

Caracterização citogenética de um Craniofaringioma por bandeamento G

Cytogenetic characterization of a Craniopharyngioma by g banding

DOI:10.34119/bjhrv4n2-120

Recebimento dos originais: 15/02/2021

Aceitação para publicação: 15/03/2021

Larissa de Souza da Silva

Especialização
UNOPAR

Av. Raimundo Veridiano Cardoso, 422B - Jardim das Flores, Tucuruí - PA
E-mail: larissa.souza-silva@hotmail.com

Juliana Cristina Schneider

Especialização
PEBGA/UFPA

Travessa Curuçá, nº 133 – Bairro aeroporto. Tailândia – PA
E-mail: Schneider.juliana@gmail.com

Edivaldo Herculano Correa de Oliveira

Pós- Doutorado
Universidade Federal do Pará

Instituto Evandro Chagas, Laboratório de Cultura de Tecidos e Citogenética - SAMAM.
Rodovia BR-316 - KM 7 S/N Centro. Ananindeua, PA - Brasil
E-mail: ehco@ufpa.br

Fabio Pacheco Estumano da Silva

Doutor
Instituto Federal do Pará

Rua Porto Colômbia, nº 12. Bairro Vila Permanente, Tucuruí, Pará, Brasil
E-mail: estumano.fabio@gmail.com

RESUMO

Os Cânceres do Sistema Nervoso Central (SNC) representam cerca de 2% de todas as neoplasias. Por afetar o sistema nervoso mostram uma grande variação de sintomas, porque esse órgão coordena todas as funções do corpo. Craniofaringiomas são tumores da região selar presumivelmente derivado de bolsa do epitélio Rathke, com um comportamento benigno. Os casos de craniofaringiomas correspondem a 1,2 a 4,6% dos tumores do SNC. Duas variantes são conhecidas: craniofaringioma adamantinomatoso e papilar. Pouco se sabe sobre alterações cromossômicas deste tipo de tumor, e os estudos por CGH falharam em demonstrar alterações cromossômicas específicas até o momento e sugeriram que a presença de múltiplas alterações cromossômicas são eventos raros em craniofaringioma. Nosso trabalho teve como objetivo caracterizar as anormalidades cromossômicas de um paciente com craniofaringioma. A amostra foi obtida no Hospital Ophir Loyola, Belém-PA, e foi cultivada após desagregação enzimática (colagenase tipo

IV) para obtenção de cromossomos. As células foram cultivadas com DMEM suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal. A colheita cromossômica foi feita com 0,1 ml de colcemid e KCl 0,075 M foi usado para a hipotonização. As lâminas com os cromossomos foram incubadas a 37 ° C por 24 horas antes do tratamento com 2 x SSC a 45 ° C por min 2'30". A coloração foi realizada em tampão fosfato (pH 6,8) e Wright (3:1). As aquisições de imagens foram feitas em um microscópio Leyca DM 500 com uma câmera ICC Leyca HD 50. Após análise observamos cariótipos muito complexos, com alterações numéricas e estruturais em quase todos os pares de cromossomos. Os números de cromossomos variaram de 44 a 52, exibindo cariótipos próximos a diploidia. O número modal de cromossomos foi de 46. Sendo assim foi construído o seguinte cariótipo composto: 44~52, XY, -X, del (1)(p32-> pter), +2, -4, del (6)(q24 -> qter), -7, -8, -9, -9, -10, +10, +11, -12, +12, +13, +14, -15, +15, -16, -17, +18, -20, -21, +21, +22, +r, +mar(x3), para demonstrar as alterações clonais. Os craniofaringiomas foram pouco analisados citogeneticamente até agora, e apenas os cromossomos, o 2 e o 12, foram consistentemente envolvidos. Nosso trabalho contribui para compreensão da biologia dos craniofaringiomas, pois, poucos casos foram citogeneticamente analisados até o momento.

Palavras-chave: craniofaringioma, alterações cromossômicas, bandeamento G, alterações clonais.

