

# ASSOCIAÇÃO ENTRE TAMANHO E POTENCIAL PROLIFERATIVO EM NEURINOMAS DO ACÚSTICO

Oswaldo Inácio de Tella<sup>1</sup>, João Norberto Stavale<sup>2</sup>, Marco Antonio Herculano<sup>3</sup>, Manoel Antonio de Paiva Neto<sup>4</sup>, Franz Jooji Onishi<sup>5</sup>, Francisco de Assis Vaz Guimarães Filho<sup>5</sup>, Luciano Ricardo França e Silva<sup>5</sup>

**RESUMO** - Schwannomas do acústico são os tumores mais freqüentes localizados no ângulo pontocerebelar. Os mecanismos moleculares que levam a sua geração e crescimento ainda não são bem conhecidos. Várias características clínicas, radiológicas e imuno-histoquímicas já foram estudadas e correlacionadas ao crescimento tumoral. Estudamos e correlacionamos aspectos clínicos e imuno-histoquímicos (MIB-1) de 11 schwannomas do acústico operados no Hospital São Paulo/UNIFESP. O tamanho dos tumores correlacionou-se com o índice proliferativo (Ki-67), não havendo correlação com significância estatística entre a idade dos pacientes, duração dos sintomas e índice proliferativo.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ki-67, índice proliferativo, neurinoma do acústico, MIB-1.

## Size and proliferative index correlation in acoustic neuromas

**ABSTRACT** - Acoustic neuromas are the most common tumors in the cerebellopontine angle. The molecular mechanisms involved in generation and growth of these tumors are not completely elucidated. Many radiological, clinic and immunohistochemistry data were correlated to tumor growth. We studied 11 acoustic neuromas surgically treated at Hospital São Paulo/UNIFESP and correlated clinical and radiological data with proliferative index (Ki-67). The size of the tumors were positively correlationated with proliferative index. No other correlation had statistic significance.

**KEY WORDS:** Ki-67, proliferative index, acoustic neuroma, MIB-1.

Neurinomas do acústico são os tumores mais freqüentes do ângulo pontocerebelar. Cerca de 2000 a 3000 casos novos deste tumor são diagnosticados anualmente nos EUA<sup>1</sup>. Geralmente tem crescimento lento, em média 1 a 5 mm por ano, e se originam na bainha do nervo vestibular perto da junção mielínica, próximo ao poro acústico interno. São tumores bem circunscritos e encapsulados por epineuro<sup>2-4</sup>. Atualmente, a ressonância magnética (RM) e tomografia computadorizada (TC) são inadequadas para prever crescimento tumoral a não ser quando feitas de maneira seriada. O melhor entendimento das características de crescimento destes tumores é importante para um melhor entendimento da biologia tumoral e poder ajudar na formulação de decisões clínicas como sobre o tratamento ou observação;

ou ainda a freqüência a serem feitos os exames de imagem.

Testes imuno-histoquímicos trouxeram novas possibilidades na estimativa de crescimento destes tumores, pois permitem a determinação de várias fases do ciclo celular, refletindo a capacidade proliferativa destes tumores. O Ki-67, antígeno nuclear presente somente na divisão nuclear, é o que aparece nas fases G1 (intervalo - "gap" - que se segue a mitose, após a replicação do DNA), G2 (intervalo que precede a mitose) e M (intervalo do ciclo celular de eucariotos, no qual ocorre a divisão do núcleo e do citoplasma) do ciclo celular, exceto na fase de repouso G0 (estado de recessão do ciclo de divisão celular de eucariotos)<sup>5</sup>.

O presente estudo visa correlacionar características

<sup>1</sup>Professor Adjunto Livre Docente da Disciplina de Neurocirurgia da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) e Neurocirurgião do Hospital Professor Edmundo Vasconcelos, São Paulo SP, Brasil; <sup>2</sup>Professor Adjunto da Disciplina de Anatomia Patológica da UNIFESP e Patologista do Hospital Professor Edmundo Vasconcelos; <sup>3</sup>Professor Adjunto da Disciplina de Neurocirurgia da Faculdade de Medicina de Jundiaí e Neurocirurgião do Hospital Professor Edmundo Vasconcelos; <sup>4</sup>Médico Neurocirurgião do Hospital São Paulo/UNIFESP e Neurocirurgião do Hospital Professor Edmundo Vasconcelos; <sup>5</sup>Médico Residente da Disciplina de Neurocirurgia da UNIFESP.

