

PUCRS

ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE

Christina Pimentel Oppermann

Expressão de SIRT 1 e SIRT 7 no Câncer de Endométrio

Porto Alegre
2017

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA E CIÊNCIAS DA SAÚDE
ESCOLA DE MEDICINA

Christina Pimentel Oppermann

Expressão de SIRT 1 e SIRT 7 no Câncer de Endométrio

Dissertação para obtenção do grau de Mestre
Dissertação apresentada como requisito para a
obtenção do grau de Mestre pelo Programa de
Pós-Graduação em Medicina e Ciências da
Saúde da Escola de Medicina da Pontifícia
Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientadores: Gustavo Franco Carvalhal

Vinícius Duval da Silva

Porto Alegre

2017

Ficha Catalográfica

O62e Oppermann, Christina Pimentel

Expressão de SIRT 1 e SIRT 7 no Câncer de Endométrio /
Christina Pimentel Oppermann . – 2017.

065 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em
Medicina e Ciências da Saúde, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Franco Carvalhal.

Co-orientador: Prof. Dr. Vinícius Duval da Silva.

1. câncer de endométrio. 2. sirtuínas. 3. SIRT1. 4. SIRT7. I.
Carvalhal, Gustavo Franco. II. Silva, Vinícius Duval da. III.
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da PUCRS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Bibliotecário responsável: Marcelo Votto Teixeira CRB-10/1974

Christina Pimentel Oppermann

Expressão de SIRT 1 e SIRT 7 no Câncer de Endométrio

Dissertação para obtenção do grau de Mestre
Dissertação apresentada como requisito para a
obtenção do grau de Mestre pelo Programa de
Pós-Graduação em Medicina e Ciências da
Saúde da Escola de Medicina da Pontifícia
Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientadores: Gustavo Franco Carvalhal

Vinícius Duval da Silva

Aprovada em: ____ de _____ de _____.

Prof. Dr. Alan Azambuja

Prof. Dr. Dr. Fernando Anschau

Prof. Dr. Eduardo Neubarth Trindade

Suplente: Prof. Dr. Alexandre Vontobel Padoim

Porto Alegre

2017

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores, Dr. Vinícius Duval da Silva pela ajuda na elaboração e desenvolvimento do projeto e ao Dr. Gustavo Franco Carvalhal pela dedicação incansável e auxílio na finalização desse trabalho

A minha amiga e colega Chrystiane Marc pelo incentivo e auxílio nas diversas fases do desenvolvimento desse trabalho

Ao técnico em histologia Tiago Giuliani Lopes, pela ajuda na preparação do material anatomopatológico e na técnica de imunohistoquímica das amostras a serem analisadas e pela parceria durante todos esses anos

A Patologista Valentina Provenzi pela ajuda na análise imunohistoquímica das amostras

Aos meus pais Flávio e Sônia e minha irmã Luciana por sempre me incentivarem e acompanharem em todas as etapas da minha vida com apoio incondicional

Ao meu esposo Luis Mario por me apoiar e encorajar em seguir adiante em todos os meus projetos e no meu desenvolvimento profissional e pela compreensão e cuidados com nosso filho nos vários momentos de ausência durante a realização e finalização desse trabalho

Ao meu filho Luis Henrique que me mostrou o amor incondicional e deu um novo sentido à vida

RESUMO

Introdução: O câncer de endométrio é a neoplasia maligna ginecológica mais prevalente nos países desenvolvidos e a segunda mais prevalente no Brasil, menos freqüente apenas do que o câncer de colo uterino. Corresponde a 5% dos cânceres em mulheres no mundo. A maioria dos casos se apresenta como doença inicial, sendo o tratamento cirúrgico curativo. Existem poucas opções de tratamento para pacientes com fatores prognósticos adversos e com doença avançada, sendo ainda pouco elucidado o processo de carcinogênese no câncer de endométrio. As sirtuínas são proteínas envolvidas em diversos processos celulares. Sua família é composta por sete sirtuínas (SIRT1-SIRT7). Apresentam localizações celulares específicas, atuando em uma série de processos, incluindo a regulação da transcrição gênica, estabilidade genômica, controle metabólico, regulação do ciclo celular e sobrevivência celular. Poucos estudos avaliaram o papel das sirtuínas no câncer de endométrio, bem como a sua associação com fatores prognósticos. **Objetivo:** avaliar a expressão das enzimas SIRT1 e SIRT7 em amostras histológicas de carcinoma de endométrio de pacientes operadas no Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2015 e associar a expressão dessas proteínas com o estadiamento patológico e fatores prognósticos. **Métodos:** foi realizado um estudo retrospectivo com a avaliação de 66 amostras de pacientes com câncer de endométrio no período de janeiro de 2000 até dezembro de 2015. A expressão das proteínas SIRT1 e SIRT7 foi identificada pela técnica de imunohistoquímica e quantificada pelo escore de Allred. A expressão dessas proteínas nas amostras de neoplasia foi correlacionada com os fatores prognósticos: idade, grau tumoral, tamanho do tumor, invasão miometrial, invasão linfovascular e estadiamento patológico. **Resultados:** a expressão de SIRT1 foi positiva em 40.9% das amostras e a de SIRT7 em 24.1% dos casos. A expressão dessas proteínas não apresentou associação estatisticamente significativa com nenhum dos fatores prognósticos adversos no câncer de endométrio. **Conclusões:** as amostras de câncer de endométrio apresentaram positividade, tanto para SIRT1 quanto para SIRT7, mas sem correlação com fatores prognósticos. A expressão dessas proteínas em amostras de neoplasia de endométrio pode significar um possível alvo terapêutico a ser estudado e desenvolvido em estudos futuros.

Palavras –chave: câncer de endométrio, sirtuínas, SIRT1, SIRT7

ABSTRACT

Introduction: endometrial cancer is the most prevalent gynecological neoplasm in developed countries and the second most prevalent in Brazil, second only to cervical cancer. It corresponds to 5% of cancers in women worldwide. The majority of cases present as initial disease, and surgical treatment is curative. Few treatment options exist for patients with poor prognostic factors and advanced disease, and the process of carcinogenesis in endometrial cancer has not been fully elucidated. Sirtuins are proteins involved in several cellular processes. The family of these proteins is composed of seven sirtuins (SIRT1-SIRT7). They present specific cell locations, acting in a variety of processes, including regulation of gene transcription, genomic stability, metabolic control, cell cycle regulation, and cell survival. Few studies have evaluated the role of sirtuins in endometrial cancer as well as its association with prognostic factors. **Objective:** to evaluate the expression of SIRT1 and SIRT7 enzymes in histological samples of endometrial carcinoma of patients operated at Hospital São Lucas (Pontifícia Universidade Católica) between January 2000 and December 2015 and associate the expression of these proteins with the pathological staging and prognostic factors. **Materials and Methods:** we performed a retrospective study evaluating 66 samples of patients with endometrial cancer from January 2000 to December 2015. The expression of SIRT1 and SIRT7 proteins was identified by the immunohistochemical technique and quantified by the Allred score. The expression of these proteins in cancer samples was correlated with the prognostic factors: age, tumor grade, tumor size, myometrial invasion, lymphovascular invasion and pathological staging. **Results:** SIRT 1 expression was positive in 40.9% of samples and SIRT7 expression in 24.1% of cases. Expression of these proteins did not present a statistically significant association with any of the adverse prognostic factors in endometrial cancer. **Conclusions:** endometrial cancer samples were positive for both SIRT1 and SIRT7, but without correlation in the study with prognostic factors. Expression of these proteins in samples of endometrial cancer may represent a possible therapeutic target to be developed in future studies.

Keywords: endometrial carcinoma, sirtuin, SIRT1, SIRT7

LISTA DE ABREVIATURAS

ARID1A: gene com atividade do tipo helicase e atepase envolvido na transcrição genética

CTNNB1: gene que atua na transcrição de DNA celular

DBC1: deleted in Breast Cancer 1

dMMR: deficiência de mismatchrepair

DNA: ácido desoxirribonucléico

FIGO: Federação Internacional de Ginecologia e Obstetrícia

HAT: histonas acetiltransferases

HTDAC: histonas desacetilases

IMH: imunohistoquímica

KRAS: gene ativador tumoral

MMR: mismatch repair

Mono-adp-ribosiltransferases: enzimas celulares que agem no núcleo no processo de transcrição celular

MSI: instabilidade de microssatélites

NAD: nicotinamida adenina dinucleotídeo

P53: gene supressor tumoral

PIK3CA: gene envolvido na fosforilação celular

PTEN: gene supressor tumoral

RNA: ácido ribonucléico

rRNA: RNA ribossômico

Sir: genes reguladores da informação silenciosa

SIRT1: sirtuína 1

SIRT7: sirtuína 7

Sirtinol: inibidor de SIRT1

SOP: Síndrome dos ovários policísticos

tRNA: RNA transportador

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A estrutura da cromatina celular	24
---	----

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1 - Fatores de Risco para o Câncer de Endométrio.....	14
Tabela 2 - Classificação Genômica do Câncer de Endométrio	16
Quadro 1 - Estadiamento e Tratamento.....	17
Quadro 2 - Risco de recorrência.....	18
Quadro 3 - Recomendações para tratamento cirúrgico	20
Quadro 4 - Sirtuínas	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 CÂNCER DE ENDOMÉTRIO	12
2.1.1Epidemiologia, fatores de risco, diagnóstico e patologia.....	12
2.2 ESTADIAMENTO E TRATAMENTO	17
2.3 TRATAMENTO ADJUVANTE	20
2.4 SIRTUINAS: SIRT1 E SIRT7.....	23
3 OBJETIVO	30
4 HIPOTESE.....	31
5 MATERIAIS E MÉTODOS	32
5.1 PACIENTES E AMOSTRAS.....	32
6 ARTIGO ORIGINAL	34
7 DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
8 REFERÊNCIAS	56
ANEXO.....	64
ANEXO 1 – COMPROVANTE DA SUBMISSÃO DE ARTIGO	64
ANEXO 2 – COMPROVANTE APROVAÇÃO CEP	65

1 INTRODUÇÃO

O câncer de endométrio é uma neoplasia prevalente. A maioria das pacientes se apresenta com doença inicial sendo o tratamento cirúrgico na maioria das vezes curativo. Existem poucas opções de drogas (quimioterápicos) para o tratamento adjuvante e para o tratamento da doença metastática (1). As sirtuínas foram avaliadas em vários estudos em relação ao seu papel na carcinogênese ou supressão da mesma em vários tipos de tumores. Pouco se sabe sobre a sua expressão e função no câncer de endométrio (2) (3) (4) (5). Muitas drogas inibidoras e /ou estimuladoras dos mecanismos de ação das sirtuínas estão sendo estudadas e desenvolvidas, mas ainda não há dados em câncer de endométrio (6) (7) (8). A avaliação da expressão dessas proteínas em amostras de câncer de endométrio pode sinalizar um futuro alvo terapêutico a ser bloqueado e/ou estimulado no tratamento dessa neoplasia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CÂNCER DE ENDOMÉTRIO

2.1.1 Epidemiologia, fatores de risco, diagnóstico e patologia

O câncer de endométrio é a neoplasia ginecológica mais prevalente nos países desenvolvidos e a segunda mais prevalente nos países em desenvolvimento. Em 2012, ocorreram 527.000 diagnósticos no mundo inteiro, sendo que a taxa de mortalidade foi de 1,7 a 2,4 a cada 100.000 mulheres. Corresponde a 5% dos cânceres em mulheres no mundo (9). No Brasil, entre as neoplasias em mulheres, é o sexto tipo mais freqüente, o segundo tumor ginecológico mais prevalente, sendo o primeiro, o câncer de colo uterino. A taxa de mortalidade é substancialmente mais baixa do que a incidência, em que difere das outras neoplasias (10). A idade média ao diagnóstico é de 62 anos, sendo prevalente em mulheres pós-menopáusicas. Em idades mais precoces, principalmente com diagnóstico antes dos 50 anos, deve-se considerar a possibilidade de Síndrome de Lynch. A síndrome de Lynch é responsável por 2-5% dos cânceres de endométrio. Em mulheres com essa síndrome genética, o risco de desenvolver a neoplasia é de 27 a 71% durante toda a vida, comparando-se com 2.6% na população em geral. Em relação à apresentação da doença, a maioria dos diagnósticos é feita em estágios iniciais com a predominância dos adenocarcinomas do tipo endometrióide (11) (12). Podemos agrupar os carcinomas de endométrio em dois grupos distintos, os tumores tipo I e os tumores tipo II.

Os tumores tipo I correspondem a 80 % dos casos e compreendem tumores endometrióides grau 1 e 2. Normalmente têm um prognóstico favorável, são sensíveis aos estrógenos e podem ser decorrentes de uma neoplasia intra-epitelial endometrial. Os tumores tipo II correspondem há 10-20% dos casos. Incluem tumores grau 3 e os tumores de histologia não endometrióide, como tumores serosos, de células claras, mucinosos, escamosos, de células transicionais, de células mesonéfricas, indiferenciados e carcinosarcomas. Os

tumores de histologia não-endometrióides normalmente têm um prognóstico reservado e não estão associados à estimulação estrogênica (13) (14).

Os fatores de risco também diferem para os tumores tipo I e tipo II. O principal fator de risco para os tumores tipo I é a exposição estrogênica prolongada sem o adequado efeito progestágeno opositor (15). Outros fatores de risco incluem obesidade, nuliparidade, diabetes mérito e hipertensão arterial. As alterações hiperplásicas do endométrio também estão envolvidas no desenvolvimento dessa neoplasia. O risco da hiperplasia de endométrio progredir para carcinoma está relacionado à presença e intensidade da atipia citológica. A progressão para carcinoma ocorre em 8% nas hiperplasias simples com atipias e em 29% nas hiperplasias complexas com atipias (16). As mulheres obesas e com diabetes mérito tipo II têm um risco aumentado de câncer de endométrio devido à concentração aumentada de estrógeno circulante secundário à aromatização periférica de androstenediona em estradiol no tecido adiposo principalmente abdominal. Esse tipo de neoplasia ocorre principalmente em mulheres pós-menopáusicas. A ocorrência em mulheres jovens está associada à anovulação crônica presente na Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP). O papel da associação de diabetes mérito e obesidade como fatores de risco para essa neoplasia ainda não é bem estabelecido. Ainda não se sabe se ocorre somente pelo excesso de estrógeno circulante ou se a resistência a insulina presente nessas duas doenças também exerceria algum papel (17).

Várias alterações genéticas foram estudadas e elucidadas no carcinoma endometrióide incluindo mutações nos genes PTEN, KRAS, ARID1A, PIK3CA e CTNNB1, instabilidade de microssatélites (MSI) e status mismatch repair (MMR). A MSI é encontrada em aproximadamente um terço dos carcinomas endometrióides e frequentemente ocorre devido à inativação das proteínas de reparo MLH1 secundário à hipermetilação. A mutação do gene p53 é incomum em neoplasias endometrióides e somente é vista em tumores grau 3 (18) (19). Podemos classificar os tumores endometrióides utilizando o sistema de classificação da FIGO que avalia a arquitetura celular e o grau nuclear:

- Grau 1 : menor ou igual 5% de padrão de crescimento sólido não escamoso
- Grau 2: 6% a 50% de padrão de crescimento sólido não-escamoso ou não morular
- Grau 3 : mais de 50 % de padrão de crescimento sólido não escamoso ou não morular

Os tumores serosos, células claras ou tumores mesodérmicos mistos são classificados como grau 3 (20).

Os tumores tipo II compreendem os carcinomas endometrióides grau 3 e as outras histologias. A estimulação estrogênica não constitui um fator de risco para esse grupo, sendo assim comumente não expressam receptores para estrógeno e progesterona. Normalmente surgem em um endométrio atrófico ou em um pólipó endometrial, não estão associados à obesidade e ocorrem em idades mais avançadas (21). A seguir, a tabela com os fatores de risco para o câncer de endométrio:

Tabela 1 - Fatores de Risco para o Câncer de Endométrio

Fator de Risco	Risco relativo (RR)
	(outros métodos estatísticos são descritos quando utilizados)
Idade avançada	Aumento de 1.4% na prevalência do câncer de endométrio em mulheres entre 50-70 anos
Terapia estrogênica sem oposição de progestágeno	2 a 10
Tratamento com Tamoxifeno	2
Menarca precoce	NA
Menopausa tardia (após os 55 anos)	2
Nuliparidade	2
Síndrome dos vários policísticos (SOP)	3
Obesidade	<u>Para tumores tipo I</u> :OR 1.5 para IMC 25-30; OR 2.5 para IMC 30-35; OR 4.5 para IMC 35-39 e 7.1 para IMC >= a 40. <u>Para tumores tipo II</u> : OR 1.2 para IMC 25-30; OR 1,7 para IMC 30-35; OR 2.2 para IMC 35-39 e OR 3.1 para IMC > = a 40.
Diabete Mérito	2
Tumores secretores de estrógeno	NA
Síndrome de Lynch	22 a 50 % durante toda a vida
Síndrome de Cowden	13 a 19% durante toda a vida
História familiar de câncer de endométrio, mama ou cólon	NA

*IMC: índice de massa corporal (Kg/m²); OR: odds ratio; NA: risco relativo não avaliado
Adaptado de Smith et al e Setiawan et al (22) (23).