ABSTRACT

Cancers of the Central Nervous System (CNS) represent about 2% of all neoplasms. Because it affects the nervous system, they show a wide range of symptoms, because this organ coordinates all body functions. Craniopharyngiomas are tumors of the seal region presumably derived from a Rathke epithelium pouch, with a benign behavior. The cases of craniopharyngiomas correspond to 1.2 to 4.6% of CNS tumors. Two variants are known: adamantinomatous and papillary craniopharyngioma. Little is known about chromosomal changes in this type of tumor, and CGH studies have so far failed to show specific chromosomal changes and have suggested that the presence of multiple chromosomal changes are rare events in craniopharyngioma. Our work aimed to characterize the chromosomal abnormalities of a patient with craniopharyngioma. The sample was obtained at Hospital Ophir Loyola, Belém-PA, and was cultured after enzymatic disaggregation (collagenase type IV) to obtain chromosomes. The cells were cultured with DMEM supplemented with 10% Bovine Fetal Serum. Chromosomal harvesting was performed with 0.1 ml of colcemid and 0.075 M KCl was used for hypotonization. The slides with the chromosomes were incubated at 37 ° C for 24 hours before treatment with 2 x SSC at 45 ° C for 2'30 " min. Staining was performed in phosphate buffer (pH 6.8) and Wright (3: 1). Image acquisitions were made using a Leyca DM 500 microscope with an ICC Leyca HD 50 camera. After analysis, we observed very complex karyotypes, with numerical and structural changes in almost all chromosome pairs. Chromosome numbers ranged from 44 to 52, showing karyotypes close to diploidy. The modal number of chromosomes was 46. Thus, the following composite karyotype was constructed: 44 ~ 52, XY, -X, del (1) (p32-> pter), +2, -4, del (6) (q24 -> qter), -7, -8, -9, -9, -10, +10, +11, -12, +12, +13, +14, -15, +15, -16, -17, +18, -20, -21, +21, +22, +r, + sea (x3), to demonstrate clonal changes. Craniopharyngiomas have been little analyzed cytogenetically until now, and only chromosomes, 2 and 12, have been consistently involved. Our work contributes to understanding the biology of craniopharyngiomas, as few cases have been cytogenetically analyzed so far.

Keywords: craniopharyngioma, chromosomal changes, G banding, clonal changes.

1 INTRODUÇÃO

O câncer é o principal problema mundial de saúde e uma das causas mais importantes de morbidade e de mortalidade entre crianças e adultos (VILELA, 2007). Estes ocorrem pelo fato de genes que são essenciais no desenvolvimento do ciclo celular estarem mutados, de forma a ocorrer uma proliferação desregulada, não obedecendo aos sinais bioquímicos normais de pare e siga do ciclo celular. Toda população de células dentro de um tumor se origina a partir de uma única célula que tenha sofrido uma alteração genética e, portanto, os tumores são constituídos por células clonais (SNUSTAD *et al*, 2008).

O estudo citogenético é uma forma de se determinar alterações específicas que podem originar ou aumentar o poder de proliferação das neoplasias. Algumas mudanças cromossômicas nas células somáticas estão envolvidas com o início e a progressão de muitos tipos de câncer (THOMPSON & THOMPSON, 2008).

As neoplasias do SNC representam aproximadamente 2% de todos os tipos de cânceres, ocorrendo em uma frequência menor quando comparados aos outros que afetam nosso organismo. Entretanto são mais graves, pois afetam o sistema que coordena todo o nosso corpo (CUSTÓDIO, 2011).

Os estudos citogenéticos em tumores do SNC demonstram que as alterações cromossômicas recorrentes geralmente mostram-se importantes na formação destes tumores sólidos, pois se tornam marcadores que facilitam a detecção de tipos específicos de tumores, além de fornecerem informações sobre prognósticos, resultados clínicos e de respostas a terapias. Em complemento, a identificação de genes envolvidos em regiões recorrentes de alterações cromossômicas podem tornar-se alvos atrativos para o desenvolvimento de novas terapias (ALBERTSON *et al.*, 2003).

Este trabalho tem como objetivo descrever as anormalidades cromossômicas em um paciente com o diagnóstico de craniofaringioma, através da utilização da técnica de bandeamento G.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O câncer é uma doença que está diretamente relacionada à desregulação do crescimento celular; surge da ocorrência de várias mutações em genes que estão relacionados com o controle da divisão celular ou do crescimento celular, podendo causar um mau funcionamento bioquímico e uma proliferação desregulada das mesmas (SNUSTAD, 2008 & SOUSA *et al*, 2020).

