

**ANÁLISE DAS EXPRESSÕES GÊNICA E PROTEICA
DO PBRM1 E AVALIAÇÃO DE SEU PAPEL
PROGNÓSTICO EM CARCINOMA RENAL DE
CÉLULAS CLARAS**

WALTER HENRIQUES DA COSTA

**Tese apresentada a Fundação Antônio Prudente
para obtenção do Título de Doutor em Ciências**

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Dr. Stênio de Cássio Zequi

Co-Orientadores: Dr. Rafael Malagoli Rocha

Dra. Dirce Maria Carraro

São Paulo

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

da Costa, Walter Henriques

Análise das expressões gênica e proteica do PBRM1 e avaliação de seu papel prognóstico em carcinoma renal de células claras / Walter Henriques da Costa – São Paulo, 2013.

101p.

Tese (Doutorado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Stênio de Cássio Zequi

Descritores: 1. NEOPLASIAS RENAIIS. 2. CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIIS. 3. EXPRESSÃO GÊNICA. 4. GENES SUPRESSORES DE TUMOR. 5. PROGNÓSTICO

DEDICATÓRIA

À minha família, sem a qual nada disso teria feito sentido.

Ao meu pequeno Vitor, que já nasceu me dando uma lição de coragem, perseverança e fé na vida.

Ao meu querido Bruno, que me impulsiona com doses diárias de alegria, felicidade e energia; e que sem notar mudou por completo minha visão do mundo.

À Raquel, minha luz, pelo carinho, companheirismo, sacrifício e dedicação à nossa linda família.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Stênio de Cássio, meu orientador e idealizador de todo esse estudo. Por todo altruísmo, apoio, companheirismo e amizade durante os últimos anos. Um profissional completo e genial, cujo caráter e personalidade marcarão definitivamente minha vida.

Ao Dr. Rafael Malagoli Rocha, meu co-orientador, pelo intenso apoio desde o mestrado até esse projeto atual. Amigo, cujos apoio e colaboração tornaram este estudo possível.

À Dra. Dirce Maria Carraro, minha co-orientadora e professora durante meu programa de pós-graduação, pela participação atuante e pelos ensinamentos valiosos durante todo o decorrer do estudo.

Ao Dr. Gustavo Cardoso Guimarães, chefe do Núcleo de Urologia do A.C. Camargo Cancer Center. Um profissional brilhante em todos os aspectos desde a pesquisa às práticas clínica e cirúrgica. Líder por natureza que põe os interesses do grupo à frente dos seus próprios e impulsiona a equipe de maneira empolgante e natural. Por ter apostado na minha capacidade e possibilitado abrir uma nova fase de minha vida profissional.

À Dra. Isabela Werneck da Cunha, minha professora e amiga, cuja fundamental participação neste e em outros estudos me proporcionou enorme aprendizado durante todos esse últimos quatro anos.

Ao Prof. Dr. Ademar Lopes, diretor do Departamento de Cirurgia Pélvica do A.C. Camargo Cancer Center, pela dedicação e sabedoria compartilhada.

Ao Prof. Dr. Fernando Soares, diretor do Departamento de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center, pela receptividade e preciosa ajuda na conclusão deste estudo.

Aos amigos Dr. Gustavo Cuck, Dr. Daniel Beltrame Ferreira, Dr. Deusdedit Vieira Cortez, Dr. Ricardo Léo Roberto Felts De La Roca e Dr. Álvaro Bosco pela amizade e companhia durante esses anos de pós-graduação.

Aos companheiros diários Dr. Wilson Bachega, Dr. Carlos Alberto Ricetto Sacomani, Dr. Rodrigo Sousa Madeira Campos, Dr. Renato Almeida Rosa de

Oliveira, Dr. Ricardo de Lima Favaretto e Dr. Thiago Borges Marques Santana pela amizade e espírito de equipe.

À instituição A.C. Camargo Cancer Center pela possibilidade de aprendizado inestimável proporcionada pelos seus professores e, principalmente, seus pacientes.

Aos amigos de sempre, Sérgio Juncker Júnior, Marcelo Reberte de Marque, Pedro Kibune, Marcel Kawata, Fernando Sonoda, Alex Felipelli e João Laluce pela amizade e companheirismo nesses trinta e seis anos de vida.

À Sra. Suely Francisco, bibliotecária do A.C. Camargo Cancer Center, pelo apoio e atenção durante o decorrer de todo o processo de levantamento bibliográfico e revisão deste estudo.

Às Sras. Luciana Pitombeira, Vanuza Rodrigues e Ana Maria Kuninari da Pós- Graduação do A.C. Camargo Cancer Center pela ajuda e orientação.

RESUMO

da Costa, WH. **Análise das expressões gênica e proteica do PBRM1 e avaliação de seu papel prognóstico em carcinoma renal de células claras.** São Paulo; 2013. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

O objetivo deste estudo foi avaliar o papel prognóstico das expressões proteica e gênica do PBRM1 e demais variáveis clínicas e anátomo-patológicas em pacientes portadores de carcinoma de células renais (CCR). Os prontuários de 220 pacientes tratados no Núcleo de Urologia do A.C. Camargo Cancer Center foram revisados. Todos os pacientes foram submetidos a tratamento cirúrgico de 1992 a 2009. Dois artigos foram formulados e aceitos para publicação. O primeiro avaliou o impacto prognóstico da presença de invasão de veia renal e invasão de gordura perirrenal em 46 pacientes de diversos tipos histológicos em estágio pT3a. Pacientes com presença concomitante de ambos os parâmetros apresentaram maior probabilidade de morte por câncer (RR=2,6; $p = 0,04$) e progressão da doença (RR=2,5; $p = 0,04$) do que aqueles com qualquer um deles isoladamente. O segundo artigo avaliou a expressão tecidual de PBRM1 em 112 portadores de CCR do tipo células claras (CCRCC) através de imuno-histoquímica (IHQ) em lâmina de *tissue microarray* (TMA) e *real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction* (qRT-PCR). A análise IHQ mostrou que 34 (30,4%) pacientes não apresentaram expressão de PBRM1 enquanto 78 (69,6%) pacientes mostraram expressão positiva do marcador. A expressão proteica de PBRM1 se associou ao estágio clínico ($p < 0,001$), estágio patológico ($p < 0,001$), metástase linfonodal ($p = 0,035$) e diâmetro tumoral ($p = 0,002$). O padrão de expressão transcricional foi avaliado em tecido congelado de 44 pacientes através de qRT-PCR. Houve associação com o estágio clínico ($p = 0,023$), invasão de gordura perirrenal ($p = 0,008$) e invasão linfo-vascular ($p = 0,042$). O padrão de expressão de PBRM1 influenciou as taxas de recorrência tumoral e morte específica na análise univariada. As taxas de sobrevida câncer específica e de sobrevida livre de recorrência em pacientes com expressão positiva e negativa de PBRM1 foram 89,7% vs. 70,6% ($p = 0,017$) e 87,3% vs. 66,7% ($p = 0,048$), respectivamente. Entretanto, o padrão de expressão de PBRM1 não se mostrou um fator preditivo independente de sobrevida.

SUMMARY

da Costa WH. **Analysis of PBRM1 gene and protein expression and evaluation of its prognostic role in clear cell renal cell carcinoma.** São Paulo; 2013. [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

The aim of this study was to evaluate the prognostic role of gene and protein expression of PBRM1 and other clinical and pathological parameters in patients with renal cell carcinoma (RCC). The charts of 220 patients treated at the Department of Urology of the AC Camargo Cancer Center were reviewed. All patients underwent surgical treatment from 1992 to 2009. Two studies were formulated and accepted for publication. The first study assessed the prognostic impact of the presence of renal vein invasion and fat invasion in 46 patients of different histological types in pT3a stage. Patients with concomitant presence of both parameters showed a higher probability of cancer death (HR = 2.6, p = 0.04) and disease progression (HR = 2.5, p = 0.04) than those with any one of them alone. The second study evaluated PBRM1 tissue expression in 112 patients with clear cell renal cell carcinoma (CCRCC). A single pathologist reviewed all cases to effect a uniform reclassification and determined the most representative tumor areas for construction of a tissue microarray. In addition, mRNA expression of PBRM1 was analyzed by qRT-PCR. The protein expression of PBRM1 was associated with tumor stage (p<0.001), clinical stage (p<0.001), pN stage (p=0.035) and tumor size (p=0.002). PBRM1 mRNA expression was associated with clinical stage (p=0.023), perinephric fat invasion (p=0.008) and lymphovascular invasion (p=0.042). PBRM1 significantly influenced tumor recurrence and tumor related death. Disease specific survival (DSS) rates for patients whose specimens showed positive and negative PBRM1 expression was 89.7% and 70.6%, respectively (p=0.017). Recurrence free survival (RFS) rates in patients with positive and negative expression of PBRM1 were 87.3% and 66.7%, respectively (p=0.048). However, the expression pattern of PBRM1 did not remain as an independent predictor of neither DSS nor RFS in multivariate analysis.

LISTA DE FIGURAS E TABELA

Figura 1	Estrutura molecular da histonas.....	31
Figura 2	Frequência de mutações em CCRCC.....	32
Figura 3	Estrutura molecular do complexo SWI / SNF.....	34
Tabela 1	Tipos histológicos e respectivas alterações citogenéticas de carcinomas de células renais.....	8

LISTA DE ABREVIATURAS

AJCC	American Joint Comitte on Cancer
ASA	American Society of Anesthesiology
CCR	Carcinoma de células renais
CCR	Carcinoma de células renais de células claras
DHL	Desidrogenase láctica
ECOG	Eastern Cooperative Oncologic Group
HIF – 1	Hipoxya Inducible Factor 1
IC 95%	Intervalo de confiança de 95%
IMC	Índice de massa corpórea
IRC	Insuficiência renal crônica
ILM	Invasão linfática microscópica
IVM	Invasão vascular microscópica
KPS	Karnofsky Performance Status
IHQ	Imuno-histoquímica
MMP-2	Metaloprotease da Matriz Extracelular tipo 2
MMP-9	Metaloprotease da Matriz Extracelular tipo 9
MSKCC	Memorial Sloan Kettering Cancer Center-MSKCC
mRNA	Acido Ribonucléico mensageiro
mTOR	Mamalian Target of Rapamicin
NP	Nefrectomia parcial
NR	Nefrectomia radical
PBRM1	Protein polybromo-1
PCR	Polymerase chain reaction
qRT-PCR	Real time reverse transcriptase polymerase chain reaction
SG	Sobrevida global
SCE	Sobrevida câncer especifica
SLD	Sobrevida livre de doença
SLP	Sobrevida livre de progressão
SLR	Sobrevida livre de recorrência

SNP	Single nucleotide polymorphism
SRM	Small renal masses
SWI/SNF	Switch/Sucrose non fermentable
TMA	Tissue microarray
TNM	Tumor-node-metastasis
UCLA	University of California Los Angeles
UICC	Union for International Cancer Control
UISS	UCLA Integrate Staging System
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VHL	Von Hippel-Lindau

INDICE

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	Razões do Estudo.....	1
1.2	Revisão de Literatura.....	4
1.2.1	Epidemiologia.....	4
1.2.2	Classificação.....	7
1.2.3	Tratamento.....	9
1.3	Fatores Prognósticos.....	14
1.3.1	Fatores clínicos e anatomopatológicos.....	14
1.3.2	Fatores biomoleculares.....	23
1.3.3	O gene PBRM1.....	30
2	ARTIGO 1.....	38
2.1	Impact of renal vein invasion and fat invasion in pT3a renal cell carcinoma....	38
3	ARTIGO 2.....	53
3.1	PBRM1, a SWI/SNF complex subunit is a prognostic marker in clear cell renal cell carcinoma.....	53
4	COMENTÁRIOS.....	72
5	CONCLUSÕES.....	77
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

ANEXOS

- Anexo 1** Classificação de performance/status do ECOG: Eastern Cooperative Oncologic Group Performance Status Classification.
- Anexo 2** Ficha de levantamento de dados
- Anexo 3** Classificação TNM de 2002 da “American Joint Committee on

Cancer's AJCC Cancer Staging”

Anexo 4 Estadiamento clínico de 2002 da “American Joint Committee on Cancer's AJCC Cancer Staging”

Anexo 5 Classificação TNM de 2009 da “American Joint Committee on Cancer's AJCC Cancer Staging”

Anexo 6 Estadiamento clínico de 2009 da “American Joint Committee on Cancer's AJCC Cancer Staging”

Anexo 7 Carta de aceitação Artigo 2 (01.08.13)

1 INTRODUÇÃO

1.1 RAZÕES DO ESTUDO

O carcinoma de células renais (CCR) é responsável por 3% das neoplasias malignas do adulto e representa o câncer urológico mais letal. As razões são sua apresentação clínica tardia, assim como sua resistência à quimioterapia convencional, o que torna a doença metastática praticamente incurável (KANAOKA et al. 2009; EICHELBERG et al. 2009).

Devido ao aprofundamento do estudo das síndromes familiares e identificação das diversas alterações genéticas e vias de sinalização presentes em cada tipo específico de CCR tornou-se possível a classificação desses tumores baseada em características morfológicas e genéticas, atualizada pelos critérios da *World Health Organization-WHO* de 2004 e ALGABA et al. (2011).

O carcinoma de células renais do tipo células claras (CCRCC) é o mais comum subtipo de CCR, correspondendo a cerca de 75% do total. É associado a perda da função do gene de Von Hippel-Lindau (VHL) nos tumores familiares e na maioria dos tumores esporádicos. A herança de uma cópia defeituosa do gene VHL (cromossomo 3p25) predispõe os portadores ao desenvolvimento de tumores presentes na síndrome de Von Hippel-Lindau. No entanto, o desenvolvimento do CCR exige inativação somática do alelo remanescente. Curiosamente, a inativação do gene VHL nunca foi encontrada em outros subtipos histológicos, sugerindo estar especificamente relacionada ao CCRCC (ROSNER et al. 2009).

Em ambas as apresentações de CCRCC, familiar e esporádico, a inativação alélica do VHL pode ocorrer através da mutação, metilação ou perda de cromossomos. Estudos moleculares avaliando o DNA tumoral de casos esporádicos de CCRCC forneceram fortes evidências de que a alteração do VHL é um acontecimento comum no início do processo de carcinogênese. Além disso, determinados tipos de mutações podem estar associados a fatores etiológicos e prognósticos. No entanto, estudos têm avaliado alterações do VHL em diferentes casuísticas e relatam diferenças significativas na prevalência de mutações observadas, variando de 50% a 71% (YOUNG et al. 2009).

Existem evidências, porém, de que a mutação isolada do gene VHL não seja suficiente para o desenvolvimento do CCRCC, sendo necessário o envolvimento de um ou mais genes adicionais (MANDRIOTA et al. 2002). Estudo prévio do grupo da Universidade de Harvard demonstrou que a inativação isolada do gene VHL, ao contrário do que se imaginava até então, induz processo de senescência celular e que mutações em genes adicionais seriam necessárias para retomada da divisão celular e início do processo de carcinogênese (YOUNG et al. 2008).

A necessidade de participação de genes adicionais na iniciação tumoral do CCRCC é confirmada pela observação que de 20% a 30% dos CCRCC não apresentam mutação somática do gene VHL (YOUNG et al. 2009). A procura por outros genes que possam estar envolvidos no desenvolvimento do CCRCC é contínua, porém até agora nenhum outro gene se mostrou importante do ponto de vista prognóstico na doença (DALGLIESH et al. 2010).

Genes reconhecidamente importantes em diversas neoplasias e frequentemente mutados em outros tumores epiteliais, como RAS, BRAF, TP53, RB,

PTEN, EGFR e ERBB2 apresentam-se raramente alterados e desempenham papel prognóstico limitado no CCRCC (DALGLIESH et al. 2010).

Entretanto, em janeiro de 2011 estudo multicêntrico que utilizou de método de sequenciamento genético e *SNP array* (do inglês, single nucleotide polymorphism array) descreveu a presença de mutações no gene PBRM1 (do inglês, *protein polybromo-1*; cromossomo 3p21) em 34% de 257 amostras de tecido congelado de CCR, incluindo-se 36 casos de tumores papilíferos, cromóforos e outras histologias não células claras. Observou-se ainda que todos os pacientes apresentando mutações correspondiam a CCRCC, resultando em uma taxa de mutações de 41% neste subtipo histológico. Trata-se do gene mais frequentemente mutado observado nesse tumor atrás apenas do gene VHL. No mesmo estudo, notou-se que 13 em 14 pacientes com CCRCC que demonstravam gene VHL intacto apresentaram mutações no gene PBRM1, confirmando a sua importância no desenvolvimento do CCRCC. Finalmente, análise funcional utilizando-se de linhagens celulares de CCRCC nas quais o gene PBRM1 foi silenciado através de *siRNA* (do inglês, *small interfering RNA*) acarretou em aumento da formação de colônias e migração celular (VARELA et al. 2011).

A descrição do gene PBRM1 e seu papel na gênese do CCRCC são marcos no melhor entendimento da doença. Até então, os demais genes descritos apresentaram taxas discretas de mutações observadas em análises prévias (3-12%). O fato de ser observado em até 41% dos tumores estudados nos estimulou a estudar esse gene em nossa casuística.

Procuramos avaliar a real importância clínica desse gene, descrevendo a expressão de seus respectivos RNA mensageiro (mRNA) e proteína através de real-

time reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR) e imunohistoquímica (IHQ), respectivamente. Adicionalmente, buscamos analisar as demais variáveis epidemiológicas, clínicas e patológicas que apresentaram papel prognóstico e impacto no desfecho clínico dos pacientes.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Epidemiologia

O CCR corresponde a cerca de 90% das neoplasias renais, sendo responsável por 3% do total de neoplasias malignas (LJUNGBERG et al. 2011). Trata-se da sétima neoplasia mais comum em homens e a nona mais comum em mulheres nos EUA. Em 2008, o câncer renal foi responsável por cerca de 116.000 mortes no mundo. É mais frequente no sexo masculino numa proporção de 2:1 em relação ao sexo feminino, ocorrendo, predominantemente, entre a sexta e sétima décadas de vida (GUPTA et al. 2008).

No Brasil, estima-se que sua incidência varie de 7 a 10 casos/100.000 habitantes com maior predomínio em regiões mais industrializadas (WUNSCH FILHO 2002). Em nosso país, estudo epidemiológico recente demonstrou que em 73% dos casos o diagnóstico é realizado através da ultrassonografia, e apenas 5,3% dos pacientes apresentam a “tríade clássica” (massa palpável, hematúria e dor) (NARDI et al. 2010).

O câncer de rim é mais prevalente na Europa, América do Norte e Austrália, e menos comum em países asiáticos como Índia, Japão e China. Observa-se aumento gradual de cerca de 2% ao ano da incidência mundial da doença. Em 2008, cerca de

88 400 novos casos de câncer de rim ocorreram na Europa, posicionando a neoplasia renal como a décima neoplasia mais comum naquele continente (FERLAY et al. 2010). Apesar de um aumento mundialmente observado durante as últimas décadas, nos últimos anos a incidência de CCR está em declínio em alguns países europeus, como Suécia, Polónia, Finlândia e Holanda (KARIM-KOS et al. 2008).

Do total, cerca de 20-30% dos pacientes são diagnosticados com doença metastática (GUPTA et al. 2008). Além disso, outros 20% dos pacientes submetidos a nefrectomia por doença localizada apresentarão recorrência e desenvolverão CCR metastático durante o seguimento. Para pacientes com doença metastática, o prognóstico é extremamente pobre (ESCUDIER et al. 2007).

A realização rotineira de estudos de imagem, em especial a ultrassonografia, levou a um aumento do número de casos diagnosticados incidentalmente, elevando o percentual de neoplasias em estágio inicial. Nota-se, portanto, uma migração de estágio para tumores precoces, porém sem impacto direto na diminuição da mortalidade pela doença (WOLDRICH et al. 2008). As pequenas massa renais ou *SRM* (do inglês, *small renal masses*) correspondem a até 66% dos casos de CCR (VOLPE et al. 2004). Em nossa instituição, o valor mediano do diâmetro tumoral em meados da década de 1990 foi quase 3,0 cm menor do que na metade da década de 1980 (9,0 versus 6,7 cm, respectivamente) (ZEQUI 2000).

Apesar do aumento da incidência da doença, existem controvérsias quanto a redução das taxas de mortalidade nesse grupo de pacientes. Estudo epidemiológico de 2007, entretanto, relatou decréscimo da mortalidade de 37% para 25% nos últimos dez anos nos EUA (JEMAL et al. 2007). Dados semelhantes foram descritos em estudo mais atual (SIEGEL et al. 2011).

A raça é sabidamente fator de risco para o desenvolvimento da doença (FERLAY et al. 2010). É descrita menor prevalência em pacientes de origem asiática, independentemente de nativos ou imigrantes para países ocidentais como os EUA. Nota-se também menores taxas no continente africano. Entretanto, o grupo de pacientes negros residentes nos EUA é o que apresenta as maiores taxas de incidência da doença naquele país. Essas diferenças observadas parecem estar ligadas a hábitos de vida, fatores ambientais e acesso a sistemas de saúde (KARIMKOS et al. 2008).

Em metanálise de 2005 confirmou-se o papel do tabagismo como fator de risco para o desenvolvimento de CCR. Notou-se ainda relação direta entre o risco relativo e o volume de cigarros inalado pelos pacientes (HUNT et al. 2005). Estima-se que a interrupção do tabagismo leve a uma redução linear do risco de desenvolvimento de CCR. Após 30 anos de interrupção do hábito, observou-se redução de 50% do risco relativo de aparecimento da doença (PARKER et al. 2003).

Já em 2008, metanálise composta de 141 estudos avaliou a relação entre índice de massa corpórea (IMC) e o risco de desenvolvimento de 20 tipos de neoplasias. Estimou-se acréscimo de risco de desenvolvimento de CCR de 1,24 vezes nos homens e 1,34 vezes nas mulheres a cada 5 kg/m² de aumento do IMC (RENEHAN et al. 2008).

Estudo populacional da Suécia contendo cerca de 360.000 pacientes revelou associação significativa entre a hipertensão arterial e risco de desenvolvimento de CCR. Quanto maiores os níveis de pressão arterial, maior a probabilidade de desenvolvimento da doença (CHOW et al. 2000). A distinção entre a contribuição independente do nível de pressão arterial e uso de medicação anti-hipertensiva é

discutível, já que a maioria dos estudos são baseados em um diagnóstico de hipertensão que é quase inevitavelmente ligada ao tratamento com drogas anti-hipertensivas (WEIKERT et al. 2008).

A doença renal cística adquirida que acomete pacientes portadores de insuficiência renal crônica é outro fator de risco para o desenvolvimento de CCR, especialmente naqueles em programas de hemodiálise. O risco relativo varia de três a seis vezes o da população em geral (PORT et al. 1989).

Em 2012, LIU et al. descrevem casuística contendo cerca de 120.000 pacientes presentes em dois estudos prospectivos analisando a associação entre CCR e o uso de nistatinas. Em pacientes do sexo feminino, notou-se uma redução do risco de desenvolvimento da doença de 32%.

Sabe-se que entre 3% e 5% dos tumores renais correspondem a CCR familiares ou hereditários, como as síndromes de von Hippel-Lindau, Birt-Hogg-Dubbé e síndrome do carcinoma renal papilífero, entre outros (LIPWORTH et al. 2006). Elas constituem reconhecido fator de risco para a doença. O risco de desenvolvimento de CCR para um indivíduo com um parente de primeiro grau com história pregressa de CCR é duas vezes maior que a população em geral (LJUNGBERG et al. 2011).

1.2.2 Classificação

Devido ao aprofundamento do estudo das síndromes familiares e identificação das diversas alterações genéticas e vias de sinalização presentes em cada tipo específico de CCR tornou-se possível a classificação desses tumores

baseada em características morfológicas e genéticas, atualizada nos critérios da WHO (2004) e ALGABA et al. (2011).