Os carcinomas serosos são o segundo tipo mais prevalente de carcinomas uterinos, mas correspondem a apenas 10% dos casos. A maioria apresenta um pior prognóstico. Podem estar presentes em superfícies peritoneais, exibindo um comportamento parecido com o das neoplasias serosas de ovário. Quando a doença se apresenta confinada ao endométrio e com invasão mínima miometrial, podem apresentar um bom prognóstico. Histologicamente são compostos principalmente por tecido glandular, mas a marcada atipia nuclear é a característica predominante para a classificação desta histologia. Os corpos psamomatosos muitas vezes podem estar presentes. Comumente, os carcinomas serosos apresentam uma infiltração miometrial difusa, com invasão linfovascular extensa, o que configura um pior prognóstico. Os carcinomas serosos apresentam marcada expressão de p53 por análise de imunohistoquímica, além de um alto índice de Ki 67, indicando a alta taxa de proliferação celular desse subtipo histológico (24).

Os tumores mucinosos possuem mais de 50% de células mucinosas, sendo o restante composto por células endometrióides. Apresentam normalmente baixo grau histológico, conferindo um bom prognóstico. Existe uma prevalência alta de mutações no KRAS nesse subtipo de neoplasia (25).

Os carcinomas de células claras são um subtipo histológico incomum, que corresponde a menos de 5% dos casos. São tumores de alto grau e se apresentam com frequência em estágios avançados. São tipicamente negativos para receptores de estrogênio e para a expressão de p53. As alterações genéticas nos tumores de células claras não são bem estabelecidas, mas estudos sugerem que histologia tenha um perfil molecular semelhante aos tumores de células claras renais (26).

Carcinossarcomas são constituídos tanto por células epiteliais como por componentes estromais. Normalmente surgem de um pólipó que compromete toda a cavidade endometrial. Os carcinossarcomas foram originalmente classificados como sarcomas uterinos, mas atualmente foram reconhecidos como carcinomas metaplásicos. Assim, o componente epitelial dessas neoplasias apresenta uma transformação mesenquimal, com as características do sarcoma. O componente epitelial normalmente é o seroso, sendo classificado então com um tumor de endométrio tipo II de alto grau (27). Outros subtipos raros são os tumores neuroendócrinos, os de células mistas e os indiferenciados.

Um estudo avaliou a expressão gênica de 373 amostras de câncer de endométrio, com o objetivo de avaliar as alterações genéticas mais prevalentes e de propor uma classificação molecular que pudesse ajudar a definir os fatores prognósticos e auxiliar na decisão de

tratamento adjuvante em pacientes com tumores mais agressivos. O estudo classificou as neoplasias de endométrio em quatro subgrupos, conforme a tabela a seguir:

Tabela 2-Classificação Genômica do Câncer de Endométrio

Grupo/Características	Histologia do tumor
<p><u>POLE</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Grande número de mutações na POLE exonuclease - Pacientes jovens < 60 anos - Bom prognóstico não é bem estabelecido 	<ul style="list-style-type: none"> - 17.4% dos tumores endometrióides de alto grau. - 6.4 % dos tumores endometrióides de baixo grau
<p><u>Grupo com instabilidade microssatélite(MSI)/ Hipermutado</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Poucas duplicações genômicas somáticas - Mutações em 21 genes - Alterações nas vias de sinalização RTK/RAS/beta-catenina (69.5%) e PI3KCA/PIK3R1-PTEN (95%) - Promoção da metilação MLH1 e redução de sua expressão gênica - A mutação do KRAS está presente em 35% dos tumores 	<ul style="list-style-type: none"> - 54.3% dos tumores endometrióides de alto grau. - 28.6% dos tumores endometrióides de baixo grau
<p><u>Baixo número de cópias/ sem instabilidade microssatélite</u></p> <p>Mutações em 16 genes com alterações frequentes na via de sinalização PI3K (92% dos tumores), alterações na via RTK/RAS/ beta-catenina (83%) e mutações somáticas em CTNNB1 (52%).</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 60 % dos tumores endometrióides de baixo Grau - 25% dos tumores de histologia mista - 8.7% dos tumores endometrióides de alto grau - 2.3 % dos carcinomas serosos
<p><u>Alto número de cópias (serous-like)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Alto número de duplicações somáticas - Mutação no gene p53 está presente em 90% dos casos - Amplificação dos oncogenes MYC e ERBB2 --Tumores com pior prognóstico 	<ul style="list-style-type: none"> - 97.7% de carcinomas serosos - 75% de histologia mista - 19.6% de tumores endometrióides de alto grau - 5% de tumores endometrióides de baixo grau

*Cancer Genome Atlas Research Network (19).

Vários métodos foram desenvolvidos para o rastreamento e o diagnóstico desta neoplasia como a ultrassonografia transvaginal para avaliação da espessura endometrial, histerossonografia, citologia endometrial, dilatação com curetagem uterina e histeroscopia. A histeroscopia com biópsia é o padrão-ouro para diagnóstico por propiciar a visão direta da cavidade endometrial e a realização de biópsia de amostra histológica do tecido da cavidade endometrial (28).

2.2 ESTADIAMENTO E TRATAMENTO

O estadiamento do câncer de endométrio é cirúrgico e classificado conforme o estadiamento da FIGO que foi revisado e atualizado em 2009, conforme o quadro a seguir (29) (**Quadro 1**)

Quadro 1 – Estadiamento e Tratamento

IA	Tumor limitado ao endométrio ou invasão < metade do miométrio
IB	Tumor invade a metade ou mais do miométrio
II	Tumor invade o estroma cervical, mas não se estende além do útero
IIIA	Tumor invade a serosa ou os anexos
IIIB	Invasão de vagina (extensão direta ou metástases) ou comprometimento de paramétrios
IIIC1	Metástases para linfonodos pélvicos
IIIC2	Metástases para linfonodos para-aórticos, com ou sem comprometimento de linfonodos pélvicos
IVA	Invasão tumoral de mucosa vesical ou mucosa retal
IVB	Metástases à distância (linfonodos inguinais, comprometimento peritoneal, pulmonar, fígado ou ossos)

* FIGO 2009

Vários fatores foram identificados como fatores de risco para a recorrência em doença aparentemente inicial, EC I como subtipo histológico, tumores grau 3, invasão miometrial maior ou igual a 50%, invasão linfovascular, comprometimento linfonodal e tumores maiores

que 2 cm. Em relação a esses fatores, a invasão linfovascular é o preditor mais importante de comprometimento linfonodal, recorrência e sobrevida global. Com base nesses fatores de risco, as pacientes com doença EC I podem ser classificadas quanto ao risco de recorrência conforme o quadro a seguir (30) (31) (**Quadro 2**)

Quadro 2 - Risco de recorrência

Baixo risco	EC I (grau 1 e 2) com histologia endometrióide
Risco intermediário	EC I A (grau 3) com histologia endometrióide EC IB (grau 1 e 2) com histologia endometrióide
Alto risco	EC IB (grau 3) com histologia endometrióide Todos os outros estágios com histologia não endometrióide

*Adaptado de Morrow et al e Guntupalli et al

A histerectomia seguida de anexectomia com ou sem dissecação de linfonodos pélvicos e para-aórticos é o procedimento cirúrgico a ser realizado no tratamento do câncer de endométrio. Em relação ao tipo de abordagem cirúrgica, uma meta-análise com oito estudos randomizados demonstrou que a cirurgia laparoscópica está associada a um menor tempo de internação, menor perda sanguínea e menos complicações pós-operatórias, apesar de maior risco de complicações intra-operatórias e tempo cirúrgico. Esse estudo não demonstrou diferença no desfecho oncológico, ou seja, na sobrevida global para os dois grupos (32). Do mesmo modo, a cirurgia robótica se equipara à laparoscópica, mas com menos perda sanguínea. Ambas as três técnicas, a laparotomia, a laparoscopia e a cirurgia robótica são aceitas (33). Existem muitas controvérsias em relação à necessidade de linfadenectomia pélvica e para-aórtica em pacientes com doença em estágios iniciais, histologia endometrióide e de baixo risco. O papel da linfadenectomia pélvica e para-aórtica está relacionado a uma avaliação mais acurada da doença, indicação de tratamento complementar adjuvante e definição prognóstica. A prevalência de comprometimento linfonodal varia de 3-5% em pacientes com tumores superficiais e bem diferenciados a 20% em tumores pouco diferenciados e com invasão mais profunda do miométrio (34) (35). Dois estudos randomizados não conseguiram demonstrar benefício em termos de sobrevida global para as mulheres submetidas à linfadenectomia pélvica e para-aórtica. O primeiro estudo avaliou a

linfadenectomia em pacientes com carcinomas endometriais EC I, excluindo as pacientes EC IA e IB grau I e as histologias não endometrióides. Nesse estudo, a linfadenectomia sistemática não aumentou a sobrevida livre de doença ou a sobrevida global (36). Um segundo estudo, analisou 1408 pacientes e obteve os mesmos resultados (37). Uma meta-análise avaliou nove estudos, incluindo 16.995 pacientes com câncer de endométrio, submetidas à linfadenectomia. A ressecção de 10 ou mais linfonodos não evidenciou benefício para as pacientes com doença de baixo risco, mas mostrou aumentar a sobrevida global em pacientes com risco intermediário ou alto (38).

A pesquisa do linfonodo sentinela em câncer de endométrio vem sendo utilizada e avaliada, mas não existe ainda nenhum estudo clínico randomizado comparando a técnica do linfonodo sentinela com a de linfadenectomia. Seu papel no tratamento do câncer de endométrio ainda não está bem estabelecido. Em uma meta-análise com mais de 25 estudos observacionais, foi descrita a sensibilidade de 89 a 93% para a detecção de metástases linfonodais através dessa técnica (39). O maior estudo multicêntrico prospectivo que avaliou pacientes com carcinoma de endométrio EC I de todas as histologias e graus, incluiu 340 pacientes. As pacientes foram submetidas à técnica do linfonodo sentinela e se esse fosse positivo, eram submetidas posteriormente à linfadenectomia pélvica com ou sem dissecação para-aórtica. O mapeamento com sucesso de pelo menos um linfonodo sentinela foi alcançado em 86% das pacientes e a sensibilidade do método foi de 97.2% para a detecção de metástase linfonodal (40). Assim, a linfadenectomia pélvica e para-aórtica continua sendo um tema controverso em pacientes com câncer de endométrio EC I e de baixo risco, considerando a comorbidade significativa que o procedimento proporciona. A principal seqüela do procedimento é o edema linfático de membros inferiores e celulite de repetição, podendo acometer de 5-38% das pacientes. Essa incidência aumenta com a ressecção de mais de 10 linfonodos e se a paciente for submetida à radioterapia adjuvante posteriormente (41) (42). Por outro lado, pacientes com carcinomas de endométrio de alto grau, histologia serosa ou de células claras, com invasão de mais de 50% do miométrio e com tumores maiores do que 2 cm, apresentam alta prevalência de metástases linfonodais, podendo a linfadenectomia ser indicada nesses casos mesmo em EC I, com provável benefício clínico e melhor avaliação e indicação do tratamento adjuvante complementar. Para o tratamento da doença avançada, EC III-IV, o que representa uma pequena parcela das pacientes com câncer de endométrio, não existe um consenso. A abordagem multimodal com cirurgia, radioterapia e quimioterapia, podem ser consideradas. A ressecção máxima da doença pélvica sempre deve ser oferecida,

quando possível. A ressecção paliativa de metástases à distância também é válida, apesar da falta de ensaios clínicos que suportem essa estratégia. Segue abaixo as recomendações para tratamento cirúrgico das pacientes com carcinoma de endométrio, conforme as diretrizes da ESMO (European Society for Medical Oncology) (1) (**Quadro 3**):

Quadro 3 - Recomendações para tratamento cirúrgico

FIGO I	I A G1-G2	Histerectomia + salpingooforectomia bilateral
	I A G3	Histerectomia + salpingooforectomia bilateral +- linfadenectomia pélvica bilateral e para-aórtica
	I B G1 G2 G3	Histerectomia + salpingooforectomia bilateral +- linfadenectomia pélvica bilateral e para-aórtica
FIGO II		Histerectomia + salpingooforectomia bilateral + linfadenectomia pélvica bilateral e para-aórtica
FIGO III		Cirurgia citorrredutora máxima
FIGO IV	IV A	Exanteração pélvica
	IV B	Abordagem sistêmica multimodal

*Adaptado de Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow –up, 2013.

2.3 TRATAMENTO ADJUVANTE

O tratamento adjuvante consiste de radioterapia, braquiterapia endovaginal e quimioterapia sistêmica. Para pacientes classificadas como de baixo risco, a taxa de recorrência é de 5%, o que não justificaria o incremento da toxicidade do tratamento adjuvante, sendo indicada apenas a observação (43). Nas pacientes com doença classificadas como de risco intermediário, a recidiva da doença ocorre em 10%. Um estudo avaliou fatores que conferem maior risco e pior prognóstico para as pacientes com neoplasia de endométrio classificadas como risco intermediário. A presença de invasão miometrial profunda, os graus histológicos 2 e 3, a invasão linfovascular e a idade mais avançada foram relacionadas a um pior prognóstico nessas pacientes. Dois terços das recorrências ocorreram nas pacientes com essas características clínico patológicas no estudo (44). Considerando a indicação de tratamento adjuvante complementar radioterápico para as pacientes com câncer de endométrio com doença inicial, classificadas como FIGO I, mas com risco intermediário e fatores adversos para recorrência, tanto a radioterapia externa como a braquiterapia podem ser consideradas. A radioterapia externa mostrou reduzir o risco de recorrência local, mas sem

incremento de sobrevida global, aumentando a toxicidade, principalmente gastrointestinal e promovendo uma piora na qualidade de vida (45). Comparando as duas técnicas, a radioterapia externa e a braquiterapia, não existe diferença nas taxas de recorrência local, metástases à distância e sobrevida livre de progressão em cinco anos entre as duas abordagens, sendo a braquiterapia endovaginal menos tóxica, com menor índice de complicações gastrointestinais e geniturinárias nos estudos até hoje publicados (46) (47). Em relação ao tratamento quimioterápico adjuvante para esse subgrupo de pacientes, não há dados disponíveis que possam sustentar a toxicidade inerente ao tratamento para esse subgrupo de pacientes.

Nas pacientes classificadas como FIGO I, com grau histológico 3, FIGO II e III é recomendada a quimioterapia adjuvante. Poucos esquemas quimioterápicos foram estudados no câncer de endométrio, com escassas opções de drogas para o tratamento tanto adjuvante quanto para a doença metastática. Os estudos que avaliaram o papel da quimioterapia adjuvante foram realizados em pacientes com doença avançada, e esses dados são extrapolados para as pacientes com doença em estágio inicial, de alto risco e com fatores prognósticos adversos. Uma meta-análise avaliou o papel da radioterapia adjuvante comparada à quimioterapia em 620 pacientes. A administração de quimioterapia baseada em cisplatina mostrou um aumento da sobrevida global e da sobrevida livre de progressão (48). A combinação de doxorubicina com cisplatina foi avaliada em outro estudo que randomizou pacientes para radioterapia adjuvante versus quimioterapia com doxorubicina e cisplatina, com seguimento médio de 74 meses. As pacientes que receberam quimioterapia com esse esquema de tratamento apresentaram redução no risco de progressão de doença e morte, estando 50 % vivas e sem evidência de doença, comparado com 38% das que receberam apenas radioterapia ao final do estudo. Em contrapartida, as pacientes que receberam quimioterapia apresentaram maior incidência de recorrência pélvica local (49). Outro estudo avaliou pacientes com doença FIGO III e IV A para receber quimioterapia por seis ciclos com paclitaxel e cisplatina, comparado com radioterapia associado à cisplatina rádio-sensibilizante, seguido de mais três ciclos de quimioterapia com cisplatina e paclitaxel. Nesse estudo, o tratamento multimodal apresentou menores taxas de recorrência pélvica, vaginal e em linfonodos para-aórticos, consolidando o papel da radioterapia em diminuir esses eventos, já evidenciado em outros estudos. Não houve diferença da sobrevida global nos dois braços de tratamento. A toxicidade foi semelhante nos dois grupos (50). O esquema de tratamento com três drogas foi amplamente utilizado até 2012. O protocolo de tratamento foi validado no

estudo GOG 177, publicado em 2004. O estudo incluiu 273 mulheres com câncer de endométrio FIGO III e IV virgens de tratamento. As pacientes foram randomizadas para serem tratadas com cisplatina e doxorrubicina ou cisplatina, doxorrubicina e paclitaxel. As pacientes que receberam o esquema com três drogas usaram fator de estimulação de granulócitos profilaticamente. O estudo demonstrou que o uso das três drogas aumentou consideravelmente a taxa de resposta global, sobrevida livre de progressão e sobrevida global. Por outro lado, aumentou as taxas de neuropatia periférica grave (51). Em 2012, um novo estudo, o GOG 209, sugeriu um esquema de tratamento menos tóxico. Foi um estudo fase III randomizado, de não- inferioridade que avaliou 1.300 pacientes com doença FIGO III ou IV sem tratamento prévio ou com doença recorrente. As pacientes foram randomizadas para receber quimioterapia com carboplatina e paclitaxel ou cisplatina, doxorrubicina e paclitaxel, esquema de tratamento previamente utilizado e validado no estudo GOG 177. O estudo não mostrou diferença estatisticamente significativa em sobrevida global, sobrevida livre de doença e taxa de resposta nos dois grupos de tratamento, mas ocorreu uma diferença estatisticamente significativa de menor de toxicidade com o esquema com duas drogas, com menos neuropatia periférica, trombocitopenia, náuseas e diarreia (52). A partir desse estudo, o esquema de tratamento quimioterápico de preferência, tanto no cenário adjuvante como no da doença metastática ou recorrente passou a ser a combinação de cisplatina com paclitaxel, durante sete ciclos de tratamento, realizados a cada vinte e um dias.