Os cânceres surgem quando genes críticos são mutados. Sem o controle adequado destes genes as células dividem-se sem obedecer aos sinais bioquímicos, acumulando-se umas sobre as outras formando os tumores (SNUSTAD, 2008). Atualmente, segundo evidências bem fundamentadas, as mudanças cromossômicas/cariotípicas nas células somáticas estão envolvidas com início e a progressão dos tumores (LI *et al.*, 2009).

Algumas classes de genes, como os proto-oncogenes e os genes supressores de tumor (GST), são alvos destas modificações mais frequentemente que outras, justamente por estarem envolvidos diretamente com a regulação da divisão celular. Outros grupos gênicos também estão envolvidos na gênese tumoral em diversos cânceres, como os genes reguladores de apoptoses (morte celular programada) e os genes de reparo do DNA, entre outros (BROWNER *et al.*, 2004).

A mutação nos oncogenes necessariamente devem auxiliar na hiperexpressão ou na atividade anormal de seus produtos proteicos mutantes; já as mutações nos GSTs necessariamente devem associar-se com a inativação da expressão dos genes ou do funcionamento dos produtos proteicos destes genes, cujos papéis são importantes na regulação do ciclo celular, controlando-o negativamente. No entanto, genes que mantém a integridade do genoma também podem ser mutados e induzir a formação de tumores, no entanto de maneira indireta, já que a instabilidade gerada por este tipo de alteração, necessariamente, deve induzir mutações em oncogenes e GSTs para que o câncer se forme (SNUSTAD, 2008).

Um tumor pode originar-se de várias alterações genéticas e epigenéticas. Podendo ser: alterações numéricas ou estruturais nos cromossomos; na sequência dos genes com ganho de função ou perda de função; ou com inserção de radicais metila e acetila nos promotores gênicos ou nas histonas, levando ao silenciamento ou hiperexpressão de genes importantes; assim ocorrendo o comprometimento com a integridade genômica. Portanto, essas alterações promovem a instabilidade do funcionamento celular (CUSTÓDIO, 2011).

A formação de um tumor maligno não é causada pela alteração de um único oncogene ou pela inativação um único GST, mas sim pela mutação de grupos de genes que irão conferir vantagem seletiva conduzindo o crescimento acelerado, descontrolado e induzindo a formação de metástases. Estas ocorrem quando tumores malignos disseminam-se para outros locais do corpo formando tumores secundários (LOUIS *et al.*, 2007). Portanto, para que um câncer tenha um crescimento com êxito é necessário que ocorram alterações na fisiologia celular, assim, desregulam o ciclo celular. A

identificação e determinação das alterações gênicas e cromossômicas se faz importante para o entendimento da biologia do câncer e das aplicações clínicas, assim como a identificação de alvos terapêuticos ou que indiquem a progressão da doença e prognóstico (CUSTÓDIO, 2011).

As neoplasias do SNC representam aproximadamente 2% de todos os tipos de cânceres. Os tumores do SNC ocorrem em uma frequência muito baixa quando comparados aos outros que afetam nosso organismo. Entretanto, são mais graves, pois afetam o sistema que coordena todo o funcionamento do nosso corpo (CUSTÓDIO, 2011).

Tumores podem ser classificados como benignos ou malignos, de acordo com a graduação estabelecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Este é um fator que varia de acordo com o grau de malignância da neoplasia, influenciando diretamente no tratamento do paciente. Outros fatores, como idade, localização do tumor e respostas ao tratamento, irão interferir no tempo de vida do paciente (LOUIS *et al.*, 2007).

Os tumores do SNC são muito diversos e complexos. Cada tipo tumoral possui um comportamento clínico diferente. O craniofaringioma é um tumor da região selar que corresponde a 1,2-4,6% de todos os tumores do SNC. O craniofaringioma é um tumor benigno de grau I, pois apresenta incidência local e é incapaz de formar metástases. Apresenta-se em duas variantes: adamantinomatoso ou papilar. Os craniofaringiomas adamantinomatosos ocorrem com mais frequência em indivíduos com menos de 20 anos, por outro lado os craniofaringiomas papilares ocorrem quase exclusivamente em adultos. A variante adamantinomatoso e a papilar se distinguem histologicamente, o primeiro possui grânulos compactos com queratina e rico em colesterol e o segundo não apresenta queratina nem fluído rico em colesterol (LOUIS *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2010).

