

CENTRO UNIVERSITÁRIO UNINOVAFAPÍ

COORDENAÇÃO DE BIOMEDICINA

SARA LÚCIA PORTELA DO NASCIMENTO

THALITA BOANERGES MIRANDA CARDOSO

**EXPRESSÃO DO KI-67 NA ZONA FASCICULADA DA ADRENAL DE
RATAS WISTERS ADROGENIZADAS TRATADAS COM
EXEMESTANO**

Teresina-PI

2022

SARA LÚCIA PORTELA DO NASCIMENTO
THALITA BOANERGES MIRANDA CARDOSO

**EXPRESSÃO DO KI-67 DA ZONA FASCICULADA DA ADRENAL DE
RATAS WISTERS ADROGENIZADAS TRATADAS COM
EXEMESTANO**

Trabalho de conclusão de curso Monografia
apresentada como exigência para obtenção
do grau Bacharelado em Biomedicina do
Centro Universitário UNINOVAFAPI.

Orientador: Prof. Me. João Victor Alves
Oliveira.

Coorientador: Prof. Me. Jhonatas Cley
Santos Porto.

Teresina-PI

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

N244e Nascimento, Sara Lúcia Portela do.

Expressão do KI-67 na zona fasciculada da adrenal de ratas wisters adrogenizadas tratadas com exemestano. Sara Lúcia Portela do Nascimento; Thalita Boanerges Miranda Cardoso. – Teresina: Uninovafapi/Afya, 2022.

Monografia (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina, 2022.

27. p.; il. 23cm.

Orientador (a): Prof. Me. João Victor Alves Oliveira. Centro Universitário UNINOVAFAPI, 2022.

1. Examestano. 2. Inibidor da aromatase. 3. Córtex adrenal. 4. Ki-67. 5. SOP. 6. Ratas. I. Título. II. Oliveira, João Victor Alves.

CDD 610.69

Catálogo na publicação
Antonio Luis Fonseca Silva – CRB/1035
Francisco Renato Sampaio da Silva – CRB/1028

SARA LÚCIA PORTELA DO NASCIMENTO

THALITA BOANERGES MIRANDA CARDOSO

EXPRESSÃO DE KI-67 DA ZONA FASCICULADA DE RATAS WISTERS ADROGENIZADAS

Trabalho de conclusão de curso Monografia
apresentada como exigência para obtenção
do grau Bacharelado em Biomedicina do
Centro Universitário UNINOVAFAPI.

Aprovada em: 18/11/2022

BANCA EXAMINADORA

João Victor Alves Oliveira
Presidente: Prof. Dr. João Victor Alves Oliveira - UNINOVAFAPI / Biomedicina

[Assinatura]
1º Examinador: Prof. Dr. Francílio de Carvalho Oliveira - UNINOVAFAPI / Biomedicina

Jhonatas Cley Santos Porto
2º Examinador: Me. Jhonatas Cley Santos Porto.- UFPI / Biomedicina

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus por me conceder essa realização, dando-me força e coragem para chegar até aqui. A toda minha família, orientador, coorientador, aos meus pais João Batista e Gerlândia, meus irmãos, aos meus amigos e todos que acreditaram em mim.

Sara Lúcia Portela Do Nascimento

Dedico a Deus por auxiliar-me a realizar todas as minhas conquistas, dando-me resiliência e ânimo para chegar até aqui. A toda minha família, orientador, coorientador, aos meus pais Wanda e Neto, meus irmãos Esther e Caio, aos meus amigos e todos que acreditaram em mim.

Thalita Boanerges Miranda Cardoso

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela minha vida, e por me auxiliar a alcançar êxito nessa etapa da minha vida.

Aos meus pais, irmãos, meus avós e amigos, que sempre me incentivaram em todos os momentos para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meus professores, pelos ensinamentos durante a graduação, que permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação como profissional.

Ao meu orientador e coorientador, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho, apoio e dedicação nessa etapa final de realização desse projeto.

Sara Lúcia Portela Do Nascimento

Expresso gratidão a Deus, pelo dom da vida, e por dar-me inteligência suficiente para concluir essa etapa da minha vida.

Aos meus pais, irmãos, meus avós e amigos que me apoiaram e me incentivaram a seguir com a graduação apesar das dificuldades.

Aos meus *pets* pelo apoio emocional em toda a minha jornada acadêmica.

Ao meu orientador pelo auxílio na escrita desse trabalho, pela mentoria e pela resolução das dúvidas durante todo o processo.

Ao meu coorientador pela disponibilidade de tempo e esforço e pelo auxílio durante a realização desse trabalho.

Aos meus professores, pelos incentivos, discussões e palavras de conforto e apoio que foram essenciais para moldar a minha postura como profissional.

Thalita Boanerges Miranda Cardoso

**EXPRESSÃO DO KI-67 NA ZONA FASCICULADA DA ADRENAL DE
RATAS WISTERS ADROGENIZADAS TRATADAS COM
EXEMESTANO**

KI-67 EXPRESSION IN THE ADRENAL FASCICULATED ZONE OF
ADROGENIZED WISTERS RATS TREATED WITH EXEMESTANE

Sara Lúcia Portela do Nascimento

Graduando em Biomedicina

Instituição: Centro Universitário UNINOVAFAPI

Endereço: Rua Vitorino Orthiges Fernandes, 6123, Bairro Uruguai - Cidade, Teresina
Estado, Pi CEP: 64.073-505, Brazil

E-mail: saraportelah@gmail.com

João Victor Alves Oliveira

Especialista em Perfusão, UNIFESP

Instituição: Centro Universitário UNINOVAFAPI

Endereço: Rua Vitorino Orthiges Fernandes, 6123, Bairro Uruguai - Cidade, Teresina
Estado, Pi CEP: 64.073-505, Brazil

