

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

BRENO NERY

**POTENCIAL DIAGNÓSTICO DOS GENES PIK3C2B, PIP5K1A E
RAB3B E DOS MICRO RNAS MIR-125A-5P, MIR-133B, MIR-143 e
MIR-345 EM MENINGIOMAS E SUA CORRELAÇÃO
COM O GRAU TUMORAL**

**Ribeirão Preto - SP
2023**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

BRENO NERY

**Potencial diagnóstico dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B e dos
micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 em
meningiomas e sua correlação com o grau tumoral**

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade
de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo, para obtenção do **Título de
Doutor**.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica

Orientador: **Prof. Dr. Carlos G. Carlotti Jr.**

**Ribeirão Preto – SP
2023**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo, pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Nery, Breno

Potencial diagnóstico dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B e dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 em meningiomas e sua correlação com o grau tumoral. Nery, Breno. Orientador: Carlotti Júnior, Carlos Gilberto. 2023.

Ribeirão Preto, 2023.

140. : il.; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Clínica Cirúrgica.

Versão Original

1. Meningioma. 2. Gene PIK3C2B. 3. Gene PIP5K1A. 4. Gene RAB3B. 5. Micro RNAs

FOLHA DE APROVAÇÃO

Breno Nery

Potencial diagnóstico dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B e dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 em meningiomas e sua correlação com o grau tumoral

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do **Título de Doutor**.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

**“A vida espiritual dos homens, os seus impulsos profundos,
o seu estímulo à ação são as coisas mais difíceis de prever,
mas é justamente delas que depende a morte ou a salvação da
humanidade.”**

Andrei Sakarov

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Aos **meus pais**, que sempre viram a educação como um esforço permanente na direção do aperfeiçoamento, intensificando minha experiência de vida e minha autoconfiança. À minha mãe, **Angela Márcia Nery**, por me ensinar que o ensino é um caminho árduo para o aperfeiçoamento intelectual e moral, com enriquecimento nas nossas possibilidades na vida e na felicidade, deixando o coração racional em seus desígnios mais intuitivos. Obrigado por me mostrar que o caminho se constrói com o fazer ativo. Ao meu pai, **Edmo Nery Oliveira**, que foi meu mestre na medicina e no amor pelo ser humano, me ensinando que a maturidade espiritual é alcançada com a derrocada do egoísmo e que a vida dedicada a outrem demonstra a mais sábia maturidade através do altruísmo. Meus caminhos não teriam sido os mesmos sem a oportunidade que me deram.

À **Deus**, que me deu dificuldades para enfrentar quando pedi por força, problemas para resolver quando pedi por sabedoria, perigos para enfrentar quando pedi por coragem e a Neurocirurgia como profissão para entender o caminho do amor. Minhas preces foram atendidas.

Ao meu orientador, **Professor Doutor Carlos Gilberto Carlotti Júnior**, pela extrema competência técnica e qualidade científica, assim como conhecimento profundo em biologia molecular. Muito obrigado pelo apoio incondicional. Mesmo sob a imensidão da demanda que apresenta nos diversos cargos que ocupa, pôde compartilhar de sua experiência na minha jornada de crescimento pessoal e acadêmico.

AGRADECIMENTOS

À minha co-orientadora **Professora Doutora Daniela Pretti da Cunha Tirapelli**, pelo auxílio permanente em todos os passos deste estudo, desde a confecção da idéia inicial até a execução do estudo por completo. Minha gratidão eterna por cada linha escrita nesta tese de Doutorado. É com muita humildade e sensação de dever cumprido que concluo mais esta etapa importante em minha formação, e não tenho palavras para agradecer tamanho empenho ao demonstrar tanta empatia e sacrifício para a realização deste estudo.

Aos técnicos, pós-graduandos, professores e toda equipe do **Laboratório de Biologia Molecular da FMRP-USP**, pela cooperação e amizade. Um agradecimento especial ao farmacêutico Doutor **Fermino Sanches Lizarte Neto** e ao educador físico Doutor **Múcio Luiz de Assis Cirino**, devido aos ensinamentos prestados em todo o processo experimental, com uma disposição hercúlea para a análise dos dados, sempre nos tornando calmos e nos propondo mudanças assertivas para a execução deste projeto, incluindo reuniões noturnas e em feriados. A empatia de vocês é um ensinamento que não pode ser extraída em livros e saibam da minha eterna gratidão pela ajuda oferecida por vocês.

Ao Professor Doutor **Daniel Guimarães Tiezzi**, pela disposição e orientação na seleção dos dados estatísticos avaliados. Muito obrigado pela paciência e atenção.

À minha namorada, **Natália Antoniossi**, por sua paciência e resignação durante as dezenas de finais de semanas dedicados à esta tese. Sem seu companheirismo e auxílio com vários cafés e lanches para me ajudar a manter o foco, não teria conseguido de forma alguma o foco e a concentração para a finalização do doutorado. Muito obrigado meu amor.

À **CAPES**, pois o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil, com o código de financiamento 001.

E, por último, mas não menos importante, agradeço a todos os **pacientes** incluídos neste projeto e suas famílias que, mesmo através do sofrimento, se permitiram acreditar no futuro, na ciência, na medicina de precisão. Sem eles, certamente, este estudo não seria possível.

RESUMO

Nery, B. Potencial diagnóstico dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3b e dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 em meningiomas e sua correlação com o grau tumoral. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Introdução: Meningiomas são os tumores primários mais comum do sistema nervoso central sendo originados a partir de grupamentos celulares da aracnóide. Vários tratamentos de meningiomas intracranianos são propostos sendo a única possibilidade de cura sua ressecção macroscópica e microscópica completa. Alterações cromossômicas são bem documentadas na literatura, especialmente relacionada à monossomia do cromossomo 22, sendo a segunda anormalidade cromossômica mais comum a perda do braço curto do cromossomo 1. Diversas modificações epigenéticas e de micro RNAs (miRNAs) também podem ser reguladores importantes em algumas vias de tumorigênese e progressão de grau.

Objetivo: Nosso objetivo foi analisar a expressão tumoral dos genes PIK3C2B, PIP5K1A (via PI3K/AKT) e RAB3B (via da RAS/RAF/MEK/ERK) do cromossomo 1 e a expressão sérica e tumoral dos miRNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-345 e miR-143 em meningiomas e avaliar seu potencial diagnóstico e sua correlação com o grau tumoral.

Metodologia: Após análise global de genes e miRNAs por análise de microarranjo em 14 meningiomas grau I e 3 amostras de aracnóides não relacionadas a amostras tumorais foram selecionados os genes de interesse PIK3C2B e PIP5K1A e o gene RAB3B presentes no cromossomo 1. Foram selecionados os miRNAs relacionados à expressão diferencial dos genes acima: miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345. Em seguida, foi avaliada a expressão destes miRNAs (tecido tumoral e plasma) e do genes PIP3KC2B, PIP5K1A e RAB3B, por meio da técnica de PCR em tempo real, em meningiomas grau I, II e III, respectivamente com 14, 14 e 6 pacientes e 6 aracnóides não relacionadas a tecido tumoral como controle para sua validação como biomarcadores e marcadores de grau tumoral.

Resultados: No tecido tumoral verifica-se sensibilidade relativamente alta para os genes PIK3C2B de 79,41% (IC: 62,1-91,3%); **AUC (IC95%): 0,89 (0,58 - 0,99)** e RAB3B de 97,06%(IC: 84,7-99,9%); **AUC (IC95%): 0,89 (0,75 - 0,97)** mas especificidade baixa para o diagnóstico de meningiomas, enquanto o gene PIP5K1A apresenta alta especificidade diagnóstica de 100% (IC:54,1-100%), **AUC (IC95%): 0,65 (0,49 - 0,80)**. Os miRNAs séricos miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 de pacientes com meningiomas apresentaram excelente sensibilidade e especificidade diagnóstica e o miR-133b apresentou alta sensibilidade diagnóstica no tecido tumoral.

Dentre os graus de meningiomas, verifica-se, de forma significativa (p: 0,001), uma diferença estimada de expressão do gene PIK3C2B de 1,5 vezes entre o grau I e II. Observa-se com significância estatística (p: 0,038) que a expressão dos miRNAs no tecido tumoral miR-125a-5p é maior no meningioma grau III em relação ao grau II, miR-143 é maior no meningioma grau I em relação aos graus II e III e o miR-345 é maior no grau I que no grau II.

Conclusões: Verifica-se alta sensibilidade diagnóstica em meningiomas para os genes PIK3C2B e RAB3B e alta especificidade para o gene PIP5K1A. Os miRNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 demonstram alto potencial como biomarcadores séricos em meningiomas (hipoexpressão global) com alta

sensibilidade e especificidade diagnóstica. Ao avaliarmos o grau dos meningiomas, constata-se uma maior expressão do gene PIK3C2B nos meningiomas grau (I > II), do miR-125a-5p (III>II), do miR-143 (I>III) e do miR-345 (I>II).

Palavras-chave: Meningioma, gene PIK3C2B, gene PIP5K1A, gene RAB3B, micro RNAs

ABSTRACT

NERY, B. Diagnostic potential of genes PIK3C2B, PIP5K1A and RAB3b and microRNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 and miR-345 in meningiomas and their correlation with tumor grade. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

Introduction: Meningiomas are the most common primary tumors of the central nervous system, originating from arachnoid cell clusters. Several treatments for intracranial meningiomas are proposed, with complete macroscopic and microscopic resection being the only possibility of cure. Chromosomal alterations are well documented in the literature, especially related to monosomy of chromosome 22, the second most common chromosomal abnormality being loss of the short arm of chromosome 1. Several epigenetic and microRNAs (miRNAs) modifications may also be important regulators in some pathways of tumorigenesis and grade progression.

Objective: Our objective was to analyze the tumor expression of genes PIK3C2B, PIP5K1A (via PI3K/AKT) and RAB3B (via RAS/RAF/MEK/ERK) of chromosome 1 and the serum and tumor expression of miRNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-345 and miR-143 in meningiomas and evaluate their diagnostic potential and their correlation with tumor grade.

Methodology: After global analysis of genes and miRNAs by microarray analysis in 14 grade I meningiomas and 3 samples of arachnoids not related to tumor samples, the genes of interest PIK3C2B and PIP5K1A and the RAB3B gene present on chromosome 1 were selected. related to the differential expression of the above genes: miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 and miR-345. Then, the expression of these miRNAs (tumor tissue and plasma) and the PIP3KC2B, PIP5K1A and RAB3B genes was evaluated using the real-time PCR technique in grade I, II and III meningiomas, respectively with 14, 14 and 6 patients and 6 arachnoids not related to tumor tissue as controls for their validation as biomarkers and tumor grade markers.

Results: In tumor tissue there is a relatively high sensitivity for the PIK3C2B genes of 79.41% (CI: 62.1-91.3%); AUC (95% CI: 0.89 (0.58 - 0.99)) and 97.06% RAB3B (CI: 84.7-99.9%); AUC (CI95%): 0.89 (0.75 - 0.97)) but low specificity for the diagnosis of meningiomas, while the PIP5K1A gene has a high diagnostic specificity of 100% (CI:54.1-100%). AUC (95% CI): 0.65 (0.49 - 0.80). Serum miRNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 and miR-345 from patients with meningiomas showed excellent diagnostic sensitivity and specificity and miR-133b showed high diagnostic sensitivity in tumor tissue.

Among the grades of meningiomas, there is, significantly (p: 0.001), an estimated 1.5-fold difference in PIK3C2B gene expression between grades I and II. It is observed with statistical significance (p: 0.038) that the expression of miRNAs in the tumor tissue miR-125a-5p is higher in grade III meningioma compared to grade II, miR-143 is higher in grade I meningioma compared to grade II and III and miR-345 is higher in grade I than in grade II.

Conclusions: There is high diagnostic sensitivity in meningiomas for the PIK3C2B and RAB3B genes and high specificity for the PIP5K1A gene. miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 and miR-345 miRNAs demonstrate high potential as serum biomarkers in meningiomas (global hypoexpression) with high diagnostic sensitivity and specificity. When we assess the grade of meningiomas, a higher expression of the PIK3C2B gene

is observed in grade meningiomas (I > II), of miR-125a-5p (III>II), of miR-143 (I>III) and of miR- 345 (I>II).

Key-words: Meningioma, PIK3C2B gene, PIP5K1A gene, RAB3B gene, micro RNAs

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

AKT	AKT Serina/Treonina Quinase, AKT Serine/Threonine Kinase
AKT1	AKT serina/treonina quinase 1 [Homo sapiens (humano)] (AKT serine/threonine kinase 1 [Homo sapiens (human)])
BAP 1	Proteína 1 associada a BAP1 BRCA1 [Homo sapiens (humano)] BAP1 BRCA1 associated protein 1 [Homo sapiens (human)]
CBTRUS	Registro Central de Tumores Cerebrais dos Estados Unidos, Central Brain Tumor Registry of the United States
CDKN2A/B	Inibidor de quinase dependente de ciclina 2A/B cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/B
CHC	Carcinoma Hepato Celular
Cho	Colina
CHUK	Componente do Inibidor do Fator Nuclear Kappa B complexo quinase, Component Of Inhibitor Of Nuclear Factor Kappa B Kinase Complex
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DAL1	Alantoinase, allantoinase
EGFR	Receptor do fator de crescimento endotelial, endotelial growth factor receptor
FIESTA (3D CIS)	Imagem rápida empregando aquisição em estado estacionário, Fast Imaging Employing Steady-state Acquisition
GABA	Ácido gama aminobutírico, Gamma aminobutyric acid
GALNT7	Polipeptídeo N-Acetilgalactosaminiltransferase 7, Polypeptide N-Acetylgalactosaminyltransferase 7
GDP	Guanosina bifosfato, Guanosine biphosphate
GFAP	Proteína glial fibrilar ácida, Glial fibrillary acidic protein
GRB2	Proteína ligada ao receptor do fator de crescimento 2, Growth factor receptor-bound protein 2
GSTP1	Glutathione S-transferase 1, Glutathione S-transferase 1
GTP	Guanosina-5'-trifosfato, Guanosine-5'-triphosphate
H3k27	Lisina 27 na histona 3, lysine 27 on histone 3

H3K27me3	Trimetilação da lisina 27 na subunidade da proteína histona H3, trimethylation of lysine 27 on histone H3 protein subunit
HES1	Fator de transcrição BHLH Hes Family 1, Hes Family BHLH Transcription Factor 1
HIF3 alfa	Fator induzível por hipóxia humana 3-alfa, Human Hypoxia-inducible factor 3-alpha
HIST1H1c	Agrupamento de histonas 1 membro da família H1 c, histone cluster 1 H1 family member c
HOX	Gene homeótico, homeotic genes
HOXA 5	Homeobox A Cluster 5, Homeobox A Cluster 5
HOXA 6	Homeobox A Cluster 6, Homeobox A Cluster 6
HOXA 7	Homeobox A Cluster 6, Homeobox A Cluster 7
HOXA 9	Homeobox A Cluster 9, Homeobox A Cluster 9
HOXA 10	Homeobox A Cluster 10, Homeobox A Cluster 10
HOXA 11	Homeobox A Cluster 11, Homeobox A Cluster 11
IGF	Fator de crescimento semelhante à insulina, Insulin Like Growth Factor
IGF2BP1	Proteína de Ligação de mRNA do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 2, Insulin Like Growth Factor 2 MRNA Binding Protein
IRF1	Fator regulador do Interferon 1, Interferon 1 regulatory factor
KDM5C	Lisina demetilase 5C, lysine demethylase 5C
KDM6A	Lisina demetilase 6A, lysine demethylase 6A
KLF4	Fator 4 semelhante a Krüppel (Krüppel-like factor 4)
LMO4	Domínio LIM Apenas 4, LIM Domain Only 4
lncRNA	RNA longo não codificante, long non coding RNA
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno, Mitogen-activated protein kinase
MAPK8	Proteína quinase ativada por mitógeno 8, Mitogen-activated protein kinase 8
MEG 3	Maternally Expressed 3
MGMT	O-6-Metilguanina-DNA Metiltransferase, O-6-Methylguanine-DNA Methyltransferase

mRNA	RNA mensageiro
miR	Micro RNA
miRNA	Micro RNA
mTOR	Alvo Mecanístico da Rapamicina Quinase, Mechanistic Target Of Rapamycin Kinase
NAA	N-acetil aspartato
NF2	Neurofibromatose tipo 2
OH	Hidroxila, Hydroxyl
OMS	Organização Mundial de Saúde
p:	Braço curto do cromossomo
P53	Proteína tumoral p53, Tumor Protein P53
PENK	Proencefalina, Proenkephalin
PET	Tomografia por emissão de pósitros
PI3K	Fosfoinosítideo 3-quinase, Phosphoinositide 3-kinase
PIK3C	Subunidades de fosfatidilinositol 3-quinase, Phosphatidylinositol 3-kinase subunits
PIK3C2A:	Fosfatidilinositol-4-Fosfato 3-Quinase Subunidade Catalítica Tipo 2 Alfa Phosphatidylinositol-4-Phosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Type 2 Alpha
PIK3C2B	Fosfatidilinositol-4-fosfato 3-quinase subunidade catalítica tipo 2 beta [Homo sapiens (humano)], phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase catalytic subunit type 2 beta [Homo sapiens (human)]
PIK3C2G	Fosfatidilinositol-4-Fosfato 3-Quinase Subunidade Catalítica Tipo 2 Gama, Phosphatidylinositol-4-Phosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Type 2 Gamma
PIP3	Fosfatidilinositol (3,4,5) -trifosfato, Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate
PIP4K	Fosfatidilinositol-5-Fosfato 4-quinase, Phosphatidylinositol-5-Phosphate 4-Kinase
PIP4K2C	Fosfatidilinositol-5-fosfato 4-quinase tipo 2 gama, Phosphatidylinositol-5-Phosphate 4-Kinase Type 2 Gamma
PIP5K1A	Fosfatidilinositol-4-Fosfato 5-quinase Tipo 1 A, Phosphatidylinositol-4-Phosphate 5-Kinase Type 1 A

PIP5K1B	Fosfatidilinositol-4-Fosfato 5-quinase Tipo 1 B, Phosphatidylinositol-4-Phosphate 5-Kinase Type 1 B
PIP5K1C	Fosfatidilinositol-4-Fosfato 5-quinase Tipo 1 C, Phosphatidylinositol-4-Phosphate 5-Kinase Type 1 C
PIP5P	Fosfatidilinositol 5 Fosfato, Phosphatidylinositol 5 Phosphate
q	Braço longo do cromossomo
RAB18	RAB18, membro da família de oncogenes RAS, RAB18, Member RAS Oncogene Family
RAB21	RAB21, membro da família de oncogenes RAS, RAB21, Member RAS Oncogene Family
RAB23	RAB23, membro da família de oncogenes RAS, RAB23, Member RAS Oncogene Family
RAB3A	RAB3 alfa, membro da família de oncogenes RAS, RAB3 alpha, Member RAS Oncogene Family
RAB3B	RAB3 beta, membro da família de oncogenes RAS, RAB3 beta, Member RAS Oncogene Family
RAB3C	RAB3 gama, membro da família de oncogenes RAS, RAB3 gamma, Member RAS Oncogene Family
RAB3D	RAB3 delta, membro da família de oncogenes RAS, RAB3 delta, Member RAS Oncogene Family
RAF1	Raf-1 Proto-Oncogene, Serina/Treonina Quinase, Raf-1 Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase
RAS/RAF/MEK/ERK	Ras/Raf/Mitogen-activated protein kinase/ERK kinase (MEK)/extracellular-signal-regulated kinase (ERK)
RNA	Ácido ribonucleico
RNM	Ressonância nuclear magnética
SIP1	Proteína 1 de interação Smad, Smad interacting protein 1
SMARCB1	Relacionado a SWI/SNF, associado a matriz, regulador dependente de actina da cromatina, subfamília b, SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily b
SMARCE 1	SWI/SNF Relacionado, associado à Matriz, Regulador da Cromatina Dependente de Actina, Subfamília E, Membro 1SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily E, Member 1

SMO	Receptor de classe SMO alisado e frisado [Homo sapiens (humano)], SMO smoothed, frizzled class receptor [Homo sapiens (human)]
SNC	Sistema nervoso central
SOX-2	SRY-Box Subunit, Phosphatidylinositol 3-Kinase Catalytic Subunit Fator de Transcrição 2, SRY-Box Transcription Factor 2
STAT3	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3, Signal Transducer And Activator Of Transcription 3
TC	Tomografia
TCF12	Fator de Transcrição 12, Transcription Factor 12
TERT	Telomerase humana transcriptase reversa human telomerase reverse transcriptase
TERT 61	Telomerase humana transcriptase reversa 61, human telomerase reverse transcriptase 61
TGFBR1	Receptor Beta 1 do Fator Transformador de Crescimento, Transforming Growth Factor Beta Receptor 1
TGF- β	Fator transformador de crescimento beta, transforming growth factor beta
THBS1	Trombospondina 1, Thrombospondin 1
TIMP3	TIMP Metalopeptidase Inibidor 3, TIMP Metallopeptidase Inhibitor 3
TP73	Proteína Tumoral P73, Tumor Protein P73
TRAF7	Receptor do TNF associado ao fator 7 (TNF Receptor Associated Factor 7)
UPK3A	Uroplaquina 3A, Uroplakin 3A
UTR	Região não traduzida, Untranslated Region
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular, vascular endotelial growth factor
Vps34	Phosphatidylinositol 3-Kinase Catalytic
WNK2	Proteína Quinase 2 Deficiente em Lisina WNK, WNK Lysine Deficient Protein Kinase 2
ZEB1:	Encadernação de caixa eletrônica de dedo de zinco Homeobox 1, Zinc Finger E-Box Binding

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Vias de sinalização da PIK3-AKT e RAS/RAF/MEK/ERK quinase	30
Figura 2.	Recomendações para o manejo terapêutico em meningiomas	43
Figura 3.	Visão global de mecanismos regulatórios possíveis de micro RNAs com potencial mecanismo oncogênico ou supressor tumoral em meningiomas	53
Figura 4.	<i>Heat Map</i> evidenciando a expressão diferencial entre amostras de meningiomas grau I (14 amostras) e aracnoides (3 amostras)	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Graduação histológica segundo a OMS (2021).	39
Tabela 2.	Alterações com ganhos e perdas de função nos cromossomos e sua correlação com a progressão tumoral.	46
Tabela 3.	Proporção de Anormalidades Cromossômicas encontradas em Meningiomas em seus respectivos graus.	47
Tabela 4.	Modificações epigenéticas relacionadas à estratificação de graus histológicos em meningiomas.	47
Tabela 5.	Modificações epigenéticas relacionadas à estratificação de graus histológicos em meningiomas.	51
Tabela 6.	Análise descritiva de gênero e cor de controles (aracnóides) e doença (meningiomas).	63
Tabela 7.	Análise descritiva de gênero e cor entre graus de meningiomas.	63
Tabela 8.	Análise descritiva da expressão do fold de micro RNAs em sangue e tecidos tumorais.	64
Tabela 9.	Análise descritiva da expressão do fold dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral.	67
Tabela 10.	Análise descritiva da expressão do fold dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-143, miR-345 e miR-133b no tecido tumoral; análise dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-143, miR-345 e miR-133b no sangue e genes PIK3C2B, PIP5K1A, RAB3B no tecido tumoral.	68
Tabela 11.	Análise da influência dos genes no tecido tumoral na formação do tumor.	70
Tabela 12.	Análise da influência dos genes e micro RNAs (tecido e sangue) quanto ao grau do tumor em meningiomas.	71
Tabela 13.	Comparação da expressão dos genes no tecido tumoral entre os diferentes graus de doença.	72
Tabela 14.	Comparação da expressão de micro RNAs no tumor entre diferentes graus de meningiomas.	73
Tabela 15.	Comparação da expressão de micro RNAs no sangue entre diferentes graus de meningiomas.	74
Tabela 16.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-125a-5p expresso no sangue de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	75

Tabela 17.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-133b expresso no sangue de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	77
Tabela 18.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-143 expresso no sangue de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	78
Tabela 19.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-345 expressos no sangue de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	79
Tabela 20.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-125a-5p expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	80
Tabela 21.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-133b expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas	81
Tabela 22.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-143 expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	82
Tabela 23.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-345 expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	83
Tabela 24	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do PIK3C2B expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	85
Tabela 25.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do PIP5K1A expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	86
Tabela 26.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do RAB3B expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas.	87
Tabela 27.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-125a-5p expressos no sangue em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	88
Tabela 28.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-125a-5p expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	90
Tabela 29.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-133b expressos no sangue em pacientes com meningiomas grau I	92

(tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.

Tabela 30.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-133b expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	93
Tabela 31.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-143 expressos no tecido sangue em pacientes meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	95
Tabela 32.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-143 expressos no tecido tumoral em pacientes meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	96
Tabela 33.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-345 expressos no sangue em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	98
Tabela 34.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-345 expressos no tecido tumoral em pacientes tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	100
Tabela 35.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do gene PIK3C2B expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	102
Tabela 36.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do gene PIP5K1A expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	105
Tabela 37.	Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do gene RAB3B expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.	107

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1.	Representação gráfica da hipoexpressão dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-143, e miR-345 na sangue comparativamente entre controles e amostras tumorais.	65
Gráfico 2.	Representação da expressão diferencial dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-143, e miR-345 na tecido tumoral comparativamente entre controles e amostras tumorais.	66
Gráfico 3.	Representação gráfica da expressão diferencial dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral comparativamente entre controles e amostras tumorais (análise descritiva).	67
Gráfico 4.	Representação gráfica da expressão diferencial dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 entre os diferentes graus, no tecido tumoral em meningiomas.	69
Gráfico 5.	Representação gráfica da expressão diferencial dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B entre os diferentes graus, no tecido tumoral em meningiomas.	69
Gráfico 6.	Curva ROC do miR-125a-5p como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas.	75
Gráfico 7.	Curva ROC do miR-133b como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas.	76
Gráfico 8.	Curva ROC do miR-143 como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas.	77
Gráfico 9.	Curva ROC do miR miR-345 como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas.	78
Gráfico 10.	Curva ROC do miR-125a-5p como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas.	80
Gráfico 11.	Curva ROC do miR-133b como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas.	81
Gráfico 12.	Curva ROC do miR-143 como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas.	82
Gráfico 13.	Curva ROC do miR-345 como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas.	83
Gráfico 14.	Curva ROC do gene PIK3C2B como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas.	84

Gráfico 15..	Curva ROC do gene PIP5K1A como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas.	85
Gráfico 16.	Curva ROC do gene RAB3B como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas.	86
Gráfico 17.	Curva ROC do miR-125a-5p como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	87
Gráfico 18.	Curva ROC do miR-125a-5p como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	89
Gráfico 19.	Curva ROC do miR-133b como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	91
Gráfico 20.	Curva ROC do miR-133b como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	93
Gráfico 21.	Curva ROC do miR-143 como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (direita).	95
Gráfico 22.	Curva ROC do miR-143 como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	96
Gráfico 23.	Curva ROC do miR-345 como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	98
Gráfico 24.	Curva ROC do miR-345 como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	100
Gráfico 25.	Curva ROC do gene PIK3C2B como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	102
Gráfico 26.	Curva ROC do gene PIP5K1A como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	104
Gráfico 27.	Curva ROC do gene RAB3B como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).	106

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. REVISÃO DA LITERATURA	32
2.1. História dos meningiomas	32
2.2. Diagnóstico imaginológico.....	34
2.3. Epidemiologia, etiologia e patologia dos meningiomas	36
2.4 Tratamento dos meningiomas	40
2.5 Biologia molecular dos meningiomas	43
3. OBJETIVOS	54
3.1 Objetivo geral	54
3.2 Objetivos específicos.....	54
4. MATERIAL E MÉTODOS	55
4.1 Pacientes.....	55
4.2 METODOLOGIA.....	56
4.2.1 Extração do RNA das amostras de meningiomas	56
4.2.2 Extração do RNA do plasma.....	57
4.2.3 Síntese do DNA complementar (cDNA) dos genes	58
4.2.4 Síntese do DNA complementar (cDNA) dos micro RNAs.....	58
4.2.5 PCR em tempo real (qRT-PCR)	59
4.3. Análise estatística.....	60
5. RESULTADOS	62
5.1 Dados clínico-epidemiológicos	62
5.2 Quantificações da expressão de micro rnas no sangue e tecido tumoral (análise descritiva).....	63
5.3 Quantificação da expressão de genes no tecido tumoral (análise descritiva) .	66
5.4 Quantificação da expressão dos genes e micro RNAs no sangue e tecido tumoral e dos genes no tecido tumoral em relação aos graus do meningioma (análise descritiva).....	67
5.5 Análise da influência dos genes no tecido tumoral na formação do tumor	70
5.6 Análise da influência dos micro RNAs no sangue e tecido tumoral no grau tumoral entre meningiomas	70
5.7 Comparação da expressão dos genes e micro RNAs (tecido tumoral) entre os diferentes graus de tumor.....	72
5.8 Comparação da expressão dos genes e micro RNAs (sangue) entre os diferentes graus de tumor.....	73
5.9 Estimação dos pontos de corte dos micro RNAs no sangue de pacientes com meningiomas	74

5.10	Estimação dos pontos de corte dos micro RNAs no tecido tumoral de pacientes com meningiomas	79
5.11	Estimação dos pontos de corte dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral de pacientes com meningiomas.....	84
5.12	Estimação dos pontos de corte do micro RNA miR-125a-5p no sangue e tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas	87
5.13	Estimação dos pontos de corte do micro RNA miR-133b no sangue e tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas.....	91
5.14	Estimação dos pontos de corte do micro RNA miR-143 no sangue e tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas.....	94
5.15	Estimação dos pontos de corte do micro RNA miR-345 no sangue e tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas.....	98
5.16	Estimação dos pontos de corte dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas	102
6.	DISCUSSÃO	109
7.	CONCLUSÃO	120
	REFERÊNCIAS	124

1. INTRODUÇÃO

Meningiomas são tumores que se originam de células precursoras ou de revestimento da aracnóide, leptomeninge (*arachnoid cap cells*), que delimita externamente o espaço subaracnóideo e participam na formação de vilosidades aracnóideas (AL-MEFTY *et al.*, 2004; GUTMANN *et al.*, 2000). Representam os tumores cerebrais primários mais comuns em adultos, com aproximadamente um terço de todos os casos (BOSNYAK *et al.*, 2015). Dados dos Estados Unidos de 2014 e 2018 mostram que os meningiomas são os tumores cerebrais não malignos mais comuns, representando 39% do total dos tumores e 54,5 % dos tumores cerebrais não malignos (OSTROM *et al.*, 2021). Estima-se que 88.190 casos novos de tumores cerebrais malignos e não malignos sejam diagnosticados na população dos Estados Unidos em 2021 (25.690 tumores malignos e 62.500 tumores não malignos) com uma projeção de 37.020 casos novos para 2022, com 83.029 mortes atribuídas aos tumores cerebrais malignos ou outros do Sistema Nervoso Central no período de 2014 a 2018 (OSTROM *et al.*, 2021). Segundo a mesma base de dados, o número total de óbitos em 16 anos (2001 a 2017) em um total de 4.842 casos diagnosticados foi de 2.333 óbitos, com uma sobrevivência média de 103 meses, com 95% de intervalo de confiança. Entre os subtipos histológicos específicos encontrados no CBTRUS (Registro Central de Tumores Cerebrais dos Estados Unidos), a taxa de incidência de Meningiomas representa a mais alta (9.12 casos por 100 mil habitantes), seguidos por tumores da região selar (4.55 casos por 100 mil habitantes), tumores difusos astrocíticos e oligodendrogliais (4.52 casos por 100 mil habitantes) e tumores dos nervos cranianos e para espinhais (2.05 casos por 100 mil habitantes) (OSTROM *et al.*, 2021).

De acordo com a classificação vigente para os tumores do sistema nervoso central da Organização Mundial de Saúde (OMS) (LOUIS *et al.*, 2021), meningiomas são geralmente classificados em três categorias histopatológicas distintas com um espectro morfológico de 15 subtipos histológicos. São divididos nos seguintes graus histológicos: grau I (~80% dos casos) são considerados benignos e, portanto, podem ser curados quando submetidos à ressecção cirúrgica radical; grau II ou atípico (10-15 %) têm elevada taxa de recorrência, chegando a 40 % em cinco anos; e grau III ou anaplásicos (2-5%) que têm o pior prognóstico (GUTMANN *et al.*,

2000; HANSSON *et al.*, 2007; VRANIC; PEYRE; KALAMARIDES, 2012; WEBER; LOVBLAD; ROGERS, 2010). Além deste importante sistema de classificação, vários subtipos histológicos e variantes têm sido relatados e associados com a evolução clínica peculiar dos pacientes (LOUIS *et al.*, 2007). Ressalta-se, pela nova classificação da OMS de 2021, que os critérios que definem o meningioma atípico ou anaplásico (grau II e III, respectivamente), devem ser aplicados independentes do subtipo adjacente. Como em classificações anteriores, os meningiomas cordóide e de células claras têm maior probabilidade de recorrência e, portanto, foram atribuídos ao grau II da classificação da OMS, sendo, entretanto, necessários estudos prospectivos para definir melhor biomarcadores prognósticos adicionais. Da mesma forma, as morfologias rabdoide e papilar definem o grau III na classificação da OMS independente de qualquer outro fator indicando malignidade, mas estudos recentes demonstram que a graduação destes tumores não deveriam ser baseadas somente na histopatologia (GAUCHOTTE *et al.*, 2020).

A maioria dos meningiomas são geralmente tumores benignos de crescimento lento, embora uma pequena proporção apresente fenótipo clínico agressivo caracterizado por padrões de crescimento invasivo e maiores taxas de recorrência (OMS grau II-III). Embora a graduação histológica sistemática configure o método diagnóstico tradicional para tumores do SNC, o comportamento biológico dos meningiomas é imprevisível quando avaliamos seu grau histológico e histórico de tratamento. O tratamento inicial de meningiomas inclui a cirurgia, onde a morbidade cirúrgica é consideravelmente maior em pacientes mais velhos com tumores assintomáticos, que, portanto, se beneficiam do acompanhamento regular de meningiomas de baixo grau, sendo considerado como a melhor estratégia nesses casos (YANO; KURATSU, 2006). Muitos pesquisadores têm defendido a radioterapia adjuvante para meningiomas anaplásicos (Grau III), independentemente da extensão da ressecção porque estes tumores têm uma taxa extremamente alta de recorrência local. No entanto, é difícil determinar os efeitos da radioterapia em meningiomas atípicos (Grau II), porque este tipo de câncer é raro e vários sistemas de classificação são usados (KO *et al.*, 2007). As taxas de recorrência são elevadas, ficando entre 38-52% e 50-84% após cinco anos para meningiomas atípicos e anaplásicos/malignos, respectivamente (SIMON *et al.*, 2006).

Elucidação das alterações moleculares principais transformaram o tratamento do câncer e sugeriram terapias direcionadas com base no paradigma de

mutações às drogas. O gene da neurofibromatose tipo II (NF2), um supressor tumoral que codifica a proteína merlina, e seu cromossomo 22 de origem podem ser geneticamente alterados por mutações, inativação alélica, ou perda de função em cerca de 40 % a 60 % dos meningiomas esporádicos, mesmo nas fases iniciais da doença. Alternativamente, aproximadamente 40% dos meningiomas esporádicos podem coletivamente abrigar mutações somáticas recorrentes em TRAF7, KLF4, AKT1 e genes SMO, conforme identificado por tecnologia de sequenciamento de próxima geração. Meningiomas benignos também podem transportar um número neutro de cópias. Apesar disso, meningiomas grau II-III possuem alterações no número de cópias cromossômicas bem documentadas na literatura, especialmente relacionada à monossomia do cromossomo 22, bem como perda de cromossomos 1p, 6q, 10, 14q e 18q, e ganho de cromossomos 1q, 9q, 12q, 15q, 17q e 20q (BUSCHGES *et al.*, 2002; CAI *et al.*, 2001). Vários biomarcadores moleculares também estão associados à classificação e gradação de meningiomas, incluindo mutações nos genes SMARCE 1 (subtipo de células claras), BAP 1 (subtipos rabdóide e papilares) e KLF/TRAF 7 (subtipo secretor), mutação do promotor TERT61 e/ou deleção homozigótica do CDKN2A/B (OMS grau III) (SIEVERS *et al.*, 2020), perda de expressão nuclear do H3K27 (potencialmente pior prognóstico) (GAUCHOTTE *et al.*, 2020), e perfil do metiloma (subtipagem prognóstica) (NASSIRI *et al.*, 2019).

É provável que a investigação relacionada com a epidemiologia e etiologia da meningioma tenha sido negligenciado devido à percepção de que este é um tumor benigno (WIEMELS; WRENSCH; CLAUS, 2010). Susceptibilidade aumentada a formação de meningiomas é sugerida tanto pela presença de história familiar quanto pela ocorrência de mutações em genes de reparo do DNA. Além disso, a exposição à radiação ionizante com uma dose elevada, é um dos fatores de risco estabelecidos para o surgimento de meningiomas. Não existem evidências quanto ao risco aumentado de formação destes tumores com doses menores de radiação, sendo este um assunto controverso e pouco estudado (WIEMELS; WRENSCH; CLAUS, 2010). Outros fatores de risco notáveis incluem: danos cerebrais, exposição ao chumbo, o consumo de álcool, exposição a campos eletromagnéticos, dieta e terapia de reposição hormonal (KRAMPLA *et al.*, 2004).

Estudos citogenéticos sugerem fortemente que a monossomia 22, a perda completa deste cromossomo ou uma deleção intersticial do cromossomo 22 na região do gene de NF2 pode ser um evento primário no desenvolvimento desses

tumores (DUMANSKI *et al.*, 1990). A perda de material genético do cromossomo 22 pode representar um evento molecular precoce chave na tumorigênese de meningiomas (SEIZINGER *et al.*, 1987). A perda do braço curto do cromossomo 1 associada à gênese de meningioma atípico ou grau I, representa a segunda anomalia cromossômica mais comum observado neste tumor (LOMAS *et al.*, 2001; LOPEZ-GINES *et al.*, 2004; NUNES *et al.*, 2005). As perdas e ganhos de regiões cromossômicas durante a progressão tumoral de meningiomas são, provavelmente, devido a defeitos de instabilidade cromossômica e citocinese durante a divisão celular, como seguem: i) as perdas -1p, -6q, -10, e -14q -18q; e ii) ganhos + 1q, 9q +, + 12q, 15q +, + 17q e 20q (DOMINGUES *et al.*, 2014; HOLLAND *et al.*, 2011). Análises comparativas de alta resolução de hibridização e mutação genômicas foram utilizados para caracterizar prospectivamente as alterações no número de cópias de DNA de 150 meningiomas. Mutações do gene NF2 e monossomia do cromossomo 22 foram frequentemente encontradas e mutações somáticas de AKT1 (9%), SMO (6%) e PIK3C (7%) foram identificadas (ABEDALTHAGAFI *et al.*, 2016). Perdas monossômicas foram observadas no cromossomo 22 (~ 50 %) (COGEN *et al.*, 1991); 1p (27-100%) (MÜLLER *et al.*, 1999); 7q (73%) (HENN *et al.*, 2003); cromossomo 14 (14 %); 18q (15%), bem como menores perdas percentuais em 4p, 7p, 9p (CDKN2A), 10q, 11p e 19q. Coletivamente, a grande ocorrência de monossomias e deleções adquiridas em meningiomas sugerem que uma busca por novos genes supressores tumorais além do NF2 e DAL1 pode ser informativa (PHAM *et al.*, 2011).

Estudos mostram que pequenas moléculas de RNA não-codificantes, chamadas de miRNAs agem como oncogenes e supressores tumorais, controlando o crescimento celular, diferenciação e apoptose, e a sua expressão diminuída está relacionada com a tumorigênese. O relacionamento envolvendo o desenvolvimento de miRNAs e progressão do tumor cerebral são recentes, demonstrando que estes são importantes reguladores em algumas vias de tumorigênese, e a descoberta de seu papel pode nos levar a novos alvos terapêuticos sendo observada uma diminuição da expressão de microRNA-200a em meningiomas grau I. Membros de microRNAs da família miR -200 são inibidores da transição epitelial-mesenquimal, e o miR- 200a tem como alvo o ZEB1 e genes SIP1, que são reguladores negativos da expressão do gene da E-caderina. Os autores relataram por estudos funcionais em cultura de células e modelos animais em ratos que o aumento da expressão de miR - 200a inibe o crescimento de células tumorais em meningiomas (TURNER *et al.*, 2010). A

classificação de meningiomas baseada na metilação do DNA captura grupos clinicamente mais homogêneos e parece ter maior poder de previsão de recorrência e prognóstico do tumor que a classificação da OMS sendo altamente relevante para o futuro diagnóstico e possivelmente tratamento de meningiomas (SAHM *et al.*, 2017).

O conhecimento da biologia dos meningiomas progrediu nos últimos anos. Um ponto de vista diferente da genética molecular de meningiomas é o fato de observar os aspectos gerais da carcinogênese, que não são específicos dos meningiomas. Evidências substanciais sugerem que o estudo da tumorigênese induzida por radiação, a desregulação do ciclo celular, a dinâmica dos telômeros e instabilidade genética podem identificar genes de interesse no estudo dos meningiomas. Algumas evidências indicam que analisar genes e mecanismos envolvidos na metástase e invasão do câncer em geral, podem fornecer informações importantes e relevantes para a compreensão da propagação de meningiomas e posterior tratamento dos mesmos. Portanto, uma nova classificação de meningiomas com o apoio de análises de biologia molecular pode contribuir para uma melhor compreensão da fisiopatologia do tumor e, portanto, proporcionar um diagnóstico mais eficaz, bem como tratamento e evolução dos pacientes.

Algumas vias de sinalização parecem exercer importante atividade na proliferação celular em tumores malignos em geral e em meningiomas como a via do fosfatidil inositol 3-quinase. O gene PIK3C2B, diferencialmente expresso nas amostras do nosso estudo é um dos membros desta família e codifica uma proteína com importante papel na proliferação celular, transformação oncótica, sobrevivência celular, migração celular e tráfego de proteínas intracelulares. Terapias-alvo no câncer em geral, direcionadas para inibição desta via têm sido extensivamente estudadas para objetivo terapêutico com resultados bastante promissores (YANG *et al.*, 2019). Outro gene diferencialmente expresso em nosso estudo, também membro da família da fosfatidil inositol quinase, é o fosfatidil inositol 4-fosfato-5-quinase tipo 1 a (PIP5K1A), gene cuja participação na organização do citoesqueleto, adesão celular, migração e fagocitose parecem exercer dentre os fosfoinositóis, vários processos reguladores de saúde e doença no sistema nervoso central (RAGHU *et al.*, 2019). Outra via de sinalização tumoral muito enfatizada na oncogênese envolve os membros da família Ras, dentre eles o oncogene RAB3B, encontrado hipoexpresso em nossas amostras, assim como em outros tumores no sistema nervoso central, como adenomas hipofisários (ROTONDO *et al.*, 2009). Tanto as vias de sinalização da Ras-

miR-345 teciduais e plasmáticos), visando avaliar seu possível papel como biomarcadores e sua correlação com a tumorigênese e possível progressão tumoral.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. História dos meningiomas

A origem histórica do termo “meningioma” está envolta em uma série de aspectos sociais e políticos relacionados ao surgimento da Neurocirurgia no final do século XIX. Em um determinado momento em que países como Estados Unidos, França e Alemanha despontavam como líderes mundiais da medicina e das ciências biomédicas, a definição da terminologia destes tumores do Sistema nervoso central (SNC) tornou-se motivo de orgulho nacional. No período final do iluminismo francês, ocorreu a primeira publicação científica descrevendo exclusivamente meningiomas, realizada pelo cirurgião militar francês Antoine Louis (BARTHELEMY *et al.*, 2016). Dez anos após ser eleito secretário da Academia Real de Cirurgia (*Académie royale de chirurgie*), Antoine Louis publicou em *Mémoires* da Academia Real de Cirurgia (ARC) a primeira obra destinada exclusivamente aos meningiomas: “*Sur les tumeurs fongueuses de la dure-mère*”, termo que foi traduzido em inglês para tumor fungóide da dura-máter.

