

**EXPRESSÃO IMUNOISTOQUÍMICA E VALOR
PROGNÓSTICO DA RENINA EM CARCINOMA DE
CÉLULAS RENAIAS: ESTUDO MULTICÊNTRICO
INTERNACIONAL**

FELIPE DE ALMEIDA E PAULA

**Dissertação apresentada à Fundação Antônio
Prudente para obtenção do título de Mestre
em Ciências**

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Dr. Stênio de Cássio Zequi

Co-Orientador: Dr. Walter Henriques da Costa

São Paulo

2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Paula, Felipe de Almeida

Expressão imunoistoquímica e valor prognóstico da renina em carcinoma de células renais: estudo multicêntrico internacional / Felipe de Almeida e Paula - São Paulo, 2018.

125p.

Dissertação (Mestrado)-Fundação Antônio Prudente.

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

Orientador: Stênio de Cássio Zequi

Descritores: 1. Carcinoma de Células Renais/Carcinoma, Renal Cell. 2. Imuno-Histoquímica/Immunohistochemistry. 3. Prognóstico/Prognosis. 4. Renina/Renin. 5. Estudos Multicêntricos como Assunto/Multicenter Studies as Topic.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Fernando e Eliana,
alicerces que de uma forma ou outra sustentaram bonanças e
tempestades, sempre me impulsionando em busca de realizações.

Sou eternamente grato.

À minha irmã Fernanda,
Leve, alegre, de sorriso fácil, exemplo de como a vida pode ser mais
amena. Caminharemos sempre juntos.

À minha companheira Ayeska,
meu passado, meu presente e meu futuro.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Stênio de Cássio Zéqui, parceiro em projetos associativos, amigo, orientador e modelo a ser seguido. Mente privilegiada e absolutamente infatigável. Um homem transformador do meio em que está inserido e das pessoas que estão à sua volta. Sou muito grato pelos momentos de convivência, por partilhar a construção do estudo que idealizou, por todos os ensinamentos e as várias oportunidades que me ofertou. A jornada é agradavelmente infundável e eu sempre estarei lá.

Ao Prof. Dr. Walter Henriques da Costa, meu co-orientador, amigo e incentivador. Pesquisador nato, ágil e sempre prestativo, por se fazer presente em todas as fases do projeto possibilitando a concretização do estudo, bem como meu engrandecimento pessoal.

À Dra. Isabela Werneck da Cunha e Dra. Stephania Martins Bezerra, excelsas patologistas, pela constante e trabalhosa colaboração, paciência e comprometimento com o projeto.

Ao Hospital A.C.Camargo Cancer Center e seu programa de pós-graduação pela receptividade e oportunidade oferecida.

Ao Prof. Dr. Ademar Lopes, diretor do Departamento de Cirurgia Pélvica do A.C.Camargo Cancer Center, o apoio, estrutura e facilitação.

Ao Dr. Gustavo Cardoso Guimarães, então chefe do Núcleo de Urologia do A.C.Camargo Cancer Center, o acolhimento e inserção junto ao grupo.

Aos colegas do Núcleo de Urologia do A.C.Camargo Cancer Center, a aceitação, integração e os bons momentos quando juntos.

Aos amigos Dr. Deusdedit Cortez Vieira da Silva Neto e Dr. Daniel Beltrame Ferreira, antecessores nas linhas de pesquisa, pela amizade e auxílio.

À Enfa. Thais Safranov Giuliangelis, por toda sua ajuda e competência na organização do banco de dados para os estudos.

Às Sras. Luciana Costa Pitombeira, Karla Cristina Brito de Barros, Cássia Regina Dias Ramos, Vanuza Barros Rodrigues de Oliveira e Ana Maria Rodrigues Alves Kuninari da Pós-Graduação do A.C.Camargo Cancer Center, o direcionamento e o constante ânimo prestativo.

À Sra. Sandra Fabiana de Almeida, do Comitê de Ética em Pesquisa do A.C.Camargo Cancer Center, o valoroso auxílio e pronto esclarecimento sempre que solicitada.

À Sra. Suely Francisco, bibliotecária chefe do A.C.Cancer Center, por sua especial atenção relativa ao levantamento bibliográfico e diagramação dessa dissertação.

Aos amigos que a pós-graduação me proporcionou, pelo companheirismo e auxílio mútuo, em especial à Maryane Caroline de Toledo, que se fez presente por mim quando eu estava à distância.