E-mail: joao.oliveira@uninovafapi.edu.br

Thalita Boanerges Miranda Cardoso

Graduando em Biomedicina

Instituição: Centro Universitário UNINOVAFAPI

Endereço: Rua Vitorino Orthiges Fernandes, 6123, Bairro Uruguai - Cidade, Teresina
Estado, Pi CEP: 64.073-505, Brazil

E-mail: boanergesthalita@gmail.com

Jhonatas Cley Santos Porto

Mestre em Saúde Coletiva, UFPI

Instituição: Universidade Federal do Piauí

Endereço: Bairro Ininga Cidade, Teresina Estado, Pi CEP: 64049-550, Brazil

E-mail: jhonatasporto_@gmail.com

RESUMO

Introdução: Os hormônios esteroides estão envolvidas no desenvolvimento e progressão de carcinomas mamários. Desse modo, para combater o excesso de estrogênio, foram projetados inibidores de aromatase, como o exemestano. O córtex suprarrenal secreta corticosteroides e androgênios, especialmente na zona fasciculada. O Ki-67 é um anticorpo monoclonal que expressa proliferação celular e está relacionado ao alto risco de reincidência e baixa sobrevida. Portanto, esse estudo tem por objetivo avaliar a influência do exemestano na atividade proliferativa da zona fasciculada da adrenal de ratas Wistars androgenizadas. **Metodologia:** Trata-se de um estudo experimental, controlado, randomizado, de caráter qualitativo e quantitativo. O cálculo amostral evidenciou um número de 5 animais por grupo, totalizando 10 animais, induzidas a SOP (Síndrome dos Ovários Policísticos). Após isso, os animais foram divididos em dois grupos: controle e experimental. O grupo controle recebeu 0,5ml/dia de propilenoglicol por via oral e o grupo experimental recebeu 10 mg/kg/dia de Exemestano diluído em 0,5ml de propilenoglicol também por via oral, durante 28 dias. No 29º dia, todos os animais foram submetidos a eutanásia. Em seguida, foi realizado o corte histológico da adrenal, e foi posteriormente confeccionado as lâminas imuno-histoquímicas. Considerou-se positivo para Ki-67 os núcleos das células da zona fasciculada corados em marrom e foi feita uma comparação entre os grupos controle e experimental. **Resultados:** A análise quantitativa das porcentagens dos núcleos corados com Ki-67 mostrou uma média de 31,6 (desvio padrão de 10,24) para o grupo experimental e 55,2 (desvio padrão de 6,87) para o grupo controle, com $p=0,003$. **Conclusão:** Ratas androgenizadas submetidas ao tratamento oral com exemestano na dosagem de 10 mg/kg/dia durante 28 dias apresentou significativa redução na expressão do antígeno Ki-67 nas células da zona fasciculada da glândula adrenal.

Palavras-chave: Exemestano, inibidor da aromatase, córtex adrenal, Ki-67, SOP, ratas.

ABSTRACT

Introduction: The steroid hormones are involved in the development and progression of breast carcinomas. Thus, to combat excess estrogen, aromatase inhibitors such as exemestane were designed. The adrenal cortex secretes corticosteroids and androgens, especially in the fasciculated zone. Ki-67 is a monoclonal antibody that expresses cell proliferation and is related to high risk of recurrence and low survival. Therefore, this study aims to evaluate the influence of exemestan on the proliferative activity of the fasciculated zone of adrenal wister androgenrats. **Methodology:** This is an experimental, controlled, randomized, qualitative and quantitative study. The sample calculation showed a number of 5 animals per group, totaling 10 animals, induced by PCOS (Polycystic Ovary Syndrome). After that, the animals were divided into two groups: control and experimental. The control group received 0.5ml/day of propylene glycol orally and the experimental group received 10 mg/kg/day of Exemestan diluted in 0.5ml of propylene glycol also orally for 28 days. On the 29th day, all animals were euthanized. Then, the histological cut of the adrenal was performed, and the immunohistochemical slides were subsequently made. The nuclei of the fasciculated zone cells, which are brown, were considered positive for Ki-67 and a comparison was made between the control and experimental groups. **Results:** The quantitative analysis of the percentages of nuclei with Ki-67 showed an average of 31.6 (standard deviation of 10.24) for the experimental group and 55.2 (standard deviation of 6.87) for the control group, with $p=0.003$. **Conclusion:** Androgenized rats submitted to oral treatment with exemestane at the dosage of 10 mg/kg/day for 28 days showed significant reduction in the expression of Ki-67 antigen in the cells of the fasciculated zone of the adrenal gland.

Keywords: Exemestane, aromatase inhibitor, adrenal cortex, Ki-67, PCOS, rats.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Porcentagem das células marcadas com anticorpo anti-Ki-67 de ratas androgenizadas (grupo controle) e tratadas com exemestano (grupo experimental).....19

Figura 2: Fotomicrografia da zona fasciculada da adrenal do grupo experimental (A) tratadas com exemestano e grupo controle (B) no aumento 400x.....20

Figura 3: Porcentagem média dos núcleos celulares marcados com anticorpo anti- Ki-67 de ratas tratadas com exemestano e grupo controle.....21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Porcentagem média dos núcleos corados com anticorpo anti-Ki-67 por 500 células nos grupos controle e experimental.....	20
---	----

LISTA DE ABREVIACÕES E SBOLOS

CEUA	Comissão de tica no Uso de Animais
CIS	Centro Integrado de Saúde
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentos Animais
ER+	Receptor de estrogênio positivo
h	Horas
IAs	Inibidores de aromatase
mg	Miligramas
ml	Mililitros
Kg	Quilogramas
Ki-67	Antígeno nuclear
SOP	Síndrome dos ovários policísticos
UFPI	Universidade Federal do Piauí