Os sinais e sintomas observados incluem alterações visuais (72% dos pacientes), cefaléia (68%), vômitos (40%) e edema de papila (24%), com período de evolução variando de 18 dias a 60 meses, com média de 11,66 meses (ROSA, 2007). A cirurgia é o tratamento, envolvendo craniotomia, na tentativa da ressecção completa do tumor; se não for obtida o tratamento é seguido de radioterapia. Das queixas pós-cirúrgicas referidas, 24,5% são relacionadas à fala, 24,5% à audição, 19% à deglutição, 13% à voz, 13% à paralisia facial e 6% à linguagem. Podendo ocorrer também nanismo e ausência de maturação sexual, decorrentes do esmagamento ou destruição da hipófise. (SILVA, 2010).

A única alteração molecular amplamente reconhecida de casos com a variante adamantinomatosa é a mutação no gene *CTNNB1*, que codifica a proteína β -catenina. A β -catenina possui dois papéis fundamentais: na membrana plasmática ela possui função estrutural, associando-se a moléculas de adesão que formam complexos que ligam a actina do citoesqueleto nas junções célula-célula e também regula a proliferação celular, aumentando a transcrição de genes relacionados (CANI, 2010).

A instabilidade cromossômica é evidenciada por perdas e ganhos cromossômicos, as alterações cromossômicas numéricas que são denominadas de aneuploidias (MALUF, 2011). A aneuploidia ocorre devido a não disjunção mitótica, que descreve uma mudança numérica em parte do genoma, geralmente uma mudança na dosagem de um único cromossomo, e as alterações estruturais podem ser rearranjos cromossômicos internos ou entre cromossomos diferentes. Tais alterações podem ser encontradas em diversas variantes dentro de uma única célula (SNUSTAD, 2008).

De acordo com a OMS, o craniofaringioma possui múltiplas alterações e ocorre em uma frequência maior nos cromossomos 2 e 12, entretanto, este tumor não possui um padrão de alterações que caracterize-o até o momento, talvez pelo baixo número de amostras analisadas (LOUIS et al., 2007).

De acordo com Rickert & Paulus (2003) pouco se sabe sobre os possíveis desequilíbrios cromossômicos dos craniofaringiomas e há uma grande escassez de dados. Eles realizaram um estudo desse tumor com a técnica de CGH (Comparative Genomic Hybridization), onde não foram reveladas mutações significativas no número de cópias do DNA, sugerindo que desequilíbrios cromossômicos são eventos raros. Este tumor tem uma ocorrência maior na infância, entretanto não se sabe sobre a predisposição genética. Contudo, como alguns casos ocorrem entre irmãos, há indícios que eventos genéticos possam estar envolvidos com o mecanismo pelo qual se origina a doença.

Neste trabalho utilizamos a técnica de bandeamento G, que é utilizada na maioria dos laboratórios de citogenética, e é um método de diferenciação longitudinal dos cromossomos, no qual cada par de cromossomos cora-se com um modo característico de bandas claras e escuras (negativas e positivas, respectivamente); usando esta técnica todos os pares cromossômicos podem ser individualmente identificados, assim podemos observar as alterações numéricas e/ou estruturais dos mesmos (THOMPSON & THOMPSON, 2008).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra foi recebida do Hospital Ophir Loyola (HOL) em Belém-PA-Brasil, originada de um paciente diagnosticado com craniofaringioma. Ao chegar ao laboratório do Instituto Evandro Chagas (IEC), a amostra foi dissociada enzimaticamente com colagenase tipo IV e cultivada *in vitro*, em meio a base de DMEN suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF), fatores de crescimento, antibióticos e fungicidas.