A segunda mudança mais importante da nomenclatura destes tumores foi realizada em 1791 por Jean Cruveilhier, um médico patologista francês que publicou em seu Opus magno, “*L’anatomie pathologique du corps humain*”, um capítulo intitulado “*Des Tumeurs Cancéreuses des Méninges*”, demonstrando através deste título que acreditava-se que estes tumores poderiam ser de etiologia maligna (BAKAY, 1989; CRUVEILHIER, 1842).

Richard Bright, um patologista britânico contemporâneo de Cruveilhier, evitou explicitamente nomear estes tumores em sua publicação mais importante sobre meningiomas, mas deu um passo adiante ao dizer que tais tumores provavelmente se originam da dura-máter ou “talvez da aracnóide adjacente à dura-máter” (CUSHING, 1938).

Durante os anos que se seguiram na disputa franco-prussiana pelo domínio do conhecimento nas áreas médicas e biomédicas, surge Hermann Lebert (1813-1878), nascido na cidade prussiana de Breslau, doutor em Medicina em Zurique (1834), com uma formação invejável, recebendo influências de Guillaume Dupuytren, e de seus amigos franceses próximos como os médicos Paul Broca e Charles Robin. Hermann Lebert descreveu em seu tratado em histopatologia do câncer (1851) no

capítulo referente aos tumores do SNC o termo “...*tumeurs fibro-plastiques intracrâniennes*” onde descreve habilmente o contato íntimo com a dura-máter e sua etiologia proveniente ou da dura-máter ou da aracnoide-máter com praticamente nenhuma aderência nas regiões vizinhas, além de descrever sua microscopia com ausência de sinais malignos ou elementos cancerígenos, sugerindo uma histopatologia benigna (LEBERT, 1851).

Uma das contribuições mais importantes da história da origem dos meningiomas veio de Rudolf Ludwig Karl Virchow (1821-1902), médico alemão que descreveu os grânulos vistos em alguns tumores como “psammoma” (*Psammos* do grego significa Areia) (BEIGEL, 1869). O termo ideal para definir estes tumores permaneceu confuso por algumas décadas: tumores fibroblásticos (Lebert), epiteloma (Charles Philippe) e até mesmo Endotelioma, termo proposto por Charles Joseph Bouchard (BOUCHARD, 1900; CUSHING, 1938, 1922; ROBIN, 1869).

O maior passo na história da neurocirurgia e na gênese do termo meningioma foi dado, entretanto, pelos americanos. William Williams Keen (1837-1932), considerado por muitos a pai da neurocirurgia, recebeu influências em sua pós-graduação de Duchene e Virchow no período em que esteve por 2 anos na Europa. Keen teve a honra de ressecar o primeiro tumor do SNC com sucesso na América (Filadélfia, Pensilvânia) que correspondia a um meningioma de convexidade (ANENE-MAIDOH; YEO; MAXWELL, 2011). Keen foi o predecessor de Harvey Cushing, sem dúvida um dos nomes mais importantes da história da neurocirurgia. Cushing foi o primeiro médico a questionar o termo endotelioma dural, referindo que apesar da aderência com a dura-máter esses tumores mais provavelmente tinham sua etiologia da aracnoide projetada para dentro da dura-máter (BARTHELEMY *et al.*, 2016). O termo “meningioma” finalmente foi cunhado por Cushing (CUSHING, 1938), e brilhantemente descrito no primeiro capítulo de sua monografia (Meningiomas, 1938), tendo como coautor o patologista Louise Eisenhardt, onde descrevem não somente os aspectos cirúrgicos relacionados a estes tumores como também as teorias sobre sua origem e a apresentação clínica mais comum dos meningiomas (SHRIVASTAVA *et al.*, 2003). Em sua monografia, *Meningiomas: Their Classification, Regional Behavior, Life History and Surgical End Results*, Cushing apresentou uma série detalhada de 313 pacientes operados entre 1903 e 1932 (CUSHING, 1938). A evolução do tratamento destes tumores foi revolucionada por Cushing devido à sua preocupação técnica e meticulosa em relação à hemostasia, anestesia e ao uso de

eletro cautério a partir de 1926 assim como o uso de cliques metálicos, fato que proporcionou um salto imenso no controle do sangramento destes tumores, o que era considerado a principal causa de morte nestes casos (SHRIVASTAVA *et al.*, 2003). Técnicas utilizadas até hoje foram descritas por ela há mais de 80 anos como o “debulking” tumoral para a ressecção completa e a oclusão do suprimento arterial destes tumores para a diminuição do sangramento (CUSHING, 1928). Sem sombra de dúvidas, a história dos meningiomas é fascinante, e tem contribuições das mais diversas nacionalidades desde seu conhecimento até o tratamento atual.

2.2. Diagnóstico imagiológico

A evolução no diagnóstico imagiológico, histopatológico e no manejo dos meningiomas evoluiu muito nos últimos 60 anos, considerando aspectos clínicos, cirúrgicos e mesmo biológicos destes tumores através da compreensão dos genes envolvidos com a tumorigênese, progressão e recidiva dos meningiomas. Em relação ao diagnóstico evoluímos de uma simples radiografia de crânio que podia evidenciar a propensão dos meningiomas à calcificação e a hiperostose óssea adjacente aos tumores, com o primeiro caso sendo descrito por Charles Mills em 1902 (MILLS, 1902). Em um segundo momento Dandy introduziu a ventriculografia e pneumoencefalografia na década de 20, podendo auxiliar no diagnóstico imagiológico de tumores parasagittais devido ao deslocamento de estruturas adjacentes (DANDY, 1932). Seguiram-se inovações como a angiografia introduzida em 1927 por Egar Muniz com os primeiros casos descrevendo particularidades de meningiomas publicados em 1947 por List e Hodges (LIST; HODGES, 1947). A introdução da tomografia de crânio (TC) e da ressonância nuclear magnética (RNM), espectroscopia, perfusão pela RNM e tomografia por emissão de Pósitrons (PET) mudaram drasticamente a compreensão destes tumores em seu diagnóstico, seguimento e comportamento evolutivo. A tomografia de crânio tem seu papel importante no diagnóstico de meningiomas haja vista que demonstra os efeitos destes tumores no osso adjacente (hiperostose ou mesmo destruição óssea) assim como calcificação intra tumoral visível em aproximadamente 25% dos meningiomas. A hiperostose geralmente tende a ser mais encontrada em tumores de crescimento indolente (grau I da OMS) enquanto tumores mais agressivos (grau III) tendem a

causar mais destruição óssea. Na RNM de crânio os meningiomas tendem a apresentar aspectos peculiares como sinal isoíntenso nas imagens ponderadas em T1 e T2, presença de cauda dural ou “*dural tail*” assim como morfologia não infiltrativa em casos de tumores mais benignos, contornos regulares, realce homogêneo ao gadolínio e presença de rima líquórica evidente em T2, demonstrando seu aspecto extra axial. Meningiomas podem se apresentar em formato arredondado ou em placa (*en plaque*), apresentando muitas vezes invasão de seios durais com ou sem trombose venosa associada. Edema vasogênico é comumente visualizado no parênquima adjacente a estes tumores, podendo ser devido a compressão venosa cerebral, efeito de massa direto e mais comumente relacionado à secreção tumoral de VEGF (*vascular endothelial growth factor*), sendo inclusive considerado um fator associado à agressividade e recidiva tumoral (PISTOLESI *et al.*, 2002; SIMIS *et al.*, 2008; VIGNES *et al.*, 2008). Infiltração óssea, encarceramento de artérias vitais (Carótidas, por exemplo), compressão de nervos cranianos (seio cavernoso, nervo óptico ou nervos emergindo do tronco encefálico) são melhor visualizados pela RNM de crânio, e sequências especiais como 3D-CIS (FIESTA) permitem a visualização ainda mais pormenorizada destas estruturas. As imagens de Perfusão Cerebral são realizadas com sequências ponderadas em T2 e administração de contraste paramagnético realizadas de forma sequencial (antes, durante e após a infusão de contraste) que geralmente evidenciam perfusão aumentada (aumento do volume cerebral) com retorno à linha de base dos gráficos de perfusão, sugerindo uma barreira hematoencefálica intacta nestes tumores (SVOLOS *et al.*, 2014).

A espectroscopia por RNM parece ter função limitada na avaliação dos meningiomas. Ela avalia as propriedades magnéticas de certos núcleos atômicos para determinar propriedades físicas e químicas de átomos e moléculas contidas no parênquima cerebral. Algumas evidências sugerem a infiltração pial adjacente aos tumores quando avaliamos a espectroscopia do parênquima edemaciado adjacente ao tumor devido ao pico de Colina (Cho), sugerindo formação de membranas celulares, e à queda de N-acetil aspartato (NAA) sugerindo destruição neuronal (CHERNOV *et al.*, 2009; TAMRAZI; SHIROISHI; LIU, 2016), mas estudos mais conclusivos e úteis como marcadores prognósticos são necessários. Resultados de análise univariada mostram uma correlação significativa entre meningiomas de alto grau e várias características da Ressonância Magnética, incluindo tamanho e volume do tumor ($p=0,002$), realce heterogêneo ($p<0,0001$), presença de necrose intratumoral

($p < 0,0001$), margem definida ($p=0,003$), erosão óssea ($p=0,004$), invasão cerebral ($p=0,001$) e maior taxa de recorrência ($p=0,007$) (SALAH *et al.*, 2019). Destas características apenas a invasão cerebral e a presença de necrose intratumoral foram significativamente correlacionadas com o meningioma de alto grau na análise multivariada (SALAH *et al.*, 2019). Desta forma, a Ressonância Magnética parece ter um papel promissor na predição do grau do meningioma antes da ressecção, o que pode impactar diretamente nos protocolos de manejo dos pacientes quanto ao planejamento cirúrgico e complicações, apresentando especificidade de 79% e sensibilidade de 20%, com valor preditivo negativo de 92% e 7% de valor preditivo positivo na detecção de invasão cerebral por meningioma.

2.3. Epidemiologia, etiologia e patologia dos meningiomas

Epidemiologicamente, os meningiomas são os tumores primários mais comuns do SNC, representando 39 % de todos os tumores encontrados e 54.5% de todos os tumores não malignos dos SNC (OSTROM *et al.*, 2021). Entre as histologias específicas do CBTRUS (Central Brain Tumor Registry of the United States) as taxas de incidência foram mais altas para meningiomas (9,12 por 100.000 habitantes), tumores de hipófise (4,36 por 100.000 habitantes), glioblastomas (3,23 por 100.000 habitantes) e tumores de bainha nervosa 2,05 por 100.000 habitantes) (OSTROM *et al.*, 2021). O diagnóstico de meningiomas aumenta com a idade, sendo a idade média de diagnóstico de 66 anos, sendo mais comuns no gênero feminino ($p < 0,0001$). Estes tumores representam o maior número de casos novos estimados nos Estados Unidos com 36.130 casos em 2021 e 37.020 casos novos projetados para 2022.

Os meningiomas são originados a partir de grupamentos celulares da aracnóide, de células derivadas da camada externa da dura-máter e vilosidades aracnóideas (*cap cells*). De acordo com a classificação vigente para os tumores do sistema nervoso central da Organização Mundial de Saúde (OMS) (LOUIS *et al.*, 2021), meningiomas são geralmente classificados em três categorias histopatológicas distintas com um espectro morfológico de 15 subtipos histológicos. São divididos nos seguintes graus histológicos em: grau I (~80% dos casos) são considerados benignos e, portanto, podem ser curados quando submetidos à ressecção cirúrgica radical; grau II ou atípico (10-15 %) têm elevada taxa de recorrência, chegando a 40 % em cinco

anos; e grau III ou anaplásicos (2-5%) que têm o pior prognóstico (GUTMANN *et al.*, 2000; HANSSON *et al.*, 2007; VRANIC; PEYRE; KALAMARIDES, 2012; WEBER; LOVBLAD; ROGERS, 2010). Os meningiomas grau I representam aproximadamente 80% dos tumores e são compostos por nove subtipos histológicos (menigotelial, fibroso, transicional, psamomatoso, angiomaso, microcístico, secretório, linfocítico e metaplásico) (LOUIS *et al.*, 2007). Os meningiomas grau II representam entre 10 a 15% dos casos e são compostos por três tipos histológicos (cordóide, células claras e atípico); já os meningiomas grau III ou malignos representam entre 2 a 5 % dos casos, sendo classificados em três subtipos (papilar, rabdóide e anaplásico). Essa proporção entre os graus parece variar entre alguns estudos. Entre 2004 e 2010 a proporção geral entre meningiomas grau I, II e III nos Estados Unidos foi de 94.6%, 4.2% e 1.2%, respectivamente (KSHETTRY *et al.*, 2015). Infelizmente não existem estudos brasileiros satisfatórios demonstrando a epidemiologia destes tumores. Ressalta-se, pela nova classificação da OMS de 2021, que os critérios que definem o meningioma atípico ou anaplásico (grau II e III, respectivamente), devem ser aplicados independente do subtipo adjacente. Como em classificações anteriores, os meningiomas cordóide e de células claras têm maior probabilidade de recorrência e, portanto, foram atribuídos ao grau II da classificação da OMS, sendo, entretanto, necessário estudos prospectivos para definir melhor biomarcadores prognósticos adicionais. Da mesma forma, as morfologias rabdóide e papilar definem o grau III na classificação da OMS independente de qualquer outro fator indicando malignidade, mas estudos recentes demonstram que a graduação destes tumores não deveriam ser baseadas somente na histopatologia (GAUCHOTTE *et al.*, 2020).

Em relação ao diagnóstico histopatológico, o comportamento varia sobremaneira entre os graus destes tumores. Meningiomas grau I são geralmente tumores bem delimitados, de crescimento lento e progressivo com taxa de recorrência após ressecção de aproximadamente 10% em 5 anos (LOUIS *et al.*, 2007). Em contrapartida, meningiomas de alto grau (grau II e III) são consideravelmente mais agressivos, sendo associados a uma maior taxa de morbimortalidade. Os meningiomas anaplásicos, por exemplo, apresentam uma sobrevida média de 37,7 % após 5 anos do seu diagnóstico (CHAMPEAUX *et al.*, 2015). Os fatores de melhor prognóstico após a ressecção de meningiomas grau II e III são idade menor que 60 anos, grau II histopatológico e a presença de meningiomas grau II *de novo* (COLLI *et al.*, 2015).

Os critérios de graduação histopatológica consideram predominantemente os seguintes fatores: tipo histológico, índice mitótico e presença de invasão cerebral (vide tabela 1) (LOUIS *et al.*, 2007) mantida na classificação da OMS de 2021. O índice mitótico de 4 mitoses por 10 campos de magnificação e 20 mitoses por 10 campos de magnificação caracterizam, por exemplo, os graus II e III, respectivamente. A nova classificação da Organização Mundial de Saúde, não sofreu revisões significativas em 2016, exceto pela introdução da característica “invasão cerebral” como um critério diagnóstico de meningioma atípico (grau II) (BANAN; HARTMANN, 2017; LOUIS *et al.*, 2016). A presença de invasão cerebral em meningiomas grau I confere taxas de recorrência e mortalidade similares aos meningiomas grau II (PERRY *et al.*, 1997), e dessa forma atribuiu-se a invasão cerebral um fator de graduação tumoral. A invasão cerebral pode induzir uma reação gliótica cerebral peritumoral, sendo útil para essa avaliação a proteína fibrilar ácida glial (GFAP) para demonstrar o parênquima interveniente entre as protrusões tumorais intraparenquimatosas. Enquanto as características papilares e rabdóides são frequentemente vistas em combinação com outros fatores agressivos, mais estudos recentes sugerem que a classificação desses tumores não deve ser baseado apenas em uma citologia rabdóide ou arquitetura papilar (VAUBEL *et al.*, 2016).

Tabela 1 - Gradação histológica segundo a OMS (2021)

MENINGIOMA BENIGNO (GRAU I DA OMS)
Qualquer histologia predominante diferente de: células claras, cordóide, papilar ou rabdóide Ausência de critérios para meningiomas atípico, invasivo ou anaplásico
MENINGIOMA ATÍPICO (GRAU II DA OMS): 1 DE 2 CRITÉRIOS MAIORES
Índice Mitótico ≥ 4 mitoses por 10 campos de grande aumento Presença de no mínimo 3 dos 5 parâmetros: <ol style="list-style-type: none"> 1) “Arquitetura em folhas” (folhas bidimensionais com perdas de espirais e fascículos) 2) Formação de pequenas células (grupos celulares linfócitos-like com alta razão núcleo/citoplasma) 3) Hiper celularidade 4) Macronúcleolos 5) Necrose espontânea (isto é, não induzida por embolização ou radiação)
MENINGIOMA CEREBRAL INVASIVO (GRAU II DA OMS)
Protrusões semelhantes a língua no parênquima cerebral adjacente Meningiomas contendo ilhas de parênquima cerebral GFAP positivas
MENINGIOMA ANAPLÁSICO (MALIGNO) (GRAU III DA OMS): 1 DE 2 CRITÉRIOS
Índice Mitótico ≥ 20 mitoses por 10 campos de grande aumento Anaplasia franca (histologia sarcoma-, carcinoma- ou melanoma-like)

Fonte: Adaptada de Louis *et al.* (2007, 2021).

Vários marcadores biomoleculares também estão associados à classificação e gradação de meningiomas, incluindo mutações SMARCE1 (subtipo de células claras), BAP1 (subtipos rabdóide e papilar) e KLF4 e TRAFF7 (subtipo secretor), mutação do promotor TERT61 (SAHM *et al.*, 2016) e/ou deleção homozigótica do CDKN2A/B62 (OMS grau III) (SIEVERS *et al.*, 2020), perda da expressão nuclear do H3K27me3 (potencial pior prognóstico) (GAUCHOTTE *et al.*, 2020) e o perfil do metiloma (subtipagem prognóstica) (NASSIRI *et al.*, 2019).

A imunohistoquímica dos meningiomas apresenta tipicamente imunorreatividade para o antígeno epitelial de membrana (EMA), sendo considerado o marcador mais importante para separar o meningioma dos demais tumores do SNC (SCHNITT; VOGEL, 1986). A queratina também é expressa em meningiomas, mas ao contrário de carcinomas, aparece apenas focalmente localizada (MIETTINEN; PAETAU, 2002). A proteína S100 também é expressa fracamente no subtipo fibroso de meningiomas, e mais da metade dos meningiomas expressam receptores de progesterona, sendo que outros marcadores como Mib-1 parecem ter correlação direta com o índice de recorrência dos meningiomas (CSONKA *et al.*, 2016).

2.4 Tratamento dos meningiomas

Em relação ao tratamento dos meningiomas, vários tipos de terapia têm sido propostas nas últimas décadas, e entre elas encontramos a ressecção cirúrgica, radioterapia, radiocirurgia, terapia hormonal com antagonistas dos receptores de progesterona (mifepristone), além de somatostatina de longa duração e terapia crônica supressiva com inibidores de canais de cálcio (CHAMBERLAIN, 2015; CHAMPEAUX *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2015; COSSU *et al.*, 2015; MAHAJAN; LONDON, 1997; NORDEN *et al.*, 2015; RAGEL *et al.*, 2007; SIMPSON, 1957; SUN *et al.*, 2015). A terapia com antagonistas dos receptores de progesterona ou antagonistas dos canais de cálcio, apesar de serem bem tolerados, até o momento não apresentaram evidências suficientes demonstrando diminuição da progressão ou da recorrência dos meningiomas (COSSU *et al.*, 2015; MAHAJAN; LONDON, 1997; NORDEN *et al.*, 2015; RAGEL *et al.*, 2007).

A terapia de meningiomas pode variar considerando o grau do tumor, a localização das lesões, o status funcional do paciente (escala de Karnofsky), idade do paciente e condições neurológicas associadas (CHEN *et al.*, 2015; MIRIMANOFF *et al.*, 1985). A única cura definitiva é a ressecção completa dos meningiomas, sendo considerados fatores clássicos para a recidiva tumoral os seguintes fatores: coagulação da dura mater ao invés de excisão da mesma, invasão óssea adjacente ao tumor, a consistência tumoral e patologia maligna atípica ou papilar (CHAMPEAUX *et al.*, 2015; CHEN *et al.*, 2015; SIMPSON, 1957). Meningiomas com receptores de Progesterona presentes parecem apresentar uma menor taxa de recorrência tumoral, patologia agressiva, maior sobrevida, menores índices proliferativos e um melhor prognóstico ao contrário dos meningiomas com ausência de receptores hormonais ou com receptores de Estrógenos presentes, que evidenciam um acúmulo de anormalidades cromossômicas e um maior potencial de agressividade clínica, com maiores taxas de progressão e recorrência (PRAVDENKOVA *et al.*, 2006).

Entretanto anormalidades citogenéticas aparecem como uma das principais alterações relacionadas com a agressividade tumoral sendo a presença de anormalidades no cromossomo 1p e 14q evidentemente relacionadas com uma biologia molecular mais agressiva e grau mais avançado destes tumores (BI *et al.*, 2016b; SAWYER *et al.*, 2000).

Apesar das características benignas da maioria dos meningiomas, a

capacidade de obter a ressecção completa ou subtotal de alguns tumores torna-se acentuadamente prejudicada pela topografia dos meningiomas, com um incremento substancial da morbimortalidade quando sua localização se dá na base do crânio (DI MAIO *et al.*, 2012; JENKINSON *et al.*, 2015). A localização mais comum dos meningiomas está na topografia parasagital, sendo definida como os meningiomas que preenchem o ângulo parasagital sem parênquima cerebral interveniente entre o tumor e o seio sagital superior (SSS) (CUSHING, 1938). Estes tumores podem envolver uma parede do SSS ou as duas, podendo inclusive ocluir o mesmo, configurando um quadro difícil de cura e ressecabilidade total. Eles representam aproximadamente 30% dos meningiomas e estão localizados no terço anterior (da crista galli até a sutura coronal), no terço médio (da sutura coronal até a sutura lambdoide) e no terço posterior (da sutura lambdoide até a tórula de Herófilo) em aproximadamente 30%, 60% e 10% dos casos respectivamente (ALVERNIA; SINDOU, 2009). Devido ao envolvimento crítico de veias corticais e SSS, assim como o desenvolvimento da radiocirurgia, o objetivo de ressecabilidade total do tumor nestes casos tornou-se questionável (KONDZIOLKA; FLICKINGER; PEREZ, 1998). Apesar de algumas séries demonstrarem até 85% de ressecção total, a recorrência geral pode ocorrer em até um terço dos casos, com até 100% de recidiva em tumores grau III (COLLI *et al.*, 2006), com piora neurológica variando entre 5,5 e 7,8% (BLACK; MOROKOFF; ZAUBERMAN, 2008; COLLI *et al.*, 2006) e mortalidade relacionada a cirurgia variando entre 3 e 5,7% nas maiores séries (COLLI *et al.*, 2006; SINDOU; ALVERNIA, 2006).

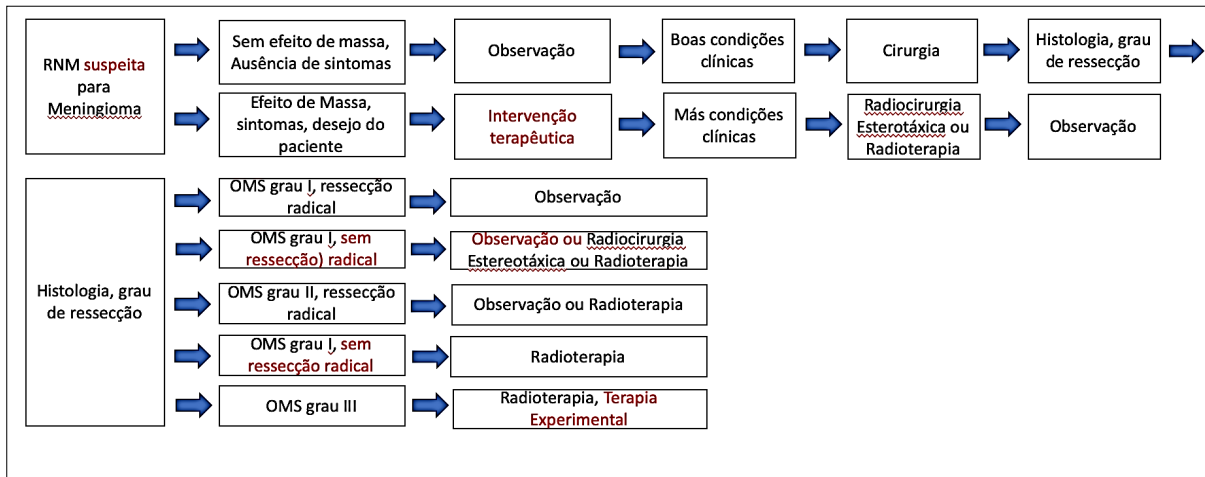
A segunda localização mais comum dos meningiomas intracranianos está na convexidade cerebral, não se estendendo, portanto, para a dura-máter da base do crânio e para os seios venosos durais. Estes tumores representam em torno de 15% dos meningiomas sendo que até 20 % destes são assintomáticos e descobertos por exames incidentalmente, apresentando uma baixa morbidade (entre 1,7 e 9,4%) e mortalidade zero em 30 dias após a cirurgia (MOROKOFF; ZAUBERMAN; BLACK, 2008; SANAI *et al.*, 2010). Tais meningiomas apresentam acesso mais fácil com alta curabilidade pós-operatória, apresentando uma recorrência aproximada de 4% (BOROVICH; DORON, 1986; CONDRA *et al.*, 1997; MAHMOOD *et al.*, 1993). Meningiomas falcinos representam a terceira modalidade mais comum de meningiomas, sendo originados da foice do cérebro e representando cerca de 8,5% dos meningiomas intracranianos (CHUNG *et al.*, 2007). Estes tumores podem estar

relacionados com o terço anterior, médio e posterior da foice e seu acesso cirúrgico pode ser extremamente dificultado pela anatomia venosa dos pacientes, ocasionando dessa forma um aumento na morbimortalidade. Outras localizações possíveis de encontrar meningiomas são: o tentório (3 a 6% dos casos) (NERY *et al.*, 2016), goteira olfatória (9 a 18% dos casos) (CHAN; THOMPSON, 1984; CUSHING, 1938; SOLERO; GIOMBINI; MORELLO, 1983), tubérculo da sela (BENJAMIN; RUSSELL, 2005), asa do esfenóide (11 a 18% dos casos) (JAASKELAINEN, 1986; ROHRINGER *et al.*, 1989; STAFFORD *et al.*, 1998), seio cavernoso, esfenoorbitários, ângulo ponto cerebelar (6 a 15% de todos os tumores do ângulo ponto cerebelar) (BASSIOUNI *et al.*, 2004; OJEMANN, 1993; SCHALLER *et al.*, 1999), clival e petroclival (2% dos meningiomas) (CUSHING, 1938), forame magno (1,8 a 3,2 % dos casos) (AKALAN *et al.*, 1994; ARNAUTOVIC; AL-MEFTY; HUSAIN, 2000), fossa média, convexidade cerebelar e sistema ventricular (NAKAMURA *et al.*, 2003). Independente da localização e do grau histológico atribuído ao tumor, o tratamento cirúrgico destas lesões permanece um grande desafio, mesmo em meningiomas benignos, especialmente quando estes tumores se localizam na base do crânio ou quando a radioterapia falha na complementação terapêutica destas lesões (KAUR *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2015; SILVA; FREITAS, 2015; STARKE *et al.*, 2015). Desta forma, o tratamento ideal dos meningiomas é altamente especializado e dependente de múltiplos fatores, como localização, idade, agressividade, grau histológico e técnica cirúrgica adequada.

Os tratamentos de primeira linha em geral para meningiomas são observação e cirurgia, mas a radioterapia/radiocirurgia adjuvante é discutida para meningiomas atípicos e indicada para meningiomas anaplásicos. Os casos mais problemáticos incluem meningiomas da base do crânio que envolvem estruturas vasculonervosas e tumores refratários à cirurgia e à radiação que apresentam morbidade e mortalidade significativas. O tratamento de tumores recorrentes é baseado em radioterapia e cirurgias repetidas. As terapias sistemáticas não são eficazes em geral, mas vários ensaios clínicos estão em andamento. A caracterização molecular dos tumores, com base em mutações genéticas como NF2, SMO, TERT, TRAF7 e no perfil de metilação estão em desenvolvimento, completando a classificação histológica e dando novos insights sobre prognóstico e opções de tratamento (APRA; PEYRE; KALAMARIDES, 2018). O uso de radioterapia adjuvante é o padrão ouro para o meningioma grau III, é debatida e discutível no grau II e

geralmente não é indicada para meningiomas grau I ressecados radicalmente (MAGGIO *et al.*, 2021). Um resumo esquemático em relação ao tratamento dos meningiomas pode ser visto na figura 2.

Figura 2 - Recomendações para o manejo terapêutico em meningiomas



Fonte: Adaptada de Goldbrunner *et al.* (2021).

2.5 Biologia molecular dos meningiomas

A complexidade terapêutica dos meningiomas exigiu uma evolução e compreensão de seu comportamento biológico nas últimas duas décadas, com passos importantes em genômica e epigenômica relacionados a esses tumores. Estudos iniciais demonstraram a importância do cromossomo 22 na tumorigênese dos meningiomas familiares e esporádicos (DALRYMPLE; JENKINS, 1994) sendo que a perda de heterozigose do gene supressor tumoral NF2 neste cromossomo foi encontrada em aproximadamente 60% dos casos em meningiomas esporádicos (HARADA *et al.*, 1996). Monossomia do cromossomo 22 demonstrou ser uma alteração incipiente e comum na tumorigênese dos meningiomas, com perda de heterozigose encontrada em diversos marcadores polimórficos em 22 q como sendo considerada a alteração molecular mais comum (LAMSZUS, 2004), sendo também encontrados perdas citogenéticas nos cromossomos 1, 3, 7 e 14 (DRUMMOND; ZHU; BLACK, 2004; LUSIS; GUTMANN, 2004). Mutações de ganho de função nos cromossomos 1q, 9q, 12q, 15q, 17q, 20q e perdas em 1p, 6q, 10q, 14q e 18q demonstraram a progressão para meningiomas grau II na base do crânio, e ganhos

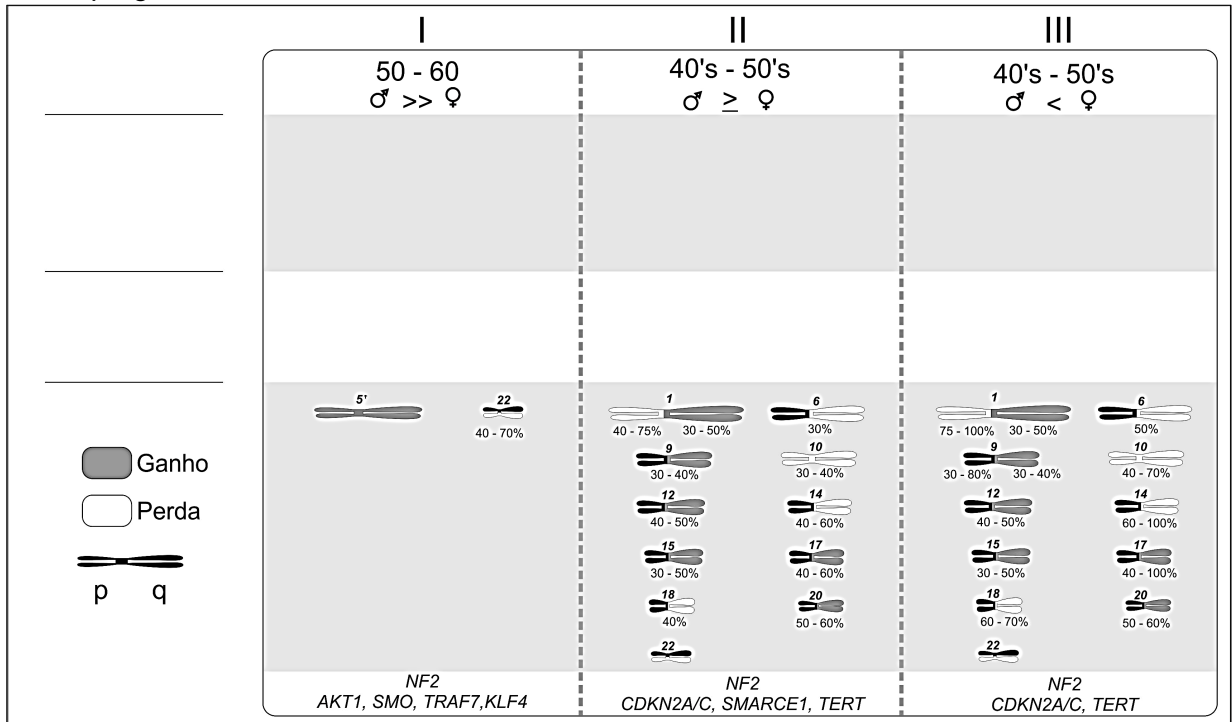
em 17q e perdas em 9p foram encontrados em meningiomas anaplásicos (grau III) nesta mesma localização (PATEL; MHATRE; LALWANI, 2004).

Tentativas de classificações histológicas baseadas na biologia molecular encontrada em meningiomas de graus mais avançados demonstraram uma certa incapacidade de determinar precisamente as mutações necessárias para a progressão destes tumores (RIEMENSCHNEIDER; PERRY; REIFENBERGER, 2006) sendo que algumas vias de sinalização foram encontradas com um potencial de interrupção para a aplicação clínica (DOMINGUES *et al.*, 2015), como a família de inibidores de quinase dependentes de ciclinas (INK4A/INK4B) cujas proteínas funcionam como supressores tumorais e mutações de perda de função estariam relacionadas com a tumorigênese (SIMON; BOSTROM; HARTMANN, 2007).

Alterações genômicas se referem a mutações como deleções, duplicações, inversões, inserções e translocações. Até o momento presente 20% dos meningiomas não apresentam mutações identificáveis em qualquer oncogene (Bl *et al.*, 2016b). Dois grupos principais de mutações podem ser identificados principalmente nos meningiomas grau I: aquelas relacionadas ao NF2 (presente em 40 a 60% dos meningiomas esporádicos) e um grupo denominado mutações não-NF2 que correspondem a 4 genes principais: TRAFF7, KLF4, AKT1 e SMO. O TRAFF7 (TNF receptor associated factor 7) está localizado no cromossomo 16p13 e produz fatores pró-apoptóticos ubiquitin ligase. Mutações estão presentes em aproximadamente 28% dos meningiomas grau I e a via de sinalização relacionada a este gene ainda não foi bem definida (Bl *et al.*, 2016b). Aproximadamente 12 % dos meningiomas grau I apresentam mutações em KLF4 (*Kruppel like factor 4*), gene presente no cromossomo 9q31 e responsável por promover a reprogramação e diferenciação de células somáticas de volta ao seu estado pluripotente. O gene AKT1 (Serine Threonine Kinase1) está localizado no cromossomo 14q32 e está mutado em aproximadamente 14% dos casos, estando relacionado à via de sinalização AKT/PI3K, cuja fosforilação completa do AKT ativa a mTORC1 (*mamalian target of rapycin complex 1*), causando crescimento e proliferação celular. Já o gene SMO (*smothned*) está associada à conhecida via de sinalização celular do hedgehog, estando mutada em aproximadamente 5% dos casos e sendo relacionada ao crescimento e diferenciação celular (Bl *et al.*, 2016b). Todas essas vias funcionam como potencial “*target*” terapêutico e merecem atenção especial devido à prevalência dos meningiomas grau I.

Alterações no número de cópias cromossômicas estão envolvidas com a tumorigênese e progressão tumoral para graus mais avançados. A monossomia do cromossomo 22, por exemplo, está presente em 40 a 70% dos meningiomas grau I e estão virtualmente presentes em todos os meningiomas grau II e grau III. Perdas cromossômicas no braço curto do cromossomo 1 e no braço longo do cromossomo 14 estão presentes entre 40 a 75% e 40 a 60% em meningiomas grau II e 75 a 100% e 60 a 100% em meningiomas grau III, respectivamente (BI *et al.*, 2016b). Alterações com ganhos e perdas de função nos cromossomos 6,10,12,15,17, 18 e 20 também podem ser encontradas na progressão do grau dos meningiomas e também representam alterações importantes (vide tabela 2) (BI *et al.*, 2016b).

Tabela 2 - Alterações com ganhos e perdas de função nos cromossomos e sua correlação com a progressão tumoral



Fonte: Adaptada de Bi *et al.* (2016b).

Uma série de alterações epigenéticas já foram associadas com a tumorigênese em meningiomas, estando associados com estágios precoces de vias de sinalização relacionados com proliferação celular ou apoptose. Alterações epigenéticas ou epigenômicas são aquelas responsáveis por gerar alterações da acessibilidade transcricional sem alterações na sequência gênica, sendo que genes hipermetilados geralmente são geralmente relacionados ao silenciamento gênico e hipometilação estando associada à ativação do gene. Um exemplo está evidente com a hipermetilação de *TIMP3* (*TIMP Metallopeptidase Inhibitor 3*), inativando sua atividade de supressão tumoral enquanto a hipermetilação do gene *CDKN2* (p14[ARF]) e *TP73* e a regulação positiva de *HIST1H1c* interagem com a regulação de p53 do controle do ciclo celular (HE *et al.*, 2013). Outros fatores, como modificações epigenéticas de *HOX*, *IGF*, *WNK2* e *TGF-β*, permitem a regulação positiva ou negativa de vias críticas para o desenvolvimento, progressão e recorrência do meningioma (HE *et al.*, 2013).

Aproximadamente 77% dos meningiomas apresentam pelo menos 1 gene metilado e aparentemente estão presentes na transformação maligna dos meningiomas, apesar do padrão de metilação variar sobremaneira entre os genes nos

meningiomas, estando implicadas também na tumorigênese (Bi *et al.*, 2016b) (vide tabela 3 e 4).

Tabela 3 - Proporção de Anormalidades Cromossômicas encontradas em Meningiomas em seus respectivos graus

MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS IMPLICADAS NA TUMORIGÊNESE DOS MENINGIOMAS			
Gene	Produto: função normal	Mudança epigenética	Associação da mudança em meningiomas
CDKN2A	Proteína p14ARF: TP53 e proteína reguladora do ciclo celular (supressor tumoral)	Hipermetilação	Tumorigênese
TP73	P73: regulação do crescimento celular e da parada do ciclo celular (supressor tumoral)	Hipermetilação	Tumorigênese
MEG 3	RNA não codificante: ativação da atividade do p53 (supressor tumoral)	Hipermetilação	Tumorigênese
HOXA5, HOXA6, HOXA9, HOXA 11	HOXA5, HOXA6, HOXA9, HOXA 11	Cometilação	Tumorigênese
IGF2BP1	Proteína de ligação ao RNA: estabilidade do RNAm e regulação de translocação	Hipermetilação	Tumorigênese
WNK2	Serina-treonina quinase: regulação negativa do receptor do fator de crescimento epidérmico (sinalização celular)	Hipermetilação	Tumorigênese
LMO4	Fator de transcrição LMO4 do domínio LIM: modulador de sinal TGF-beta (sinalização celular)	Regulação negativa	Tumorigênese
HES1	<i>Hairy and enhancer do fator de transcrição 1</i> bHLH da família split-1: ativação da sinalização Notch	Regulação Negativa	Tumorigênese
MGMT	O6 alquilguanina DNA alquiltransferase: reparo de DNA	Metilação	Tumorigênese
miR-200a	Micro- RNA: regulação positiva da E-caderina	Regulação negativa	Tumorigênese
UPK3A	Proteína transmembrana Uroplakin-3a: regulação do citoesqueleto	Hipermetilação	Fator de Transcrição
miR-200a	Micro- RNA: regulação positiva da E-caderina	Regulação negativa	Tumorigênese
PENK	Pré-pró-encefalina: interação com p53 para apoptose induzida por stress	Hipermetilação	Apoptose
THBS1	Trombospondina 1: inibidor da angiogênese	Metilação	Angiogênese
HIF3 alfa	Fator 3 induzido por hipóxia, subunidade alfa: regulador dominante negativo do HIF 1- alfa	Metilação	Angiogênese

Fonte: Adaptada de Bi *et al.* (2016b).

Tabela 4 - Modificações epigenéticas relacionadas à estratificação de graus histológicos em meningiomas

MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS RELACIONADAS À ESTRATIFICAÇÃO DE GRAUS HISTOLÓGICOS EM MENINGIOMAS			
WNK2	Serina-treonina quinase: regulação negativa do receptor do fator de crescimento epidérmico (sinalização celular)	Hipermetilação	Grau 1 < 2/3
TP73	P73: regulação do crescimento celular e da parada do ciclo celular (supressor tumoral)	Hipermetilação	Grau 1 < 2/3

...continua

Continuação.

GSTP1	Glutathione S transferase 1: conjugação de carcinógenos em glutathione para detoxificação, supressor tumoral	Hipermetilação	Grau 1 < 2/3
HOXA7, HOXA9, HOXA10	Grupo do gene Homeobox A: determinação da identidade celular e desenvolvimento do SNC, sinalização celular	Cometilação	Grau 1 < 2 < 3
KDM5C	Demetilase de histona: estruturação da cromatina	Desregulação da Cromatina secundária a mutação	Grau 1 e 3
KDM6A	Demetilase de histona: estruturação da cromatina	Desregulação da Cromatina secundária a mutação	Grau I
SMARCB1	Complexo protéico de remodelamento da cromatina: estruturação da cromatina	Desregulação da Cromatina secundária a mutação	Grau 2
miR-29c-3p	micro RNA: controle de proliferação	Regulação Negativa	Grau 1 > 2 > 3
miR-219-5p	micro RNA: controle de proliferação e indução de apoptose	Regulação Negativa	Grau 1 > 2 > 3
miR-190a Hipometilação Global	micro RNA: antiapoptose Expressão aumentada de ADCY3, GAS7, LAGA3, LRR32, e SPON2, sem significância estatística	Regulação Positiva Hipometilação	Grau 1 < 2 < 3 Tumores de alto grau

Fonte: Adaptada de Bi *et al.* (2016b).