Aos meus professores do Departamento de Urologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP) e associados Dr. Luiz Antônio Correa, Dr. José Goldberg, Dr. Fernando da Rocha Câmara, Dr. Carlos Alberto Monte Gobbo, Dr. João Luiz Amaro, Dr. José Carlos Souza Trindade Filho, Dr. Aparecido Donizete Agostinho, Dr. Carlos Márcio Nóbrega de Jesus, Dr. Hamilto Akihissa Yamamoto, Dr. Paulo Roberto Kawano, Dr. Oscar Eduardo Hidetoshi Fugita, Dra. Andreia Cavalcante Amorim, Dr. Marcelo de Paula Galesso, Dr. Roberto Marins de Carvalho, que me

prepararam da melhor forma possível para enfrentar todos os desafios que a disciplina viria a me oferecer, e sem dúvida a pós-graduação se encontra entre eles.

Ao Dr. Marcelo de Paula Galesso, irmão, parceiro, pelos excelentes momentos que partilhamos dentro e fora do país, em estágio internacional, onde conjuntamente iniciamos nossa "vida laparoscópica". Seus estímulos e confiança depositada foram cruciais.

Aos amigos irmãos Dr. Filemon Silva Casafus, Dr. Marcelo Cerqueira, Dr. Márcio André Sales e Dr. Renato da Silva Pires, pela amizade, paciência e companheirismo, seguimos juntos pelos caminhos da residência médica e continuamos igualmente lado a lado até os dias de hoje.

Aos amigos urologistas Dr. Aguinaldo Cesar Nardi, Dr. Ubirajara Ferreira, Dr. Archimedes Nardozza Júnior, Dr. Rodolfo Borges dos Reis e Dr. Roni de Carvalho Fernandes, expoentes profissionais e fontes de experiência frente à vida associativa, que me possibilitaram a vivência dentro da Sociedade Brasileira de Urologia, entre outros ganhos intensificando meu contato com a pesquisa e os amigos do A.C.Camargo Cancer Center.

Ao Dr. Enio Luiz Tenório Perrone, Dr. Carlos Roberto Felipe e Dr. Lorival de Matos Rodrigues, urologistas empreendedores e realizadores, que me receberam e tornaram-se sustentáculos de toda minha jornada que estava por vir.

Ao Dr. Sílvio Roberto Felipe Bueno, Dr. Claudionor Inácio Pelaez e Dr. Matheus Alessi Rodrigues, pela amizade, parceria e convívio diário.

Ao Dr. Ravísio Israel dos Santos Júnior, amigo, irmão, sócio, exímio urologista, por toda serenidade, força e união em todos os momentos de nossa caminhada conjunta. Dentro e fora do nosso ofício, seu apoio sempre foi fundamental.

À Santa Casa de Presidente Prudente e o Hospital Regional do Câncer de Presidente Prudente, minhas casas, pela estrutura, apoio e oportunidade em trabalhar com a oncologia.

À Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), instituição onde leciono há 10 anos, pelo prazeroso contato com as salas de aula e o constante estímulo pela busca do conhecimento através da ciência.

RESUMO

Paula FA. **Expressão imunoistoquímica e valor prognóstico da renina em carcinoma de células renais: estudo multicêntrico internacional.** São Paulo; 2018. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Introdução e objetivo: Apesar do aumento da incidência do carcinoma de células renais células claras (CCRcc) localizado, os índices relacionados de mortalidade continuam subindo. Os atuais recursos prognósticos clínicos e patológicos não são suficientemente precisos para distinguir pacientes com baixo ou alto risco de progressão da doença ou morte. A incorporação de biomarcadores moleculares pode ajudar a distinguir neoplasias com diferentes comportamentos, bem como auxiliar na predição de tumores com potencial metastático. Poucos estudos foram focados nos produtos endócrinos do rim. Nosso objetivo foi estudar a expressão imunoistoquímica intratumoral da renina, uma enzima produzida pelas células granulares justaglomerulares no córtex renal, e seu papel como fator prognóstico para a sobrevida ou recidiva do câncer. **Material e método:** foram selecionados 558 pacientes com CCRcc da base de dados do *Latin American Renal Cancer Group*, submetidos à nefrectomia radical ou parcial entre 1990 e 2016. Todos os casos foram revisados por uropatologistas experientes e, em cada caso, duas amostras distintas obtidas para a construção do *tissue microarray*. O método da avidina-biotina-peroxidase foi usado e a leitura realizada manualmente através de microscopia óptica. Taxas de sobrevida global (SG), câncer específica (SCE), e livre de doença (SLD) foram analisados em 10 anos. **Resultados:** o padrão de expressão nuclear da renina mostrou-se qualitativamente positivo em 402 casos (72%) e negativo em 156 (28%). A baixa expressão de renina associou-se com maior prevalência de tumores com altos graus nas classificações de ISUP e Fuhman ($p < 0,001$), invasão venosa microscópica ($p = 0,046$), invasão da veia renal ($p = 0,026$), disseminação linfonodal ($p = 0,05$) e doença metastática

