quando 0 () Raramente	A 13) De repente, tenho a sensação de entrar em pânico: 3 () A quase todo momento 2 () Várias vezes 1 () De vez em quando 0 () Não sinto isso
D 6) Eu me sinto alegre: 3 () Nunca 2 () Poucas vezes 1 () Muitas vezes 0 () A maior parte do tempo	D 14) Consigo sentir prazer quando assisto a um bom programa de televisão, de rádio ou quando leio alguma coisa: 0 () Quase sempre 1 () Várias vezes 2 () Poucas vezes 3 () Quase nunca
A 7) Consigo ficar sentado à vontade e me sentir relaxado: 0 () Sim, quase sempre 1 () Muitas vezes 2 () Poucas vezes 3 () Nunca	
D 8) Eu estou lento para pensar e fazer as coisas: 3 () Quase sempre 2 () Muitas vezes 1 () De vez em quando 0 () Nunca	

ANEXO B – Termo de Consentimento livre e esclarecido (TCLE)



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaria de convidá-lo (a) para participar da pesquisa “Expressão de microRNAs séricos associados a aspectos de qualidade de vida, ansiedade, depressão, sobrevida e tratamento de pacientes com diagnóstico de glioblastoma” que tem como objetivo principal obter um maior conhecimento clínico e científico das doenças do Sistema Nervoso. O corpo clínico deste hospital (médicos e pesquisadores) desenvolvem pesquisas e através dessas pesquisas é possível conhecer melhor as doenças e, portanto, oferecer informações e contribuir em novas possibilidades de diagnóstico e tratamento. Como parte do tratamento dos pacientes diagnosticados com Glioblastoma, estes, serão submetidos a uma cirurgia e durante a cirurgia, o médico anestesista irá coletar amostras de sangue que serão utilizados em exames laboratoriais. Convidamos você para participar voluntariamente da pesquisa como parte do Grupo Controle, ou seja, indivíduos que não apresentam o diagnóstico de Glioblastoma, precisaremos de oito amostras de sangue que serão coletadas em oito momentos diferentes. Diante de sua autorização, as amostras de sangue coletadas serão congeladas e posteriormente utilizadas para pesquisa. Essas amostras de sangue serão identificadas no laboratório por código formado por números e letras e, portanto, sua privacidade e identidade serão preservadas garantindo o sigilo e a confidencialidade dos doadores. Estas serão identificadas por meio de sigla (CSNC) mais o número, por exemplo, 01. A eventual inclusão dos resultados em publicação científica será feita de modo a manter o anonimato do paciente.

Este trabalho de pesquisa não apresenta riscos diretos aos participantes da pesquisa e pesquisadores envolvidos, já que o material não possui risco de contaminação biológica direta, pois o mesmo será congelado. No entanto, de acordo com a Resolução CNS 466/12, na qual toda pesquisa envolve riscos mínimos, serão tomados os devidos cuidados para que seja preservada a identidade dos indivíduos participantes. Tem como benefício que estas amostras serão utilizadas para desenvolver

TCLE - Versão 2 Modificado em 24-07- 2017

pesquisa que visa à melhora no tratamento de pacientes diagnosticados com glioblastoma.

Concordando com o armazenamento e o uso destas amostras, do modo descrito, é necessário esclarecer que você não terá quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre eventuais resultados decorrentes da pesquisa. Se você não concordar em doar essas amostras para pesquisa, sua decisão não influenciará, de nenhum modo, o seu tratamento.

Junto com as amostras de sangue que serão coletadas em 8 momentos durante o desenvolvimento da pesquisa, precisaremos que você responda a dois questionários que irão avaliar sua qualidade de vida e risco para ansiedade e depressão. Esses questionários serão aplicados em todos os 8 momentos descritos acima.

Solicitamos também os dados de contato do(a) senhor (a), para que seja possível encontrá-lo(a) posteriormente. Através dos contatos, garantimos fornecer as informações de seu interesse, além de receber eventuais benefícios provenientes do estudo com seu material biológico.

Dados do doador:

Nome: _____, RG: _____,
Endereço: _____, nº _____,
bairro: _____, cidade: _____, telefone: _____

Após receber essas informações, o (a) o Senhor(a) poderá dar o seu consentimento assinando este documento, para que sua amostra de material biológico seja armazenada no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para fins de pesquisa e análise científica. Também afirmamos que uma via deste documento, devidamente assinada será entregue ao senhor (a).

Abaixo também seguem os dados de contato dos pesquisadores responsáveis, caso o (a) senhor (a) tenha alguma dúvida posteriormente. Para esclarecimentos de questões éticas, o (a) senhor(a) também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP pelo telefone (16) 3602-2228.