Um estudo do perfil global epigenético dos meningiomas validou um subgrupo de 283 marcadores potencialmente úteis para o prognóstico em meningiomas, separando grupos de risco para recorrência (OLAR *et al.*, 2017). As aberrações do número de cópias no subgrupo MM-UNFAV (meningiomas desfavoráveis) incluíram perdas recorrentes de 1p, 6q, 14q e 18q e ganho de 1q, todos previamente identificados como indicadores de mau prognóstico e maior índice de recidiva. O perfil de metilação do DNA demonstra inclusive a capacidade de prever o risco de recorrência de meningiomas. Foi desenvolvido um nomograma validado para a otimização do tratamento clínico em meningiomas, no qual um escore de recorrência de meningioma identificou 2 grupos de risco (alto risco versus baixo risco) que podem ajudar a individualizar as decisões de manejo adjuvante, como a necessidade de radioterapia em pacientes com meningiomas (NASSIRI *et al.*, 2019). No estudo de Nassiri *et al.* (2019), as amostras de tumor dos pacientes foram avaliadas quanto ao perfil de metilação do DNA de 9529 sondas selecionadas, e uma pontuação preditiva de probabilidade de sobrevivência livre de recorrência (PSLR) em um período de 5 anos pôde ser avaliada. Essa pontuação é combinada com o grau da OMS do tumor e o grau de Simpson no escore de recorrência do meningioma para

desenvolver uma PSLR individualizada de em 5 anos, dividindo-se 2 grupos para o alto risco de recidiva, no qual se deve considerar a terapia adjuvante e vigilância ativa de curto intervalo, e um grupo de baixo risco de recidiva, no qual terapia adjuvante deve ser evitada a princípio e permite vigilância em intervalos mais longos. Estudos mais recentes inclusive mostram que subgrupos baseados nas famílias de variações de números de cópias e metilação, resultam independentemente em maior precisão de previsão de risco de recorrência em comparação com a classificação da OMS por si só (MAAS *et al.*, 2021). No estudo multicêntrico de Maas *et al.* (2021), dados de metilação de DNA e informações de número de cópias foram gerados para 3.031 meningiomas (2.868 pacientes) e dados de mutação para 858 amostras, com a subsequente análise de subgrupos de metilação de DNA, variações de número de cópias (CNVs), mutações e classificação da OMS. O poder de predição do desfecho foi avaliado em uma coorte retrospectiva de 514 pacientes, validada em uma coorte retrospectiva de 184 pacientes e em uma coorte prospectiva de 287 casos multicêntricos. A fusão de todas as abordagens de estratificação de risco em uma pontuação morfológico-molecular integrada resultou em um aumento substancial na acurácia, superando significativamente a classificação da OMS. Além da vantagem geral da estratificação, a pontuação integrada separa com mais precisão o risco de progressão na interface diagnóstica desafiadora dos tumores grau 1 e grau 2 da OMS (taxa de risco 4,34 [2,48-7,57] e 3,34 [1,28-8,72] coortes de validação retrospectiva e prospectiva, respectivamente). Outras evidências de sistemas de classificação com pontuação preditiva e prognóstica para progressão de grau em meningiomas (MPscore) também parece ser potencialmente útil na predição de risco de recorrência e na estratificação de resposta aos tratamentos adotados adicionando mais evidências sobre os diferentes perfis de metilação destes tumores (LIU; QIAN; MA, 2021).

MicroRNAs (miRNAs) referem-se a uma classe de pequenos RNAs endógenos não codificantes que regulam a expressão gênica no nível pós-transcricional podendo ter um papel crucial na tumorigênese e progressão de meningiomas. Diversos estudos demonstram o desempenho crítico dos micro-RNAs em câncer em geral, entretanto, os mecanismos de sua desregulação na patogênese dos meningiomas ainda permanece totalmente incompreendido. Os micro-RNAs têm atraído grande atenção pelo seu papel como marcador biológico e prognóstico em meningiomas (WANG *et al.*, 2020). Micro RNAs são comumente definidos como RNAs

não codificantes com 19 a 25 nucleotídeos que regulam a expressão gênica pós-transcricional via ligação complementar específica à região 3' (3'-UTR) não traduzida do RNA mensageiro alvo (BARTEL, 2004). Um micro-RNA pode potencialmente se ligar a numerosos RNA mensageiros (m-RNAs) e modular a expressão de centenas de genes, funcionando ora como oncogene, ora como supressor tumoral. Recentemente, evidências acumuladas têm indicado um importante papel biológico do micro RNA em meningiomas, incluindo na sua ocorrência (tumorigênese), regulação de sua proliferação, metástase, invasão e apoptose (GALANI *et al.*, 2017; WERNER *et al.*, 2017). Comparar e identificar perfis de expressão diferencial de micro RNAs em meningiomas benignos e malignos é, desta forma, extremamente importante visando seus papéis funcionais na tumorigênese e na prevenção de malignidade. Por exemplo, ao pesquisar a expressão dos níveis de micro RNA e de tecidos normais e diferentes graus de meningiomas, pesquisadores descobriram que a redução do miR-29c-3p e miR-219-5p estavam associadas com o avanço clínico dos estágios de meningiomas, e que a expressão de miR-190-a era um fator prognóstico independente para meningiomas (ZHI *et al.*, 2013, 2016). Vários micro RNAs em potencial foram estudados como marcadores diagnósticos e alvos terapêuticos em meningiomas (tabela 5) (WANG *et al.*, 2020).

Tabela 5 - Modificações epigenéticas relacionadas à estratificação de graus histológicos em meningiomas

PERFIL DE MICRO RNAs PARA USO COMO MARCADORES DIAGNÓSTICOS E ALVOS TERAPÊUTICOS EM MENINGIOMAS				
Autores	Comparação entre amostras	Micro RNAs up-regulados	Micro RNAs down-regulados	Método
El-Gewely <i>et al.</i> (2016)	OMS graus I e II vs. Controle de dura-máter	miR 218, miR 34a	miR-143, miR-193b, miR-451, miR-21	Solid deep sequencing/ RT-qPCR
Galani <i>et al.</i> (2015)	OMS grau II e III vs. OMS grau I	miR 21	----	RT-qPCR
Katar <i>et al.</i> (2017)	OMS grau II e III vs. OMS grau I	miR-21	miR-107	Genoma wide array
Ludwig <i>et al.</i> (2015)	Diferentes tipos meningiomas OMS grau I	miR 181b, miR-204, miR-218, miR 451, miR 873 (em meningiomas menigiteliais)	miR-222, miR-195, miR-497, miR-223, miR-224-3p, miR 199a-3p, miR-199a-5p (em meningiomas menigiteliais)	MiRNA microarray
Ludwig <i>et al.</i> (2015)	OMS grau III vs OMS grau I	miR 181a, miR 181b, miR 204, miR-210, miR-21, miR-224, miR-3651, miR-483-3p	miR-34a, miR-34a-3p, miR-154, miR-140-3p, miR-27b, miR-23b, miR-382, miR-432, miR-874, miR-337-5p, miR-410, miR-377, miR-376a, miR-136, miR-487-b, miR-409-3p, miR-140-5p, miR-223, miR-376c, miR-497, miR195, miR-654-3p, miR-873, miR-218, miR-29C	MiRNA microarray
Zhi <i>et al.</i> (2013)	Amostras de meningiomas vs tecido normal	miR-17-5p, miR-22-3p, miR-24-3p, miR 26b-5p, miR-27a-3p, miR-27b-3a, miR-96-5p, miR-146a-5p, miR-155-5p, miR-186-5p, miR-190a, miR-199a	miR-29c-3p, miR-219-5p	RT-qPCR
Kopkova <i>et al.</i> (2019)	Líquor de pacientes com meningiomas vs controles	miR-196-5p, miR-10a-5p, miR-549a, miR-196b-5p, miR-199b-3p, miR-101-3p, miR-152-3p, miR-10a-3p, miR-148a-3p, miR-140-5p, miR 1247-5p, miR-205-5p, miR-10-5p	----	Illumina small RNA sequencing/ RT-qPCR
Zhi <i>et al.</i> (2016)	Amostras de sangue pré-operatória vs controle	miR-375, miR-409-3p, miR106a-5p, miR-409-3p	miR-224, miR-197	TaqMan Low density Array/ RT-qPCR

Fonte: adaptado de Wang *et al.* (2020).

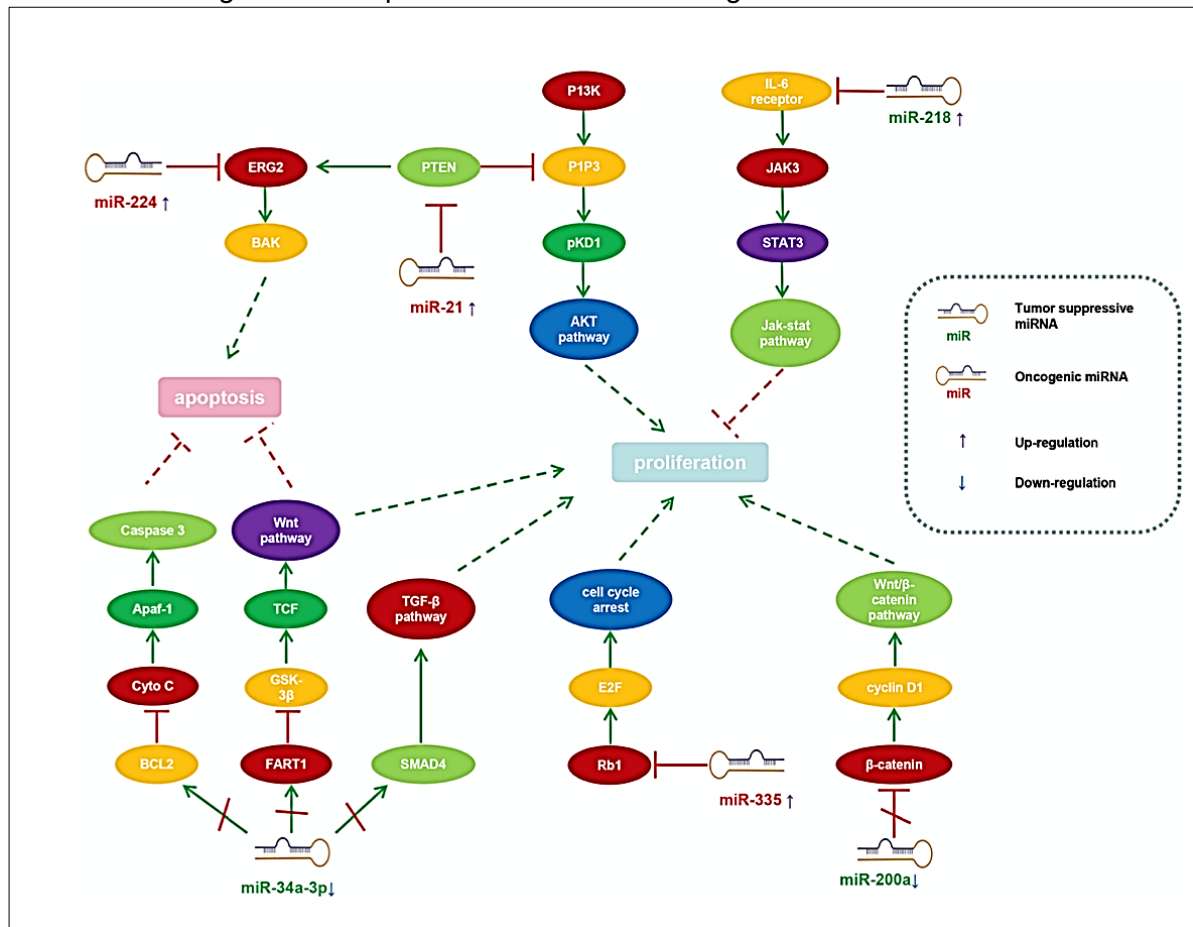
El-Gewely *et al.* (2016) encontraram 6 micro RNAs diferencialmente expressos entre biópsias de meningiomas (grau I e grau II) e controles de dura-máter, com miR-218 e miR-34 up-regulados em relação aos controles normais, enquanto o miR-143, miR-193-b, miR-451 e miR-21, se encontravam down regulados. Outro

estudo comparou a expressão diferencial de entre diferentes graus de meningiomas evidenciando uma assinatura de 4 micro RNAs (miR 222, miR-34a-3p, miR 136 e miR 497) que se mostraram promissores como biomarcadores para diferenciar meningiomas grau II de grau I (LUDWIG *et al.*, 2015), sugerindo que tais micro RNAs poderiam estar envolvidos na gênese ou progressão tumoral.

Além destes marcadores em tecidos tumorais, existe grande interesse clínico em avaliar micro RNAs circulantes no líquido ou no sangue em pacientes com meningiomas. Por exemplo, no líquido, acredita-se que poderia ter um potencial para monitorização em meningiomas, devido ao seu contato direto com o cérebro e medula espinhal (vide tabela 5) (KOPKOVA *et al.*, 2019). Da mesma forma micro RNAs característicos de tumores cerebrais foram detectados em micro vesículas séricas (AKAO *et al.*, 2011; YANG *et al.*, 2013), e, em pacientes com meningiomas, poderiam ser convenientes para o diagnóstico, seguimento e tratamento de meningiomas.

Os mecanismos possíveis de ativação de oncogenes ou inibição destes genes supressores tumorais estão indicados na figura 3 (WANG *et al.*, 2020). Nesta figura podemos ver que tanto a via de sinalização tumoral da tirosino quinase (Akt) quanto as vias de sinalização da Jak-stat são vias importantes a serem estudadas e merecem atenção na gênese e progressão de meningiomas.

Figura 3 - Visão global de mecanismos regulatórios possíveis de micro RNAs com potencial mecanismo oncogênico ou supressor tumoral em meningiomas



Fonte: Wang *et al.* (2020).

Nota: Mecanismos de ativação são indicados por setas verdes e mecanismos de inibição são indicados por setas vermelhas

A presença de anormalidades no cromossomo 1p está relacionada a uma biologia molecular mais agressiva e grau mais avançado destes tumores e perdas cromossômicas no braço curto do cromossomo 1 estão presentes em uma grande proporção de meningiomas de todos os graus (Bl *et al.*, 2016a; SAWYER *et al.*, 2000). Um estudo visando uma melhor definição do perfil de expressão global de micro RNAs em meningiomas grau I pela técnica de *microarrays*, com ênfase nos micro RNAs que alteram a transcrição dos genes no cromossomo 1 é essencial para definir de forma mais completa a real importância da genômica, transcriptômica e epigenômica assim como as interações dos micro RNAs que controlam a expressão destes genes no cromossomo 1 nos meningiomas grau I, II e III, em especial relacionados as vias da Akt e Ras/Raf/Mek/Erk quinase.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Validar os genes PIK3C2B, PIP5K1A (via da tirosino quinase) e os micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-345 e miR-143 selecionados a partir de resultados obtidos por análise de microarrays em estudo prévio de 14 meningiomas grau I com e sem deleção do cromossomo 1. Após esta seleção de candidatos de genes e microRNAs diferencialmente expressos entre meningiomas grau I e 3 amostras de aracnóides não relacionadas a amostras tumorais, pretendemos validá-los a partir dos resultados obtidos em meningiomas de grau I, II e III, visando analisar seu possível papel como biomarcadores, e correlacionar os mesmos com a tumorigênese e graduação tumoral. Para sua validação, foram obtidas 14 amostras de meningiomas grau I, 14 amostras de meningiomas grau II e 6 amostras de meningiomas grau III, assim como 6 amostras de aracnóide a partir de técnica de microarranjo para avaliação de expressão gênica para a obtenção de uma análise global de genes e micro RNAs para a validação dos resultados encontrados em meningiomas grau I.

3.2 Objetivos específicos

- Quantificar a expressão dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B e dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 selecionados em amostras teciduais de 14 pacientes com meningiomas grau I.
- Quantificar a expressão dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B e dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 selecionados em amostras de plasma de 14 pacientes com meningiomas grau I.
- Validar os genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B e os micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 diferencialmente expressos em amostras de meningiomas de grau I, II e III buscando seu possível papel na tumorigênese, diagnóstico e graduação tumoral e progressão.

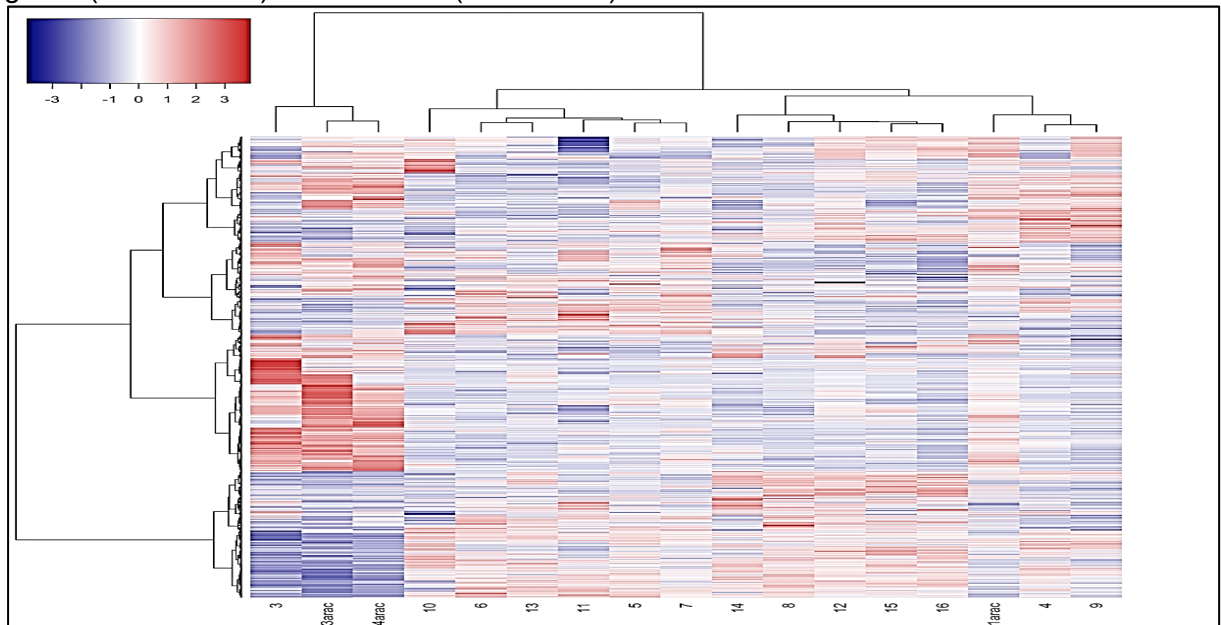
4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Pacientes

Para realização deste estudo foram utilizadas 14 amostras de meningiomas intracranianos humanos, obtidas a partir de pacientes submetidos à cirurgia na Divisão de Neurocirurgia do Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil. O protocolo para esta pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do HCFMRP/SP. Após a realização da cirurgia uma parte das amostras do tumor foi imediatamente estocada em nitrogênio líquido (-196°C) e a outra parte direcionada ao Serviço de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo HC-FMRP/USP, para a certificação através do exame anatomopatológico. Os casos foram selecionados com base em diagnósticos clínicos e histopatológicos de meningiomas grau I, segundo os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS). Foram utilizados 3 fragmentos de aracnóide obtidos a partir de pacientes submetidos à cirurgia para clipagem de aneurisma para o grupo controle, sem diagnóstico de tumor cerebral associado. Foram colhidas amostras de plasma dos grupos de tumores e controles para expressão diferencial no plasma. Em estudo prévio do laboratório de Biologia Molecular, foi realizado experimento de análise global em larga escala pela metodologia de microarrays onde, inicialmente, para a determinação dos grupos, foi utilizada a técnica de FISH para identificar quais amostras apresentavam expressão diferencial significativa em genes do cromossomo 1 e micro RNAs relacionados diferencialmente expressos nas amostras e relacionados à expressão dos genes. Pela análise por microarrays foram selecionados um conjunto de microRNAs e mRNAs identificados como diferencialmente expressos entre as amostras de meningioma com expressão diferencial no cromossomo 1 e amostras de tecidos controle de aracnóide. Estes grupos foram utilizados com o objetivo de identificar microRNAs e seus potenciais transcritos-alvo, envolvidos na tumorigênese dos meningiomas. Para isso, o conjunto de microRNAs expressos em níveis significativamente ($p < 0.05$, FDR) mais altos nos meningiomas, tiveram seus alvos preditos identificados, utilizando o conjunto de predições baseadas em sítios conservados evolutivamente e com altos scores (Hg19_predictions_S_C_aug2010, www.microRNA.org). Em seguida, este conjunto de alvos preditos foi comparado com

transcritos de mRNA expressos em níveis significativamente mais baixos ($p < 0.05$, FDR) nos grupos controles de aracnóides. A partir disto, selecionamos os microRNAs e os genes identificados na figura (Figura 4). Em nosso estudo, para validação por RQ-PCR, foram utilizadas 14 amostras de meningiomas grau I da OMS e um grupo controle com 3 amostras de aracnóide. É importante salientar que todos os investigadores envolvidos neste projeto, bem como os doentes, incluindo os controles, foram informados sobre os objetivos do estudo e assinaram um acordo formal, antes da coleta.

Figura 4 - *Heat Map* evidenciando a expressão diferencial entre amostras de meningiomas grau I (14 amostras) e aracnoides (3 amostras)



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

4.2 METODOLOGIA

4.2.1 Extração do RNA das amostras de meningiomas

Foram adicionados aos meningiomas 250 μ l de PBS (phosphate buffered saline) associado a 750 μ l de Trizol[®] (Invitrogen, EUA) e, após permanência em temperatura ambiente por um período de 5 minutos, foram acrescentados 200 μ l de clorofórmio e agitado energicamente por um intervalo de 15 segundos. Em seguida a mistura foi submetida à centrifugação na temperatura de 4°C por um intervalo de 15

minutos em uma frequência de rotação de 14.000 rotações por minuto (rpm). Após a centrifugação o sobrenadante aquoso (superior) foi transferido para novos tubos, nos quais o RNA foi precipitado com 500 µl de álcool isopropílico 100% e permaneceu a uma temperatura de 20 graus negativos por no mínimo doze horas.

No dia seguinte, as amostras foram novamente centrifugadas a 4°C por 15 minutos a 14.000 rpm, desprezando-se o sobrenadante oriundo da centrifugação. Adicionou-se em seguida, 1000 µl de etanol 75% e foram submetidas novamente a centrifugação refrigerada por 15 minutos a uma frequência de 14.000 rpm. Em seguida desprezou-se a fase superior e o precipitado seco dissolvido com água foi tratado com DEPC (dimetil pirocarbonato) por pelo menos 15 minutos. Seguiu-se a identificação e o estocamento do material a – 80 °C.

Ao final de cada etapa supradescrita, cada amostra foi submetida à eletroforese em gel de agarose a 1% para RNA, para verificação da integridade do RNA obtido. Também utilizamos um equipamento chamado Thermo Scientific NanoDrop 2000, um espectrofotômetro que fornece a concentração de RNA em uma amostra de 1 a 2 µl. Além da concentração, este aparelho nos fornece valores de uma razão referentes à integridade das amostras (razão 260/280). Para valores menores do que 1,6, considera-se que o material esteja degradado, e para valores maiores do que 2,0 pode ter havido interferência do clorofórmio. A faixa ideal a ser obtida é de 1,7 a 1,9, porém consideramos uma amostra satisfatória na faixa entre 1,61 a 1,99.

4.2.2 Extração do RNA do plasma

A extração do RNA plasmático foi realizada utilizando o RNeasy Mini Kit (QIAGEN), com protocolo adaptado a partir das orientações do fabricante conforme descrito a seguir. Em um tubo falcon estéril e livre de RNase, adicionou-se 4mL de Trizol LS Reagente (Invitrogen, EUA) a 400µL de plasma, deixando o material em repouso por 5 min em temperatura ambiente. Adicionou-se 800ul de clorofórmio (proporção o 1:5 com a quantidade de Trizol® inicial), misturando vigorosamente por 30 segundos. A seguir, o material permaneceu em repouso por 3 minutos em temperatura ambiente e posteriormente foi centrifugado por 15 minutos a 12.000g em 4°C. Ao término da centrifugação formou-se um sistema de 3 fases: incolor=RNA, branco=DNA, vermelho=proteína. A fase incolor foi transferida para outro falcon no

qual foi adicionado etanol 100% em um volume de 1,5 vezes ao conseguido da fase incolor. Em seguida, adicionou-se 700µl dessa solução na coluna RNeasy MinElute Spin®, centrifugando a > 8000g por 15 segundos. O líquido resultante foi descartado e o passo anterior foi repetido com o resto da solução até o final da mesma, sempre descartando o líquido resultante. Posteriormente, adicionou-se 700µl de tampão RWT (Buffer RWT do Kit) em cada coluna, centrifugando também a > 8000g por 15 segundos.

Após descarte subsequente do líquido resultante na centrifugação, foram adicionados 500µl de Tampão RPE (Buffer RPE do Kit) em cada coluna, centrifugando a > 8000g por 15 segundos. Novamente, seguido de descarte do líquido resultante foi adicionado 500µl de tampão RPE (Buffer RPE do Kit) em cada coluna, mantendo a centrifugação a > 8000g, porém desta vez por 2 minutos. Após descarte do líquido resultante, o coletor da coluna foi trocado e adicionou-se 30µl de água RNA-free. O material centrifugado a > 8000g por 1 minuto foi então transferido para um Eppendorf e submetido ao congelamento a 80°C negativos, imediatamente. A quantificação do RNA foi realizada pela leitura em espectrofotômetro Thermo Scientific NanoDrop 2000 em comprimento de onda de 260 nm, com faixa ideal de 1,7. A integridade do RNA obtido, foi analisada em Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies) com RNA 6000 Pico chip e pelo espectrofotômetro Thermo Scientific NanoDrop 2000 igualmente como realizado na análise do RNA tecidual.

4.2.3 Síntese do DNA complementar (cDNA) dos genes

A transcrição reversa foi realizada utilizando o kit comercial (Applied Biosystems) High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit de acordo com as instruções do fabricante para a síntese do cDNA (DNA complementar). Para cada 1µg RNA, foi adicionado 2,5µl de RT Buffer; seguido de 1,0µl de dNTP's; 2,5µl Random Primers e 1,25µl da enzima MultiScribe™, completando com água DEPC o volume final de 20µl. Em seguida o material foi levado ao termociclador nas condições padrão, onde o cDNA é sintetizado a partir do RNA das amostras.

4.2.4 Síntese do DNA complementar (cDNA) dos micro RNAs

Para a síntese do DNA complementar (cDNA) do microRNA, a transcrição reversa foi feita utilizando o kit comercial High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems). Para cada 5ng de RNA, foram adicionados 0,75µl de RT Buffer, seguido de 0,075µl de dNTP's, 1,5µl de primers específicos (miRNAs e controles endógenos), e 0,5µl da enzima MultiScribe™, 0,094µl de RNase out (1.9U), completando com água DEPC o volume final de 7,5µl, e sendo as amostras incubadas no termociclador por 30 min a 16 ° C, 30 min a 42 °C, 5 min a 85 ° C e, em seguida, a 4°C. Para o PCR em tempo real, foram utilizados 4,5µL do cDNA das amostras diluído 1:4 em um volume final de reação de 10µL.

4.2.5 PCR em tempo real (qRT-PCR)

O método de PCR em tempo real é utilizado para a confirmação da expressão diferencial de microRNAs. A partir do cDNA obtido das amostras, é realizada a amplificação por Reação em Cadeia de Polimerase, tradução literal de Polymerase Chain Reaction (PCR), quantitativa em tempo real (RQ-PCR), com a utilização do reagente TaqMan Master Mix (Applied Biosystems).

Para a análise quantitativa da expressão de microRNAs, são utilizados os sistemas disponíveis comercialmente TaqMan Assay-on-demand, compostos por oligonucleotídeos e sondas (Applied Biosystems).

Considerando-se as diferenças causadas por quantidades distintas de cDNA utilizadas nas reações, os valores de CT determinados para as diferentes amostras, são normatizados. O CT determinado para uma amostra (para um determinado microRNA) é subtraído do CT determinado para um gene house-keeping (neste caso, TBP e HPRT para os genes e o U6 para os microRNAs) 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.

Realizamos a quantificação relativa dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B e dos microRNAs miR-125a-5p, miR-133, miR-143 e miR-345 nas quais as reações de PCR em tempo real foram realizadas em duplicata, utilizando o reagente Taqman Master Mix (Applied Biosystems, EUA). A amplificação foi feita em um volume final de 10 μ l, utilizando 5 μ l do reagente específico Taqman Máster Mix, 0,5 μ l de cada sonda específica e 4,5 μ l de cDNA. Utilizou-se um aparelho de detecção de PCR em tempo real 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems), juntamente com o software Sequence Detection System para a obtenção dos valores de CT. Os dados foram, então, exportados para planilhas do software Excel para cálculo dos valores de Δ CT. O software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Prism, Inc, San Diego, CA, EUA), foi utilizado para gerar os gráficos e calcular a significância estatística. As condições padrão de amplificação foram 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). Todas as reações foram realizadas em duplicata e analisadas no aparelho 7500 Sequence Detection System (Applied Biosystems). Os dados foram constantemente coletados durante o PCR e analisados em ABI-7500 SDS “software package”.

4.3 Análise estatística

Para a análise da expressão gênica pelo método quantitativo de PCR em tempo real foram calculados os coeficientes de regressão; uma transformação log foi aplicada para os valores de expressão dos genes para estabilização da variância. Também foram calculados intervalos de confiança de 95% (IC). O software GraphPad Prism® versão 5.00 para Windows e o teste Two-Way ANOVA foram usados para analisar as diferenças na expressão dos microRNAs estudados (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com). O teste Oneway ANOVA foi usado para analisar as diferenças na expressão dos genes estudados. Os valores de p foram considerados significativos quando inferiores a 0,05.

Inicialmente os dados foram descritos através de frequências absolutas e percentuais (variáveis qualitativas) e por meio de medidas como média, desvio-padrão, mínimo, mediana e máximo (variáveis quantitativas). Para verificar se as variáveis de interesse são preditoras de doença foram calculados odds ratio através

da regressão logística, bruta e ajustada. Foram ajustados 3 modelos, considerando as variáveis do tecido, sangue e gene em separado. Para analisar a relação das variáveis de interesse com o grau do meningioma, foi proposto um Modelo de regressão logística multinomial ordinal. Este modelo permite associar variáveis independentes com uma variável resposta, sendo esta do tipo categórica ordinal com mais de dois níveis (AGRESTI, 1996). Foram estimados modelos de regressão brutos e ajustados. Entre os modelos ajustados, foram estimados 3 modelos, considerando as variáveis do tecido, sangue e gene em separado. Além disso, os 3 foram ainda ajustados por idade e sexo, consideradas possíveis fatores de confusão. Os pontos de corte das variáveis de interesse para a predição da doença, grau I, grau II e grau III e correspondentes valores de sensibilidade e especificidade foram calculados através da curva ROC. Além disso, foi calculada a área sobre a curva ROC (ASC), que é uma medida resumo usual do desempenho de um teste, já que ela é estimada levando em consideração todas as medidas de sensibilidade e especificidade de cada um dos valores dos pontos de corte estipulados. Quanto maior a capacidade do teste em discriminar os indivíduos, mais a curva se aproxima do canto superior esquerdo do gráfico, e a área sob a curva se aproxima de 1. O melhor ponto de corte foi determinado pelo maior Índice de Youden. Para as comparações entre os diferentes graus da doença quanto às expressões dos genes e micro-RNAs (tecido e sangue) foi proposta a análise de covariância (ANCOVA), que além de comparar grupos, permite o ajuste de covariáveis (MONTGOMERY, 2000). Todos os modelos foram ajustados por sexo e idade (possíveis fatores de confusão). Além disso, foi utilizado o pós-teste de Tukey para as comparações múltiplas. Os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos resíduos foram analisados por meio de teste de hipótese apropriado (como Kolmogorov-Smirnov) e gráficos apropriados como histograma, quantil-quantil e dispersão. Quando os pressupostos dos modelos não foram válidos, transformações nas variáveis resposta foram utilizadas. Para todas as análises adotou-se um nível de significância de 5% e foram realizadas através do software SAS 9.4, com exceção da curva ROC que foi analisada utilizando o Medcalc 12.5.

5. RESULTADOS

Foram encontrados 64 genes diferencialmente expressos entre amostras tumorais de meningiomas grau I e aracnóides. A partir de análise extensa da literatura e a partir da expressão diferencial dos mesmos e das vias de sinalização mais importantes revisadas na literatura, escolhemos genes diferencialmente expressos no cromossomo 1 presentes nas vias de sinalização da tirosino quinase (AKT) e RAS/RAF/MEK/ERK quinase. Os genes selecionados foram o PIK3C2B e PIP5K1A, membros da família de AKT e o gene RAB3B, membro da família RAS de oncogenes.

Dentre as amostras de meningiomas grau I e controles de aracnóides, foram encontrados 38 micro RNAs diferencialmente expressos, todos transcritos a partir de cromossomos não relacionados ao cromossomo 1. Dentre eles selecionamos, a partir da revisão de literatura, 4 micros RNAs que estavam diferencialmente expressos em nossas amostras e que, segundo a literatura, apresentavam influência direta na expressão diferencial dos genes supra descritos. Os micro RNAs selecionados foram miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345. Suas correlações foram avaliadas nas bases de dados do miR Walk, miR DB e Target Scan. A análise de dados foi validada para o restante das amostras de meningiomas grau II (14 amostras tumorais e séricas dos pacientes), meningiomas grau III (6 amostras tumorais e séricas dos pacientes) e os controles de aracnóides (3 amostras adicionais de tecido e séricas), totalizando 6 amostras de aracnóide.

5.1 Dados clínico-epidemiológicos

Para a obtenção dos dados clínicos utilizou-se o prontuário dos pacientes. Foram analisadas amostras provenientes de 34 pacientes adultos, com diagnóstico de meningiomas, sendo 14 pacientes com diagnóstico de meningioma grau I, 14 pacientes com diagnóstico de meningiomas grau II e 6 pacientes com diagnóstico de meningiomas grau III. Para a análise dos controles, foram avaliados 6 pacientes com tecido controle a partir de aracnóides retiradas em cirurgias não relacionadas a meningiomas (aneurismas cerebrais). Na análise descritiva global, foram encontrados 26 pacientes do sexo feminino (76,47%) e 8 pacientes do sexo

masculino (23,53%) no grupo de tumores (tabela 6), sendo portanto sua proporção de 3,25 M: 1 H, com idade média de 58,74 anos (desvio padrão- DP-de 11,87) e mediana de 59,5 anos, com idade mínima de 35 anos e idade máxima de 82 anos. Segundo o grau dos meningiomas, no grupo de meningiomas grau I, tivemos 13 pacientes do sexo feminino (92,86%) e um paciente do sexo masculino (7,14%). Em contrapartida foram descritos 10 pacientes do sexo feminino (71,43%) no grupo de meningiomas grau II e 4 pacientes do sexo masculino (28,57%). No grupo de meningiomas grau III, foram descritos uma proporção igual entre os sexos com 3 pacientes do sexo masculino e feminino (50% dos pacientes deste grupo) (tabela 7).

Tabela 6 - Análise descritiva de gênero e cor de controles (aracnóides) e doença (meningiomas)

Variável	Controle (n=6)	Doença (n=34)
<i>Sexo</i>		
FEM	-	26 (76,47%)
MASC	-	8 (23,53%)
<i>Cor</i>		
BRA	-	31 (91,18%)
MUL	-	1 (2,94%)
PRE	-	2 (5,88%)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Tabela 7 - Análise descritiva de gênero e cor entre graus de meningiomas

Variável	Grau do meningioma		
	I (n=14)	II (n=14)	III (n=6)
<i>Sexo</i>			
FEM	13 (92,86%)	10 (71,43%)	3 (50%)
MASC	1 (7,14%)	4 (28,57%)	3 (50%)
<i>Cor</i>			
BRA	13 (92,86%)	12 (85,71%)	6 (100%)
MUL	1 (7,14%)	0 (0%)	0 (0%)
PRE	0 (0%)	2 (14,29%)	0 (0%)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

5.2 Quantificações da expressão de micro rnas no sangue e tecido tumoral (análise descritiva)

Foram avaliadas a expressões médias dos folds dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 no tecido tumoral e sangue entre pacientes controle (aracnóides) e doentes (meningiomas) (tabela 8). Percebe-se, já na análise descritiva, uma tendência de hipoexpressão dos micro RNAs no sangue dos pacientes

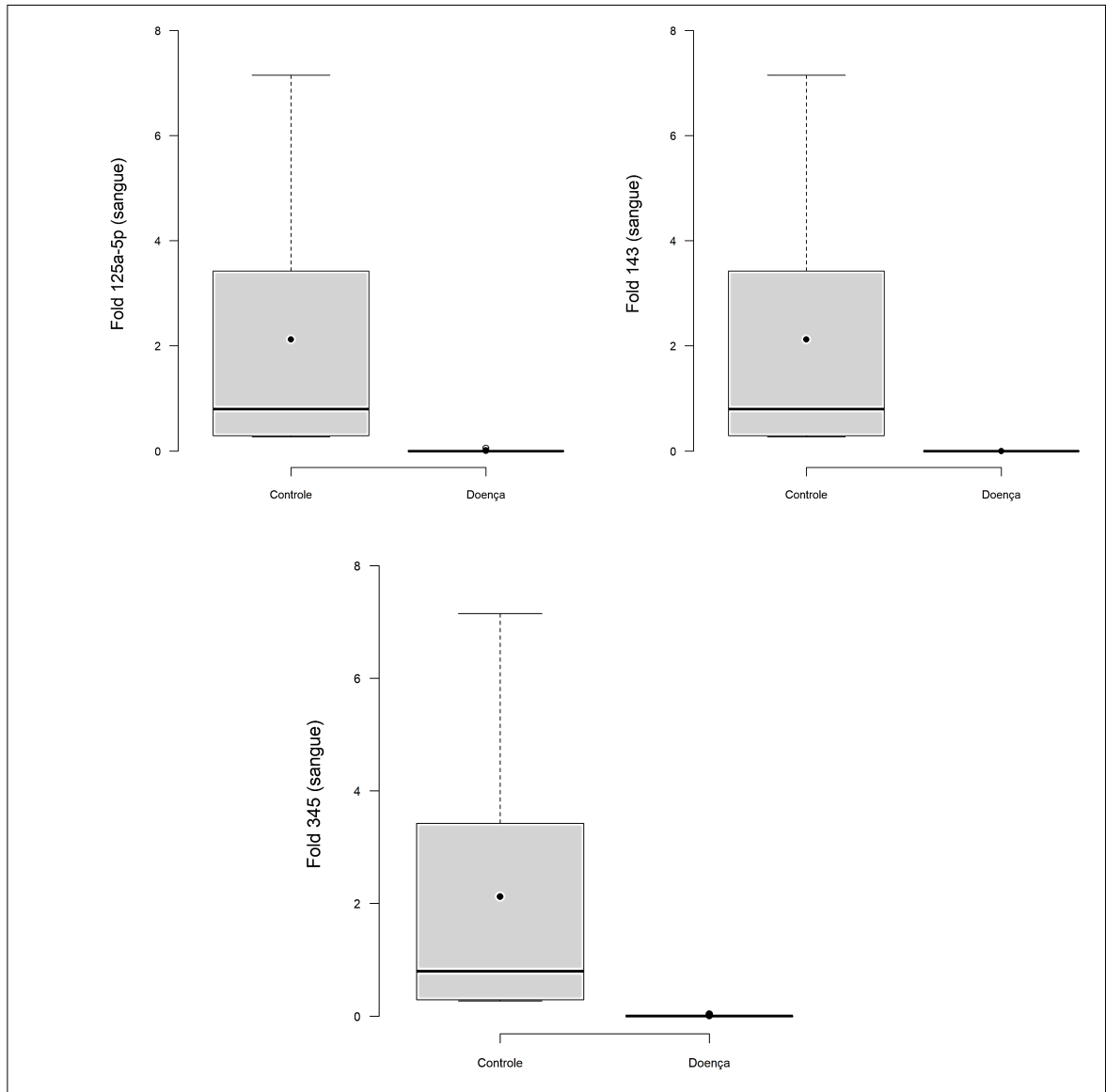
com tumores em relação aos controles, apesar de não apresentar significância estatística (tabela 8 e gráfico 1). Os micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b e miR-345, quando comparados ao grupo controle, todos se apresentaram hipoexpressos, porém, sem diferença estatisticamente significativa para os micro RNAs miR-125a-5p (p:0,965), miR-133b (p:0,960) e miR-345 (p:0,980) (gráfico 1). O mesmo não foi visualizado na análise dos micro RNAs nos tecidos tumorais (gráfico 2), não sendo possível afirmar que a expressão sérica reduzida nos pacientes com tumores poderiam estar mais relacionadas a predição de doença do que o estudo do tecido tumoral.