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	MÉTODOS.....	15
3	RESULTADOS	18
4	DISCUSSÃO.....	20
5	CONCLUSÃO	23
	REFERÊNCIAS.....	24
	ANEXO A	28
	ANEXO B	29
	ANEXO C	30
	ANEXO D	31

1 INTRODUÇÃO

O câncer da mama é uma das patologias malignas mais frequente nas mulheres. Segundo a Estimativa 2018 - Incidência de câncer no Brasil, o número de casos incidentes estimados de câncer de mama feminina no Brasil, para 2019, foi de 59.700. Os hormônios esteroides (estrogênio e progesterona) estão envolvidos, respectivamente, na regulação do crescimento ductal e do desenvolvimento alveolar na glândula mamária normal, podendo estar implicadas no desenvolvimento e progressão do cancro da mama (INCA, 2019; THAKKA et al., 2011).

Nesse contexto, faz-se necessário frisar que a aromatase é uma enzima pertencente à família do citocromo p450, localizada no retículo endoplasmático da célula. Nesta família, há enzimas que estão envolvidas no metabolismo de drogas e degradação de hormônios. Estudos entraram em acordo que a enzima aromatase catalisa três etapas independentes que convertem andrógenos em estrogênios (GHOSH et al., 2010; YOSHIMOTO et al., 2014; NARDO et al., 2013).

Dessa maneira, para combater o excesso de estrogênio, foram projetados inibidores de aromatase que se ligam à enzima e impedem a ligação de andrógenos, causando diminuições dramáticas na quantidade de estrogênio produzido localmente (GHOSH et al., 2016).

Vale ressaltar também que o exemestano é um inibidor irreversível da aromatase, ou seja, ele se associa ao substrato androstenediona e atua como falso substrato para a aromatase. Quando o fármaco é reconhecido pela aromatase ele se converte em um intermediário que se liga irreversivelmente causando a sua inativação (MELO, 2009).

Assim, o Ki-67 é um anticorpo monoclonal que expressa proliferação celular, em razão de ser identificada na fase ativa da mitose, apenas. Estudos mostram que a presença dessa proteína nuclear está relacionada ao alto risco de reincidência e baixa sobrevida em pacientes com câncer de mama inicial (POBLETE MT, 2018; AZAMBUJA et al., 2007; PANAL CUSATI M et al., 2014).

Dessa forma, as glândulas suprarrenais ou adrenais atuam como parte do sistema endócrino, com função completamente separada dos rins. Cada suprarrenal tem duas partes: o córtex suprarrenal e a medula suprarrenal, essas porções são de diferentes gêneses e funções distintas. Desse modo, o córtex suprarrenal secreta

corticosteroides e androgênios. Já a medula suprarrenal secreta catecolaminas, como a epinefrina (MOORE et al., 2018)

O córtex adrenal consiste, portanto, em três zonas histológicas tituladas segundo o arranjo das células secretoras: zona glomerulosa, zona fasciculada e zona reticular. A zona glomerulosa secreta, hormônios mineralocorticoides, principalmente aldosterona, cuja secreção é controlada pelo sistema renina-angiotensina (YOUNG et al., 2014).

Diante disso, o segmento fasciculado secreta hormônios glicocorticoides, principalmente cortisol, que exerce uma ampla variedade de efeitos metabólicos, um dos quais é aumentar a glicose no sangue e promover a síntese celular de glicogênio. A zona reticular é a camada mais fina do córtex. Essa parte secreta pequenas quantidades de andrógenos e glicocorticoides (YOUNG et al., 2014).

Consoante a isso, esse estudo tem por objetivo avaliar a influência do exemestano na atividade proliferativa da zona fasciculada da adrenal de ratas Wistars androgenizadas tratadas com exemestano.

2 MÉTODOS

Nesta seção estão apresentados os procedimentos e os recursos metodológicos necessários para a realização desta pesquisa. Assim como a caracterização da pesquisa e a sequência do processo de execução do presente estudo.

2.1 Tipo e local do estudo

Trata-se de um estudo experimental, controlado, randomizado, de caráter qualitativo e quantitativo, realizado no biotério do Núcleo de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal do Piauí (UFPI), no Laboratório de Immunopatologia do Hospital São Marcos e no laboratório da clínica biomédica do CIS-UNINOVAFAPI no período de janeiro de 2021 a outubro de 2022, ambos localizados em Teresina, Piauí. Este estudo foi aprovado pelo Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob parecer de n.º 641/20.

2.2 Cálculo amostral e origem dos animais

O tamanho amostral foi obtido através do teste t de Student para duas amostras independentes com intervalo de confiança de 95% e alfa de 0,05, realizado no software BioEstat 5.3. Para a realização do teste usou-se dados do estudo de Kubatka e colaboradores (2008), cujo desenho metodológico é similar ao desta pesquisa. O cálculo amostral evidenciou um número de 5 animais por grupo, totalizando 10 animais.

Utilizou-se ratas Wistars fêmeas recém-nascidas (1 dia de vida) oriundas do biotério central da UFPI.

2.3 Indução da Síndrome do Ovário Policístico (SOP) e tratamento com exemestano

Inicialmente, a indução SOP foi realizada no segundo dia após o nascimento, com administração de 1,25 mg de propionato de testosterona diluído em 0,5ml de óleo de milho via subcutânea na região dorso cervical de todas as ratas (CHAGAS et al., 2020).

Desse modo, os animais foram mantidos em gaiolas de plásticos com tela metálica no topo, alocados no máximo 4 ratas por gaiola. As gaiolas foram armazenadas em uma sala com temperatura controlada ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e com ciclo circadiano de 12h de luz e 12h de escuro, com ciclo de luz iniciando às 7h e finalizando às 19h com auxílio de lâmpadas fluorescentes.