O termo carcinoma de células renais designa as neoplasias parenquimatosas renais de origem epitelial com potencial maligno. A Tabela seguinte apresenta os tipos histológicos de CCR e suas respectivas prevalências e alterações citogenéticas.

Tabela 1 - Tipos histológicos e respectivas alterações citogenéticas de carcinoma de células renais

Tipo histológico	Prevalência	Alterações citogenéticas
Células claras	75%	-3p, +5q22, -6q, -8p, -9p, -14q
Papilífero	10%	+3q, +7, +8, +12, +16, +17, +20, -Y
Cromóforo	5%	-1, -2, -6, -10, -17, -21, hipoploidia
Ductos coletores (Bellini)	1%	-1q, -6p, -8p, -13q, -21q, -3p
Não classificados	4% - 6%	Desconhecido
Multilocular Cístico	Raro	Mutação do gene VHL
Medular	Raro	Perda do cromossomo 22
Carcinoma Tubulocístico	Raro	Trissomia do cromossomo 17
Translocação Xp11	Raro	t(X;1)(p11.2;q21), t(X;17)(p11.2;q25)
Mucinoso tubular	Raro	-1, -4, -6, -8, -13, -14 +7, +11, +16, +17
Pós-Neuroblastoma	Raro	Desequilíbrio alélico 20q13
Tireóide folicular carcinoma-like	Raro	+ 7q36, +8q24, +12, +16,+17p11-q11, 17
Doença renal terminal	Raro	Ganhos de cromossomos 7 e 17

Fonte: LOPEZ-BELTRAN et al. (2009)

Cabe destacar que cada um dos tipos histológicos decorre de alterações citogenéticas e sítios glomerulares de origem distintos, acarretando em aspectos morfológicos diferentes. Assim sendo, apresentam história natural, agressividade e resposta a tratamentos variáveis, configurando o CCR não como uma doença única,

mas como uma associação de neoplasias malignas distintas, que afetam o mesmo órgão, o rim (TELOKEN et al. 2009).

Como citado previamente, o CCRCC constitui o tipo histológico mais prevalente. Apresenta-se de forma esporádica em até 97% dos casos, sendo múltiplo em 4% e bilateral em 3% dos pacientes (ALGABA et al. 2011). A deleção do cromossomo 3p é a alteração genética mais comum nesses tumores, sendo observada em até 89% dos casos (YOUNG et al. 2009). Existem descrições prévias de perda de heterozigosidade de cromossomo 3p em associação com perda de alelos em outros cromossomos como 6p, 8p, 9pq e 14q (TOMA et al. 2008).

1.2.3 Tratamento

O tratamento cirúrgico constitui a base do tratamento do CCR. Com o aprimoramento das técnicas cirúrgicas, observa-se um aumento gradual do número de pacientes submetidos a ressecções parciais em detrimento da nefrectomia radical (NR) clássica, descrita por ROBSON et al. em (1969), e que incluía a completa remoção do rim, cápsula de Gerota, ureter proximal e glândula supra-renal ipsilateral (BECKER et al. 2009).

Historicamente, a cirurgia poupadora de néfrons (CPP) (nefrectomia parcial (NP) ou enucleação) foi empregada apenas de modo imperativo para portadores de insuficiência renal estabelecida ou iminente, tumores bilaterais, rim único ou síndromes familiares de CCR (UZZO e NOVICK 2001).

As evidências acumuladas e os bons resultados obtidos com a NP, permitiram extrapolar a indicação eletiva da NP para pacientes com tumores de até 4,0cm e com rim contralateral normal. Apresenta como principal vantagem a preservação de

parênquima renal associada a menores taxas de insuficiência renal crônica (IRC), elevado controle tumoral local e resultados oncológicos comparáveis ao procedimento radical (MARGULIS et al. 2009; BECKER et al. 2009).

Estudo multicêntrico e prospectivo europeu recente randomizou 541 pacientes portadores de CCR de até 5,0cm em dois grupos: CPP (n=268) e NR (n=273). Ambos os métodos se mostraram equivalentes nas análises de sobrevida global (SG) (VAN POPPEL et al. 2011a). As taxas de recorrência local da doença variam entre 1 e 3% para tumores menores do que 4,0cm e a margem cirúrgica a ser respeitada corresponde a margem macroscópica da lesão, não havendo benefício clínico da realização de biópsia de congelação no momento da cirurgia (VAN POPPEL et al. 2007). Mesmo a presença de margem cirúrgica positiva parece ter pouco impacto no seguimento desses doentes (BENSALAH et al. 2010).

Estudos recentes vêm mostrando resultados oncológicos equivalentes entre NP e NR em tumores entre 4,0 e 7,0cm (estádio T1b) com benefícios para a NP no que diz respeito a preservação de função renal e prevenção de IRC (JONIAU et al. 2009; THOMPSON et al. 2009).

A via de acesso para realização da NP (aberta vs. laparoscópica) parece não influenciar os resultados oncológicos (GILL et al. 2007). As taxas de complicações também se equiparam em casuísticas mais recentes de centros de referência em tratamento de CCR (SIMMONS e GIL 2007).

As indicações de NR foram revistas durante o decorrer da última década. Inicialmente utilizada para tratamento de tumores renais em pacientes com rim contralateral normal, a NR teve seu papel questionado devido a uma série de fatores. Como descrito anteriormente, apresenta resultados oncológicos semelhantes a

ressecções parciais (MARGULIS et al. 2009). Além disso, séries prévias relatam maior risco de desenvolvimento de IRC e piores taxas de SG quando comparada à NP (MILLER et al. 2008; HUANG et al. 2009).

A NR realizada pela via aberta é atualmente reservada a casos de doença localmente avançada (estádios T3a a T4) ou então em casos selecionados em que se planeja linfadenectomia retro peritoneal estendida (VAN POPPEL e JONIAU 2007).

A via laparoscópica é hoje preferida pela maioria dos autores para tratamento da doença localizada (estádios T1 e T2) não passível de ressecção parcial, seja através do acesso transperitoneal ou retroperitoneal (DESAI et al. 2005; VAN POPPEL et al. 2011b). Estudo multicêntrico recente não evidencia superioridade entre as técnicas utilizadas para o acesso laparoscópico (HA et al. 2011). Outro estudo multicêntrico também de 2011 incluindo cerca de 2.500 pacientes portadores de CCR em estádios T1 e T2 revelou resultados oncológicos semelhantes entre a NR aberta e a NR laparoscópica (JEONG et al. 2011).

Para doença localizada e sem evidência clínica de acometimento linfonodal, estudo prospectivo europeu de 2009 não evidenciou vantagem na realização rotineira de linfadenectomia estendida (BLOM et al. 2009). Já em 2011, CRISPEN et al. sugerem a realização da linfadenectomia estendida em pacientes portadores de CCR localizado de alto risco (CRISPEN et al. 2011). Para doença metastática linfonodal isolada, séries prévias demonstram benefício na realização da linfadenectomia (DELACROIX et al. 2011; WHITSON et al. 2011).

A maioria dos autores não defende a adrenalectomia de maneira rotineira, sendo justificada sua realização apenas em casos de suspeita ou confirmação radiológica de seu envolvimento durante avaliação pré-operatória. O poder preditivo

negativo da tomografia computadorizada se aproxima de 100% (KUTIKOV et al. 2011; WEIGHT et al. 2011).

A vigilância ativa é opção terapêutica nos casos de tumores menores do que 4,0cm em pacientes idosos ou portadores de morbidades que inviabilizem o tratamento cirúrgico (VAN POPPEL et al. 2011b). Sabe-se que até 20% destes tumores são benignos quando biopsiados ou removidos cirurgicamente. Além disso, somente cerca de 20-25% têm características potencialmente agressivas (REMZI et al. 2006). Alguns autores defendem o diâmetro de 3,0cm como sendo o limite para indicação da vigilância ativa (CHAWLA et al. 2006). Estudo multicêntrico e prospectivo recente analisando 209 pacientes portadores de tumores de até 4,0cm demonstrou taxas de progressão local de 12% e metástases de 1,1%. A média da taxa de crescimento tumoral foi de 0,13 cm/ano, não havendo diferenças significativas no crescimento entre lesões malignas (CCR) ou benignas (angiomiolipomas ou oncocitomas) (JEWETT et al. 2011).

As técnicas ablativas como a crioablação e a radiofrequência constituem opção terapêutica para tumores pequenos e em pacientes portadores de comorbidades que limitem o tratamento cirúrgico, síndromes familiares, tumores bilaterais ou em pacientes portadores de rim único (LJUNGBERG et al. 2007). Apresentam, entretanto desvantagens como maior risco de recorrência local e ausência de definição radiológica segura para controle de sucesso terapêutico. Em metanálise de 2008 contendo 99 estudos e mais de 6.000 pacientes, são relatadas maiores taxas de recorrência local da crioablação (4,6%) e radiofrequência (7,9%) quando comparadas a ressecção cirúrgica (2,7%) (KUNKLE et al. 2008). Estudo de 2008 relata que até 46% dos pacientes submetidos a radiofrequência e que não demonstravam

impregnação pelo contraste durante a tomografia computadorizada apresentavam tumor viável em biópsia pós ablação (WEIGHT et al. 2008).

Não dispomos de estudos prospectivos comparando os métodos ablativos à ressecção cirúrgica. Além disso, não dispomos de estudos randomizados que comparem crioablação e radiofrequência entre si (VAN POPPEL et al. 2011b). A única metanálise comparando vigilância ativa a modalidades ablativas não identificou diferenças significativa entre os métodos (KUNKLE et al. 2008).

Para o tratamento da doença metastática, a opção tem sido a realização de nefrectomia citorrredutora seguida de terapia de alvo molecular (MOTZER et al. 2008). Estudos prospectivos e randomizados confirmaram a superioridade dessas drogas sobre a imunoterapia no que diz respeito a taxas de sobrevida livre de progressão e sobrevida global (LJUNGBERG et al. 2010).

Agentes anti-angiogênicos como o sunitinib, bevacizumab e pazopanib são tidos hoje como opções terapêuticas de primeira linha para a doença metastática (RINI et al. 2008; MOTZER et al. 2009; STERNBERG et al. 2010). Já para pacientes portadores de doença metastática de alto risco, o temsirolimus é até o momento a opção de escolha, baseado em resultados de estudo prospectivo e randomizado que também demonstrou superioridade com relação a imunoterapia (HUDES et al. 2007).

Como opções de segunda linha, atualmente uma série de estudos prospectivos e randomizados utilizando sorafenib, sunitinib e axitinib estão em andamento (ESCUDIER et al. 2009). O inibidor da via mTOR (do inglês, *Mammalian Target of Rapamycin*) everolimus é comprovadamente opção de segunda linha no tratamento

do CCR metastático demonstrando melhores taxas de sobrevida livre de progressão (SLP) e SG quando comparado ao placebo (MOTZER et al. 2010).

Com relação ao tratamento cirúrgico, a ressecção da metástase é indicada quando tecnicamente possível (PATARD et al. 2011). Fatores como intervalo entre o tratamento do tumor primário e aparecimento de metástases, presença de metástase única e diâmetro da lesão metastática parecem influenciar o prognóstico e taxas de sobrevida (BEX et al. 2010).

1.3 FATORES PROGNÓSTICOS

1.3.1 Fatores clínicos e anatomopatológicos

Historicamente, os critérios utilizados como fatores prognósticos em pacientes portadores de CCR são o estágio clínico, o grau histológico de malignidade, o acometimento linfonodal e a presença de metástases à distância (ROBSON et al. 1969; FUHRMAN et al. 1982).

De uma maneira didática, divide-se os fatores prognósticos em clínicos e anatomopatológicos. Os fatores clínicos são aqueles relacionados ao paciente em si. Compostos pelo estágio clínico, seus sinais e sintomas, estado geral e parâmetros laboratoriais como calcemia e dados hematimétricos. Os fatores anatomopatológicos são aqueles inerentes ao próprio tumor, como estágio patológico, tamanho, grau de diferenciação, invasão microvascular, tipo histológico e demais achados anatomopatológicos (CAMPBELL et al.2007).

O primeiro sistema de classificação prognóstica descrito para o CCR foi o de ROBSON et al. em 1969. Baseia-se em parâmetros clínicos relacionados à extensão

neoplásica, obtidos durante a ressecção cirúrgica do tumor primário e constituía o método mais confiável de estratificação de pacientes portadores da doença. Estudos posteriores demonstraram falhas do sistema de Robson quanto ao seu possível papel preditivo de desfechos clínicos (PANTUCK et al. 2001). Uma das críticas é que o estágio III de Robson engloba casos de evolução distinta, como pacientes com acometimento da gordura perirrenal, com trombos tumorais e pacientes com metástases linfonodais, não os discriminando quanto ao prognóstico.

Introduzido em 1959, o *Tumour-Node-Metastasis* (TNM) é o sistema prognóstico mais amplamente utilizado no CCR. Encontra-se na sua sétima edição e constitui ferramenta importante na estratificação de pacientes (TELOKEN et al. 2009). Dois estudos multicêntricos recentes, um europeu e outro americano validam a última atualização do TNM que passou a vigorar em janeiro de 2010. Ambos os trabalhos se atentam a falhas no estágio T3a que agrupou pacientes com achados patológicos distintos como invasão de gordura perirrenal e invasão de veia renal (NOVARA et al. 2010; KIM et al. 2011).

O tamanho do tumor primário é sabidamente fator prognóstico independente de sobrevida (DELAHUNT et al. 2002). HAFEZ et al. (1999) demonstraram que tumores maiores do que 4,0cm submetidos a NP apresentavam maior taxa de recorrência e pior evolução. Nessa direção, a classificação TNM de 2002 subdividiu o estágio em T1a e T1b para tumores até 4,0 e 7,0cm, respectivamente. Já em 2005, FRANK et al. sugeriram estratificação dos tumores T2 em estádios T2a e T2b, baseados no valor de corte de 10,0 cm de diâmetro. Sugestão aceita e incorporada a atualização do TNM de 2010 (FRANK et al. 2005). Estudo populacional da Suécia contendo cerca de 2000 pacientes com tumores menores do que 7,0 cm evidenciou

taxa de metástases linfonodal ou à distância de 11% em tumores abaixo de 4,0 cm, atentando para a possibilidade de doença avançada também em estágios clínicos precoces (GUOMUNDSSON et al. 2011).

A presença de acometimento linfonodal pela neoplasia apresenta importante impacto prognóstico. As taxas de sobrevida câncer específica (SCE) em cinco anos variam de 11% a 30%. Sabe-se que cerca de 50% destes casos já apresentam metástases hematogênicas sincrônicas à distância (CHAPIN et al. 2011).

A ocorrência de metástases ao diagnóstico é evento de péssimo prognóstico, com sobrevida mediana de 6 a 10 meses e taxa de SG em dois anos variando de 10 a 20% (FLANIGAN et al. 2004; RINI et al. 2009).

O envolvimento da gordura perirrenal pela neoplasia é tido como fator prognóstico independente em algumas séries e é um dos critérios para inclusão desses tumores no estágio clínico T3a. BONSIB (2004) descreve a gordura do seio renal como uma possível rota de disseminação metastática, como resultado da abundância vascular de tal região anatômica. Estudos posteriores apresentam resultados contraditórios no que se refere ao impacto prognóstico da invasão de gordura do seio renal (POON et al. 2009; BERTINI et al. 2009).

A invasão tumoral da glândula supra-renal ipsilateral representa fator de mau prognóstico (FICARRA et al. 2007; JUNG et al. 2008). Nesse sentido, a atualização do TNM de 2010 incluiu esses tumores no estágio clínico T4 (MILLER et al. 2010). Em extensa série da Clínica Mayo contendo cerca de 4.000 pacientes tratados cirurgicamente por CCR, observou-se que a taxa de acometimento da glândula supra-renal foi de 2,4%. Em pacientes com tumores de pólo superior, maiores do que 7,0 cm e em estágios clínicos T3 e T4 essa taxa foi de cerca de 5%. Entretanto, a

realização rotineira da adrenalectomia não influenciou as taxas de SCE (WEIGHT et al. 2011).

O impacto prognóstico da invasão venosa é controverso. Estudos têm sugerido menores taxas de sobrevida para este subgrupo, relatando tempo mediano de sobrevida variando entre 11 e 20 meses para doença metastática. No entanto, para pacientes com doença localizada e ausência de achados patológicos desfavoráveis, a sobrevida mediana varia entre 38 a 116 meses (WAGNER et al. 2009; POULIOT et al. 2010). KLATTE et al. (2007a) analisaram 321 pacientes submetidos a nefrectomia por CCR, não observando diferença nas taxas de sobrevida, independentemente do nível do trombo. WAGNER et al. (2009) et al. também avaliaram o impacto da extensão do trombo, em um estudo multicêntrico, observando piores resultados em pacientes que desenvolveram trombos na veia cava em comparação a aqueles com trombos limitados à veia renal.

A classificação histológica de FUHRMAN et al. (1982) é baseada em características nucleares como o tamanho do núcleo e nucléolos, a presença de irregularidades nucleares e a proeminência dos nucléolos. Em 2005, FICARRA et al. descrevem estudo contendo 388 pacientes, no qual a classificação de Fuhrman obteve poder preditivo independente de SCE. Achados semelhantes são descritos em tumores em estágio clínico T1 isoladamente (CHEVILLE et al. 2001). Entretanto, a importância prognóstica do sistema de classificação Fuhrman tem sido questionada devido à sua baixa reprodutibilidade e falta de uniformidade entre os quatro graus. Vários grupos relatam altas taxas de variabilidade intra-observador e inter-observador (LANG et al. 2005; BEKTAS et al. 2009). Em estudo contendo 121 pacientes tratados cirurgicamente por CCRCC localizado, DELAHUNT et al. (2011)

descrevem que dentre os três parâmetros analisados pela classificação de Fuhrman, somente a proeminência nucleolar se mostrou achado preditivo independente de sobrevida. Em 2010, um estudo da Alemanha demonstrou sua utilização como fator prognóstico em CCR papilífero (HERRMANN et al. 2010). Posteriormente, estudo multicêntrico italiano contendo 577 pacientes tratados cirurgicamente por CCR papilífero demonstrou que o grau de Fuhrman se mostrou fator preditivo independente de recidiva tumoral e SCE (ZUCCHI et al. 2011). Nenhum dos sistemas de graduação histológica propostos para CCR foi validado para tumores cromófobos, sendo a classificação de Fuhrman inadequada para este tipo de tumor (DELAHUNT et al. 2007; PANER et al. 2010).

Com relação ao impacto prognóstico do tipo histológico, a literatura tem mostrado resultados conflitantes. Série extensa da Clínica Mayo descreve a presença de CCRCC como evento preditivo independente de pior SCE (CHEVILLE et al. 2003). Achado semelhante foi observado em estudo multicêntrico americano com cerca de 11.000 pacientes (CAPITANIO et al. 2009). Porém, séries distintas relatam impacto do tipo histológico apenas nas análises univariadas de sobrevida (PATARD et al. 2005; FICARRA et al. 2006). Já em 2009, estudo retrospectivo contendo 158 pacientes compara tumores papilíferos do tipo 1 aos tumores do tipo 2; e relata maior associação dos últimos a estágio clínico mais avançado, metástases linfonodais e à distância, necrose e invasão vascular (KLATTE et al. 2009a). Outros autores descrevem o achado de tumor papilífero tipo 2 como fator preditivo independente de pior sobrevida (PIGNOT et al. 2007).

A presença de padrão sarcomatóide no CCR é fator de péssimo prognóstico. Esta rara forma de apresentação de alto grau pode estar presente em qualquer dos

subtipos histológicos de CCR (JONES TD et al. 2005). Estudo americano de 2001 contendo 101 pacientes portadores de CCR com padrão sarcomatóide obteve SCE em 10 anos de 13% e tempo mediano de sobrevida de apenas 19 meses (DE PERALTA-VENTURINA et al. 2001). Já série recente do Japão descrevendo 451 pacientes portadores de CCR em estágio clínico T1a relata o achado de padrão sarcomatóide como fator preditivo independente de doença metastática nesse grupo de tumores (TAKAYAMA et al. 2011).

A presença de necrose tumoral é outra importante variável histológica que pode afetar o prognóstico de pacientes portadores de CCR. Pacientes apresentando tal achado têm, reconhecidamente, maior risco de progressão e piores taxas de SCE (FRANK et al. 2002). No entanto, estudos mais recentes não reproduziram tais achados e têm questionado seu real papel preditivo em CCR (KLATTE et al. 2009b; ISBARN et al. 2010). Sua importância pode variar de acordo com o tipo histológico. Apesar de reconhecida em carcinomas de células claras e cromóforos, não se observa tal influência em carcinomas papilíferos (SENGUPTA et al. 2005).

A presença de invasão microvascular (IMV) varia entre 25% e 28% (VAN POPPEL et al. 1997). Séries prévias evidenciam a presença de invasão microvascular como fator prognóstico independente de recorrência tumoral e sobrevida livre de doença (SLD) (GONÇALVES et al. 2004). DALL'UGLIO et al. (2007) propuseram uma tríade prognóstica contendo tumores maiores de 7,0cm, presença de invasão microvascular e alto grau histológico, configurando os tumores de pior prognóstico. Entretanto, estudo recente não confirmou o impacto da IMV como fator prognóstico independente de sobrevida em 841 pacientes portadores de CCR localizado (KATZ et al. 2011).

Os sistemas de classificação de Karnofsky e ECOG (do inglês, *Eastern Cooperative Oncologic Group*) (Anexo 1) são os mais comumente aplicados para determinação de performance clínica de pacientes portadores de CCR (KARNOFSKY e BURCHENAL 1950). O papel prognóstico do ECOG foi confirmado em amplos estudos incluindo pacientes submetidos a nefrectomia para doença localizada e metastática (PATARD et al. 2004; SHUCH et al. 2008). A classificação de Karnofsky performance status (KPS) se mostrou fator preditivo independente de sobrevida para pacientes com CCR metastático submetidos a terapias de primeira e segunda linha (MOTZER et al. 2002, 2004). HENG et al. (2009) confirmam a importância do KPS em casuística contendo 645 pacientes portadores de doença metastática tratados exclusivamente com agentes anti-angiogênicos.

SENGUPTA et al. (2006) mostraram que elevada taxa de sedimentação eritrocitária está associada a pior evolução em pacientes portadores de carcinoma de células claras, porém sem aparente papel nos casos de carcinomas papilífero e cromóforo.

A ocorrência de trombocitose, definida como a presença de mais do que 450.000 plaquetas por mm³, também é descrita como fator prognóstico de má evolução em pacientes portadores de CCR localizado e metastático (BENSALAH et al. 2006). WOSNITZER et al. (2011) descrevem a ocorrência de trombocitose como fator preditivo independente de piores taxas de SG e SCE em 961 pacientes tratados cirurgicamente por CCR.

Diversos grupos têm descrito altos níveis de proteína-C reativa (PCR) como marcador prognóstico de piores taxas de SCE e SLP em doença localizada e

metastática (JAGDEV et al. 2010; TAKAYAMA et al. 2011) Recente metanálise reuniu 47 estudos avaliando marcadores laboratoriais de prova inflamatória como trombocitose, velocidade de hemossedimentação e PCR. Os autores descrevem importante impacto prognóstico de todos nas taxas de sobrevida estudadas (WU et al. 2011).

Os papéis prognósticos de hipercalcemia ($> 10\text{mg/dL}$), anemia ($<13.0\text{g/dL}$ em homens e $<11.5\text{g/dL}$ em mulheres) e elevação do DHL ($>1.5\text{x}$ normal) foram extensivamente avaliados em pacientes portadores de doença metastática. Todos se mostraram fatores preditivos de pior sobrevida em pacientes tratados com imunoterapia ou quimioterapia (MOTZER et al. 2002, 2004).