Tabela 8 - Análise descritiva da expressão do fold de micro RNAs em sangue e tecidos tumorais

Variável	Controle			Doença		
	n	Média (DP)	Mediana (Mín-Máx)	n	Média (DP)	Mediana (Mín-Máx)
Idade	0	-	-	34	58,74 (11,87)	59,5 (35 - 82)
Fold 125a-5p (tecido)	6	1,25 (0,87)	1,16 (0,41 - 2,71)	33	9,4 (16,16)	2,27 (0,13 - 68,87)
Fold 143 (tecido)	5	2,73 (4,19)	1,54 (0,16 - 10,13)	34	3,36 (7,96)	0,32 (0 - 38,55)
Fold 345 (tecido)	6	3,73 (7,27)	0,72 (0,19 - 18,5)	34	24,06 (43,66)	2,96 (0,2 - 163,16)
Fold 133b (tecido)	5	2,45 (2,72)	1,6 (0,07 - 6,68)	34	2,15 (7,19)	0,24 (0,01 - 41,31)
Fold 125a-5p (sangue)	6	2,12334 (2,73845)	0,80151 (0,27031-7,15113)	24	0,00562 (0,01432)	0,00075 (0,00002-0,05195)
Fold 143 (sangue)	6	2,12334 (2,73845)	0,80151 (0,27031-7,15113)	12	0,00025 (0,00024)	0,00016 (0,00003-0,00078)
Fold 345 (sangue)	6	2,12334 (2,73845)	0,80151 (0,27031-7,15113)	26	0,0056 (0,01001)	0,00176 (0,00003-0,03736)
Fold 133b (sangue)	4	1,10775 (0,53608)	1,14493 (0,52125-1,61989)	25	0,07724 (0,18601)	0,01057 (0,00012-0,85322)

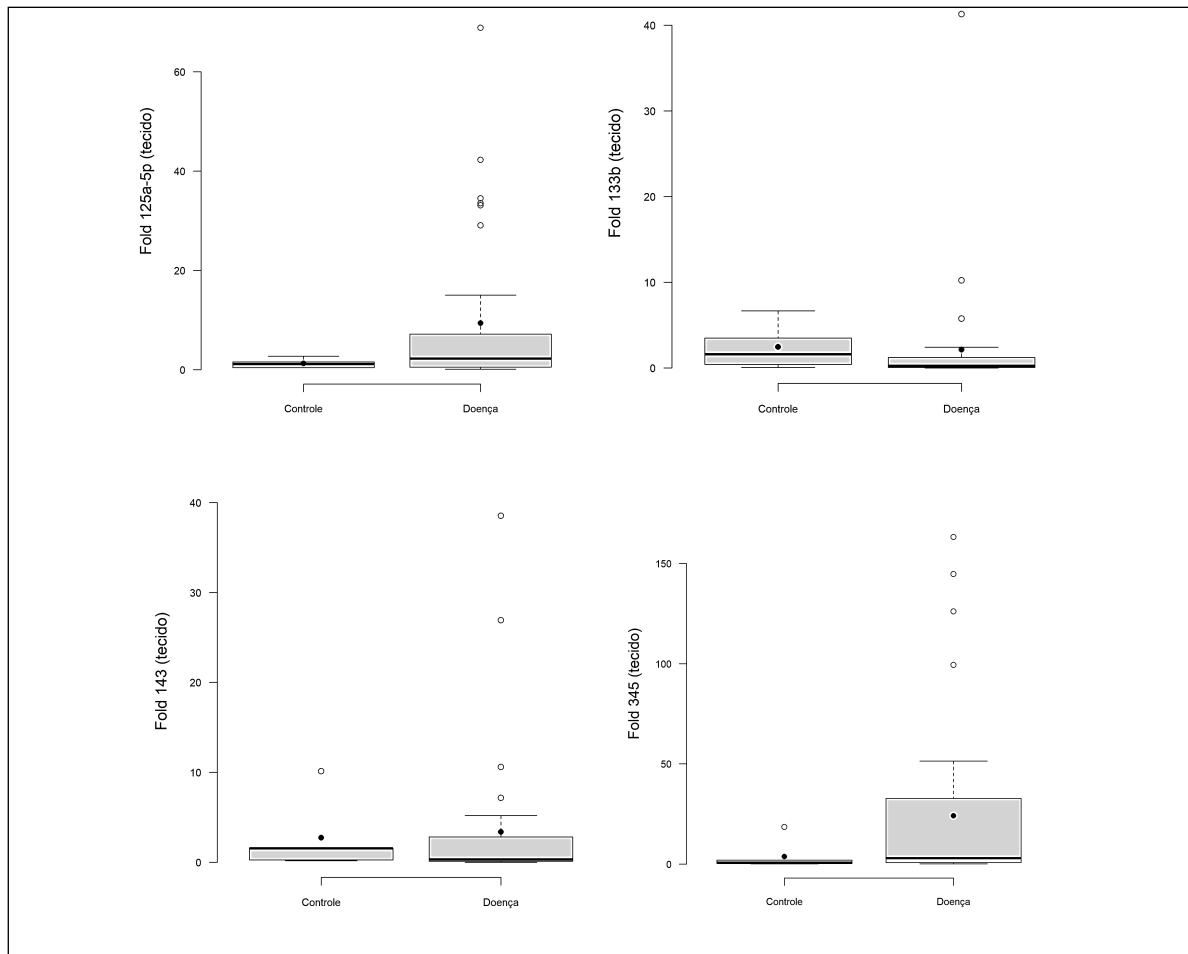
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Gráfico 1 - Representação gráfica da hipoexpressão dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-143, e miR-345 na sangue comparativamente entre controles e amostras tumorais



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 2 - Representação da expressão diferencial dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-143, e miR-345 na tecido tumoral comparativamente entre controles e amostras tumorais



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Quantificação da expressão de genes no tecido tumoral (análise descritiva)

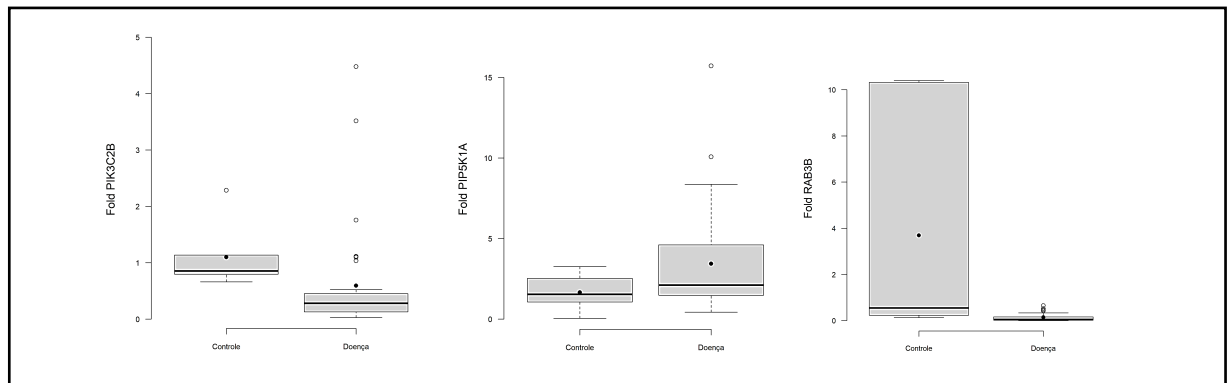
Foram avaliadas as expressões médias dos *fold*s dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral entre pacientes controle (aracnóides) e doentes (meningiomas). Os genes PIK3C2B e RAB3B apresentam uma hiposs expressão relativa nos tecidos tumorais em relação aos controles, enquanto o gene PIP5K1A aparenta estar em média mais hipers expresso nos tumores em relação às amostras de controle (tabela 9 e gráfico 3).

Tabela 9 - Análise descritiva da expressão do fold dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral

Variável	Controle			Doença		
	n	Média (DP)	Mediana (Mín-Máx)	n	Média (DP)	Mediana (Mín-Máx)
Idade	0	-	-	34	58,74 (11,87)	59,5 (35 - 82)
Fold PIK3C2B	6	1,1 (0,6)	0,85 (0,66- 2,28)	34	0,59 (0,95)	0,28 (0,03- 4,48)
Fold PIP5K1A	6	1,66 (1,12)	1,54 (0,05 - 3,26)	34	3,44 (3,29)	2,12 (0,43 - 15,72)
Fold RAB3B	6	3,7 (5,16)	0,55 (0,13 - 10,4)	34	0,14 (0,17)	0,05 (0,01 - 0,66)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Gráfico 3 - Representação gráfica da expressão diferencial dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral comparativamente entre controles e amostras tumorais (análise descritiva)



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4 Quantificação da expressão dos genes e micro RNAs no sangue e tecido tumoral e dos genes no tecido tumoral em relação aos graus do meningioma (análise descritiva)

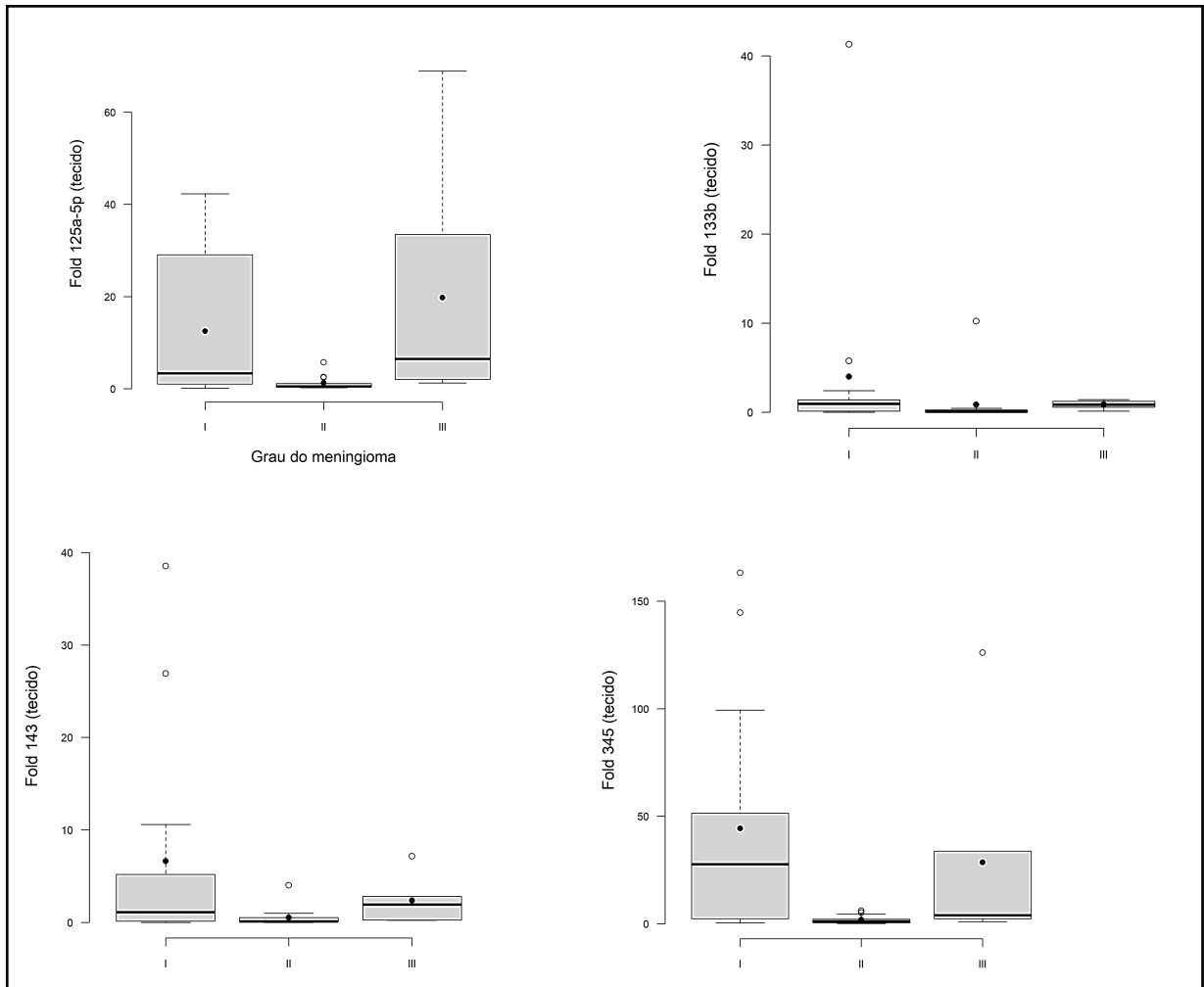
Foram avaliadas as expressões médias dos folds dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral entre os diferentes graus de tumores em meningiomas grau I, II e III respectivamente (tabela 10). Verifica-se uma hipoexpressão relativa os genes PIK3C2B e RAB3B e hiperexpressão relativa do PIP5K1A nos tecidos tumorais em relação aos controles. A representação gráfica da expressão do fold no tecido tumoral dos micro RNAs em relação aos graus de meningiomas pode ser vista no gráfico 4 e a representação gráfica da expressão do fold no tecido tumoral dos genes pode ser vista no gráfico 5.

Tabela 10 - Análise descritiva da expressão do fold dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-143, miR-345 e miR-133b no tecido tumoral; análise dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-143, miR-345 e miR-133b no sangue e genes PIK3C2B, PIP5K1A, RAB3B no tecido tumoral

Variável	Grau I			Grau II			Grau III		
	n	Média (DP)	Mediana (Mín-Máx)	n	Média (DP)	Mediana (Mín-Máx)	n	Média (DP)	Mediana (Mín-Máx)
Idade	1	54,86		1	60,64			63,33	
Fold 125a-5p (tecido)	4	(11,29)	57,5 (35 - 69)	4	(11,53)	61,5 (37 - 81)	6	(13,25)	60,5 (47 - 82)
Fold 143 (tecido)	1	12,5	3,35 (0,13 - 42,27)	1	1,25	0,52 (0,24 - 5,77)	6	19,79	6,5 (1,27 - 68,87)
Fold 345 (tecido)	4	(15,31)		3	(1,57)		6	(26,98)	
Fold 133b (tecido)	1	6,62	1,1 (0 - 38,55)	1	0,53	0,11 (0 - 4,01)	6	2,38	1,93 (0,24 - 7,14)
Fold 125a-5p (sangue)	4	(11,69)		4	(1,05)		6	(2,54)	
Fold 143 (sangue)	1	44,32	27,75 (0,55 - 163,16)	1	1,89	1,15 (0,2 - 6,05)	6	28,53	4,01 (1,05 - 125,96)
Fold 345 (sangue)	4	(54,02)		4	(1,95)		6	(49,31)	
Fold 133b (sangue)	1	0,93 (0,01 - 0,00035)	0,93 (0,01 - 0,00035)	1	0,85	0,06 (0,01 - 0,00105)	6	0,84	0,86 (0,12 - 0,00275)
Fold 125a-5p (sangue)	4	4 (10,84)		4	(2,71)		6	(0,48)	
Fold 143 (sangue)	1	0,00104	(0,00002-0,00468)	1	0,00991	(0,00002-0,05195)	2	0,00275	(0,00267-0,00283)
Fold 143 (sangue)	0	(0,0015)	0,00009	2	(0,01966)	0,00016	2	(0,00012)	0,00025
Fold 345 (sangue)	5	0,00027 (0,00033)	(0,00003-0,00078)	6	0,00024 (0,00021)	(0,00004-0,0005)	1	0,00025 (-)	(0,00025-0,00025)
Fold 133b (sangue)	1	0,00238	(0,00003-0,01131)	1	0,00885	(0,00003-0,03736)	3	0,00224	(0,00004-0,00437)
Fold PIK3C2B	0	(0,00336)	0,00562	3	(0,01328)	0,02618	3	(0,00217)	0,00206
Fold PIP5K1A	1	0,06946	(0,00012-0,41979)	1	0,10463	(0,00116-0,85322)	3	0,00529	(0,00073-0,01309)
Fold RAB3B	1	(0,13389)	0,49 (0,17 - 3,51)	1	0,17	0,13 (0,03 - 0,44)	6	0,94	0,27 (0,11 - 4,48)
Fold PIK3C2B	4	0,87 (0,9)	2,58 (0,57 - 15,72)	4	(0,12)	1,86 (0,43 - 10,08)	6	(1,74)	3,97 (0,93 - 8,37)
Fold PIP5K1A	1	4,1 (3,99)	0,11 (0,01 - 0,66)	4	2,49 (2,4)	0,03 (0,01 - 0,52)	6	(3,24)	0,16 (0,02 - 0,42)
Fold RAB3B	4	0,18		4	(0,15)		6	(0,15)	

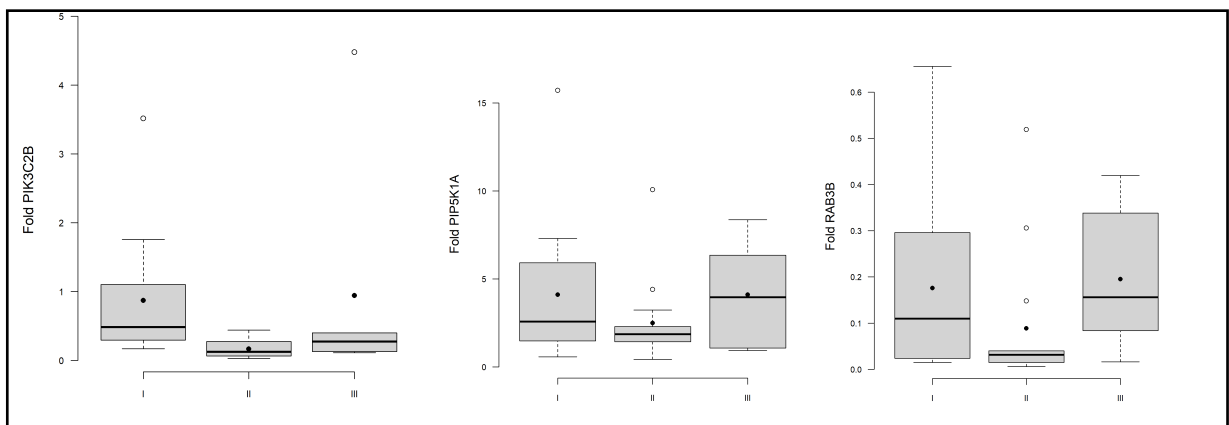
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Gráfico 4 - Representação gráfica da expressão diferencial dos micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 entre os diferentes graus, no tecido tumoral e meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

Gráfico 5 - Representação gráfica da expressão diferencial dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B entre os diferentes graus, no tecido tumoral em meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.5 Análise da influência dos genes no tecido tumoral na formação do tumor

A análise da influência dos genes e micro RNAs demonstra uma hipoexpressão relativa dos genes com modelo ajustado em modelo de regressão múltipla do gene PIK3C2B, com odds ratio (OR) de 0,644, entretanto, sem significância estatística (p : 0,678), intervalo de confiança (IC) entre 0,081 e 5,148. A análise do gene PIP5K1A mostra hiperexpressão relativa em meningiomas em relação aos controles, sem significância estatística, com OR de 1,9, com valor de p de 0,282 (IC:0,590-6,129) (Tabela 11). Já o gene RAB3B evidencia hipoexpressão relativa entre meningiomas e controles, sem significância estatística, com OR de 0,462 e valor de p de 0,057 (IC:0,208-1,024) (Tabela 11). Observa-se, assim, que o gene RAB3B está hipoexpresso na totalidade das amostras, apresentando expressão variada entre os controles.

Tabela 11 - Análise da influência dos genes no tecido tumoral na formação do tumor

Variáveis	Bruto			Ajustado			
	Odds ratio	Intervalo de confiança (95%)		Valor-p	Odds ratio	IC (95%)	Valor-p
Fold PIK3C2B	0,636	0,297	1,361	0,244	0,644	0,081 5,148	5,148
Fold PIP5K1A	1,541	0,778	3,052	0,215	1,901	0,590 6,129	6,129
Fold RAB3B*	0,584	0,345	0,988	0,040	0,462	0,208 1,024	1,024

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

*Foi estimada a chance de doença a cada aumento de 0,1 unidade no Fold

**O modelo ajustado considerou todos os genes de forma conjunta.

5.6 Análise da influência dos micro RNAs no sangue e tecido tumoral no grau tumoral entre meningiomas

Ao se avaliar os graus de meningiomas nesta análise, verificam-se diferenças na razão de chance (OD) quanto aos diferentes graus de meningiomas (tabela 12). Dentre os micro RNAs estudados, verifica-se, de forma significativa (p : 0,047), uma redução de aproximadamente 68% na possibilidade de um grau mais alto a cada aumento de expressão em 1 unidade do fold do micro RNA miR-143 no tecido tumoral (OD: 0,317; IC:0,102-0,985), sendo desta forma, mais expresso em

meningiomas grau I. Em relação a expressão dos demais genes e micro RNAs, não foram encontradas relações estatisticamente significativas ($p \geq 0.05$) (tabela 12).

Tabela 12 - Análise da influência dos genes e micro RNAs (tecido e sangue) quanto ao grau do tumor em meningiomas

Variáveis	Bruto			Ajustado		
	Odds ratio	Intervalo de confiança (95%)	Valor-p	Odds ratio	IC (95%)	Valor-p
Fold 125a-5p (tecido)	1,000	0,954 - 1,049	0,994	1,498	0,983 - 2,284	0,060
Fold 143 (tecido)	0,877	0,714 - 1,077	0,210	0,317	0,102 - 0,985	0,047
Fold 345 (tecido)	0,982	0,960 - 1,005	0,120	0,867	0,679 - 1,106	0,252
Fold 133b (tecido)	0,913	0,749 - 1,114	0,370	0,995	0,691 - 1,432	0,977

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

*O modelo ajustado considerou todas as variáveis do tecido de forma conjunta. Além disso, sexo e idade foram considerados como variáveis de controle

Variáveis	Bruto			Ajustado		
	Odds ratio	Intervalo de confiança (95%)	Valor-p	Odds ratio	IC (95%)	Valor-p
Fold 125a-5p (sangue)*	1,305	0,769 - 2,216	0,324	2,160	0,273 - 17,092	0,466
Fold 143 (sangue)*	0,003	0,000 - 8,77E+17	0,811	Não foi possível estimar o modelo ajustado considerando essa variável		
Fold 345 (sangue)*	1,318	0,657 - 2,643	0,437	0,231	0,004 - 13,036	0,477
Fold 133b (sangue)*	0,998	0,961 - 1,037	0,930	1,068	0,914 - 1,249	0,407

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

*Foi estimada a chance de doença a cada aumento de 0,01 unidade no Fold

**O modelo ajustado considerou todas as variáveis do sangue de forma conjunta. Além disso, sexo e idade foram considerados como variáveis de controle

Variáveis	Bruto			Ajustado		
	Odds ratio	Intervalo de confiança (95%)	Valor-p	Odds ratio	IC (95%)	Valor-p
Fold PIK3C2B	0,676	0,254 - 1,799	0,433	0,673	0,242 - 1,874	0,449
Fold PIP5K1A	0,945	0,769 - 1,160	0,587	0,876	0,622 - 1,234	0,448
Fold RAB3B*	0,930	0,635 - 1,362	0,709	1,266	0,651 - 2,463	0,487

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

*Foi estimada a chance de doença a cada aumento de 0,1 unidade no Fold

**O modelo ajustado considerou todos os genes de forma conjunta. Além disso, sexo e idade foram considerados como variáveis de controle

5.7 Comparação da expressão dos genes e micro RNAs (tecido tumoral) entre os diferentes graus de tumor

Ao comparar a expressão dos genes e micro-RNAs entre os graus de meningiomas, foi realizada análise segundo a metodologia descrita, verificando-se uma diferença estimada da expressão dos genes entre os diferentes graus de meningiomas (tabela 13). Dentre os graus I e II, verifica-se, de forma significativa (p: 0,001), uma diferença estimada de expressão do gene PIK3C2A de 1,534 (IC:0,618-2,449), sendo desta forma, mais expresso em meningiomas grau I do que grau II. Em relação a diferença de expressão do PIK3C2A entre meningiomas grau I e III ou II e III, observa-se uma tendência de queda, mas estatisticamente não significativa (tabela 13).

Tabela 13 - Comparação da expressão dos genes no tecido tumoral entre os diferentes graus de doença

Comparação	Diferença estimada	Intervalo de confiança (95%)		Valor-p
<i>Fold PIK3C2B*</i>				
Grau1 vs Grau2	1,534	0,618	2,449	0,001
Grau1 vs Grau3	0,467	-0,761	1,694	0,621
Grau2 vs Grau3	-1,067	-2,218	0,084	0,073
<i>Fold PIP5K1A*</i>				
Grau1 vs Grau2	0,510	-0,347	1,367	0,320
Grau1 vs Grau3	0,144	-1,006	1,293	0,949
Grau2 vs Grau3	-0,366	-1,443	0,712	0,682
<i>Fold RAB3B*</i>				
Grau1 vs Grau2	0,813	-0,419	2,045	0,250
Grau1 vs Grau3	-0,584	-2,236	1,067	0,661
Grau2 vs Grau3	-1,397	-2,945	0,151	0,083

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

*A variável foi analisada em escala logarítmica e não na escala original.

Ao serem avaliadas as expressões dos micro RNAs no tecido tumoral entre os diferentes graus de meningiomas, verifica-se, de forma significativa, uma diferença estimada de -19,618 do miR-125a-5p entre o grau II e grau III, com valor de p de 0,038 (Tabela 14). Isso significa que a expressão tecidual tumoral deste micro RNA é em média 19,6 pontos maior entre os graus III e grau II. Essa tendência parece ser progressiva do grau I ao grau III, mas não foi encontrada significância estatística para essa confirmação (grau I vs grau II com diferença estimada de 11,907 e p:0,128; grau I vs grau III com diferença estimada de -7,711 e p de 0,599). Foi encontrado

também uma diferença estatisticamente significativa positiva do miR-345 ($p:0,002$) de 2,466 entre o grau I e grau II no tecido tumoral (IC: 0,873-4,058), com uma tendência de queda com a progressão do grau, mas sem significância estatística (tabela 14). Isso significa que sua expressão está assertivamente aumentada no grau I em relação ao grau II, mas sua tendência de queda de expressão não pode ser confirmada de forma estatisticamente significativa em relação ao grau III. Para os micro RNAs miR-143 e miR-133b observa-se uma tendência de hipoeexpressão tecidual com a progressão de grau, mas sem significância estatística.

Tabela 14 - Comparação da expressão de micro RNAs no tumor entre diferentes graus de meningiomas

Comparação	Diferença estimada	Intervalo de confiança (95%)		Valor-p
<i>Fold 125a-5p (tecido)</i>				
Grau1 vs Grau2	11,907	-2,737	26,551	0,128
Grau1 vs Grau3	-7,711	-27,311	11,889	0,599
Grau2 vs Grau3	-19,618	-38,312	-0,924	0,038
<i>Fold 143 (tecido)*</i>				
Grau1 vs Grau2	1,862	-0,392	4,116	0,121
Grau1 vs Grau3	-0,266	-3,288	2,757	0,974
Grau2 vs Grau3	-2,128	-4,961	0,705	0,170
<i>Fold 345 (tecido)*</i>				
Grau1 vs Grau2	2,466	0,873	4,058	0,002
Grau1 vs Grau3	0,486	-1,649	2,621	0,841
Grau2 vs Grau3	-1,980	-3,981	0,022	0,053
<i>Fold 133b (tecido)*</i>				
Grau1 vs Grau2	1,696	-0,206	3,599	0,088
Grau1 vs Grau3	-0,066	-2,617	2,485	0,998
Grau2 vs Grau3	-1,762	-4,153	0,629	0,181

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

5.8 Comparação da expressão dos genes e micro RNAs (sangue) entre os diferentes graus de tumor

Ao serem avaliadas as expressões dos micro RNAs no sangue dos pacientes entre os diferentes graus de meningiomas, não se pode inferir uma diferença estimada significativa entre os diferentes graus de meningiomas (tabela 15).

Tabela 15 - Comparação da expressão de micro RNAs no sangue entre diferentes graus de meningiomas

Comparação	Diferença estimada	Intervalo de confiança (95%)		Valor-p
<i>Fold 125a-5p (sangue)*</i>				
Grau1 vs Grau2	-0,859	-3,245	1,527	0,638
Grau1 vs Grau3	-1,037	-5,641	3,567	0,836
Grau2 vs Grau3	-0,178	-4,473	4,117	0,994
<i>Fold 143 (sangue)</i>				
Grau1 vs Grau2	-2,00E-05	-6,00E-04	5,67E-04	0,996
Grau1 vs Grau3	-6,00E-05	-9,40E-04	8,29E-04	0,981
Grau2 vs Grau3	-4,00E-05	-9,00E-04	8,19E-04	0,990
<i>Fold 345 (sangue)*</i>				
Grau1 vs Grau2	-0,677	-2,933	1,579	0,733
Grau1 vs Grau3	0,694	-2,768	4,156	0,870
Grau2 vs Grau3	1,371	-1,811	4,553	0,533
<i>Fold 133b (sangue)*</i>				
Grau1 vs Grau2	-0,462	-2,988	2,064	0,889
Grau1 vs Grau3	1,639	-2,155	5,432	0,529
Grau2 vs Grau3	2,101	-1,579	5,780	0,338

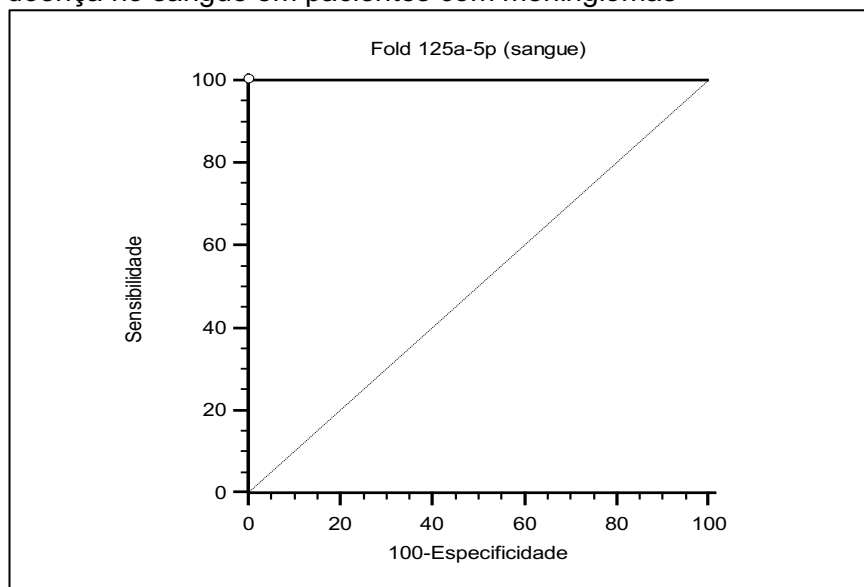
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

5.9 Estimação dos pontos de corte dos micro RNAs no sangue de pacientes com meningiomas

Foi realizada a análise de desempenho dos modelos classificatórios dos micro RNAs selecionados no sangue, através da curva ROC (*receiver operating characteristic*) através da representação gráfica da performance dos dados quantitativos da expressão dos micro RNAs no sangue segundo sua taxa de sensibilidade (fração de verdadeiros positivos) e a fração dos falso-positivos (1-sensibilidade). Nesta curva respondemos se, caso decidamos fazer um ponto de corte no micro RNA, como se daria a separação entre doentes e não-doentes. Os gráficos acima representados nos itens anteriores são análises diferentes quanto ao tratamento do micro RNA, analisando, portanto, os mesmos de forma quantitativa. A curva ROC neste caso, classifica os micro RNAs de forma binária, e, desta forma, analisa a capacidade discriminante (doente x não doentes) dos diferentes pontos de corte. Ao analisarmos, portanto, os dados quantitativos previamente descritos, não houveram no sangue, evidência de associação significativa. No entanto, ao avaliarmos diferentes pontos de corte e estimarmos a sensibilidade e especificidade

para o diagnóstico de meningiomas através das amostras de sangue dos pacientes, obtivemos resultados muito interessantes. O micro RNA miR-125a-5p se mostrou como um excelente marcador diagnóstico em meningiomas, evidenciando que a sua expressão sérica num valor abaixo de 0,052 apresenta sensibilidade de 100 % (IC: 85,8-100%) e especificidade de 100 % (IC: 54,1-100%) para o diagnóstico de meningiomas no sangue (gráfico 6 e tabela 16). Dessa forma sugere apresentar alta sensibilidade para o diagnóstico em meningiomas.

Gráfico 6 - Curva ROC do miR-125a-5p como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 16 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-125a-5p expresso no sangue de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≤0,0001	16,67	4,7 - 37,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0002	20,83	7,1 - 42,2	100	54,1 - 100,0
≤0,0002	25	9,8 - 46,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0002	29,17	12,6 - 51,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0003	33,33	15,6 - 55,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0003	37,5	18,8 - 59,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0005	41,67	22,1 - 63,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0006	45,83	25,6 - 67,2	100	54,1 - 100,0
≤0,0007	50	29,1 - 70,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0008	54,17	32,8 - 74,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0013	58,33	36,6 - 77,9	100	54,1 - 100,0

...continua

Continuação

≤0,0015	62,5	40,6 - 81,2	100	54,1 - 100,0
≤0,0018	66,67	44,7 - 84,4	100	54,1 - 100,0
≤0,002	70,83	48,9 - 87,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0025	75	53,3 - 90,2	100	54,1 - 100,0

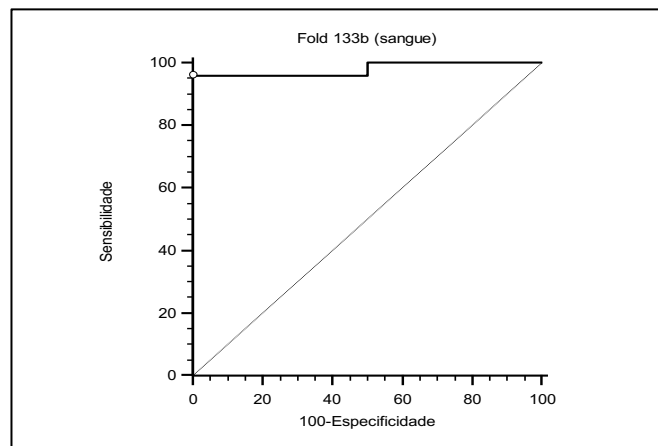
≤0,0027	79,17	57,8 - 92,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0028	83,33	62,6 - 95,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0047	87,5	67,6 - 97,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0083	91,67	73,0 - 99,0	100	54,1 - 100,0
≤0,0515	95,83	78,9 - 99,9	100	54,1 - 100,0
≤0,052	100	85,8 - 100,0	100	54,1 - 100,0
≤0,2703	100	85,8 - 100,0	83,33	35,9 - 99,6
≤0,2938	100	85,8 - 100,0	66,67	22,3 - 95,7
≤0,4439	100	85,8 - 100,0	50	11,8 - 88,2
≤1,1591	100	85,8 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
≤3,4217	100	85,8 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
≤7,1511	100	85,8 - 100,0	0	0,0 - 45,9

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 1,00 (0,88 - 1,00)

A curva ROC também evidenciou a possibilidade do miR-133b como marcador diagnóstico sérico em meningiomas, com sensibilidade de 96% (IC: 79,6-99,9 %) e especificidade de 100 % (IC:39,8-100%) em valores séricos abaixo de 0,4198 (gráfico 7 e tabela 17). Da mesma forma mostra-se com um marcador altamente sensível para o diagnóstico de meningioma, necessitando de uma amostra maior para melhor caracterização da especificidade do marcador.

Gráfico 7 - Curva ROC do miR-133b como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 17 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-133b expresso no sangue de pacientes com diagnóstico de meningiomas

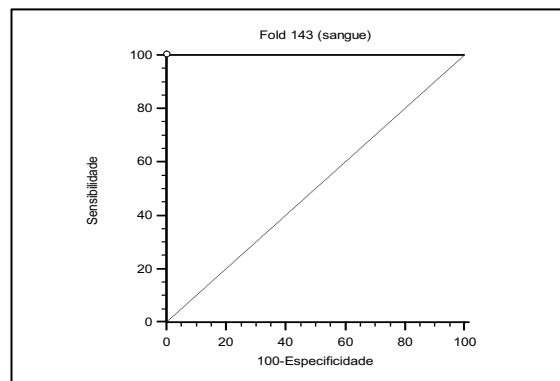
Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0001	0	0,0 - 13,7	100	39,8 - 100,0
≤0,0001	4	0,1 - 20,4	100	39,8 - 100,0
≤0,0007	8	1,0 - 26,0	100	39,8 - 100,0
≤0,0007	12	2,5 - 31,2	100	39,8 - 100,0
≤0,0012	16	4,5 - 36,1	100	39,8 - 100,0
≤0,0012	20	6,8 - 40,7	100	39,8 - 100,0
≤0,0012	24	9,4 - 45,1	100	39,8 - 100,0
≤0,0012	28	12,1 - 49,4	100	39,8 - 100,0
≤0,0021	32	14,9 - 53,5	100	39,8 - 100,0
≤0,0026	36	18,0 - 57,5	100	39,8 - 100,0
≤0,0042	40	21,1 - 61,3	100	39,8 - 100,0
≤0,0055	44	24,4 - 65,1	100	39,8 - 100,0
≤0,0056	48	27,8 - 68,7	100	39,8 - 100,0
≤0,0106	52	31,3 - 72,2	100	39,8 - 100,0
≤0,0118	56	34,9 - 75,6	100	39,8 - 100,0
≤0,0131	60	38,7 - 78,9	100	39,8 - 100,0
≤0,0262	64	42,5 - 82,0	100	39,8 - 100,0
≤0,0303	68	46,5 - 85,1	100	39,8 - 100,0
≤0,0379	72	50,6 - 87,9	100	39,8 - 100,0
≤0,0503	76	54,9 - 90,6	100	39,8 - 100,0
≤0,0526	80	59,3 - 93,2	100	39,8 - 100,0
≤0,0791	84	63,9 - 95,5	100	39,8 - 100,0
≤0,0923	88	68,8 - 97,5	100	39,8 - 100,0
≤0,2275	92	74,0 - 99,0	100	39,8 - 100,0
≤0,4198	96	79,6 - 99,9	100	39,8 - 100,0
≤0,5213	96	79,6 - 99,9	75	19,4 - 99,4
≤0,7892	96	79,6 - 99,9	50	6,8 - 93,2
≤0,8532	100	86,3 - 100,0	50	6,8 - 93,2
≤1,5007	100	86,3 - 100,0	25	0,6 - 80,6
≤1,6199	100	86,3 - 100,0	0	0,0 - 60,2

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,98 (0,85 - 0,99)

A curva ROC do micro RNA miR-143 evidenciou a possibilidade do miR-143 como marcador diagnóstico sérico em meningiomas, com sensibilidade de 100% (IC: 73,5-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%) em valores séricos abaixo de 0,0008 (Gráfico 8 e tabela 18).

Gráfico 8 - Curva ROC do miR-143 como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

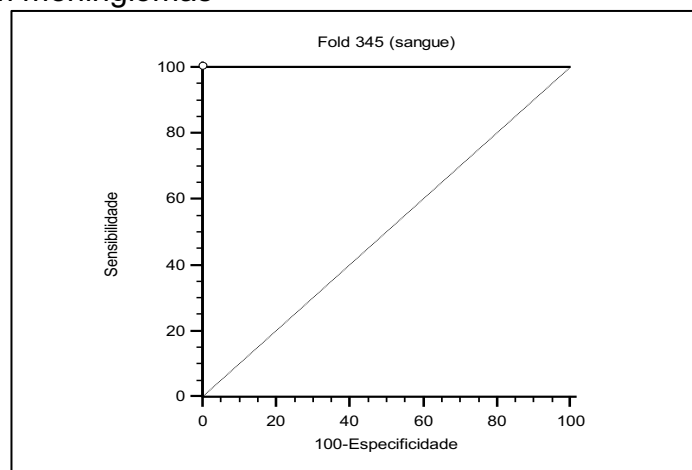
Tabela 18 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-143 expresso no sangue de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≤0,0001	33,33	9,9 - 65,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0001	41,67	15,2 - 72,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0002	50	21,1 - 78,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0002	58,33	27,7 - 84,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0003	66,67	34,9 - 90,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0004	75	42,8 - 94,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0005	83,33	51,6 - 97,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0005	91,67	61,5 - 99,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0008	100	73,5 - 100,0	100	54,1 - 100,0
≤0,2703	100	73,5 - 100,0	83,33	35,9 - 99,6
≤0,2938	100	73,5 - 100,0	66,67	22,3 - 95,7
≤0,4439	100	73,5 - 100,0	50	11,8 - 88,2
≤1,1591	100	73,5 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
≤3,4217	100	73,5 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
≤7,1511	100	73,5 - 100,0	0	0,0 - 45,9

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.
AUC (IC95%): 1,00 (0,81 - 1,00)

O micro RNA miR-345 também evidenciou uma curva ROC com sensibilidade de 100% (IC: 86,8-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%) em valores séricos abaixo de 0,0374 (Gráfico 9 e tabela 19). De forma semelhante, portanto, demonstra alto valor de sensibilidade para o diagnóstico de meningiomas.

Gráfico 9 - Curva ROC do miR miR-345 como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 19. Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-345 expressos no sangue de pacientes com diagnóstico de meningiomas

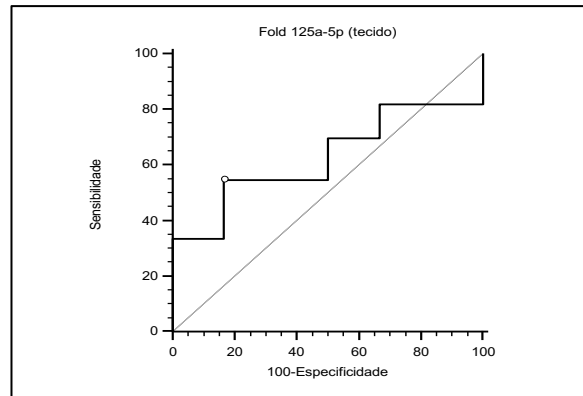
Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≤0,0001	15,38	4,4 - 34,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0005	19,23	6,6 - 39,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0007	23,08	9,0 - 43,6	100	54,1 - 100,0
≤0,0007	26,92	11,6 - 47,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0008	30,77	14,3 - 51,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0013	34,62	17,2 - 55,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0013	38,46	20,2 - 59,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0014	42,31	23,4 - 63,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0016	46,15	26,6 - 66,6	100	54,1 - 100,0
≤0,0017	50	29,9 - 70,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0018	53,85	33,4 - 73,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0022	57,69	36,9 - 76,6	100	54,1 - 100,0
≤0,0023	61,54	40,6 - 79,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0025	65,38	44,3 - 82,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0035	69,23	48,2 - 85,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0038	73,08	52,2 - 88,4	100	54,1 - 100,0
≤0,004	76,92	56,4 - 91,0	100	54,1 - 100,0
≤0,0042	80,77	60,6 - 93,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0044	84,62	65,1 - 95,6	100	54,1 - 100,0
≤0,0113	88,46	69,8 - 97,6	100	54,1 - 100,0
≤0,027	92,31	74,9 - 99,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0308	96,15	80,4 - 99,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0374	100	86,8 - 100,0	100	54,1 - 100,0
≤0,2703	100	86,8 - 100,0	83,33	35,9 - 99,6
≤0,2938	100	86,8 - 100,0	66,67	22,3 - 95,7
≤0,4439	100	86,8 - 100,0	50	11,8 - 88,2
≤1,1591	100	86,8 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
≤3,4217	100	86,8 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
≤7,1511	100	86,8 - 100,0	0	0,0 - 45,9

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.
AUC (IC95%): 1,00 (0,89 - 1,00)

5.10 Estimação dos pontos de corte dos micro RNAs no tecido tumoral de pacientes com meningiomas

A curva ROC dos micro RNAs no tecido tumoral não demonstrou no tecido sensibilidade e especificidade adequadas em todos os micro RNAs para o diagnóstico de meningiomas para a maioria dos micro RNAs. As curvas ROC e tabelas com pontos de corte, sensibilidade e especificidade do micro RNAs expressos no tecido tumoral de miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 podem ser vistas, respectivamente nos gráficos 10,11,12 e 13 e nas tabelas 20, 21, 22 e 23. O mir-133b no tecido tumoral apresentou sensibilidade de 88,24 % (IC:72,5-96,7%) para o diagnóstico de meningiomas, mas apresentou baixa especificidade de 60 % (IC:14,7-94,7%).