ANEXO C – Entrevista / Formulário de Cadastro do paciente

FORMULÁRIO DE CADASTRO DO PACIENTE

Dados de identificação

Nº de identificação: _____

Nome do Paciente: _____

Nº do prontuário no hospital: _____

Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto- FMRP-USP

Paciente: Internado Ambulatorial

Diagnóstico principal: Controle Câncer

CID-10 (código): _____

CID-10 (descrição da doença): _____

Entrevistador: _____

Informações Gerais:

Data da entrevista: _____

Início da entrevista: _____

Coleta de sangue: Sim Não Data: _____

Sexo: Feminino Masculino

Endereço: _____

Bairro: _____

CEP: _____ - _____ Cidade: _____ UF: _____

Telefone: () _____

Data de Nascimento: _____

Idade: _____

Profissão: _____

Por quanto tempo o(a) Sr.(a) exerceu esta profissão? _____

Raça: Branco Mulato Negro Oriental Índio Outra

O(a) Sr.(a) já fez tratamento para a doença atual? Sim Não

Se "Sim", qual tratamento? _____

Qual a cidade onde o(a) Sr.(a) mora? _____

Há quanto tempo o (a) Sr. (a) mora nessa cidade? _____

Se o(a) Sr.(a) está morando há menos de 1 ano nessa cidade, onde morava antes? _____

O Sr.(a) estudou em escola? () Sim () Não

Qual o seu grau de instrução? () Alfabetizado

() Primário completo () Primário incompleto

() Secundário completo () Secundário Incompleto

() Técnico () Superior

Tabagismo

O(a) Sr.(a) fuma ou já fumou em média 1 cigarro, charuto ou cachimbo, diariamente, pelo menos por 1 ano? (Se parou de fumar há menos de 12 meses, assinalar "sim").

() Sim, ainda fuma () Nunca fumou () Somente no passado

Qual tipo de tabaco?

() Cigarro () Charuto () Cachimbo () Cigarro de palha

Álcool

O(a) Sr.(a) já ingeriu bebida alcoólica? (se parou nos últimos 12 meses, assinalar "sim")

() Sim, ainda bebe () Nunca () Só no passado

Quando o(a) Sr.(a) costuma beber (ou bebia)?

() nas refeições () entre as refeições () aos finais de semana

Histórico de Câncer na família

Quantos irmãos? () Homens () Mulheres

Quantos filhos? () Filhos () Filhas

	Vivo/Morto	Idade	Tumor	Tabagista
Mãe				
Pai				
Irmão/Irmã				
Filho/Filha				

Vivo: V Morto: M Sim: S Não: N Não sabe: NS

Anexo D - Folha de aprovação do projeto CEP



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Ofício Nº 3774/2017
CEP/MGV

RIBEIRÃO PRETO, 15 DE DEZEMBRO DE 2017

PREZADAS SENHORAS,

O TRABALHO INTITULADO “EXPRESSÃO DE MICRORNAS SÉRICOS ASSOCIADOS A APECTOS DE QUALIDADE DE VIDA, ANSIEDADE, DEPRESSÃO, SOBREVIDA E TRATAMENTO DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE GLIOBLASTOMA” – VERSÃO 2, DE 24/07/2017, FOI ANALISADO “AD REFERENDUM” PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA E ENQUADRADO NA CATEGORIA: **APROVADO**, BEM COMO O TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO - VERSÃO 3, DE 14/11/2017, DE ACORDO COM O PROCESSO HCRP Nº 8356/2017.

DE ACORDO COM CARTA CIRCULAR Nº 003/2011/CONEP/CNS, DATADA DE 21/03/2011, O SUJEITO DE PESQUISA OU SEU REPRESENTANTE, QUANDO FOR O CASO, DEVERÁ RUBRICAR TODAS AS FOLHAS DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE – APONDO SUA ASSINATURA NA ÚLTIMA DO REFERIDO TERMO; O PESQUISADOR RESPONSÁVEL DEVERÁ DA MESMA FORMA, RUBRICAR TODAS AS FOLHAS DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE – APONDO SUA ASSINATURA NA ÚLTIMA PÁGINA DO REFERIDO TERMO.

ESTE COMITÊ SEGUE INTEGRALMENTE A CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE HARMONIZAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS CLÍNICAS (IGH-GCP), BEM COMO A RESOLUÇÃO Nº 466/12 CNS/MS.

LEMBRAMOS QUE DEVEM SER APRESENTADOS A ESTE CEP, O RELATÓRIO PARCIAL E O RELATÓRIO FINAL DA PESQUISA.

ATENCIOSAMENTE.

DRª. MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
COORDENADORA DO COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DO HCRP E DA FMRP-USP

ILUSTRÍSSIMAS SENHORAS

MARIA FERNANDA BARBIRATO DA MATA TIEZZI
PROFª.DRª.DANIELA PRETTI DA CUNHA TIRAPELLI(ORIENTADORA)
DEPTO. DE CIRURGIA E ANATOMIA

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus Universitário – Monte Alegre
14048-900 Ribeirão Preto SP

Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP
FWA-00002733; IRB-00002186 e Registro PB/CONEP nº 5440
(16) 3602-2228
cep@hcrp.usp.br

www.hcrp.usp.br