No cenário da doença metastática ou recorrente, outras opções de tratamento podem ser utilizadas, como o uso de terapia endócrina. Nesse contexto, podemos considerar os progestágenos, como o acetato de megestrol, os moduladores de receptores de estrógeno como o tamoxifeno e inibidores da aromatase, como o anastrozol e o letrozol. Esses agentes preferencialmente devem ser usados em pacientes com tumores endometrióides graus 1 e 2 e com positividade para receptores de estrógeno e progesterona. Alguns estudos sugerem que a resposta seja melhor nesse perfil de pacientes. A taxa de resposta com a terapia endócrina varia de 15-30%, com um tempo relativamente curto de sobrevida livre de progressão de doença com essa modalidade terapêutica (53) (54) (55).

O bevacizumabe, um anticorpo monoclonal com função anti-angiogênica também foi avaliado no tratamento do câncer de endométrio metastático. Um estudo avaliou a sua ação em pacientes previamente tratadas com duas linhas prévias de quimioterapia. Foram incluídas 53 pacientes. A taxa de resposta foi de 15%, dados semelhantes aos dados disponíveis com o uso dessa medicação em linhas subsequentes no tratamento do câncer de colo uterino. Na

avaliação de sobrevida em seis meses, 36% das pacientes estavam livres de progressão de doença. O tempo médio de sobrevida livre de progressão foi de quatro meses e de sobrevida global foi de onze meses (56). Um segundo estudo avaliou o papel do bevacizumabe associado ou não ao tratamento quimioterápico padrão com carboplatina e paclitaxel. A associação do anti-angiogênico demonstrou aumento de sobrevida livre de progressão e na taxa de resposta, sem incremento em sobrevida global. Sendo assim, sabemos que o bevacizumabe é ativo nos tumores de endométrio, mas novos estudos fase III são necessários para avaliar a incorporação dessa medicação na primeira linha da doença metastática ou recorrente (57). A imunoterapia está sendo uma opção para o tratamento das neoplasias de endométrio que não responderam a outras drogas. O pembrolizumabe está indicado no tratamento de uma série de tumores sólidos avançados com instabilidade de microssatélites (MSI) e com deficiência de *mismatchrepair* (dMMR). No estudo KEYNOTE - 028, o uso de pembrolizumabe foi avaliado em 24 pacientes com câncer de endométrio avançado, recorrente, com pelo menos duas linhas prévias de tratamento quimioterápico. A resposta parcial foi alcançada em 13 % das pacientes e a doença estável no mesmo percentual, ou seja, 13 %. O tempo médio de duração de resposta foi de vinte e cinco semanas. A toxicidade foi aceitável. Em relação a esta estratégia de tratamento, faltam marcadores, para uma melhor seleção das pacientes respondedoras e para a indicação do uso de imunoterapia (58).

2.4 SIRTUINAS: SIRT1 E SIRT7

A cromatina celular, que contém o DNA é organizada no núcleo celular por proteínas denominadas de histonas e por um grupo heterogêneo de proteínas ácidas denominadas de não-histonas (59). Assim, a cromatina contém o DNA, histonas e diversas outras proteínas, em um arranjo que forma um colar de contas. As contas representam os nucleossomos, que consistem em um segmento de DNA firmemente enovelado em moléculas de histonas. O segmento entre os nucleossomos é composto primordialmente por DNA, histona de ligação H1 e proteínas não-histonas (Figura 1). As histonas de ligação H1 exercem um papel primordial na regulação de alguns genes de transcrição e parecem estar envolvidas em mecanismos de envelhecimento e de apoptose celular (60).

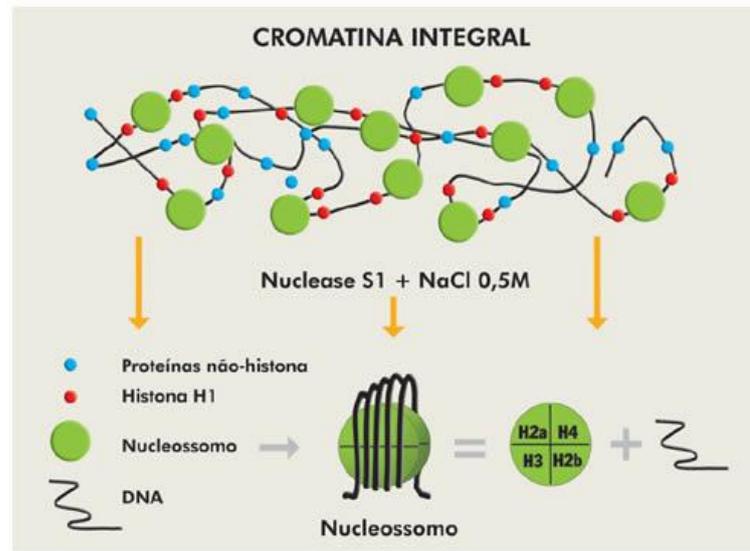


Figura 1. A estrutura da cromatina celular

Fonte: Paulo Leser LECA. Anticorpos Antinucleossomo: Diagnóstico e monitoração do Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) 2007 (61).

A estrutura da cromatina tem um papel importante na expressão gênica. Modificações como acetilação, desacetilação e fosforilação de histonas podem levar a mudanças na arquitetura dos nucleossomos e no remodelamento da cromatina, resultando em aumento ou diminuição na expressão de genes de transcrição. As duas modificações mais estudadas são a acetilação e a desacetilação de lisinas em histonas, que são controladas por enzimas denominadas de histonas acetiltransferases (HAT) e histonas desacetilases (HDAC) (62). Uma desregulação na acetilação de histonas está relacionado ao desenvolvimento de diversas doenças, incluindo o desenvolvimento de neoplasias. Modificações no padrão de acetilação e desacetilação nas regiões promotoras dos genes, são alterações epigenéticas importantes em alguns padrões de expressão gênica, inclusive de oncogenes e de genes supressores tumorais. O termo epigenética define todas as mudanças meióticas e mitóticas na expressão genética que não estão codificadas na própria sequência de DNA. Existem três sistemas utilizados na iniciação e no silenciamento epigenético que são: a metilação do DNA, o silenciamento associado ao RNA e as modificações nas histonas. Qualquer desbalanço na interação entre estes sistemas pode levar à expressão inapropriada ou ao silenciamento de genes, resultando nas doenças epigenéticas, que podem ser herdadas ou adquiridas(63). Assim, um desequilíbrio no padrão de acetilação de histonas vem sendo relacionado com o desenvolvimento de neoplasias (64) (65).

Existem atualmente descritas três classes de desacetilases:

1) Classes I e II: relacionadas a locais específicos na cromatina e que atuam através de um mecanismo de acetilação Zinco – dependente

2) Classe III ou sirtuínas: estruturalmente e mecanicamente distintas das outras classes, atuam através de um mecanismo nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) – dependente (66) (67).

Os genes reguladores da informação silenciosa (Sir) constituem uma família de proteínas, com um ou mais genes presentes em todas as espécies, em organismos eucariotas e procariotas. Em mamíferos estas proteínas, conhecidas como sirtuínas, codificam sete enzimas distintas que atuam como desacetilases ou mono-ADP-ribosiltransferases. As sirtuínas têm seu mecanismo de ação dependente de NAD⁺, tendo como principal papel a desacetilação de histonas e de outras proteínas influenciando assim a transcrição gênica e regulando a atividade de seus substratos. O gene homólogo ao Sir 2 foi identificado em mamíferos como sirtuína 1 (SIRT1) e posteriormente foram descobertos outros seis, formando um grupo de sete genes (SIRT1 a SIRT7). As sete sirtuínas, presentes nos mamíferos se localizam em compartimentos celulares diferentes. As SIRT1 localizam-se no citoplasma celular e no núcleo. A SIRT2 localiza-se no citoplasma. As SIRT3, SIRT4 e SIRT5 agem na mitocôndria. As SIRT6 e SIRT7 atuam apenas no núcleo da célula. (Quadro 4). Como regulam a atividade de vários substratos protéicos, as sirtuínas estão envolvidas em uma série de processos celulares, incluindo a regulação de transcrição gênica, estabilidade genômica, controle metabólico, sobrevivência celular e regulação do ciclo celular (67) (68).

Quadro 4 - Sirtuínas

<u>Gene</u>	<u>Localização</u>	<u>Atividade</u>	<u>Localização</u>
	<u>Intracelular</u>	<u>Funcional</u>	<u>Cromossômica</u>
SIRT1	Núcleo e citoplasma	Desacetilase	10q21.3
SIRT2	Citoplasma	Desacetilase	19q13.3
SIRT3	Mitocôndria	Desacetilase	11p15.5
SIRT4	Mitocôndria	ADP-ribosil transferase	12q
SIRT5	Mitocôndria	Desacetilase/ ADP-ribosil transferase	6p23
SIRT6	Núcleo	Desacetilase	19p13.1
SIRT7	Nucléolo	Desacetilase	17q25

*Adaptado de Athanassios Vassilopoulos, et al. (69).

As sirtuínas executam um importante papel na resposta do organismo a vários tipos de estresse e toxicidade e parecem afetar aspectos biológicos envolvidos em doenças metabólicas, processo de envelhecimento, doenças arteriovasculares e câncer. As evidências indicam a existência de uma associação entre as vias de sinalização das sirtuínas e os mecanismos relacionados à gênese de diversos tipos de neoplasias (70).

A SIRT1 pertence à família de enzimas Sir 2 de histonas desacetilases NAD – dependentes encontrada em mamíferos. Desacetila as lisinas 9 e 14 da histona H3 e especificamente a lisina 16 da histona H4; possuindo um domínio catalítico comum que se conserva desde os fungos até humanos. A desacetilação promovida pela SIRT1 parece estar envolvida com a regulação da ativação da transcrição e da apoptose relacionada ao gene p53, gene supressor tumoral. Ainda, em células sob estresse, a SIRT1 promove sobrevivência celular por inibir a apoptose dependente de p53. A SIRT1 parece modificar a cromatina diretamente, silenciar a transcrição gênica, modular o *checkpoint* meiótico e promover um efeito antienvelhecimento. Entre as sirtuínas, é a mais bem caracterizada (71) (72) (73) (74). A expressão de SIRT1 já foi avaliada em várias neoplasias, incluindo câncer de mama, próstata, melanoma e ovário. Sua expressão está relacionada tanto com a promoção da carcinogênese quanto estimulando apoptose celular, exercendo assim um papel de oncogene ou de supressor tumoral (2) (3) (4) (5).

Vários estudos colocam SIRT1 entre um papel promotor ou supressor da carcinogênese. Uma proteína nuclear, a DBC1 (*Deleted in Breast Cancer 1*), com gene

localizado no cromossomo 8p21 com deleção homozigótica em células de câncer mama, têm sido alvo de estudos envolvendo sua relação com SIRT1. Observou-se que DBC1 interage diretamente com SIRT1 *in vitro* e *in vivo*, inibindo sua atividade, ou seja, DBC1 seria um inibidor natural de SIRT1. Assim, a expressão aumentada de DBC1 resulta na acetilação aumentada de p53, bloqueando a habilidade da SIRT1 em desacetilar p53, levando a apoptose. Uma depleção da expressão de DBC1 aumentaria o poder inibitório de SIRT1 sobre apoptose, ou seja, teria um efeito anti-apoptótico (75). Outro estudo, envolvendo linhagens celulares de osteossarcoma, foi realizado para verificar a interação entre DBC1 e SIRT1. As linhagens com depleção de DBC1 foram resistentes à apoptose, observando-se uma inativação da resposta de p53 ao dano celular (76).

A expressão imunohistoquímica de DBC1, SIRT1 e p53 foi testada em um estudo com 122 casos de neoplasia de mama, sendo considerada análise positiva se o escore de 30% ou mais das células tumorais fossem coradas pela técnica. A expressão positiva de DBC1 ocorreu em 71% das pacientes e de SIRT1 em 67%. A expressão de SIRT1 mostrou correlação com metástases à distância e expressão de p53. Nos tumores com receptor de estrogênio positivo, a expressão de DBC1, SIRT1, HER2 e p53 foi significativamente associada a um maior potencial de metástases. Nos tumores RE negativos, apenas o estadiamento teve correlação com a presença de metástases à distância. Nas pacientes submetidas ao tratamento hormonal, a expressão de DBC1 foi associada a uma piora na sobrevida dessas pacientes (77).

Outro estudo utilizando 48 amostras de biópsias de tumores de mama em pacientes antes de iniciarem quimioterapia, foi realizado com o objetivo de verificar a expressão imunohistoquímica de SIRT1 e DBC1. O estudo mostrou positividade para essas proteínas em 98% e 85 % das pacientes respectivamente. A expressão de DBC1 foi associada ao grau nuclear do tumor; DBC1 e SIRT1 se correlacionaram inversamente com a expressão de HER2, sendo a baixa expressão das duas proteínas associada a uma melhor resposta à quimioterapia (78).

Assim, podemos verificar que o papel de SIRT1 na carcinogênese ainda está indefinido, exercendo às vezes papel promotor e eventualmente o de supressor tumoral, dependendo das rotas celulares e dos diferentes tecidos envolvidos (73).

A SIRT7 é a menos conhecida da família das sete sirtuínas. Está localizada no nucléolo celular e atua através da transcrição de rRNA (RNA ribossômico) e do tRNA (RNA transportador). A SIRT7 catalisa a desacetilação da lisina 18 da histona H3 (H3K18), um

marcador epigenético de agressividade e de prognóstico reservado em câncer (79) (80). Vários estudos mostram que a alta expressão de SIRT7 propicia o desenvolvimento neoplásico, enquanto a sua depleção induz a apoptose celular e a regressão tumoral. Seu potencial de agressividade e de conferir um pior prognóstico em algumas neoplasias está relacionado à sua expressão aumentada ter a capacidade de promover a invasão tumoral e metástases em algumas linhagens de células neoplásicas. A dificuldade em sua caracterização está provavelmente relacionada à sua pouca atividade *in vitro*. Sua expressão é abundante em células metabolicamente ativas, ou seja, com alto índice mitótico, por outro lado, é baixa em células pouco proliferativas (81). Estudos mostram que altos níveis de SIRT7 estão associados a um fenótipo mais agressivo e a um pior prognóstico em câncer de mama, gástrico, hepatocarcinoma, pulmão e ovário (82) (83) (84) (85) (86).