Sabe-se que a análise de fatores isolados é pouco acurada, apresenta vieses e nem sempre é reprodutível. Nesse sentido, autores desenvolveram modelos preditivos integrados utilizando-se de parâmetros anatômicos, demográficos, histopatológicos e clínicos. Tais modelos passaram a ser aplicados para melhor estratificação de risco de pacientes portadores de CCR e apresentam, em geral, maior acurácia do que fatores prognósticos isolados. Apesar disso, observa-se ainda variabilidade de acordo com a instituição onde tais nomogramas são aplicados (KATTAN et al. 2001; PANTUCK et al. 2001).

Em 2001, KATTAN et al. desenvolveram nomograma visando prever as taxas de SLD em 2 e 5 anos nos pacientes submetidos a nefrectomia de estágio T1 a T3c. Utilizando-se de critérios clássicos como histologia, estágio clínico e tamanho tumoral, os autores adicionaram ainda diagnóstico incidental versus lesões sintomáticas. Posteriormente, o mesmo grupo adicionou o intervalo de tempo entre o tratamento cirúrgico e a recidiva da doença como critério dinâmico adicional ao

nomograma previamente descrito (THOMPSON et al. 2007).

Já em 2002, o grupo da Clínica Mayo utilizando-se de 1800 pacientes com diagnóstico de CCRCC localizado ou metastático desenvolveu nomograma no qual se incluiu fatores como tamanho tumoral, grau e estágio clínico. Notaram ainda que a presença de necrose tumoral se mostrou fator prognóstico de recidiva e SG (FRANK et al. 2002).

O Grupo da Universidade da Califórnia Los Angeles-*UCLA* descreveu em 2001 o *UCLA Integrate Staging System (UISS)* que inclui pacientes de todos os estádios e incorpora estágio clínico, grau e classificação de *performance status (P/S)* do ECOG. Essa avaliação do impacto da neoplasia no estado geral do paciente foi significativa, sendo que pacientes com escore ≥ 1 de ECOG compunham os grupos de piores resultados em comparação a aqueles com escore 0 na predição de sobrevida aos 2 e 5 anos (PANTUCK et al. 2001) .

O Sistema *UISS* foi validado através de estudo multicêntrico em 4202 pacientes de oito centros acadêmicos internacionais por PATARD et al. (2004) tanto para pacientes com CCR localizado como para CCR metastático. Em ambos os tipos de pacientes e em todas as instituições, o sistema permitiu a divisão dos pacientes em três grupos de risco ($p < 0,001$): baixo risco, risco intermediário e alto risco. A sobrevida em cinco anos de acordo com os grupos foi respectivamente de 92%, 67% e 44% para os pacientes com CCR localizado e de 37%, 23 % e 12% para os pacientes com metástases (PATARD et al. 2004).

Posteriormente, o grupo do *Memorial Sloan Kettering Cancer Center-MSKCC* desenvolveu escore para CCR metastático utilizando variáveis como tempo de progressão após nefrectomia, anemia, calcemia, desidrogenase láctica (DHL) e

KPS. O modelo apresenta variáveis de zero a cinco pontos e estratifica pacientes em três grupos: baixo risco, risco intermediário e alto risco (EGGENER et al. 2006).

KARAKIEWICZ et al. (2007) se utilizando de 1422 pacientes de 10 centros europeus tratados cirurgicamente por CCR propõem modelo prognóstico no qual incluem a classificação do TNM (2002), o diâmetro tumoral, o grau de Fuhrman e a presença de sintomas. Tal modelo se mostrou capaz de prever a SCE em 1, 2, 5 e 10 anos com acurácia de 86,3%.

Em 2009, HENG et al. descrevem modelo prognóstico de SG em 645 doentes portadores de CCR metastático tratados exclusivamente com drogas de terapia alvo. O modelo estratifica os pacientes em três grupos de risco baseados na presença de seis variáveis: KPS, intervalo de tempo entre diagnóstico e tratamento da doença metastática, anemia, hipercalcemia, neutrofilia e trombocitose (HENG et al. 2009).

Recentemente, KARAKIEWICZ et al. (2011) descrevem modelo prognóstico de progressão tumoral em pacientes com doença metastática tratados com a associação entre bevacizumab e interferon. Os critérios incluídos para classificação de risco foram: idade ao diagnóstico, KPS, intervalo de tempo entre diagnóstico e recidiva, albumina plasmática e fosfatase alcalina. Quando comparado ao modelo do MSKCC, ele se mostrou superior a este último na predição de SLD.

1.3.2 Fatores biomoleculares

Conforme descrito, fatores clínicos, patológicos e demográficos constituem importantes ferramentas para predição de desfechos clínicos e são utilizados em nomogramas prognósticos contendo pacientes portadores de CCR. O sistema de estadiamento do TNM se baseia exclusivamente em informações anatômicas. O

estadiamento do tumor, portanto, não leva em conta a variabilidade molecular dentro do tecido tumoral, o que poderia explicar a diversidade da evolução e desfechos clínicos nesse grupo de pacientes. Alguns autores vêm incorporando marcadores biomoleculares a modelos preditivos de sobrevida ou progressão da doença numa tentativa de aprimoramento dos mesmos (KLATTE et al. 2009c). Porém, ainda carecemos de marcadores biomoleculares que apresentem impacto prognóstico significativo e que sejam utilizados na prática clínica.

No CCR esporádico, a mutação e a metilação do gene VHL têm sido associadas a melhor prognóstico em pacientes com estágio clínico I a III, diferentemente dos pacientes em estágio IV nos quais não parecem influenciar o desfecho clínico (YAO et al. 2002). Dois estudos relatam pior SG em pacientes apresentando mutações somáticas com perda de função do VHL (KIM et al. 2005; SCHRAML et al. 2002). Dois estudos apresentam resultados conflitantes no que se refere à influência da presença de mutações e metilações do gene VHL no desfecho clínico dos pacientes (YAO et al. 2002, BANKS et al. 2006).

Em 2009, YOUNG et al. analisaram 86 pacientes submetidos a tratamento cirúrgico por CCRCC e encontraram associação entre o status do gene VHL (mutação, perda de heterozigosidade ou metilação) e variáveis patológicas como grau de Fuhrman, acometimento linfonodal e necrose tumoral. Porém, não observaram impacto significativo nas taxas de sobrevida estudadas.

Também em 2009, grupo francês analisou o padrão genético do VHL e a expressão IHQ do pVHL em 102 pacientes portadores de CCRCC. Relatam piores taxas de SCE nos pacientes sem alteração do gene VHL quando comparados a pacientes apresentando deleção, mutação ou metilação do gene. Observaram ainda

que aqueles com alta expressão tecidual do pVHL também apresentaram piores taxas de SCE (PATARD et al. 2009).

Assim como o VHL, o valor prognóstico da expressão do HIF e suas subunidades permanece discutível. LIDGREN et al. (2005) relatam a hiperexpressão de HIF-1 α por *Western Blot* como evento preditivo de melhores taxas de SG. Entretanto, estudo subsequente do mesmo grupo utilizando-se de IHQ em 176 pacientes tratados por CCR, o padrão de expressão do HIF-1 α não mostrou poder prognóstico significativo nas análises multivariadas de sobrevida (LIDGREN et al. 2006). Já em 2007, análise IHQ por *tissue microarray* (TMA) em 357 pacientes com CCRCC localizado e metastático descreve associação do HIF-1 α com os marcadores de apoptose e da via mTOR p53, AKT, p21 e p27. Alta expressão do HIF-1 α se mostrou fator preditivo de piores taxas de SCE (KLATTE et al. 2007b). Resultados semelhantes foram descritos por grupo da Croácia (DORDEVIC et al. 2009).

Estudo multicêntrico americano avaliou retrospectivamente a resposta ao uso de temsirolimus ou interferon em 416 pacientes portadores de CCR metastático. Os pacientes foram agrupados de acordo com o padrão de expressão IHQ de HIF-1 α e PTEN. Nenhum dos dois marcadores se mostrou preditivo de resposta ao tratamento (FIGLIN et al. 2009). Em 2010, estudo da Holanda contendo 100 pacientes tratados cirurgicamente por CCR analisou o grau de expressão IHQ de HIF-1 α , HIF-2 α e FIH (do inglês, *Factor-inhibiting HIF*) através da técnica de TMA. Os autores descrevem a baixa expressão de FIH como fator preditivo independente de pior SG (KROEZE et al. 2010).

A importância prognóstica do *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) é tópico amplamente discutido. Sua produção se encontra elevada nos casos de CCR

portando alterações de VHL e hiperexpressão de HIF-1. Está associado a maior agressividade tumoral, recorrência tumoral e pior SG (JACOBSEN et al. 2004; EICHELBERG et al. 2009). Em casuística desta instituição, a hiperexpressão ou hipoexpressão IHQ do VEGF não teve impacto prognóstico nas taxas de SG e sobrevida livre de recorrência (SLR) (ZEQUI 2008).

A via de sinalização do mTOR se mostra alterada em diversas neoplasias, inclusive no CCR. Constitui a segunda linha mais estudada de terapias de alvo molecular no CCR com provada eficácia de drogas como o temsirolimus e o everolimus (MOTZER et al. 2008). Literatura sobre o possível papel prognóstico do mTOR como marcador molecular ainda é escassa. No entanto, a hiperexpressão da proteína ribossômica S6 (pS6), alvo terapêutico de tais drogas, está presente em casos de CCR de grau e estágio avançados e é associada a pior evolução clínica (PANTUCK et al. 2007).

De maneira geral, a hiperexpressão do p53 é evento incomum no CCR e se apresenta mais frequente em metástases do que no tumor primário. Nota-se, predominantemente, em carcinomas não células claras, especificamente em carcinomas papilíferos. Está associada a menores taxas de SLD e SG (ZIGEUNER et al. 2004).

O marcador de proliferação celular MIB-1 / Ki-67 é citado como fator prognóstico de pior evolução em pacientes portadores de CCR. Em análise multivariada é descrito como preditivo de piores taxas de SG e maior recorrência tumoral (RIOUX-LECLERCQ et al. 2000; BUI et al. 2004). Em 55 pacientes de nossa instituição apresentou baixa expressão e não teve valor prognóstico (ZEQUI 2000).

Estudo mais recente da Clínica Mayo avaliou a expressão IHQ combinada de Ki-67, survivina e B7-H1 em 634 pacientes tratados cirurgicamente por CCRCC e permitiu a elaboração de pontuação denominada *BioScore*. Tal pontuação mostrou poder preditivo de SCE na análise multivariada de sobrevida (PARKER et al. 2009).

As metaloproteinases da matriz extracelular MMP-2 e MMP-9 estão presentes em inúmeras neoplasias e estão envolvidas em mecanismos de expansão tumoral e promoção de metástases. Apresentam alta expressão, predominantemente, em CCR não células claras e se correlacionam com agressividade tumoral, grau e pior SG (KALLAKURY et al. 2001). Em nossa casuística, embora a alta expressão de MMP2 e MMP 9 tenham se associado a tumores de alto grau, a expressão de ambas não teve valor prognóstico (ZEQUI 2008).

Estudo recente do nosso grupo comprovou importância prognóstica da expressão IHQ do marcador CD133. Tal proteína está envolvida com o citoesqueleto celular e encontra-se predominantemente expressa em protrusões da membrana plasmática. A perda de expressão do CD133 se mostrou fator preditivo de piores taxas de SCE e SLD (DA COSTA et al. 2012).

Em 2003, VASSELLI et al. conduziram estudo contendo 58 amostras de tecido congelado de tumor primário de CCRCC em estágio clínico IV. Identificou-se um perfil de expressão contendo 45 genes, possibilitando a divisão dos pacientes em grupos de bom e mau prognóstico. Dentre todos eles, a perda de expressão do gene VCAM-1 (do inglês, *Vascular Cell Adhesion Molecule-1*) se mostrou fator preditivo independente de piores taxas de SG na análise multivariada.

Já em 2005, KOSARI et al. subdividiram 28 pacientes de acordo com a pontuação do *SSIGN Score* (FRANK et al. 2002) em grupos de tumores agressivo,

não agressivo e metastático. Descrevem que a hiperexpressão do gene inibidor de apoptose BIRC5 (survivina) se mostrou fator preditivo independente de SCE (KOSARI et al. 2005).

Estudo amplo envolvendo centros europeus e americanos avaliando 69 amostras de CCR de histologias distintas através de microarray de DNA descreve método de diferenciação histológica baseado unicamente no padrão de expressão de 30 genes específicos e relatam acurácia diagnóstica de 100%. Além disso, baseados na expressão de um conjunto de 155 genes do tumor primário foi possível prever a ocorrência de metástases com acurácia de 88,9% (JONES J et al. 2005). Estudo do mesmo ano descreve resultados semelhantes (SULTMANN et al. 2005).

Estudo da Universidade de Stanford contendo amostras de 177 pacientes tratados cirurgicamente por CCR analisou padrão de expressão de 259 genes por *microarray* de DNA. Os autores desenvolvem método de pontuação que se mostrou fator preditivo de sobrevida independentemente de estágio clínico e grau de Fuhrman (ZHAO et al. 2006). Posteriormente, os mesmos autores demonstraram que o grupo de tumores que perdia a expressão de um conjunto de 87 genes relacionados ao córtex renal normal apresentou piores taxas de SCE e SG em comparação ao grupo que mantinha a expressão de tais genes no tecido tumoral (ZHAO et al. 2009).

Mais recentemente, grupo do Japão descreveu estudo no qual se utilizou do padrão de expressão de três genes específicos (VCAM1, EDNRB e RGS5) em elaboração de pontuação capaz de prever as taxas de SCE em 25 pacientes tratados cirurgicamente por CCRCC localizado e metastático (YAO et al. 2008).

O grupo da Universidade de Dresden analisou o padrão de expressão gênica em 20 amostras de metástases pulmonares de pacientes portadores de CCRCC. Os

autores descrevem perfis de genes relacionados a angiogênese e migração celular (PCAM1, KDR e ICAM2) e ciclo celular (PBK, CDKN2A) capazes de prever o intervalo livre de doença e o número de metástases sistêmicas (WUTTIG et al. 2009).

Em 2010, BRANNON et al. descrevem estudo no qual se utilizam de 51 amostras de CCRCC e descrevem subdivisão do tipo histológico baseada no padrão de expressão de um conjunto de 110 genes distintos. A classificação em tipos A e B se mostrou capaz de identificar dois grupos de tumores de evolução distintas apresentando diferença significativa nas taxas de SG e SCE.

No mesmo ano, estudo americano descreve padrão de rearranjos cromossômicos em 20 amostras de CCRCC através de análise citogenética de cariotipagem e *SNP-array*. Observou-se instabilidade cromossômica em 95% dos tumores analisados e perda do braço curto do cromossomo 3 (3p) em 85% dos casos. Em 14 dos 17 tumores com perda de 3p notou-se ganho do braço longo do cromossomo 5 (5q) como resultado de translocação entre os cromossomos (t(3;5)). Os autores sugerem que o método de *SNP-array* se mostrou superior ao método tradicional de cariotipagem na identificação de anormalidades cromossômicas e *copy number variations (CNV)* (PEI et al. 2010).

Estudo posterior da Alemanha identificou mutações do tipo *missense* no gene SETD2 em 20% das amostras de CCRCC estudadas. Tal gene apresenta características de supressor tumoral, se localiza em 3p21 e codifica enzima envolvida em mecanismos de modificação de histonas (DUNS et al. 2010). Em extenso estudo de sequenciamento contendo 407 pacientes portadores de CCRCC, a taxa de mutações observada em SETD2 foi de 3% (DALGLIESH et al. 2010).

Novo estudo alemão descreve em 34 pacientes portadores de CCRCC localizado e metastático perfil de expressão de um conjunto de 127 genes presentes no tumor primário capaz prever a ocorrência de metástases. Os autores validam por RT-PCR o padrão de expressão de 4 genes (BCL2L2, FRA2, MMP16 e B7-H1) diferentemente expressos em tecido tumoral de doença localizada e metastática (SANJMYATAV et al. 2011).

NOON et al. (2012) descrevem estudo no qual se avaliou a expressão IHQ de p53 e do oncogene MDM2 em 97 casos de CCR. Os autores relatam que a presença de hiperexpressão de ambos os marcadores se associou a piores taxas de SCE. Dos 14 pacientes que apresentaram hiperexpressão IHQ de p53, 12 (86%) não apresentavam alteração do gene p53 em análise de sequenciamento genético.

Recente metanálise analisando o perfil de expressão de 6386 genes em 480 amostras de CCRCC confirmou a existência de dois subgrupos de tumores denominados A e B cujos perfis de expressão gênica se mostraram distintos. Além disso, os autores descrevem um terceiro subgrupo denominado *Cluster 3* que apresentou como interessante achado a presença de gene VHL intacto em 82% dos casos e características histológicas mistas (células claras e papilífero) em metade das amostras. Dessa forma, esse grupo de tumores que correspondeu a cerca de 15% da amostra total seria composto por uma nova entidade histológica diferente do CCRCC clássico (BRANNON et al. 2012).

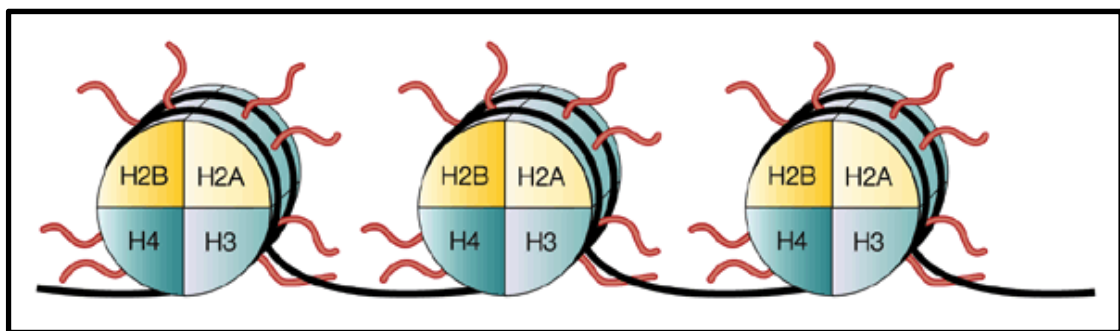
1.3.3 O gene PBRM1

Atualmente, reconhece-se a importância de alterações epigenéticas no controle da transcrição genética e no processo de iniciação e progressão tumoral.

Dentre os mecanismos de modificação epigenética, podemos citar a metilação e acetilação de genes e histonas além da remodelação de cromatina dependente de ATP (CHI et al. 2010).

Estudo de 2010 avaliou em 407 amostras de tecido congelado de CCRCC o padrão de mutação de 3.544 genes através de sequenciamento genético. As mutações mais frequentemente observadas foram as dos genes envolvidos em modificação de histona 3 (H3) . Doze dos 407 (3%) casos apresentaram mutações somáticas em SETD2, gene que codifica a histona-metiltransferase H3K36; e 13 dos 407 (3%) apresentaram mutações no gene JARID1C, que codifica a histona-demetilase H3K4. (DALGLIESH et al. 2010)

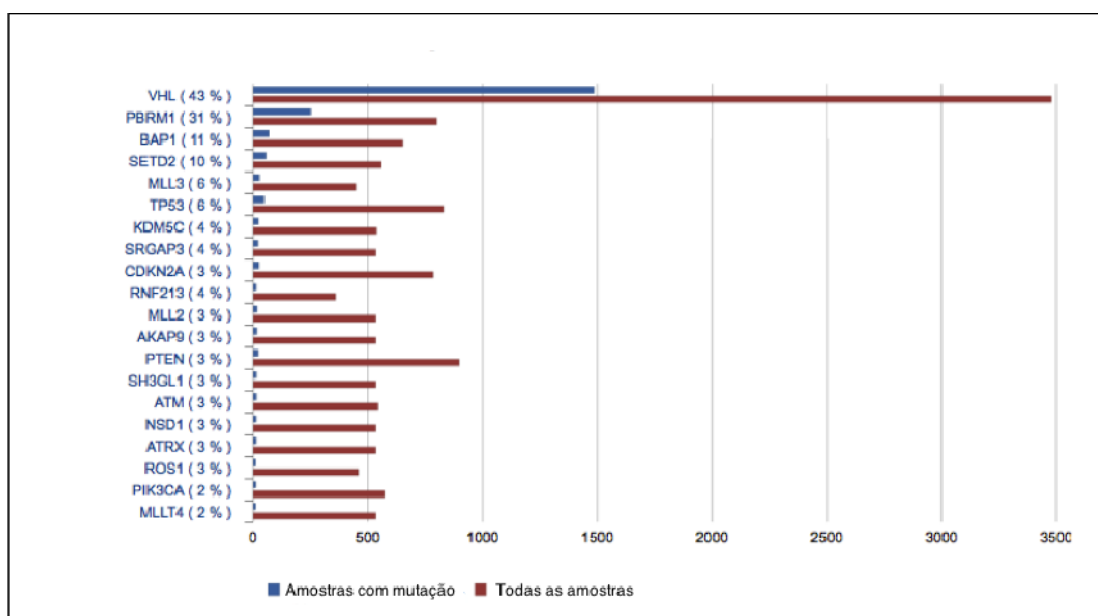
Histonas são proteínas alcalinas encontradas no núcleo celular que fazem parte de complexos celulares denominados nucleossomos. Os nucleossomos são compostos por quatro dímeros de histonas (H2A, H2B, H3 e H4) e um segmento de DNA contendo, aproximadamente, 147 pares de base. Cabe ao nucleossomo o papel de compactação do DNA no núcleo celular (MARKS et al. 2001) (Figura 1).



Fonte: MARKS et al. (2001).

Figura 1 - Estrutura molecular da histonas. As histonas presentes nos nucleossomos são designadas H2A, H2B, H3 e H4. Cada histona está presente em dímeros, de modo que o DNA (preto) envolve um octâmero de histonas.

Como já citado, estudo multicêntrico se utilizando de método de sequenciamento genético e *SNP array* descreveu a presença de mutações no gene PBRM1 (cromossomo 3p21) em 41% dos casos de CCRCC. Trata-se do gene mais frequentemente mutado observado nesse tumor atrás apenas do gene VHL. (Figura 2) No mesmo estudo, notou-se que 13/14 pacientes com CCRCC com ausência de mutação no gene VHL, apresentaram mutações no gene PBRM1, sugerindo papel importante no desenvolvimento do CCRCC (VARELA et al. 2011).



Fonte: Wellcome Trust Sanger Institute (2013)

Figura 2 - Frequência de mutações em CCRCC. Principais genes estudados e respectivos percentuais de mutações observadas em CCRCC.

O gene PBRM1 codifica a proteína BAF180 que é uma subunidade do complexo de remodelação da cromatina dependente de ATP chamado SWI / SNF (do inglês, *Switch/Sucrose non fermentable*). Tal complexo desempenha o papel de remodelação do nucleossomo, e está envolvido na mobilização dos nucleossomos

por deslizamento e promoção de inserção ou retirada de histonas da cromatina (WILSON e ROBERTS 2011).