Consequentemente, a presença da SOP nos animais foi determinada considerando a obliteração do terço distal da vagina das ratas com 90 dias de vida. Uma vez confirmada a presença da SOP, os animais foram randomizados em dois grupos: Grupo I (controle) composto por 5 animais e que receberam 0,5ml/dia de propilenoglicol por via oral com auxílio de uma sonda metálica de gavagem; Grupo II (experimental) constituído por 5 animais e que receberam 10 mg/kg/dia de exemestano diluído em 0,5ml de propilenoglicol também por via oral através de uma sonda metálica de gavagem durante 28 dias. Todos os animais tiveram livre acesso à água e ração durante todo o estudo.

2.4 Obtenção e processamento histoquímico do tecido adrenal

No 29º dia, após o início do tratamento, todos os animais foram submetidos a eutanásia com dose excessiva dos anestésicos Midazolan (15 mg/kg) e Ketamina (300 mg/kg) pela via intraperitoneal. Em seguida, cada rata foi colocada em uma prancha de cortiça para a remoção das glândulas adrenais.

Os tecidos foram imediatamente fixados em formaldeído tamponado 10% por 24h e foram posteriormente submetidos à análise histológica e imunohistoquímica. Apenas uma glândula de cada animal foi analisada neste estudo, adotando como critério de escolha apenas a facilidade da remoção cirúrgica.

O tecido da adrenal foi cortado em seções de 5 mm de espessura e coradas com hematoxilina e eosina (HE), para avaliação morfológica. A avaliação imunohistoquímica com o anticorpo anti-Ki-67 (MIB-5) foi realizada usando um sistema de detecção combinado com um método de recuperação de antígeno, conforme previamente descrito (PORTO, 2022).

2.5 Quantificação

Todas as células com o núcleo corado em marrom, mesmo que fracamente, foi considerada positivo para expressão do antígeno Ki-67. A leitura das lâminas histológicas foi realizada no aumento de 400x. Em cada lâmina, contou-se 500 células em campos aleatórios, iniciando na área de maior concentração de núcleos corados em marrom. A porcentagem de células marcadas com anticorpo anti-Ki-67 foi obtida pela seguinte fórmula $nC/nT \times 100$, onde nT refere-se ao número total de células contadas e nC ao número de células com núcleo marrom.

Todas as lâminas foram lidas por dois pesquisadores, de modo independente. O número de células marcadas com anti-Ki-67 adotado neste estudo foi a média da quantificação dos dois pesquisadores.

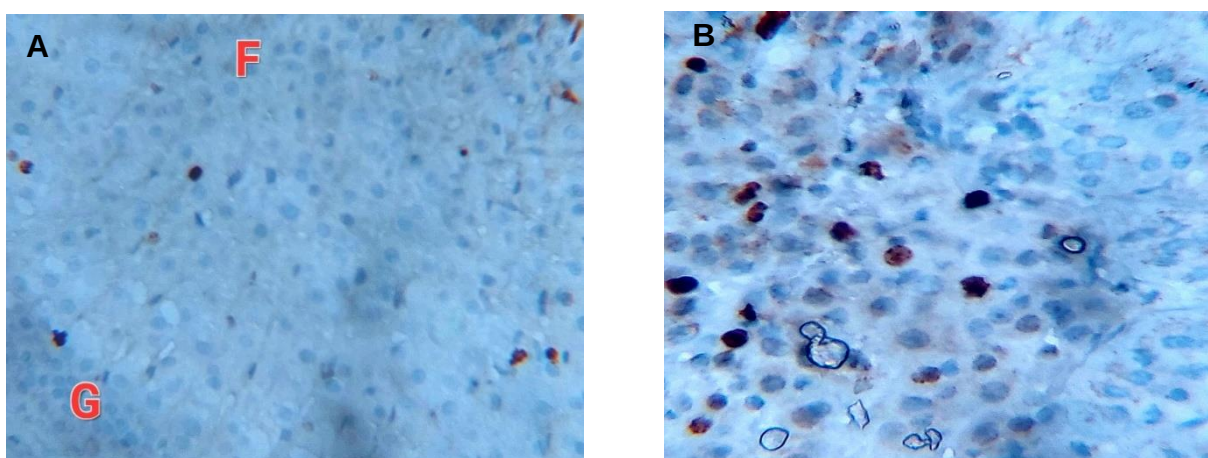
2.6 Análise estatística

Toda a análise estatística foi realizada no software BioEstat versão 5.3. A normalidade das distribuições dos dados foi confirmada por meio do teste de Shapiro-Wilk. O teste t de Student para duas amostras independentes foi utilizado na comparação entre as proporções médias de células coradas nos grupos controle e experimental. Adotou-se um nível significância de 5% ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

As ratas pertencentes ao grupo experimental apresentaram uma menor concentração de células com núcleos corados com anticorpo monoclonal anti-Ki-67 quando comparadas com as ratas do grupo controle, como mostra a figura 1 e figura 2.