Um estudo avaliou o papel da SIRT7 em linhagens celulares de câncer de ovário. A expressão da proteína foi avaliada pela técnica de Western Blott. Além da expressão da SIRT7, foi avaliada a viabilidade celular, a motilidade celular e o potencial de apoptose. O objetivo era elucidar o papel biológico da SIRT7 em linhagens celulares de câncer de ovário. A expressão de SIRT7 se apresentou aumentada em células de câncer de ovário, e a sua supressão foi associada a uma diminuição no crescimento dessas células, com um incremento no processo de apoptose celular. A expressão aumentada da SIRT7 também favoreceu a migração de células neoplásicas, mostrando assim, um maior potencial de gerar metástases. A SIRT7 parece ter um potencial oncogênico em células de câncer de ovário (86). Outro estudo avaliou a expressão de SIRT1, SIRT2 e SIRT7 em diferentes estágios do câncer cervical. As células normais do epitélio cervical mostram fraca expressão dessas três proteínas. Um aumento significativo de SIRT1 foi evidenciado tanto no citoplasma quanto no núcleo de linhagens celulares proliferativas de lesões intra-epiteliais de alto grau, enquanto que nas linhagens celulares de carcinoma epidermóide cervical, sua expressão não mostrou um padrão homogêneo, variando de fraca a alta. Em relação a SIRT2 e SIRT7, sua expressão foi aumentando progressivamente durante a evolução da neoplasia. Assim, a expressão de SIRT2 e SIRT7 em células de câncer cervical pode indicar um futuro alvo terapêutico para essa patologia e a expressão aumentada de SIRT1 em lesões intra-epiteliais de alto grau do colo uterino torna essa proteína uma candidata promissora para identificação de alterações pré-neoplásicas (87).

Moléculas que atuam através da inibição ou da indução das histonas desacetilases vêm sendo desenvolvidas e avaliadas em estudos fase I e fase II como potenciais futuros agentes

com potencial terapêutico no tratamento do câncer. O processo de carcinogênese é pouco elucidado ainda no câncer de endométrio e existem poucas opções de tratamento para a doença avançada, recorrente e metastática. A maioria das pacientes é diagnosticada em estágios iniciais e são curadas através de cirurgia, não necessitando de tratamento complementar. Novos estudos para avaliar a biologia tumoral com o objetivo de descobrir e elucidar alvos terapêuticos no câncer de endométrio estão sendo conduzidos, com a intenção de proporcionar opções de tratamento mais eficazes e menos tóxicos às pacientes. Isso se torna principalmente importante para as pacientes que apresentam doença com fatores prognósticos adversos.

3 OBJETIVOS

Avaliar a expressão das enzimas SIRT1 e SIRT7 em amostras histológicas de carcinoma de endométrio em pacientes operadas no Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS) no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2015 e associar a expressão dessas proteínas com o estadiamento cirúrgico e fatores prognósticos (grau tumoral, tamanho tumoral, invasão miometrial e invasão linfovascular).

1. Avaliar a expressão de SIRT1 e SIRT7 em amostras de câncer de endométrio
 2. Associar a expressão de SIRT1 e SIRT7 com estadiamento cirúrgico e fatores prognósticos
-

4 HIPOTESE

As enzimas SIRT1 e SIRT7 encontram-se expressas nos carcinomas de endométrio e estão correlacionadas a fatores de mau prognóstico destas neoplasias.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 PACIENTES E AMOSTRAS

Realizamos uma avaliação retrospectiva da expressão imunohistoquímica das proteínas SIRT1 e SIRT7 em 66 amostras de pacientes com carcinoma de endométrio tratadas cirurgicamente em um hospital universitário (Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica), no período de Janeiro de 2000 a Dezembro de 2015. Todas as pacientes concordaram e assinaram o formulário de consentimento informado no pré-operatório, que permitia a coleta de amostras tumorais para o estudo e que assegurava a confidencialidade dos dados.

As variáveis clínicas e patológicas avaliadas foram: idade, tipo tumoral, grau tumoral, tamanho do tumor (maior diâmetro), presença de invasão do miométrio, presença de invasão linfovascular, presença de metástases linfonodais e estadiamento patológico de acordo com a FIGO (International Federation of Gynaecology and Obstetrics) de 2009. Os dados foram armazenados em um banco de dados computadorizado (Microsoft Excel[®]) para análise ulterior.

Imunohistoquímica

As amostras de tecido para a análise imunohistoquímica das enzimas SIRT1 e SIRT7 foram obtidas a partir de blocos de parafinas do Departamento de Patologia de nosso hospital universitário. Foram obtidos cortes de 3µm através de um micrótomo (SM 2000R[®] Leica, Alemanha). As lâminas foram montadas (FLEX IHC Microscope Slides[®], Dako) e aquecidas em um forno a 60°C durante 24h, desparafinizadas em xileno e hidratadas. A recuperação antigênica foi realizada aquecendo as lâminas durante 15 minutos a 98°C em uma plataforma pTLINK (DAKO) com a solução Envision Flex a um pH elevado (DAKO). Logo após, as lâminas foram lavadas em solução tampão de PBS a um pH de 7.2. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado com uma solução de H₂O₂ a 3% em álcool metílico em duas incubações de 15 minutos seguidas de três ciclos de lavagens com solução tampão de PBS a um pH de 7.2.

As lâminas foram incubadas durante 20 minutos pela metodologia de capilaridade através da estação de imuno-coloração Sequenza (ThermoShandon, USA) em temperatura ambiente para os dois anticorpos: para a SIRT1, o clone E104 (ABCAM 32441) a uma diluição de 1:100 em PBS e uma incubação noturna com solução tampão de PBS a uma temperatura de 5-6°C. Para o anticorpo policlonal anti-SIRT7 (PA5-13226), usou-se uma diluição de 1:100 em solução tampão de PBS incubada a uma temperatura de 2-8°C. As lâminas foram então lavadas com três passagens em solução tampão de PBS a um pH de 7.2 e incubadas com uma solução de diaminobenzidina (Dako Liquid DAB Substrate Chromogen System, USA) durante 5 minutos. Após a lavagem com água destilada, as lâminas foram contra-coradas com hematoxilina de Harris por 1 minuto, seguida pela lavagem em água corrente até a remoção completa do corante e incubadas por 15 segundos em uma solução de amônia 37 mM. Finalmente, as lâminas foram desidratadas em álcool etílico absoluto (quatro incubações de 2 minutos) e tratadas duas vezes com xileno durante 5 minutos. As lâminas foram então montadas com o meio sintético (Merck, Alemanha).

Metodologia de Contagem

Um patologista experiente realizou a análise semi-quantitativa da expressão das proteínas SIRT1 e SIRT7. A expressão nuclear das proteínas foi analisada através do score de Allred, com uma estimativa da proporção e da intensidade de positividade (0-2 negativa, 3-8 positiva). Como controles positivos para a SIRT1 utilizamos mucosa colo-retal e rim, ao passo que como controles positivos da SIRT7 utilizamos mucosa colo-retal e parênquima testicular. Como controles negativos, omitimos o anticorpo do experimento.

Análise estatística

Variáveis contínuas foram descritas por média, desvios-padrão e valores máximos e mínimos. Variáveis categóricas foram apresentadas como contagens e percentagens. Correlações entre variáveis contínuas e ordinais foram descritas utilizando-se o coeficiente de correlação de Spearman (r_s). Comparações entre a expressão imunohistoquímica das sirtuínas e as características das pacientes foram avaliadas pelo teste exato de Fisher. A significância estatística foi definida como $p \leq 0.05$. Todos os dados foram analisados através do software SPSS versão 22.0.

6ARTIGO ORIGINAL**Expression of Sirtuin1 and Sirtuin7 in endometrial carcinoma**

Christina Opper mann¹, Vinicius Duval da Silva², Chrystiane Marc³, Valentina Provenze⁴, Gabriela Alerico⁵, Thiago Giuliani⁶, Gustavo Franco Carvalhal¹

¹Department of Surgery, Postgraduate Course in Medicine and Health Sciences, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

²Department of Pathology, Hospital do Câncer de Barretos, Barretos, Brasil

³Department of Gynaecology and Obstetrics, Hospital de Clínicas, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

⁴Department of Pathology, Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, Brazil

⁵Clinical Research Center, Hospital do Câncer Mãe de Deus, Porto Alegre, Brazil

⁶ Postgraduate Course in Medical Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

Correspondence to: Christina Opper mann, e-mail: chrisopp@terra.com.br

Keywords: endometrial carcinoma, sirtuin, SIRT1, SIRT7

ABSTRACT

Sirtuins participate in several cellular processes, being also related to tumour development. The role of sirtuins in endometrial cancer is still poorly understood. The expression of sirtuins 1 (SIRT1) and 7 (SIRT7) was assessed by immunohistochemistry and evaluated by the Allred score in 66 endometrial cancer samples. A greater percentage of cases expressed SIRT1 than SIRT7. Expression of these proteins was correlated with adverse prognostic factors in endometrial cancer such as tumour size, grade, lymphovascular invasion, myometrial invasion, and pathological staging. No statistically significant association was found between expression of SIRT1 and SIRT7 in endometrial cancer samples and adverse prognostic factors (all $P_s > 0.05$; NS). The expression of SIRT1 and SIRT7 in endometrial cancer, although not directly related to known prognostic factors, may represent a potential therapeutic target in the treatment of this disease.

INTRODUCTION

Endometrial carcinoma is the most common gynaecologic cancer in developed countries, and the second most common gynaecologic cancer in developing countries, where cervical cancers are more prevalent. Endometrial carcinomas are classified into two distinct histopathological forms, which differ in terms of incidence and biological behaviour. Eighty per cent of tumours are Type I, with endometrioid grade 1 and 2 histology and a favourable prognosis. These are usually associated with exposure to oestrogens, nulliparity, obesity and diabetes mellitus. Ten to twenty per cent of tumours are Type II, which include those with grade 3 endometrioid histology and those with non-endometrioid histology (serous, clear cell, mucinous, squamous, transitional cell, and undifferentiated tumours). Type II tumours are not associated with exposure to oestrogens, tend to occur in older patients, and usually present at more advanced clinical stages at diagnosis ^{1,2}

Sirtuins are a family of enzymes that acetylate histones of DNA chromatin through a nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) dependent mechanism ³. There are seven known sirtuins (SIRT1 to SIRT7) with distinct cellular locations and functions ⁴. These enzymes are involved in multiple metabolic processes such as DNA repair and cellular division, aging, apoptosis and survival. Their role in carcinogenesis is not well established, although it has been suggested that they may act both as oncogenes and as tumour suppressor genes in different neoplasms ⁵.

There is scant evidence about the role of sirtuins in endometrial carcinoma due to few studies available. Two immunohistochemical (IHC) studies suggest that SIRT1 may promote tumour growth ^{6,7}, whereas another study with both IHC and polymerase chain reaction (PCR) methodologies has shown that although the expression of sirtuins is deregulated in endometrial carcinomas, it is not associated with known prognostic factors⁸. The role of SIRT7 in endometrial carcinomas is unclear, although an increased SIRT7 expression has been described in liver, breast, lung and ovarian cancer (9, 10, 11, 12).

Our goal was to study the immunohistochemical expression of SIRT1 and SIRT7 in endometrial carcinomas correlating it with clinical and pathologic parameters.

RESULTS

The clinical and pathological characteristics of our patients are shown in Table 1.1. Patients' mean age was 64.8 years (SD 9.5; range 46-85 years). Regarding surgical treatment, 21 patients (31.8%) underwent total hysterectomy, 37 (56%) underwent total hysterectomy and pelvic lymphadenectomy, and 4 patients were submitted to total hysterectomy, pelvic lymphadenectomy, and salpingo-oophorectomy (6%). Another four patients (6%) underwent total hysterectomy and salpingo-oophorectomy, without the pelvic lymphadenectomy.

Most tumour samples were endometrioid carcinomas (92.4%; n=61), with other histological subtypes corresponding to only five cases (7.6%). Other histological subtypes observed were: a case of endometrial stromal sarcoma, a case of adenosquamous carcinoma, a case of papillary adenocarcinoma, a case of poorly differentiated adenocarcinoma, and a case of mixed tumour with elements of both clear cell and endometrial carcinoma. The most prevalent tumour grade found in our sample was grade 2 (moderately differentiated), which occurred in 48 patients (72.7%). Ten patients (15.3%) presented with tumours grade 3 (poorly differentiated), and only five patients (7.6%) presented with tumours grade I (well differentiated). In eleven patients (16.7%) there was lymphovascular invasion; in 53 patients (80.3%) lymphovascular invasion was negative, and in two cases (3%) lymphovascular invasion was unknown. Regarding myometrial invasion, 39 patients presented with half or more of the myometrium invaded (59.1%) and 27 patients (40.9%) presented with invasion of less than one half of the myometrium. As to the FIGO pathological staging classification, most cases were stage I (34 patients; 51.5%), 15 patients were classified as FIGO II (22.7%), 16 patients (24.3%) were classified as FIGO III, and only one patient (1.5%) was classified as a stage IV.

Table 1: Clinical and pathological features of patients included in the study

Age (years); mean \pm SD	64.8 \pm 9.5
Tumor Size (cm); mean \pm SD	4.3 \pm 2.3
Surgical procedure; n (%)	
TH	21 (31.8)
TH + LN	37 (56.0)
TH + LN + SO	4 (6.0)
TH + SO	4 (6.0)
Histological subtype; n (%)	
Endometrioid adenocarcinoma	61 (92.4)
Other subtypes	5 (7.6)
Histological Tumor Grade; n (%)	
Grade 1	5 (7.6)
Grade 2	48 (72.7)
Grade 3	10 (15.3)
Myometrial Invasion; n (%)	
\geq 50%	39 (59.1)
<50%	27 (40.9)
Lymphovascular Invasion; n (%)	
Yes	11 (16.7)
No	53 (80.3)
Unkown	2 (3.0)
FIGO Staging; n (%)	
I	1 (1.5)
IA	11 (16.7)
IB	22 (33.3)
II	15 (22.7)
IIIA	10 (15.2)
IIIC1	6 (9.1)
IVA	1 (1.5)

TH - total hysterectomy; LN – lymphadenectomy; SO - salpingo-oophorectomy; FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics. (13)

The IHC expression of SIRT1 was predominantly nuclear, and was scored according to the Allred score (0 to 8). Cases in which the score was greater or equal to 3 were considered positive. Of the 66 tumour samples, 39 (59.1%) were negative for SIRT1 expression, and 27 cases were positive (40.9%). In grade 1 and grade 3 tumours there was a non-significant (NS) increase of SIRT1 expression. SIRT1 expression was also more common in tumours smaller than 5.9 cm (NS). SIRT1 expression was not affected by the presence of lymphovascular invasion. Considering myometrial invasion, tumours invading less than half of the myometrium were more positively stained for SIRT1 (NS). Looking at the FIGO pathological classification, tumours FIGO I, III and IV were more stained for SIRT1 (NS).

The IHC expression of SIRT7 was also mostly nuclear, but at lower percentage, since only 16 cases (24.1%) were positive while the remaining fifty tumours (75.7%) were negative for SIRT7 expression. The mean expression of SIRT7 was higher in grade 3 tumours compared to grade 1 and grade 2 tumours, but not statistically significant (NS). Regarding tumour size, mean SIRT7 positivity was higher in tumours with sizes between 2.6 cm and 5.9 cm as compared to either those smaller than 2.5 cm or those measuring 6 cm or more. Considering lymphovascular invasion, tumour samples without lymphovascular invasion had a higher mean positivity of SIRT7 than those that presented with lymphovascular invasion (NS). In relation to the FIGO pathological staging, the mean expression of SIRT7 was higher in tumours classified as FIGO I or II (NS).