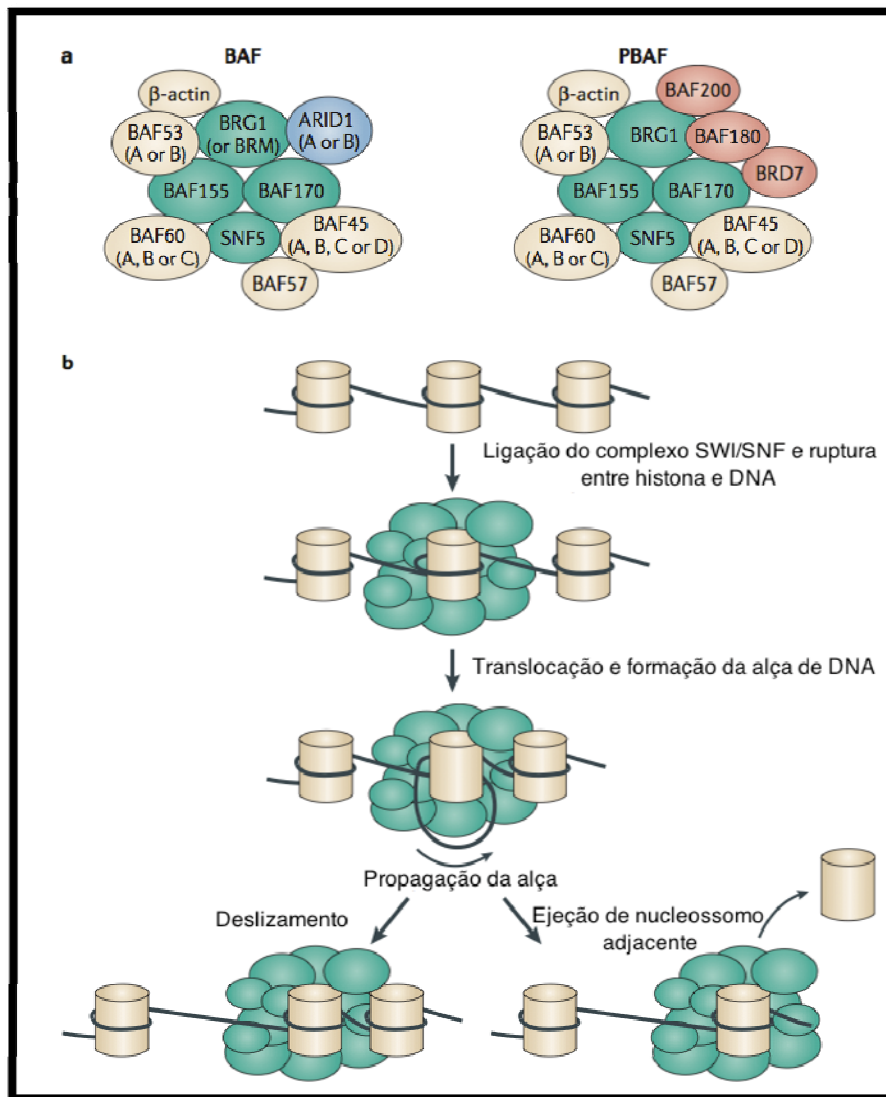
Dessa forma, o SWI / SNF está envolvido basicamente em mecanismos de regulação gênica em múltiplos processos celulares como diferenciação tecidual e carcinogênese (YAMADA et al. 2011; EUSKIRCHEN et al. 2011). Apresenta características de supressão tumoral e mutações em suas subunidades já foram descritas em uma série de neoplasias, como mama e pulmão (SEKINE et al. 2005).

Uma importante via de atuação do SWI / SNF é a regulação inibitória de proteínas do grupo PcG (do inglês, *Polycomb group*), como a EZH2, uma reconhecida metiltransferase de histonas envolvida em mecanismos de metilação de DNA, angiogênese e resistência a apoptose (LU et al. 2010). Estudo prévio alemão descreve a hiperexpressão proteica da EZH2 em carcinoma renal quando comparado a tecido renal não neoplásico (WAGENER et al. 2008).

Além disso, o complexo SWI / SNF tem sido implicado na resposta à hipóxia celular mediada pelo HIF α . Em estudo de 2008, observou-se que o comprometimento do complexo decorrente de mutações em suas subunidades promove resistência à parada do ciclo celular induzida por hipóxia, o que seria consistente com a frequente perda do PBRM1 em CCRCC (KENNETH et al. 2008).

Outros genes envolvidos em mecanismos de iniciação e progressão tumoral cujas expressões também são reguladas pelo complexo SWI / SNF são o MYC, RB (retinoblastoma) e o p16 (WILSON e ROBERTS 2011). Além disso, genes relacionados a processos de adesão celular e metástases como o CD44 também são regulados pelo mesmo complexo (REISMAN et al. 2002).

O complexo SWI / SNF é composto por múltiplas subunidades que podem ser fixas ou variáveis de acordo com o tecido pesquisado. O BAF180 é um componente variável do complexo SWI / SNF – B (ou PBAF). (Figura 3)



Fonte: WILSON e ROBERTS (2011).

Figura 3 - Estrutura molecular do complexo SWI / SNF. a) Complexos SWI / SNF – A (BAF) e SWI / SNF – B (PBAF). b) Mecanismos de remodelação da cromatina. Os estágios do processo de remodelação incluem adesão do SWI / SNF ao DNA, a liberação do complexo DNA-histona, a criação de um laço de DNA que se propaga em todo o nucleossomo e reposicionamento de DNA em relação ao nucleossomo.

Em 2005, estudo analisando linhagens celulares de carcinoma pulmonar avaliou o padrão de expressão de mRNA e da proteína PBRM1 (ou BAF180) através de RT-PCR e *Western Blot* e observaram que ambos se mantinham expressos em níveis semelhantes ao tecido não neoplásico (SEKINE et al. 2005).

Em estudo utilizando 52 amostras de carcinoma de mama, observou-se presença de perda de heterozigosidade ou *LOH* (do inglês, *loss of heterozygosity*) do gene PBRM1 em 48% dos casos. Após expressão induzida do gene em linhagens celulares, os autores demonstram que o PBRM1 mostrou propriedades de gene supressor tumoral através de regulação do p21 (XIA et al. 2008).

Existem descrições de mutações em demais subunidades do complexo SWI / SNF além do PBRM1 que confirmam o papel supressor tumoral do complexo remodelador de cromatina (WILSON e ROBERTS 2011).

Estudo experimental em camundongos conduzido pelo grupo da Harvard Medical School descreve de maneira inédita que a mutação bi-alélica induzida de SNF-5, uma das subunidades do complexo SWI / SNF – A (ou BAF) resultou na formação de tumores rabdóides e linfomas em até 11 semanas de seguimento (ROBERTS et al. 2002). Posteriormente, a presença de mutação foi descrita em 98% de 51 pacientes pediátricos portadores de tumores rabdóides (JACKSON et al. 2009). Em estudo do mesmo ano avaliando a expressão do gene SNF-5 através de FISH e RT-PCR e da sua proteína através de IHQ em tumores rabdóides, os autores descrevem que os tumores apresentando perda da expressão gênica apresentaram também perda da expressão proteica do SNF-5 (KREIGER et al. 2009).

Outro componente do complexo BAF estudado e descrito como potencial supressor tumoral foi o gene ARID1A. Esse gene codifica a proteína BAF250 e foi

estudado em carcinoma de ovário. Estudo inglês recente relata mutações no gene ARID1A e perda de expressão proteica do BAF250 pela IHQ em 46% de 119 carcinomas ovarianos (WIEGAND et al. 2010).

Em carcinoma de pulmão não pequenas células, a taxa de mutação em outro gene componente do complexo BAF, o BRG1 chega a 30%. Além disso, a perda de expressão proteica desta subunidade está associada a pior prognóstico e menores taxas de sobrevida (REISMAN et al. 2003; FUKUOKA et al. 2004).

Estudo pioneiro contendo 300 amostras de CCR em TMA avaliou o papel prognóstico da expressão imuno-histoquímica de PBRM1. Os autores descrevem expressão negativa em 68% em tumores CCRCC. Além disso, observam associação entre a perda de expressão do marcador e alto grau de Fuhrman e estágio clínico avançado. Pacientes com expressão preservada de PBRM1 apresentaram melhores taxas de sobrevida global (PAWLOWSKI et al. 2013).

No mesmo ano, estudo americano avaliou a frequência de mutações em genes moduladores de cromatina em 185 amostras de CCRCC. O gene PBRM1 se mostrou mutado em 29,2% dos casos. Durante análise de subgrupo de 69 tumores menores do que 4,0cm, os tumores com mutação no gene PBRM1 apresentaram risco relativo de 6,44 vezes de doença em estágio pT3a ao invés de estágio pT1a quando comparados a tumores sem mutação no gene ($p < 0,001$). Os autores sugerem influência da perda de PBRM1 na invasão tecidual (HAKIMI et al. 2013a). Posteriormente, o mesmo grupo descreve validação interna e externa de seus achados prévios em 609 pacientes portadores de CCRCC. Apesar de observarem associação entre mutação de PBRM1 e estágio clínico, os autores descrevem ausência de impacto do marcador no desfecho clínico dos doentes, sugerindo que o gene PBRM1 seria importante no

mecanismo de iniciação tumoral e não na progressão do tumor (HAKIMI et al. 2013b).

Também em 2013, KAPUR et al. avaliaram o impacto da mutação nos genes BAP1 e PBRM1 em 472 pacientes portadores de CCRCC. A presença de mutação em BAP1 se mostrou evento de pior prognóstico quando comparada a mutação do gene PBRM1.

2 ARTIGO 1

2.1 IMPACT OF RENAL VEIN INVASION AND FAT INVASION IN PT3A RENAL CELL CARCINOMA

Walter Henriques da Costa, MD 1

Ravendra R. Moniz, MD 1

Isabela Werneck da Cunha, MD, PhD 2

Francisco Paulo Fonseca, MD, PhD 1

Gustavo Cardoso Guimarães, MD, PhD 1

Stênio de Cássio Zequi, MD, PhD 1

1. Urology Division, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil.

2. Pathology Department, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil.

Corresponding author and reprints: Walter Henriques da Costa

e- mail: waltercosta@hotmail.com, tel/fax: 0055112189-5000

BJU Int. 2012 Feb;109(4):544-8. doi: 10.1111/j.1464-410X.2011.10366.x. Epub 2011 Jun 28.

Abstract

Objective: To evaluate the prognostic impact of tumor fat invasion (FI) and renal vein invasion (RVI) in patients with T3a renal cell carcinoma (RCC). **Methods:** Two hundred twenty consecutive patients treated for RCC between 1992 and 2009 were selected. T3a stage cases were selected. A single pathologist reviewed all cases. **Results:** Our cohort included 46 patients with mean follow-up of 28.6 months, of whom 16 (34.6%) died from disease. Patients were initially divided as three groups including 24 (52.1%) of FI only, 11 (23.9%) of RVI only and 11 (23.9%) of both FI and RVI. No significant differences in disease-specific survival (DSS) were noted between FI only and RVI only groups ($p = 0.91$). In univariate analysis DSS was significantly worse in the FI plus RVI group compared to the other groups ($p = 0.02$). When grouped into FI or RVI vs. FI plus RVI, DSS remained significantly lower in the group containing the parameters concurrently ($p=0.009$). Progression-free survival (PFS) also was significantly lower in FI plus RVI group ($p=0.01$). Metastasis, positive lymph nodes and the presence of FI plus RVI remained as isolated predictors of survival. Patients with FI plus RVI presented a higher probability of death from cancer (HR 2.6, $p=0.04$) and disease progression (HR 2.5, $p=0.04$) than those with either of them alone. **Conclusions:** The isolated or concomitant presence of FI and RVI shall be used as one of the criteria for staging in the next edition of the TNM classification, since they have significantly different outcomes.

Keywords: kidney, renal carcinoma, prognosis, oncology

INTRODUCTION

The incidence of renal cell carcinoma (RCC) has increased recently. (1) It is the third most common malignancy of the genitourinary tract and presents as diverse tumours that have distinct and unpredictable evolutions. Improvements in its diagnosis and advances in systemic therapy have had a positive impact on survival rate. (2,3)

TNM staging is the most widely accepted method of describing the anatomical extent of tumours, as it is for RCC. Its early version, published in 2002, was validated in several studies. (4,5,6) Nevertheless, it has been criticized with respect to the ideal cut-off size of localized tumours. (7,8,9) Furthermore, mixed results have been reported in the T3 tumour group. (10) Recently, the Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and American Joint Committee on Cancer (AJCC) developed the seventh edition of the TNM for RCC, valid from January 1, 2010, in which several modifications were made. A recent multicenter study validated this update. (11)

In this update, T2 tumours are divided by diameter into T2a and T2b tumours, adopting a cut-off of 10 cm. Tumours that show renal vein invasion (RVI) or fat invasion (FI) have been reclassified as T3a, and those with extensions into the vena cava above and below the diaphragm have remained pT3c and pT3b, respectively. Tumours with the ipsilateral adrenal gland invasion, initially classified as T3 in the previous edition of the TNM (2002), have been added to the T4 stage, because they are associated with less favourable outcomes. (12,13,14) All other stages have remained unchanged. (15)

T3a tumours exhibit distinct pathological characteristics and effect varied clinical outcomes. The presence of FI, via renal sinus fat invasion (SFI) or perinephric fat invasion (PFI), influences survival rates in patients with RCC. (11) However, there are contradictory results with regard to their prognostic importance. That fact is also observed for tumours with RVI. Although some groups have suggested a significant impact of RVI on clinical outcome, others have reported no prognostic impact of the presence of tumour thrombus. (16)

As mentioned, there are mixed results regarding the real impact of the presence of FI and RVI in RCC patients. However, the TNM staging system used such parameters to group tumours into T3a stage, aggregating a heterogeneous group of tumours with different pathological characteristics. The purpose of this study was to determine the prognostic impact of FI and RVI on survival rates in patients with pT3a RCC.

MATERIALS AND METHODS

Patients

Two hundred twenty consecutive cases of radical nephrectomy or partial nephrectomy for RCC that were performed between 1992 and 2009 were selected from the medical records of AC Camargo Hospital in Sao Paulo, Brazil. Ultimately, 46 patients in the pT3a stage were enrolled. The clinical data were obtained from medical charts. There were 29 men (63%) and 17 (37%) women. Their ages ranged from 25 to 85 years, with an average of 58,3 years. There was metastatic disease at

the initial clinical presentation in 9 (19,5%) patients and lymph node involvement in 8 (17,4%) patients with a mean tumour size of 9,1cm. A single pathologist (IWC), who had no knowledge of the patients' outcomes, reviewed all cases with regard to uniform reclassification and selected the most representative tumour areas. Our internal review board approved the study.

The following variables were included in the data bank: age, gender, ECOG status, smoking, presence of symptoms, time since diagnosis, type of surgery, staging (TNM AJCC/UICC 2009), Fuhman grade, histological subtype, microvascular invasion (MVI), lymph node involvement, presence of tumour necrosis, follow-up period, presence of metastases, and clinical situation at the end of the study.

Statistical Analysis

Analyses were performed using SPSS for Windows, version 17.0 (SPSS®, Chicago, Ill). Fisher's exact test and Pearson chi-square test were performed to compare clinical and pathological features between groups. Differences in variables with a continuous distribution across dichotomous categories were assessed by Mann-Whitney U test. The level of significance was 5%.

Disease-specific survival (DSS) was defined as the interval between the primary surgery and the last follow-up visit or disease-related death. Progression-free survival (PFS) was defined as the interval between the primary surgery and the last follow-up visit and the absence of disease recurrence or progression. To study DSS and PFS, Kaplan-Meier curves were generated. To compare the estimated curves for each category for a given variable, the log-rank test was used. The Cox proportional

hazards model was used to determine the variables that influenced DSS. Due to the large number of covariates, backward-forward stepwise regression was used to select variables that influenced survival periods. The confidence interval was 5%.

RESULTS

Our cohort included 46 patients with a mean postoperative follow-up of 28.6 months (range 3 to 60), of whom 17 (36.9%) died from disease. Patients were initially divided into 3 groups: 24 (52.1%) with FI only, 11 (23.9%) with RVI only, and 11 (23.9%) with both FI and RVI.

There were significant differences among groups (Table 1). Patients in whom both pathologies were observed had higher Fuhrman grades ($p=0.05$) and larger tumours ($p=0.03$) when compared to other groups. No patients in this group had incidentally discovered tumours. Furthermore, when compared to the FI-only group, the presence of MVI, metastatic disease, and lymph node involvement were significantly higher in the FI-plus-RVI group (Table 1).

It was observed that 5-year DSS rates for patients in the FI-only, RVI-only and FI-plus-RVI groups were 75%, 72% and 27%, respectively. There was no significant difference in DSS between the FI-only and RVI-only groups ($p=0.91$). DSS was significantly worse in the FI-plus-RVI group compared to the other groups ($p=0.02$). DSS was lower in the FI-plus-RVI group versus the combined FI-only and RVI-only group ($p=0.009$) (Figure 1). Five-year PFS was also significantly lower in the FI-plus-RVI group compared with the other groups (Figure 2).

By multivariable analysis of clinical and pathological variables for DSS and PFS (Table 2), metastasis at diagnosis, lymph nodes involvement, and concomitant FI and RVI remained isolated predictors of survival. Patients with concomitant FI and RVI had a higher probability of death from cancer (HR 2.6, $p=0.04$) and disease progression (HR 2.5, $p=0.04$) than those with either condition alone.

DISCUSSION

Despite the development and use of nomograms and algorithms to predict overall survival and disease-specific survival, clinical stage remains the most important factor of outcome in patients with RCC. (4,5) Besides, it is able to provide a common language to describe tumour characteristics and a better stratification of the risk of cancer related survival or recurrence. (17) Based on the description of high volume multicentre studies, detailed prognostic information related to anatomy has been discovered and updated regularly. (4,8,11)

TNM is the most widely used classification system of several malignancies. It receives constant updates and undergoes revisions that reflect contemporary observations in the treatment and clinical outcome. (10) In its latest issue, patients with FI and RVI were grouped into T3a stage. (11) Because they are distinct pathologies, they are expected to effect disparate survival rates. Our study confirms the observations of previous studies and contrasts with others.

The prognostic impact of venous invasion is debated. Previous series have suggested lower survival rates for this subcategory of T3 disease, calculating a median survival of 11 to 20 months for metastatic disease. However, for patients

with nonmetastatic disease and no unfavourable pathological findings, median survival varies widely between 38 and 116 months. (16,18,19) Klatte et al. analyzed 321 patients who underwent surgery for RCC with thrombus extension, observing no difference in survival rates regardless of thrombus level. (20) Wagner et al. also evaluated T3 patients with thrombus extension in a multicenter study, noting worse outcomes in patients who developed vena cava thrombus compared with those with tumour thrombus limited to the renal vein. (21)

There was no significant difference in survival between those with SFI and PFI. Thus, both parameters have been merged into FI. Our series confirms findings in which the location of extra renal extension had no prognostic significance. In a cohort of 365 pT3a patients, RCC-specific survival did not differ between patients with PFI, SFI, and concomitant PFI and SFI. (22) Although a previous study demonstrated no significant impact of isolated PFI in T3 stage patients, tumour size remained the most significant prognostic factor in the survival analysis. Based on the previous edition of the staging system (TNM 2002), T1N0M0 stage patients have comparable outcomes with T3N0M0 patients. (23)

The prognostic significance of the presence of SFI has been described. Bonsib et al. (24) implicated renal sinus fat as a possible route of metastatic spread due to the abundance of vascular and lymph vessels in the region. Some groups noted an impact of SFI only by univariate survival analysis (25), and others demonstrated isolated predictive value by multivariate analysis. (26) Kresowik et al. observed lower survival rates in those with concomitant SFI and PFI compared with SFI-only and PFI-only groups. (27)

Patients in the FI-plus-RVI group were associated with larger tumours and higher histological grade, suggesting more aggressive behaviour. Moreover, the association between FI and RVI had a significant impact on survival rates by univariate and multivariate analysis compared with the individual pathologies. These findings are consistent with other studies. Margulis et al. analyzed 419 patients who were treated for pT3a stage RCC, observing poorer survival rates in patients with FI plus RVI compared with patients with either condition alone, suggesting a modification in the TNM staging system. Compared with the 2002 TNM, the classification that they proposed was more effective in predicting survival (28).

Other groups have reported similar findings. (19) A recent European multicenter study validated the latest edition of the 2009 TNM; evaluating 503 cases of T3a stage RCC and noting significantly lower survival rates in patients with concomitant FI and RVI versus those with the individual pathologies. (11)

Our study has some limitations that should be highlighted. This is a single-centre retrospective analysis with a relatively small group of patients, yet our results are similar to previously published series, suggesting that FI and RVI, alone or in combination, can be used as a criterion for staging in the next edition of the TNM classification, because they have significantly different outcomes.

A multicenter, high-volume series must be examined rigorously with regard to pathological to confirm these findings before a change in the current TNM staging system can be proposed.

CONCLUSIONS

In pT3a RCC, the presence of FI plus RVI is associated with a worse prognosis than FI or RVI alone. Therefore, they should not be classified within the same stage, as performed in the current TNM system.

REFERENCES

- 1 Jemal A, Siegel R, Xu J, et al: Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 60: 277-300, 2010.
- 2 Hock LM, Lynch J, Balaji KC: Increasing incidence of all stages of kidney cancer in the last 2 decades in the United States: an analysis of surveillance, epidemiology and end results program data. *J Urol* 167: 57-60, 2002.
- 3 Lam JS, Breda A, Belldegrun AS, et al: Evolving principles of surgical management and prognostic factors for outcome in renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 24: 5565-5575, 2006.
- 4 Ficarra V, Schips L, Guillè F, et al: Multiinstitutional European validation of the 2002 TNM staging system in conventional and papillary localized renal cell carcinoma. *Cancer* 104: 968-974, 2005.
- 5 Frank I, Blute ML, Leibovich BC, et al: Independent validation of the 2002 American Joint Committee on cancer primary tumor classification for renal cell carcinoma using a large, single institution cohort. *J Urol* 173: 1889-1892, 2005.

- 6 Bedke J, Pritsch M, Buse S, et al: Prognostic stratification of localized renal cell carcinoma by tumor size. *J Urol* 180: 62-67, 2008.
- 7 Lau WK, Cheville JC, Blute ML, et al: Prognostic features of pathologic stage T1 renal cell carcinoma after radical nephrectomy. *Urology* 59: 532-537, 2002.
- 8 Elmore JM, Kadesky KT, Koeneman KS, et al: Reassessment of the 1997 TNM classification system for renal cell carcinoma. *Cancer* 98: 2329-2334, 2003.
- 9 Igarashi T, Tobe T, Nakatsu HO, et al: The impact of a 4 cm cutoff point for stratification of T1N0M0 renal cell carcinoma after radical nephrectomy. *J Urol* 165: 1103-1106, 2001.
- 10 Ficarra V, Galfano A, Mancini M, et al: TNM staging system for renal-cell carcinoma: current status and future perspectives. *Lancet Oncol* 8: 554-558, 2007.
- 11 Novara G, Ficarra V, Antonelli A, et al: Validation of the 2009 TNM version in a large multi-institutional cohort of patients treated for renal cell carcinoma: are further improvements needed? *Eur Urol* 58: 588-595, 2010.
- 12 Ficarra V, Galfano A, Guille' F, et al: A new staging system for locally advanced (pT3-4) renal cell carcinoma: a multicenter European study including 2,000 patients. *J Urol* 178: 418-424, 2007.
- 13 Jung SJ, Ro JY, Truong LD, et al: Reappraisal of T3N0/ NxM0 renal cell carcinoma: significance of extent of fat invasion, renal vein invasion, and adrenal invasion. *Hum Pathol* 39: 1689-1694, 2008.