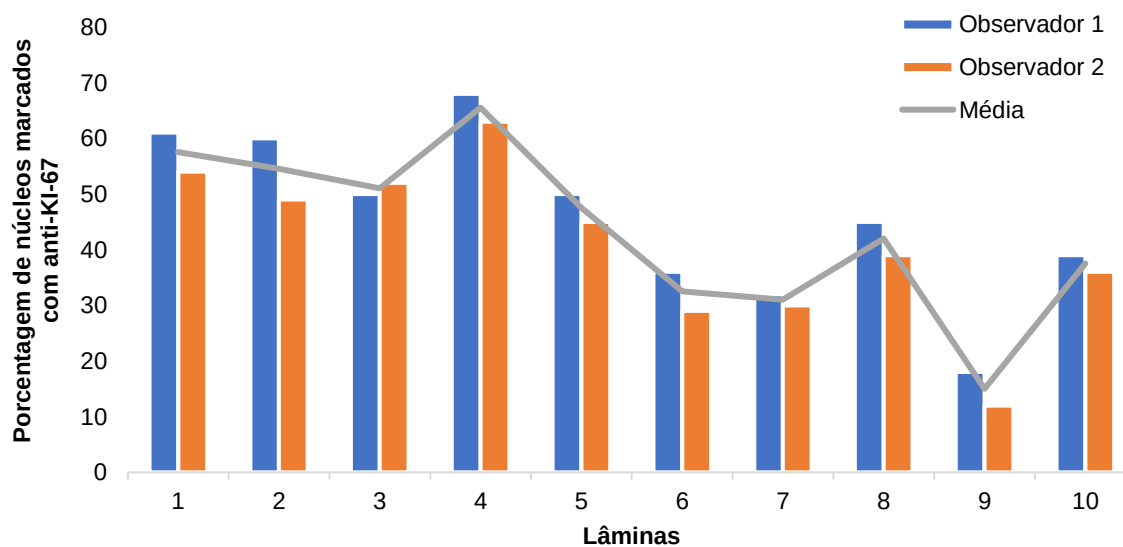
Figura 1. Fotomicrografia da zona fasciculada da adrenal do grupo experimental (A) tratadas com exemestano e grupo controle (B) no aumento 400x.



F: Fasciculada G: Glomerulosa

Fonte: Autores, 2022.

Figura 2. Porcentagem das células marcadas com anticorpo anti-Ki-67 de ratas androgenizadas (grupo controle) e tratadas com exemestano (grupo experimental).



Fonte: Autores, 2022

A análise quantitativa das porcentagens dos núcleos corados com anticorpo anti-Ki-67 mostrou uma média de 31,6 (desvio padrão de 10,24) para o grupo experimental e 55,2 (desvio padrão de 6,87) para o grupo controle, com $P = 0,003$. (Tabela 1)

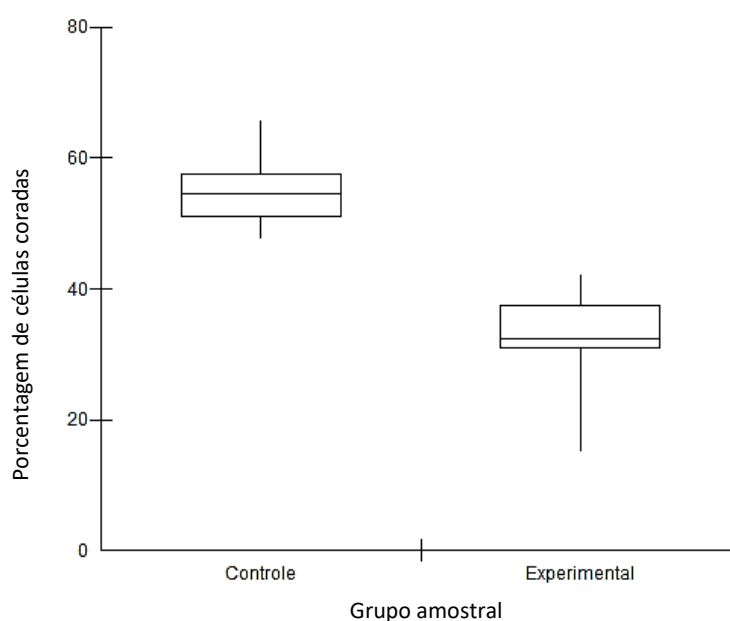
Tabela 1. Porcentagem média dos núcleos corados com anticorpo anti-Ki-67 por 500 células nos grupos controle e experimental.

Grupo	Quantidade	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo
Controle	5	55,2	6,87	65	45
Experimental	5	31,6	10,24	45	12

Fonte: Autores, 2022.

A diferença entre a porcentagem média dos núcleos corados com o marcador anti-Ki-67 nas ratas dos dois grupos é destacada na figura 3.

Figura 3. Porcentagem média dos núcleos celulares marcados com anticorpo anti-Ki-67 de ratas tratadas com exemestano e grupo controle. $P = 0,003$



Fonte: Autores, 2022.

4 DISCUSSÃO

Estudar os efeitos de drogas utilizadas para tratar câncer de mama ER+ em tecido humano são limitados por questões éticas. Portanto, experimentos usando modelos animais são alternativas mais acessíveis para o avanço das ciências (CHAGAS et al.,2020).

A rata em estro persistente é um modelo animal que simula a síndrome do ovário policístico. Esse modelo é interessante para o estudo de moléculas que inibem a síntese de estrogênios, como os inibidores de aromatase, razão da escolha para o presente estudo (CHAGAS et al.,2020).

Sabe-se que o estrogênio estimula o crescimento de células cancerígenas que expressam receptores de estrogênio por estimulação da progressão do ciclo celular. Em períodos de pós-menopausa, a produção nos ovários torna-se insuficiente, então o córtex suprarrenal se torna a principal fonte de esteroides sexuais, produzindo-os na forma de andrógenos. Estes andrógenos são convertidos pela enzima aromatase nos tecidos periféricos (MELO, 2009; CLEMONS M et al., 2001).

Os inibidores da aromatase de terceira geração, como o exemestano, consituem valiosas opções para o tratamento hormonal de pacientes pós-menopausa com câncer de mama avançado. Esse composto apresentam uma maior seletividade pela enzima aromatase sendo fármaco bastante mais potentes que os seus congêneres. Os inibidores de aromatase de terceira geração fazem parte da terapia hormonal para pacientes pós-menopausa (SAAD, 2002; CUZICK, 2008; NABHOLTZ, 2008).