Recebido 18 Março 2005, recebido na forma final 25 Agosto 2005. Aceito 13 Outubro 2005.

Dr. Oswaldo Inácio de Tella Jr. - Rua São Paulo Antigo 145 / bloco F / Apto 11 - 05864-010 São Paulo SP - Brasil. E-mail: detella@ globo.com.br

clínicas e radiológicas selecionadas de schwannomas com os resultados do índice proliferativo.

### MÉTODO

Este estudo inclui 11 pacientes consecutivos, operados na UNIFESP-EPM, no período de janeiro de 2002 a dezembro de 2003 e com diagnóstico anatomopatológico de schwannoma do nervo vestibular unilateral. Foram excluídos pacientes portadores de neurofibromatose. Foi considerada a duração dos sintomas e idade dos pacientes no momento do diagnóstico. Todos os pacientes foram submetidos a estudo de RM de crânio onde o maior diâmetro tumoral de cada tumor foi medido (incluindo porção intracanalicular). Em todos os casos estudados utilizou-se técnica de imunohistoquímica para determinação da expressão do antígeno Ki-67.

Os testes foram conduzidos em tecidos estocados em parafina. A imunohistoquímica foi realizada segundo método descrito por Cattoretti et al.<sup>6</sup>, utilizando-se as especificações contidas no Kit de peroxidase universal (Immunotech, Marselha, França). Os fragmentos de tumor foram desparafinizados e hidratados com banhos de xileno e etanol. Seguiu-se a utilização de citrato tamponado. Após isto, foram processados em microondas por 25 minutos. As lâminas foram então incubadas com soro normal seguido do anticorpo primário MIB-1 (Immunotech). O cromógeno utilizado foi diaminobenzidina e acetilcarbazolamina. As secções foram então coradas com hematoxilina. Para cada série de reações, um controle negativo foi realizado omitindo o MIB-1 e metanol. A célula foi considerada positiva quando parte ou todo o núcleo foi corado. O número de células positivas e negativas foi contado em um total de 500 células por campo em seis campos (seis campos de 500). O índice

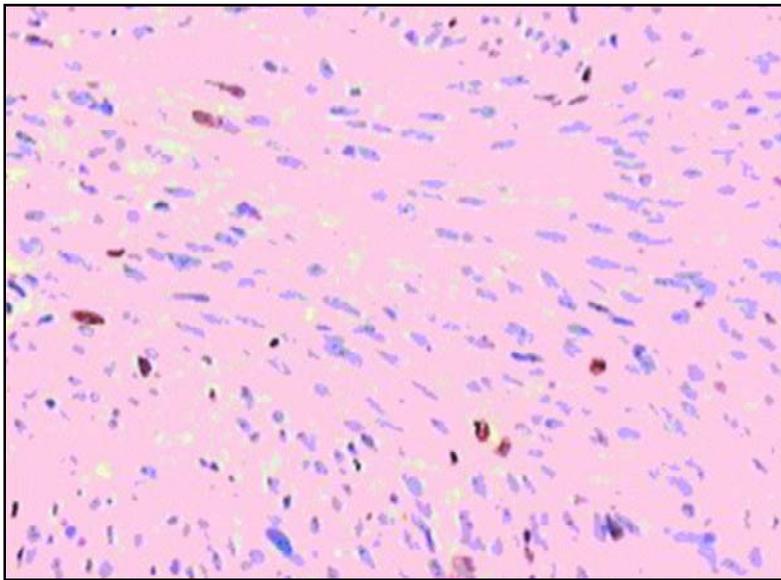


Fig 1. Imuno-histoquímica para Ki-67 usando anticorpo Ki-67 (1:30, DAKO) 100x.