Gráfico 10 - Curva ROC do miR-125a-5p como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

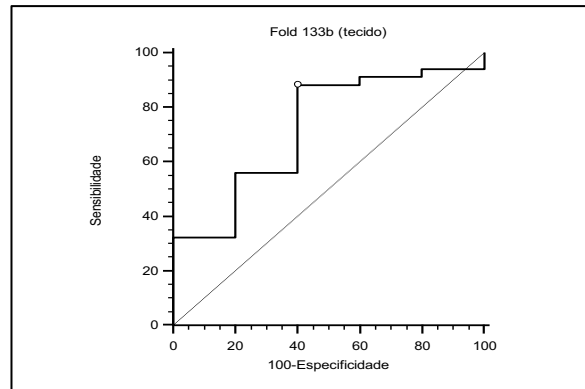
Tabela 20 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-125a-5p expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,1252	100	89,4 - 100,0	0	0,0 - 45,9
>0,1252	96,97	84,2 - 99,9	0	0,0 - 45,9
>0,241	93,94	79,8 - 99,3	0	0,0 - 45,9
>0,2688	90,91	75,7 - 98,1	0	0,0 - 45,9
>0,2892	87,88	71,8 - 96,6	0	0,0 - 45,9
>0,3465	84,85	68,1 - 94,9	0	0,0 - 45,9
>0,3582	81,82	64,5 - 93,0	0	0,0 - 45,9
>0,4058	81,82	64,5 - 93,0	16,67	0,4 - 64,1
>0,4466	81,82	64,5 - 93,0	33,33	4,3 - 77,7
>0,4525	78,79	61,1 - 91,0	33,33	4,3 - 77,7
>0,4932	75,76	57,7 - 88,9	33,33	4,3 - 77,7
>0,5152	72,73	54,5 - 86,7	33,33	4,3 - 77,7
>0,6975	69,7	51,3 - 84,4	33,33	4,3 - 77,7
>0,897	69,7	51,3 - 84,4	50	11,8 - 88,2
>0,9358	66,67	48,2 - 82,0	50	11,8 - 88,2
>1,0144	63,64	45,1 - 79,6	50	11,8 - 88,2
>1,0777	60,61	42,1 - 77,1	50	11,8 - 88,2
>1,1472	57,58	39,2 - 74,5	50	11,8 - 88,2
>1,2653	54,55	36,4 - 71,9	50	11,8 - 88,2
>1,4281	54,55	36,4 - 71,9	66,67	22,3 - 95,7
>1,5908	54,55	36,4 - 71,9	83,33	35,9 - 99,6
>2,0891	51,52	33,5 - 69,2	83,33	35,9 - 99,6
>2,2739	48,48	30,8 - 66,5	83,33	35,9 - 99,6
>2,3776	45,45	28,1 - 63,6	83,33	35,9 - 99,6
>2,4126	42,42	25,5 - 60,8	83,33	35,9 - 99,6
>2,4224	39,39	22,9 - 57,9	83,33	35,9 - 99,6
>2,4565	36,36	20,4 - 54,9	83,33	35,9 - 99,6
>2,5906	33,33	18,0 - 51,8	83,33	35,9 - 99,6
>2,7075	33,33	18,0 - 51,8	100	54,1 - 100,0
>4,2714	30,3	15,6 - 48,7	100	54,1 - 100,0
>5,7693	27,27	13,3 - 45,5	100	54,1 - 100,0
>7,1813	24,24	11,1 - 42,3	100	54,1 - 100,0
>10,5927	21,21	9,0 - 38,9	100	54,1 - 100,0
>15,0387	18,18	7,0 - 35,5	100	54,1 - 100,0
>29,0666	15,15	5,1 - 31,9	100	54,1 - 100,0
>33,1107	12,12	3,4 - 28,2	100	54,1 - 100,0
>33,5056	9,09	1,9 - 24,3	100	54,1 - 100,0
>34,5261	6,06	0,7 - 20,2	100	54,1 - 100,0
>42,2679	3,03	0,08 - 15,8	100	54,1 - 100,0
>68,8725	0	0,0 - 10,6	100	54,1 - 100,0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor

AUC (IC95%): 0,63 (0,46 - 0,78)

Gráfico 11- Curva ROC do miR-133b como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

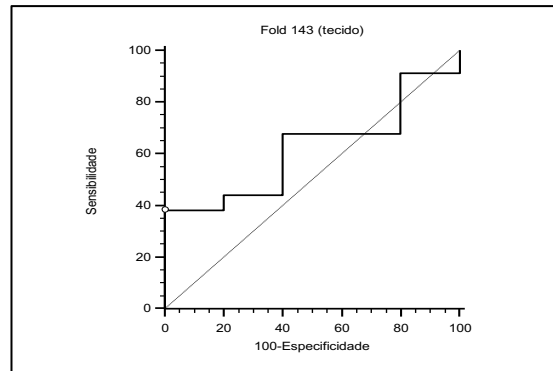
Tabela 21 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-133b expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0093	0	0,0 - 10,3	100	47,8 - 100,0
≤0,0093	2,94	0,07 - 15,3	100	47,8 - 100,0
≤0,0123	5,88	0,7 - 19,7	100	47,8 - 100,0
≤0,0129	8,82	1,9 - 23,7	100	47,8 - 100,0
≤0,016	11,76	3,3 - 27,5	100	47,8 - 100,0
≤0,0329	14,71	5,0 - 31,1	100	47,8 - 100,0
≤0,0344	17,65	6,8 - 34,5	100	47,8 - 100,0
≤0,0364	20,59	8,7 - 37,9	100	47,8 - 100,0
≤0,0452	23,53	10,7 - 41,2	100	47,8 - 100,0
≤0,0533	26,47	12,9 - 44,4	100	47,8 - 100,0
≤0,0586	29,41	15,1 - 47,5	100	47,8 - 100,0
≤0,0592	32,35	17,4 - 50,5	100	47,8 - 100,0
≤0,066	32,35	17,4 - 50,5	80	28,4 - 99,5
≤0,1187	35,29	19,7 - 53,5	80	28,4 - 99,5
≤0,1224	38,24	22,2 - 56,4	80	28,4 - 99,5
≤0,1348	41,18	24,6 - 59,3	80	28,4 - 99,5
≤0,1806	44,12	27,2 - 62,1	80	28,4 - 99,5
≤0,1819	47,06	29,8 - 64,9	80	28,4 - 99,5
≤0,2343	50	32,4 - 67,6	80	28,4 - 99,5
≤0,2468	52,94	35,1 - 70,2	80	28,4 - 99,5
≤0,3171	55,88	37,9 - 72,8	80	28,4 - 99,5
≤0,4048	55,88	37,9 - 72,8	60	14,7 - 94,7
≤0,4305	58,82	40,7 - 75,4	60	14,7 - 94,7
≤0,5707	61,76	43,6 - 77,8	60	14,7 - 94,7
≤0,6543	64,71	46,5 - 80,3	60	14,7 - 94,7
≤0,8481	67,65	49,5 - 82,6	60	14,7 - 94,7
≤1,0088	70,59	52,5 - 84,9	60	14,7 - 94,7
≤1,0626	73,53	55,6 - 87,1	60	14,7 - 94,7
≤1,2202	76,47	58,8 - 89,3	60	14,7 - 94,7
≤1,3377	79,41	62,1 - 91,3	60	14,7 - 94,7
≤1,3695	82,35	65,5 - 93,2	60	14,7 - 94,7
≤1,3916	85,29	68,9 - 95,0	60	14,7 - 94,7
≤1,4314	88,24	72,5 - 96,7	60	14,7 - 94,7
≤1,605	88,24	72,5 - 96,7	40	5,3 - 85,3
≤2,4273	91,18	76,3 - 98,1	40	5,3 - 85,3
≤3,4937	91,18	76,3 - 98,1	20	0,5 - 71,6
≤5,7667	94,12	80,3 - 99,3	20	0,5 - 71,6
≤6,6796	94,12	80,3 - 99,3	0	0,0 - 52,2
≤10,2364	97,06	84,7 - 99,9	0	0,0 - 52,2
≤41,3077	100	89,7 - 100,0	0	0,0 - 52,2

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,72 (0,56 - 0,85)

Gráfico 12 - Curva ROC do miR-143 como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

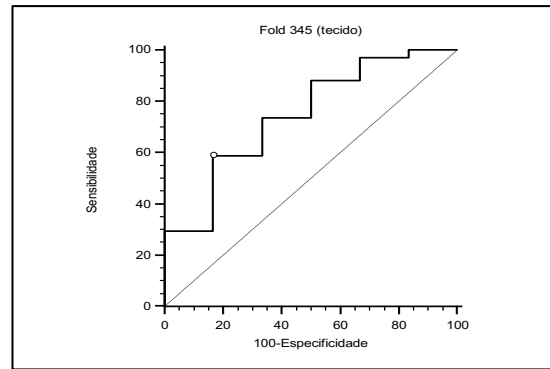
Tabela 22 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-143 expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0026	0	0,0 - 10,3	100	47,8 - 100,0
≤0,0026	2,94	0,07 - 15,3	100	47,8 - 100,0
≤0,0041	5,88	0,7 - 19,7	100	47,8 - 100,0
≤0,01	8,82	1,9 - 23,7	100	47,8 - 100,0
≤0,0174	11,76	3,3 - 27,5	100	47,8 - 100,0
≤0,0345	14,71	5,0 - 31,1	100	47,8 - 100,0
≤0,0603	17,65	6,8 - 34,5	100	47,8 - 100,0
≤0,0673	20,59	8,7 - 37,9	100	47,8 - 100,0
≤0,0851	23,53	10,7 - 41,2	100	47,8 - 100,0
≤0,1007	26,47	12,9 - 44,4	100	47,8 - 100,0
≤0,1076	29,41	15,1 - 47,5	100	47,8 - 100,0
≤0,1095	32,35	17,4 - 50,5	100	47,8 - 100,0
≤0,1361	35,29	19,7 - 53,5	100	47,8 - 100,0
≤0,157	38,24	22,2 - 56,4	100	47,8 - 100,0
≤0,158	38,24	22,2 - 56,4	80	28,4 - 99,5
≤0,2418	41,18	24,6 - 59,3	80	28,4 - 99,5
≤0,2569	44,12	27,2 - 62,1	80	28,4 - 99,5
≤0,2613	44,12	27,2 - 62,1	60	14,7 - 94,7
≤0,2656	47,06	29,8 - 64,9	60	14,7 - 94,7
≤0,3085	50	32,4 - 67,6	60	14,7 - 94,7
≤0,3304	52,94	35,1 - 70,2	60	14,7 - 94,7
≤0,5333	55,88	37,9 - 72,8	60	14,7 - 94,7
≤0,7144	58,82	40,7 - 75,4	60	14,7 - 94,7
≤0,8448	61,76	43,6 - 77,8	60	14,7 - 94,7
≤0,9972	64,71	46,5 - 80,3	60	14,7 - 94,7
≤1,4825	67,65	49,5 - 82,6	60	14,7 - 94,7
≤1,5395	67,65	49,5 - 82,6	40	5,3 - 85,3
≤1,5529	67,65	49,5 - 82,6	20	0,5 - 71,6
≤1,8451	70,59	52,5 - 84,9	20	0,5 - 71,6
≤2,0085	73,53	55,6 - 87,1	20	0,5 - 71,6
≤2,7992	76,47	58,8 - 89,3	20	0,5 - 71,6
≤3,5599	79,41	62,1 - 91,3	20	0,5 - 71,6
≤4,012	82,35	65,5 - 93,2	20	0,5 - 71,6
≤4,8928	85,29	68,9 - 95,0	20	0,5 - 71,6
≤5,1923	88,24	72,5 - 96,7	20	0,5 - 71,6
≤7,1424	91,18	76,3 - 98,1	20	0,5 - 71,6
≤10,1287	91,18	76,3 - 98,1	0	0,0 - 52,2
≤10,5822	94,12	80,3 - 99,3	0	0,0 - 52,2
≤26,9184	97,06	84,7 - 99,9	0	0,0 - 52,2
≤38,5462	100	89,7 - 100,0	0	0,0 - 52,2

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,62 (0,45 - 0,77)

Gráfico 13 - Curva ROC do miR-345 como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 23 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-345 expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,1885	100	89,7 - 100,0	0	0,0 - 45,9
>0,1885	100	89,7 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
>0,1978	97,06	84,7 - 99,9	16,67	0,4 - 64,1
>0,3078	97,06	84,7 - 99,9	33,33	4,3 - 77,7
>0,4057	94,12	80,3 - 99,3	33,33	4,3 - 77,7
>0,4622	91,18	76,3 - 98,1	33,33	4,3 - 77,7
>0,5066	88,24	72,5 - 96,7	33,33	4,3 - 77,7
>0,5223	88,24	72,5 - 96,7	50	11,8 - 88,2
>0,5223	85,29	68,9 - 95,0	50	11,8 - 88,2
>0,5535	82,35	65,5 - 93,2	50	11,8 - 88,2
>0,5686	79,41	62,1 - 91,3	50	11,8 - 88,2
>0,616	76,47	58,8 - 89,3	50	11,8 - 88,2
>0,8236	73,53	55,6 - 87,1	50	11,8 - 88,2
>0,9124	73,53	55,6 - 87,1	66,67	22,3 - 95,7
>1,0519	70,59	52,5 - 84,9	66,67	22,3 - 95,7
>1,2055	67,65	49,5 - 82,6	66,67	22,3 - 95,7
>1,4708	64,71	46,5 - 80,3	66,67	22,3 - 95,7
>1,4729	61,76	43,6 - 77,8	66,67	22,3 - 95,7
>1,9266	58,82	40,7 - 75,4	66,67	22,3 - 95,7
>1,9549	58,82	40,7 - 75,4	83,33	35,9 - 99,6
>2,1977	55,88	37,9 - 72,8	83,33	35,9 - 99,6
>2,3277	52,94	35,1 - 70,2	83,33	35,9 - 99,6
>2,4294	50	32,4 - 67,6	83,33	35,9 - 99,6
>3,4823	47,06	29,8 - 64,9	83,33	35,9 - 99,6
>4,5334	44,12	27,2 - 62,1	83,33	35,9 - 99,6
>4,5559	41,18	24,6 - 59,3	83,33	35,9 - 99,6
>5,183	38,24	22,2 - 56,4	83,33	35,9 - 99,6
>6,0523	35,29	19,7 - 53,5	83,33	35,9 - 99,6
>6,6561	32,35	17,4 - 50,5	83,33	35,9 - 99,6
>10,1561	29,41	15,1 - 47,5	83,33	35,9 - 99,6
>18,5046	29,41	15,1 - 47,5	100	54,1 - 100,0
>22,7584	26,47	12,9 - 44,4	100	54,1 - 100,0
>32,736	23,53	10,7 - 41,2	100	54,1 - 100,0
>33,7376	20,59	8,7 - 37,9	100	54,1 - 100,0
>38,5287	17,65	6,8 - 34,5	100	54,1 - 100,0
>46,4967	14,71	5,0 - 31,1	100	54,1 - 100,0
>51,4047	11,76	3,3 - 27,5	100	54,1 - 100,0
>99,2698	8,82	1,9 - 23,7	100	54,1 - 100,0
>125,9611	5,88	0,7 - 19,7	100	54,1 - 100,0
>144,6776	2,94	0,07 - 15,3	100	54,1 - 100,0
>163,1569	0	0,0 - 10,3	100	54,1 - 100,0

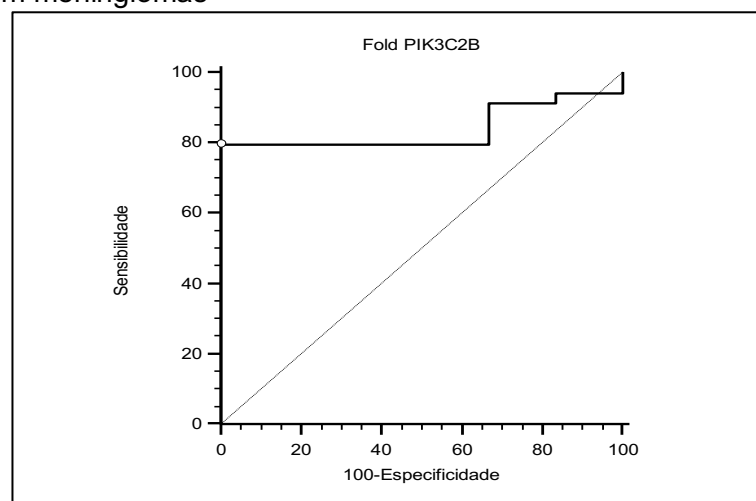
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,75 (0,58 - 0,87)

5.11 Estimação dos pontos de corte dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral de pacientes com meningiomas

A curva ROC dos genes selecionados no tecido tumoral demonstrou no tecido tumoral sensibilidade relativamente alta para os genes PIK3C2B e RAB3B, mas especificidade ruim para o diagnóstico de meningiomas. As curvas ROC e tabelas com pontos de corte dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B, sensibilidade e especificidade dos genes expressos no tecido tumoral dos 3 genes podem ser vistas nos gráficos (gráfico 14, 15 e 16 e tabelas 24, 25 e 26 respectivamente). Não é possível estabelecer pontos de corte para sensibilidade e especificidade adequadas mediante a amplitude do IC. O gene PI3KC2B, sugere ser sensível (sensibilidade de 79,41%, IC: 62,1-91,3%) para valores do fold abaixo de 0,5235, mas apresenta baixa especificidade. O gene PIP5K1A, sugere ser pouco sensível (sensibilidade de 32,35%, IC: 17,4-50,5%) para valores do fold acima de de 3,2578, mas apresenta alta especificidade de 100% (IC:54,1-100%) acima deste valor. O gene RAB3B sugere ser sensível para o diagnóstico de doença quando sua expressão está abaixo de 0,5191 no fold do tecido tumoral (sensibilidade de 97,06%; IC: 84,7-99,9%), mas demonstra ser pouco específico (66,67%; IC: 22,3-95,7%).

Gráfico 14 - Curva ROC do gene PIK3C2B como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas



Fonte: Elaborado pelo autor.

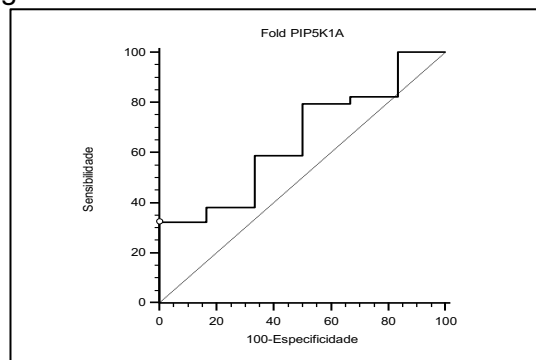
Tabela 24 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do PIK3C2B expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0285	0	0,0 - 10,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0285	2,94	0,07 - 15,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0554	5,88	0,7 - 19,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0643	8,82	1,9 - 23,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0663	11,76	3,3 - 27,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0735	14,71	5,0 - 31,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0812	17,65	6,8 - 34,5	100	54,1 - 100,0
≤0,1103	20,59	8,7 - 37,9	100	54,1 - 100,0
≤0,1106	23,53	10,7 - 41,2	100	54,1 - 100,0
≤0,1275	26,47	12,9 - 44,4	100	54,1 - 100,0
≤0,1423	29,41	15,1 - 47,5	100	54,1 - 100,0
≤0,1675	32,35	17,4 - 50,5	100	54,1 - 100,0
≤0,1688	35,29	19,7 - 53,5	100	54,1 - 100,0
≤0,1712	38,24	22,2 - 56,4	100	54,1 - 100,0
≤0,1971	41,18	24,6 - 59,3	100	54,1 - 100,0
≤0,2661	44,12	27,2 - 62,1	100	54,1 - 100,0
≤0,2736	47,06	29,8 - 64,9	100	54,1 - 100,0
≤0,2745	50	32,4 - 67,6	100	54,1 - 100,0
≤0,2873	52,94	35,1 - 70,2	100	54,1 - 100,0
≤0,2878	55,88	37,9 - 72,8	100	54,1 - 100,0
≤0,2936	58,82	40,7 - 75,4	100	54,1 - 100,0
≤0,3228	61,76	43,6 - 77,8	100	54,1 - 100,0
≤0,3452	64,71	46,5 - 80,3	100	54,1 - 100,0
≤0,3758	67,65	49,5 - 82,6	100	54,1 - 100,0
≤0,4005	70,59	52,5 - 84,9	100	54,1 - 100,0
≤0,4396	73,53	55,6 - 87,1	100	54,1 - 100,0
≤0,4497	76,47	58,8 - 89,3	100	54,1 - 100,0
≤0,5235	79,41	62,1 - 91,3	100	54,1 - 100,0
≤0,6604	79,41	62,1 - 91,3	83,33	35,9 - 99,6
≤0,7986	79,41	62,1 - 91,3	66,67	22,3 - 95,7
≤0,8401	79,41	62,1 - 91,3	50	11,8 - 88,2
≤0,869	79,41	62,1 - 91,3	33,33	4,3 - 77,7
≤1,0355	82,35	65,5 - 93,2	33,33	4,3 - 77,7
≤1,0969	85,29	68,9 - 95,0	33,33	4,3 - 77,7
≤1,1019	88,24	72,5 - 96,7	33,33	4,3 - 77,7
≤1,1109	91,18	76,3 - 98,1	33,33	4,3 - 77,7
≤1,1373	91,18	76,3 - 98,1	16,67	0,4 - 64,1
≤1,7548	94,12	80,3 - 99,3	16,67	0,4 - 64,1
≤2,2836	94,12	80,3 - 99,3	0	0,0 - 45,9
≤3,5137	97,06	84,7 - 99,9	0	0,0 - 45,9
≤4,4767	100	89,7 - 100,0	0	0,0 - 45,9

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,89 (0,58 - 0,99)

Gráfico 15 - Curva ROC do gene PIP5K1A como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas



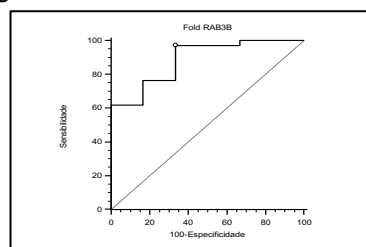
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 25. Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do PIP5K1A expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,0487	100	89,7 - 100,0	0	0,0 - 45,9
>0,0487	100	89,7 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
>0,4261	97,06	84,7 - 99,9	16,67	0,4 - 64,1
>0,567	94,12	80,3 - 99,3	16,67	0,4 - 64,1
>0,7442	91,18	76,3 - 98,1	16,67	0,4 - 64,1
>0,8153	88,24	72,5 - 96,7	16,67	0,4 - 64,1
>0,929	85,29	68,9 - 95,0	16,67	0,4 - 64,1
>1,0269	82,35	65,5 - 93,2	16,67	0,4 - 64,1
>1,0611	82,35	65,5 - 93,2	33,33	4,3 - 77,7
>1,076	79,41	62,1 - 91,3	33,33	4,3 - 77,7
>1,4071	79,41	62,1 - 91,3	50	11,8 - 88,2
>1,4258	76,47	58,8 - 89,3	50	11,8 - 88,2
>1,4741	73,53	55,6 - 87,1	50	11,8 - 88,2
>1,4814	70,59	52,5 - 84,9	50	11,8 - 88,2
>1,5068	67,65	49,5 - 82,6	50	11,8 - 88,2
>1,5111	64,71	46,5 - 80,3	50	11,8 - 88,2
>1,6466	61,76	43,6 - 77,8	50	11,8 - 88,2
>1,6654	58,82	40,7 - 75,4	50	11,8 - 88,2
>1,6733	58,82	40,7 - 75,4	66,67	22,3 - 95,7
>1,7252	55,88	37,9 - 72,8	66,67	22,3 - 95,7
>2,0616	52,94	35,1 - 70,2	66,67	22,3 - 95,7
>2,112	50	32,4 - 67,6	66,67	22,3 - 95,7
>2,1182	47,06	29,8 - 64,9	66,67	22,3 - 95,7
>2,1208	44,12	27,2 - 62,1	66,67	22,3 - 95,7
>2,2289	41,18	24,6 - 59,3	66,67	22,3 - 95,7
>2,2897	38,24	22,2 - 56,4	66,67	22,3 - 95,7
>2,523	38,24	22,2 - 56,4	83,33	35,9 - 99,6
>2,9343	35,29	19,7 - 53,5	83,33	35,9 - 99,6
>3,235	32,35	17,4 - 50,5	83,33	35,9 - 99,6
>3,2578	32,35	17,4 - 50,5	100	54,1 - 100,0
>4,4026	29,41	15,1 - 47,5	100	54,1 - 100,0
>4,4286	26,47	12,9 - 44,4	100	54,1 - 100,0
>4,6096	23,53	10,7 - 41,2	100	54,1 - 100,0
>5,9216	20,59	8,7 - 37,9	100	54,1 - 100,0
>6,2069	17,65	6,8 - 34,5	100	54,1 - 100,0
>6,3454	14,71	5,0 - 31,1	100	54,1 - 100,0
>6,3964	11,76	3,3 - 27,5	100	54,1 - 100,0
>7,3003	8,82	1,9 - 23,7	100	54,1 - 100,0
>8,3682	5,88	0,7 - 19,7	100	54,1 - 100,0
>10,0757	2,94	0,07 - 15,3	100	54,1 - 100,0
>15,7185	0	0,0 - 10,3	100	54,1 - 100,0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.
AUC (IC95%): 0,65 (0,49 - 0,80)

Gráfico 16 - Curva ROC do gene RAB3B como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 26 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do RAB3B expressos no tecido tumoral de pacientes com diagnóstico de meningiomas

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0059	0	0,0 - 10,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0059	2,94	0,07 - 15,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0104	5,88	0,7 - 19,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0143	8,82	1,9 - 23,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0148	11,76	3,3 - 27,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0148	14,71	5,0 - 31,1	100	54,1 - 100,0
≤0,016	17,65	6,8 - 34,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0188	20,59	8,7 - 37,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0204	23,53	10,7 - 41,2	100	54,1 - 100,0
≤0,0212	26,47	12,9 - 44,4	100	54,1 - 100,0
≤0,022	29,41	15,1 - 47,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0236	32,35	17,4 - 50,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0307	35,29	19,7 - 53,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0322	38,24	22,2 - 56,4	100	54,1 - 100,0
≤0,0378	41,18	24,6 - 59,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0382	44,12	27,2 - 62,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0402	47,06	29,8 - 64,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0516	50	32,4 - 67,6	100	54,1 - 100,0
≤0,0522	52,94	35,1 - 70,2	100	54,1 - 100,0
≤0,0836	55,88	37,9 - 72,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0938	58,82	40,7 - 75,4	100	54,1 - 100,0
≤0,1256	61,76	43,6 - 77,8	100	54,1 - 100,0
≤0,132	61,76	43,6 - 77,8	83,33	35,9 - 99,6
≤0,1435	64,71	46,5 - 80,3	83,33	35,9 - 99,6
≤0,1481	67,65	49,5 - 82,6	83,33	35,9 - 99,6
≤0,1554	70,59	52,5 - 84,9	83,33	35,9 - 99,6
≤0,157	73,53	55,6 - 87,1	83,33	35,9 - 99,6
≤0,1619	76,47	58,8 - 89,3	83,33	35,9 - 99,6
≤0,2362	76,47	58,8 - 89,3	66,67	22,3 - 95,7
≤0,296	79,41	62,1 - 91,3	66,67	22,3 - 95,7
≤0,3057	82,35	65,5 - 93,2	66,67	22,3 - 95,7
≤0,3357	85,29	68,9 - 95,0	66,67	22,3 - 95,7
≤0,3383	88,24	72,5 - 96,7	66,67	22,3 - 95,7
≤0,4194	91,18	76,3 - 98,1	66,67	22,3 - 95,7
≤0,464	94,12	80,3 - 99,3	66,67	22,3 - 95,7
≤0,5191	97,06	84,7 - 99,9	66,67	22,3 - 95,7
≤0,5235	97,06	84,7 - 99,9	50	11,8 - 88,2
≤0,5713	97,06	84,7 - 99,9	33,33	4,3 - 77,7
≤0,6556	100	89,7 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
≤10,3129	100	89,7 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
≤10,3978	100	89,7 - 100,0	0	0,0 - 45,9

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

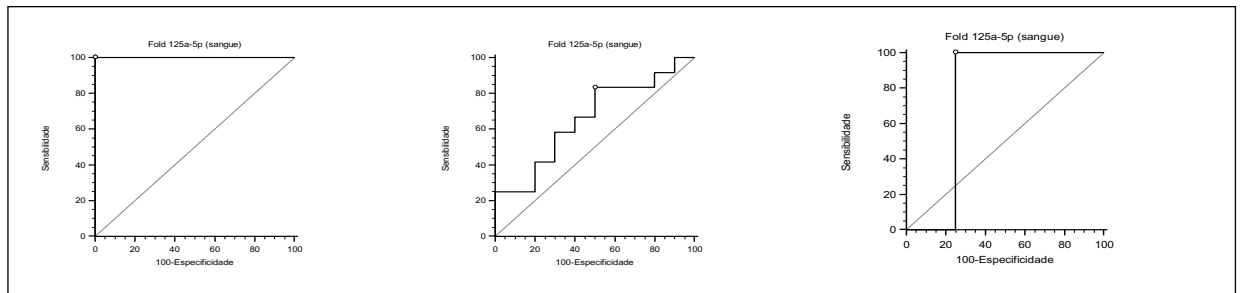
AUC (IC95%): 0,89 (0,75 - 0,97)

5.12 Estimação dos pontos de corte do micro RNA miR-125a-5p no sangue e tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas

A curva ROC do micro RNA miR-125a-5p no sangue demonstrou alta sensibilidade de 100% (IC:69,2-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores séricos inferiores a 0,0047, com excelente área sob a curva (**AUC (IC95%): 1,00 (0,79 - 1,00)**). Seria necessário um aumento do N para a redução do intervalo de confiança. O mesmo não pôde ser

verificado na dosagem sérica nos pacientes com meningioma grau II e grau III (gráfico 17, tabela 27).

Gráfico 17 - Curva ROC do miR-125a-5p como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 27 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-125a-5p expressos no sangue em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≤0,0002	30	6,7 - 65,2	100	54,1 - 100,0
≤0,0002	40	12,2 - 73,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0002	50	18,7 - 81,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0005	60	26,2 - 87,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0007	70	34,8 - 93,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0015	80	44,4 - 97,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0025	90	55,5 - 99,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0047	100	69,2 - 100,0	100	54,1 - 100,0
≤0,2703	100	69,2 - 100,0	83,33	35,9 - 99,6
≤0,2938	100	69,2 - 100,0	66,67	22,3 - 95,7
≤0,4439	100	69,2 - 100,0	50	11,8 - 88,2
≤1,1591	100	69,2 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
≤3,4217	100	69,2 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
≤7,1511	100	69,2 - 100,0	0	0,0 - 45,9

AUC (IC95%): 1,00 (0,79 - 1,00)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
>0,0001	83,33	51,6 - 97,9	20	2,5 - 55,6
>0,000163	83,33	51,6 - 97,9	30	6,7 - 65,2
>0,000181	83,33	51,6 - 97,9	40	12,2 - 73,8
>0,000185	83,33	51,6 - 97,9	50	18,7 - 81,3
>0,0003	75	42,8 - 94,5	50	18,7 - 81,3
>0,0003	66,67	34,9 - 90,1	50	18,7 - 81,3
>0,0005	66,67	34,9 - 90,1	60	26,2 - 87,8
>0,0006	58,33	27,7 - 84,8	60	26,2 - 87,8
>0,0007	58,33	27,7 - 84,8	70	34,8 - 93,3
>0,0008	50	21,1 - 78,9	70	34,8 - 93,3
>0,0013	41,67	15,2 - 72,3	70	34,8 - 93,3

...continua

Continuação

>0,0015	41,67	15,2 - 72,3	80	44,4 - 97,5
>0,0018	33,33	9,9 - 65,1	80	44,4 - 97,5
>0,002	25	5,5 - 57,2	80	44,4 - 97,5
>0,0025	25	5,5 - 57,2	90	55,5 - 99,7
>0,0047	25	5,5 - 57,2	100	69,2 - 100,0
>0,0083	16,67	2,1 - 48,4	100	69,2 - 100,0
>0,0515	8,33	0,2 - 38,5	100	69,2 - 100,0
>0,052	0	0,0 - 26,5	100	69,2 - 100,0

AUC (IC95%): 0,66 (0,43 - 0,84)

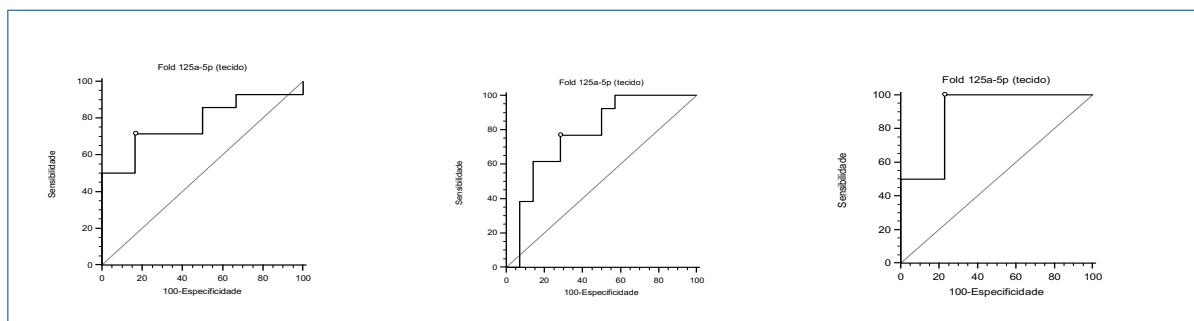
Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
>0,0001	100	15,8 - 100,0	16,67	2,1 - 48,4
>0,0003	100	15,8 - 100,0	25	5,5 - 57,2
>0,0003	100	15,8 - 100,0	33,33	9,9 - 65,1
>0,0006	100	15,8 - 100,0	41,67	15,2 - 72,3
>0,0008	100	15,8 - 100,0	50	21,1 - 78,9
>0,0013	100	15,8 - 100,0	58,33	27,7 - 84,8
>0,0018	100	15,8 - 100,0	66,67	34,9 - 90,1
>0,002	100	15,8 - 100,0	75	42,8 - 94,5
>0,0027	50	1,3 - 98,7	75	42,8 - 94,5
>0,0028	0	0,0 - 84,2	75	42,8 - 94,5
>0,0083	0	0,0 - 84,2	83,33	51,6 - 97,9
>0,0515	0	0,0 - 84,2	91,67	61,5 - 99,8
>0,052	0	0,0 - 84,2	100	73,5 - 100,0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,75 (0,45 - 0,94)

A curva ROC do micro RNA miR-125a-5p no tecido tumoral não demonstrou sensibilidade ou especificidade para o diagnóstico de meningioma de grau I e grau II, com especificidade de 76,92 % em meningiomas grau III (IC:46,2-95%) e sensibilidade de 100 % (54-100%). Estes dados podem ser vistos no gráfico 18 e tabela 28.

Gráfico 18 - Curva ROC do miR-125a-5p como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 28. Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-125a-5p expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,1252	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 45,9
>0,1252	92,86	66,1 - 99,8	0	0,0 - 45,9
>0,4058	92,86	66,1 - 99,8	16,67	0,4 - 64,1
>0,4466	92,86	66,1 - 99,8	33,33	4,3 - 77,7
>0,4525	85,71	57,2 - 98,2	33,33	4,3 - 77,7
>0,897	85,71	57,2 - 98,2	50	11,8 - 88,2
>0,9358	78,57	49,2 - 95,3	50	11,8 - 88,2
>1,0144	71,43	41,9 - 91,6	50	11,8 - 88,2
>1,4281	71,43	41,9 - 91,6	66,67	22,3 - 95,7
>1,5908	71,43	41,9 - 91,6	83,33	35,9 - 99,6
>2,2739	64,29	35,1 - 87,2	83,33	35,9 - 99,6
>2,3776	57,14	28,9 - 82,3	83,33	35,9 - 99,6
>2,4224	50	23,0 - 77,0	83,33	35,9 - 99,6
>2,7075	50	23,0 - 77,0	100	54,1 - 100,0
>4,2714	42,86	17,7 - 71,1	100	54,1 - 100,0
>7,1813	35,71	12,8 - 64,9	100	54,1 - 100,0
>15,0387	28,57	8,4 - 58,1	100	54,1 - 100,0
>29,0666	21,43	4,7 - 50,8	100	54,1 - 100,0
>33,1107	14,29	1,8 - 42,8	100	54,1 - 100,0
>34,5261	7,14	0,2 - 33,9	100	54,1 - 100,0
>42,2679	0	0,0 - 23,2	100	54,1 - 100,0

AUC (IC95%): 0,77 (0,53 - 0,93)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,1252	0	0,0 - 24,7	100	76,8 - 100,0
≤0,1252	0	0,0 - 24,7	92,86	66,1 - 99,8
≤0,241	7,69	0,2 - 36,0	92,86	66,1 - 99,8
≤0,2688	15,38	1,9 - 45,4	92,86	66,1 - 99,8
≤0,2892	23,08	5,0 - 53,8	92,86	66,1 - 99,8
≤0,3465	30,77	9,1 - 61,4	92,86	66,1 - 99,8
≤0,3582	38,46	13,9 - 68,4	92,86	66,1 - 99,8
≤0,4525	38,46	13,9 - 68,4	85,71	57,2 - 98,2
≤0,4932	46,15	19,2 - 74,9	85,71	57,2 - 98,2
≤0,5152	53,85	25,1 - 80,8	85,71	57,2 - 98,2
≤0,6975	61,54	31,6 - 86,1	85,71	57,2 - 98,2
≤0,9358	61,54	31,6 - 86,1	78,57	49,2 - 95,3
≤1,0144	61,54	31,6 - 86,1	71,43	41,9 - 91,6
≤1,0777	69,23	38,6 - 90,9	71,43	41,9 - 91,6
≤1,1472	76,92	46,2 - 95,0	71,43	41,9 - 91,6
≤2,2739	76,92	46,2 - 95,0	64,29	35,1 - 87,2
≤2,3776	76,92	46,2 - 95,0	57,14	28,9 - 82,3
≤2,4224	76,92	46,2 - 95,0	50	23,0 - 77,0
≤2,4565	84,62	54,6 - 98,1	50	23,0 - 77,0
≤2,5906	92,31	64,0 - 99,8	50	23,0 - 77,0
≤4,2714	92,31	64,0 - 99,8	42,86	17,7 - 71,1
≤5,7693	100	75,3 - 100,0	42,86	17,7 - 71,1
≤7,1813	100	75,3 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
≤15,0387	100	75,3 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
≤29,0666	100	75,3 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
≤33,1107	100	75,3 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
≤34,5261	100	75,3 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
≤42,2679	100	75,3 - 100,0	0	0,0 - 23,2

AUC (IC95%): 0,77 (0,57 - 0,91)

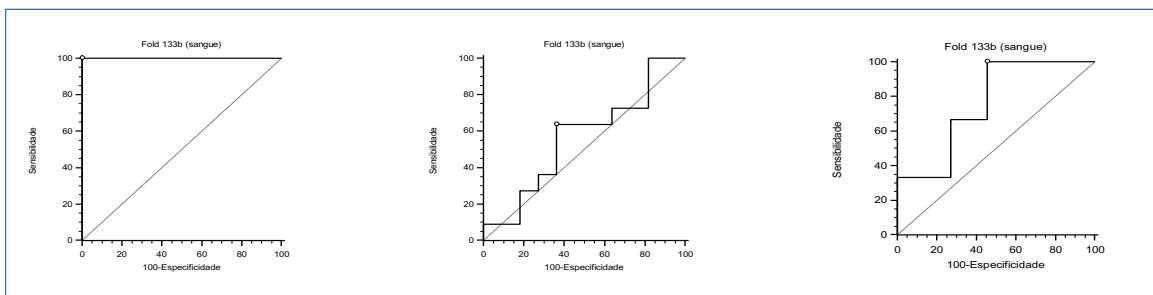
Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,241	100	54,1 - 100,0	0	0,0 - 24,7
>0,241	100	54,1 - 100,0	7,69	0,2 - 36,0
>0,2688	100	54,1 - 100,0	15,38	1,9 - 45,4
>0,2892	100	54,1 - 100,0	23,08	5,0 - 53,8
>0,3465	100	54,1 - 100,0	30,77	9,1 - 61,4
>0,3582	100	54,1 - 100,0	38,46	13,9 - 68,4
>0,4932	100	54,1 - 100,0	46,15	19,2 - 74,9
>0,5152	100	54,1 - 100,0	53,85	25,1 - 80,8
>0,6975	100	54,1 - 100,0	61,54	31,6 - 86,1
>1,0777	100	54,1 - 100,0	69,23	38,6 - 90,9
>1,1472	100	54,1 - 100,0	76,92	46,2 - 95,0
>1,2653	83,33	35,9 - 99,6	76,92	46,2 - 95,0
>2,0891	66,67	22,3 - 95,7	76,92	46,2 - 95,0
>2,4126	50	11,8 - 88,2	76,92	46,2 - 95,0
>2,4565	50	11,8 - 88,2	84,62	54,6 - 98,1
>2,5906	50	11,8 - 88,2	92,31	64,0 - 99,8
>5,7693	50	11,8 - 88,2	100	75,3 - 100,0
>10,5927	33,33	4,3 - 77,7	100	75,3 - 100,0
>33,5056	16,67	0,4 - 64,1	100	75,3 - 100,0
>68,8725	0	0,0 - 45,9	100	75,3 - 100,0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.
AUC (IC95%): 0,88 (0,57 - 0,95)

5.13 Estimação dos pontos de corte do micro RNA miR-133b no sangue e tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas

A curva ROC do micro RNA miR-133b no sangue demonstrou alta sensibilidade de 100% (IC:71,5-100) e especificidade de 100 % (IC:39,8-100%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores séricos inferiores a 0,4198 (**AUC (IC95%): 1,00 (0,78 - 1,00)**). O mesmo não pôde ser verificado na dosagem sérica nos pacientes com meningioma grau II e grau III (gráfico 19, tabela 29).