- 14 Fujita T, Iwamura M, Yanagisawa N, et al: Reclassification of the current tumor, node, metastasis staging in pT3 renal cell carcinoma. *Int J Urol* 15: 582–586, 2008.
- 15 Greene FL, Gospodarowicz M, Wittekend C, et al: American Joint Committee on Cancer (AJCC) staging manual. ed 7. Philadelphia, PA: Springer 2009.
- 16 Pouliot F, Shuch B, Larochele JC, et al: Contemporary management of renal tumors with venous thrombus. *J Urol* 184: 833-841, 2010.
- 17 Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun A. Biology of renal cell carcinoma: changing concepts in classification and staging. *Semin Urol Oncol* 19: 72-9, 2001.
- 18 Wagner B, Patard JJ, Mejean A, et al: Prognostic value of renal vein and inferior vena cava involvement in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 55: 452-459, 2009.
- 19 Moinzadeh A and Libertino JA: Prognostic significance of tumor thrombus level in patients with renal cell carcinoma and venous tumor thrombus extension. Is all T3b the same? *J Urol* 171: 598-5601, 2004.
- 20 Klatter T, Pantuck AJ, Riggs SB, et al: Prognostic factors for renal cell carcinoma with tumor thrombus extension. *J Urol* 178: 1189-1195, 2007.
- 21 Wagner B, Patard JJ, Mejean A, et al: Prognostic value of renal vein and inferior vena cava involvement in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 55: 452-9, 2009.
- 22 Margulis V, Tamboli P, Matin SF, et al: Location of extrarenal tumor extension does not impact survival of patients with pT3a renal cell carcinoma. *J Urol* 178: 1878-1882, 2007.

- 23 Gilbert SM, Murphy AM, Katz AE, et al: Reevaluation of TNM staging of renal cortical tumors: recurrence and survival for T1N0M0 and T3aN0M0 tumors are equivalent. *Urology* 68: 287-291, 2006.
- 24 Bonsib SM. The renal sinus is the principal invasive pathway: a prospective study of 100 renal cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 28: 1594-600, 2004.
- 25 Poon SA, Gonzalez JR, Benson MC, et al: Invasion of renal sinus fat is not an independent predictor of survival in pT3a renal cell carcinoma. *BJU Int* 103: 1622-1625, 2009.
- 26 Bertini R, Roscigno M, Freschi M, et al: Renal sinus fat invasion in pT3a clear cell renal cell carcinoma affects outcomes of patients without nodal involvement or distant metastases. *J Urol* 181: 2027-2032, 2009.
- 27 Kresowik TP, Johnson MT, Joudi FN: Combined renal sinus fat and perinephric fat renal cell carcinoma invasion has a worse prognosis than either alone. *J Urol* 184: 48-52, 2010.
- 28 Margulis V, Tamboli P, Matin SF, et al: Redefining pT3 renal cell carcinoma in the modern era: a proposal for a revision of the current TNM primary tumor classification system. *Cancer* 109: 2439-2444, 2007.

Table 1. Pathological groups demographic and pathological characteristics.

	RVI	FI	FI + RVI	p value		
				FI vs. RVI	FI + RVI vs. FI	FI + RVI vs. RVI
Mean age	58.9	54.7	60.5	0.26	0.54	0.10
No. men (%)	6 (54.5)	16 (66.7)	7 (63.6)	0.50	0.57	0.34
No. white (%)	9 (81.8)	22 (91.7)	10 (90.9)	0.66	0.69	0.52
No. incidental (%)	2 (18.1)	7 (29.2)	0 (0)	0.46	0.05	0.21
ECOG PS (1+2) (%)	4 (36.4)	12 (50)	7 (63.6)	0.25	0.22	0.19
Mean tumor size (cm)	7.78	8.75	12.6	0.19	0.001	0.03
No. N+ (%)	3 (27.2)	1 (4.2)	4 (36.4)	0.06	0.02	0.34
No. metastasis (%)	3 (27.2)	2 (8.3)	4 (36.4)	0.10	0.06	0.34
No. high grade (%)	4 (36.4)	9 (39.1)	9 (81.8)	0.62	0.02	0.05
No. necrosis (%)	6 (54.5)	14 (58.3)	8 (72.7)	0.29	0.21	0.43
No. MVI (%)	7 (63.6)	6 (25.0)	9 (81.8)	0.01	0.02	0.45
No. clear cell Ca (%)	9 (81.8)	18 (75.0)	9 (81.8)	0.14	0.31	0.26

Table 2. Multivariate analysis of disease specific survival (DSS) and progression free survival (PFS).

Variable	5-year DSS		5-year PFS	
	HR (95% CI)	p value	HR (95% CI)	p value
ECOG PS				
0	Referent		Referent	
1 + 2	1.219 (0.403 - 3.686)	0.72	0.587 (0.234 - 1.476)	0.25
Metastasis				
No	Referent		Referent	
Yes	3.310 (1.059 - 8.248)	0.04	1.909 (1.279 - 2.961)	0.04
Tumour size				
< 7.0cm	Referent		Referent	
> 7.0cm	1.332 (0.275 - 6.457)	0.72	1.588 (0.432 - 5.831)	0.48
pT3a status				
FI or RVI	Referent		Referent	
FI plus RVI	2.677 (1.066 - 6.852)	0.04	2.538 (1.014 - 6.352)	0.04
N status				
N0	Referent		Referent	
N1 or N2	4.860 (1.741 - 13.583)	0.003	3.251 (1.199 - 8.819)	0.02
Necrosis				
No	Referent		Referent	
Yes	2.809 (0.421 - 4.622)	0.58	2.021 (0.769 - 5.310)	0.15
Fuhrman grade				
1 or 2	Referent		Referent	
3 or 4	1.073 (0.272 - 4.224)	0.92	0.924 (0.418 - 2.045)	0.92
MVI				
No	Referent		Referent	
Yes	1.091 (0.234 - 3.536)	0.89	0.711 (0.247 - 2.049)	0.52

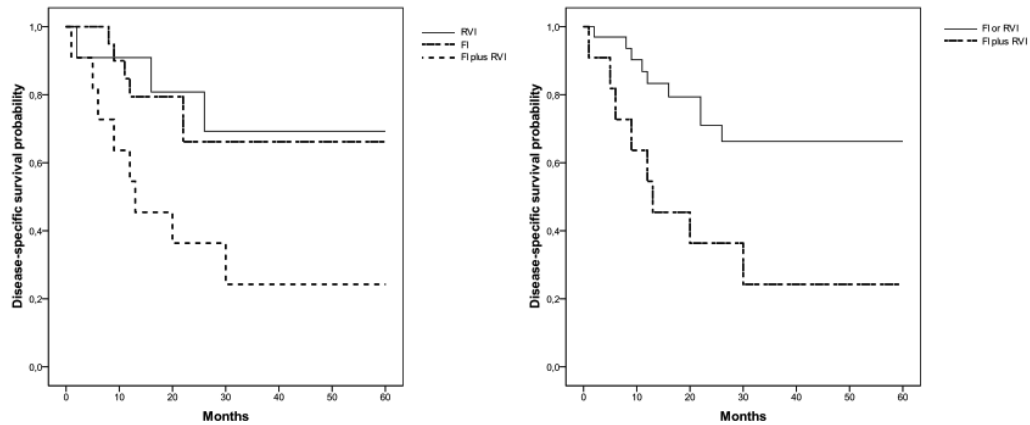


Figure 1. DSS probability within pT3a subcategories. A, Five-year DSS in patients with RVI only, FI only, and concomitant RVI and FI ($p=0.02$). B, Five-year DSS in patients with RVI or FI and concomitant RVI and FI ($p=0.009$).

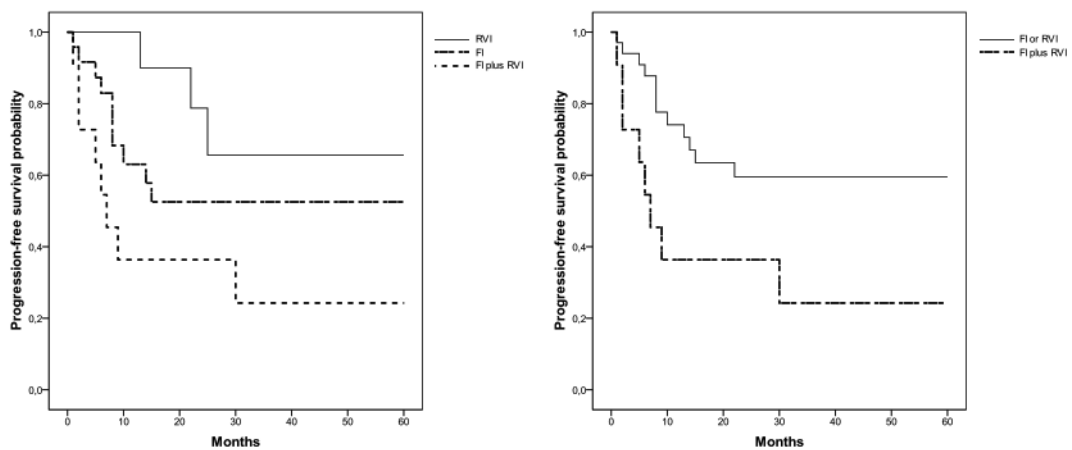


Figure 2. PFS probability within pT3a subcategories. A, Five-year PFS in patients with RVI only, FI only, and concomitant RVI and FI ($p=0.01$). B, Five-year PFS in patients with RVI or FI and concomitant RVI and FI ($p=0.01$).

3 ARTIGO 2

3.1 PBRM1, A SWI/SNF COMPLEX SUBUNIT IS A PROGNOSTIC MARKER IN CLEAR CELL RENAL CELL CARCINOMA

Walter Henriques da Costa, MD 1

Mariana Rezende Alves 2

Felipe Cavalcanti Carneiro, PhD 3

Rafael Malagoli Rocha, PhD 2

Isabela Werneck da Cunha, MD, PhD 2

Dirce Maria Carraro, PhD 3

Stênio de Cássio Zequi, MD, PhD 1

Gustavo Cardoso Guimarães, MD, PhD 1

1. Urology Division, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil.

2. Pathology Department, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil.

3. International Center for Research and Training, A.C. Camargo Cancer Center, São Paulo, Brazil.

Corresponding author and reprints: Walter Henriques da Costa

e-mail: waltercosta@hotmail.com, tel/fax: 0055112189-5000

Artigo enviado para British Journal of Urology International (BJU Int.), submetido em 08.05.2013, solicitada correção pelos revisores e enviada em 23.06.2013. Artigo aceito para publicação em 01.08.2013.

ABSTRACT

Purpose: To analyze the immunohistochemical and mRNA expression of SWI/SNF complex subunit Polybromo-1 (PBRM1) in clear cell renal cell carcinoma (CCRCC) and its impact on clinical outcomes. **Patients and Methods:** Two hundred and thirteen consecutive patients treated surgically for RCC between 1992 and 2009 were selected. A single pathologist reviewed all cases to effect a uniform reclassification and determined the most representative tumor areas for construction of a tissue microarray. In addition, mRNA expression of PBRM1 was analyzed by qRT-PCR.

Results: Of the 112-immunostained CCRCC specimens, 34 (30.4%) were PBRM1-negative, and 78 (69.6%) were PBRM1-positive. The protein expression of PBRM1 was associated with tumor stage ($p<0.001$), clinical stage ($p<0.001$), pN stage ($p=0.035$) and tumor size ($p=0.002$). PBRM1 mRNA expression was associated with clinical stage ($p=0.023$), perinephric fat invasion ($p=0.008$) and lymphovascular invasion ($p=0.042$). PBRM1 significantly influenced tumor recurrence and tumor related death. Disease specific survival (DSS) rates for patients whose specimens showed positive and negative PBRM1 expression was 89.7% and 70.6%, respectively ($p=0.017$). Recurrence free survival (RFS) rates in patients with positive and negative expression of PBRM1 were 87.3% and 66.7%, respectively ($p=0.048$).

Conclusions: PBRM1-negative expression significantly impacted survival rates of patients with CCRCC in univariate analysis. We encourage PBRM1 study by other groups in order to validate our findings and confirm its possible role as a useful marker in the management of patients with CCRCC.

Keywords: kidney; renal carcinoma; prognosis; molecular marker; PBRM1.

INTRODUCTION

Renal cell carcinoma (RCC) accounts for 90% of renal neoplasms, which correspond to 3% of all adult malignancies (1) RCC is increasing at a rate of about 2% per year. (2) Clear cell carcinoma (CCRCC) is the most common subtype of RCC, accounting for 75% of the total In most familial syndromes and also in sporadic tumors it is associated with loss of von Hippel-Lindau (VHL) gene function. (3) There is evidence, however, that mutation of the VHL gene alone is not sufficient for the development of CCRCC, which suggests the need of one or more additional genetic events in the development of the disease. (4).

Genes known to be important in various malignancies and frequently mutated in other epithelial tumours, such as RAS, BRAF, TP53, RB, PTEN, EGFR and ERBB2, are not commonly observed and play limited prognostic role in CCRCC. (5) However, a recent study described the presence of mutations in the gene PBRM1 (chromosome 3p21) in 41% of cases of CCRCC. It corresponds to the most frequently mutated gene found in CCRCC in addition to VHL. The study reports that 13/14 patients with CCRCC with no VHL mutations had mutations in PBRM1, confirming its importance in the development of the disease. (6)

BRM1 encodes BAF180 protein which is a subunit of the ATP-dependent complex of chromatin remodelling called SWI / SNF. Such complex plays a role in the mobilization of nucleosomes by promoting insertion or removal of histones from the chromatin. (7) Thus, the SWI / SNF is involved primarily in mechanisms of gene regulation in multiple cellular processes such as tissue differentiation and

carcinogenesis. It presents characteristics of a tumour suppressor and mutations in its subunits have been described in a number of cancers such as breast and lung. (7,8)

Despite being a gene frequently altered in patients with CCRCC there is scarce information regarding its possible prognostic role. Therefore, we evaluated the gene and protein expression of PBRM1 in CCRCC investigating its association with pathologic features and its impact on clinical outcomes.

METHODS

Patients

Two hundred thirteen consecutive cases involving radical or partial nephrectomy for RCC between 1992 and 2009 were selected from the medical records of our institution. Abdominal computerized tomography (CT) was used as the standard imaging method for diagnostic confirmation. In suspected cases of systemic metastases, chest CT and bone scans were performed. Patients were evaluated quarterly during the first 2 years and every 6 months thereafter. A single pathologist (IWC) reviewed all of the cases in terms of uniform reclassification and determined the selection of the most representative tumor areas for the construction of the tissue microarray (TMA). For the purpose of this study, only cases of CCRCC were selected, resulting in 112 patients. Our internal review board approved the present study. Samples were provided by our institution biobank with patient's informed consent.

The following variables were included in the data bank: age, gender, ECOG

status, smoking, time since diagnosis, type of surgery, staging (TNM AJCC/UICC 2010), Furhman grade, histological subtype (WHO Classification/2004), lymphovascular invasion (LVI), perinephric fat invasion, lymph node involvement, presence of tumor necrosis, presence of metastases and analysis of PBRM1 mRNA expression and immunohistochemical expression patterns. During radical nephrectomy, retroperitoneal lymphadenectomy was restricted to the renal hilum and was performed for staging purposes only.

Tissue microarray (TMA) construction

Two cylinders measuring 1 mm in diameter taken from different parts of the tumor were used to build a TMA. Two cylinders from previously tested tumors, one showing positive expression of PBRM1 and one negative, were also included as internal controls for the TMA. Sequential 4 μ m sections were obtained and stained for hematoxylin and eosin to confirm the diagnosis, and used for the immunohistochemical study. In order to minimize the possible impact of tumor heterogeneity in the results of immunohistochemical analysis, we chose to randomly select twenty cases that were analyzed in six different areas of the tumor at least 5mm apart from each other. For the selection of cases, the electronic tool Random Integer Generator® (www.random.org) was used. Besides, a further analysis in ten additional whole mount slides (seven tumoral tissue specimens and three non-neoplastic tissue specimens) was also performed.

Immunohistochemistry

The sections were mounted on positively charged glass slides and dried for 30 min at 37°C. The sections were deparaffinized in xylene and rehydrated via a series of graded alcohols. Sections were then incubated with a primary rabbit polyclonal antibody against BAF180 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) at a 1:25 dilution for 60 min. All IHC procedures were performed automatically in the auto-stainer Link 48, DAKO®, using the Flex Plus visualization system according to the supplier's specifications. For control cases of immunohistochemical BAF180 expression, 37 specimens of non-neoplastic renal cortex at least 2.0 cm distant from the tumor boundary obtained from patients who underwent radical nephrectomy were included.

The same pathologist, blinded to the outcome of the cases, semi-quantitatively scored the nuclear staining intensity of PBRM1 in all specimens. For immunohistochemical score assessment, fields were chosen at random at x400 magnification. For better interpretation, categories “negative-” and “positive-” expression groups were used based on the absence or presence of PBRM1 nuclear tissue staining.

Real time-PCR (qRT-PCR)

Forty-four patients had frozen tumoral tissue available in the tumor bank of our institution for qRT-PCR analysis. Total RNA was extracted from surgically removed tumors and 10 adjacent noncancerous frozen tissues using RNeasy Mini Kit

(QIAGEN, Austin, TX). First strand cDNA was treated with TURBO DNA-free™ Kit (LIFE TECHNOLOGIES; Carlsbad, CA) to remove contaminating DNA from RNA preparations. Reverse transcription was performed using a 18-oligo(dT) primer and Superscript III reverse transcriptase Invitrogen, (Carlsbad,CA) using total RNA for 2 h at 42 °C. Primer sequence for PBRM1 was NCBI (GenBank) Reference Sequence NM_018313.4 (Applied Biosystems). Quantitative RT-PCR was performed by using Applied Biosystems 7500HT Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems). As a control, we used a pool of normal kidney tissue and β -actin was used to normalize the reactions. The values of CT in the corresponding reference group were accepted as normal. The relative comparative quantization method was applied to determine the gene expression levels. Five samples of normal kidney parenchyma were used for comparison of gene expression in non neoplastic tissue and tumor tissue.

Statistical analysis

Analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences software package, version 17.0, for Windows (SPSS, Chicago, Ill). To verify the association between PBRM1 immunohistochemical expression and the other variables, Pearson chi-square tests were performed. Fisher's exact test was applied for those cases in which the expected frequencies were less than 5. Mann–Whitney test and Kruskal–Wallis test were used to compare means among different expression levels of PBRM1 groups.

Disease-specific survival (DSS) was defined as the interval between primary surgery and the last follow-up visit or disease-related death. Recurrence-free survival (RFS) was defined as the interval between primary surgery and the last follow-up visit without disease or evidence of recurrence. To analyze RFS, patients with metastatic disease were excluded. To study DSS and RFS, Kaplan– Meier curves and the log rank test were used. Cox proportional hazards model was used to determine which variables influenced survival. The confidence interval was 5%.

RESULTS

A total of 80 (71.4%) patients had radical nephrectomy, and 32 (28.6%) were treated with nephron-sparing procedures. Their ages ranged from 27 to 85 years, with an average of 55.5 years. The median postoperative follow-up period was 40.8 months. There was metastatic disease at the initial clinical presentation in 14 (12.5%) patients; 53/112 (47.3%) presented with T1 stage disease. The entire cohort mean tumor size was 6.8 cm. At the end of the study, 18 (16.1%) patients died of RCC (Table 1).

PBRM1 positive nuclear staining was observed in all non-neoplastic tissue sections (mainly in normal proximal tubules). In the evaluation of the 112-immunostained CCRCC specimens, 34 (30.4%) showed negative expression and 78 (69.6%) positive expression of PBRM1. Although also observed in the cytoplasm, the expression pattern was shown predominantly in the cell nucleus. An even distribution of the staining instead of the presence of hot spots was observed. When analyzing six tumor cores of each of the 20 randomly selected cases, we observed a

homogeneous PBRM1 immunohistochemical staining pattern. In order to confirm our findings observed in the TMA slide, we performed a further analysis in ten additional whole mount slides (seven tumoral tissue specimens and three non-neoplastic tissue specimens), which confirmed PBRM1 expression pattern. Additionally, when divided into two groups according to storage time (up to 10 years and above 10 years), we noted no significant impact on staining intensity ($P = 0.81$). (Fig. 1)

There was an association between protein PBRM1 expression and clinical stage ($P < 0.001$), pT stage ($p < 0.001$), tumor size ($P = 0.002$), pN stage ($P = 0.035$), perinephric fat invasion ($P = 0.025$) and LVI ($P = 0.018$) (Table 1).

Gene expression levels ranged between 0.083 and 39.130, with a median value of 2.297 and $SD=8.111$. There was no significant difference of PBRM1 gene expression between non-tumoral tissue and RCC ($P = 0.741$). qRT-PCR analysis of PBRM1 in RCC specimens confirmed the immunohistochemical findings. Association between PBRM1 gene expression and clinical stage ($P = 0.023$), perinephric fat invasion ($P = 0.008$) and LVI ($P = 0.042$) was also observed.

The 5-year RFS and DSS rates were 81.6 and 83.9%, respectively. Classical parameters such as metastasis at presentation, lymph node involvement, clinical stage, tumor size and Fuhrman grade were associated with survival rates in univariate analysis. DSS rates in patients with positive and negative expression of PBRM1 were 89.7 and 70.6%, respectively ($P = 0.017$). RFS rates in patients with positive and negative expression of PBRM1 were 87.3 and 66.7%, respectively ($P = 0.048$) (Fig. 2).

Clinical stage, necrosis, Fuhrman grade, LVI and metastasis at presentation remained independent predictors of DSS and RFS in the multivariate analysis. Immunohistochemical low-expression levels of PBRM1 did not remain as independent predictors of DSS nor RFS (Table 2).

DISCUSSION

Our study found that established clinical and pathological parameters are the most important prognostic factors in the management of patients with CCRCC. (9) Some authors have incorporated molecular markers to predictive models in an attempt to improve their accuracy. (10) However, we still lack markers that significantly impact clinical outcomes and might be used in clinical practice.

The importance of epigenetics in gene expression as well as in tumorigenesis and tumor progression is well recognized. Two distinct classes of complexes regulate chromatin structure: those that covalently modify histone tails and those that remodel nucleosomes in an ATP-dependent manner. Together, these classes dynamically regulate the structure of chromatin. (11) As a component of SWI/SNF complex and because of a significant proportion of CCRCC tumors has mutated PBRM1, it may be an interesting biomarker of the disease. (5,6)

PBRM1 activity regulates pathways associated with chromosomal instability and cellular proliferation. In breast cancer, it was shown to be a critical regulator of p21 (12). There is also evidence that PBRM1 is implicated in regulating TP53-mediated replicative senescence. (13) The only functional study using siRNA-mediated PBRM1 knock-down in vitro resulted in increased colony formation, cell proliferation and migration in CCRCC cell lines; suggesting a tumor suppressor role

for PBRM1. (6) A recent systematic review described SWI/SNF component genes mutations in 19% of human tumors (including CCRCC) compared with 26% mutation rate of TP53 gene. These authors found that 38.8% of SWI/SNF gene mutations lead to a functional consequence, a significantly higher proportion than observed on the complete exome analysis, which confirms their importance as driver alterations. (14)

Loss of protein expression of PBRM1 has recently been associated with tumor progression in CCRCC. (15). However, there is evidence that the genetic loss of PBRM1 possibly through a ubiquitous mutation, might be an early event in CCRCC tumorigenesis, which theoretically is present in all tumor cells. (14,16) It is possible that a second mutation at the remaining allele results in a complete loss of PBRM1 expression, which might contribute in a decisive way to tumor development. (14) Such ubiquitous allelic imbalance events were also seen on other chromosome 3p genes such as VHL and histone modifying genes SETD2 and JARID1C. (5,16) Therefore, these genes become interesting candidate biomarkers and their signaling pathways potential therapeutic targets. It is curious to note that in our study, 30.4% of patients had negative immunohistochemical expression. This rate is very close to PBRM1 gene mutation rates observed in previous reports. (6,17)

Our study confirmed the role of PBRM1 as a possible biomarker in CCRCC. Its genetic and protein expression were associated with important prognostic parameters such as clinical stage, tumor size and lymphnode involvement. Such findings confirm previous studies that describe the loss of PBRM1 expression as a poor prognostic event. (15,17) We observed that 92.5% of pT1 tumors were PBRM1-positive, while only half of tumors with fat invasion or renal vein invasion

(pT3a) expressed PBRM1. Other groups have reported similar findings in <4.0cm CCRCC tumors. (15,17) In addition, 54.5% of patients given a radical nephrectomy with pN+ disease were PBRM1-negative. Possible molecular mechanisms that might explain such an aggressive phenotype in PBRM1-negative tumors are related to chromosomal instability, cytoskeleton malfunction and deregulation of cellular motility, which may contribute to invasion and metastasis. (7) If confirmed, such findings might have the potential to influence clinical decisions such as the inclusion of patients in active surveillance protocols.