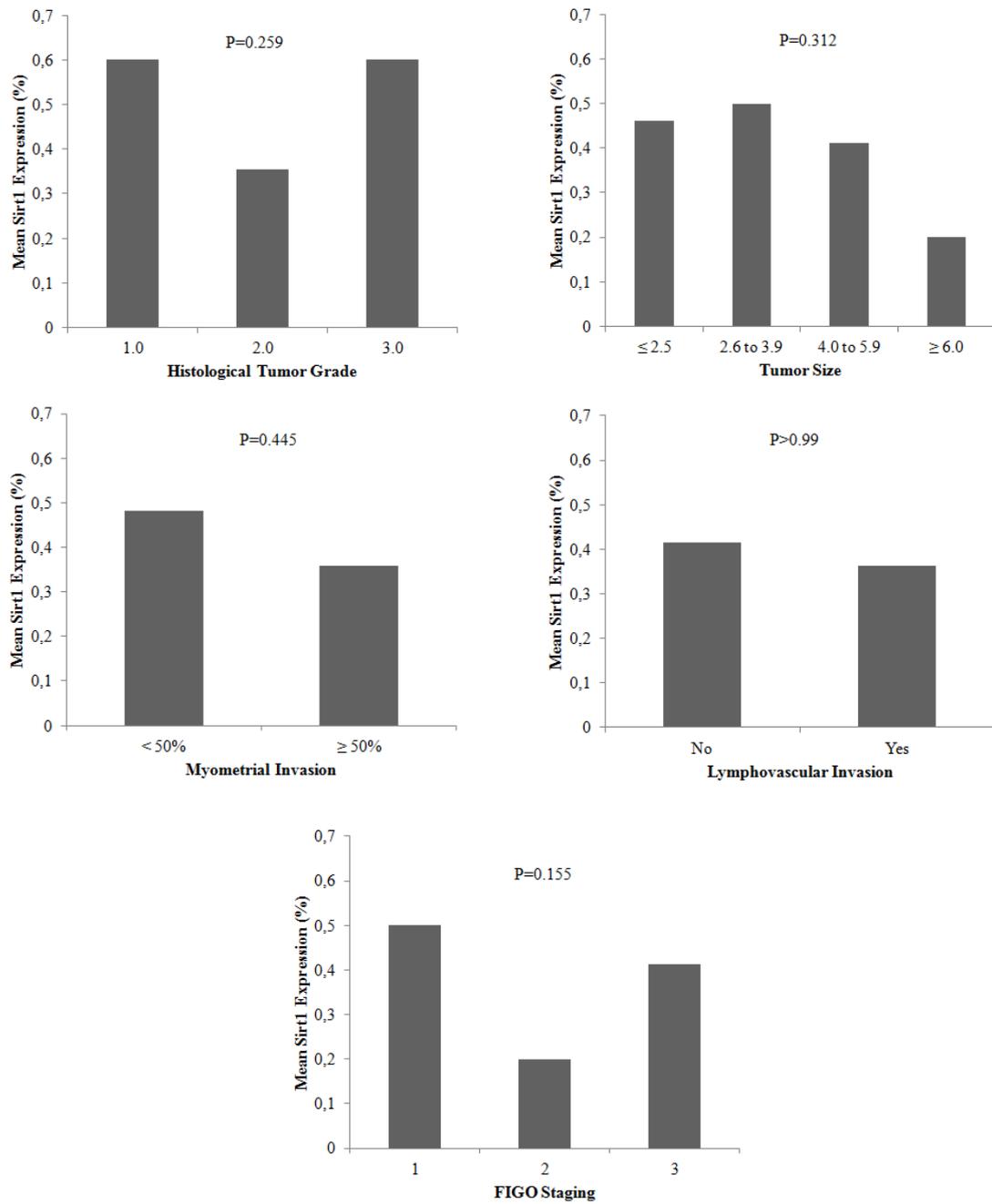


Figure 1: Correlation graphics of Sirtuin 1 expression and clinicopathological characteristics.

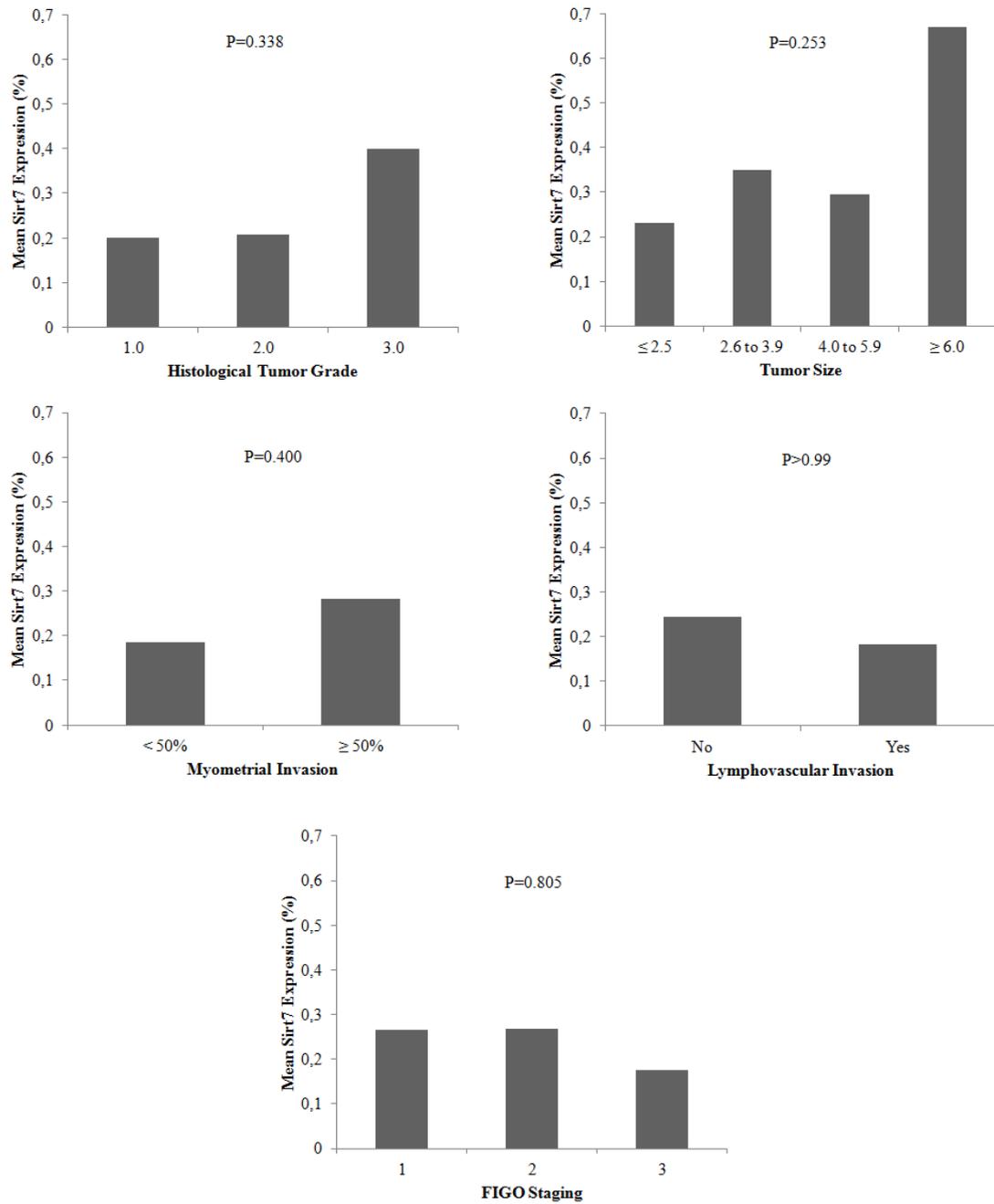


Figure 2: Correlation graphics of Sirtuin 7 expression and clinicopathological characteristics.

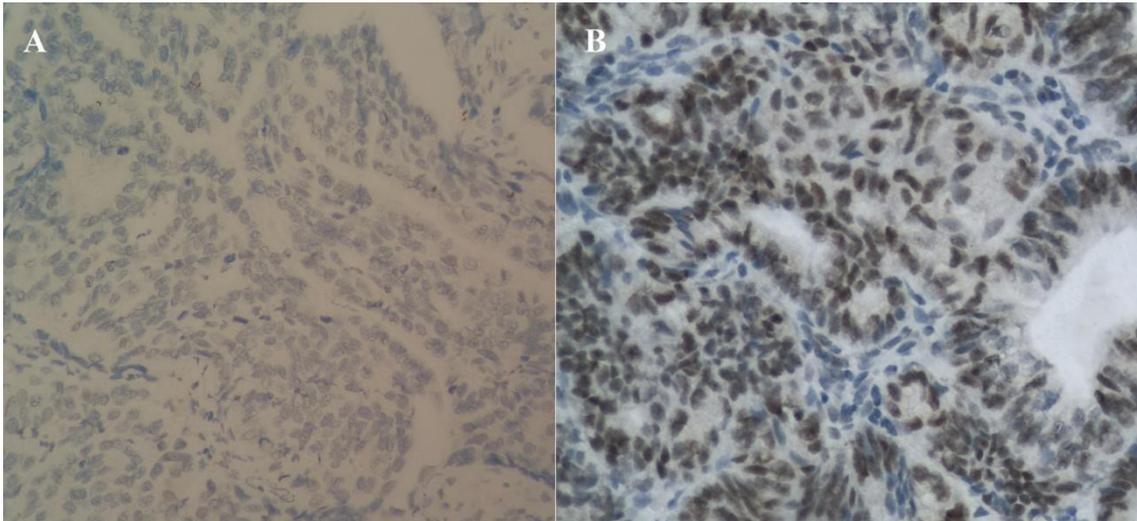


Figure 3: Sirtuin 1 IHC expression, Allred 0 (A) and Allred 8 (B).

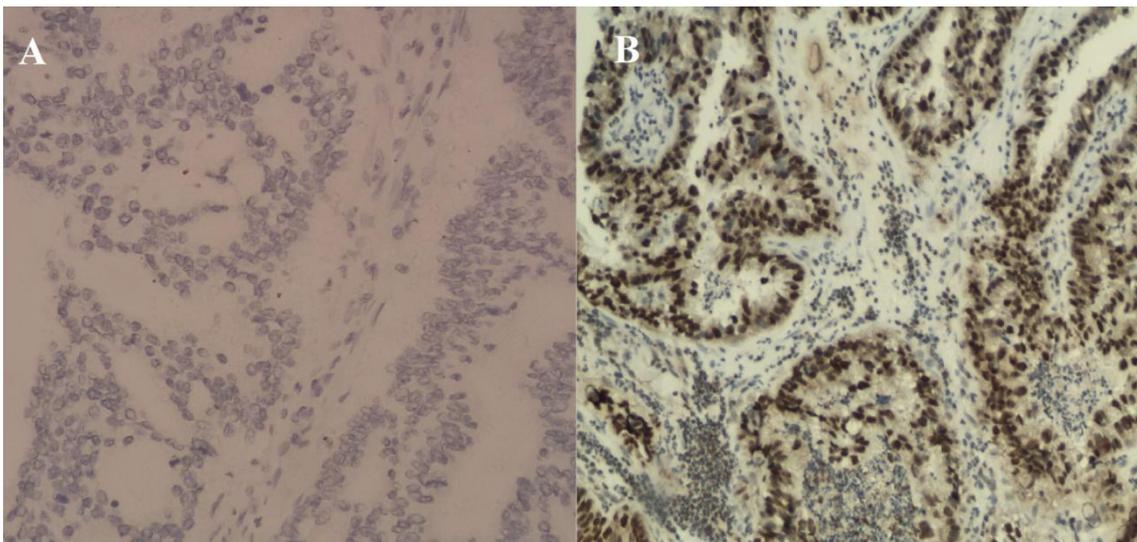


Figure 4: Sirtuin 7 IHC expression, Allred 0 (A) and Allred 8 (B).

DISCUSSION

Sirtuins are known to be involved in cellular response to stress, regulation of gene expression, DNA damage repair and cellular metabolism and survival. They may act as promoters or as suppressors of carcinogenesis¹⁴. Sirtuin roles may vary according to the type of neoplasm and to the signalling pathway involved. The cellular locations of these proteins differ, with SIRT1 being predominantly nuclear, although it may be expressed in the

cytoplasm, whereas SIRT7 is usually located in the nucleolus. Both SIRT1 and SIRT7 act as deacetylases¹⁵. The function of these proteins in the process of tumour development is controversial. On one hand, they may protect DNA from damage and from oxidative stress, maintaining genomic stability, limiting cellular division and inducing apoptosis. On the other hand, some studies suggest that these same sirtuins may facilitate cell survival under stress, and that they may be directly involved with tumour development by inhibiting the mechanisms of apoptosis and by stimulating tumour growth.^{16,17}

In our study, the IHC expression of SIRT1 and SIRT7 was evaluated and classified according to the Allred score. The samples of endometrial carcinomas were somewhat positive for SIRT1 expression (40.9%), although much less positive for SIRT7 (24.1%). SIRT7 was more expressed in grade 3 (poorly differentiated) tumours (NS). In the literature, expression of SIRT7 was correlated with tumour aggressiveness and with a worse prognosis. Regarding the evaluation of other prognostic factors, none was correlated with the expression of SIRT1 and SIRT7.

SIRT1 is the most studied of the histone deacetylases. It promotes the deacetylation of lysines 9 and 14 of the histone H3, as well as the deacetylation of the lysine16 of the histone H4. The deacetylation promoted by SIRT1 seems to be involved with the regulation of the transcription of the p53 tumour suppressor gene and with the apoptosis associated with it. It is well recognized that p53 is pivotal to the development of cancer either in *in vitro* cell lines or in humans¹⁴.

SIRT7 is overexpressed in many cancer lineages. Some studies suggest an oncogenic role for this protein. SIRT7 binds to chromatin, where it catalyzes the deacetylation of the lysine 18 in the histone H3 (H3K18), an epigenetic marker of tumour aggressiveness and poor prognosis in cancer patients.¹⁸ Additionally, SIRT7 also participates of the synthesis of ribosomal RNA (rRNA) and transfer RNA (tRNA), necessary for cell proliferation and tumour development. Recent evidence indicates that SIRT7 may act as an oncogene, since its expression is associated with the aggressiveness of some kinds of cancer such as breast, thyroid, colon and hepatocellular carcinoma.^{19,20,21,22}

There are few studies evaluating the expression of sirtuins in endometrial carcinoma. Asaka et al. compared the expression of SIRT1 in samples of normal endometrium and in samples of endometrial cancer. SIRT1 expression was significantly higher in cancer samples⁷. Likewise, Guo et al. have shown the overexpression of SIRT1 in endometrial cancer in

comparison with the non-neoplastic endometrium²³. However, Marc et al observed a decreased expression of SIRT1 in neoplastic endometrium as compared with normal samples²⁴. Bartosch et al published the only study that analysed the expression of the seven known sirtuins in endometrial cancer⁸. In their study, the expression of SIRT1 and of SIRT7 was evaluated by two different methodologies: IHC and quantitative PCR. Interestingly, SIRT1 was overexpressed in cancer samples by IHC, but had a low expression by mRNA (PCR); SIRT7, on the other hand, showed very little expression by IHC and had a high expression by mRNA (PCR). In our study, results were similar to those that Bartosch et al. found in the IHC analysis. Similar to their findings, in our samples of endometrial carcinoma, SIRT1 and SIRT7 expression were not related to known prognostic factors. Of note, we have used the same type of antibody of Bartosch's study (nuclear staining). Our findings were different from those of the study by Asaka et al., in which overexpression of SIRT1 was correlated with grade 3 tumours and with lymphovascular invasion, prognostic factors of aggressiveness. Interestingly, the antibody used in Asaka's study was different, with basically cytoplasmatic staining.

Although Asaka et al. reported the association of the overexpression of SIRT1 and worse prognostic factors in endometrial carcinoma, their findings were not confirmed by the study of Bartosch et al. and by our study. Sirtuins are important in a diversity of cellular pathways directly related to DNA, and their presence in the cells of endometrial carcinoma is not necessarily related to prognosis. The presence of these proteins in cancer cells may indicate pathways that could be either blocked or activated in the treatment of these patients. Many pre-clinical studies have evaluated mechanisms to block or stimulate signalling pathways of histone deacetylases (HDACs) in the search for novel therapeutic targets in different types of cancer. The potential oncogenic role of SIRT1 was exemplified by studies that demonstrated that the blockage of this protein, as well as of other HDACs, promotes the arrest of cellular growth and apoptosis in breast, colonic and lung cancers^{25,26,27}. Conversely, the overexpression of this protein was also related to a potential role as a tumour suppressor in some *in vitro* and *in vivo* studies, suggesting that this protein acts as a tumour suppressor too, with pro-apoptotic and anti-proliferative activity^{28, 29, 30, 31, 32}. Based on these data, a study was conducted using the SRT1720, an oral agent to evaluate the role of this protein in multiple myeloma cells and xenographic models. The objective was to evaluate the use of this SIRT1 activator in combination with the standard treatment for multiple myeloma, which is bortezomib and dexamethasone. The study showed that the combination of SRT1720 with

bortezomib and dexamethasone in xenographic models increased antitumor activity, suggesting that clinical studies should be conducted to evaluate this protein with or without the combination of bortezomib and dexamethasone ³³.

SIRT1 is overexpressed in cell lines (SK-Mel-2, WM35, G361, A375, Hs294T) and human tissues of malignant melanoma as compared to normal melanocytes and normal skin. Another study evaluated the role of Tenovin-1, a small SIRT1 inhibitory molecule in human malignant melanoma cells and tissue. The use of Tenovin-1 resulted in a significant decrease in cell proliferation and cell viability, promoting the expression and the activity of p53, an oncogene, which is not mutated in most malignant melanomas ³⁴.

The use of another SIRT1 inhibitor, sirtinol, was evaluated in the treatment of pancreatic carcinoma cell lines (PANC-1, BXPC-3 and SW1990) *in vitro* and in xenographic models combined or not with gemcitabine chemotherapy. Combined therapy of sirtinol and gemcitabine resulted in increased survival in the xenographic model of BXPC-3 cell line compared with the use of sirtinol or gemcitabine alone, showing a synergistic effect and indicating another possible combination of agents for evaluation in future clinical trials ³⁵.