ao diagnóstico ($p=0,003$). Nas análises multivariadas, a ausência de expressão de renina foi fator prognóstico desfavorável para SG (RR=2,008; $p=0,018$), SCE (RR=2,040; $p=0,037$) e SLD (RR=2,923; $p<0,001$). Sobre a expressão quantitativa da renina, a determinação de um ponto de corte ≤ 35 foi associado independentemente a piores taxas de SLD (RR=4,085; $p<0,001$). **Conclusão:** o perfil de expressão imunoistoquímico de renina intratumoral oferece valiosos dados prognósticos em relação à morte e principalmente recorrência relacionadas ao CCRcc.

SUMMARY

e Paula FA. [Immunohistochemical expression and prognostic value of renin in renal cell carcinoma: an international multicenter study]. São Paulo; 2018. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Introduction and Purpose: Despite the increased incidence of localized clear-cell renal cell carcinoma (ccRCC), its related mortality rates continue to rise. The usual clinical and pathologic prognostic are not sufficiently accurate to distinguish patients with low or high risks for disease progression or death. The incorporation of molecular biomarkers can help in distinguish diseases with different behaviors, as well as help in predicting tumors with metastatic potential. Few studies have been focused in the endocrine products of the kidney. We aimed to study the intratumoral immunohistochemical expression of the renin, an enzyme produced by juxtaglomerular granular cells in the renal cortex, and its role as a prognostic factor for cancer survival or recurrence. **Material and method:** We selected 558 patients with ccRCC from *Latin American Renal Cancer Group* database, undergone radical or partial nephrectomy between 1990 and 2016. All cases were revised by expert uropathologists and, from each case, two distinct samples were obtained for the tissue microarray construction. Streptavidin biotine peroxidase method was used and the reading was manual by optical microscope. Ten years overall survival (OS), cancer specific survival (CSS), and disease free survival (DFS) were analyzed. The renin expression was qualitatively classified as negative or positive. For quantitative analysis a cut-point was estimate using the maximum of the standardized log-rank statistic proposed by Lausen and Schumacher. **Results:** the renin nuclear expression pattern was qualitatively positive in 402 cases (72%) and negative in 156 (28%). The negative renin expression was associated with the prevalence high grade tumors (scored for ISUP and Furhman classifications, both $p < 0.001$), more microscopic venous invasion ($p = 0.046$), renal vein invasion

($p=0.026$), lymph node ($p=0.05$) and metastatic disease at presentation ($p=0.003$). In the multivariate analyzes, the qualitative negative renin expression was an unfavorable prognostic factor for OS (RR=2.008, $p=0.018$), CSS (RR=2.040, $p=0.037$) and DFS (RR=2.923, $p<0.001$). On the quantitative renin expression, the cutoff point ≤ 35 was associated with worse DFS (RR=4.085, $p<0.001$). **Conclusion:** The intratumoral immunohistochemical expression profile of renin in patients with ccRCC, offers valuable prognostic data regarding death and mainly in cancer recurrence odds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mortalidade proporcional não ajustada por câncer de rim, homens e mulheres, Brasil, entre 1979 e 2013.....	5
Figura 2	Taxas de mortalidade por câncer de rim, brutas e ajustadas por idade, pelas populações mundial e brasileira de 2010, por 100.000 homens, Brasil, entre 1979 e 2013	5
Figura 3	Frequência de mutações em CCRcc.....	23
Figura 4	Modelo de desenvolvimento do CCRcc	26
Figura 5	Esquema representativo das zonas renais cortical e medular (néfron e sistema coletor).....	30
Figura 6	O aparelho justaglomerular, suas porções e funções	31
Figura 7	Demonstração esquemática do método de TMA	44
Figura 8	Gráfico descritivo de Boxplot demonstrando os graus de expressão de renina em amostragem de tecido não neoplásico (n=80) e em CCRcc (n=558).....	61
Figura 9	Fotomicrografia exibindo a expressão imunoistoquímica nuclear da renina em parte dos túbulos renais do parênquima renal não neoplásico.....	62
Figura 10	Fotomicrografia de tecido benigno exibindo a expressão imunoistoquímica nuclear da renina em glomérulos renais	63