PBRM1 expression status significantly impacted survival rates in univariate analysis. However it did not remain as an independent predictor of either RFS or DSS. We believe that, in part, our relatively small series and the low number of events might have contributed to such findings. Other classical prognostic factors such as ECOG status and necrosis did not remain as independent predictors of survival. There is only one study that confirmed PBRM1 expression pattern as an independent predictor of survival. (15) However, in this study the authors analyzed tumors with different histological subtypes (including papillary and chromophobe tumors) and did not include N status or clinical stage in the multivariate analysis. We believe that the missing data might have lead to an analysis bias, because at least in our group we observed a significant association between PBRM1-negative tumors and pN+ disease. Interestingly, Kapur et al. described better survival rates for patients with PBRM1-mutated tumours when compared to BAP1-mutated tumours. However, there is growing evidence that although less frequent, mutation on BAP1 is a poor prognosis event irrespective of PBRM1 status. (18,19,20)

Significant genetic heterogeneity has been reported in primary CCRCC and it is a major limitation of studies involving immunohistochemical analysis with TMA since it is possible that different staining patterns are observed in other parts of the tumour. (16) In our study, however, we conducted a broader analysis with six samples of tumor tissue from twenty of our patients that showed homogeneous staining. We also confirmed that the expression pattern of PBRM1 was homogeneous in ten additional whole tissue slides. There is evidence that in this situation, immunohistochemical analysis with TMA is reliable. (21,22,23) Our study has other limitations that should be mentioned. This is a single-center retrospective analysis. The immunohistochemical procedure itself may have had problems posed by inadequate technique of fixation in formalin material. However, our study is the first one to address the prognostic importance of PBRM1 mRNA expression, in CCRCC tumors which was very similar to the protein expression found in our immunohistochemical studies

It is known that molecular signatures are able to distinguish specific subtypes of CCRCC with different clinical behaviors. (20) In our series, PBRM1 was associated with major prognostic factors in renal cancer and significantly influenced tumor recurrence and tumor related death. We encourage PBRM1 studies by other groups in order to validate our findings and confirm the possible role of PBRM1 as a useful marker in the management of patients with CCRCC.

REFERENCES

- 1- Ljungberg B, Campbell SC, Choi HY, et al. The epidemiology of renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2011; 60:615-21.
- 2- Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer* 2010; 46: 765–81.
- 3- Rosner I, Bratslavsky G, Pinto PA, Linehan WM. The clinical implications of the genetics of renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 2009; 27:131-6.
- 4- Mandriota SJ, Turner KJ, Davies DR, et al. HIF activation identifies early lesions in VHL kidneys: evidence for site-specific tumor suppressor function in the nephron. *Cancer Cell* 2002;1: 459-68.
- 5- Dalglish GL, Furge K, Greenman C, et al. Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. *Nature* 2010; 463:360-3.
- 6- Varela I, Tarpey P, Raine K, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma. *Nature* 2011; 469:539-42.
- 7- Wilson BG, Roberts CW. SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. *Nat Rev Cancer* 2011; 11:481-92.
- 8- Sekine I, Sato M, Sunaga N, et al. The 3p21 candidate tumor suppressor gene BAF180 is normally expressed in human lung cancer. *Oncogene* 2005; 24:2735-8.
- 9- Volpe A, Patard JJ. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *World J Urol* 2010; 28: 319–327.

- 10- Klatte T, Seligson DB, LaRochelle J, et al. Molecular signatures of localized clear cell renal cell carcinoma to predict disease-free survival after nephrectomy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18:894-900.
- 11- Chi P, Allis CD, Wang GG. Covalent histone modifications--miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2010;10: 457-69.
- 12- Xia W, Nagase S, Montia AG, et al. BAF180 is a critical regulator of p21 induction and a tumor suppressor mutated in breast cancer. *Cancer Res* 2008; 68:1667-74.
- 13- Burrows AE, Smogorzewska A, Elledge SJ. Polybromo-associated BRG1-associated factor components BRD7 and BAF180 are critical regulators of p53 required for induction of replicative senescence. *Proc Natl Acad Sci* 2010; 107: 14280–14285.
- 14- Shain AH, Pollack JR (2013) The Spectrum of SWI/SNF Mutations, Ubiquitous in Human Cancers. *PLoS ONE* 8(1): e55119. doi:10.1371/journal.pone.0055119.
- 15- Pawłowski, R., Mühl, S. M., Sulser, T., Krek, W., Moch, H., & Schraml, P. Loss of PBRM1 expression is associated with renal cell carcinoma progression. *International Journal of Cancer*. 2012; 132:11–17.
- 16- Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 2012; 366: 883–92.
- 17- Hakimi, A. A., Chen, Y.-B., Wren, J., Gonen, M., Abdel-Wahab, O., Heguy, A., et al. Clinical and Pathologic Impact of Select Chromatin-modulating Tumor Suppressors in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *European Urology*, 63(5), 848–854.

- 18- Kapur P, Peña-Llopis S, Christie A, et al. Effects on survival of BAP1 and PBRM1 mutations in sporadic clear-cell renal-cell carcinoma: a retrospective analysis with independent validation. *Lancet Oncology*, 14 (2013) 159-167.
- 19- Hakimi AA, Ostrovnaya I, Reva BA, Schultz N, Chen YB, Gonen M, Liu H, Takeda S, Voss MH, Tickoo SK, Reuter VE, Russo P, Cheng EH, Sander C, Motzer RJ, Hsieh JJ. Adverse Outcomes in Clear Cell Renal Cell Carcinoma with Mutations of 3p21 Epigenetic Regulators BAP1 and SETD2: a Report by MSKCC and the KIRC TCGA Research Network. *Clin Cancer Res*. 2013 Apr 25. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23620406.
- 20- A R Brannon, A Reddy, M Seiler, et al. Molecular Stratification of Clear Cell Renal Cell Carcinoma by Consensus Clustering Reveals Distinct Subtypes and Survival Patterns. *Genes Cancer* 2010; 1: 152-63.
- 21- Drev P, Grazio SF, Bracko M. Tissue microarrays for routine diagnostic assessment of HER2 status in breast carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2008;16:179–84.
- 22- Camp RL, Neumeister V, Rimm DL. A decade of tissue microarrays: progress in the discovery and validation of cancer biomarkers. *J Clin Oncol*. 2008 Dec 1;26(34):5630-7. doi: 10.1200/JCO.2008.17.3567. Epub 2008 Oct 20. Review. PubMed PMID: 18936473.
- 23- Torhorst J, Bucher C, Kononen J, et al: Tissue microarrays for rapid linking of molecular changes to clinical endpoints. *Am J Pathol* 159:2249-2256, 2001.

Table 1. Patients and pathological characteristics and the association between different variables and PBRM1 protein and gene expression.

Variable	Negative expression n (%)	Positive expression n (%)	p value	PBRM1 RT-PCR	p value		
Gender							
Male	24 (70.6)	42 (53.8)	0.143	4.875	0.346		
Female	10 (29.4)	36 (46.2)		6.048			
Smoking							
No	19 (55.9)	55 (70.5)	0.192	6.077	0.646		
Yes	15 (44.1)	23 (29.5)		3.627			
ECOG status							
0	21 (61.8)	47 (60.3)	0.838	4.157	0.399		
1+2	13 (38.2)	31 (39.7)		6.360			
Incidental tumor							
Yes	9 (26.5)	45 (57.7)	0.004	7.361	0.234		
No	25 (73.5)	33 (42.3)		3.079			
Clinical Stage							
I or II	13 (38.2)	60 (76.9)	<0.001	6.828	0.023		
III or IV	21 (61.8)	18 (23.1)		3.917			
pT Stage							
pT1a	2 (5.9)	20 (25.6)	<0.001	8.250	0.286		
pT1b	2 (5.9)	29 (37.2)		5.739			
pT2a	7 (20.6)	7 (9.0)		9.071			
pT2b	3 (8.8)	5 (6.4)		5.525			
pT3a	14 (41.2)	14 (17.9)		3.130			
pT3b	1 (2.9)	0 (0)		NA			
pT4	5 (14.7)	3 (3.8)		1.559			
Tumor size (cm)	8.79	6.02		0.002		NA	NA
pN Stage							
pN0	13 (68.4)	43 (89.6)	0.035	5.590	0.288		
pN1 or N2	6 (31.6)	5 (10.4)		1.407			
Metastasis							
No	27 (79.4)	71 (91.0)	0.120	5.649	0.980		
Yes	7 (20.6)	7 (9.0)		4.214			
Fuhrman grade							
Low grade	21 (61.8)	54 (70.1)	0.510	4.716	0.552		
High grade	13 (38.2)	23 (29.9)		4.893			
Perinephric fat invasion							
No	22 (64.7)	66 (84.6)	0.025	5.706	0.008		
Yes	12 (35.3)	12 (15.4)		0.456			
Renal vein invasion							
No	26 (76.5)	70 (89.7)	0.081	5.590	0.223		
Yes	8 (23.5)	8 (10.3)		3.276			
LVI							
No	27 (79.4)	74 (94.9)	0.018	6.027	0.042		
Yes	7 (20.6)	4 (5.1)		1.484			
Necrosis							
No	14 (41.2)	47 (60.3)	0.100	5.061	0.464		
Yes	20 (58.8)	31 (39.7)		5.721			

Table 2. Cox regression analysis of DSS and RFS.

Feature	5-year RFS				5-year DSS			
	Univariate	Multivariate			Univariate	Multivariate		
	p value	HR	95% CI	p value	p value	HR	95% CI	p value
Clinical Stage (III/IV vs. I/II)	<0.001	1.046	0.084-13.092	0.972	<0.001	8.737	1.708-44.699	0.009
Incidental tumor (No vs. Yes)	0.137	1.453	0.799-3243	0.230	<0.001	6.156	1.143-33.166	0.034
Fuhrman grade (III/IV vs. I/II)	0.007	1.840	1.046-7.363	0.017	<0.001	5.190	1.392-19.350	0.014
LVI	0.006	4.752	1.440-15.679	0.011	<0.001	17.939	2.664-25.792	0.003
Necrosis	0.855	1.432	0.788-1.945	0.614	<0.001	3.063	0.674-13.908	0.147
Metastasis	NA	NA	NA	NA	<0.001	6.762	2.264-20.200	0.001
ECOG PS (1/2 vs. 0)	0.615	0.765	0.601-2.477	0.443	<0.001	1.287	0.254-4.936	0.882
Fat invasion	<0.001	11.752	3.862-35.761	<0.001	<0.001	0.622	0.168-2.312	0.479
PBRM1 (Negative vs. Positive)	0.048	1.445	0.399-5.229	0.575	0.017	0.857	0.261-2.816	0.799

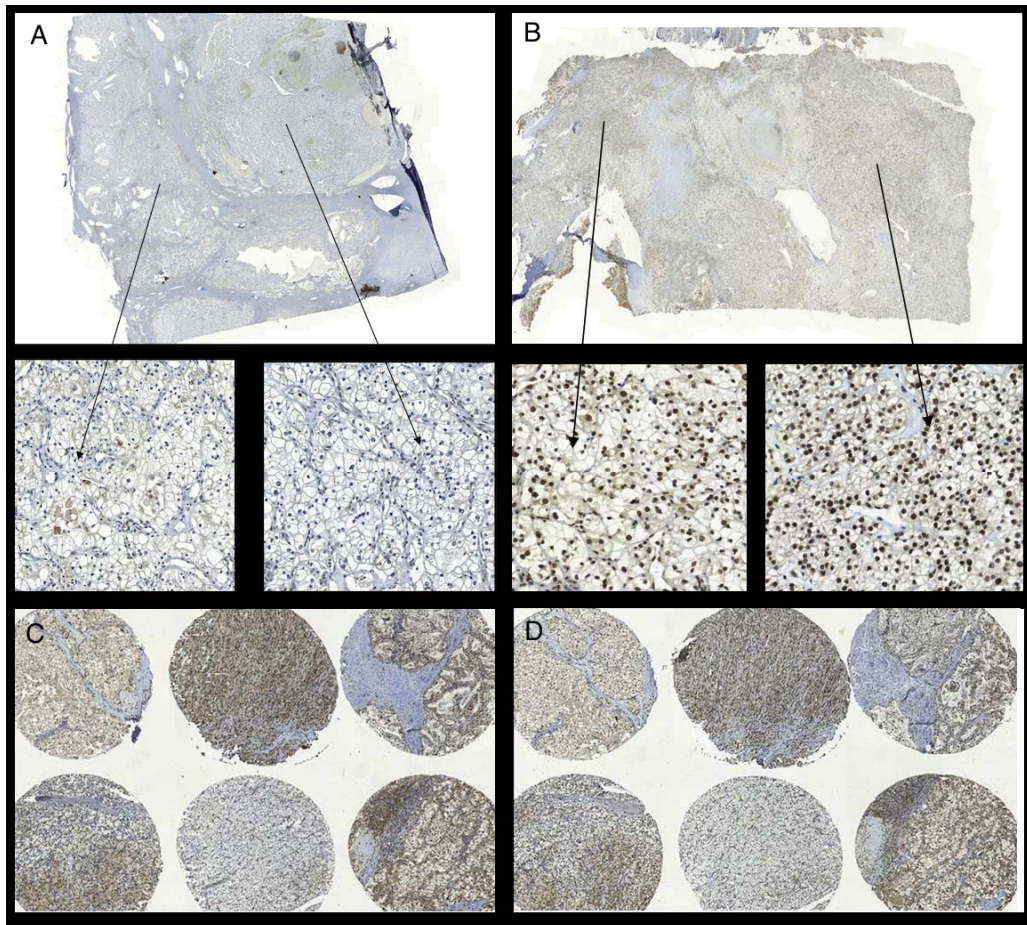


Figure 1: Photomicrographs of immunohistochemical expression of PBRM1. **A.** Negative expression of PBRM1 in whole mount slide. **B.** Positive expression of PBRM1 in whole mount slide. **C and D.** Two different TMA slides 5 mm distant from each other showing similar expression of PBRM1.

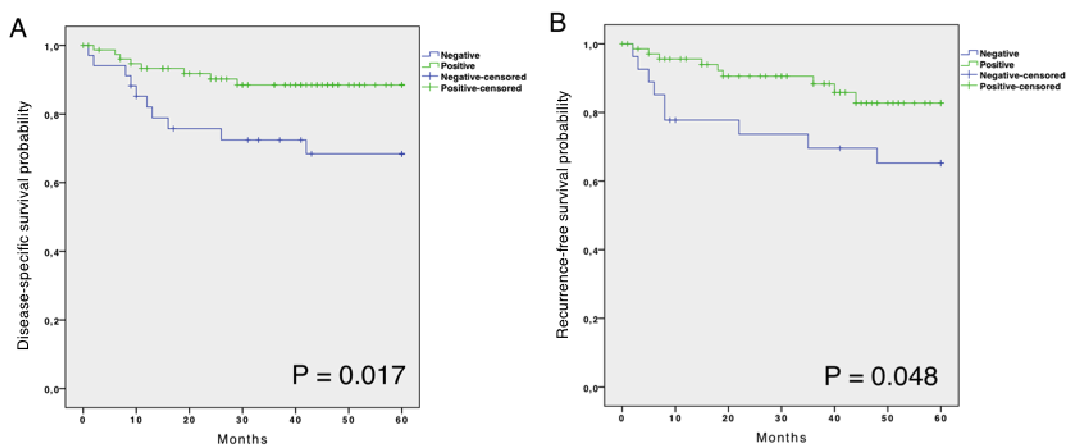


Figure 2. Survival analysis based on PBRM1 expression. **A** Disease-specific survival (DSS) with PBRM1 grouped into positive- versus negative-expression levels. **B** Recurrence-free survival (RFS) with PBRM1 grouped into positive- versus negative-expression levels.

4 COMENTÁRIOS

Conforme exposto, o termo CCR se refere a um conjunto de tumores de comportamento biológico, resposta terapêutica e desfechos clínicos heterogêneos (TELOKEN et al. 2009; ALGABA et al. 2011). Apesar da utilização cada vez mais rotineira de nomogramas e ferramentas que auxiliem na predição da evolução dos doentes, ainda se trata de neoplasia muitas vezes de comportamento incerto (PATARD et al. 2004; KARAKIEWICZ et al. 2007).

Dessa forma, a pesquisa e identificação de potenciais fatores prognósticos da doença se tornam de suma importância (JUNKER et al. 2013). Nossos dois estudos se somam a diversos trabalhos no sentido de adicionar conhecimento a essa área da oncologia.

A invasão da gordura perirrenal e da veia renal pela neoplasia são reconhecidamente fatores de mau prognóstico independentemente de outras características do tumor como o diâmetro tumoral, por exemplo (BERTINI et al. 2009; POULIOT et al. 2010). Devido justamente a seu comportamento mais agressivo, essas lesões encaixam-se no estágio T3 das classificações do TNM de 2002 e 2009 (Anexos 3 e 5). Apesar dos esforços durante a última atualização do TNM, a capacidade preditiva de SCE do sistema de classificação apresentou melhora pouco expressiva quando comparada à versão de 2002 (KIM et al. 2011).

Somado a estudos de outros grupos (NOVARA et al. 2010; KIM et al. 2011), nosso estudo sugere que o critério utilizado para a categoria T3a merece revisão na próxima atualização do TNM. A presença concomitante de invasão de gordura

perirrenal e veia renal confere maior risco de óbito específico e progressão clínica aos pacientes quando comparada a presença isolada de cada um dos parâmetros.

Apesar de todos os espécimes cirúrgicos de nossos pacientes terem sido submetidos a revisão anatomopatológica criteriosa, é importante destacarmos as limitações de nossos achados. Não se pode desprezar a possibilidade de perda de informações referentes a orientação espacial do tumor, seus reais limites e eventual presença de invasão neoplásica da gordura perirrenal durante revisão retrospectiva dos casos. Esse fato pode ter influenciado nossos resultados. Acreditamos que, apesar das limitações de nosso estudo, contribuímos para a discussão e contínua melhoria do sistema de classificação TNM.

A procura por marcadores moleculares que auxiliem no seguimento e tratamento de pacientes portadores de CCR é contínua. Na prática, poucos são utilizados de maneira sistemática devido, principalmente, à falta de validação prospectiva de seus resultados em grandes coortes (JUNCKER et al. 2012). Entretanto, com o advento dos sequenciadores de segunda geração iniciou-se uma nova era na pesquisa de marcadores moleculares. Passou-se a se identificar de maneira mais robusta alterações genéticas presentes em tecidos neoplásicos e também alterações germinativas como mutações e SNPs, respectivamente. (VASUDEV et al. 2012).

O gene PBRM1 é relativamente novo, frequentemente mutado e pouco estudado em CCR. E justamente isso nos estimulou a buscar um melhor entendimento de sua importância prognóstica na doença. Nossos achados corroboram seu potencial papel prognóstico. Em especial nos casos de tumores localizados de diâmetro até 4,0cm de diâmetro (cT1a), os graus de expressão gênica e protéica do

PBRM1 podem ser ferramentas adicionais na predição de estágio patológico avançado (pT3). Seu uso em biópsias renais pode auxiliar na conduta terapêutica (observação vigilante vs. tratamento ativo).

Obviamente, o papel do nosso estudo é levantar hipóteses e não determinar condutas clínicas. Nossos achados merecem e devem obrigatoriamente ser validados em caráter prospectivo antes de sua eventual recomendação na prática.

Outro ponto que deve ser reiterado são as limitações das técnicas empregadas em nosso estudo. No que se refere a análise IHQ podemos citar a perda da antigenicidade do material ocorrida durante o período gasto entre o corte dos blocos de parafina e o momento de realização da reação. Problemas ocorridos por técnica inadequada de fixação do material no formol também devem ser levados em consideração. Durante o preparo das lâminas, temperaturas inadequadas, excesso de adesivos, enxague insuficiente do tampão podem causar prejuízo a reação. As condições de realização do ensaio e dos reagentes empregados como as características do clone do anticorpo empregado, a luminosidade, a temperatura e os procedimentos de realce da antigenicidade podem repercutir no resultado. E, finalmente, durante a interpretação, a experiência e motivação do examinador e a celularidade podem afetar a positividade. O método de contagem e o tipo de microscópio são alguns fatores a serem considerados. No que se refere ao qRT-PCR, sabe-se que a molécula de RNA é extremamente lábil quando comparada ao DNA e esse fato pode interferir na reação. A conversão de RNA em cDNA é uma reação sujeita a extrema variabilidade. Tentou-se minimizar esses problemas utilizando-se de análise conjunta de expressão gênica e proteica do PBRM1 seguindo protocolos previamente descritos na metodologia do artigo 2.

Do ponto de vista biológico, acreditamos que a perda de expressão tecidual do PBRM1 pode ser evento importante durante a tumorigênese. O complexo SWI/SNF além de atuar como remodelador de cromatina, regula vias de sinalização importantes na carcinogênese do CCRCC como resposta à hipóxia celular mediada pelo HIF α (KENNETH et al. 2008). É possível que na presença de mutação no gene VHL (presente na maioria dos tumores CCRCC), a presença adicional de perda do gene PBRM1 leve a uma vantagem adaptativa do tumor a um ambiente de hipóxia celular. Outro ponto de discussão se refere a pequena parcela de tumores CCRCC que apresentam o gene VHL intacto. Nesse grupo de pacientes, sabe-se que a mutação no gene PBRM1 é frequente (VARELA et al. 2011). Existe pouca evidência se, na prática, esses tumores apresentam um comportamento distinto do da maioria dos tumores CCRCC. Além disso, será preciso definir se esses tumores podem de fato ser enquadrados na mesma classificação histológica já que, aparentemente decorrem de alterações genéticas distintas. Essa hipótese poderá ser melhor avaliada em análise conjunta de expressão tecidual de ambos os genes.

Tipicamente, um alelo de um gene supressor de tumor sofre uma mutação focal enquanto o outro é perdido como parte de uma grande perda cromossômica, o que resulta em perda de heterozigosidade. O braço curto do cromossomo 3 contém importantes genes supressores tumorais como VHL, PBRM1, SETD2 e BAP1. Conforme citado, a deleção do cromossomo 3p é um evento presente em até 90% dos casos de CCRCC e justamente a “proximidade” genética desses genes faz deles extremamente interessantes para estudos posteriores (PEÑA-LLOPIS et al. 2013) Uma estratégia seria sua análise conjunta na tentativa de distinção de subgrupos específicos de tumores.

Baseado em nossos achados, acreditamos que o evento genético que leve a perda de expressão do gene PBRM1 deva se tratar de uma alteração precoce e relevante (possivelmente uma *driver mutation*) para o desenvolvimento tumoral. Será preciso mais evidência para se afirmar que a perda de PBRM1 se traduz em um fenótipo tumoral distinto e peculiar. Vias de sinalização como a de regulação de cromatina pelo complexo SWI/SNF têm o potencial para se tornarem possíveis alvos terapêuticos de pacientes portadores de CCRCC (BRUGAROLAS et al. 2013).