O exemestano provoca uma redução da viabilidade e uma inibição da proliferação celular induzida pela testosterona, de modo que dependente da dose e do tempo de exposição com retenção do ciclo celular na fase G0/G1 (MELO, 2009). Seu nome comercial Aromasin ®, trata-se de um composto antagonista não-competitivo, que se liga de forma irreversível a aromatase inativando-a de forma definitiva. Essa ação torna possível que uma dose diária de 25 mg de exemestano, reduza em 98% a atividade da aromatase e em mais de 90% os níveis plasmáticos de estrona e estradiol (LØNNING et al., 2000).

Há estudos, como o de CHOUEIRII e col. (2004), que dissertam acerca dos efeitos do exemestano em tecidos de ratas, porém, existem divergências no que

tange a dosagem, tempo e via utilizada para administração desse fármaco.

Desse modo, no presente estudo foi usado a via oral, através da técnica de gavagem, para administração do exemestano nos animais avaliados. Essa via foi escolhida por ser similar a principal via de escolha em fêmeas humanas. É importante destacar que o metabolismo de uma rata é mais elevado, quando comparado a um ser humano. Consoante a isso, nessa pesquisa adotou-se pela dosagem de 10 mg/kg/dia, que equivale a 2,5 mg/animal/dia, no qual apresenta similaridade a dosagem clínica de 25 mg/dia, usada no tratamento do câncer de mama em mulheres pós-menopausadas (KUBATKA et al., 2008).

Estudos relativamente recentes destacam o Ki-67 um antígeno perionuclear presente em todas as células. Sendo ele caracterizador de proliferação principalmente nas fases ativas do ciclo celular, ou seja, G1, S, G2 e mitose (MENON, 2019). Trabalhos mostraram que Ki-67 tem papéis na transcrição de rRNA. Essas características durante a biogênese do ribossomo podem explicar a ligação entre a proliferação celular e a expressão de Ki-67 (RAHMANZADEH, et al., 2007).

Wachenfeld e col. (2001), concluiu que um índice de Ki-67 acima de 5% é um indicador sensível e específico de carcinoma adrenocortical, por exemplo, e pode ser útil na diferenciação outros carcinomas. Menon e colaboradores. (2019), postulou recentemente que o Ki-67 tem atraído cada vez mais atenção como um atrativo prognóstico, preditivo e potencial alvo terapêutico em neoplasias malignas, como o carcinoma de pulmão, bexiga, mama, colo do útero, urotelial, trato urinário superior, linfoma e câncer cervical.

Estudos revelaram que os efeitos na redução da proliferação celular pelo exemestano são resultados da retenção da fase G0/G1, que por consequências bloqueiam a fase G1/S da transição de fase do ciclo celular. Esse processo impede que as células entrem na fase S que ocorre quando as células são expostas ao exemestano por um curto período (AMARAL, 2012).

Segundo Silva et al. (2009), quando as ratas estão androgenizadas elas apresentam maior atividade proliferativa nas células do córtex adrenal que ratas não androgenizadas. Porém, nesse estudo não houve a avaliação da zona fasciculada do córtex adrenal, pois se limitou apenas a avaliação da zona reticular.

Zucchini e colaboradores (2015), num estudo clínico em mulheres pós menopausadas, correlacionou os baixos níveis de estrogênios circulantes causados

por IAs com o aumento do colesterol LDL e diminuição do colesterol HDL, consideradas potenciadores de risco de doença cardiovascular. Em contrapartida, Markopoulos et al. (2005) afirmou que o exemestano tem efeito neutro nos níveis de colesterol total e HDL, ao contrário de outros IAs como o tamoxifeno, o exemestano não altera de forma significativa os níveis de LDL.

Embora a avaliação do lipidograma não seja um objetivo desse estudo, é de suma importância correlaciona-os, haja vista que a zona fasciculada é responsável por secretar os glicocorticoides, cortisol e corticosterona, assim como pequenas quantidades de androgênios e estrogênios adrenais (GUYTON, 2017).

No presente estudo, nota-se que as ratas wisters androgenizadas (grupo controle) apresentaram maior concentração de núcleos com a presença do Ki-67 no tecido analisado em comparação ao grupo que recebeu tratamento com exemestano (grupo experimental). No entanto, não é possível realizar um quadro comparativo com outras literaturas e estudos, em razão da carência de pesquisas sobre a narrativa, bem como a limitação desses estudos a apenas análises histológicas da glândula adrenal.

5 CONCLUSÃO

Ratas androgenizadas submetidas ao tratamento oral com exemestano na dosagem de 10 mg/kg/dia durante 28 dias apresentaram significativa redução na expressão do antígeno Ki-67 nas células da zona fasciculada da glândula adrenal.

REFERÊNCIAS

AMARAL, C; BORGES, M; MELO, S; SILVA, ETD; CORREIA-DA-SILVA, G et al. **Apoptosis and Autophagy in Breast Cancer Cells following Exemestane Treatment.** PLOS ONE, 2012.

AZAMBUJA E, et al. **Ki-67 como marcador prognóstico no câncer de mama inicial: uma meta-análise de estudos publicados envolvendo 12.155 pacientes.** BrJ Câncer. 2007.

CHAGAS, DIEGO CIPRIANO et al. **Effects of anastrozole on Ki-67 antigen expression in the vaginal epithelium of female rats in persistent estrus.** Clinics, 2020.

CHIA, S.; GRADISHAR, W.; MAURIAC, L.; BINES, J.; et al. **Double-Blind, Randomized Placebo Controlled Trial of Fulvestrant Compared With Exemestane After Prior Nonsteroidal Aromatase Inhibitor Therapy in Postmenopausal Women With Hormone Receptor–Positive, Advanced Breast Cancer: Results From EFECT.**Journal of Clinical Oncology.26: 10, 1664-1670, 2008.