A amostra foi dividida em duas, uma para realização da cultura e a outra armazenada, em um freezer -70°C , para estudos posteriores. Para a implantação do cultivo a amostra foi macerada em uma placa de petri e recebeu um tratamento com colagenase IV em um tubo de centrífuga do tipo falcon, o material foi resuspendido até que a dissociação do tecido ocorresse por completo e então foi centrifugado, retiramos o sobrenadante para acrescentar o meio de cultura que é constituído por: 17 ml de DMEN, 2 ml de SBF e um 1ml de Aminiomax (fator de crescimento), e então as células foram transferidas para a garrafa de cultura, sendo monitoradas diariamente até atingirem as características adequadas para as técnicas citológicas.

Quando as culturas atingiram 80% de confluência e um número razoável de células mitoticamente ativas, foi realizada a técnica de extração cromossômica: adicionamos 0,1mL de colcemid na garrafa de cultura, homogeneizamos e incubamos por uma hora. Logo em seguida foram tratadas com tripsina, para que as células da garrafa fossem colhidas. Transferimos as células para um tubo de centrífuga onde foi centrifugado durante 10 minutos por 1000 RPM, retiramos o sobrenadante e adicionamos 5 ml de KCl e ressuspendemos. Adicionamos 1ml de fixador carnoy, centrifugamos novamente e retiramos o sobrenadante para adicionar mais 5 ml de fixador. Após lavagens sucessivas com troca de fixador seguidas da centrifugação a amostra foi armazenada em freezer. As lâminas foram preparadas despejando duas gotas do material em suspensão sobre a lâmina, em seguida foram coradas com GIEMSA 5%. Após, foi realizada a observação no microscópio para contagem do número diploide das células em metáfase e em seguida realizamos a técnica de coloração por bandeamento G. Nesta tratamos as metáfases durante 1 minuto no PBS, 2 minutos na tripsina e mais 1 minuto no PBS e em seguida coramos com GIEMSA durante 2 minutos e meio.

As imagens foram capturadas em Leyca DM 500 com uma câmera ICC Leyca HD 50 e os cariótipos foram montados com o auxílio do programa Adobe photoshop.

4 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

As células apresentaram números diploides de 44 à 52, com número modal de 46 cromossomos. Diversas alterações clonais foram encontradas (ver Figura 1 e 2), inclusive afetando os cromossomos 2 e 12, como descrito nos trabalhos de Gorsky *et al* (1992) e Karnes *et al.* (1992), de resultados obtidos também por citogenética clássica em craniofaringiomas. Entretanto, observamos outras alterações em diversos cromossomos. Após catalogação de diversas metáfases, construímos o seguinte cariótipo composto: 44~52, xy, -x, del(1)(p32-> pter), +2, -4, del(6)(q24 ->qter), -7, -8, -9, -9, -10, +10, +11, -12, +12, +13, +14, -15, +15, -16, -17, +18, -20, -21, +21, +22, +r, +mar(x3). Apesar de algumas alterações não caracterizarem-se como clonais, e por isso não estarem inseridas no cariótipo composto, merecem nossa atenção. Duas alterações diferentes envolveram o cromossomo 1: dup(1)(q21) e del(1)(p32 -> pter); quatro diferentes alterações estruturais foram observadas no cromossomo 3: del(3)(p12 ->pter), del(3)(q26 -> qter), inv(3)(q13p12) e t(3;16)(q11;q11); e finalmente, o braço curto do cromossomo 7 foi translocado para três cromossomos diferentes em três diferentes células e foi ainda encontrado deletado em outra célula.

Figura 1. Cariótipo representativo de um craniofaringioma bandeado pela técnica de bandeamento G exibindo as seguintes alterações: monossomia de 8, 12 e 21; trissomia do 14 e 19; deleção no braço longo do cromossomo 6, material de origem desconhecida nos cromossomos 13 e 14 e cromossomos marcadores.