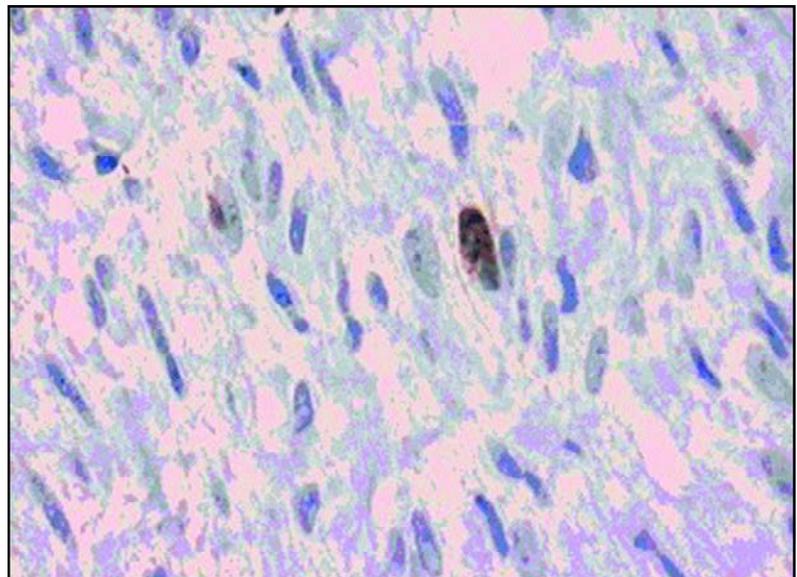


Fig 2. Imuno-histoquímica para Ki-67 usando anticorpo Ki-67 (1:30, DAKO) 400x.

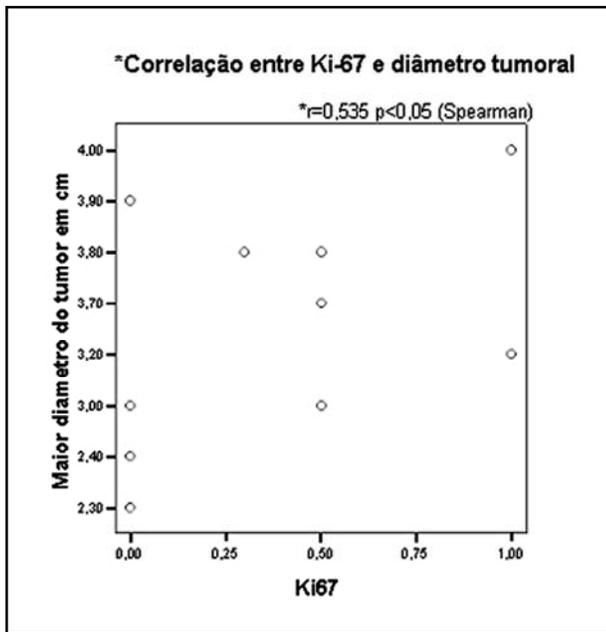


Fig 3. Gráfico mostrando os dados analisados estatisticamente pelo teste de Spearman, considerando como estatisticamente significativo os valores de  $p < 0,05$ .

proliferativo foi definido como a proporção de células positivas em relação ao total avaliado (3000) (Figs 1 e 2).

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando-se testes não paramétricos (Spearman), considerando como estatisticamente significativo os valores de  $p < 0,05$  (Fig 3).

O material foi submetido a imuno-histoquímica no Serviço de Patologia do Hospital Professor Edmundo Vascon-

celos, tendo para tanto a aprovação do Conselho de Ética em Pesquisa dessa Instituição.

## RESULTADOS

A tabela mostra os dados clínicos e índice proliferativo dos pacientes. Todos os pacientes pertenciam ao sexo feminino, tendo sido operados por via subocipital retromastoidéia. O diagnóstico de schwannoma foi confirmado em todos os casos através do tecido fixado em formalina e coloração HE. O índice proliferativo foi analisado em 11 amostras. O Ki-67 variou de 0 a 1%, média 0,35. As complicações cirúrgicas principais foram paresia facial periférica que variou de House e Brackman Grau II em um caso, Grau III em dois casos, Grau V em cinco e Grau VI três casos (Quadro). A audição não foi preservada em nenhum caso.