Regarding SIRT7, several studies have shown the oncogenic potential of this protein and the association of its overexpression with worse prognosis. The expression of SIRT7 was increased in several cell lines of hepatocarcinoma samples. The overexpression of this protein in patients with hepatocarcinoma occurred through endogenous hypermethylation, that leads a decrease in the expression of microRNAs (miR-125a-5p and miR-125b), increasing the expression of SIRT7. When the endogenous methylation was blocked with azacytidine, an inhibitor of the DNA methylation, the expression of these microRNAs was restored, inhibiting cell growth and proliferation, with the arrest of G1 / S phase of the cell cycle in tumour cells. The same mechanism of action has also been demonstrated in a study in bladder and urothelial cancer ^{9,36}.

In patients with colorectal cancer, overexpression of SIRT7 was associated with a poor prognosis. The increased expression of SIRT7 resulted in cell proliferation due to elevated levels of p-ERK 1/2 and cyclin D1. The use of 5-fluorouracil in colorectal cancer cells led to the degradation and the decrease in the expression of SIRT7. This mechanism was associated with more sensitivity of these tumor cells to radiotherapy, again signaling that blocking SIRT7 expression may be an effective pharmacological strategy to increase the response to both chemotherapy and radiotherapy in cancer patients ³⁷.

Our study presented limitations such as a small sample, consisting of 66 cases of endometrial cancer. Moreover, some cases of the initial sample had to be discarded due to

poor paraffin block conditions, making it impossible to perform the IHC technique. The study was retrospective, and the IHC was made with semi-quantitative analysis. Complete clinical outcomes of all patients evaluated on the study could bring additional information. Future studies are needed to elucidate the role of sirtuins in endometrial cancer. We believe that these proteins may be potential therapeutic targets that should be evaluated in future clinical trials.

MATERIALS AND METHODS

Patients and samples

We performed a retrospective evaluation of the immunohistochemical expression of SIRT1 and SIRT7 in tissue samples of 66 patients with endometrial carcinoma treated surgically at a university hospital (Hospital São Lucas, Pontifícia Universidade Católica), from January 2000 to December 2015. In the preoperative setting, all patients signed an informed consent form, which allowed for the collection of tumour samples for the purpose of the study and assured the confidentiality of the data.

The clinical and pathological variables accessed were patients' age, tumour type, tumour grade, tumour size (greatest diameter), presence of myometrium invasion, presence of vascular invasion, presence of nodal metastases and pathological staging according to the 2009 International Federation of Gynaecology and Obstetrics (FIGO). Data were stored in a computerized database (Microsoft Excel[®]) for future analysis.

Immunohistochemistry

Tissue samples for the immunohistochemical analysis of SIRT1 and SIRT7 were obtained from paraffin-embedded tumours at the Department of Pathology of our university hospital. Sections (3µm thick) were performed with a microtome (SM 2000R[®]Leica, Germany). Slides were mounted (FLEX IHC Microscope Slides[®], Dako) and heated in a 60°C oven for 24h, deparaffinised in xylene and hydrated. Antigen retrieval was performed by heating the slides for 15 minutes at 98°C at a pTLINK (DAKO) platform with the Envision Flex solution at a high pH (DAKO). Soon afterwards, the slides were washed with a PBS

buffer solution at a pH of 7.2. Endogen peroxidase block was performed with a solution of 3% H₂O₂ in methylic alcohol in two 15 minutes incubations followed by three washes with PBS buffer at a pH of 7.2.

The slides were incubated for 20 minutes with a capillary methodology through the immunostaining station Sequenza (ThermoShandon, USA) for the two antibodies: for SIRT1 clone E104 (ABCAM 32441) a 1:100 dilution in PBS and an overnight incubation with PBS buffer at a temperature of 5-6°C was used, and a 1:100 dilution in PBS buffer incubated at a temperature of 2-8°C for SIRT7 polyclonal antibody (PA5-13226). Slides were then washed with PBS buffer at a pH of 7.2 and incubated with a diaminobenzidine solution (Dako Liquid DAB Substrate Chromogen System, USA) for 5 minutes. After washing with distilled water, the slides were counterstained with Harris haematoxylin for 1 minute and washed with tap water until the complete removal of the staining solution and incubated for 15 seconds with a 37 mM solution of ammonia. Finally, slides were dehydrated in absolute ethylic alcohol (four 2 minutes incubations) and treated with xylene for 5 minutes twice. Slides were then mounted in Entellan (Merck, Germany).

Counting methodology

An experienced pathologist performed the semi-quantitative analysis of the protein expression of SIRT1 and SIRT7. The nuclear expression of the proteins was analysed with the Allred score, with an estimate of the proportion and intensity of cellular positivity (0-2 negative, 3-8 positive). As positive controls for SIRT1 we used colorectal mucosa and kidney, and as positive controls for SIRT7 we used colorectal mucosa and testicular parenchyma. As negative controls, we omitted the antibody from the experiment.

Statistical analysis

Continuous data were described by mean, standard deviation, minimum, and maximum values. Categorical data were presented as counts and percentages. Correlations between continuous and ordinal variables were assessed using Spearman's rank correlation coefficient (r_s). Comparisons between sirtuin IHC expression and patients' characteristics were evaluated via Fisher's exact test. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$. All data were analyzed using SPSS version 22.0.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors have nothing to disclose.

REFERENCES

1. Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *GynecolOncol* 1983; 15:10.; Felix AS, Weissfeld JL , Stone RA ET AL.
 2. Factors associated with Type I and Type II endometrial cancer. *Cancer Causes Control* 2010; 21:1851
 3. Grozinger CM, Schreiber SL. Deacetylase enzymes: biological functions and the use of small-molecule inhibitors. *Chemistry & biology*. 2002;9(1):3-16.
 4. Choi JE and Mostoslavsky R. Sirtuins , metabolism and DNA repair. *Current opinion in genetics and development*. 2014; 26c:24-32.
 5. Mei et al. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* (2016) 35:182
 6. Lin L,Zheng X, Qiu C, Dongol S, LV Q, Jiang J, Kong B and Wang C. SIRT 1 promotes endometrial tumor growth by targeting SREBP1 and lipogenesis. *Oncology reports*. 2014; 32:2831-2835.
 7. Asaka R, Miyamoto T, Yamada Y, Ando H, Mvunta DH, Kobara H and Shiozawa T. Sirtuin 1 promotes the growth and cisplatin resistance of endometrial carcinoma cells: a novel therapeutic target. *Laboratory investigation*. 2015; 95:1363-1373.
 8. Bartosch C, Monteiro-Reis S, Almeida-Rios D, Vieira R, Castro A, Moutinho M, Rodrigues M, Graça I, Lopes JM anda Jerónimo C. Assessingsirtuinexpression in endometrial carcinoma and non-neoplasticendometrium. *Oncotarget* ,Vol 7 nº 2. 2015; 1144-1154.
 9. Kim Jk, Noh JH, Jung KH, Eun JW, Bae HJ, Kim MG, Chang YG, Shen Q, Park Ws et al. Sirtuin 7 oncogenic potential in human hepatocellular carcinoma and its regulation by the tumor supressors MiR-125b. *Hepatology* 2013; 57:1055-1067; PMID :27436229
 10. Aljada A, Saleh AM, Alkanthiri M, Shamsa HB. Al-Bawab A, Nasr A. Altered Sirtuin 7 expression is associated with early stage breast cancer. *Breast Cancer (Auckl)* 2015; 9:3-8; PMID: 25922576.
 11. Shi H, Zhang D, Liu Y, Fang P. MicroRNA-3666-induced suppression of SIRT7 inhibits the growth of non-small cell lung cancer cells. *Oncol Rep* 2016; 36:3051-3057; PMID: 27599551.
-

12. Wang HL, Lu RQ, Xie SH, Zheng H, Wen XM, Gao X, Guo L. SIRT7 exhibits oncogenic potential in human ovarian cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 3573-3577; PMID: 25921180.
 13. Pecorelli S (2009) Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix and endometrium. *Int J Gynecol Obstet Off Organ Int Fed Gynecol Obstet* 105:103-104.
 14. Roth M and Chen WY. Sorting out functions of sirtuins in cancer. *Oncogene*.2014; 33:1609-1620.
 15. Michishita E, Park JY, Burneskis JM, Barret JC, Horikawa I. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Mol Biol Cell*. 2005;16:4623-35.
 16. Wang RH, Sengupta K, Li C, et al. Impaired DNA damage response, genome instability, and tumorigenesis in Sirt1 mutant mice. *Cancer Cell*.2008;14:312-23.
 17. Fraga MF, Ballestar E, Villar – Garea A, Boix- Chormet M, Espada J, Schotta G, et al. Loss of acetylation at Lys 16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nat Genet*. 2005; 37 (4): 391-400
 18. Sirt 7 promotes genome integrity and modulates non-homologous end joining DNA repair. Vazquez Berta N, Trackray Joshua K, Goldsmith- Kane Noriko et al. *The EMBO journal*, Vol 35. No 14 , 2016 : 1488- 1503
 19. Ashraf, N. et al. Altered sirtuin expression is associated with node- positive breast cancer. *Br J Cancer* 95 1056-1061 (2006)
 20. de Nigris , F. et al. Isolation of Sir-like gene , Sir –T8, that is overexpressed in thyroid carcinoma cell lines and tissues. *Br J Cancer* 86, 917-923. (2002)
 21. Yu, H. et al. Overexpression of Sirt 7 exhibits oncogenic property and serves as a prognostic factor in colorectal cancer. *Clin Cancer Res: na official journal of the American Association for Cancer Research*, doi: 10.1158/1078-0432. CCR-13-2952 (2014)
 22. Kim , J. K. et al. Sirtuin 7 oncogenic potencial in human hepatocellular carcinoma and its regulation by the tumor suppressors MiR-125 a-5p and MiR-125 b. *Hepatology*, doi: 10.1002/hep.26101 (2012).
 23. Guo-H-y, Zhang Y-I, Li Z-h, Bing-juan Z and Guo S-q. Expression and significance of SIRT1 and Survivin in endometrial carcinoma. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2012-11.
 24. Marc C. (2008). A expressão da enzima sirtuína 1 (SIRT1) no câncer de endométrio (Master Thesis Dissertation: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, in Portuguese)
 25. Ford, J., Jiang, M., Milner, J. (2005) Cancer –specific functions of SIRT1 enable human epithelial cancer cell growth and survival. *Cancer Research*, 65, 10457-10463
-

26. Heltweg, B., Gatbonton, T., Schuler, A.D., Posakony, J., Li, H., Goehle, S., Kollipara, R., Delpinho, R.A., Gu, Y., Simon, J.A., Bedalov, A. (2006) Antitumor activity of a small-molecule inhibitor of human silent information regulator 2 enzymes. *Cancer Research* , 66, 4368-4377.
 27. Ota, H., Tokunaga, E., Chang, K., Hikasa, M., Ouchi, Y., Kaneki, M. (2006) Sirt1 inhibitor Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene* , 25, 176-185.
 28. Yeung, F., Hoberg, J.E., Ramsey, C.S., Keller, M.D., Jones, D.R., Frye, R.A., Mayo, M.W. (2004) Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO Journal* , 23, 2369-2368
 29. Chua, K.F., Mostoslavsky, R., Lombard, D.B., Pang, W.W., Saito, S., Franco, S., Kaushal, D., Cheng, H.L., Fischer, M.R., Stokes, N., Murphy, M.M., Appella, E., Alt, F.W. (2005) Mammalian SIRT1 limits replicative life span in response to chronic genotoxic stress. *Cell Metabolism*, 2, 67-76.
 30. Fu, M., Liu, M., Sauve, A.A., Jiao, X., Zhang, X., Wu, X., Powell, M.J., Yang, T., Gu, W., Avantaggiati, M.L., Pattabiraman, N., Pestell, T.G., Wang, F., Quong, A.A., Wang, C., Pestell, R.G. (2006) Hormonal Control of androgen receptor function through SIRT1. *Molecular and Cellular Biology*, 26, 8122-8135.
 31. Firestein, R., Blander, G., Michan, S., Oberdoerffer, P., Ogino, S., Campbell, J., Bhimavarapu, A., Kuikennhuis, S., de Cabo, R., Fuchs, C., Hahn, W.C., Guarente, L.P., Siclair, D.A. (2008) The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth. *PLoS ONE*, 3, e2020
 32. Wang, R. H., Sengupta, K., Li, C., Kim, H.S., Cao, L., Xiao, C., Kim, S., Xu, X., Zheng, Y., Chilton, B., Jia, R., Zheng, Z.M., Appella, E., Wang, X.W., Ried, T., Deng, C.X. (2008) Impaired DNA damage response, genome instability, and tumorigenesis in SIRT1 mutant mice. *Cancer Cell*, 14, 312-323.
 33. Chauhan D, Bandi M, Singh A.V, Ray A., Raje N., Richardson P, Anderson K.C. Preclinical evaluation of a novel SIRT1 modulator SRT1720 in multiple myeloma cells. *British Journal of Haematology*, 2011, 155: 588-598.
 34. Wilking M.J, Singh C, Nihal M, Zhong W., Ahmad N. SIRT1 deacetylase is overexpressed in human melanoma and its small molecule inhibition imparts anti-proliferative response via p53 activation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 563 (2014) 94-100.
 35. Gong D.J, Zhang J.M, Yu M., Ahuang B., Guo Q.Q. Inhibition of Sirt 1 combined with gemcitabine therapy for pancreatic carcinoma. *Clinical Interventions in Aging* 2013 :8 889-897.
 36. Han Y, Liu Y, Zhang H, Wang T, Diao R, Jiang Z, Gui Y, Ca Z. Hsa-miR-125b suppresses bladder cancer development by down-regulating oncogene SIRT7 and oncogenic long non-coding RNA MALAT -1 . *FEBS let* 2013 nov 29;587 (23):3875-82.
-

37. Tang M., Lu X., Zhang C., Du C., Cao L., et al. Downregulation of SIRT7 by 5-flouracil induces radiosensitivity in human colorectal cancer. *Theranostics*, 2017; 7(5):1345-1359. Doi:10.7150/thno.18804
-

7 DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabe-se que as sirtuínas estão envolvidas na resposta celular ao estresse, na regulação da expressão gênica, no reparo ao dano do DNA, no metabolismo celular e na sobrevivência celular. Elas podem atuar como promotores ou como supressores na carcinogênese (88). As funções das sirtuínas podem variar de acordo com o tipo de neoplasia e com a via de sinalização envolvida. As localizações celulares destas proteínas diferem, sendo a SIRT1 predominantemente nuclear, embora possa ser expressa no citoplasma, enquanto que a SIRT7 geralmente está localizada no nucléolo celular. Tanto a SIRT1 como a SIRT7 atuam como desacetilases (89). A função dessas proteínas no processo de desenvolvimento das neoplasias é controversa. Por um lado, elas podem proteger o DNA de danos e do estresse oxidativo, mantendo a estabilidade genômica, limitando a divisão celular e induzindo a apoptose. Por outro lado, alguns estudos sugerem que essas mesmas sirtuínas facilitam a sobrevivência celular sob estresse e que elas podem estar diretamente envolvidas com o desenvolvimento tumoral inibindo os mecanismos de apoptose celular e estimulando o crescimento de células neoplásicas (90) (91).

Em nosso estudo, a expressão de imunohistoquímica de SIRT1 e SIRT7 foi avaliada e classificada de acordo com o escore de Allred. As amostras de carcinomas endometriais foram mais positivas para a expressão de SIRT1 (40,9%), com menor positividade para a expressão de SIRT7 (24,1%). A SIRT7 foi mais expressa em tumores de grau 3 (pouco diferenciados). Na literatura, a expressão de SIRT7 está relacionada com a agressividade tumoral e com pior prognóstico. Quanto à avaliação de outros fatores prognósticos adversos, nenhum mostrou correlação positiva com a expressão de SIRT1 e de SIRT7.

A SIRT1 é a mais estudada das histonas desacetilases. Promove a desacetilação das lisinas 9 e 14 da histona H3, bem como a desacetilação da lisina16 da histona H4. A desacetilação promovida pela SIRT1 parece estar envolvida com a regulação da transcrição do gene supressor tumoral p53 e com apoptose celular associada a ele. É bem estabelecido que oncogene p53 é fundamental para o desenvolvimento do câncer em linhagens celulares *in vitro* e em seres humanos (90).

A SIRT7 é tem sua expressão aumentada em muitas linhagens de células neoplásicas. Alguns estudos sugerem um papel oncogênico para esta proteína. A SIRT7 liga-se à

cromatina, onde catalisa a desacetilação da lisina 18 na histona H3 (H3K18), um marcador epigenético de agressividade tumoral e de mau prognóstico em pacientes com câncer. Além disso, a SIRT7 também participa da síntese de RNA ribossômico (RNAr) e de transferência de RNA celular (RNAt), processo necessário para a proliferação celular e desenvolvimento tumoral. Evidências recentes indicam que a SIRT7 pode atuar como oncogene (4).