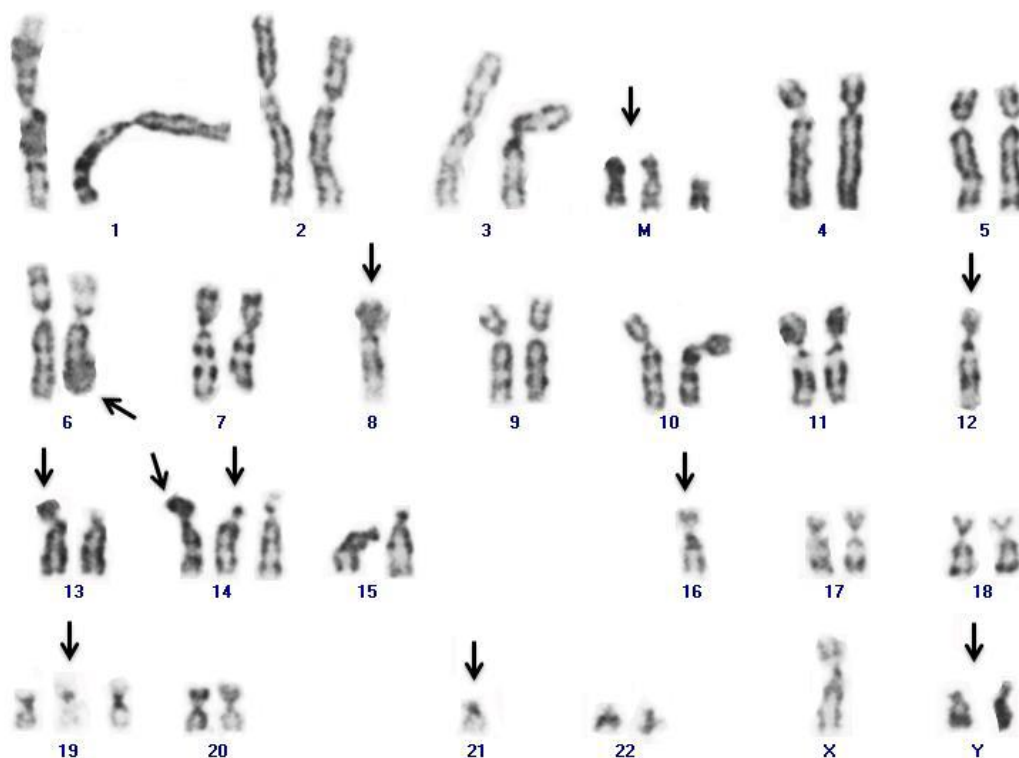


Figura 2. Cariótipo representativo de um craniofaringioma bandeado pela técnica de bandeamento G exibindo as seguintes alterações: duplicação do 1(q21), monossomia do 9, Trissomia do 13 e uma quebra na cromátide 14(q).



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nossos achados complementam os de Gorsky *et al* (1992) e Karnes *et al.* (1992) ao demonstrar múltiplas alterações cromossômicas pela técnica de citogenética clássica. No entanto, Rickert & Paulus (2003) relataram que a instabilidade cromossômica neste tipo de tumor é um evento raro. Nós concluímos que o número de amostras analisadas citogeneticamente são insuficientes para tirar conclusões sobre a composição cariotípica deste tumor. Sugerimos ainda que duas variantes de craniofaringiomas podem ser criadas após análise de um maior número de amostras pelas técnicas de citogenética, uma com pouca ou nenhuma instabilidade cromossômica e outra com uma elevada taxa de instabilidade cromossômica.