Seis tumores localizavam-se a direita e cinco à esquerda. A idade variou de 36-79 anos (média 55,3 anos). Houve correlação negativa do índice proliferativo com a idade dos pacientes ( $r = -0,206$ ), porém sem significância.

O diâmetro tumoral máximo (incluindo porção intracanalicular) variou de 23 a 40 mm com média de 32,2 mm. Observou-se correlação positiva entre tamanho tumoral e índice proliferativo ( $r = 0,535$ ) com significância estatística ( $p < 0,05$ ).

A duração dos sintomas antes do diagnóstico ser estabelecido variou de um a 13 meses, com média de 7,1 meses. Os sintomas principais foram hipoacusia em seis casos, vertigem em quatro casos e cefaléia

Tabela. Distribuição dos casos clínicos, segundo sexo, idade, duração dos sintomas em meses, tamanho do tumor em centímetros e o índice do Ki-67.

Caso	Sexo/Idade	Duração dos sintomas (meses)	Tamanho tumor (cm)	Ki-67
1	F/79	6	3,8	0,3
2	F/55	1	3,7	0,5
3	F/50	9	3,9	0
4	F/55	6	3,2	1
5	F/66	9	2,4	0
6	F/36	12	2,3	0
7	F/53	1	4	1
8	F/71	15	3,0	0
9	F/59	3	2,4	0
10	F/45	4	3	0,5
11	F/40	3	3,8	0,6

Quadro. Escala de House e Brackman.

Grau	Quadro clínico
I	Função normal em todos territórios
II	Disfunção leve. Ligeira ou leve debilidade da musculatura, detectada na inspeção meticulosa. Em repouso simetria normal. Sem sincinesias, nem contraturas ou espasmos faciais
III	Disfunção moderada. Diferença clara entre ambos lados sem ser desfigurante. Incompetência para o fechamento palpebral completo; existe movimento de região frontal, assimetria da comissura labial em movimentos máximos. Em repouso simetria e tonus normal
IV	Disfunção moderadamente severa. Debilidade e/ou assimetria desfigurante. Em repouso simetria e tonus normal. Não existe movimento de região frontal; impossibilidade para fechar o olho totalmente. Sincinesias. Espasmo facial.
V	Disfunção severa. Somente ligeira atividade motora perceptível. Em repouso assimetria.
VI	Paralisia total. Não existe movimento facial. Perda total do tonus.

em um caso. Todos os pacientes, exceto o Caso 8, com duração dos sintomas maior que seis meses tiveram  $Ki-67=06$ . Os cinco pacientes que apresentaram sintomas com duração menor ou igual a seis meses apresentaram  $Ki-67$  que variou de 0,3 a 1. Correlacionando estes dados observou-se relação negativa entre a duração dos sintomas e o índice proliferativo ( $r=-0,487 / p>0,05$ ).

## DISCUSSÃO

As características anatomopatológicas dos schwannomas do acústico são idênticas de todos outros schwannomas. Em casos raros, o exame histopatológico pode revelar achados não típicos de schwannomas benignos como: lesões atípicas ou malignas com índices mitóticos altos, figuras de mitose atípicas e pobre diferenciação celular<sup>7</sup>. O mecanismo molecular que gera sua formação e crescimento ainda é desconhecido.

A incidência de neurinomas do acústico assintomáticos tem frequência de 0,57% a 0,87%, segundo estudo de ossos temporais em necropsia. Isto leva a crer que menos de 1% de todos os neuromas do acústico têm crescimento suficiente para se tornar clinicamente ativos. Estudos mostrando RM seriada sugerem que em 40% casos não há crescimento tumoral

ou pode haver até diminuição de seu tamanho. Crescimento maior que 1 cm/ano pode ser observado em até 13% dos tumores. Com o advento de técnicas de imagem mais sofisticadas, a chance de se diagnosticar um tumor que não será sintomático tem crescido significativamente.