CHOUERI, T. K.; ALEMANY, C. A.; ABOU-JAWDE, R. M.; BUDD, G. T. **Role of aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer.** Clinical Therapeutics. v. 26, n. 8, p. 1999-1214, 2004.

CLEMONS M, GOSS P. **Estrogen and the risk of breast cancer.** N Engl J Med, 2001.

CUZICK, J. **Avaliação do risco de câncer de mama.** Pesquisa do Câncer de Mama. 10, S13, 2008.

GHOSH, D.; LO, J.; EGBUTA, C. **Progresso recente na descoberta de inibidores de aromatase de próxima geração do ponto de vista estrutura-função.** Jornal de Medicina Química, 59,5131-5148, 2016.

GUYTON, A.C.; Hall J.E.— **Tratado de Fisiologia Médica.** Editora Elsevier. 12^a ed., 2011.

GUYTON, A.C.; Hall J.E.– **Tratado de Fisiologia Médica**. Editora Elsevier. 13^a ed., 2017.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2019.

KUBATKA, P. et al. **Neoplastic effects of exemestane in premenopausal breast cancer model**. *Neoplasma*, v.55, n.6, p.532-543, 2008.

LØNNING, PE, et al. **Activity of exemestane in metastatic breast cancer after failure of nonsteroidal aromatase inhibitors: a phase II trial**. *Journal of Clinical Oncology* ,2000.

MARKOPOULOS, C., POLYCHRONIS, A., ZOBOLAS, V. *et al.* **O efeito do exemestano no perfil lipídico de pacientes com câncer de mama precoce na pós-menopausa: resultados preliminares do subestudo grego da TEAM**. *Breast Cancer Res Treat* 93 , 61–66, 2005.

MELO, SORAIA MILIZA DA CRUZ SANTIAGO MAMEDE DE. **Cancro da mama e Inibidores da Aromatase: avaliação biológica do exemestano na linha celular MCF-7aro**. Departamento de Zoologia Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 2009.

MENON, SUNIL SANKUNNY; GURUVAYOORAPPAN, CHANDRASEKHARAN; SAKTHIVEL, KUNNATHUR MURUGESAN; RASMI, RAJAN RADHA. **KI-67 PROTEIN AS A TUMOUR PROLIFERATION MARKER**. *Clínica Chimica Acta*, Volume 491, 2019.

MOORE et al, **Anatomia orientada para a clínica**. GUANABARA KOOGAN, 8^a edição, 2018.

NABHOLTZ, JM. **Long-term safety of aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer**. *Ther Clin Risk Manag*, 2008.

NARDO, G.D.; GILARDI, G. **Human aromatase: perspectives in biochemistry and biotechnology**. *Biotechnol Appl Biochem*, 2013.

PANAL, CUSATI M., et al. **Correlação entre a expressão de Ki-67 com fatores**

prognósticos e preditivos clássicos no câncer de mama inicial. Rev Senol Patol Mamar. 2014.

POBLETE, MT. **Marcadores úteis no câncer de mama.** Quad Cir. 2018.

PORTO,J.C.S. **Avaliação Da Expressão Do Antígeno Ki-67 Na Zona Reticular Do Córtex Adrenal De Ratas Em Estro Permanente Tratadas Com Exemestano.** Centro De Ciências Da Saúde Programa De Pós-Graduação Em Ciências E Saúde,2022.

RAHMANZADEH, G.R; HÜTTMANN, J. GERDES, et al. **Chromophore-assisted light inactivation of pKi-67 leva à inibição da síntese de RNA ribossomal,** Cell Prolif. 40 (3), 2007.

SAAD, EVERARDO D; BROMBERG, SYLVIO; KATZ, ARTUR; SIMON, SERGIO D. **Inibidores da aromatase no câncer de mama: da doença metastática ao tratamento adjuvante.** REVISTA BRASILEIRA DE CANCEROLOGIA, 2002.

SILVA, BB DA LOPES-COSTA;PV, DOS SANTOS AR; PIRES CG, BORGES; CS, GONTIJO JA. **Avaliação da expressão do antígeno Ki-67 na zona reticular do córtex adrenal de ratas em estro persistente.** Hum Reprod, 2009.

THAKKA, J. P.; MEHTA, D. G. **A review of an unfavorable subset of breast cancer: estrogen receptor positive progesterone receptor negative.** Oncologist, vol. 16, pp. 276- 85, 2011.

WACHENFELD, C; BEUSCHLEIN, F; ZWERMANN, O; MORA, P; FASSNACHT, M; ALLOLIO, B. **Discerning malignancy in adrenocortical tumors: are molecular markers useful?** Eur J Endocrinol, 2001.

YOSHIMOTO, FK; GUENGERICH, FP. **Mechanism of the third oxidative step in the conversion of androgens to estrogens by cytochrome P450 19A1 steroid aromatase.** J Am Chem Soc, 2014.

YOUNG et al. **Histologia Funcional.** ELSEVIER ESPAÑA, 6ª edição, 2014.

ZUCCHINI, G; GEUNA, E; MILANI, A; AVERSA, C; MARTINELLO, R; MONTEMURRO, F. **Clinical utility of exemestane in the treatment of breast**

cancer. Int J Womens Health, 2015.

ANEXO A: Certificado de aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA da Universidade Federal do Piauí.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil. CEP: 64049-550
Telefone (86) 3215-5734, e-mail: ceapi@ufpi.edu.br



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "*Expressão do antígeno Ki-67 em ratas tratadas com exemestano*", registrada nº 641/20, sob a responsabilidade do Prof. Dr. BENEDITO BORGES DA SILVA do Departamento de Ginecologia/ CCS/ UFPI que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em **Ad. Referendum**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	01/07/2020 a 31/10/2020
Espécie/Linhagem/raça	Rato heterogênico/ wistar
Nº de Animais	05
Peso/ Idade	250g a 450g/ adultas >90 dias prenhes, com a mesma idade gestacional.
Sexo	Fêmeas
Origem	Biotério Central da UFPI.
Local de alojamento dos animais durante o experimento	Biotério do Núcleo de Tecnologia Farmacêutica da UFPI.
Grau de Invasividade	1

Teresina, 03 de Junho de 2020.