Gráfico 19 - Curva ROC do miR-133b como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 29 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-133b expressos no sangue em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0001	0	0,0 - 28,5	100	39,8 - 100,0
≤0,0001	9,09	0,2 - 41,3	100	39,8 - 100,0
≤0,0007	18,18	2,3 - 51,8	100	39,8 - 100,0
≤0,0012	27,27	6,0 - 61,0	100	39,8 - 100,0
≤0,0026	36,36	10,9 - 69,2	100	39,8 - 100,0
≤0,0055	45,45	16,7 - 76,6	100	39,8 - 100,0
≤0,0056	54,55	23,4 - 83,3	100	39,8 - 100,0
≤0,0106	63,64	30,8 - 89,1	100	39,8 - 100,0
≤0,0379	72,73	39,0 - 94,0	100	39,8 - 100,0
≤0,0526	81,82	48,2 - 97,7	100	39,8 - 100,0
≤0,2275	90,91	58,7 - 99,8	100	39,8 - 100,0
≤0,4198	100	71,5 - 100,0	100	39,8 - 100,0
≤0,5213	100	71,5 - 100,0	75	19,4 - 99,4
≤0,7892	100	71,5 - 100,0	50	6,8 - 93,2
≤1,5007	100	71,5 - 100,0	25	0,6 - 80,6
≤1,6199	100	71,5 - 100,0	0	0,0 - 60,2

AUC (IC95%): 1,00 (0,78 - 1,00)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,0001	100	71,5 - 100,0	0	0,0 - 28,5
>0,0001	100	71,5 - 100,0	9,09	0,2 - 41,3
>0,0007	100	71,5 - 100,0	18,18	2,3 - 51,8
>0,0012	90,91	58,7 - 99,8	18,18	2,3 - 51,8
>0,0012	81,82	48,2 - 97,7	18,18	2,3 - 51,8
>0,0012	72,73	39,0 - 94,0	18,18	2,3 - 51,8
>0,0012	72,73	39,0 - 94,0	27,27	6,0 - 61,0
>0,0026	72,73	39,0 - 94,0	36,36	10,9 - 69,2
>0,0042	63,64	30,8 - 89,1	36,36	10,9 - 69,2
>0,0055	63,64	30,8 - 89,1	45,45	16,7 - 76,6
>0,0056	63,64	30,8 - 89,1	54,55	23,4 - 83,3
>0,0106	63,64	30,8 - 89,1	63,64	30,8 - 89,1
>0,0118	54,55	23,4 - 83,3	63,64	30,8 - 89,1
>0,0262	45,45	16,7 - 76,6	63,64	30,8 - 89,1
>0,0303	36,36	10,9 - 69,2	63,64	30,8 - 89,1
>0,0379	36,36	10,9 - 69,2	72,73	39,0 - 94,0
>0,0503	27,27	6,0 - 61,0	72,73	39,0 - 94,0
>0,0526	27,27	6,0 - 61,0	81,82	48,2 - 97,7
>0,0791	18,18	2,3 - 51,8	81,82	48,2 - 97,7
>0,0923	9,09	0,2 - 41,3	81,82	48,2 - 97,7
>0,2275	9,09	0,2 - 41,3	90,91	58,7 - 99,8
>0,4198	9,09	0,2 - 41,3	100	71,5 - 100,0
>0,8532	0	0,0 - 28,5	100	71,5 - 100,0

AUC (IC95%): 0,56 (0,34 - 0,77)

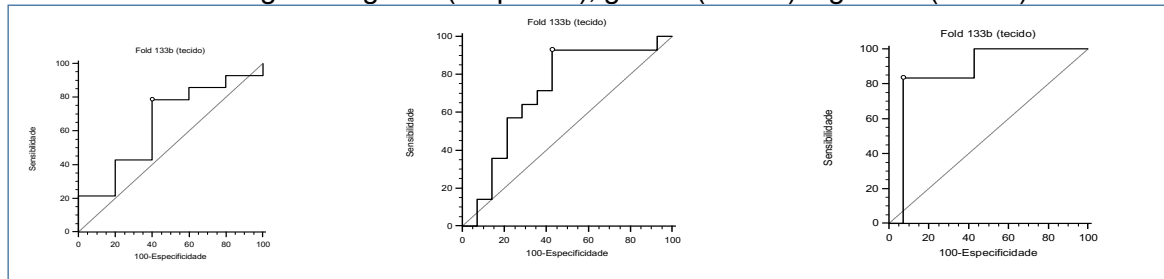
Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0007	0	0,0 - 70,8	100	71,5 - 100,0
≤0,0007	33,33	0,8 - 90,6	100	71,5 - 100,0
≤0,0012	33,33	0,8 - 90,6	90,91	58,7 - 99,8
≤0,0012	33,33	0,8 - 90,6	81,82	48,2 - 97,7
≤0,0012	33,33	0,8 - 90,6	72,73	39,0 - 94,0
≤0,0021	66,67	9,4 - 99,2	72,73	39,0 - 94,0
≤0,0042	66,67	9,4 - 99,2	63,64	30,8 - 89,1
≤0,0118	66,67	9,4 - 99,2	54,55	23,4 - 83,3
≤0,0131	100	29,2 - 100,0	54,55	23,4 - 83,3
≤0,0262	100	29,2 - 100,0	45,45	16,7 - 76,6
≤0,0303	100	29,2 - 100,0	36,36	10,9 - 69,2
≤0,0503	100	29,2 - 100,0	27,27	6,0 - 61,0
≤0,0791	100	29,2 - 100,0	18,18	2,3 - 51,8
≤0,0923	100	29,2 - 100,0	9,09	0,2 - 41,3
≤0,8532	100	29,2 - 100,0	0	0,0 - 28,5

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,76 (0,46 - 0,94)

No tecido tumoral não foram encontradas correlações clínicas entre o fold do miR-133b e a predição de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de meningioma (gráfico 20 e tabela 30).

Gráfico 20 - Curva ROC do miR-133b como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 30 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-133b expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0093	0	0,0 - 23,2	100	47,8 - 100,0
≤0,0093	7,14	0,2 - 33,9	100	47,8 - 100,0
≤0,016	14,29	1,8 - 42,8	100	47,8 - 100,0
≤0,0452	21,43	4,7 - 50,8	100	47,8 - 100,0
≤0,066	21,43	4,7 - 50,8	80	28,4 - 99,5
≤0,1187	28,57	8,4 - 58,1	80	28,4 - 99,5
≤0,1806	35,71	12,8 - 64,9	80	28,4 - 99,5
≤0,2343	42,86	17,7 - 71,1	80	28,4 - 99,5
≤0,4048	42,86	17,7 - 71,1	60	14,7 - 94,7
≤0,8481	50	23,0 - 77,0	60	14,7 - 94,7
≤1,0088	57,14	28,9 - 82,3	60	14,7 - 94,7
≤1,3377	64,29	35,1 - 87,2	60	14,7 - 94,7
≤1,3695	71,43	41,9 - 91,6	60	14,7 - 94,7
≤1,3916	78,57	49,2 - 95,3	60	14,7 - 94,7
≤1,605	78,57	49,2 - 95,3	40	5,3 - 85,3
≤2,4273	85,71	57,2 - 98,2	40	5,3 - 85,3
≤3,4937	85,71	57,2 - 98,2	20	0,5 - 71,6
≤5,7667	92,86	66,1 - 99,8	20	0,5 - 71,6
≤6,6796	92,86	66,1 - 99,8	0	0,0 - 52,2
≤41,3077	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 52,2

AUC (IC95%): 0,64 (0,39 - 0,85)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0093	0	0,0 - 23,2	100	76,8 - 100,0
≤0,0093	0	0,0 - 23,2	92,86	66,1 - 99,8
≤0,0123	7,14	0,2 - 33,9	92,86	66,1 - 99,8
≤0,0129	14,29	1,8 - 42,8	92,86	66,1 - 99,8
≤0,016	14,29	1,8 - 42,8	85,71	57,2 - 98,2
≤0,0329	21,43	4,7 - 50,8	85,71	57,2 - 98,2
≤0,0344	28,57	8,4 - 58,1	85,71	57,2 - 98,2
≤0,0364	35,71	12,8 - 64,9	85,71	57,2 - 98,2
≤0,0452	35,71	12,8 - 64,9	78,57	49,2 - 95,3
≤0,0533	42,86	17,7 - 71,1	78,57	49,2 - 95,3

...continua

Continuação

≤0,0586	50	23,0 - 77,0	78,57	49,2 - 95,3
≤0,0592	57,14	28,9 - 82,3	78,57	49,2 - 95,3
≤0,1187	57,14	28,9 - 82,3	71,43	41,9 - 91,6
≤0,1348	64,29	35,1 - 87,2	71,43	41,9 - 91,6
≤0,1806	64,29	35,1 - 87,2	64,29	35,1 - 87,2
≤0,1819	71,43	41,9 - 91,6	64,29	35,1 - 87,2
≤0,2343	71,43	41,9 - 91,6	57,14	28,9 - 82,3
≤0,2468	78,57	49,2 - 95,3	57,14	28,9 - 82,3
≤0,3171	85,71	57,2 - 98,2	57,14	28,9 - 82,3
≤0,4305	92,86	66,1 - 99,8	57,14	28,9 - 82,3
≤0,8481	92,86	66,1 - 99,8	50	23,0 - 77,0
≤1,0088	92,86	66,1 - 99,8	42,86	17,7 - 71,1
≤1,3377	92,86	66,1 - 99,8	35,71	12,8 - 64,9
≤1,3695	92,86	66,1 - 99,8	28,57	8,4 - 58,1
≤1,3916	92,86	66,1 - 99,8	21,43	4,7 - 50,8
≤2,4273	92,86	66,1 - 99,8	14,29	1,8 - 42,8
≤5,7667	92,86	66,1 - 99,8	7,14	0,2 - 33,9
≤10,2364	100	76,8 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
≤41,3077	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 23,2

AUC (IC95%): 0,71 (0,51 - 0,86)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,0123	100	54,1 - 100,0	0	0,0 - 23,2
>0,0123	100	54,1 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
>0,0129	100	54,1 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
>0,0329	100	54,1 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
>0,0344	100	54,1 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
>0,0364	100	54,1 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
>0,0533	100	54,1 - 100,0	42,86	17,7 - 71,1
>0,0586	100	54,1 - 100,0	50	23,0 - 77,0
>0,0592	100	54,1 - 100,0	57,14	28,9 - 82,3
>0,1224	83,33	35,9 - 99,6	57,14	28,9 - 82,3
>0,1348	83,33	35,9 - 99,6	64,29	35,1 - 87,2
>0,1819	83,33	35,9 - 99,6	71,43	41,9 - 91,6
>0,2468	83,33	35,9 - 99,6	78,57	49,2 - 95,3
>0,3171	83,33	35,9 - 99,6	85,71	57,2 - 98,2
>0,4305	83,33	35,9 - 99,6	92,86	66,1 - 99,8
>0,5707	66,67	22,3 - 95,7	92,86	66,1 - 99,8
>0,6543	50	11,8 - 88,2	92,86	66,1 - 99,8
>1,0626	33,33	4,3 - 77,7	92,86	66,1 - 99,8
>1,2202	16,67	0,4 - 64,1	92,86	66,1 - 99,8
>1,4314	0	0,0 - 45,9	92,86	66,1 - 99,8
>10,2364	0	0,0 - 45,9	100	76,8 - 100,0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

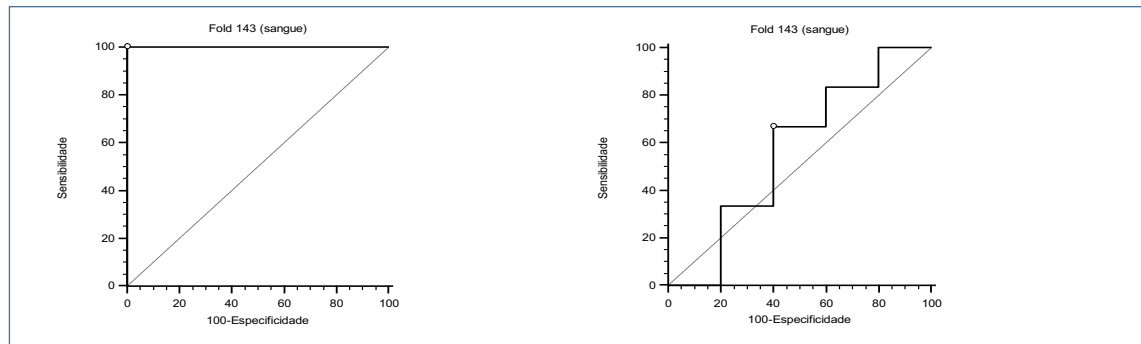
AUC (IC95%): 0,87 (0,64 - 0,98)

5.14 Estimação dos pontos de corte do micro RNA miR-143 no sangue e tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas

A curva ROC do micro RNA miR-143 no sangue demonstrou alta sensibilidade de 100% (IC:47,8-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores séricos inferiores a 0,0008, com grande área sob a curva (**AUC (IC95%): 1,00 (0,72 - 1,00)**). Seria necessário um

aumento do N para a redução do intervalo de confiança. O mesmo não pôde ser verificado na dosagem sérica nos pacientes com meningioma grau II e grau III. No grau III não foi possível a correlação devido provavelmente ao baixo tamanho amostral (gráfico 21, tabela 31).

Gráfico 21 - Curva ROC do miR-143 como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (direita).



Fonte: Elaborado pelo autor.

O grau III não foi possível de ser realizado devido ao baixo tamanho amostral

Tabela 31. Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-143 expressos no tecido sangue em pacientes meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela a baixo)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≤0,0001	60	14,7 - 94,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0004	80	28,4 - 99,5	100	54,1 - 100,0
≤0,0008	100	47,8 - 100,0	100	54,1 - 100,0
≤0,2703	100	47,8 - 100,0	83,33	35,9 - 99,6
≤0,2938	100	47,8 - 100,0	66,67	22,3 - 95,7
≤0,4439	100	47,8 - 100,0	50	11,8 - 88,2
≤1,1591	100	47,8 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
≤3,4217	100	47,8 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
≤7,1511	100	47,8 - 100,0	0	0,0 - 45,9

AUC (IC95%): 1,00 (0,72 - 1,00)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
>0,00007	66,67	22,3 - 95,7	40	5,3 - 85,3
>0,00009	66,67	22,3 - 95,7	60	14,7 - 94,7
>0,00015	50	11,8 - 88,2	60	14,7 - 94,7
>0,00016	33,33	4,3 - 77,7	60	14,7 - 94,7
>0,0004	33,33	4,3 - 77,7	80	28,4 - 99,5
>0,000490	16,67	0,4 - 64,1	80	28,4 - 99,5
>0,000498	0	0,0 - 45,9	80	28,4 - 99,5
>0,0008	0	0,0 - 45,9	100	47,8 - 100,0

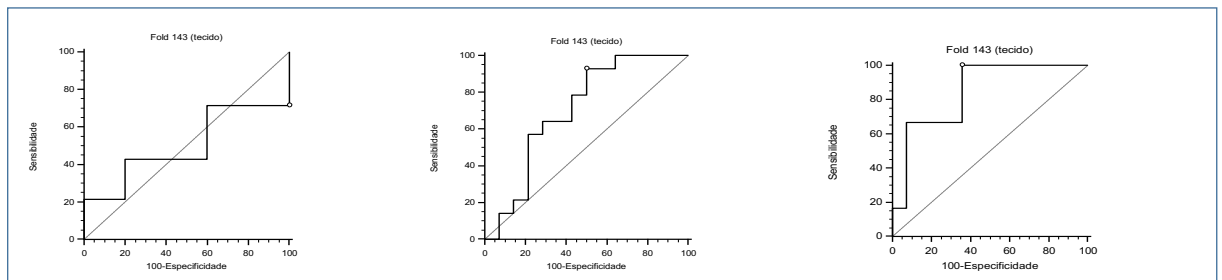
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,57 (0,25 - 0,85)

O grau III não foi possível de ser realizado devido ao baixo tamanho amostral.

No tecido tumoral não foram encontradas correlações clínicas entre o fold do miR-143 e a predição de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de meningioma (gráfico 22 e tabela 32).

Gráfico 22 - Curva ROC do miR-143 como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 32 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-143 expressos no tecido tumoral em pacientes meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,0026	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 52,2
>0,0026	92,86	66,1 - 99,8	0	0,0 - 52,2
>0,0174	85,71	57,2 - 98,2	0	0,0 - 52,2
>0,0603	78,57	49,2 - 95,3	0	0,0 - 52,2
>0,1361	71,43	41,9 - 91,6	0	0,0 - 52,2
>0,158	71,43	41,9 - 91,6	20	0,5 - 71,6
>0,2613	71,43	41,9 - 91,6	40	5,3 - 85,3
>0,2656	64,29	35,1 - 87,2	40	5,3 - 85,3
>0,3085	57,14	28,9 - 82,3	40	5,3 - 85,3
>0,7144	50	23,0 - 77,0	40	5,3 - 85,3
>1,4825	42,86	17,7 - 71,1	40	5,3 - 85,3
>1,5395	42,86	17,7 - 71,1	60	14,7 - 94,7
>1,5529	42,86	17,7 - 71,1	80	28,4 - 99,5
>3,5599	35,71	12,8 - 64,9	80	28,4 - 99,5
>4,8928	28,57	8,4 - 58,1	80	28,4 - 99,5
>5,1923	21,43	4,7 - 50,8	80	28,4 - 99,5
>10,1287	21,43	4,7 - 50,8	100	47,8 - 100,0
>10,5822	14,29	1,8 - 42,8	100	47,8 - 100,0
>26,9184	7,14	0,2 - 33,9	100	47,8 - 100,0
>38,5462	0	0,0 - 23,2	100	47,8 - 100,0

AUC (IC95%): 0,50 (0,27 - 0,73)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0026	0	0,0 - 23,2	100	76,8 - 100,0
≤0,0026	0	0,0 - 23,2	92,86	66,1 - 99,8
≤0,0041	7,14	0,2 - 33,9	92,86	66,1 - 99,8
≤0,01	14,29	1,8 - 42,8	92,86	66,1 - 99,8
≤0,0174	14,29	1,8 - 42,8	85,71	57,2 - 98,2

...continua

Continuação

≤0,0345	21,43	4,7 - 50,8	85,71	57,2 - 98,2
≤0,0603	21,43	4,7 - 50,8	78,57	49,2 - 95,3
≤0,0673	28,57	8,4 - 58,1	78,57	49,2 - 95,3
≤0,0851	35,71	12,8 - 64,9	78,57	49,2 - 95,3
≤0,1007	42,86	17,7 - 71,1	78,57	49,2 - 95,3
≤0,1076	50	23,0 - 77,0	78,57	49,2 - 95,3
≤0,1095	57,14	28,9 - 82,3	78,57	49,2 - 95,3
≤0,1361	57,14	28,9 - 82,3	71,43	41,9 - 91,6
≤0,157	64,29	35,1 - 87,2	71,43	41,9 - 91,6
≤0,2656	64,29	35,1 - 87,2	64,29	35,1 - 87,2
≤0,3085	64,29	35,1 - 87,2	57,14	28,9 - 82,3
≤0,3304	71,43	41,9 - 91,6	57,14	28,9 - 82,3
≤0,5333	78,57	49,2 - 95,3	57,14	28,9 - 82,3
≤0,7144	78,57	49,2 - 95,3	50	23,0 - 77,0
≤0,8448	85,71	57,2 - 98,2	50	23,0 - 77,0
≤0,9972	92,86	66,1 - 99,8	50	23,0 - 77,0
≤1,4825	92,86	66,1 - 99,8	42,86	17,7 - 71,1
≤3,5599	92,86	66,1 - 99,8	35,71	12,8 - 64,9
≤4,012	100	76,8 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
≤4,8928	100	76,8 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
≤5,1923	100	76,8 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
≤10,5822	100	76,8 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
≤26,9184	100	76,8 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
≤38,5462	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 23,2

AUC (IC95%): 0,70 (0,50 - 0,86)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,0041	100	54,1 - 100,0	0	0,0 - 23,2
>0,0041	100	54,1 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
>0,01	100	54,1 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
>0,0345	100	54,1 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
>0,0673	100	54,1 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
>0,0851	100	54,1 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
>0,1007	100	54,1 - 100,0	42,86	17,7 - 71,1
>0,1076	100	54,1 - 100,0	50	23,0 - 77,0
>0,1095	100	54,1 - 100,0	57,14	28,9 - 82,3
>0,157	100	54,1 - 100,0	64,29	35,1 - 87,2
>0,2418	83,33	35,9 - 99,6	64,29	35,1 - 87,2
>0,2569	66,67	22,3 - 95,7	64,29	35,1 - 87,2
>0,3304	66,67	22,3 - 95,7	71,43	41,9 - 91,6
>0,5333	66,67	22,3 - 95,7	78,57	49,2 - 95,3
>0,8448	66,67	22,3 - 95,7	85,71	57,2 - 98,2
>0,9972	66,67	22,3 - 95,7	92,86	66,1 - 99,8
>1,8451	50	11,8 - 88,2	92,86	66,1 - 99,8
>2,0085	33,33	4,3 - 77,7	92,86	66,1 - 99,8
>2,7992	16,67	0,4 - 64,1	92,86	66,1 - 99,8
>4,012	16,67	0,4 - 64,1	100	76,8 - 100,0
>7,1424	0	0,0 - 45,9	100	76,8 - 100,0

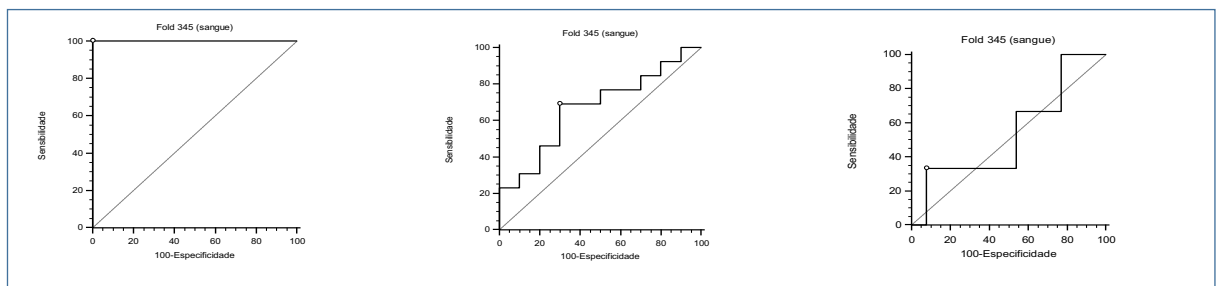
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,85 (0,62 - 0,97)

5.15 Estimação dos pontos de corte do micro RNA miR-345 no sangue e tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas

A curva ROC do micro RNA miR-345 no sangue demonstrou alta sensibilidade de 100% (IC:69,2-100%) e especificidade de 100% (IC:54,1-100%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores séricos inferiores a 0,0113 (**AUC (IC95%): 1,00 (0,79 - 1,00)**). O mesmo não pôde ser verificado na dosagem sérica nos pacientes com meningioma grau II e grau III. O grau III não foi possível fazer correlação clínica devido ao baixo tamanho amostral (gráfico 23, tabela 33).

Gráfico 23. Curva ROC do miR-345 como valor preditivo de doença no sangue em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 33 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-345 expressos no sangue em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≤0,0001	20	2,5 - 55,6	100	54,1 - 100,0
≤0,0007	30	6,7 - 65,2	100	54,1 - 100,0
≤0,0008	40	12,2 - 73,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0013	50	18,7 - 81,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0014	60	26,2 - 87,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0016	70	34,8 - 93,3	100	54,1 - 100,0
≤0,0025	80	44,4 - 97,5	100	54,1 - 100,0
≤0,004	90	55,5 - 99,7	100	54,1 - 100,0
≤0,0113	100	69,2 - 100,0	100	54,1 - 100,0
≤0,2703	100	69,2 - 100,0	83,33	35,9 - 99,6
≤0,2938	100	69,2 - 100,0	66,67	22,3 - 95,7
≤0,4439	100	69,2 - 100,0	50	11,8 - 88,2
≤1,1591	100	69,2 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
≤3,4217	100	69,2 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
≤7,1511	100	69,2 - 100,0	0	0,0 - 45,9

AUC (IC95%): 1,00 (0,79 - 1,00)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
>0,0001	92,31	64,0 - 99,8	20	2,5 - 55,6
>0,0005	84,62	54,6 - 98,1	20	2,5 - 55,6
>0,0007	84,62	54,6 - 98,1	30	6,7 - 65,2
>0,0007	76,92	46,2 - 95,0	30	6,7 - 65,2
>0,0008	76,92	46,2 - 95,0	40	12,2 - 73,8
>0,0013	76,92	46,2 - 95,0	50	18,7 - 81,3
>0,0013	69,23	38,6 - 90,9	50	18,7 - 81,3
>0,0014	69,23	38,6 - 90,9	60	26,2 - 87,8
>0,0016	69,23	38,6 - 90,9	70	34,8 - 93,3
>0,0017	61,54	31,6 - 86,1	70	34,8 - 93,3
>0,0018	53,85	25,1 - 80,8	70	34,8 - 93,3
>0,0022	46,15	19,2 - 74,9	70	34,8 - 93,3
>0,0025	46,15	19,2 - 74,9	80	44,4 - 97,5
>0,0035	38,46	13,9 - 68,4	80	44,4 - 97,5
>0,0038	30,77	9,1 - 61,4	80	44,4 - 97,5
>0,004	30,77	9,1 - 61,4	90	55,5 - 99,7
>0,0042	23,08	5,0 - 53,8	90	55,5 - 99,7
>0,0113	23,08	5,0 - 53,8	100	69,2 - 100,0
>0,027	15,38	1,9 - 45,4	100	69,2 - 100,0
>0,0308	7,69	0,2 - 36,0	100	69,2 - 100,0
>0,0374	0	0,0 - 24,7	100	69,2 - 100,0

AUC (IC95%): 0,67 (0,44 - 0,85)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≤0,0005	33,33	0,8 - 90,6	84,62	54,6 - 98,1
≤0,0007	33,33	0,8 - 90,6	76,92	46,2 - 95,0
≤0,0013	33,33	0,8 - 90,6	69,23	38,6 - 90,9
≤0,0017	33,33	0,8 - 90,6	61,54	31,6 - 86,1
≤0,0018	33,33	0,8 - 90,6	53,85	25,1 - 80,8
≤0,0022	33,33	0,8 - 90,6	46,15	19,2 - 74,9
≤0,0023	66,67	9,4 - 99,2	46,15	19,2 - 74,9
≤0,0035	66,67	9,4 - 99,2	38,46	13,9 - 68,4
≤0,0038	66,67	9,4 - 99,2	30,77	9,1 - 61,4
≤0,0042	66,67	9,4 - 99,2	23,08	5,0 - 53,8
≤0,0044	100	29,2 - 100,0	23,08	5,0 - 53,8
≤0,027	100	29,2 - 100,0	15,38	1,9 - 45,4
≤0,0308	100	29,2 - 100,0	7,69	0,2 - 36,0
≤0,0374	100	29,2 - 100,0	0	0,0 - 24,7

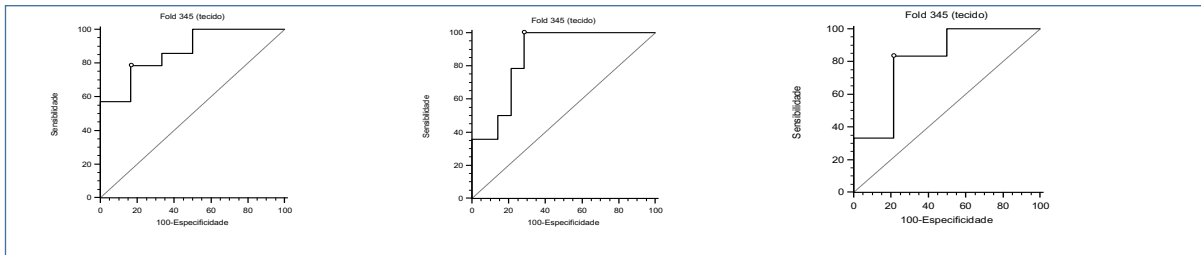
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,54 (0,28 - 0,78)

No tecido tumoral foram encontradas correlações entre o fold do miR-345 e a predição de grau de meningioma com sensibilidade e especificidade altas (gráfico 24 e tabela 34). Entretanto estes resultados devem ser vistos com cautela devido ao largo intervalo de confiança. No grau I vemos sensibilidade de 78,57% (IC:49,2-95,3%) e especificidade de 83,33% (IC:35,9-99,6%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores no tecido tumoral superiores a 1,9549, com correlação clínica (**AUC (IC95%): 0,87 (0,64 – 0,98)**). No grau II vemos sensibilidade de 100% (IC:76,8-100%) e especificidade de 71,43% (IC:41,9-91,6%) para o diagnóstico de meningioma de grau II com valores no fold do tecido tumoral inferiores a 6,0523 (**AUC (IC95%): 0,86 (0,67 – 0,96)**). Ao avaliarmos o grau III vemos

sensibilidade de 83,33% (IC:35,9-99,6%) e especificidade de 78,57% (IC:49,2-95,3%) para o diagnóstico de meningioma de grau III com valores no fold do tecido tumoral superiores a 2,1977 (**AUC (IC95%): 0,81 (0,57 – 0,95)**) (gráfico 24, tabela 34).

Gráfico 24 - Curva ROC do miR-345 como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 34 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do miR-345 expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,1885	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 45,9
>0,1885	100	76,8 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
>0,3078	100	76,8 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
>0,5223	100	76,8 - 100,0	50	11,8 - 88,2
>0,5535	92,86	66,1 - 99,8	50	11,8 - 88,2
>0,5686	85,71	57,2 - 98,2	50	11,8 - 88,2
>0,9124	85,71	57,2 - 98,2	66,67	22,3 - 95,7
>1,2055	78,57	49,2 - 95,3	66,67	22,3 - 95,7
>1,9549	78,57	49,2 - 95,3	83,33	35,9 - 99,6
>2,3277	71,43	41,9 - 91,6	83,33	35,9 - 99,6
>6,6561	64,29	35,1 - 87,2	83,33	35,9 - 99,6
>10,1561	57,14	28,9 - 82,3	83,33	35,9 - 99,6
>18,5046	57,14	28,9 - 82,3	100	54,1 - 100,0
>22,7584	50	23,0 - 77,0	100	54,1 - 100,0
>32,736	42,86	17,7 - 71,1	100	54,1 - 100,0
>38,5287	35,71	12,8 - 64,9	100	54,1 - 100,0
>46,4967	28,57	8,4 - 58,1	100	54,1 - 100,0
>51,4047	21,43	4,7 - 50,8	100	54,1 - 100,0
>99,2698	14,29	1,8 - 42,8	100	54,1 - 100,0
>144,6776	7,14	0,2 - 33,9	100	54,1 - 100,0
>163,1569	0	0,0 - 23,2	100	54,1 - 100,0

AUC (IC95%): 0,87 (0,64 - 0,98)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,1978	0	0,0 - 23,2	100	76,8 - 100,0
≤0,1978	7,14	0,2 - 33,9	100	76,8 - 100,0
≤0,4057	14,29	1,8 - 42,8	100	76,8 - 100,0
≤0,4622	21,43	4,7 - 50,8	100	76,8 - 100,0
≤0,5066	28,57	8,4 - 58,1	100	76,8 - 100,0
≤0,5223	35,71	12,8 - 64,9	100	76,8 - 100,0
≤0,5535	35,71	12,8 - 64,9	92,86	66,1 - 99,8

...continua

Continuação

≤0,5686	35,71	12,8 - 64,9	85,71	57,2 - 98,2
≤0,616	42,86	17,7 - 71,1	85,71	57,2 - 98,2
≤0,8236	50	23,0 - 77,0	85,71	57,2 - 98,2
≤1,2055	50	23,0 - 77,0	78,57	49,2 - 95,3
≤1,4708	57,14	28,9 - 82,3	78,57	49,2 - 95,3
≤1,4729	64,29	35,1 - 87,2	78,57	49,2 - 95,3
≤1,9266	71,43	41,9 - 91,6	78,57	49,2 - 95,3
≤2,1977	78,57	49,2 - 95,3	78,57	49,2 - 95,3
≤2,3277	78,57	49,2 - 95,3	71,43	41,9 - 91,6
≤4,5559	85,71	57,2 - 98,2	71,43	41,9 - 91,6
≤5,183	92,86	66,1 - 99,8	71,43	41,9 - 91,6
≤6,0523	100	76,8 - 100,0	71,43	41,9 - 91,6
≤6,6561	100	76,8 - 100,0	64,29	35,1 - 87,2
≤10,1561	100	76,8 - 100,0	57,14	28,9 - 82,3
≤22,7584	100	76,8 - 100,0	50	23,0 - 77,0
≤32,736	100	76,8 - 100,0	42,86	17,7 - 71,1
≤38,5287	100	76,8 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
≤46,4967	100	76,8 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
≤51,4047	100	76,8 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
≤99,2698	100	76,8 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
≤144,6776	100	76,8 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
≤163,1569	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 23,2

AUC (IC95%): 0,86 (0,67 - 0,96)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,1978	100	54,1 - 100,0	0	0,0 - 23,2
>0,1978	100	54,1 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
>0,4057	100	54,1 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
>0,4622	100	54,1 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
>0,5066	100	54,1 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
>0,5223	100	54,1 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
>0,616	100	54,1 - 100,0	42,86	17,7 - 71,1
>0,8236	100	54,1 - 100,0	50	23,0 - 77,0
>1,0519	83,33	35,9 - 99,6	50	23,0 - 77,0
>1,4708	83,33	35,9 - 99,6	57,14	28,9 - 82,3
>1,4729	83,33	35,9 - 99,6	64,29	35,1 - 87,2
>1,9266	83,33	35,9 - 99,6	71,43	41,9 - 91,6
>2,1977	83,33	35,9 - 99,6	78,57	49,2 - 95,3
>2,4294	66,67	22,3 - 95,7	78,57	49,2 - 95,3
>3,4823	50	11,8 - 88,2	78,57	49,2 - 95,3
>4,5334	33,33	4,3 - 77,7	78,57	49,2 - 95,3
>4,5559	33,33	4,3 - 77,7	85,71	57,2 - 98,2
>5,183	33,33	4,3 - 77,7	92,86	66,1 - 99,8
>6,0523	33,33	4,3 - 77,7	100	76,8 - 100,0
>33,7376	16,67	0,4 - 64,1	100	76,8 - 100,0
>125,9611	0	0,0 - 45,9	100	76,8 - 100,0

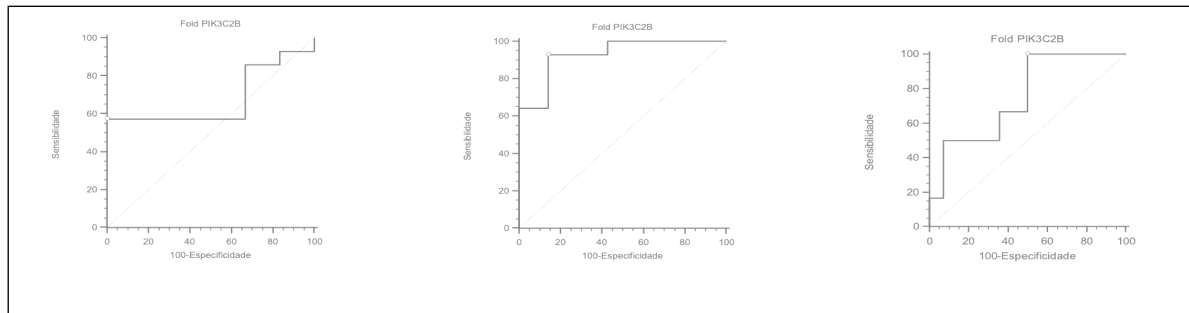
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,81 (0,57 - 0,95)

5.16 Estimação dos pontos de corte dos genes PIK3C2B, PIP5K1A e RAB3B no tecido tumoral para predição de grau I, II e III em meningiomas

Ao analisarmos o gene PIK3C2B nos graus I, II e III para meningiomas, vemos uma ausência de correlação para sensibilidade e especificidade no grau I, mas alta sensibilidade para seu diagnóstico em meningiomas grau II em valores no fold do tecido tumoral abaixo de 0,2893, com sensibilidade de 92,86% (IC: 66,1-99,8%) e especificidade de 85,71% (IC:57,2-98,2%) (**AUC (IC95%): 0,93 (0,76 – 0,99)**). O mesmo se verifica em meningiomas grau III em relação à sensibilidade para o diagnóstico, mas com valores de fold no tecido tumoral acima de 0,1103. No grupo de tumores grau III a sensibilidade encontrada foi de 100% (IC: 54,1-100%) e especificidade de 50% (IC: 23-77 %), não caracterizando boa sensibilidade ou especificidade devido ao grande intervalo de confiança (**AUC (IC95%): 0,75 (0,51 – 0,91)**). As curvas ROC e as tabelas de ponto de corte, sensibilidade e especificidade podem ser vistas respectivamente no gráfico 25 e tabela 35.

Gráfico 25 - Curva ROC do gene PIK3C2B como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 35 = Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do gene PIK3C2B expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,1688	0	0,0 - 23,2	100	54,1 - 100,0
≤0,1688	7,14	0,2 - 33,9	100	54,1 - 100,0
≤0,1971	14,29	1,8 - 42,8	100	54,1 - 100,0
≤0,2878	21,43	4,7 - 50,8	100	54,1 - 100,0
≤0,2936	28,57	8,4 - 58,1	100	54,1 - 100,0
≤0,3228	35,71	12,8 - 64,9	100	54,1 - 100,0
≤0,3452	42,86	17,7 - 71,1	100	54,1 - 100,0

...continua

Continuação

≤0,4497	50	23,0 - 77,0	100	54,1 - 100,0
≤0,5235	57,14	28,9 - 82,3	100	54,1 - 100,0
≤0,6604	57,14	28,9 - 82,3	83,33	35,9 - 99,6
≤0,7986	57,14	28,9 - 82,3	66,67	22,3 - 95,7
≤0,8401	57,14	28,9 - 82,3	50	11,8 - 88,2
≤0,869	57,14	28,9 - 82,3	33,33	4,3 - 77,7
≤1,0355	64,29	35,1 - 87,2	33,33	4,3 - 77,7
≤1,0969	71,43	41,9 - 91,6	33,33	4,3 - 77,7
≤1,1019	78,57	49,2 - 95,3	33,33	4,3 - 77,7
≤1,1109	85,71	57,2 - 98,2	33,33	4,3 - 77,7
≤1,1373	85,71	57,2 - 98,2	16,67	0,4 - 64,1
≤1,7548	92,86	66,1 - 99,8	16,67	0,4 - 64,1
≤2,2836	92,86	66,1 - 99,8	0	0,0 - 45,9
≤3,5137	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 45,9

AUC (IC95%): 0,68 (0,44 - 0,87)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0285	0	0,0 - 23,2	100	76,8 - 100,0
≤0,0285	7,14	0,2 - 33,9	100	76,8 - 100,0
≤0,0554	14,29	1,8 - 42,8	100	76,8 - 100,0
≤0,0643	21,43	4,7 - 50,8	100	76,8 - 100,0
≤0,0663	28,57	8,4 - 58,1	100	76,8 - 100,0
≤0,0735	35,71	12,8 - 64,9	100	76,8 - 100,0
≤0,0812	42,86	17,7 - 71,1	100	76,8 - 100,0
≤0,1103	50	23,0 - 77,0	100	76,8 - 100,0
≤0,1423	57,14	28,9 - 82,3	100	76,8 - 100,0
≤0,1675	64,29	35,1 - 87,2	100	76,8 - 100,0
≤0,1688	64,29	35,1 - 87,2	92,86	66,1 - 99,8
≤0,1971	64,29	35,1 - 87,2	85,71	57,2 - 98,2
≤0,2661	71,43	41,9 - 91,6	85,71	57,2 - 98,2
≤0,2736	78,57	49,2 - 95,3	85,71	57,2 - 98,2
≤0,2745	85,71	57,2 - 98,2	85,71	57,2 - 98,2
≤0,2873	92,86	66,1 - 99,8	85,71	57,2 - 98,2
≤0,2878	92,86	66,1 - 99,8	78,57	49,2 - 95,3
≤0,2936	92,86	66,1 - 99,8	71,43	41,9 - 91,6
≤0,3228	92,86	66,1 - 99,8	64,29	35,1 - 87,2
≤0,3452	92,86	66,1 - 99,8	57,14	28,9 - 82,3
≤0,4396	100	76,8 - 100,0	57,14	28,9 - 82,3
≤0,4497	100	76,8 - 100,0	50	23,0 - 77,0
≤0,5235	100	76,8 - 100,0	42,86	17,7 - 71,1
≤1,0355	100	76,8 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
≤1,0969	100	76,8 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
≤1,1019	100	76,8 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
≤1,1109	100	76,8 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
≤1,7548	100	76,8 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
≤3,5137	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 23,2

AUC (IC95%): 0,93 (0,76 - 0,99)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,0285	100	54,1 - 100,0	0	0,0 - 23,2
>0,0285	100	54,1 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
>0,0554	100	54,1 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
>0,0643	100	54,1 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
>0,0663	100	54,1 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
>0,0735	100	54,1 - 100,0	35,71	12,8 - 64,9
>0,0812	100	54,1 - 100,0	42,86	17,7 - 71,1
>0,1103	100	54,1 - 100,0	50	23,0 - 77,0
>0,1106	83,33	35,9 - 99,6	50	23,0 - 77,0
>0,1275	66,67	22,3 - 95,7	50	23,0 - 77,0
>0,1423	66,67	22,3 - 95,7	57,14	28,9 - 82,3
>0,1675	66,67	22,3 - 95,7	64,29	35,1 - 87,2

...continua

Continuação

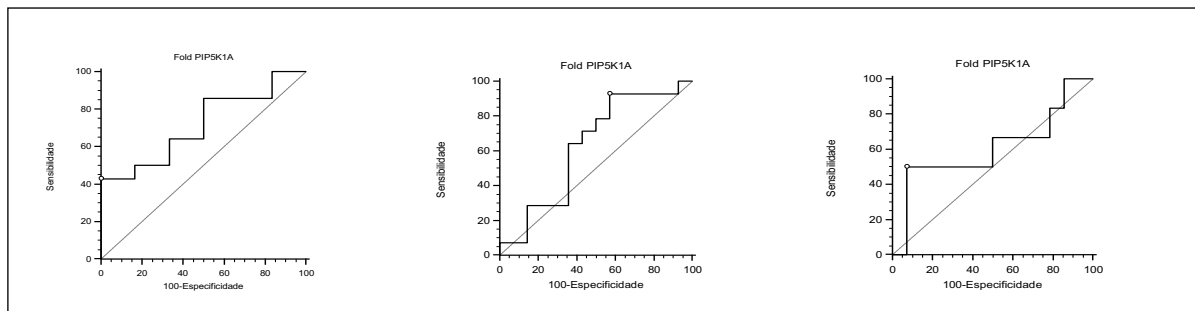
>0,1712	50	11,8 - 88,2	64,29	35,1 - 87,2
>0,2661	50	11,8 - 88,2	71,43	41,9 - 91,6
>0,2736	50	11,8 - 88,2	78,57	49,2 - 95,3
>0,2745	50	11,8 - 88,2	85,71	57,2 - 98,2
>0,2873	50	11,8 - 88,2	92,86	66,1 - 99,8
>0,3758	33,33	4,3 - 77,7	92,86	66,1 - 99,8
>0,4005	16,67	0,4 - 64,1	92,86	66,1 - 99,8
>0,4396	16,67	0,4 - 64,1	100	76,8 - 100,0
>4,4767	0	0,0 - 45,9	100	76,8 - 100,0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,75 (0,51 - 0,91)

Após a análise da expressão do fold do gene PIP5K1A nos graus I, II e III para meningiomas, vemos algumas correlações para sensibilidade e especificidade nos graus I, II e III. Encontramos uma baixa sensibilidade para o diagnóstico em meningiomas grau I, com sensibilidade de 42,86% (IC:17,1-71,1%) mas alta especificidade de 100% (IC: 54,1-100 %) para valores do fold acima de 3,2578 (**AUC (IC95%): 0,71 (0,47 – 0,89)**). Não foi visto qualquer correlação preditiva de sensibilidade ou especificidade para os tumores grau II, mas também foi encontrado especificidade de 92,86% (IC:66,1-99,8%) para os tumores grau III para valores do *fold* acima de 4,4026. As curvas ROC e as tabelas de ponto de corte, sensibilidade e especificidade para o gene PIP5K1A podem ser vistas respectivamente no gráfico 26 e tabela 36.