REFERÊNCIAS

- Bassols, A.M.; Okabayashi, L.S.; Silva, A.B.; Carneiro, B.B.; Feijó, F.; Guimarães G.C.; Cortes, G. N.; Rohde, L.A.; & Eizirik, C.L. (2014). *Alunos do primeiro e do último ano de medicina: existe diferença na prevalência e intensidade de ansiedade e sintomas depressivos?*. Revista Brasileira de Psiquiatria, 36 (3): 233-40.
- Borine, R. W.; Kátia & Bassitt, D. (2015). *Relação entre a qualidade de vida e o estresse em acadêmicos da área da saúde*. Estudos Interdisciplinares em Psicologia, 6(1), 100.
- Brito, H. L., Seidl, E. M. F., & Costa-Neto, S. B. (2016). *Coping religioso de pessoas em psicoterapia: um estudo preliminar*. Contextos Clínicos, 9(2), 202-215.
- Calais, S. L., Andrade, L. M. B. D., & Lipp, M. E. N. (2003). *Gender and schooling differences in stress symptoms in young adults*. Psicologia: Reflexão e Crítica, 16(2), 257-263.
- Carlotto, R. C., Teixeira, M. A. P., & Dias, A. C. G. (2015). *Adaptação acadêmica e Coping em estudantes universitários*. PsicoUSF, 20(3), 421-432.
- Daré, P. K., & Caponi, S. N. (2017). *Cuidado ao indivíduo com depressão na atenção primária em saúde*. ECOS-Estudos Contemporâneos da Subjetividade, 7(1), 12-24.
- Folkman, S., Lazarus, R. S., Gruen, R. J., & DeLongis, A. (1986). *Appraisal, coping, health status, and psychological symptoms*. Journal of Personality and Social Psychology, 50(3), 571-579
- Gobatto, C. A.; Araujo, T. C. C. F. (2013). *Religiosity and spirituality in oncology: Health Professionals' conceptions*. Psicologia USP, 24(1), 11-34.
- Guilherme, C.; Carvalho, E. C. (2011). *Angústia espiritual em pacientes com câncer: intervenções de enfermagem*. Revista de Enfermagem UFPE, 5(2), 290-294.
- Haldorsen, H.; Bak, N.H.; Dissing, A.; Petersson, B. (2014). *Stress and Symptoms of Depression Among Medical Students at The University of Copenhagen*. Scand J Public Health, 42(1): 89-95.
- Henning-Geronasso, M. C.; Moré, C. L. O. O. (2015). *Influencia de la Religiosidad/Espiritualidad en el Contexto Psicoterapéutico*. Psicologia: Ciência e Profissão, 35(3), 711-725.
- Huang, M. F. C., & Torres, C. M. (2018). *A dimensão religiosa no enfrentamento (Coping) em artigos científicos brasileiros*. Revista de Estudos e Pesquisa da Religião, 21(2), 96-121.
- Langoski, J. E.; Klipan, L. B.; Souza, J. A.; Ferracioli, M. U.; Fadel, C.B.; Bordin, D. (2014). *Influência da trajetória acadêmica sobre o estresse e a percepção de estudantes de Odontologia*. Revista de Odontologia da UNESP, 43 (Especial), 0-0.

Lawler, K. A., & Younger, J. W. (2002). *Theobiology: an analysis of spirituality, cardiovascular responses, stress, mood, and physical health*. Journal of Religion & Health, 41(4):347-362.

Moutinho, I. L.D.; Maddalena, N. C.P.; Roland, R.K.; Lucchetti, A. L. G.; Tibiriça, S.H.C.; Ezequiel, O.S.; Lucchetti, G. (2017). *Depression, stress and anxiety in medical students: A cross-sectional comparison between students from different semesters*. Rev Assoc Med Bras, 63(1): 21-28

Panzini, R. G., & Bandeira, D. R. (2007). *Coping (enfrentamento) religioso/espiritual*. Revista de Psiquiatria Clínica, 34(1), 126-135.

Phelps, A. C., Maciejewski, P. K., Nilsson, M., Balboni, T. A., Wright, A. A., Paulk, M. E., Trice, E., Schrag, D., Peteet, J. R., Block, S. D., & Prigerson, H. G. (2009). *Religious coping and use of intensive life-prolonging care near death in patients with advanced cancer*. JAMA, 301(11), 1140–1147.

Sakae, T. M.; Padão, D. L.; Jornada, L. K. (2010). *Sintomas depressivos em estudantes da área da saúde em uma Universidade no Sul de Santa Catarina–UNISUL*. Revista da AMRIGS, 54(1), 38-43.

Santos, F. S., Maia, C. R. C., Faedo, F. C., Gomes, G. P. C., Nunes, M. E., & Oliveira, M. V. M. D. (2017). *Estresse em Estudantes de Cursos Preparatórios e de Graduação em Medicina*. Revista Brasileira de Educação Médica, 41(2), 194-200.

Teixeira, M. A. P.; Dias, A. C. G.; Wottrich, S. H. & Oliveira, A. M. (2008). *Adaptação à universidade em jovens calouros*. Revista Semestral da Associação Brasileira de Psicologia Escolar e Educacional (ABRapee), 12(1), 185-202.