Vários estudos já foram realizados para se avaliar o crescimento destes tumores. Em metanálise realizada com 571 pacientes com média de idade de 64 anos e seguimento médio de três anos, mostrou crescimento em 54% dos casos<sup>8</sup>. Charabi et al., relataram crescimento médio de 2,4 mm/ano em 108 casos estudados, 34% necessitando tratamento durante o período<sup>9</sup>. Rosenberg<sup>1</sup>, em 80 pacientes, observou crescimento em 57,8% dos casos em seguimento de 4,4 anos, somente 5,7% dos pacientes maiores que 65 anos necessitaram de tratamento cirúrgico durante o acompanhamento.

Em 1950, Olivecrona reviu seus resultados em ressecção parcial de neuromas do acústico e concluiu que alguns tumores param de crescer após ressecção subtotal. No entanto, alguns anos após, ele relatou a recorrência em 21% dos casos; também observou menor mortalidade em longo prazo quando os tumores eram ressecados totalmente<sup>10</sup>. House relatou recorrência de 23% em 56 ressecções subtotais, um terço destes precisando ser reoperados em quatro anos<sup>11</sup>. O índice de recorrência variou de 12,5 a 45% em vários estudos. Rosenberg demonstrou que 68% dos pacientes não apresentaram crescimento tumoral após ressecção subtotal. O índice de recorrência em tumores com ressecção total varia de 0,4-2%<sup>1,3,10-12</sup>.

A proliferação celular não é o único fator envolvido no crescimento dos schwannomas vestibulares; estes também podem se expandir devido a degeneração cística e sangramento. Porém, é o mais fácil de ser avaliado<sup>5,13</sup>. A desvantagem é que só pode ser utilizado após tratamento cirúrgico. O  $Ki-67$  tem sido usado exhaustivamente como marcador de proliferação celular expressando a proliferação ou índice de crescimento de vários tumores. Alguns autores mostraram uma leve tendência do índice proliferativo diminuir com a idade do paciente<sup>14</sup>. Charabi et al.<sup>15,16</sup> acharam relação inversa significativa entre a duração dos sintomas e índice proliferativo em duas séries de 21 e 124 tumores, mas nenhuma correlação entre tamanho do tumor e proliferação. O nosso material não mostrou correlação estatisticamente significativa entre duração dos sintomas e índice proliferativo.

Pela presente casuística houve correlação positiva entre o tamanho tumoral e índice proliferativo ( $p<$

0,05), não se observando correlação estatisticamente significativa entre índice proliferativo e idade dos pacientes, provavelmente por ser a nossa série. Bedavanija et al.<sup>17</sup> mostraram que neurinomas grandes exibem índices proliferativos e de crescimento maiores que tumores pequenos, indicando como tamanho de corte 18 mm. Sugeriram que tumores grandes parecem crescer mais rapidamente que tumores pequenos. Também demonstraram que tumores pequenos e com baixo índice proliferativo ocorrem em todas as idades, com tendência a uma atividade proliferativa menor nos pacientes acima de 50 anos. Sugere-se que tumores agressivos são raros em idosos, enquanto tumores de crescimento lento podem aparecer em qualquer idade. A correlação positiva entre tamanho tumoral e velocidade de crescimento foi confirmada em outros estudos<sup>1,3,5</sup>. Aguiar et al. também observaram índices mitóticos maiores em tumores císticos e pacientes mais jovens<sup>5</sup>. Estes autores sugerem tratamento ativo no subgrupo de pacientes menores que 50 anos com tumores grandes. Fucci et al. mostraram índice proliferativo maior em schwannomas atípicos que têm tendência maior de recorrência sendo necessário um acompanhamento mais próximo<sup>18</sup>.

A aferição do índice proliferativo ainda pode ser útil quando há ressecção parcial do tumor, visando-se preservação de nervos cranianos. Permite a seleção de pacientes que devem ser acompanhados com investigação radiológica mais freqüente, facilitando assim a detecção de recorrência<sup>14,19,20</sup>.