Gráfico 26 - Curva ROC do gene PIP5K1A como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita)



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 36 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do gene PIP5K1A expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,0487	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 45,9
>0,0487	100	76,8 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
>0,567	92,86	66,1 - 99,8	16,67	0,4 - 64,1
>0,7442	85,71	57,2 - 98,2	16,67	0,4 - 64,1
>1,0611	85,71	57,2 - 98,2	33,33	4,3 - 77,7
>1,4071	85,71	57,2 - 98,2	50	11,8 - 88,2
>1,4741	78,57	49,2 - 95,3	50	11,8 - 88,2
>1,4814	71,43	41,9 - 91,6	50	11,8 - 88,2
>1,5068	64,29	35,1 - 87,2	50	11,8 - 88,2
>1,6733	64,29	35,1 - 87,2	66,67	22,3 - 95,7
>2,1182	57,14	28,9 - 82,3	66,67	22,3 - 95,7
>2,2289	50	23,0 - 77,0	66,67	22,3 - 95,7
>2,523	50	23,0 - 77,0	83,33	35,9 - 99,6
>2,9343	42,86	17,7 - 71,1	83,33	35,9 - 99,6
>3,2578	42,86	17,7 - 71,1	100	54,1 - 100,0
>4,4286	35,71	12,8 - 64,9	100	54,1 - 100,0
>4,6096	28,57	8,4 - 58,1	100	54,1 - 100,0
>5,9216	21,43	4,7 - 50,8	100	54,1 - 100,0
>6,3964	14,29	1,8 - 42,8	100	54,1 - 100,0
>7,3003	7,14	0,2 - 33,9	100	54,1 - 100,0
>15,7185	0	0,0 - 23,2	100	54,1 - 100,0

AUC (IC95%): 0,71 (0,47 - 0,89)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,4261	0	0,0 - 23,2	100	76,8 - 100,0
≤0,4261	7,14	0,2 - 33,9	100	76,8 - 100,0
≤0,567	7,14	0,2 - 33,9	92,86	66,1 - 99,8
≤0,7442	7,14	0,2 - 33,9	85,71	57,2 - 98,2
≤0,8153	14,29	1,8 - 42,8	85,71	57,2 - 98,2
≤1,0269	21,43	4,7 - 50,8	85,71	57,2 - 98,2
≤1,4258	28,57	8,4 - 58,1	85,71	57,2 - 98,2
≤1,4741	28,57	8,4 - 58,1	78,57	49,2 - 95,3
≤1,4814	28,57	8,4 - 58,1	71,43	41,9 - 91,6
≤1,5068	28,57	8,4 - 58,1	64,29	35,1 - 87,2
≤1,5111	35,71	12,8 - 64,9	64,29	35,1 - 87,2
≤1,6466	42,86	17,7 - 71,1	64,29	35,1 - 87,2
≤1,6654	50	23,0 - 77,0	64,29	35,1 - 87,2
≤2,0616	57,14	28,9 - 82,3	64,29	35,1 - 87,2
≤2,112	64,29	35,1 - 87,2	64,29	35,1 - 87,2
≤2,1182	64,29	35,1 - 87,2	57,14	28,9 - 82,3
≤2,1208	71,43	41,9 - 91,6	57,14	28,9 - 82,3
≤2,2289	71,43	41,9 - 91,6	50	23,0 - 77,0
≤2,2897	78,57	49,2 - 95,3	50	23,0 - 77,0
≤2,9343	78,57	49,2 - 95,3	42,86	17,7 - 71,1
≤3,235	85,71	57,2 - 98,2	42,86	17,7 - 71,1
≤4,4026	92,86	66,1 - 99,8	42,86	17,7 - 71,1
≤4,4286	92,86	66,1 - 99,8	35,71	12,8 - 64,9
≤4,6096	92,86	66,1 - 99,8	28,57	8,4 - 58,1
≤5,9216	92,86	66,1 - 99,8	21,43	4,7 - 50,8
≤6,3964	92,86	66,1 - 99,8	14,29	1,8 - 42,8
≤7,3003	92,86	66,1 - 99,8	7,14	0,2 - 33,9
≤10,0757	100	76,8 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
≤15,7185	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 23,2

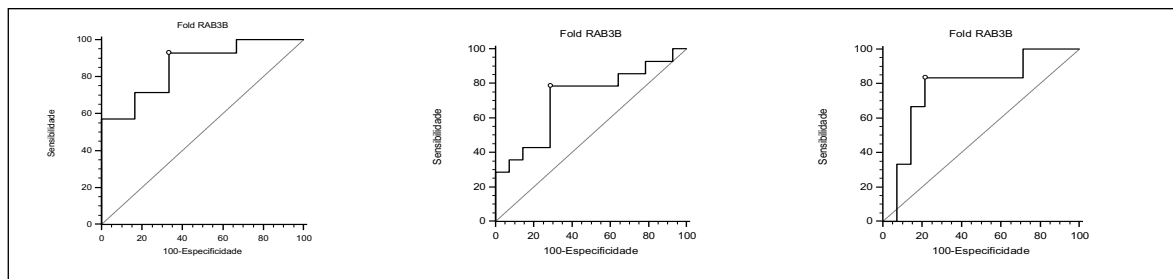
AUC (IC95%): 0,63 (0,43 - 0,80)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,4261	100	54,1 - 100,0	0	0,0 - 23,2
>0,4261	100	54,1 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
>0,8153	100	54,1 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
>0,929	83,33	35,9 - 99,6	14,29	1,8 - 42,8
>1,0269	83,33	35,9 - 99,6	21,43	4,7 - 50,8
>1,076	66,67	22,3 - 95,7	21,43	4,7 - 50,8
>1,4258	66,67	22,3 - 95,7	28,57	8,4 - 58,1
>1,5111	66,67	22,3 - 95,7	35,71	12,8 - 64,9
>1,6466	66,67	22,3 - 95,7	42,86	17,7 - 71,1
>1,6654	66,67	22,3 - 95,7	50	23,0 - 77,0
>1,7252	50	11,8 - 88,2	50	23,0 - 77,0
>2,0616	50	11,8 - 88,2	57,14	28,9 - 82,3
>2,112	50	11,8 - 88,2	64,29	35,1 - 87,2
>2,1208	50	11,8 - 88,2	71,43	41,9 - 91,6
>2,2897	50	11,8 - 88,2	78,57	49,2 - 95,3
>3,235	50	11,8 - 88,2	85,71	57,2 - 98,2
>4,4026	50	11,8 - 88,2	92,86	66,1 - 99,8
>6,2069	33,33	4,3 - 77,7	92,86	66,1 - 99,8
>6,3454	16,67	0,4 - 64,1	92,86	66,1 - 99,8
>8,3682	0	0,0 - 45,9	92,86	66,1 - 99,8
>10,0757	0	0,0 - 45,9	100	76,8 - 100,0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.
AUC (IC95%): 0,61 (0,37 - 0,81)

Em última análise, avaliamos a expressão do fold do gene RAB3B nos graus I, II e III para meningiomas. Encontramos uma alta sensibilidade para seu diagnóstico em meningiomas grau I de 92,86% (IC:66,1-99,8%) e especificidade de 66,67% (IC: 22,3-95,7%) (**AUC (IC95%): 0,86 (0,63 – 0,87)**), para valores do fold no tumor abaixo de 0,464. Não foi visualizada qualquer correlação preditiva de sensibilidade ou especificidade para os tumores grau II e III. As curvas ROC e as tabelas de ponto de corte, sensibilidade e especificidade para o gene RAB3B podem ser vistas respectivamente no gráfico 27 e tabela 37.

Gráfico 27 - Curva ROC do gene RAB3B como valor preditivo de doença no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (esquerda), grau II (centro) e grau III (direita).



Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Tabela 37 - Ponto de corte, sensibilidade e especificidade do gene RAB3B expressos no tecido tumoral em pacientes com meningiomas grau I (tabela acima), grau II (tabela ao centro) e grau III (tabela abaixo), respectivamente.

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0148	0	0,0 - 23,2	100	54,1 - 100,0
≤0,0148	7,14	0,2 - 33,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0204	14,29	1,8 - 42,8	100	54,1 - 100,0
≤0,022	21,43	4,7 - 50,8	100	54,1 - 100,0
≤0,0236	28,57	8,4 - 58,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0516	35,71	12,8 - 64,9	100	54,1 - 100,0
≤0,0522	42,86	17,7 - 71,1	100	54,1 - 100,0
≤0,0938	50	23,0 - 77,0	100	54,1 - 100,0
≤0,1256	57,14	28,9 - 82,3	100	54,1 - 100,0
≤0,132	57,14	28,9 - 82,3	83,33	35,9 - 99,6
≤0,1435	64,29	35,1 - 87,2	83,33	35,9 - 99,6
≤0,1619	71,43	41,9 - 91,6	83,33	35,9 - 99,6
≤0,2362	71,43	41,9 - 91,6	66,67	22,3 - 95,7
≤0,296	78,57	49,2 - 95,3	66,67	22,3 - 95,7
≤0,3357	85,71	57,2 - 98,2	66,67	22,3 - 95,7
≤0,464	92,86	66,1 - 99,8	66,67	22,3 - 95,7
≤0,5235	92,86	66,1 - 99,8	50	11,8 - 88,2
≤0,5713	92,86	66,1 - 99,8	33,33	4,3 - 77,7
≤0,6556	100	76,8 - 100,0	33,33	4,3 - 77,7
≤10,3129	100	76,8 - 100,0	16,67	0,4 - 64,1
≤10,3978	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 45,9

AUC (IC95%): 0,86 (0,63 - 0,97)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
<0,0059	0	0,0 - 23,2	100	76,8 - 100,0
≤0,0059	7,14	0,2 - 33,9	100	76,8 - 100,0
≤0,0104	14,29	1,8 - 42,8	100	76,8 - 100,0
≤0,0143	21,43	4,7 - 50,8	100	76,8 - 100,0
≤0,0148	28,57	8,4 - 58,1	100	76,8 - 100,0
≤0,0148	28,57	8,4 - 58,1	92,86	66,1 - 99,8
≤0,0188	35,71	12,8 - 64,9	92,86	66,1 - 99,8
≤0,0204	35,71	12,8 - 64,9	85,71	57,2 - 98,2
≤0,0212	42,86	17,7 - 71,1	85,71	57,2 - 98,2
≤0,022	42,86	17,7 - 71,1	78,57	49,2 - 95,3
≤0,0236	42,86	17,7 - 71,1	71,43	41,9 - 91,6
≤0,0307	50	23,0 - 77,0	71,43	41,9 - 91,6
≤0,0322	57,14	28,9 - 82,3	71,43	41,9 - 91,6
≤0,0378	64,29	35,1 - 87,2	71,43	41,9 - 91,6
≤0,0382	71,43	41,9 - 91,6	71,43	41,9 - 91,6
≤0,0402	78,57	49,2 - 95,3	71,43	41,9 - 91,6
≤0,0516	78,57	49,2 - 95,3	64,29	35,1 - 87,2
≤0,0522	78,57	49,2 - 95,3	57,14	28,9 - 82,3
≤0,0938	78,57	49,2 - 95,3	50	23,0 - 77,0
≤0,1256	78,57	49,2 - 95,3	42,86	17,7 - 71,1
≤0,1435	78,57	49,2 - 95,3	35,71	12,8 - 64,9
≤0,1481	85,71	57,2 - 98,2	35,71	12,8 - 64,9
≤0,1619	85,71	57,2 - 98,2	28,57	8,4 - 58,1
≤0,296	85,71	57,2 - 98,2	21,43	4,7 - 50,8
≤0,3057	92,86	66,1 - 99,8	21,43	4,7 - 50,8
≤0,3357	92,86	66,1 - 99,8	14,29	1,8 - 42,8
≤0,464	92,86	66,1 - 99,8	7,14	0,2 - 33,9
≤0,5191	100	76,8 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
≤0,6556	100	76,8 - 100,0	0	0,0 - 23,2

AUC (IC95%): 0,71 (0,51 - 0,87)

Ponto de corte	Sensibilidade	IC (95%)	Especificidade	IC (95%)
≥0,0059	100	54,1 - 100,0	0	0,0 - 23,2
>0,0059	100	54,1 - 100,0	7,14	0,2 - 33,9
>0,0104	100	54,1 - 100,0	14,29	1,8 - 42,8
>0,0143	100	54,1 - 100,0	21,43	4,7 - 50,8
>0,0148	100	54,1 - 100,0	28,57	8,4 - 58,1
>0,016	83,33	35,9 - 99,6	28,57	8,4 - 58,1
>0,0188	83,33	35,9 - 99,6	35,71	12,8 - 64,9
>0,0212	83,33	35,9 - 99,6	42,86	17,7 - 71,1
>0,0307	83,33	35,9 - 99,6	50	23,0 - 77,0
>0,0322	83,33	35,9 - 99,6	57,14	28,9 - 82,3
>0,0378	83,33	35,9 - 99,6	64,29	35,1 - 87,2
>0,0382	83,33	35,9 - 99,6	71,43	41,9 - 91,6
>0,0402	83,33	35,9 - 99,6	78,57	49,2 - 95,3
>0,0836	66,67	22,3 - 95,7	78,57	49,2 - 95,3
>0,1481	66,67	22,3 - 95,7	85,71	57,2 - 98,2
>0,1554	50	11,8 - 88,2	85,71	57,2 - 98,2
>0,157	33,33	4,3 - 77,7	85,71	57,2 - 98,2
>0,3057	33,33	4,3 - 77,7	92,86	66,1 - 99,8
>0,3383	16,67	0,4 - 64,1	92,86	66,1 - 99,8
>0,4194	0	0,0 - 45,9	92,86	66,1 - 99,8
>0,5191	0	0,0 - 45,9	100	76,8 - 100,0

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

AUC (IC95%): 0,77 (0,53 - 0,93)

6. DISCUSSÃO

É indiscutível a importância da compreensão dos genes para a avaliação da tumorigênese e progressão de grau em câncer e tumores benignos no sistema nervoso central. A prevalência de meningiomas, constituindo em torno de 40 % dos tumores no sistema nervoso central e até 54 % dos tumores não malignos desta localização torna imperativo uma melhor compreensão das vias de sinalização tumorais dos meningiomas. O primeiro “insight” genético de sua formação veio através da constatação de que mutações alélicas, inativações alélicas ou mesmo perdas do NF2 (gene supressor tumoral, cujo produto é a proteína merlina) está presente em 40 a 60 % dos meningiomas esporádicos, sendo que até 75 % dos pacientes desenvolvem 1 ou mais meningiomas em perdas do NF2 (RAGEL; JENSEN, 2005). A proteína merlina auxilia na adesão celular, se encontrando ativa em muitas vias de sinalização tumoral, atuando como supressor tumoral, sendo que sua perda é responsável pela proliferação tumoral e celular. Mais recentemente, várias mutações somáticas adicionais foram identificadas através da abordagem de sequenciamento de próxima geração. Estas podem ocorrer sem mutações simultâneas no gene NF2 e são mutações de inserções e deleções no nível de nucleotídeo único, podendo inclusive apresentar sobreposição de mutações ou “*overlap*”. Dentre as mutações somáticas encontradas na ausência de mutações de NF2, temos mutações no TRAF 7 (TNF Receptor Associated Factor 7) situado no braço curto do cromossomo 16 (16p13) , um fator pró-apoptótico relacionado a tumorigênese, o KLF 4 (Kruppel Like Factor 4) (BI *et al.*, 2016), gene situado no cromossomo 9 (9q31) cujo produto promove a reprogramação celular do seu estado somático diferenciado para o estado pluripotente e o gene SMO responsável pela produção da proteína *Smothered* (proteína do tipo receptor acoplada à proteína G) (RUIZ-GÓMEZ *et al.*, 2007) da via de sinalização Hedgehog, presente no cromossomo 7. O outro gene encontrado no cromossomo 14 é o AKT1, gene da família das tirosino quinases que também pode se encontrar mutado em até 14% dos meningiomas grau I (BI *et al.*, 2016) e o PIK3C2B (phosphatidylinositol-4-phosphate 3-kinase, catalytic subunit type 2 beta) que codifica proteínas da família fosfatil inositol 3 quinase, localizado no cromossomo 1 e importante na proliferação celular, transformação oncogênica, sobrevivência celular e migração celular encontrado com mutações em tumores pediátricos do SNC, meduloblastomas e gliomas de alto grau e encontrando-se também relacionados a

esta via de sinalização desregulação pós-transcricionais em meningiomas de alto grau, com vários componentes da sinalização MAPK/PI3K alvos de miRNAs desregulados, incluindo GRB2, RAF1, MAPK8, TGFBR1 e quinase ubíqua de hélice-alça-hélice conservada (CHUK; validado) ou PIK3C2B (previsto) (LUDWIG *et al.*, 2015).

Além das mutações pontuais podemos encontrar variações em números de cópias de cromossomos diferentes de monossomia do cromossomo 22 (localização do gene NF2), especialmente aquelas relacionadas ao ganho de função ou perda de função nos cromossomos 1 e 14, aparentemente relacionadas à progressão de grau: em meningiomas grau II e grau III, respectivamente, ganhos no número de cópias de 45 a 60 % e 75 a 100 % em 1 p, com perdas em ambos de 30 a 50 % em 1q e com perdas de cópias em 40 a 60% e 60 a 100% em meningiomas grau II e III, respectivamente no cromossomo 14q (BI *et al.*, 2016a). A perda do braço curto do cromossomo 1 associada à gênese de meningioma atípico ou grau I, representa a segunda anomalia cromossômica mais comum observado neste tumor (LOMAS *et al.*, 2001; LOPEZ-GINES *et al.*, 2004; NUNES *et al.*, 2005) e os genes do cromossomo 1 diferencialmente expressos é o objeto de estudo de nossa análise nesta tese. Após a avaliação dos genes diferencialmente expressos em nossa casuística, encontramos o PIK3C2B, assim como o PIP5K1A diferencialmente expressos, ambos os genes da via de sinalização da tirosino quinase (PI3K-AKT). O gene PI3KC2B já se encontra validado para o subtipo meningotelial, sendo demonstrada sua desregulação e sua correlação com micro RNAs que podem atuar em sua expressão contribuindo para a proliferação e regulação da apoptose em meningiomas malignos (BI *et al.*, 2017; DU *et al.*, 2015). O produto do gene PIK3C2B se liga à proteína GRB2 no citoplasma e é translocada ao receptor do fator epidérmico após ativação. In vitro sugere-se que o EGFR-GRB2 e PIK3C2B formam um complexo após a fosforilação do EGFR, na presença do GRB2, não sendo evidenciado associação significativa com o EGFR não fosforilado (DAS *et al.*, 2007). A Angiogênese nos meningiomas é promovida pela hiperexpressão do VEGF, um gene alvo validado do micro RNA mir-195, em vários meningiomas grau I (10 vezes mais hiperexpresso em meningiomas meningoteliais que em meningiomas fibroblásticos) sendo ainda mais hiperexpressos em meningiomas de alto grau (LAMSZUS *et al.*, 2000). Evidências demonstram que as proteínas PI3Ks (PIK3C2A, PIK3C2B, PIK3C2G) exibem uma forte resistência à inibição farmacológica por inibidores pan PI3K, como *wortmannin*, sendo essencial a

busca de *targets* inibitórios desta via. O aumento do trifosfato PIP3 na cascata de sinalização da AKT estimula o mTOR (*mamalian target of rapamycin*) com estímulo da proliferação celular, e o estímulo do EGFR (endotelial growth factor receptor) hiperexpresso em meningiomas, demonstram aumentar a produção de PIK3C2B (MARGARIA *et al.*, 2019). Neurônios também parecem aumentar sua sobrevivência quando intersectinas (proteínas multimodais reguladoras de endocitose) se ligam a via de sinalização da PI3KC2B-AKT, sugerindo que sua ligação poderia ativar a via da tirosino quinase aumentando sua sobrevivência, podendo também ser um *target* sugerido para sua possível regulação (DAS *et al.*, 2007). Dentre os meningiomas graus I e II verificados em nossas amostras, verifica-se, de forma significativa ($p: 0,001$), uma diferença estimada de expressão do gene PIK3C2B de 1,534 (IC:0,618-2,449), sendo desta forma, mais expresso em meningiomas grau I do que grau II, seguindo uma tendência de queda em direção ao grau III, mas sem significância estatística. Desta forma sua expressão em meningiomas pode sugerir uma importante via de sinalização tumoral dentro da cascata da tirosino quinase em meningiomas grau I, preferencialmente.

Em relação a diferença de expressão do PIK3C2B entre meningiomas grau I e III ou II e III, observa-se uma tendência de queda, mas estatisticamente não significativa (tabela 13). Não é possível estabelecer pontos de corte para sensibilidade e especificidade adequadas mediante a amplitude do IC entre graus I e III e II e III. O gene PI3KC2B, sugere ser sensível (sensibilidade de 79,41%, IC: 62,1-91,3%) para valores do fold abaixo de 0,5235, mas apresenta baixa especificidade. Ao analisarmos o gene PIK3C2B nos graus I, II e III para meningiomas, vemos uma ausência de correlação para sensibilidade e especificidade no grau I, mas alta sensibilidade para seu diagnóstico em meningiomas grau II em valores no fold do tecido tumoral abaixo de 0,2893, com sensibilidade de 92,86% (IC: 66,1-99,8%) e especificidade de 85,71% (IC:57,2-98,2%) (**AUC (IC95%): 0,93 (0,76 – 0,99)**). O mesmo se verifica em meningiomas grau III em relação à sensibilidade para o diagnóstico, mas com valores de fold no tecido tumoral acima de 0,1103. No grupo de tumores grau III a sensibilidade encontrada foi de 100% (IC: 54,1-100%) e especificidade de 50% (IC: 23-77 %), não podendo definir alta sensibilidade ou especificidade devido ao grande intervalo de confiança (**AUC (IC95%): 0,75 (0,51 – 0,91)**). As curvas ROC e as tabelas de ponto de corte, sensibilidade e especificidade podem ser vistas respectivamente no gráfico 25 e tabela 35 para determinação de grau tumoral.

A inibição do PIK3C2B em modelo animal com miopatia miotubular demonstrou também uma melhora de função da célula muscular e um aumento de sobrevivência celular, através da demonstração de que através do *knockout* do PIK3C2B reverteu-se por completo a miopatia, através da hipótese de que a redução do PIP3 poderia reverter a doença (SABHA *et al.*, 2016). Tais evidências demonstram a importância desta via na análise do gene PIK3C2B para a avaliação da tumorigênese e proliferação celular em meningiomas, com possíveis targets terapêuticos futuros para pesquisa.

Os micro RNAs são pequenos RNAs não codificantes, conservados ao longo da evolução, capazes de regular a expressão gênica através da degradação ou repressão da tradução de moléculas-alvo de RNA mensageiro, com diversas evidências de que vários micro RNAs podem ter influência na expressão do gene PIK3C2B. Ao avaliar a associação epigenética de micro RNAs na via de sinalização PI3K/AKT/mTOR em câncer gástrico, por exemplo, vê-se uma associação de aumento de expressão dos micro-RNAs miR-31, miR-937, miR-630, miR-203 e miR-125b, todos aumentando a expressão de PIP3 via PI3K assim como a presença do miR-125a hiperexpresso aumentando a expressão do gene AKT (FATTAHI *et al.*, 2020).

De forma semelhante, observa-se que o micro RNA miR-125b relaciona-se com a expressão de PI3K, e encontra-se hipoexpresso em câncer metastático de cólon, aumentando a sinalização das vias da PI3K-AKT-mTOR em conjunto com a via de sinalização do EGFR-KRAS-BRAF-MEK-ERK quinase (WANG *et al.*, 2015). Alternativamente, o miR-125a-5p foi regulado negativamente em tecidos e linhagens celulares de câncer cervical uterino e inibiu a proliferação celular e a invasão de células cancerígenas cervicais. O miR-125a-5p foi direcionado diretamente e downregulou pós-transcricionalmente o GALNT7 que foi fortemente regulado positivamente em tecidos e linhas celulares de câncer cervical. Semelhante ao efeito do imitador de miR-125a-5p, o silenciamento de GALNT7 inibiu a proliferação e a invasão de células de câncer cervical. Além disso, a superexpressão de miR-125a-5p pode neutralizar a proliferação e invasão celular induzida por GALNT7 e EGF. GALNT7 promoveu a proliferação e invasão celular ativando a via EGFR/PI3K/AKT quinase, que pode ser diminuída pelos inibidores das quinases. Além disso, o papel do miR-125a-5p inibiu a formação de tumores no câncer cervical suprimindo a expressão de GALNT7 *in vivo* (CAO *et al.*, 2020), podendo sugerir uma via alternativa para meningiomas não invasivos ou de comportamento mais benigno.

Em nossa casuística, o micro RNA miR-125a-5p se mostrou como um promissor marcador diagnóstico em meningiomas em nossa casuística, evidenciando que a sua expressão sérica num valor abaixo do fold 0,052 apresenta sensibilidade de 100 % (IC: 85,8-100%) e especificidade de 100 % (IC: 54,1-100%) para o diagnóstico de meningiomas no sangue (Gráfico 6 e tabela 16). Seria necessário, entretanto, um aumento do N para avaliarmos melhor a especificidade. Ao serem avaliadas as expressões dos micro RNAs no tecido tumoral entre os diferentes graus de meningiomas, verifica-se, de forma significativa, uma diferença estimada de -19,618 do miR-125a-5p entre o grau II e grau III, com valor de p de 0,038 (Tabela 14). Isto evidencia com significância estatística, que a expressão do fold de miR-125a-5p no tecido tumoral é 19,6 vezes maior no meningioma grau III do que no grau II, sugerindo também sua correlação com o grau histológico. Essa tendência parece ser progressiva do grau I ao grau III, mas não foi encontrada significância estatística para essa confirmação (grau I vs grau II com diferença estimada de 11,907 e p:0,128; grau I vs grau III com diferença estimada de -7,711 e p de 0,599).

Outro micro RNA encontrado hipoexpresso nas amostras séricas de pacientes com meningiomas da nossa base de dados é o miR-133b, e alguns dados da literatura demonstram que na presença de sua hiperexpressão evidencia-se uma supressão importante da PIK3, da p-AKT (AKT fosforilada) e da p-mTOR nas células de carcinoma hepatocelular, estando associada ao aumento da sobrevida de pacientes com carcinoma hepatocelular após hepatectomia curativa (WANG *et al.*, 2017). Tal constatação poderia sugerir que sua hipoexpressão estaria envolvida por uma via semelhante a uma redução da supressão da via de sinalização da PIK3, com estímulo da diferenciação celular tumoral em meningiomas. Vê-se já na análise descritiva em nossa casuística, uma tendência de hipoexpressão do miR-133b do tecido tumoral em meningiomas e inclusive em sua progressão de grau, mas sem significância estatística. A curva ROC também evidenciou a possibilidade do miR-133b como marcador diagnóstico sérico em meningiomas, com sensibilidade de 96% (IC: 79,6-99,9 %) e especificidade de 100 % (IC:39,8-100%) em valores séricos abaixo de 0,4198 (gráfico 7 e tabela 17).

Outro gene encontrado com hiperexpressão aparente no banco de dados de nossos meningiomas foi o PIP5K1A, ou Homo sapiens phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase, tipo I, alpha. A análise do gene PIP5K1A mostra hiperexpressão relativa em meningiomas em relação aos controles, sem significância

estatística, com OR de 1,9, com valor de p de 0,282 (IC:0,590-6,129) (Tabela 11). Em nossa casuística, o gene PIP5K1A, sugere ser pouco sensível (sensibilidade de 32.35%, IC: 17,4-50,5%) para valores do fold acima de 3,2578, mas apresenta alta especificidade de 100% (IC:54,1-100%) acima deste valor. Para uma melhor avaliação seriam necessários estudos de metanálise ou um aumento do N (número de casos e principalmente de controles), visando reduzir o intervalo de confiança.

Este gene está relacionado de forma genérica com a via de sinalização da PI3K, e não encontramos na literatura vigente uma correlação direta da sua hiperexpressão com os meningiomas, entretanto, vemos seu aumento de expressão em gliomas cerebrais, através da progressão de gliomas cerebrais via regulação positiva da TCF12/PI3K/AKT (ZHENG *et al.*, 2021). A fosfatidil inositol 5 quinase está envolvida em uma variedade de processos celulares, como a organização do citoesqueleto, adesão celular, migração e fagocitose. Os fosfoinosítídeos agem como reguladores de funções múltiplas no SNC em processos fisiológicos e de doenças, e entre os genes encontrados temos a PIK3C2 A/B/G e a PIP5K 1A/1B/1C (RAGHU *et al.*, 2019). O metabolismo e a função dos fosfoinosítídeos são mediados por enzimas e proteínas que são conservadas na evolução, e a análise de nocautes destes em modelos animais implicam esse sistema de sinalização na função neural. Mais recentemente, com o advento da análise do genoma humano, mutações em genes que codificam componentes da via de sinalização de fosfoinosítídeos foram implicadas em doenças humanas. Os fosfoinosítídeos são lipídios de membrana celular de baixa abundância gerados pela fosforilação no grupo inositol cabeça de fosfatidilinositol. Historicamente, os estudos sobre o tecido cerebral tiveram um papel importante na descoberta dessas moléculas. O grupo de cabeça mio-inositol do fosfatidilinositol lipídico (PI) pode ser fosforilado seletivamente nas posições 3, 4 e 5 para gerar sete espécies únicas. Estes incluem três monofosfatos - fosfatidilinositol 3 fosfato (PI3P), fosfatidilinositol 4 fosfato (PI4P) e fosfatidilinositol 5 fosfato (PI5P); três bifosfatos-fosfatidilinositol 4,5 bifosfato [PI(4,5)P₂], fosfatidilinositol 3,5 bifosfato [PI(3,5)P₂] e fosfatidilinositol 3,4 bifosfato [PI(3,4)P₂] e um único trifosfato-fosfatidilinositol 3,4,5 trifosfato [PI(3,4,5)P₃]. Do ponto de vista da biologia celular, é importante ter em mente que, sendo lipídios, os fosfoinosítídeos não são livremente difusíveis no citoplasma aquoso. Portanto, eles são espacialmente restritos à membrana na qual são produzidos e podem se mover entre os compartimentos intracelulares por transporte vesicular ou pela ação de proteínas transportadoras de

lipídios (COCKCROFT; RAGHU, 2018). Essas enzimas são seletivas em dois aspectos: (i) são específicas para a molécula de substrato na qual irão atuar: por exemplo, uma quinase lipídica pode atuar apenas em PI5P, mas não em PI4P; (ii) são específicas para o grupo OH no mio-anel de inositol no qual eles adicionarão o grupo fosfato: por exemplo, uma enzima que adicionará apenas um fosfato na posição 4, mas não na posição 5. As propriedades dessas enzimas e o enorme corpo de análise experimental delas foram abordados em uma excelente e detalhada revisão (SASAKI *et al.*, 2009).

Com relação à função das células neurais, PI3P pode ser particularmente importante na regulação dos níveis de receptores de superfície celular para neurotransmissores, ou para o controle da autofagia, que se acredita ser um processo chave em andamento nos neurônios que é relevante para a neurodegeneração (MENZIES *et al.*, 2017). Em neurônios hipocámpais de camundongos, o PI3P foi localizado em dendritos, axônios e parcialmente em sinapses (WANG; BUDOLFSON; WANG, 2011). O *pool* endossomal inicial de PI3P está envolvido no agrupamento pós-sináptico de receptores GABA, regulando assim a força das sinapses pós-inibitórias em neurônios do hipocampo cultivados (PAPADOPOULOS *et al.*, 2017). A depleção de Vps34, a enzima chave na geração de PI3P, em regiões cerebrais selecionadas resulta em degeneração neuronal e gliose reativa que parecem estar associadas a defeitos no sistema endossomal, mas não a alterações na autofagia (WANG; BUDOLFSON; WANG, 2011; ZHOU *et al.*, 2010). A depleção de Vps34 nas células de Schwann, a glia do sistema nervoso periférico, resulta em mielinização defeituosa associada a alteração do sistema endossomal e autofagia (LOGAN *et al.*, 2017). Finalmente, descobriu-se que PI3P é seletivamente deficiente nos cérebros de pacientes humanos com doença de Alzheimer (MOREL *et al.*, 2013) e modelos de camundongos da doença de Alzheimer com defeitos associados na rede endossomal-lisossomal (NIXON, 2017).

Há informações limitadas disponíveis sobre o papel do PI5P nos neurônios. In vitro *knock down* ou inibição farmacológica da isoforma PIP4K, PIP4K2C é relatado para reduzir os agregados de proteína huntingtina mutante aumentando a autofagia basal, sugerindo que a quinase poderia ser um alvo potencial para o tratamento da doença de Huntington neurodegenerativa progressiva (AL-RAMAHI *et al.*, 2017). Mutantes de *Drosófila* com níveis elevados de PI5P foram relatados como tendo defeitos no compartimento endossomal inicial dos neurônios (KAMALESH *et*

al., 2017). Também foi relatado recentemente que a depleção de PIP4K2C resulta em defeitos na reciclagem de Notch para a superfície da célula (ZHENG; CONNER, 2018), uma vez que Notch é um regulador chave da neurogênese, esses achados podem implicar um papel para PI5P, o substrato de PIP4K2C no desenvolvimento do cérebro. Coletivamente, essas observações sugerem um papel para PI5P na regulação do transporte de membrana em células neurais que ainda não foi totalmente compreendido. A expressão gênica em tecidos humanos e tipos de células é regulada diferencialmente dependendo do estágio de desenvolvimento, tipo de tecido, tipo de célula e, em alguns casos, é alterada em condições específicas de doença. Além dos mecanismos genéticos centrais, a expressão gênica também é controlada epigeneticamente. Processos pós-transcricionais podem alterar os níveis de transcritos e o controle da tradução e a estabilidade proteica também podem afetar os níveis de proteínas no sistema nervoso. O padrão espacial e temporal da expressão gênica muitas vezes pode fornecer uma visão sobre a função potencial de um gene.

O gene RAB3B (RAB3B, Membro RAS Oncogene Family) é um gene codificador de proteínas. Entre suas vias relacionadas estão metabolismo de proteínas e via de autofagia. As anotações de Gene Ontology (GO) relacionadas a este gene incluem ligação de GTP e ligação de GDP. Em nossa casuística vemos que este gene se encontra downregulado no comparativo entre tumores e amostras de aracnóide. RAB3 consiste em 4 isoformas, RAB3A, RAB3B, RAB3C e RAB3D. A expressão proteica estimada do site Genecard indica que RAB3A e RAB3B são predominantemente expressos em sistemas neurais e células neuroendócrinas, enquanto RAB3D está presente principalmente em tecidos não neurais. O RAB3B, um membro da família Rab é uma proteína de ligação ao GTP de baixo peso molecular que tem sido implicada na regulação da exocitose. Vários artigos na literatura correlacionam a via de sinalização da RAS/Raf/MEK/ Erk quinase a câncer em geral (acima de 150 mil artigos na base de dados do pubmed) e vários correlacionam a expressão diferencial de genes desta via de sinalização com tumores cerebrais. Em tumores benignos com adenomas hipofisários, existe evidência de imunoexpressão de RAB3B, visualizados na casuística de Fabio Rotondo, com 100% de imunoexpressão de RAB3B em mais de 130 adenomas operados pelo grupo (ROTONDO *et al.*, 2009). Sua expressão está reduzida em gliomas, e parece, nestes tumores, que atua como supressor tumoral (KALININA *et al.*, 2011). A eliminação de RAB21, RAB23, RAB18 e RAB3B inibiu a proliferação e invasão de células de câncer

de mama in vitro (miR-200b como fator prognóstico no câncer de mama tem como alvo vários membros da família RAB). Em nossa casuística, apresenta hipoexpressão relativa em tecidos tumorais em relação às aracnóides (controle), sem significância estatística, com OR de 0,462 e valor de p de 0,057 (IC:0,208-1,024) (Tabela 11). Observa-se, assim, que o gene RAB3B está hipoexpresso na totalidade das amostras, apresentando expressão variada entre os controles. O gene RAB3B sugere ser sensível para o diagnóstico de doença quando sua expressão está abaixo de 0,5191 no fold do tecido tumoral (sensibilidade de 97,06%; IC: 84,7-99,9%) mas demonstra ser pouco específico (66,67%; IC: 22,3-95,7%). Para uma melhor avaliação seriam necessários estudos de metanálise ou um aumento do N (número de casos e controles), visando reduzir o intervalo de confiança. Em última análise, avaliamos a expressão do fold do gene RAB3B nos graus I, II e III para meningiomas. Encontramos uma alta sensibilidade para seu diagnóstico em meningiomas grau I de 92,86% (IC:66,1-99,8%) e especificidade de 66,67% (IC: 22,3-95,7%) (**AUC (IC95%): 0,86 (0,63 – 0,87)**), para valores do fold no tumor abaixo de 0,464. Não foi visualizada qualquer correlação preditiva de sensibilidade ou especificidade para os tumores grau II e III. As curvas ROC e as tabelas de ponto de corte, sensibilidade e especificidade para o gene RAB3B podem ser vistas respectivamente no gráfico 27 e tabela 37.

A Via de sinalização da PI3K-AKT apresenta modulação cruzada com a via da sinalização da RAS-RAF-MEK-Erk quinase. Acreditamos ser de suma importância sua avaliação conjunta para tumorigênese, progressão tumoral dos meningiomas dos 3 genes, PIK3C2B, PIP5K1A E RAB3B para esta análise. O controle epigenético sobre o RAB3B também sugere ter importante influencia em alguns tumores cerebrais. Avaliando o micro RNA mir-345 sérico, o encontramos de forma hipoexpressa em nossa casuística em meningiomas (p:0,980), entretanto sem significância estatística.

Foi encontrado também uma diferença estatisticamente significativa positiva do miR-345 (p:0,002) de 2,466 entre o grau I e grau II no tecido tumoral (IC: 0,873-4,058), com uma tendência de queda com a progressão do grau, mas sem significância estatística (tabela 14). Isso significa que sua expressão está assertivamente aumentada no grau I em relação ao grau II, mas sua tendência de queda de expressão não pode ser confirmada de forma estatisticamente significativa em relação ao grau III. O micro RNA miR-345 também evidenciou uma curva ROC com sensibilidade de 100% (IC: 86,8-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%)

em valores séricos abaixo de 0,0374 (Gráfico 9 e tabela 19). De forma semelhante, portanto, demonstra alto valor de sensibilidade para o diagnóstico de meningiomas. A curva ROC do micro RNA miR-345 no sangue demonstrou alta sensibilidade de 100% (IC:69,2-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores séricos inferiores a 0,0113 (**AUC (IC95%): 1,00 (0,79 - 1,00)**). Seria necessário um aumento do N para a redução do intervalo de confiança. O mesmo não pôde ser verificado na dosagem sérica nos pacientes com meningioma grau II e grau III. No tecido tumoral foram encontradas correlações entre o fold do miR-345 e a predição de grau de meningioma para sensibilidade e especificidade (gráfico 24 e tabela 34). Entretanto, devido a necessidade de aumento do N, não se pôde prever alta sensibilidade e especificidade para aumento de intervalo de confiança. No grau I vemos sensibilidade de 78,57% (IC:49,2-95,3%) e especificidade de 83,33% (IC:35,9-99,6%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores no tecido tumoral superiores a 1,9549, com correlação clínica (**AUC (IC95%): 0,87 (0,64 – 0,98)**). No grau II vemos sensibilidade de 100% (IC:76,8-100%) e especificidade de 71,43% (IC:41,9-91,6%) para o diagnóstico de meningioma de grau II com valores no fold do tecido tumoral inferiores a 6,0523 (**AUC (IC95%): 0,86 (0,67 – 0,96)**). Ao avaliarmos o grau III vemos sensibilidade de 83,33% (IC:35,9-99,6%) e especificidade de 78,57% (IC:49,2-95,3%) para o diagnóstico de meningioma de grau III com valores no fold do tecido tumoral superiores a 2,1977 (**AUC (IC95%): 0,81 (0,57 – 0,95)**) (gráfico 24, tabela 34).

Em gliomas cerebrais, o miR-345 se encontra hiperexpresso em células mesenquimais para sua transformação em células-tronco desdiferenciadas em glioblastoma multiforme (SANA *et al.*, 2018). Nesta situação a hiperexpressão de miR-345 demonstrou-se correlacionada com a expressão tumoral de SOX-2. A hiperexpressão de miR-345 também sugere um pior prognóstico em glioblastoma multiforme, apesar da via de sinalização sobre a qual este micro-RNA regula epigeneticamente não estar bem descrita na literatura (HENRIKSEN *et al.*, 2014). Sugere-se que o miR-345 tem um importante papel na inibição da pERK (proteína ERK fosforilada da via de sinalização RAS-RAF-MEK-Erk) em gliomas cerebrais, tendo um papel essencial na regulação de metástases, desdiferenciação para células tronco-mesenquimais e quimioresistência. Níveis aumentados de miR-130b e miR-345 resultam na regulação positiva do fator regulador de interferon 1 (IRF1) via T3/TR, que controla a migração e invasão celular e reprime a expressão de p-mTOR, p-

STAT3, p-AKT, e p-ERK1/2 (JIN, 2020). Entretanto, em outros tipos de câncer, como o carcinoma hepatocelular (CHC) o aumento da expressão de miR-345 inibe a metástase tumoral ao direcionar a via mTOR/STAT3/AKT mediada por IRF1. Yu *et al.* (2017) descobriram que a expressão de miR-345 foi significativamente regulada negativamente em 65 casos de CHC e em tecidos adjacentes ao tumor e em linhagens de células de CHC, evidenciando alguma discordância entre outros tipos de câncer na literatura.

7. CONCLUSÃO

Dentre os tumores avaliados em nossas amostras, houve uma prevalência no sexo feminino (3,25 M:1 H), com idade média de 58,74 anos e mediana de 59,5 anos. Os micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345, quando comparados ao grupo controle, todos se apresentaram aparentemente hipoexpressos no sangue entre os pacientes com meningiomas e os controles, na análise descritiva quantitativa. Não se observou significância estatística entre a expressão dos micro RNAs no tecido tumoral entre os pacientes com meningiomas e os controles. A análise dos genes demonstra uma hipoexpressão relativa dos genes com modelo ajustado em modelo de regressão múltipla do gene PIK3C2B, com odds ratio (OR) de 0,644, entretanto, sem significância estatística (p: 0,678), intervalo de confiança (IC) entre 0,081 e 5,148. A análise do gene PIPK5K1A mostra hiperexpressão relativa em meningiomas em relação aos controles, sem significância estatística, com OR de 1,9, com valor de p de 0,282 (IC:0,590-6,129). Já o gene RAB3B evidencia hipoexpressão relativa entre meningiomas e controles, sem significância estatística, com OR de 0,584 e valor de p de 0,057 (IC:0,208-1,024).

Ao analisarmos a influência destes genes e micro RNAs na formação do tumor (tumorigênese), não se pôde tirar conclusões sobre suas influências para sua formação.

Ao serem avaliados a influência dos micro RNAs no sangue e tecido tumoral para a graduação dos meningiomas vemos, dentre os micro RNAs estudados, de forma significativa (p: 0,047), uma redução de aproximadamente 68% na possibilidade de um grau mais alto a cada aumento de expressão em 1 unidade do fold no tecido tumoral (OD: 0,317; IC:0,102-0,985), sendo desta forma, mais expresso em meningiomas grau I.

Comparando a expressão dos genes e micro RNAs no tecido tumoral vemos, entre os graus I e II, de forma significativa (p: 0,001), uma diferença estimada de expressão do gene PIK3C2A de 1,534 (IC:0,618-2,449), sendo desta forma, mais expresso em aproximadamente uma vez e meia em meningiomas grau I do que grau II. Ao serem avaliadas as expressões dos micro RNAs no tecido tumoral entre os diferentes graus de meningiomas, verifica-se, de forma significativa, uma diferença estimada de -19,618 do miR 125a-5p entre o grau II e grau III, com valor de p de 0,038, após análise em escala logarítmica (tabela 14). Isso significa que a expressão tecidual

tumoral deste micro RNA é em média 19,6 pontos maior no grau III que no grau II em mais de 95% das amostras. Foi encontrado também uma diferença estatisticamente significativa positiva do miR-345 ($p:0,002$) de 2,466 entre o grau I e grau II no tecido tumoral (IC: 0,873-4,058), com uma tendência de queda com a progressão do grau, mas sem significância estatística (tabela 14). Isso significa que sua expressão está assertivamente aumentada em aproximadamente 2,5 vezes no grau I em relação ao grau II, mas sua tendência de queda de expressão não pode ser confirmada de forma estatisticamente significativa em relação ao grau III.