Prof.ª Ivete L. de Mendonça
Coordenadora do Centro de Ética em Experimentação Animal/UFPI

ANEXO B: Certificado de prorrogação de vigência da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Piauí.



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

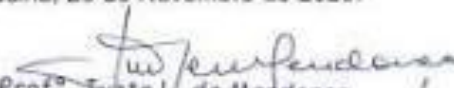
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Saneamento, Teresina, Piauí, Brasil CEP: 64049-550
Telefone (86) 3210-5734 e-mail: ceap@ufpi.edu.br



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado *"Expressão do antígeno ki-67 em ratas tratadas com exemestano"*, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. BENEDITO BORGES DA SILVA** do Departamento de Ginecologia/CCS/ UFPI, com Carta de Aprovação nesta Comissão sob o nº 641/2020, teve após análise da documentação recebida por esta Comissão, a sua solicitação de Prorrogação de Vigência para o período de **01 de Dezembro de 2020 a 31 de Agosto de 2021** e a Solicitação de alteração do local onde serão mantidos os animais durante o experimento para o Biotério Setorial II (localizado no departamento de Biofísica e Fisiologia/CCS/UFPI). **Aprovadas** em Reunião datada de 20 de Novembro de 2020.

Teresina, 25 de Novembro de 2020.


Prof.ª Ivete L. de Mendonça
Comitê de Ética em Experimentação Animal/UFPI
Coordenadora

ANEXO C: Diploma de correção ortográfica em Letras/Português.

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL															
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ															
O REITOR DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ, no uso de suas atribuições e tendo em vista a conclusão do Curso de LICENCIATURA PLENA EM LETRAS/PORTUGUÊS no Campus/Núcleo "CLÓVIS MOURA" em TERESINA - PI, em 28 de setembro de 2012, confere o título de LICENCIADA EM LETRAS/PORTUGUÊS a LUCIANA LEMOS DE MOURA SANTIAGO nascido(a) a 25 de janeiro de 1989, nacionalidade Brasileira, naturalidade TERESINA - PIAUÍ, cédula de identidade 2924102 SSP PI e outorga-lhe o presente Diploma a fim de que possa gozar de todos os direitos e prerrogativas legais. Teresina, 8 de outubro de 2012. <i>Francisco Soares Santos Filho</i> PRO-REITOR DE ENSINO DE GRADUAÇÃO <i>Luciana Lemos de Moura Santiago</i> DIPLOMADO <i>[Assinatura]</i> REITOR															
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ DIVISÃO DE CONTROLE ACADÊMICO E DIPLOMAÇÃO DIPLOMA REGISTRADO NA FORMA DO PARÁGRAFO 1º DO ARTIGO 48 DA LEI. 9.394, DE 20 DE DEZEMBRO DE 1996. <table border="1"> <tr> <td>REGISTRO Nº</td> <td>204</td> <td>LIVRO Nº</td> <td>59</td> </tr> <tr> <td>FOLHA Nº</td> <td>102</td> <td>REGISTRO ACADÊMICO</td> <td>1015745</td> </tr> <tr> <td colspan="4">DATA DE REGISTRO 8/10/2012</td> </tr> </table> <i>Vomazora Figueira Lemos</i> ENCARREGADO(A) DOS REGISTROS <i>Eliztonete Santos Nascimento</i> ELIZONETE SANTOS NASCIMENTO CHEFE DA DIVISÃO DE CONTROLE ACADÊMICO E DIPLOMAÇÃO <i>[Assinatura]</i> MARCILIO JOSÉ DE SOUSA COSTA DIRETOR DO DEPARTAMENTO DE ASSUNTOS ACADÊMICOS RECONHECIMENTO DO CURSO CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM LETRAS/PORTUGUÊS, RECONHECIDO PELO DECRETO ESTADUAL Nº 14.850 DE 05 DE JUNHO DE 2012. UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ DECLARA-SE PARA OS NECESSÁRIOS FINS QUE O(A) PORTADOR(A) DO PRESENTE DIPLOMA ESTÁ LICENCIADO(A) EM LETRAS, COM HABILITAÇÃO EM LÍNGUA PORTUGUESA E LITERATURAS DE LÍNGUA PORTUGUESA.				REGISTRO Nº	204	LIVRO Nº	59	FOLHA Nº	102	REGISTRO ACADÊMICO	1015745	DATA DE REGISTRO 8/10/2012			
REGISTRO Nº	204	LIVRO Nº	59												
FOLHA Nº	102	REGISTRO ACADÊMICO	1015745												
DATA DE REGISTRO 8/10/2012															

ANEXO D: Certificado de tradução em inglês.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRO-REITORIA DE EXTENSÃO
COORDENADORIA DE CURSOS E ESTÁGIOS NÃO OBRIGATÓRIOS

Certificado

Conferido a LUCIANA LEMOS DE MOURA SANTIAGO, por haver
participado do CURSO DE EXTENSÃO CONTINUADO EM LÍNGUA INGLESA – CECLI 2009.2 - Módulo 6 – Turma 171

realizado (a) no período de 11 de setembro a 05 de dezembro de 2009, perfazendo
um total de 45 horas/aula.

Teresina, 03 de agosto de 2010

José Roberto Silva de Sousa
Coordenador da CDEMO

[Assinatura]
Coordenador do Evento

Participante

(IMP. NA ESCALA DE 1/3)