Em conclusão, o anticorpo Ki-67 tem sido útil em demonstrar a atividade proliferativa dos schwannomas do acústico. Características clínico-radiológicas como duração dos sintomas, idade dos pacientes e tamanho tumoral podem estar correlacionadas com o crescimento destes tumores, sendo demonstrada correlação positiva estatisticamente significativa somente quando foi comparado o tamanho do tumor e índice proliferativo nos casos estudados neste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- Rosenberg SI. Natural history of acoustic neuromas. *Laryngoscope* 2000;110:497-508.
- Wazen J, Silverstein H, Norrell H, Besse B. Preoperative and postoperative growth rates in acoustic neuromas documented with CT scanning. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1985;93:151-155.
- Silverstein H, McDaniel A, Norrell H, Wazen J. Conservative management of acoustic neuroma in the elderly patient. *Laryngoscope* 1985;95:766-770.
- Zöllner C, Bockenheimer S. The growth rate of acoustic neuromas: a report of three cases. *Arch Otorhinolaryngol* 1985;241:259-264.
- Aguiar PH, Tatagiba M, Dankoweit-Timpe E, Matthies C, Samii M, Ostertag H. Proliferative activity of acoustic neurilemmomas without neurofibromatosis determined by monoclonal antibody MIB 1. *Acta Neurochir (Wien)* 1995;134:35-39.
- Cattoretti G, Becker MH, Key G, et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992;168:357-363.
- Light JP, Roland JT, Fishman A, Miller DC, Cohen NL. Atypical and low-grade malignant vestibular schwannomas: clinical implications of proliferative activity. *Otol Neurotol* 2001;22:922-927.
- Selesnick SH, Johnson G. Radiologic surveillance of acoustic neuromas. *Am J Otol* 1998;19:846-849.
- Charabi S, Thomsen J, Mantoni M, et al. Acoustic neuroma (vestibular schwannoma): growth and surgical and nonsurgical consequences of the wait-and-see policy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1995;113:5-14.
- Olivecrona H. Analysis of results of complete and partial removal of acoustic neuromas. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1950;13:271-272.
- House WF, Luetje CM. *Acoustic tumors*. Baltimore: University Park Press, 1979.
- Ohta S, Yokoyama T, Nishizawa S, Uemura K. Regrowth of the residual tumour after acoustic neurinoma surgery. *Br J Neurosurg* 1998;12:419-422.
- Aguiar PH, Tatagiba M, Samii M, Dankoweit-Timpe E, Ostertag H. The comparison between the growth fraction of bilateral vestibular schwannomas in neurofibromatosis 2 (NF2) and unilateral vestibular schwannomas using the monoclonal antibody MIB 1. *Acta Neurochir (Wien)* 1995;134:40-45.
- Niemczyk K, Vaneecloo FM, Lemaitre L, et al. The growth of acoustic neuromas in volumetric radiologic assessment. *Am J Otol* 1999;20:244-248.
- Charabi S, Engel P, Jacobsen GK, Tos M, Thomsen J. Growth rate of acoustic neuroma expressed by Ki-67 nuclear antigen versus symptom duration. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1993;102:805-809.
- Charabi S, Engel P, Charabi B, et al. Growth of vestibular schwannomas: in situ model employing the monoclonal antibody Ki-67 and DNA flow cytometry. *Am J Otol* 1996;17:301-306.
- Bedavanija A, Brieger J, Lehr HA, Maurer J, Mann WJ. Association of proliferative activity and size in acoustic neuroma: implications for timing of surgery. *J Neurosurg* 2003;98:807-811.
- Fucci MJ, Buchman CA, Brackmann DE, Berliner KI. Acoustic tumor growth: implications for treatment choices. *Am J Otol* 1999;20:495-499.
- Hwang SK, Kim DG, Paek SH, et al. Aggressive vestibular schwannomas with postoperative rapid growth: clinicopathological analysis of 15 cases. *Neurosurgery* 2002;51:1381-1391. Comment in: *Neurosurgery* 2003;53:786; author reply 786-787.
- Chen JM, Houle S, Ang LC, Commins D, Allan K, Nedzelski J, Rowed D. A study of vestibular schwannomas using positron emission tomography and monoclonal antibody Ki-67. *Am J Otol* 1998;19:840-845.