5 CONCLUSÕES

- 1 A presença concomitante de invasão de veia renal e gordura perirrenal em pacientes portadores de CCR em estágio patológico T3a se mostrou fator preditivo independente de piores taxas de SLP e SCE.
- 2 A perda de expressão tecidual de PBRM1 em pacientes portadores de CCRCC influenciou negativamente as taxas de SLR e SCE nas análises univariadas de sobrevida.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Algaba F, Akaza H, Lopez-Beltran A, et al. Current pathology keys of renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2011; 60:634-43.

Banks RE, Tirukonda P, Taylor C, et al. Genetic and epigenetic analysis of von Hippel-Lindau (VHL) gene alterations and relationship with clinical variables in sporadic renal cancer. **Cancer Res** 2006; 66:2000-11.

Becker F, Siemer S, Kamradt J, Zwergel U, Stöckle M. Important aspects of organ-preserving surgery for renal tumors: indications, new standards, and oncological outcomes. **Dtsch Arztebl Int** 2009; 106:117-22.

Bektas S, Bahadir B, Kandemir NO, Barut F, Gul AE, Ozdamar SO. Intraobserver and interobserver variability of Fuhrman and modified Fuhrman grading systems for conventional renal cell carcinoma. **J Med Sci** 2009; 25:596-600.

Bensalah K, Leray E, Fergelot P, et al. Prognostic value of thrombocytosis in renal cell carcinoma. **J Urol** 2006; 175(Pt 1):859-63.

Bensalah K, Pantuck AJ, Rioux-Leclercq N, et al. Positive surgical margin appears to have negligible impact on survival of renal cell carcinomas treated by nephron-sparing surgery. **Eur Urol** 2010; 57:466-71.

Bertini R, Roscigno M, Freschi M et al. Renal sinus fat invasion in pT3a clear cell renal cell carcinoma affects outcomes of patients without nodal involvement or distant metastases. **J Urol** 2009; 181:2027-32.

Bex A, Jonasch E, Kirkali Z, et al. Integrating surgery with targeted therapies for renal cell carcinoma: current evidence and ongoing trials. **Eur Urol** 2010; 58:819-28.

Blom JH, van Poppel H, Maréchal JM. EORTC Genitourinary Tract Cancer Group. Radical nephrectomy with and without lymph-node dissection: final results of European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) randomized phase 3 trial 30881. **Eur Urol** 2009; 55:28-34.

Bonsib SM. The renal sinus is the principal invasive pathway: a prospective study of 100 renal cell carcinomas. **Am J Surg Pathol** 2004; 28:1594-600.

Brannon AR, Reddy A, Seiler M, et al. Molecular stratification of clear cell renal cell carcinoma by consensus clustering reveals distinct subtypes and survival patterns. **Genes Cancer** 2010; 1:152-63.

Brannon AR, Haake SM, Hacker KE, et al. Meta-analysis of clear cell renal cell carcinoma gene expression defines a variant subgroup and identifies gender influences on tumor biology. **EurUrol** 2012; 61:258-68.

Brugarolas J. PBRM1 and BAP1 as novel targets for renal cell carcinoma. **Cancer J** 2013; 19:324-32.

Bui MH, Visapaa H, Seligson D, et al. Prognostic value of carbonic anhydrase IX and KI67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. **J Urol** 2004; 171(Pt 1):2461-6.

Capitanio U, Cloutier V, Zini L, et al. A critical assessment of the prognostic value of clear cell, papillary and chromophobe histological subtypes in renal cell carcinoma: a population-based study. **BJU Int** 2009; 103:1496-500.

Campbell SC, Novick AC, Bukowski RM. Renal tumors. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editors. **Campbell-Walsh urology**. 9th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p.1557-637.

Chapin BF, Delacroix SE, Wood CG. The role of lymph node dissection in renal cell carcinoma. **Int J Clin Oncol** 2011; 16:186-94.

Chawla SN, Crispen PL, Hanlon AL, Greenberg RE, Chen DY, Uzzo RG. The natural history of observed enhancing renal masses: meta-analysis and review of the world literature. **J Urol** 2006; 175:425-31.

Cheville JC, Blute ML, Zincke H, Lohse CM, Weaver AL. Stage pT1 conventional (clear cell) renal cell carcinoma: pathological features associated with cancer specific survival. **J Urol** 2001; 166:453-6.

Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, Weaver AL, Blute ML. Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. **Am J Surg Pathol** 2003; 27:612-24.

Chi P, Allis CD, Wang GG. Covalent histone modifications--miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. **Nat Rev Cancer** 2010; 10:457-69.

Chow WH, Gridley G, Fraumeni Jr JF, Järholm B. Obesity, hypertension, and the risk of kidney cancer in men. **N Engl J Med** 2000; 343:1305-11.

Crispen PL, Breau RH, Allmer C, et al. Lymph node dissection at the time of radical nephrectomy for high-risk clear cell renal cell carcinoma: indications and recommendations for surgical templates. **Eur Urol** 2011; 59:18-23.

da Costa WH, Rocha RM, da Cunha IW, da Fonseca FP, Guimaraes GC, Zequi SD. CD133 immunohistochemical expression predicts progression and cancer-related death in renal cell carcinoma. **World J Urol** 2012; 30:553-8.

Dalgliesh GL, Furge K, Greenman C, et al. Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes. **Nature** 2010; 463:360-3.

Dall'Oglio MF, Ribeiro-Filho LA, Antunes AA, et al. Microvascular tumor invasion, tumor size and Fuhrman grade: a pathological triad for prognostic evaluation of renal cell carcinoma. **J Urol** 2007; 178:425-8.

de Peralta-Venturina M, Moch H, Amin M, et al. Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma: a study of 101 cases. **Am J Surg Pathol** 2001; 25:275-84.

Delacroix SE Jr, Chapin BF, Chen JJ, et al. Can a durable disease-free survival be achieved with surgical resection in patients with pathological node positive renal cell carcinoma? **J Urol** 2011; 186:1236-41.

Delahunt B, Kittelson JM, McCredie MR, Reeve AE, Stewart JH, Bilous AM. Prognostic importance of tumor size for localized conventional (clear cell) renal cell carcinoma: assessment of TNM T1 and T2 tumor categories and comparison with other prognostic parameters. **Cancer** 2002; 94:658-64.

Delahunt B, Sika-Paotonu D, Bethwaite PB, et al. Fuhrman grading is not appropriate for chromophobe renal cell carcinoma. **Am J Surg Pathol** 2007; 31:957-60.

Delahunt B, Sika-Paotonu D, Bethwaite PB, et al. Grading of clear cell renal cell carcinoma should be based on nucleolar prominence. **Am J Surg Pathol** 2011; 35:1134-9.

Desai MM, Strzempkowski B, Matin SF, et al. Prospective randomized comparison of transperitoneal versus retroperitoneal laparoscopic radical nephrectomy. **J Urol** 2005; 173:38-41.

Dordevic G, Matušan-Ilijaš K, Babarović E, et al. Hypoxia inducible factor-1 α correlates with vascular endothelial growth factor A and C indicating worse prognosis in clear cell renal cell carcinoma. **J Exp Clin Cancer Res** 2009; 28:40-8.

Duns G, van den Berg E, van Duivenbode I, et al. Histone methyltransferase gene *setd2* is a novel tumor suppressor gene in clear cell renal cell carcinoma. **Cancer Res** 2010; 70:4287-91.

Egger SE, Yossepowith O, Petrus JA, Snyder ME, Motzer RJ, Russo P. Renal cell carcinoma recurrence after nephrectomy for localized disease: predicting survival from time of recurrence. **J Clin Oncol** 2006; 24:3101-6.

Eichelberg C, Junker K, Ljungberg B, Moch H. Diagnostic and prognostic molecular markers for renal cell carcinoma: a critical appraisal of the current state of research and clinical. **Eur Urol** 2009; 55:851-63.

Escudier B, Eisen T, Stadler WM, et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. **N Engl J Med** 2007; 356:125-34.

Escudier B, Gross Goupil M, Massard C, Fizazi K. Sequential therapy in renal cell carcinoma. **Cancer** 2009; 115:2321-6.

Euskirchen GM, Auerbach RK, Davidov E, et al. Diverse roles and interactions of the SWI/SNF chromatin remodeling complex revealed using global approaches. **PLoS Genet** 2011; 7:e1002008.

Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. **Eur J Cancer** 2010; 46:765-81.

Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, Tangen C, van Poppel H, Crawford ED. Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. **J Urol** 2004; 171:1071-6.

Ficarra V, Martignoni G, Maffei N, et al. Original and reviewed nuclear grading according to the Fuhrman system: a multivariate analysis of 388 patients with conventional renal cell carcinoma. **Cancer** 2005; 103:68-75.

Ficarra, V, Martignoni G, Galfano A, et al. Prognostic role of the histologic subtypes of renal cell carcinoma after slide revision. **Eur Urol** 2006; 50:786-94.

Ficarra V, Galfano A, Guille F et al. A new staging system for locally advanced (pT3-4) renal cell carcinoma: a multicenter European study including 2,000 patients. **J Urol** 2007; 178:418-24.

Figlin RA, de Sousa P, McDermott D, et al. Analysis of PTEN and HIF-1 α and correlation with efficacy in patients with advanced renal cell carcinoma treated with temsirolimus versus interferon- α . **Cancer** 2009; 115:3651-60.

Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. **J Urol** 2002; 168:2395-400.

Frank I, Blute ML, Leibovich BC, et al. pT2 classification for renal cell carcinoma. Can its accuracy be improved? **J Urol** 2005; 173:380-4.

Fuhrman AS, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphological parameters in renal cell carcinomas. **Am J Surg Pathol** 1982; 6:655-63.

Fukuoka J, Fujii T, Shih JH, et al. Chromatin remodeling factors and BRM/BRG1 expression as prognostic indicators in non-small cell lung cancer. **Clin Cancer Res** 2004; 10:4314-24.

Gill IS, Kavoussi LR, Lane BR, et al. Comparison of 1,800 laparoscopic and open partial nephrectomies for single renal tumors. **J Urol** 2007; 178:41-6.

Gonçalves PD, Srougi M, Dall'Oglio MF, Leite KR, Ortiz V, Hering F. Low clinical stage renal cell carcinoma: relevance of microvascular tumor invasion as a prognostic parameter. **J Urol** 2004; 172:470-4.

Guomundsson EG, Hellborg H, Lundstam S, Erikson S, Ljungberg B. Metastatic potential in renal cell carcinomas < 7cm: swedish kidney cancer quality register data. **Eur Urol** 2011; 60:975-82.

Gupta K, Miller JD, Li JZ, Russell MW, Charbonneau C. Epidemiologic and socioeconomic burden of metastatic renal cell carcinoma (mRCC): a literature review. **Cancer Treat Rev** 2008; 34:193-205.

Ha US, Hwang TK, Kim YJ, et al. Comparison of oncological outcomes of transperitoneal and retroperitoneal laparoscopic radical nephrectomy for the management of clear-cell renal cell carcinoma: a multi-institutional study. **BJU Int** 2011; 107:1467-72.

Hafez KS, Fergany AF, Novick AC. Nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: impact of tumor size on patient survival, tumor recurrence and TNM staging. **J Urol** 1999; 162:1930-3.

Hakimi AA, Chen YB, Wren J, et al. Clinical and pathologic impact of select chromatin-modulating tumor suppressors in clear cell renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2013a; 63:848-54.

Hakimi AA, Ostrovnaya I, Reva B, et al. Adverse outcomes in clear cell renal cell carcinoma with mutations of 3p21 epigenetic regulators BAP1 and SETD2: a report by MSKCC and the KIRC TCGA research network. **Clin Cancer Res** 2013b; 19:3259-67.

Heng DY, Xie W, Regan MM, et al. Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: results from a large, multicenter study. **J Clin Oncol** 2009; 27:5794-9.

Herrmann E, Trojan L, Becker F, et al. Prognostic factors of papillary renal cell carcinoma: results from a multi-institutional series after pathological review. **J Urol** 2010; 183:460-6.

Huang WC, Elkin EB, Levey AS, Jang TL, Russo P. Partial nephrectomy versus radical nephrectomy in patients with small renal tumors is there a difference in mortality and cardiovascular outcomes? **J Urol** 2009; 181:55-62.

Hudes G, Carducci M, Tomczak P, et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. **N Engl J Med** 2007; 356:2271-81.

Hunt JD, van der Hel OL, McMillan GP, Boffetta P, Brennan P. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: meta-analysis of 24 studies. **Int J Cancer** 2005; 114:101-8.

Isbarn H, Patard JJ, Lughezzani G, et al. Limited prognostic value of tumor necrosis in patients with renal cell carcinoma. **Urology** 2010; 75:1378–84.

Jackson EM, Sievert AJ, Gai X, et al. Genomic analysis using high-density single nucleotide polymorphism-based oligonucleotide arrays and multiplex ligation-dependent probe amplification provides a comprehensive analysis of INI1/SMARCB1 in malignant rhabdoid tumors. **Clin Cancer Res** 2009; 15:1923-30.

Jacobsen J, Grankvist K, Rasmuson T, Bergh A, Landberg G, Ljungberg B. Expression of vascular endothelial growth factor protein in human renal cell carcinoma. **BJU Int** 2004; 93:297-302.

Jagdev SPK, Gregory W, Vasudev NS, et al. Improving the accuracy of pre-operative survival prediction in renal cell carcinoma with C-reactive protein. **Br J Cancer** 2010; 103:1649-56.

Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. **Cancer J Clin** 2007; 57:43-66.

Jeong W, Rha KH, Kim HH, et al. Comparison of laparoscopic radical nephrectomy and open radical nephrectomy for pathologic stage T1 and T2 renal cell carcinoma with clear cell histologic features: a multi-institutional study. **Urology** 2011; 77:819-24.

Jewett MAS, Mattar K, Basiuk J, et al. Active surveillance of small renal masses: progression patterns of early stage kidney cancer. **Eur Urol** 2011; 60:39-44.

Jones TD, Eble JN, Wang M, Maclennan GT, Jain S, Cheng L. Clonal divergence and genetic heterogeneity in clear cell renal cell carcinomas with sarcomatoid transformation. **Cancer** 2005a; 104:1195-203.

Jones J, Otu H, Spentzos D, et al. Gene signatures of progression and metastasis in renal cell cancer. **Clin Canc Res** 2005b; 11:5730-9.

Joniau S, Vander Eeckt K, Srirangam SJ, Van Poppel H. Outcome of nephron-sparing surgery for T1b renal cell carcinoma. **BJU Int** 2009; 103:1344-8.

Jung SJ, Ro JY, Truong LD, Ayala AG, Shen SS. Reappraisal of T3N0/NxM0 renal cell carcinoma: significance of extent of fat invasion, renal vein invasion, and adrenal invasion. **Hum Pathol** 2008; 39:1689-94.

Junker K, Ficarra V, Kwon ED, Leibovich BC, Thompson RH, Oosterwijk E. Potential role of genetic markers in the management of kidney cancer. **Eur Urol** 2013; 63:333-40.

Kallakury BV, Karikehalli S, Haholu A, Sheehan CE, Azumi N, Ross JS. Increased expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 and 2 correlate with poor prognostic variables in renal cell carcinoma. **Clin Cancer Res** 2001; 7:3113-9.

Kanao K, Mizuno R, Kikuchi E, et al. Preoperative prognostic nomogram (probability table) for renal cell carcinoma based on TNM classification. **J Urol** 2009; 181:480-5.

Kapur P, Peña-Llopis S, Christie A, et al. Effects on survival of BAP1 and PBRM1 mutations in sporadic clear-cell renal-cell carcinoma: a retrospective analysis with independent validation. **Lancet Oncol** 2013; 14:159-67.

Karakiewicz PI, Briganti A, Chun FK, et al. Multi-institutional validation of a new renal cancer-specific survival nomogram. **J Clin Oncol** 2007; 25:1316-22.

Karakiewicz PI, Sun M, Bellmunt J, Sneller V, Escudier B. Prediction of progression-free survival rates after bevacizumab plus interferon versus interferon alone in patients with metastatic renal cell carcinoma: comparison of a nomogram to the Motzer criteria. **Eur Urol** 2011; 60:48-56.

Karim-Kos HE, de Vries E, Soerjomataram I, Lemmens V, Siesling S, Coebergh JW. Recent trends of cancer in Europe: a combined approach of incidence, survival and mortality for 17 cancer sites since the 1990s. **Eur J Cancer** 2008; 44:1345-89.

Karnofsky DA, Burchenal JH. Present status of clinical cancer chemotherapy. **Am J Med** 1950; 8:767-88.

Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, Katz J, Russo P. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. **J Urol** 2001; 166:63-7.

Katz MD, Serrano MF, Humphrey PA, et al. The role of lymphovascular space invasion in renal cell carcinoma as a prognostic marker of survival after curative resection. **Urol Oncol** 2011; 29:738-44.

Kenneth NS, Mudie S, van Uden P, Rocha S. SWI/SNF Regulates the Cellular Response to Hypoxia. **J Biol Chem** 2008; 284:4123-31.

Kim JH, Jung CW, Cho YH, et al. Somatic VHL alteration and its impact on prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma. **Oncol Rep** 2005; 13:859-64.

Kim SP, Alt AL, Weight CJ, et al. Independent Validation of the 2010 American Joint Committee on Cancer TNM Classification for Renal Cell Carcinoma: Results From a Large, Single Institution Cohort. **J Urol** 2011; 185:2035-9.

Klatte T, Pantuck AJ, Riggs SB, et al. Prognostic factors for renal cell carcinoma with tumor thrombus extension. **J Urol** 2007a; 178:1189-95.

Klatte T, Seligson DB, Riggs SB, et al. Hypoxia-inducible factor 1 in clear cell renal cell carcinoma. **Clin Cancer Res** 2007b; 13:7388-93.

Klatte T, Pantuck AJ, Said JW, et al. Cytogenetic and molecular tumor profiling for type 1 and type 2 papillary renal cell carcinoma. **Clin Canc Res** 2009a; 15:1162-9.

Klatte T, Said JW, de Martino M, et al. Presence of tumor necrosis is not a significant predictor of survival in clear cell renal cell carcinoma: higher prognostic accuracy of extent based rather than presence/absence classification. **J Urol** 2009b; 181:1558-64.

Klatte T, Seligson DB, LaRochelle J, et al. Molecular signatures of localized clear cell renal cell carcinoma to predict disease-free survival after nephrectomy. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2009c; 18:894-900.

Kosari F, Parker A, Kube DM, et al. Clear cell renal cell carcinoma: gene expression analyses identify a potential signature for tumor aggressiveness. **Clin Cancer Res** 2005; 11:5128-39.

Kreiger PA, Judkins AR, Russo PA, et al. Loss of INI1 expression defines a unique subset of pediatric undifferentiated soft tissue sarcomas. **Mod Pathol** 2009; 22:142-50.

Kroeze SGC, Vermaat JS, van Brussel A, et al. Expression of nuclear FIH independently predicts overall survival of clear cell renal cell carcinoma patients. **Eur J Cancer** 2010; 46: 3375-82.

Kunkle DA, Egleston BL, Uzzo RG. Excise, ablate or observe: the small renal mass dilemma a meta-analysis and review. **J Urol** 2008; 179:1227-34.

Kutikov A, Piotrowski ZJ, Canter DJ, et al. Routine adrenalectomy is unnecessary during surgery for large and/or upper pole renal tumors when the adrenal gland is radiographically normal. **J Urol** 2011; 185:1198-203.

Lang H, Lindner V, de Fromont M, et al. Multicenter determination of optimal interobserver agreement using the Fuhrman grading system for renal cell carcinoma: Assessment of 241 patients with > 15-year follow-up. **Cancer** 2005; 103:625-9.

Lidgren A, Hedberg Y, Grankvist K, Rasmuson T, Vasko J, Ljungberg B. The expression of hypoxia-inducible factor 1alpha is a favorable independent prognostic factor in renal cell carcinoma. **Clin Cancer Res** 2005; 11:1129-35.

Lidgren A, Hedberg Y, Grankvist K, Rasmuson T, Bergh A, Ljungberg B. Hypoxia-inducible factor 1a expression in renal cell carcinoma analyzed by tissue microarray. **Eur Urol** 2006; 50:1272-7.

Lipworth L, Tarone RE, McLaughlin JK. The epidemiology of renal cell carcinoma. **J Urol** 2006; 176:2353-8.

Liu W, Choueiri TK, Cho E. Statin use and the risk of renal cell carcinoma in 2 prospective US cohorts. **Cancer** 2012; 118:797-803.

Ljungberg B, Hanbury DC, Kuczyk MA, et al. Renal cell carcinoma guideline. **Eur Urol** 2007; 51:1502-10.

Ljungberg B, Cowan NC, Hanbury DC, et al. EAU guidelines on renal cell carcinoma: the 2010 update. **Eur Urol** 2010; 58:398-406.

Ljungberg B, Campbell SC, Choi HY, et al. The epidemiology of renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2011; 60:615-21.

Lopez-Beltran A, Carrasco JC, Cheng L, Scarpelli M, Kirkali Z, Montironi R. 2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults. **Int J Urol** 2009; 16:432-43.

Lu C, Han HD, Mangala LS, et al. Regulation of tumor angiogenesis by EZH2. **Cancer Cell** 2010; 18:185-97.

Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. **Nat Rev Cancer** 2001; 1:194-202.

Mandriota SJ, Turner KJ, Davies DR, et al. HIF activation identifies early lesions in VHL kidneys: evidence for site-specific tumor suppressor function in the nephron. **Cancer Cell** 2002; 1:459-68.

Margulis V, McDonald M, Tamboli P, Swanson DA, Wood CG. Predictors of oncological outcome after resection of locally recurrent renal cell carcinoma. **J Urol** 2009; 181:2044-51.

Miller DC, Schonlau M, Litwin MS, Lai J, Saigal CS. Renal and cardiovascular morbidity after partial or radical nephrectomy. **Cancer** 2008; 112:511-20.

Miller DC, Ruterbusch J, Colt JS, et al. Contemporary clinical epidemiology of renal cell carcinoma: insight from a population based case-control study. **J Urol** 2010; 184: 2254-8.

Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, Russo P, Mazumdar M. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. **J Clin Oncol** 2002; 20:289-96.

Motzer RJ, Bacik J, Schwartz LH, et al. Prognostic factors for survival in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma. **J Clin Oncol** 2004; 22:454-63.

Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. **Lancet** 2008; 372:449-56.

Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, et al. Overall survival and updated results for sunitinib compared with interferon alfa in patients with metastatic renal cell carcinoma. **J Clin Oncol** 2009; 27:3584-90.

Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, et al. Phase III trial of everolimus for metastatic renal cell carcinoma: final results and analysis of prognostic factors. **Cancer** 2010; 116:4256-65.

Nardi AC, Zequi SC, Clark OA, Almeida JC, Glina S. Epidemiologic characteristics of renal cell carcinoma in Brazil. **Int Braz J Urol** 2010; 36:151-7.

Novara G, Ficarra V, Antonelli A, et al. Validation of the 2009 TNM version in a large multi-institutional cohort of patients treated for renal cell carcinoma: are further improvements needed? **Eur Urol** 2010; 58:588-95.

Noon AP, Polański R, El-Fert AY, et al. Combined p53 and MDM2 biomarker analysis shows a unique pattern of expression associated with poor prognosis in patients with renal cell carcinoma undergoing radical nephrectomy. **BJU Int** 2012; 109:1250-7.

Paner GP, Amin MB, Alvarado-Cabrero I, et al. A novel tumor grading scheme for chromophobe renal cell carcinoma: prognostic utility and comparison with Fuhrman nuclear grade. **Am J Surg Pathol** 2010; 34:1233-40.

Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun A. Biology of renal cell carcinoma: changing concepts in classification and staging. **Semin Urol Oncol** 2001; 19:72-9.

Pantuck A, Seligson DB, Klatte T, et al. Prognostic relevance of the mTOR pathway in renal cell carcinoma. **Cancer** 2007; 109:2257-67.