Poucos estudos avaliaram a expressão das sirtuínas no carcinoma endometrial. Asaka et al. comparou a expressão de SIRT1 em amostras de endométrio normal e em amostras de câncer de endométrio. A expressão de SIRT1 foi significativamente maior nas amostras de câncer de endométrio (92). Do mesmo modo, Guo et al. mostraram a expressão aumentada da SIRT1 no câncer de endométrio em comparação com o endométrio não neoplásico (93). No entanto, Marc et al observaram uma diminuição da expressão da SIRT1 no endométrio neoplásico em comparação com as amostras normais (94). Bartosch et al publicaram o único estudo que analisou a expressão das sete sirtuínas conhecidas no câncer de endométrio (95). No estudo, a expressão de SIRT1 e de SIRT7 foi avaliada por duas metodologias diferentes: IHC e PCR quantitativo. Curiosamente, a SIRT1 teve sua expressão aumentada em amostras de câncer por IHC, mas teve uma baixa expressão quando analisada por PCR quantitativo; a SIRT7, por outro lado, mostrou muito pouca expressão por IHC e teve uma expressão elevada por PCR quantitativo. Em nosso estudo, os resultados foram semelhantes aos de Bartosch et al. encontrados na análise IHC. Semelhante aos seus achados, em nossas amostras de carcinoma endometrial, a expressão SIRT1 e SIRT7 não estava relacionada a fatores prognósticos conhecidos. Utilizamos o mesmo tipo de anticorpo do estudo de Bartosch (com coloração nuclear). Nossos achados foram diferentes dos do estudo de Asaka et al., Nos quais a expressão aumentada da SIRT1 foi correlacionada com tumores de grau 3 e com invasão linfovascular, fatores prognósticos adversos. O anticorpo usado no estudo de Asaka era diferente, com coloração basicamente citoplasmática, o que poderia justificar esses achados.

Embora Asaka et al. relataram a associação do aumento da expressão de SIRT1 com piores fatores prognósticos no carcinoma endometrial, seus achados não foram confirmados pelo estudo de Bartosch et al. e pelo nosso estudo. As sirtuínas são importantes em uma diversidade de processos celulares diretamente relacionados ao DNA, e sua presença nas células do carcinoma endometrial não está necessariamente relacionada ao prognóstico. A presença dessas proteínas em células neoplásicas pode indicar vias de sinalização a serem bloqueadas ou ativadas no tratamento dessas pacientes. Muitos estudos pré-clínicos avaliaram mecanismos para bloquear ou ativar as vias de sinalização das histonas desacetilases

(HDACs) na busca de novos alvos terapêuticos em diferentes tipos de câncer. O potencial papel oncogênico da SIRT1 foi exemplificado por estudos que demonstraram que o bloqueio dessa proteína, bem como de outras HDACs, promovendo a parada de crescimento celular e a apoptose em cânceres de mama, cólon e pulmão (96) (97) (6). Contrariamente, o aumento da expressão da SIRT1 também está relacionado a uma potencial ação supressora tumoral em alguns estudos *in vitro* e *in vivo*, sugerindo que esta proteína também atua como supressor tumoral, com atividade pró-apoptótica e antiproliferativa (98) (99) (100) (101) (90). Com base nesses dados, um estudo foi realizado utilizando o SRT1720, um agente oral ativador de SIRT1 para avaliar o papel desta proteína em células de mieloma múltiplo em modelos xenográficos. O estudo avaliou o uso desse ativador de SIRT1 em combinação com o tratamento padrão para mieloma múltiplo, que é o bortezomibe combinado com dexametasona. O estudo mostrou que a combinação de SRT1720 com bortezomibe e dexametasona aumentou a atividade antitumoral em modelos xenográficos, sugerindo que novos estudos clínicos deveriam ser conduzidos para avaliar esta proteína com ou sem a combinação de bortezomibe e dexametasona no tratamento do mieloma múltiplo (7).

A SIRT1 tem sua expressão aumentada em linhagens celulares (SK-Mel-2, WM35, G361, A375, Hs294T) e em tecidos humanos de melanoma maligno em comparação com melanócitos normais e pele normal. Outro estudo avaliou o papel da Tenovin-1, uma pequena molécula inibitória SIRT1 em células e tecidos de melanoma maligno humano. O uso de Tenovin-1 resultou em uma diminuição significativa na proliferação e viabilidade celular, promovendo a expressão e a ativação do p53, oncogene, que não está mutante na maioria dos melanomas malignos (2).

O uso de outro inibidor SIRT1, o sirtinol, foi avaliado no tratamento de linhagens celulares de carcinoma pancreático (PANC-1, BXPC-3 e SW1990) *in vitro* e em modelos xenográficos combinados ou não com quimioterapia com gemcitabina. A terapia combinada de sirtinol e gemcitabina resultou em maior sobrevivência no modelo xenográfico da linhagem celular BXPC-3 em comparação com o uso de sirtinol ou gemcitabina isoladamente, mostrando efeito sinérgico e indicando outra possível combinação de agentes no tratamento do câncer (8).

Em relação à SIRT7, vários estudos mostraram o potencial oncogênico desta proteína e a associação de sua expressão com pior prognóstico. A expressão de SIRT7 está aumentada em várias linhagens celulares de hepatocarcinoma. O aumento da expressão dessa proteína em pacientes com hepatocarcinoma ocorre através da hipermetilação endógena, que leva a uma

diminuição na expressão de microRNAs (miR-125a-5p e miR-125b), aumentando a expressão de SIRT7. Quando a metilação endógena foi bloqueada com a azacitidina, um inibidor da metilação do DNA, a expressão desses microRNAs foi restaurada, inibindo o crescimento e a proliferação celular, com a parada da fase G1 / S do ciclo celular nas células tumorais. O mesmo mecanismo de ação também foi demonstrado em um estudo com carcinoma urotelial de bexiga. (84) (102).

Em pacientes com câncer colorretal, a expressão aumentada de SIRT7 foi associada a um pior prognóstico. A expressão aumentada de SIRT7 resultou em proliferação celular devido a níveis elevados de p-ERK 1/2 e ciclina D1. O uso de 5-fluoracil amostras celulares de câncer colorretal levou à degradação e à diminuição da expressão de SIRT7. Este mecanismo foi associado a um aumento da sensibilidade dessas células tumorais à radioterapia, novamente sinalizando que o bloqueio da expressão SIRT7 pode ser uma estratégia farmacológica efetiva para aumentar a resposta tanto à quimioterapia quanto à radioterapia em pacientes com câncer (103).

Nosso estudo apresentou algumas limitações como uma pequena amostra, composta de 66 casos de câncer de endométrio. Além disso, alguns casos da amostra inicial tiveram que ser descartados devido a condições precárias dos blocos de parafina, tornando impossível a realização da técnica de IHC. O estudo foi retrospectivo, e a expressão da imunohistoquímica foi analisada por um método semi-quantitativo. Estudos futuros são necessários para elucidar o papel das sirtuínas no câncer de endométrio. Acreditamos que essas proteínas podem ser possíveis alvos terapêuticos a serem desenvolvidos no tratamento do câncer.

8 REFERÊNCIAS

1. Colombo N, Preti E, Landoni F, Carinelli S, Colombo A, Marini C, et al. Endometrial cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2013 Oct;24 Suppl 6(SUPPL.6):vi33-8.
2. Wilking MJ, Singh C, Nihal M, Zhong W, Ahmad N. SIRT1 deacetylase is overexpressed in human melanoma and its small molecule inhibition imparts anti-proliferative response via p53 activation. *Arch Biochem Biophys*. 2014;563:94–100.
3. de Jong E, Winkel P, Poelstra K, Prakash J. Anticancer effects of 15d-prostaglandin-J2 in wild-type and doxorubicin-resistant ovarian cancer cells: novel actions on SIRT1 and HDAC. *PLoS One*. 2011;6(9):e25192.
4. Vazquez BN, Thackray JK, Simonet NG, Kane- Goldsmith N, Martinez- Redondo P, Nguyen T, et al. SIRT7 promotes genome integrity and modulates non- homologous end joining DNA repair. *EMBO J*. 2016;35(14):1488–503.
5. Ford E, Voit R, Liszt G, Magin C, Grummt I, Guarente L. Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription. *Genes Dev*. 2006;20(9):1075–80.
6. Ota H, Tokunaga E, Chang K, Hikasa M, Iijima K, Eto M, et al. Sirt1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene*. 2006;25(2):176–85.
7. Chauhan D, Bandi M, Singh A V., Ray A, Raje N, Richardson P, et al. Preclinical evaluation of a novel SIRT1 modulator SRT1720 in multiple myeloma cells. *Br J Haematol*. 2011;155(5):588–98.
8. Gong D-J, Zhang J-M, Yu M, Zhuang B, Guo Q-Q. Inhibition of SIRT1 combined with gemcitabine therapy for pancreatic carcinoma. *Clin Interv Aging*. 2013;8:889–97.
9. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015 Mar;65(2):87–108.
10. INCA. Instituto Nacional do Cancer - Estimativa 2016. Ministério Da Saúde. 2016. Disponível em www.inca.gov.br/estimativa/2016/
11. Kwon JS, Scott JL, Gilks CB, Daniels MS, Sun CC, Lu KH. Testing women with endometrial cancer to detect Lynch syndrome. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 1;29(16):2247–52.
12. Lancaster JM, Powell CB, Kauff ND, Cass I, Chen L, Lu KH, et al. Society of Gynecologic Oncologists Education Committee Statement on Risk Assessment for Inherited Gynecologic Cancer Predispositions for the Society of Gynecologic Oncologists Hereditary Cancer Education Resource Panel. *Gynecol Oncol*. 2007;107(2):159–62.
13. Bokhman J V. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*.

- 1983 Feb;15(1):10–7.
14. Felix AS, Weissfeld JL, Stone RA, Bowser R, Chivukula M, Edwards RP, et al. Factors associated with Type I and Type II endometrial cancer. *Cancer Causes Control*. 2010 Nov;21(11):1851–6.
 15. Shapiro S, Kelly JP, Rosenberg L, Kaufman DW, Helmrich SP, Rosenshein NB, et al. Risk of localized and widespread endometrial cancer in relation to recent and discontinued use of conjugated estrogens. *N Engl J Med*. 1985 Oct 17;313(16):969–72.
 16. Lurain JR. Câncer Uterino. In: Berek JS, editor. *Novak Tratado de Ginecologia*. 12^a. 1998. p. 749–86.
 17. Soliman PT, Wu D, Tortolero-Luna G, Schmeler KM, Slomovitz BM, Bray MS, et al. Association between adiponectin, insulin resistance, and endometrial cancer. *Cancer*. 2006 Jun 1;106(11):2376–81.
 18. Murali R, Soslow RA, Weigelt B. Classification of endometrial carcinoma: More than two types. *The Lancet Oncology*. 2014.
 19. Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, Cherniack AD, Akbani R, Liu Y, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature*. 2013 May 2;497(7447):67–73.
 20. Conlon N, Leitao MM, Abu-Rustum NR, Soslow RA. Grading uterine endometrioid carcinoma: a proposal that binary is best. *Am J Surg Pathol*. 2014 Dec;38(12):1583–7.
 21. Brinton LA, Felix AS, McMeekin DS, Creasman WT, Sherman ME, Mutch D, et al. Etiologic heterogeneity in endometrial cancer: Evidence from a Gynecologic Oncology Group trial. *Gynecol Oncol*. 2013;129(2):277–84.
 22. Smith RA, von Eschenbach AC, Wender R, Levin B, Byers T, Rothenberger D, et al. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer: update of early detection guidelines for prostate, colorectal, and endometrial cancers. Also: update 2001--testing for early lung cancer detection. *CA Cancer J Clin*. 51(1):38-75-80.
 23. Setiawan VW, Yang HP, Pike MC, McCann SE, Yu H, Xiang YB, et al. Type I and II endometrial cancers: have they different risk factors? *J Clin Oncol*. 2013;31(20):2607–18.
 24. Huang CY, Tang YH, Chiang YC, Wang KL, Fu HC, Ke YM, et al. Impact of management on the prognosis of pure uterine papillary serous cancer - A Taiwanese Gynecologic Oncology Group (TGOG) study. *Gynecol Oncol*. 2014;133(2):221–8.
 25. Xiong J, He M, Jackson C, Ou JJ, Sung CJ, Breese V, et al. Endometrial carcinomas with significant mucinous differentiation associated with higher frequency of K-ras mutations: A morphologic and molecular correlation study. *Int J Gynecol Cancer*. 2013;23(7):1231–6.
 26. Ruhul Quddus M, Sung CJ, Cunxian Zhang, Dwayne Lawrence W. Minor serous and clear cell components adversely affect prognosis in mixed-type endometrial carcinomas: A clinicopathologic study of 36 stage-I cases. *Reprod Sci*. 2010;17(7):673–8.
-

27. Lopez-Garcia MA, Palacios J. Pathologic and molecular features of uterine carcinosarcomas. *Semin Diagn Pathol.* 2010;27(4):274–86.
 28. Gimpelson RJ, Rappold HO. A comparative study between panoramic hysteroscopy with directed biopsies and dilatation and curettage. A review of 276 cases. *Am J Obstet Gynecol.* 1988 Mar;158(3 Pt 1):489–92.
 29. Pecorelli S. FIGO COMMITTEE ON GYNECOLOGIC ONCOLOGY Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynecol Obstet.* 2009;105:103–4.
 30. Morrow CP, Bundy BN, Kurman RJ, Creasman WT, Heller P, Homesley HD, et al. Relationship between surgical-pathological risk factors and outcome in clinical stage I and II carcinoma of the endometrium: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 1991;40(1):55–65.
 31. Guntupalli SR, Zigelboim I, Kizer NT, Zhang Q, Powell MA, Thaker PH, et al. Lymphovascular space invasion is an independent risk factor for nodal disease and poor outcomes in endometrioid endometrial cancer. *Gynecol Oncol.* 2012;124(1):31–5.
 32. Galaal K, Bryant A, Fisher AD, Al-Khaduri M, Kew F, Lopes AD. Laparoscopy versus laparotomy for the management of early stage endometrial cancer. *Cochrane database Syst Rev.* 2012 Sep 12;(9):CD006655.
 33. Gaia G, Holloway RW, Santoro L, Ahmad S, Di Silverio E, Spinillo A. Robotic-assisted hysterectomy for endometrial cancer compared with traditional laparoscopic and laparotomy approaches: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2010 Dec;116(6):1422–31.
 34. Creasman WT, Morrow CP, Bundy BN, Homesley HD, Graham JE, Heller PB. Surgical pathologic spread patterns of endometrial cancer: A gynecologic oncology group study. *Cancer.* 1987;60(8 S):2035–41.
 35. Boronow RC, Morrow CP, Creasman WT, Disaia PJ, Silverberg SG, Miller A, et al. Surgical staging in endometrial cancer: clinical-pathologic findings of a prospective study. *Obstet Gynecol.* 1984 Jun;63(6):825–32.
 36. Panici PB, Basile S, Maneschi F, Lissoni AA, Signorelli M, Scambia G, et al. Systematic pelvic lymphadenectomy vs no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: Randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100(23):1707–16.
 37. ASTEC study group, Kitchener H, Swart AMC, Qian Q, Amos C, Parmar MKB. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet (London, England).* 2009 Jan 10;373(9658):125–36.
 38. Kim HS, Suh DH, Kim M-K, Chung HH, Park NH, Song YS. Systematic lymphadenectomy for survival in patients with endometrial cancer: a meta-analysis. *Jpn J Clin Oncol.* 2012;42(5):405–12.
 39. Kang S, Yoo HJ, Hwang JH, Lim M-C, Seo S-S, Park S-Y. Sentinel lymph node biopsy in endometrial cancer: Meta-analysis of 26 studies. *Gynecol Oncol.* 2011;123(3):522–7.
-