No entanto, ao avaliarmos diferentes pontos de corte e estimarmos a sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de meningiomas através das amostras de sangue dos pacientes, obtivemos resultado muito interessantes. O micro RNAs miR-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 se apresentaram como excelentes marcadores diagnósticos para meningiomas no sangue. O micro RNA miR-125a-5p se mostrou como um excelente marcador diagnóstico em meningiomas, evidenciando que a sua expressão sérica num valor abaixo de 0,052 apresenta sensibilidade e especificidade de 100 % para o diagnóstico de meningiomas no sangue. A curva ROC também evidenciou a possibilidade do miR-133b como marcador diagnóstico sérico em meningiomas, com sensibilidade de 96% (IC: 79,6-99,9 %) e especificidade de 100 % (IC:39,8-100%) em valores séricos abaixo de 0,4198. A curva ROC do micro RNA miR-143 evidenciou a possibilidade do miR-143 como marcador diagnóstico sérico em meningiomas, com sensibilidade de 100% (IC: 73,5-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%) em valores séricos abaixo de 0,0008. A curva ROC do miR-345 evidenciou sensibilidade de 100% (IC: 86,8-100%) e especificidade de 100% (IC: 54,1-100%) em valores séricos abaixo de 0,0374 (gráfico 9 e tabela 19). A curva ROC dos micro RNAs no tecido tumoral não demonstrou no tecido tumoral sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de meningiomas na maioria dos micro RNAs estudados. No tecido tumoral, o miR-113b demonstrou alta sensibilidade diagnóstica de 88,4 % (IC:72,5-96,7%) para o diagnóstico de meningiomas, mas apresentou baixa especificidade de 60 % (IC:14,7-94,7%).

A curva ROC dos genes selecionados no tecido tumoral demonstrou no tecido tumoral sensibilidade relativamente alta para os genes PIK3C2B e RAB3B para valores do fold abaixo de 0,5, mas especificidade baixa para o diagnóstico de meningiomas, enquanto o gene PIP5K1A apresenta alta especificidade diagnóstica de 100% (IC:54,1-100%) no tecido tumoral para valores do fold acima de 3,2. O gene

PIK3C2B apresenta sensibilidade de 79,41% (IC: 62,1-91,3%) mas especificidade baixa. O gene RAB3B também sugere ser sensível para o diagnóstico de doença em meningiomas quando sua expressão está abaixo de 0,5191 no fold do tecido tumoral (sensibilidade de 97,06%; IC: 84,7-99,9%) mas demonstra ser pouco específico (66,67%; IC: 22,3-95,7%). Para uma melhor avaliação seriam necessários estudos de metanálise ou um aumento do N (número de casos e controles), visando reduzir o intervalo de confiança.

Ao avaliarmos a predição de grau a partir da dosagem sérica dos micro RNAs em pacientes com meningiomas encontramos resultados diversos. A curva ROC do micro RNA miR-125a-5p no sangue demonstrou alta sensibilidade de 100% (IC:69,2-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores séricos inferiores a 0,0047 (AUC (IC95%): 1,00 (0,79 - 1,00), alta sensibilidade de 83,33 % (IC51,6-97,9%) para meningiomas grau II com especificidade de 50 % (IC: 18,7-81,3%) para valores do fold acima de 0,00085 e alta sensibilidade de 100% (IC:15,8-100%) e alta especificidade de 75% (IC: 42,8-94,5%) em meningiomas grau III para valores do fold acima de 0,02. A curva ROC do micro RNA miR-125a-5p no tecido tumoral não demonstrou sensibilidade ou especificidade para o diagnóstico de meningioma de grau I e grau II, mas demonstrou especificidade de 76,92 % em meningiomas grau III (IC:46,2-95%). A curva ROC do micro RNA miR-125a-5p no tecido tumoral não demonstrou sensibilidade ou especificidade de para o diagnóstico de meningioma de grau I e grau II, mas demonstrou especificidade de 76,92 % em meningiomas grau III (IC:46,2-95%). A curva ROC do micro RNA miR-133b no sangue demonstrou alta sensibilidade de 100% (IC:71,5-100) e especificidade de 100 % (IC:39,8-100%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores séricos inferiores a 0,4198 (**AUC (IC95%): 1,00 (0,78 - 1,00)**). A curva ROC do micro RNA miR-143 no sangue demonstrou alta sensibilidade de 100% (IC:47,8-100%) e especificidade de 100 % (IC:54,1-100%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores séricos inferiores a 0,0008 (**AUC (IC95%): 1,00 (0,72 - 1,00)**). Quando avaliamos a expressão do miR-345 nos tumores grau I vemos sensibilidade de 78,57% (IC:49,2-95,3%) e especificidade de 83,33% (IC:35,9-99,6%) para o diagnóstico de meningioma de grau I com valores no tecido tumoral superiores a 1,9549 (**AUC (IC95%): 0,87 (0,64 – 0,98)**). No tumor grau II vemos sensibilidade de 100% (IC:76,8-100%) e especificidade de 71,43% (IC:41,9-91,6%) para o diagnóstico de meningioma de grau II com valores no fold do tecido tumoral

inferiores a 6,0523 (**AUC (IC95%): 0,86 (0,67 – 0,96)**). Ao avaliarmos o grau III vemos sensibilidade de 83,33% (IC:35,9-99,6%) e especificidade de 78,57% (IC:49,2-95,3%) para o diagnóstico de meningioma de grau III com valores no fold do tecido tumoral superiores a 2,1977 (**AUC (IC95%): 0,81 (0,57 – 0,95)**). Ao analisarmos o gene PIK3C2B nos graus I, II e III para meningiomas, vemos uma ausência de correlação para sensibilidade e especificidade no grau I, mas alta sensibilidade para seu diagnóstico em meningiomas grau II em valores no fold do tecido tumoral abaixo de 0,2893, com sensibilidade de 92,86% (IC: 66,1-99,8%) e especificidade de 85,71% (IC:57,2-98,2%) (**AUC (IC95%): 0,93 (0,76 – 0,99)**) e alta sensibilidade de 100% (IC: 54,1-100%) e especificidade de 50% (IC: 23-77%) para meningiomas grau III (AUC (IC95%): 0,75 (0,51 – 0,91), em valores do fold abaixo de 0,1103.

Em relação ao gene PIP5K1A, ao avaliarmos a predição de grau em meningiomas, encontramos alta especificidade de 100 % (IC: 54,1-100%) para o meningioma grau I em valores do fold acima de 3,2571 e alta especificidade de 92,86 % (IC: 66,1-99,8%) em valores do fold acima de 4,4026, mas baixa sensibilidade diagnóstica. Encontramos uma alta sensibilidade em relação ao gene RAB3B para o diagnóstico em meningiomas grau I de 92,86% (IC:66,1-99,8%) e especificidade de 66,67% (IC: 22,3-95,7%) (**AUC (IC95%): 0,86 (0,63 – 0,87)**), para valores do fold no tumor abaixo de 0,464.

Portanto, ao avaliarmos a sensibilidade diagnóstica em grau de meningiomas, concluímos que os micro RNAs mir-125a-5p, miR-133b, miR-143 e miR-345 séricos apresentam alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico em meningiomas em geral, mas especialmente no grau I em meningiomas. Ao avaliarmos as curvas ROC dos genes PIK3C2B e RAB3B vemos que ambos apresentam alta sensibilidade para o diagnóstico de meningiomas em geral no tecido tumoral (79 e 97%, respectivamente) sendo o PIK3C2B mais sensível para o diagnóstico de meningiomas grau II e III, e o RAB3B mais sensível para o diagnóstico de meningioma grau I. Em última análise, o gene PIP5K1A, apresenta alta especificidade diagnóstica para meningiomas em geral, em especial para os meningiomas grau I.

REFERÊNCIAS

ABEDALTHAGAFI, M. *et al.* Oncogenic PI3K mutations are as common as AKT1 and SMO mutations in meningioma. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 18, n. 5, p. 649-655, May 2016.

AGRESTI, A. **An introduction to categorical data analysis**. New York: John Wiley & Sons, 1996.

AKALAN, N. *et al.* Benign extramedullary tumors in the foramen magnum region. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, Amsterdam, v. 96, n. 4, p. 284-289, Nov. 1994.

AKAO, Y. *et al.* Microvesicle-mediated RNA molecule delivery system using monocytes/macrophages. **Molecular Therapy**, Cambridge, v. 19, n. 2, p. 395-399, Feb. 2011.

AL-MEFTY, O. *et al.* Malignant progression in meningioma: documentation of a series and analysis of cytogenetic findings. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 101, n. 2, p. 210-218, Aug. 2004.

AL-RAMAHI, I. *et al.* Inhibition of PIP4Kgamma ameliorates the pathological effects of mutant huntingtin protein. **eLife**, Cambridge, v. 6, p. e29123, Dec. 2017.

ALVERNIA, J. E.; SINDOU, M. P. Parasagittal meningiomas. *In*: LEE, J. H. (ed.). **Meningioma: diagnosis, treatment and outcome**. London: Springer, 2009.

ANENE-MAIDOH, T. I.; YEO, C. J.; MAXWELL, P. J., 4th. William Williams Keen, MD: 'Marshall' of American surgery and pioneer of neurosurgery. **The American Surgeon**, Thousand Oaks, v. 77, n. 5, p. 649-651, May 2011.

APRA, C.; PEYRE, M.; KALAMARIDES, M. Current treatment options for meningioma. **Expert Review of Neurotherapeutics**, Abingdon, v. 18, n. 3, p. 241-249, Mar. 2018.

ARNAUTOVIC, K. I.; AL-MEFTY, O.; HUSAIN, M. Ventral foramen magnum meningiomas. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 92, n. 1, p. 71-80, Jan. 2000. Suppl.

BAKAY, L. Cruveilhier on meningiomas (1829-1842). **Surgical Neurology**, New York, v. 32, n. 2, p. 159-164, Aug. 1989.

BANAN, R.; HARTMANN, C. The new WHO 2016 classification of brain tumors-what neurosurgeons need to know. **Acta Neurochirurgica**, Wien, v. 159, n. 3, p. 403-418, Jan. 2017.

BARTEL, D. P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. **Cell**, Cambridge, v. 116, n. 2, p. 281-297, Jan. 2004.

BARTHELEMY, E. J. *et al.* The historical origin of the term "meningioma" and the rise of nationalistic neurosurgery. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 125, n. 5, p. 1283-1290, Nov. 2016.

BASSIOUNI, H. *et al.* Meningiomas of the posterior petrous bone: functional outcome after microsurgery. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 100, n. 6, p. 1014-1024, Jun. 2004.

BEIGEL, H. Recidiv eines papillösen cystokarkoms der bauchhöhle. **Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin**, Berlin, v. 44-45, p. 111, 1869.

BENJAMIN, V.; RUSSELL, S. M. The microsurgical nuances of resecting tuberculum sellae meningiomas. **Neurosurgery**, Philadelphia, v. 56, n. 2, p. 411-417, Apr. 2005. Suppl.

Bl, W. L. *et al.* Genomic landscape of intracranial meningiomas. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 125, n. 3, p. 525-535, Sep. 2016a.

Bl, W. L. *et al.* Genomic landscape of high-grade meningiomas. **NPJ Genomic Medicine**, London, v. 2, p. 15, 2017.

Bl, W. L. *et al.* Genomic and epigenomic landscape in meningioma. **Neurosurgery Clinics of North America**, Philadelphia, v. 27, n. 2, p. 167-179, Apr. 2016b.

BLACK, P. M.; MOROKOFF, A. P.; ZAUBERMAN, J. Surgery for extra-axial tumors of the cerebral convexity and midline. **Neurosurgery**, Philadelphia, v. 62, n. 6, p. 1115-1121, Jun. 2008. Suppl. 3. DOI: <https://doi.org/10.1227/01.neu.0000333778.66316.38>.

BOROVICH, B.; DORON, Y. Recurrence of intracranial meningiomas: the role played by regional multicentricity. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 64, n. 1, p. 58-63, Jan. 1986

BOSNYAK, E. *et al.* Molecular imaging correlates of tryptophan metabolism via the kynurenine pathway in human meningiomas. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 17, n. 9, p. 1284-1292, Sep. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov098>.

BUSCHGES, R. *et al.* Allelic gain and amplification on the long arm of chromosome 17 in anaplastic meningiomas. **Brain Pathology**, Zurich, v. 12, n. 2, p. 145-153, Apr. 2002.

BOUCHARD, C. **Traité de pathologie générale**. Paris: Masson, 1900.

CAI, D. X. *et al.* Chromosome 1p and 14q FISH analysis in clinicopathologic subsets of meningioma: diagnostic and prognostic implications. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, Oxford, v. 60, n. 6, p. 628-636, Jun. 2001.

CAO *et al.* miR-125a-5p post-transcriptionally suppresses GALNT7 to inhibit proliferation and invasion in cervical cancer cells via the EGFR/PI3K/AKT pathway. **Cancer Cell International**, London, v. 20, p. 117, 2020.

CHAMBERLAIN, M. C. Phase II study of monthly pasireotide LAR (SOM230C) for recurrent or progressive meningioma. **Neurology**, Hagerstown, v. 85, n. 12, p. 1090, Sep. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001988>.

CHAMPEAUX, C. *et al.* World Health Organization grade III meningiomas. A retrospective study for outcome and prognostic factors assessment. **British Journal of Neurosurgery**, Abingdon, 29, n. 5, p. 693-698, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3109/02688697.2015.1054350>.

CHAN, R. C.; THOMPSON, G. B. Morbidity, mortality, and quality of life following surgery for intracranial meningiomas. A retrospective study in 257 cases. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 60, n. 1, p. 52-60, Jan. 1984.

CHEN, Z. Y. *et al.* Intracranial meningioma surgery in the elderly (over 65 years): prognostic factors and outcome. **Acta Neurochirurgica**, Wien, v. 157, n. 9, p. 1549-1557, Sep. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00701-015-2502-9>.

CHERNOV, M. F. *et al.* Metabolic alterations in the peritumoral brain in cases of meningiomas: 1H-MRS study. **Journal of The Neurological Sciences**, Amsterdam, v. 284, n. 1-2, p. 168-174, Sep. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.05.015>.

CHUNG, S. B. *et al.* Falx meningiomas: surgical results and lessons learned from 68 cases. **Journal of Korean Neurosurgical Society**, Seoul, v. 42, n. 4, p. 276-280, Oct 2007. DOI: <https://doi.org/10.3340/jkns.2007.42.4.276>.

COCKCROFT, S.; RAGHU, P. Phospholipid transport protein function at organelle contact sites. **Current Opinion in Cell Biology**, Philadelphia, v. 53, p. 52-60, Aug. 2018.

COGEN, P. H. *et al.* Loss of heterozygosity for chromosome 22 DNA sequences in human meningioma. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, New York, v. 53, n. 2, p. 271-277, Jun. 1991.

COLLI, B. O. *et al.* Parasagittal meningiomas: follow-up review. **Surgical Neurology**, New York, v. 66, p. S20-27, 2006. Suppl. 3.

COLLI, B. O. *et al.* Atypical and anaplastic meningiomas in a public hospital in Sao Paulo State, Brazil. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, São Paulo, v. 73, n. 9, p. 770-778, Sep. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0004-282X20150106>.

CONDRA, K. S. *et al.* Benign meningiomas: primary treatment selection affects survival. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, New York, v. 39, n. 2, p. 427-436, Sep. 1997.

COSSU, G. *et al.* The role of mifepristone in meningiomas management: a systematic review of the literature. **Biomed Research International**, New York, v. 2015, p. 267831, Jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/267831>.

CRUVEILHIER, J. **Anatomie pathologique du corps humain**. Paris: J. B. Bailliere, 1842. p. 379–390.

CSONKA, T. *et al.* Assessment of candidate immunohistochemical prognostic markers of meningioma recurrence. **Folia Neuropathologica**, Poznan, v. 54, n. 2, p. 114-126, 2016.

CUSHING, H. Electrosurgery as an aid to the removal of intracranial tumors. **Surgery, Gynecology and Obstetrics**, Chicago, v. 47, p. 751-785, 1928.

CUSHING, H. **Meningiomas**: their classification, regional behaviour, life history, and surgical end results. Springfield: Charles C. Thomas, 1938. p. 2–18 .

CUSHING, H. The meningiomas (dural endotheliomas): their source, and favoured seats of origin. **Brain**, Oxford, v. 45, n.2, p. 282–316, 1922.

DALRYMPLE, S. J.; JENKINS, R. B. Molecular genetics of astrocytomas and meningiomas. **Current Opinion in Neurology**, London, v. 7, n. 6, p. 477-483, Dec. 1994.

DANDY, W. **Surgery of the brain**. Hagerstown: WF Prior, 1932. (Practice of Surgery).

DAS, M. *et al.* Regulation of neuron survival through an intersectin-phosphoinositide 3'-kinase C2beta-AKT pathway. **Molecular and Cellular Biology**, Washington, v. 27, n. 22, p. 7906-7917, Nov. 2007.

DI MAIO, S. *et al.* Evolution and future of skull base surgery: the paradigm of skull base meningiomas. **World Neurosurgery**, New York, v. 78, n. 3/4, p. 260-275, Sep./Oct. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2011.09.004>.

DOMINGUES, P. *et al.* Genetic/molecular alterations of meningiomas and the signaling pathways targeted. **Oncotarget**, Albany, v. 6, n. 13, p. 10671-10688, May 2015.

DOMINGUES, P. H *et al.* Proposal for a new risk stratification classification for meningioma based on patient age, WHO tumor grade, size, localization, and karyotype. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 16, n. 5, p. 735-747, May 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/neuonc/not325>.

DRUMMOND, K. J.; ZHU, J. J.; BLACK, P. M. Meningiomas: updating basic science, management, and outcome. **Neurologist**, Hagerstown, v. 10, n. 3, p. 113-130, May 2004.

DU, Z. *et al.* Increased expression of the immune modulatory molecule PD-L1 (CD274) in anaplastic meningioma. **Oncotarget**, Albany, v. 6, n. 7, p. 4704-4716, Mar. 2015.

DUMANSKI, J. P. *et al.* Molecular genetic analysis of chromosome 22 in 81 cases of meningioma. **Cancer Research**, Baltimore, v. 50, n. 18, p. 5863-5867, Sep. 1990.

EL-GEWELY, M. R. *et al.* Differentially expressed micrnas in meningiomas grades I and II suggest shared biomarkers with malignant tumors. **Cancers**, Basel, v. 8, n. 3, Mar. 2016.

FATTAHI, S. *et al.* PI3K/AKT/mTOR signaling in gastric cancer: epigenetics and beyond. **Life Sciences**, Amsterdam, v. 262, p. 118513, Dec. 2020.

GALANI, V. *et al.* Expression of stem cell marker nestin and MicroRNA-21 in meningiomas. **Turkish Neurosurgery**, Ankara, v. 25, n. 4, p. 574-577, 2015.

GALANI, V. *et al.* Genetic and epigenetic alterations in meningiomas. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, Amsterdam, v. 158, p. 119-125, Jul. 2017.

GAUCHOTTE, G. *et al.* Prognostic value of histopathological features and loss of h3k27me3 immunolabeling in anaplastic meningioma: a multicenter retrospective study. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, Oxford, v. 79, n. 7, p. 754-762, Jul. 2020.

GOLDBRUNNER, R. *et al.* EANO guideline on the diagnosis and management of meningiomas. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 23, n. 11, p. 1821-1834, Nov. 2021.

GREENE, M. A. *et al.* Impact of fetal exposure to mycotoxins on longissimus muscle fiber hypertrophy and miRNA profile. **BMC Genomics**, London, v. 23, p. 595, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08794-0>.

GUTMANN, D. H. *et al.* Loss of DAL-1, a protein 4.1-related tumor suppressor, is an important early event in the pathogenesis of meningiomas. **Human Molecular Genetics**, Oxford, v. 9, n. 10, p. 1495-1500, Jun. 2000.

HANSSON, C. M. *et al.* Comprehensive genetic and epigenetic analysis of sporadic meningioma for macro-mutations on 22q and micro-mutations within the NF2 locus. **BMC Genomics**, London, v. 8, p. 16, Jan. 2007.

HARADA, T. *et al.* Molecular genetic investigation of the neurofibromatosis type 2 tumor suppressor gene in sporadic meningioma. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 84, n. 5, p. 847-851, May 1996.

HE, S. *et al.* A review of epigenetic and gene expression alterations associated with intracranial meningiomas. **Neurosurgery Focus**, Charlottesville, v. 35, n. 6, p. E5, Dec. 2013.

HENN, W. *et al.* Monosomy 7p in meningiomas: a rare constituent of tumor progression. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, New York, v. 144, n. 1, p. 65-68, Jul. 2003.

HENRIKSEN, M. *et al.* MicroRNA expression signatures determine prognosis and survival in glioblastoma multiforme--a systematic overview. **Molecular Neurobiology**, Clifton, v. 50, n. 3, p. 896-913, Dec. 2014.

HOLLAND, H. *et al.* High resolution genomic profiling and classical cytogenetics in a group of benign and atypical meningiomas. **Cancer Genetics**, New York, v. 204, n. 10, p. 541-549, Oct. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2011.10.007>.

JAASKELAINEN, J. Seemingly complete removal of histologically benign intracranial meningioma: late recurrence rate and factors predicting recurrence in 657 patients. A multivariate analysis. **Surgical Neurology**, New York, v. 26, n. 5, p. 461-469, Nov. 1986.

JENKINSON, M. D. *et al.* Atypical meningioma: current management dilemmas and prospective clinical trials. **Journal of Neurooncology**, New York, v. 121, n. 1, p. 1-7, Jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11060-014-1620-1>.

JIN, W. Role of JAK/STAT3 signaling in the regulation of metastasis, the transition of cancer stem cells, and chemoresistance of cancer by epithelial-mesenchymal transition. **Cells**, Basel, v. 9, n. 1, Jan. 2020.

KALININA, J. *et al.* Proteomics of gliomas: initial biomarker discovery and evolution of technology. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 926-942, Sep. 2011.

KAMALESH, K. *et al.* Phosphatidylinositol 5-phosphate 4-kinase regulates early endosomal dynamics during clathrin-mediated endocytosis. **Journal of Cell Science**, Cambridge, v. 130, n. 13, p. 2119-2133, Jul. 2017.

KATAR, S. *et al.* Expression of miRNA-21, miRNA-107, miRNA-137 and miRNA-29b in meningioma. **Clinical Neurology and Neurosurgery**, Amsterdam, v. 156, p. 66-70, May 2017.

KAUR, G. O. *et al.* Adjuvant radiotherapy for atypical and malignant meningiomas: a systematic review. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 16, n. 5, p. 628-636, May 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou025>.

KO, K. W. *et al.* Relationship between malignant subtypes of meningioma and clinical outcome. **Journal of Clinical Neuroscience**, Amsterdam, v. 14, n. 8, p. 747-753, Aug. 2007.

KONDZIOLKA, D.; FLICKINGER, J. C.; PEREZ, B. Judicious resection and/or radiosurgery for parasagittal meningiomas: outcomes from a multicenter review. Gamma Knife Meningioma Study Group. **Neurosurgery**, Philadelphia, v. 43, n. 3, p. 405-413, Sep. 1998.

KOPKOVA, A. *et al.* Cerebrospinal fluid microrna signatures as diagnostic biomarkers in brain tumors. **Cancers (Basel)**, Basel, v. 11, n. 10, Oct. 2019.

KRAMPLA, W. *et al.* Frequency and risk factors for meningioma in clinically healthy 75-year-old patients: results of the Transdanube Ageing Study (VITA). **Cancer**, Hoboken, v. 100, n. 6, p. 1208-1212, Mar. 2004.

KSHETTRY, V. R. *et al.* Descriptive epidemiology of World Health Organization grades II and III intracranial meningiomas in the United States. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 17, n. 8, p. 1166-1173, Aug. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov069>.

LAMSZUS, K. Meningioma pathology, genetics, and biology. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, Oxford, v. 63, n. 4, p. 275-286, Apr. 2004.

LAMSZUS, K. *et al.* Vascular endothelial growth factor, hepatocyte growth factor/scatter factor, basic fibroblast growth factor, and placenta growth factor in human meningiomas and their relation to angiogenesis and malignancy. **Neurosurgery**, Philadelphia, v. 46, n. 4, p. 938-947, Apr. 2000.

LEBERT, H. **Traité pratique des maladies cancéreuses**: et des affections curables confondues avec le cancer. Paris: JB Baillière, 1851.

LIST, C. F.; HODGES, F. J. Differential diagnosis of intracranial neoplasms by cerebral angiography. **Radiology**, Easton, v. 48, n. 5, p. 493-508, May 1947.

LIU, A. *et al.* Gamma Knife radiosurgery for meningiomas in patients with neurofibromatosis Type 2. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 122, n. 3, p. 536-542, Mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3171/2014.10.JNS132593>.

LIU, F.; QIAN, J.; MA, C. MPscore: a novel predictive and prognostic scoring for progressive meningioma. **Cancers**, Basel, v. 13, n. 5, Mar. 2021.

LOGAN, A. M. *et al.* Schwann cell-specific deletion of the endosomal PI 3-kinase Vps34 leads to delayed radial sorting of axons, arrested myelination, and abnormal ErbB2-ErbB3 tyrosine kinase signaling. **Glia**, New York, v. 65, n. 9, p. 1452-1470, Sep. 2017.

LOMAS, J. *et al.* Analysis of p73 gene in meningiomas with deletion at 1p. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, New York, v. 129, n. 1, p. 88-91, Aug. 2001.

LOPEZ-GINES, C. *et al.* Association of loss of 1p and alterations of chromosome 14 in meningioma progression. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, New York, v. 148, n. 2, p. 123-128, Jan. 2004.

LOUIS, D. N. *et al.* The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. **Acta Neuropathologica**, Berlin, v. 114, n. 2, p. 97-109, Aug. 2007.

LOUIS, D. N. *et al.* The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. **Acta Neuropathologica**, Berlin, v. 131, n. 6, p. 803-820, Jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>.

LOUIS, D. N. *et al.* The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 23, n. 8, p. 1231-1251, Aug. 2021.

LUDWIG, N. *et al.* Posttranscriptional deregulation of signaling pathways in meningioma subtypes by differential expression of miRNAs. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 17, n. 9, p. 1250-1260, Sep. 2015.

LUSIS, E.; GUTMANN, D. H. Meningioma: an update. **Current Opinion in Neurology**, London, v. 17, n. 6, p. 687-692, Dec. 2004.

MAAS, S. L. N. *et al.* Integrated molecular-morphologic meningioma classification: a multicenter retrospective analysis, retrospectively and prospectively validated. **Journal of Clinical Oncology**, Alexandria, v. 39, n. 34, p. 3839-3852, Dec. 2021.

MAGGIO, I. *et al.* Meningioma: not always a benign tumor. A review of advances in the treatment of meningiomas. **CNS Oncology**, London, v. 10, n. 2, p. Cns72, Jun. 2021.

MAHAJAN, D. K.; LONDON, S. N. Mifepristone (RU486): a review. **Fertility and Sterility**, New York, v. 68, n. 6, p. 967-976, Dec. 1997.

MAHMOOD, A. *et al.* Atypical and malignant meningiomas: a clinicopathological review. **Neurosurgery**, Philadelphia, v. 33, n. 6, p. 955-963, Dec. 1993.

MARGARIA, J. P. *et al.* Class II PI3Ks at the intersection between signal transduction and membrane trafficking. **Biomolecules**, Basel, v. 9, n. 3, Mar. 2019.

MENZIES, F. M. *et al.* Autophagy and neurodegeneration: pathogenic mechanisms and therapeutic opportunities. **Neuron**, Cambridge, v. 93, n. 5, p. 1015-1034, Mar. 2017.

MIETTINEN, M.; PAETAU, A. Mapping of the keratin polypeptides in meningiomas of different types: an immunohistochemical analysis of 463 cases. **Human Pathology**, Philadelphia, v. 33, n. 6, p. 590-598, Jun. 2002.

MILLS, C. P. G. Tumor of the brain localized clinically and by the roentgen rays. **Philadelphia Medical Journal**, Philadelphia, v. 9, p. 268-273, 1902.

MIRIMANOFF, R. O. *et al.* Meningioma: analysis of recurrence and progression following neurosurgical resection. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 62, n. 1, p. 18-24, Jan. 1985.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 5. ed. Nova Iorque: John Wiley, 2000.

MOREL, E. *et al.* Phosphatidylinositol-3-phosphate regulates sorting and processing of amyloid precursor protein through the endosomal system. **Nature Communications**, London, v. 4, p. 2250, 2013.

MOROKOFF, A. P.; ZAUBERMAN, J.; BLACK, P. M. Surgery for convexity meningiomas. **Neurosurgery**, Philadelphia, v. 63, n. 3, p. 427-433, Sep. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000310692.80289.28>.

MÜLLER, P. *et al.* Deletion of chromosome 1p and loss of expression of alkaline phosphatase indicate progression of meningiomas. **Clinical Cancer Research**, Denville, v. 5, n. 11, p. 3569-3577, Nov. 1999.

NAKAMURA, M. *et al.* Intraventricular meningiomas: a review of 16 cases with reference to the literature. **Surgical Neurology**, New York, v. 59, n. 6, p. 491-503, Jun. 2003.

NASSIRI, F. *et al.* DNA methylation profiling to predict recurrence risk in meningioma: development and validation of a nomogram to optimize clinical management. **Neuro Oncology**, Oxford, v. 21, n. 7, p. 901-910, Jul. 2019.

NERY, B. *et al.* Tumors of the tentorium. *In*: SEKHAR, L. N.; FESSLER, R. G. **Atlas of neurosurgical techniques**. Leipzig: Thieme Medical and Scientific Publishers, 2016. p. 343-350.

NIXON, R. A. Amyloid precursor protein and endosomal-lysosomal dysfunction in Alzheimer's disease: inseparable partners in a multifactorial disease. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 31, n. 7, p. 2729-2743, Jul. 2017.

NORDEN, A. D. *et al.* Phase II study of monthly pasireotide LAR (SOM230C) for recurrent or progressive meningioma. **Neurology**, Hagerstown, v. 84, n. 3, p. 280-286, Jan. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001153>.

NUNES, F. *et al.* Inactivation patterns of NF2 and DAL-1/4.1B (EPB41L3) in sporadic meningioma. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, New York, v. 162, n. 2, p. 135-139, Oct. 2005.

OJEMANN, R. G. Management of cranial and spinal meningiomas (honored guest presentation). **Clinical Neurosurgery**, Baltimore, v. 40, p. 321-383, 1993.

OLAR, A. *et al.* Global epigenetic profiling identifies methylation subgroups associated with recurrence-free survival in meningioma. **Acta Neuropathologica**, Berlin, v. 133, n. 3, p. 431-444, Mar. 2017.

OSTROM, Q. T. *et al.* CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2014–2018. **Neuro-Oncology**, v. 23, p. iii1-iii105, 2021. Suppl. 3.

PAPADOPOULOS, T. *et al.* Endosomal phosphatidylinositol 3-phosphate promotes gephyrin clustering and gabaergic neurotransmission at inhibitory postsynapses. **The Journal of Biological Chemistry**, New York, v. 292, n. 4, p. 1160-1177, Jan. 2017.

PATEL, N. P.; MHATRE, A. N.; LALWANI, A. K. Molecular pathogenesis of skull base tumors. **Otology and Neurotology**, Hagerstown, v. 25, n. 4, p. 636-643, Jul. 2004.

PERRY, A. *et al.* Meningioma grading: an analysis of histologic parameters. **The American Journal of Surgical Pathology**, Philadelphia, v. 21, n. 12, p. 1455-1465, Dec. 1997.

PHAM, M. H. *et al.* Molecular genetics of meningiomas: a systematic review of the current literature and potential basis for future treatment paradigms. **Neurosurgical Focus**, Charlottesville, v. 30, n. 5, p. E7, May 2011.

PISTOLESI, S. *et al.* Meningioma-associated brain oedema: the role of angiogenic factors and pial blood supply. **Journal of Neurooncology**, New York, v. 60, n. 2, p. 159-164, Nov. 2002.

PRAVDENKOVA, S. *et al.* Progesterone and estrogen receptors: opposing prognostic indicators in meningiomas. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 105, n. 2, p. 163-173, Aug. 2006.

RAGEL, B. T. *et al.* Chronic suppressive therapy with calcium channel antagonists for refractory meningiomas. **Neurosurgery Focus**, Charlottesville, v. 23, n. 4, p. E10, 2007.

RAGEL, B. T.; JENSEN, R. L. Molecular genetics of meningiomas. **Neurosurgical Focus**, Charlottesville, v. 19, n. 5, p. E9, Nov. 2005.

RAGHU, P. *et al.* Phosphoinositides: regulators of nervous system function in health and disease. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, Lausanne, v. 12, p. 208, 2019.

RIEMENSCHNEIDER, M. J.; PERRY, A.; REIFENBERGER, G. Histological classification and molecular genetics of meningiomas. **Lancet Neurology**, London, v. 5, n. 12, p. 1045-1054, Dec. 2006.

ROBIN, C. Recherches anatomiques sur l'épithélioma des séreuses. **Journal de L'anatomie et de La Physiologie Normales et Pathologiques del L'homme et des Animaux**, Paris, v. 6, p. 239–288, 1869.

ROHRINGER, M. *et al.* Incidence and clinicopathological features of meningioma. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 71, n. 5, pt. 1, p. 665-672, Nov. 1989.

ROTONDO, F. *et al.* Rab3B immunoexpression in human pituitary adenomas. **Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology**, Hagerstown, v. 17, n. 3, p. 185-188, May 2009.

RUIZ-GÓMEZ, A. *et al.* The cell biology of Smo signalling and its relationships with GPCRs. **Biochimica Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1768, n. 4, p. 901-912, Apr. 2007.

SABHA, N. *et al.* PIK3C2B inhibition improves function and prolongs survival in myotubular myopathy animal models. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 126, n. 9, p. 3613-3625, Sep. 2016.

SAHM, F. *et al.* TERT promoter mutations and risk of recurrence in meningioma. **Journal of National Cancer Institute**, Cary, v. 108, n. 5, May 2016.

SAHM, F. *et al.* DNA methylation-based classification and grading system for meningioma: a multicentre, retrospective analysis. **Lancet Oncology**, London, v. 18, n. 5, p. 682-694, May 2017.

SALAH, F. *et al.* Can CT and MRI features differentiate benign from malignant meningiomas? **Clinical Radiology**, Oxford, v. 74, n. 11, p. 898.e15-898.e823, Nov. 2019.

SANA, J. *et al.* Identification of microRNAs differentially expressed in glioblastoma stem-like cells and their association with patient survival. **Scientific Reports**, London, v. 8, n. 1, p. 2836, Feb. 2018.

SANAI, N. *et al.* Risk profile associated with convexity meningioma resection in the modern neurosurgical era. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 112, n. 5, p. 913-919, May 2010. DOI: <https://doi.org/10.3171/2009.6.JNS081490>.

SASAKI, T. *et al.* Mammalian phosphoinositide kinases and phosphatases. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 48, n. 6, p. 307-343, Nov. 2009.

SAWYER, J. R. *et al.* A role for telomeric and centromeric instability in the progression of chromosome aberrations in meningioma patients. **Cancer**, Hoboken, v. 88, n. 2, p. 440-453, Jan. 2000.

SCHALLER, B. *et al.* Premeatal and retromeatal cerebellopontine angle meningioma. Two distinct clinical entities. **Acta Neurochirurgica**, Wien, v. 141, n. 5, p. 465-471, 1999.

SCHNITT, S. J.; VOGEL, H. Meningiomas. Diagnostic value of immunoperoxidase staining for epithelial membrane antigen. **The American Journal of Surgical Pathology**, Philadelphia, v. 10, n. 9, p. 640-649, Sep. 1986.

SEIZINGER, B. R. *et al.* Molecular genetic approach to human meningioma: loss of genes on chromosome 22. **Proceedings of National Academy of Sciences of the U S A**, Washington, v. 84, n. 15, p. 5419-5423, Aug. 1987.

SHRIVASTAVA, R. K. *et al.* Harvey Cushing's Meningiomas text and the historical origin of resectability criteria for the anterior one third of the superior sagittal sinus. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 99, n. 4, p. 787-791, Oct. 2003.

SIEVERS, P. *et al.* CDKN2A/B homozygous deletion is associated with early recurrence in meningiomas. **Acta Neuropathologica**, Berlin, v. 140, n. 3, p. 409-413, Sep. 2020.

SILVA, C. E.; FREITAS, P. E. Large and giant skull base meningiomas: the role of radical surgical removal. **Surgical Neurology International**, Pittsford, v. 6, p. 113, Jun. 2015. DOI: <https://doi.org/10.4103/2152-7806.159489>.

SIMIS, A. *et al.* Peritumoral brain edema in benign meningiomas: correlation with clinical, radiologic, and surgical factors and possible role on recurrence. **Surgical Neurology**, New York, v. 70, n. 5, p. 471-477 Nov. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.surneu.2008.03.006>.

SIMON, M. *et al.* Interinstitutional variance of postoperative radiotherapy and follow up for meningiomas in Germany: impact of changes of the WHO classification. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, London, v. 77, n. 6, p. 767-773, Jun. 2006.

SIMON, M.; BOSTROM, J. P.; HARTMANN, C. Molecular genetics of meningiomas: from basic research to potential clinical applications. **Neurosurgery**, Philadelphia, v. 60, n. 5, p. 787-798, May 2007.

SIMPSON, D. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, London, v. 20, n. 1, p. 22-39, Feb. 1957.

SINDOU, M. P.; ALVERNIA, J. E. Results of attempted radical tumor removal and venous repair in 100 consecutive meningiomas involving the major dural sinuses. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 105, n. 4, p. 514-525, Oct. 2006.

SOLERO, C. L.; GIOMBINI, S.; MORELLO, G. Suprasellar and olfactory meningiomas. Report on a series of 153 personal cases. **Acta Neurochirurgica**, Wien, v. 67, n. 3/4, p. 181-194, 1983.

STAFFORD, S. L. *et al.* Primarily resected meningiomas: outcome and prognostic factors in 581 Mayo Clinic patients, 1978 through 1988. **Mayo Clinic Proceedings**, Oxford, v. 73, n. 10, p. 936-942, Oct. 1998.

STARKE, R. M. *et al.* Gamma Knife radiosurgery of large skull base meningiomas. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 122, n. 2, p. 363-372, Feb. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3171/2014.10.JNS14198>.

SUN, S. Q. *et al.* An evidence-based treatment algorithm for the management of WHO Grade II and III meningiomas. **Neurosurgical Focus**, Charlottesville, v. 38, n. 3, p. E3, Mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3171/2015.1.FOCUS14757>.

SVOLOS, P. *et al.* The role of diffusion and perfusion weighted imaging in the differential diagnosis of cerebral tumors: a review and future perspectives. **Cancer Imaging**, London, v. 14, n. 1, p. 20, Apr. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1186/1470-7330-14-20>.

TAMRAZI, B.; SHIROISHI, M. S.; LIU, C. S. Advanced imaging of intracranial meningiomas. **Neurosurgery Clinics of North America**, Philadelphia, v. 27, n. 2, p. 137-143, Apr. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nec.2015.11.004>.

TURNER, J. D. *et al.* The many roles of microRNAs in brain tumor biology. **Neurosurgical Focus**, Charlottesville, v. 28, n. 1, p. E3, Jan. 2010. DOI: <https://doi.org/10.3171/2009.10.FOCUS09207>.

VAUBEL, R. A. *et al.* Meningiomas with rhabdoid features lacking other histologic features of malignancy: a study of 44 cases and review of the literature. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, Oxford, v. 75, n. 1, p. 44-52, Jan. 2016.

VIGNES, J. R. *et al.* Peritumoral edema and prognosis in intracranial meningioma surgery. **Journal of Clinical Neuroscience**, Edinburgh, v. 15, n. 7, p. 764-768, Jul. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2007.06.001>.

VRANIC, A.; PEYRE, M.; KALAMARIDES, M. New insights into meningioma: from genetics to trials. **Current Opinion in Oncology**, Philadelphia, v. 24, n. 6, p. 660-665, Nov. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1097/CCO.0b013e3283571a06>.

WANG, J. *et al.* MicroRNAs as regulator of signaling networks in metastatic colon cancer. **Biomed Research International**, New York, v. 2015, p. 823620, 2015.

WANG, L.; BUDOLFSON, K.; WANG, F. Pik3c3 deletion in pyramidal neurons results in loss of synapses, extensive gliosis and progressive neurodegeneration. **Neuroscience**, New York, v. 172, p. 427-442, Jan. 2011.

WANG, L. *et al.* The biological and diagnostic roles of MicroRNAs in meningiomas. **Reviews in the Neurosciences**, Berlin, v. 31, n. 7, p. 771-778, Oct. 2020.

WANG, X. *et al.* Overexpression of microRNA-133b is associated with the increased survival of patients with hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy: Involvement of the EGFR/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. **Oncology Reports**, Athens, v. 38, n. 1, p. 141-150, 2017.

WEBER, D. C.; LOVBLAD, K. O.; ROGERS, L. New pathology classification, imagery techniques and prospective trials for meningiomas: the future looks bright. **Current Opinion in Neurology**, London, v. 23, n. 6, p. 563-570, Dec. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e328340441e>.

WERNER, T. V. *et al.* MiR-34a-3p alters proliferation and apoptosis of meningioma cells in vitro and is directly targeting SMAD4, FRAT1 and BCL2. **Aging**, Albany, v. 9, n. 3, p. 932-954, Mar. 2017.

WIEMELS, J.; WRENSCH, M.; CLAUS, E. B. Epidemiology and etiology of meningioma. **Journal of Neurooncology**, New York, v. 99, n. 3, p. 307-314, Sep. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11060-010-0386-3>.

YANG, C. *et al.* Identification of seven serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as potential noninvasive biomarkers for malignant astrocytomas. **International Journal of Cancer**, New York, v. 132, n. 1, p. 116-127, Jan. 2013.

YANG, J. *et al.* Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials. **Molecular Cancer**, London, v. 18, n. 1, p. 26, Feb. 2019.

YANO, S.; KURATSU, J. Indications for surgery in patients with asymptomatic meningiomas based on an extensive experience. **Journal of Neurosurgery**, Charlottesville, v. 105, n. 4, p. 538-543, Oct. 2006.

YU, M. *et al.* miR-345 inhibits tumor metastasis and EMT by targeting IRF1-mediated mTOR/STAT3/AKT pathway in hepatocellular carcinoma. **International Journal of Oncology**, Athens, v. 50, n. 3, p. 975-983, Mar. 2017.

ZHENG, K. *et al.* CircRNA PIP5K1A promotes the progression of glioma through upregulation of the TCF12/PI3K/AKT pathway by sponging miR-515-5p. **Cancer Cell International**, London, v. 21, n. 1, p. 27, Jan. 2021.

ZHENG, L.; CONNER, S. D. PI5P4Kgamma functions in DTX1-mediated notch signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A**, Washington, v. 115, n. 9, p. E1983-E1990, Feb. 2018.

ZHI, F. *et al.* A serum 6-miRNA panel as a novel non-invasive biomarker for meningioma. **Scientific Reports**, London, v. 6, p. 32067, Aug. 2016.

ZHI, F. *et al.* A microRNA expression signature predicts meningioma recurrence. **International Journal of Cancer**, New York, v. 132, n. 1, p. 128-136, Jan. 2013.

ZHOU, X. *et al.* Deletion of PIK3C3/Vps34 in sensory neurons causes rapid neurodegeneration by disrupting the endosomal but not the autophagic pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A**, v. 107, n. 20, p. 9424-9429, May 2010.