Parker AS, Cerhan JR, Janney CA, Lynch CF, Cantor KP. Smoking cessation and renal cell carcinoma. **Ann Epidemiol** 2003; 13:245-51.

Parker AS, Leibovich BC, Lohse CM, Sheinin Y, Kuntz SM, Eckel-Passow JE, Blute ML, Kwon ED. Development and evaluation of BioScore. **Cancer** 2009; 115:2092-103.

Patard JJ, Kim HL, Lam JS, et al. Use of the University of California Los Angeles integrated staging system to predict survival in renal cell carcinoma: an international multicenter study. **J Clin Oncol** 2004; 22:3316-22.

Patard JJ, Leray E, Rioux-Leclercq N, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. **J Clin Oncol** 2005; 23:2763-71.

Patard JJ, Rioux-Leclercq N, Masson D, et al. Absence of VHL gene alteration and high VEGF expression are associated with tumour aggressiveness and poor survival of renal-cell carcinoma. **Br J Cancer** 2009; 101:1417-24.

Patard JJ, Pignot G, Escudier B, et al. ICUD-EAU International Consultation on Kidney Cancer 2010: Treatment of Metastatic Disease. **Eur Urol** 2011; 60:684-90.

Pawlowski R, Mühl SM, Sulser T, Krek W, Moch H, Schraml P. Loss of PBRM1 expression is associated with renal cell carcinoma progression. **Int J Cancer** 2013; 132:11-7.

Pei J, Feder MM, Al-Saleem T, et al. Combined classical cytogenetics and microarray-based genomic copy number analysis reveal frequent 3;5 rearrangements in clear cell renal cell carcinoma. **Genes Chromosomes Cancer** 2010; 49:610-9.

Peña-Llopis S, Christie A, Xie XJ, Brugarolas J. Cooperation and Antagonism among Cancer Genes: The Renal Cancer Paradigm. **Cancer Res** 2013; 73:4173-9.

Pignot G, Elie C, Conquy S, et al. Survival analysis of 130 patients with papillary renal cell carcinoma: prognostic utility of type 1 and type 2 subclassification. **Urology** 2007; 69:230-5.

Poon SA, Gonzalez JR, Benson MC, McKiernan JM. Invasion of renal sinus fat is not an independent predictor of survival in pT3a renal cell carcinoma. **BJU Int** 2009; 103:1622-25.

Port FK, Ragheb NE, Schwartz SH, Hawthorne VM. Neoplasms in dialysis patients: a population-based study. **Am J Kidney Dis** 1989; 14:119-23.

Pouliot F, Shuch B, Larochele JC, Pantuck A, Belldegrun AS. Contemporary management of renal tumors with venous thrombus. **J Urol** 2010; 184:833-41.

Reisman DN, Strobeck MW, Betz BL, et al. Concomitant down-regulation of BRM and BRG1 in human tumor cell lines: differential effects on RB-mediated growth arrest vs CD44 expression. **Oncogene** 2002; 21:1196-207.

Reisman DN, Sciarrotta J, Wang W, Funkhouser WK, Weissman BE. Loss of BRG1/BRM in human lung cancer cell lines and primary lung cancers: correlation with poor prognosis. **Cancer Res** 2003; 63:560-6.

Remzi M, Ozsoy M, Klingler HC, et al. Are small renal tumors harmless? Analysis of histopathological features according to tumors 4 cm or less in diameter. **J Urol** 2006; 176:896-9.

Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M. Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. **Lancet** 2008; 371:569-78.

Rini BI, Halabi S, Rosenberg JE, et al. Bevacizumab plus interferon alfa compared with interferon alfa monotherapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: CALGB 90206. **J Clin Oncol** 2008; 26:5422-8.

Rini BI, Campbell SC, Escudier B. Renal cell carcinoma. **Lancet** 2009; 373:1119-32.

Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard J, et al. Value of immunohistochemical Ki-67 and p53 determinations as predictive factors of outcome in renal cell carcinoma. **Urology** 2000; 55:501-5.

Roberts CW, Leroux MM, Fleming MD, Orkin SH. Highly penetrant, rapid tumorigenesis through conditional inversion of the tumor suppressor gene Snf5. **Cancer Cell** 2002; 2:415-25.

Robson CJ, Churchill BM, Anderson W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. **J Urol** 1969; 101:297-301.

Rosner I, Bratslavsky G, Pinto PA, Linehan WM. The clinical implications of the genetics of renal cell carcinoma. **Urol Oncol** 2009; 27:131-6.

Sanjmyatav J, Steiner T, Wunderlich H, Diegmann J, Gajda M, Junker K. A Specific gene expression signature characterizes metastatic potential in clear cell renal cell carcinoma. **J Urol** 2011; 186:289-94.

Schraml P, Struckmann K, Hatz F, et al. VHL mutations and their correlation with tumour cell proliferation, microvessel density, and patient prognosis in clear cell renal cell carcinoma. **J Pathol** 2002; 196:186-93.

Sekine I, Sato M, Sunaga N, et al. The 3p21 candidate tumor suppressor gene BAF180 is normally expressed in human lung cancer. **Oncogene** 2005; 24:2735-8.

Sengupta S, Lohse CM, Leibovich BC, et al. Histologic coagulative tumor necrosis as a prognostic indicator of renal cell carcinoma aggressiveness. **Cancer** 2005; 104:511-20.

Sengupta S, Lohse CM, Cheville JC, et al. The preoperative erythrocyte sedimentation rate is an independent prognostic factor in renal cell carcinoma. **Cancer** 2006; 106:304-12.

Shuch B, La Rochelle JC, Wu J, et al. Performance status and cytoreductive nephrectomy: redefining management in patients with poor performance. **Cancer** 2008; 113:1324-31.

Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. **CA Cancer J Clin** 2011; 61:212-36.

Simmons MN, Gill IS. Decreased complications of contemporary laparoscopic partial nephrectomy: use of a standardized reporting system. **J Urol** 2007; 177:2067-73.

Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J, et al. Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial. **J Clin Oncol** 2010; 28:1061-8.

Sultmann H, von Heydebreck A, Huber W, et al. Gene expression in kidney cancer is associated with cytogenetic abnormalities, metastasis formation, and patient survival. **Clin Cancer Res** 2005; 11:646-55.

Takayama T, Sugiyama T, Kai F, et al. Characteristics of aggressive variants in T1a renal cell carcinoma. **J Cancer Res Clin Oncol** 2011; 137:1653-9.

Teloken PE, Thompson RH, Tickoo SK, et al. Prognostic impact of histological subtype on surgically treated localized renal cell carcinoma. **J Urol** 2009; 182:2132-6.

Thompson RH, Leibovich BC, Lohse CM, et al. Dynamic outcome prediction in patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy: the D-SSIGN score. **J Urol** 2007; 177:477-80.

Thompson RH, Siddiqui S, Lohse CM, Leibovich BC, Russo P, Blute ML. Partial versus radical nephrectomy for 4 to 7 cm renal cortical tumors. **J Urol** 2009; 182:2601-6.

Toma MI, Grosser M, Herr A, et al. Loss of heterozygosity and copy number abnormality in clear cell renal cell carcinoma discovered by high-density affymetrix 10K single nucleotide polymorphism mapping array. **Neoplasia** 2008; 10:634-42.

Uzzo RG, Novick AC. Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. **J Urol** 2001; 166:6-18.

van Poppel H, Vandendriessche H, Boel K, et al. Microscopic vascular invasion is the most relevant prognosticator after radical nephrectomy for clinically nonmetastatic renal cell carcinoma. **J Urol** 1997; 158:45-9.

van Poppel H, Da Pozzo L, Albrecht W, et al. A prospective randomized EORTC intergroup phase 3 study comparing the complications of elective nephron-sparing surgery and radical nephrectomy for low-stage renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2007; 51:1606-15.

van Poppel H, Joniau S. How important are surgical margins in nephron-sparing surgery. **EurUrol Suppl** 2007; 6:533-9.

van Poppel H, Da Pozzo L, Albrecht W, et al. A prospective, randomised EORTC intergroup phase 3 study comparing the oncologic outcome of elective nephron-sparing surgery and radical nephrectomy for low-stage renal cell carcinoma. **Eu Urol** 2011a; 59:543-52.

van Poppel H, Becker F, Cadeddu JA, et al. Treatment of localized renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2011b; 60:662-72.

Varela I, Tarpey P, Raine K, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma. **Nature** 2011; 469:539-42.

Vasselli JR, Shih JH, Iyengar SR, et al. Predicting survival in patients with metastatic kidney cancer by gene-expression profiling in the primary tumor. **Proc Natl Acad Sci** 2003; 100:6958-63.

Vasudev NS, Selby PJ, Banks RE. Renal cancer biomarkers: the promise of personalized care. **BMC Med** 2012; 10:112-6.

Volpe A, Panzarella T, Rendon RA, Haider MA, Kondylis FI, Jewett MA. The natural history of incidentally detected small renal masses. **Cancer** 2004; 100:738-45.

Wagener N, Holland D, Bulkescher J, et al. The enhancer of zeste homolog 2 gene contributes to cell proliferation and apoptosis resistance in renal cell carcinoma cells. **Int J Cancer** 2008; 123:1545-50.

Wagner B, Patard JJ, Mejean A, et al. Prognostic value of renal vein and inferior vena cava involvement in renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2009; 55:45-9

Weight CJ, Kaouk JH, Hegarty NJ, et al. Correlation of radiographic imaging and histopathology following cryoablation and radio frequency ablation for renal tumors. **J Urol** 2008; 179:1277-83.

Weight CJ, Kim SP, Lohse CM, et al. Routine adrenalectomy in patients with locally advanced renal cell cancer does not offer oncologic benefit and places a significant portion of patients at risk for an asynchronous metastasis in a solitary adrenal gland. **Eur Urol** 2011; 60:458-64.

Weikert S, Boeing H, Pischon T, et al. Blood pressure and risk of renal cell carcinoma in the European prospective investigation into cancer and nutrition. **Am J Epidemiol** 2008; 167:438-46.

Wellcome Trust Sanger Institute. ??????????????????. Available from: <URL:<http://www.sanger.ac.uk/cgi-bin/genetics/CGP/cghviewer/CghHome.cgi>> [2013 ago 15]

Whitson JM, Harris CR, Reese AC, Meng MV. Lymphadenectomy improves survival of patients with renal cell carcinoma and nodal metastases. **J Urol** 2011; 185:1615-20.

Wiegand KC, Shah SP, Al-Agha OM, et al. ARID1A mutations in endometriosis-associated ovarian carcinomas. **N Engl J Med** 2010; 363:1532-43.

Wilson BG, Roberts CW. SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. **Nat Rev Cancer** 2011; 11:481-92.

Woldrich JM, Mallin K, Ritchey J, Carroll PR, Kane CJ. Sex differences in renal cell cancer presentation and survival: an analysis of the National Cancer Database, 1993-2004. **J Urol** 2008; 179:1709-13.

Wosnitzer M, Polland A, Hai Q, Hruby G, McKiernan J. Role of preoperative platelet level in clinical and pathological outcomes after surgery for renal cortical malignancies. **BJU Int** 2011; 108:73-9.

Wu Y, Fu X, Zhu X, et al. Prognostic role of systemic inflammatory response in renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. **J Cancer Res Clin Oncol** 2011; 137:887-96.

Wunsch Filho V. Insights on diagnosis, prognosis and screening of renal cell carcinoma. **Sao Paulo Med J** 2002; 120:163-4.

Wuttig D, Baier B, Fuessel S, et al. Gene signatures of pulmonary metastases of renal cell carcinoma reflect the disease-free interval and the number of metastases per patient. **Int J Cancer** 2009; 125:474-82.

Xia W, Nagase S, Montia AG, et al. BAF180 is a critical regulator of p21 induction and a tumor suppressor mutated in breast cancer. **Cancer Res** 2008; 68:1667-74.

Yamada K, Frouws TD, Angst B, et al. Structure and mechanism of the chromatin remodelling factor ISW1a. **Nature** 2011; 472:448-53.

Yao M, Yoshida M, Kishida T, et al. VHL tumor suppressor gene alterations associated with good prognosis in sporadic clear-cell renal carcinoma. **J Natl Cancer Inst** 2002; 94:1569-75.

Yao M, Huang Y, Shioi K, et al. A three-gene expression signature model to predict clinical outcome of clear cell renal carcinoma. **Int J Cancer** 2008; 123:1126-32.

Young AP, Schlisio S, Minamishima YA, et al. VHL loss actuates a HIF-independent senescence programme mediated by Rb and p400. **Nat Cell Biol** 2008; 10: 361-9.

Young AC, Craven RA, Cohen D, et al. Analysis of VHL gene alterations and their relationship to clinical parameters in sporadic conventional renal cell carcinoma. **Clin Cancer Res** 2009; 15:7582-92.

Zequi SC. **Correlação entre os fatores clínicos e anatomopatológicos associados aos índices de proliferação celular como prognósticos em portadores de câncer do rim tratados por cirurgia.** São Paulo; 2000. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Zequi SC. **Estudo da expressão imuno-histoquímica e do valor prognóstico de sintases do óxido nítrico, metaloproteases da matriz extracelular, VEGF, caderina E, densidade de microvasos e de vasos linfáticos em pacientes portadores de carcinoma de células renais.** São Paulo; 2008 [Tese de Doutorado-Fundação Antônio Prudente].

Zhao H, Ljungberg B, Grankvist K, Rasmuson T, Tibshirani R, Brooks JD. Gene expression profiling predicts survival in conventional renal cell carcinoma. **Plos Med** 2006; 3:115-24.

Zhao H, Zongming Ma, Tibshirani R, Higgins JPT, Ljungberg B, Brooks JD. Alteration of gene expression signatures of cortical differentiation and wound response in lethal clear cell renal cell carcinomas. **PLoS ONE** 2009; 4:1-8.

Zigeuner R, Ratschek M, Rehak P, Schips L, Langner C. Value of p53 as a prognostic marker in histologic subtypes of renal cell carcinoma: a systematic analysis of primary and metastatic tumor tissue. **Urology** 2004; 63:651-5.

Zucchi A, Novara G, Costantini E, et al. Prognostic factors in a large multi-institutional series of papillary renal cell carcinoma. **BJU Int** 2012; 109:1140-6.

Anexo 1 - Classificação de performance/status do ECOG: Eastern Cooperative Oncologic Group Performance Status Classification.

0 – Assintomático.

1 – Sintomático, mas completamente ambulatorial.

2 – Sintomático, permanece no leito <50% do dia.

3 – Sintomático, permanece > 50% do dia no leito, mas não restrito ao leito.

4 – Restrito ao leito.

5 – Morto.

Fonte: Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. **Am J Clin Oncol** 1982; 5:649-55.

Anexo 2 - Ficha de levantamento de dados

Nome: _____

Registro: _____

Lâmina: _____

Data de admissão: _____

Idade (anos): _____

Raça: (1) Branco (2) Não branco

Sexo: (1) Masculino (2) Feminino

Tabagismo: (1) Fumante (2) Não fumante (9) Ignorado

“Packyear”: (0) Ignorado (1) 1-10 Packyears (2) 11-20 Packyears (3) >20 Packyears

ECOG: (0) 0 (1) 1(2) 2

ASA: (1) 1 (2) 2 (3) 3 (4) 4

Sintomas: (0) Ausência (1) Hematúria (2) Dor lombar (3) Emagrecimento (4) Febre (5)

Outros (6) Massa palpável (9) Ignorado

Tempo de Evolução (meses): _____

Tumor incidental: (0) Sim (1) Não

Metástase ao diagnóstico: (0) Não (1) Sim

Tumor Familiar: (0) Não (1) Sim

Nº de Familiares: (0) 0 (1) 1 (2) 2

Hemoglobina: _____ **Hematócrito:** _____

Cirurgia: (1) Radical (2) Parcial

Incisão: (1) Abdominal (2) Lobotomia

Ressecção: (0) Irressecável (1) Ressecção total (2) Margem microscópica (3) Margem

macroscópica

Tempo de Cirurgia: _____

Data da Cirurgia: _____

Transusão: (0) Não (1) Sim **Volume de transfusão:** _____

Complicações Precoces: (0) Não (1) Insuficiência renal aguda (2) Íleo paralítico (3) Infecção

(4) Cardiovascular (5) Tromboembolismo (6) Fistula urinaria (7) Hemorragia (9) Outras

Internação (dias): _____

Complicações Tardias: (0) Não (1) Insuficiência renal aguda (2) Suboclusão intestinal (3)

Parede abdominal (4) Hipertensão arterial sistêmica (6)) Outras

Estádio T: (1) T1a (2) T1b (3) T2a (4) T2b (5) T3a (6) T3b (7) T3c (8) T4

Estádio N: (0) N0 (1) N1 (2) N2 (3) Nx

TNM: (1) TN0M0 (2) TN+M0 (3) TN0M+ (4) TN+M+

Nº de Linfonodos: _____ **Nº de Linfonodos +:** _____

Estádio Robson: (1) I (2) II (3) IIIa (4) IIIb (5) IIIc (6) IV

Estádio clínico: (1) I (2) II (3) III (4) IV

Grau de Fuhrman: (1) I (2) II (3) III (4) IV

Tipo Histológico: (1) Células claras (2) Papilífero (3) Cromóforo (4) TTE3 Gene (5) Ductos
coletores (6) Inclassificável (7) Outros

Diâmetro tumoral (cm): _____

Lateralidade: (1) Direito (2) Esquerdo (3) Bilateral

Tumor bilateral: (0) Não (1) Sincrônico (2) Metacrônico

Multifocal: (0) Não (1) Sim

Topografia: (1) Pólo superior (2) Pólo médio (3) Pólo inferior (4) Mais de um pólo

Invasão vascular: (0) Não (1) Sim

Invasão vascular linfática: (0) Não (1) Sim

Invasão de veia renal: (0) Não (1) Sim

Invasão de veia cava: (0) Não (1) Sim

Invasão de pelve e/ou ureter: (0) Não (1) Sim

Invasão de gordura: (0) Não (1) Sim

Necrose tumoral: (0) Não (1) Sim

Invasão de Adrenal: (0) Não (1) Sim

Falha: (0) Não (1) Sim **Data da falha:** _____

Falha: (0) Não (1) Local (2) Pulmão (3) Osso (4) Fígado (5) SNC (6) Rim contra-lateral
(7) Outro

Tratamento: (0) Não (1) Cirurgia (2) Radioterapia (3) Cirurgia + RT (4) Imunoterapia (5) Imunoterapia + quimioterapia (6) Outro (7) Quimioterapia (8) Inibidor tirosina quinase

Data da última consulta: _____

Status: (1) Vivo sem doença (2) Vivo com doença (3) Morte outras causas (5) Morte por câncer
(6) Perda de vista

Óbito: (1) Sim (2) Não

Sobrevida global (meses): _____

Sobrevida livre de doença (meses): _____

Seguimento atualizado (meses): _____

Anexo 3 - Classificação TNM de 2002 da “American Joint Committee on Cancer’s AJCC Cancer Staging”

Tx	Tumor primário não pode ser avaliado.
T0	Ausência de evidência de tumor primário.
T1	Tumor ≤ 7 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T1a	Tumor ≤ 4 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T1b	Tumor > 4 cm e ≤ 7 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T2	Tumor > 7 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T3	Tumor com extensão até glândula adrenal, grandes vasos ou tecido perinefrético e não ultrapassa fáscia de Gerota.
T3a	Tumor invade glândula adrenal, seio e/ou gordura perinéfretica mas não ultrapassa fáscia de Gerota.
T3b	Tumor com extensão até veia renal ou veia cava infra-diafragmática.
T3c	Tumor com extensão até veia cava supra-diafragmática ou invasão da parede da veia cava.
T4	Tumor com invasão além da fáscia de Gerota.
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados.
N0	Ausência de metástases linfonodais.
N1	Metástase em até um linfonodo regional.
N2	Metástase em mais de um linfonodo regional.
MX	Metástases à distância não podem ser avaliadas.
M0	Ausência de metástases a distância.
M1	Presença de metástases a distância.

Fonte: Novara G, Ficarra V, Antonelli A, et al. Validation of the 2009 TNM Version in a Large Multi-Institutional Cohort of Patients Treated for Renal Cell Carcinoma: Are Further Improvements Needed? **European Urology** 2010; 58:588–595.

Anexo 4 - Estadiamento clínico de 2002 da “American Joint Committee on Cancer’s AJCC Cancer Staging”

Estágio clínico	T	N	M
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T1 ou T2	N1	M0
	T3	N0 ou N1	M0
IV	T4	Qualquer N	M0
	Qualquer T	Qualquer N	M1
	Qualquer T	N2	M0

Fonte: Novara G, Ficarra V, Antonelli A, et al. Validation of the 2009 TNM Version in a Large Multi-Institutional Cohort of Patients Treated for Renal Cell Carcinoma: Are Further Improvements Needed? **European Urology** 2010; 58:588–595.

Anexo 5 - Classificação TNM de 2009 da “American Joint Committee on Cancer’s AJCC Cancer Staging”

Tx	Tumor primário não pode ser avaliado.
T0	Ausência de evidência de tumor primário.
T1	Tumor ≤ 7 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T1a	Tumor ≤ 4 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T1b	Tumor > 4 cm e ≤ 7 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T2	Tumor > 7 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T2a	Tumor > 7 cm e ≤ 10 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T2b	Tumor > 7 cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T3	Tumor com extensão até grandes vasos ou tecido perinefrético e não ultrapassa fâscia de Gerota.
T3a	Tumor invade seio e/ou gordura perinéfrica mas não ultrapassa fâscia de Gerota e/ou com extensão ate veia renal ou seus ramos segmentares.
T3b	Tumor com extensão até veia cava infra-diafragmática
T3c	Tumor com extensão até veia cava supra-diafragmática
T4	Tumor com invasão além da fâscia de Gerota (inclusive invasão contigua da glândula adrenal ipsilateral).
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados.
N0	Ausência de metástases linfonodais.
N1	Presença de metástase em linfonodos regionais.
M0	Ausência de metástases a distância.
M1	Presença de metástases a distância.

Anexo 6 - Estadiamento clínico de 2009 da “American Joint Committee on Cancer’s AJCC Cancer Staging”

Estágio clínico	T	N	M
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T1 ou T2	N1	M0
	T3	N0 ou N1	M0
IV	T4	Qualquer N	M0
	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: Novara G, Ficarra V, Antonelli A, et al. Validation of the 2009 TNM Version in a Large Multi-Institutional Cohort of Patients Treated for Renal Cell Carcinoma: Are Further Improvements Needed? **European Urology** 2010; 58:588–595.

Anexo 7 - Carta de aceitação Artigo 2 (01.08.13)

Accept Online Early - BJU-2013-0776.R2

Dear Dr. Walter da Costa

PBRM1, a SWI/SNF complex subunit is a prognostic marker in clear cell renal cell carcinoma.

Thank you for sending your Manuscript to the BJU International.

I am pleased to inform you that your paper has been reviewed and has been accepted to appear in the Journal in print and as an 'OnlineEarly' publication.

OnlineEarly articles are complete, full-text articles published online, in advance of their publication in a printed issue.

1. All corresponding authors will need to collect and keep on file ICMJE COI forms from each co-author, and add a full Conflicts of Interest statement to their manuscript that includes everything stated on the ICMJE COI forms for each co-author and themselves.

2. Your article cannot be published until the publisher has received the appropriate signed License Agreement. Within the next few weeks the corresponding author will receive an email from Wiley's Author Services system which will ask them to log in and will present them with the appropriate license for completion.

3. Please allow up to two months from the date of acceptance for receipt of your proofs.

Yours sincerely,

Prokar Dasgupta, MSc, MD, DLS, FRCS (Urol), FEBU

Editor-in-Chief

BJU International