40. Rossi EC, Kowalski LD, Scalici J, Cantrell L, Schuler K, Hanna RK, et al. A comparison of sentinel lymph node biopsy to lymphadenectomy for endometrial cancer staging (FIRES trial): a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol.* 2017;18(3):384–92.
 41. Todo Y, Yamamoto R, Minobe S, Suzuki Y, Takeshi U, Nakatani M, et al. Risk factors for postoperative lower-extremity lymphedema in endometrial cancer survivors who had treatment including lymphadenectomy. *Gynecol Oncol.* 2010;119(1):60–4.
 42. Abu-Rustum NR, Alektiar K, Iasonos A, Lev G, Sonoda Y, Aghajanian C, et al. The incidence of symptomatic lower-extremity lymphedema following treatment of uterine corpus malignancies: A 12-year experience at Memorial Sloan-Kettering Cancer Center. *Gynecol Oncol.* 2006;103(2):714–8.
 43. Sorbe B, Nordström B, Mäenpää J, Kuhelj J, Kuhelj D, Okkan S, et al. Intravaginal brachytherapy in FIGO stage I low-risk endometrial cancer: A controlled randomized study. *Int J Gynecol Cancer.* 2009;19(5):873–8.
 44. Keys HM, Roberts JA, Brunetto VL, Zaino RJ, Spirtos NM, Bloss JD, et al. A phase III trial of surgery with or without adjunctive external pelvic radiation therapy in intermediate risk endometrial adenocarcinoma: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 2004;92(3):744–51.
 45. Kong A, Johnson N, Kitchener HC, Lawrie TA. Adjuvant radiotherapy for stage I endometrial cancer: an updated Cochrane systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2012 Nov 7;104(21):1625–34.
 46. Nout RA, Smit VTHBM, Putter H, Jürgenliemk-Schulz IM, Jobsen JJ, Lutgens LCHW, et al. Vaginal brachytherapy versus pelvic external beam radiotherapy for patients with endometrial cancer of high-intermediate risk (PORTEC-2): an open-label, non-inferiority, randomised trial. *Lancet.* 2010;375(9717):816–23.
 47. Alektiar KM, Venkatraman E, Chi DS, Barakat RR. Intravaginal brachytherapy alone for intermediate-risk endometrial cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;62(1):111–7.
 48. Galaal K, Al Moundhri M, Bryant A, Lopes AD, Lawrie TA. Adjuvant chemotherapy for advanced endometrial cancer (Review). *Cochrane Database Syst Rev.* 2014;(5):CD010681.
 49. Randall ME, Filiaci VL, Muss H, Spirtos NM, Mannel RS, Fowler J, et al. Randomized phase III trial of whole-abdominal irradiation versus doxorubicin and cisplatin chemotherapy in advanced endometrial carcinoma: A gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol.* 2006;24(1):36–44.
 50. Matei D, Filiaci V, Randall M, Steinhoff M, Miller DS. A randomized phase III trial of cisplatin and tumor volume directed irradiation followed by carboplatin and paclitaxel vs. carboplatin and paclitaxel for optimally debulked, advanced endometrial carcinoma. *J Clin Oncol.* 2017;35:Abstr 5505.
 51. Fleming GF, Brunetto VL, Cella D, Look KY, Reid GC, Munkarah AR, et al. Phase III trial of doxorubicin plus cisplatin with or without paclitaxel plus filgrastim in advanced endometrial carcinoma: A gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol.*
-

- 2004;22(11):2159–66.
52. Miller D, Filiaci V, Fleming G, Mannel R, Cohn D, Matsumoto T, et al. Late-Breaking Abstract 1: Randomized phase III noninferiority trial of first line chemotherapy for metastatic or recurrent endometrial carcinoma: A Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol.* 2012 Jun;125(3):771.
 53. Decruze SB, Green JA. Hormone therapy in advanced and recurrent endometrial cancer: a systematic review. *Int J Gynecol Cancer* 2007;17(5):964–78.
 54. Temkin SM, Fleming G. Current treatment of metastatic endometrial cancer. *Cancer Control.* 2009;16(1):38–45.
 55. Markman M. Hormonal therapy of endometrial cancer. *Eur J Cancer.* 2005 Mar;41(5):673–5.
 56. Aghajanian C, Sill MW, Darcy KM, Greer B, McMeekin DS, Rose PG, et al. Phase II trial of bevacizumab in recurrent or persistent endometrial cancer: A gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol.* 2011;29(16):2259–65.
 57. Lorusso D, Ferrandina G, Colombo N et al. Randomized phase II Trial of carboplatin-paclitaxel (CP) compared to carboplatin-paclitaxel-bevacizumab (CP-B) in advanced (stage III-IV) or recurrent endometrial cancer : The MITO-END-2-trial. *J Clin Oncol.* 2015;33(suppl):abstr550.
 58. Ott PA, Bang YJ, Berton-Rigaud D, Elez E, Pishvaian MJ, Rugo HS, et al. Safety and antitumor activity of pembrolizumab in advanced programmed death ligand 1–positive endometrial cancer: Results from the KEYNOTE-028 study. *J Clin Oncol.* 2017;35(22):2535–41.
 59. Thompson, M; McInnes, R; Willard H. Estrutura e função dos cromossomos e genes. In: *Genética Médica.* 5^a. 1993. p. 22–37.
 60. Harvey AC, Downs JA. What functions do linker histones provide? *Mol Microbiol* 2004 Jun 28;53(3):771–5.
 61. Leca PL. Anticorpos antinucleossomo: diagnóstico e monitorização do lúpus eritematoso sistêmico (LES). 2004. Disponível em: <http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/artigos/Pages/anticorpos-antinucleossomo-diagnostico-e-monitoracao-do-lupus-eritematoso-sistemico-les.aspx>
 62. Taddei A, Roche D, Bickmore WA, Almouzni G. The effects of histone deacetylase inhibitors on heterochromatin: Implications for anticancer therapy? *EMBO Rep.* 2005;6(6):520–4.
 63. Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature.* 2004 May 27;429(6990):457–63.
 64. Cress WD, Seto E. Histone deacetylases, transcriptional control, and cancer. *J Cell Physiol.* 2000;184(1):1–16.
 65. Archer SY, Hodin RA. Histone acetylation and cancer. *Curr Opin Genet Dev.* 1999 Apr;9(2):171–4.
-

66. Mai A, Massa S, Lavu S, Pezzi R, Simeoni S, Ragno R, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of sirtinol analogues as class III histone/protein deacetylase (sirtuin) inhibitors. *J Med Chem.* 2005;48(24):7789–95.
 67. Choi JE, Mostoslavsky R. Sirtuins, metabolism, and DNA repair. Vol. 26, *Current Opinion in Genetics and Development.* 2014. p. 24–32.
 68. Vassilopoulos A, Fritz KS, Petersen DR, Gius D. The human sirtuin family: Evolutionary divergences and functions. *Hum Genomics.* 2011;5(5):485–96.
 69. Choi J-E, Mostoslavsky R. Sirtuins, metabolism, and DNA repair. *Curr Opin Genet Dev.* 2014 Jun;26(1):24–32.
 70. Blander G, Guarente L. The Sir2 Family of Protein Deacetylases. *Annu Rev Biochem.* 2004;73(1):417–35.
 71. Luo J, Nikolaev AY, Imai S, Chen D, Su F, Shiloh A, et al. Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress. *Cell.* 2001;107(2):137–48.
 72. Voelter-Mahlknecht S, Mahlkecht U. Cloning, chromosomal characterization and mapping of the NAD-dependent histone deacetylases gene sirtuin 1. *Int J Mol Med.* 2006;17(1):59–67.
 73. Li K, Luo J, Azabdaftari G. The Role of SIRT1 in Tumorigenesis. *Am Chinese J Med Sci.* 2011;4(2):104.
 74. Kojima K, Ohhashi R, Fujita Y, Hamada N, Akao Y, Nozawa Y, et al. A role for SIRT1 in cell growth and chemoresistance in prostate cancer PC3 and DU145 cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;373(3):423–8.
 75. Kim JE, Chen J, Lou Z. DBC1 is a negative regulator of SIRT1. *Nature.* 2008;451(7178):583–6.
 76. Zhao W, Kruse JP, Tang Y, Jung SY, Qin J, Gu W. Negative regulation of the deacetylase SIRT1 by DBC1. *Nature.* 2008;451(7178):587–90.
 77. Lee H, Kim KR, Noh SJ, Park HS, Kwon KS, Park BH, et al. Expression of DBC1 and SIRT1 is associated with poor prognosis for breast carcinoma. *Hum Pathol.* 2011;42(2):204–13.
 78. Hiraike H, Wada-Hiraike O, Nakagawa S, Saji S, Maeda D, Miyamoto Y, et al. Expression of DBC1 is associated with nuclear grade and HER2 expression in breast cancer. *Exp Ther Med.* 2011;2(6):1105–9.
 79. Barber MF, Michishita-Kioi E, Xi Y, Tasselli L, Kioi M, Moqtaderi Z, et al. SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation. *Nature.* 2012;487(7405):114–8.
 80. Malik S, Villanova L, Tanaka S, Aonuma M, Roy N, Berber E, et al. SIRT7 inactivation reverses metastatic phenotypes in epithelial and mesenchymal tumors. *Sci Rep.* 2015 Sep 29;5(1):9841.
 81. Aljada A, Saleh AM, Alkathiri M, Shamsa HB, Al-Bawab A, Nasr A. Altered sirtuin 7 expression is associated with early stage breast cancer. *Breast Cancer Basic Clin Res.*
-

- 2015;9:3–8.
82. Ashraf N, Zino S, MacIntyre A, Kingsmore D, Payne AP, George WD, et al. Altered sirtuin expression is associated with node-positive breast cancer. *Br J Cancer*. 2006;95(8):1056–61.
 83. Zhang S, Chen P, Huang Z, Hu X, Chen M, Hu S, et al. Sirt7 promotes gastric cancer growth and inhibits apoptosis by epigenetically inhibiting miR-34a. *Sci Rep*. 2015 Sep 10;5(1):9787.
 84. Kim JK, Noh JH, Jung KH, Eun JW, Bae HJ, Kim MG, et al. Sirtuin7 oncogenic potential in human hepatocellular carcinoma and its regulation by the tumor suppressors MiR-125a-5p and MiR-125b. *Hepatology*. 2013;57(3):1055–67.
 85. Shi H, Ji Y, Zhang D, Liu Y, Fang P. MicroRNA-3666-induced suppression of SIRT7 inhibits the growth of non-small cell lung cancer cells. *Oncol Rep*. 2016;36(5):3051–7.
 86. Wang H-L, Lu R-Q, Xie S-H, Zheng H, Wen X-M, Gao X, et al. SIRT7 Exhibits Oncogenic Potential in Human Ovarian Cancer Cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(8):3573–7.
 87. Singh S, Kumar PU, Thakur S, Kiran S, Sen B, Sharma S, et al. Expression/localization patterns of sirtuins (SIRT1, SIRT2, and SIRT7) during progression of cervical cancer and effects of sirtuin inhibitors on growth of cervical cancer cells. *Tumor Biol*. 2015;36(8):6159–71.
 88. Roth M, Chen WY. Sorting out functions of sirtuins in cancer. *Oncogene*. 2014 Mar 27;33(13):1609–20.
 89. Michishita E. Evolutionarily Conserved and Nonconserved Cellular Localizations and Functions of Human SIRT Proteins. *Mol Biol Cell*. 2005;16(10):4623–35.
 90. Wang RH, Sengupta K, Li C, Kim HS, Cao L, Xiao C, et al. Impaired DNA Damage Response, Genome Instability, and Tumorigenesis in SIRT1 Mutant Mice. *Cancer Cell*. 2008;14(4):312–23.
 91. Fraga MF, Ballestar E, Villar-Garea A, Boix-Chornet M, Espada J, Schotta G, et al. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nat Genet*. 2005;37(4):391–400.
 92. Asaka R, Miyamoto T, Yamada Y, Ando H, Mvunta DH, Kobara H, et al. Sirtuin 1 promotes the growth and cisplatin resistance of endometrial carcinoma cells: A novel therapeutic target. *Lab Invest*. 2015;95(12):1363–73.
 93. Guo H-y, Zhang Y-l, Li Z-h, Bing-juan Z GS. Expression and significance of SIRT1 and Survivin in endometrial carcinoma. *Chinese J Clin Exp Pathol*. 2012;11.
 94. Marc C. A expressão da enzima sirtuína 1 (SIRT1) no câncer de endométrio. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2008.
 95. Bartosch C, Monteiro-Reis S, Almeida-Rios D, Vieira R, Castro A, Moutinho M, et al. Assessing sirtuin expression in endometrial carcinoma and non-neoplastic endometrium. *Oncotarget*. 2016;7(2):1144–54.
-

96. Ford J, Jiang M, Milner J. Cancer-specific functions of SIRT1 enable human epithelial cancer cell growth and survival. *Cancer Res.* 2005;65(22):10457–63.
 97. Heltweg B, Gatbonton T, Schuler AD, Posakony J, Li H, Goehle S, et al. Antitumor activity of a small-molecule inhibitor of human silent information regulator 2 enzymes. *Cancer Res.* 2006;66(8):4368–77.
 98. Yeung F, Hoberg JE, Ramsey CS, Keller MD, Jones DR, Frye RA, et al. Modulation of NF- κ B-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J.* 2004;23(12):2369–80.
 99. Chua KF, Mostoslavsky R, Lombard DB, Pang WW, Saito S, Franco S, et al. Mammalian SIRT1 limits replicative life span in response to chronic genotoxic stress. *Cell Metab.* 2005;2(1):67–76.
 100. Fu M, Liu M, Sauve AA, Jiao X, Zhang X, Wu X, et al. Hormonal control of androgen receptor function through SIRT1. *Mol Cell Biol.* 2006;26(21):8122–35. 101. Firestein R, Blander G, Michan S, Oberdoerffer P, Ogino S, Campbell J, et al. The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth. *PLoS One.* 2008 Apr 16;3(4):e2020.
 102. Han Y, Liu Y, Zhang H, Wang T, Diao R, Jiang Z, et al. Hsa-miR-125b suppresses bladder cancer development by down-regulating oncogene SIRT7 and oncogenic long non-coding RNA MALAT1. *FEBS Lett.* 2013;587(23):3875–82.
 103. Tang M, Lu X, Zhang C, Du C, Cao L, Hou T, et al. Downregulation of SIRT7 by 5-fluorouracil induces radiosensitivity in human colorectal cancer. *Theranostics.* 2017;7(5):1346–59.
-

ANEXO

ANEXO 1 – COMPROVANTE DA SUBMISSÃO DE ARTIGO

Oncotarget

[MANUSCRIPT HOME](#)[AUTHOR INSTRUCTIONS](#)[CITATION FORMATTING](#)[LOGOUT](#)[JOURNAL HOME](#)

Detailed Status Information

Manuscript #	042507
Current Revision #	0
Submission Date	2017-11-20 17:19:34
Current Stage	Initial QC
Title	Expression of Sirtuin1 and Sirtuin7 in endometrial carcinoma
Manuscript Type	Research Paper
Corresponding Author	Christina Oppermann (Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul)
Contributing Authors	Vinicius Silva , Chrystiane Marc , Valentina Provenze , Gabriela Alerico , Tiago Giuliani , Gustavo Carvalhal Sirtuins participate in several cellular processes, being also related to tumour development. The role of sirtuins in endometrial cancer is still poorly understood. The expression of sirtuins 1 (SIRT1) and 7 (SIRT7) was assessed by immunohistochemistry and evaluated by the Allred score in 66 endometrial cancer samples. A greater percentage of cases expressed SIRT1 than SIRT7. Expression of these proteins was correlated with adverse prognostic factors in endometrial cancer such as tumour size, grade, lymphovascular invasion, myometrial invasion, and pathological staging. No statistically significant association was found between expression of SIRT1 and SIRT7 in endometrial cancer samples and adverse prognostic factors (all Ps>0.05;NS). The expression of SIRT1 and SIRT7 in endometrial cancer, although not directly related to known prognostic factors, may represent a potential therapeutic target in the treatment of this disease.
Abstract	endometrial carcinoma, sirtuin, SIRT1, SIRT7
Keywords	
Conflict of Interest	No , there is no conflict of interest that I should disclose, having read the above statement.

Stage	Start Date
Initial QC	2017-11-20 18:18:04
Manuscript Submission	2017-11-20 17:19:34

[MANUSCRIPT HOME](#)[HELP FOR AUTHORS](#)[CITATION FORMATTING](#)[REVIEWER INSTRUCTIONS](#)[LOGOUT](#)

Licensed under Patent #US 7,620,555B1

ANEXO 2 – COMPROVANTE APROVAÇÃO CEP

Saúde

[Esqueceu a senha?](#)
[Cadastre-se](#)
v3.2

Você está em: Público > Confirmar Aprovação pelo CAAE ou Parecer

CONFIRMAR APROVAÇÃO PELO CAAE OU PARECER

Informe o número do CAAE ou do Parecer:

Número do CAAE:
 Número do Parecer:

Esta consulta retorna somente pareceres aprovados. Caso não apresente nenhum resultado, o número do parecer informado não é válido ou não corresponde a um parecer aprovado.

DETALHAMENTO

Título do Projeto de Pesquisa:

Número do CAAE:

Número do Parecer:

Quem Assinou o Parecer:

Pesquisador Responsável:

Data Início do Cronograma:

Data Fim do Cronograma:

Contato Público:

Este sistema foi desenvolvido para os navegadores Internet Explorer (versão 7 ou superior),
ou Mozilla Firefox (versão 9 ou superior).