Figura 11	Fotomicrografia de tecido benigno exibindo expressão imunoistoquímica nuclear da renina, em maior aumento, em um glomérulo renal	64
Figura 12	Fotomicrografias das expressões imunoistoquímicas da renina.....	65
Figura 13	Curva de sobrevida global em 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc.....	73
Figura 14	Curva de sobrevida global aos 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc estratificados em expressão de renina negativa e positiva	77
Figura 15	Curva de sobrevida global aos 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc estratificados em expressão de renina abaixo ou igual a 35, e acima de 35.....	78
Figura 16	Curva de sobrevida câncer específica em 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc.....	80
Figura 17	Curva de sobrevida câncer específica aos 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc estratificados em expressão de renina negativa e positiva	84
Figura 18	Curva de sobrevida câncer específica aos 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc estratificados em expressão de renina abaixo ou igual a 35, e acima de 35	85
Figura 19	Curva de sobrevida livre de doença em 120 meses para os 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos	87

Figura 20	Curva de sobrevida livre de doença aos 120 meses para os 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos estratificados em expressão de renina negativa e positiva.....	91
Figura 21	Curva de sobrevida livre de doença aos 120 meses para os 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos estratificados em expressão de renina abaixo ou igual a 35, e acima de 35	92

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	Tipos histológicos e respectivas alterações citogenéticas dos carcinomas de células renais.....	7
Quadro 2	Fatores prognósticos para o carcinoma de células renais.....	12
Tabela 1	Variáveis epidemiológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.....	56
Tabela 2	Variáveis clínicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG	57
Tabela 3	Variáveis terapêuticas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.....	58
Tabela 4	Variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.....	59
Tabela 5	Variáveis relacionadas ao estadiamento de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG	60
Tabela 6	Desfechos clínicos após tratamento do tumor primário e situação clínica aos 10 anos do estudo de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG	60
Tabela 7	Expressão qualitativa da renina segundo variáveis clínicas e demográficas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG	66
Tabela 8	Expressão qualitativa da renina segundo variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG	67

Tabela 9	Expressão qualitativa da renina segundo variáveis relacionadas ao estadiamento patológico de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG	68
Tabela 10	Expressão quantitativa da renina segundo variáveis clínicas e demográficas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.....	70
Tabela 11	Expressão quantitativa da renina segundo variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG	71
Tabela 12	Expressão quantitativa da renina segundo variáveis relacionadas ao estadiamento patológico de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG	72
Tabela 13	Probabilidade acumulada de sobrevida global em 10 anos segundo variáveis clínicas e demográficas de 558 pacientes portadores de CCRcc.....	74
Tabela 14	Probabilidade acumulada de sobrevida global em 10 anos segundo variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc.....	75
Tabela 15	Probabilidade acumulada de sobrevida global em 10 anos segundo variáveis relacionadas ao estadiamento de 558 pacientes portadores de CCRcc	76
Tabela 16	Probabilidade acumulada de sobrevida global em 10 anos segundo o grau de expressão da renina de 558 pacientes portadores de CCRcc.....	77
Tabela 17	Risco de óbito por variáveis em portadores de CCRcc, incluindo a expressão qualitativa de renina	79

Tabela 18	Probabilidade acumulada de sobrevida câncer específica em 10 anos segundo variáveis clínicas e demográficas de 558 pacientes portadores de CCRcc	81
Tabela 19	Probabilidade acumulada de sobrevida câncer específica em 10 anos segundo variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc	82
Tabela 20	Probabilidade acumulada de sobrevida câncer específica em 10 anos segundo variáveis relacionadas ao estadiamento de 558 pacientes portadores de CCRcc	83
Tabela 21	Probabilidade acumulada de sobrevida câncer específica em 10 anos segundo o grau de expressão da renina de 558 pacientes portadores de CCRcc	84
Tabela 22	Risco de óbito câncer específico por variáveis em portadores de CCRcc, incluindo a expressão qualitativa de renina.....	86
Tabela 23	Probabilidade acumulada de sobrevida livre de doença em 10 anos segundo variáveis clínicas e demográficas de 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos.....	88
Tabela 24	Probabilidade acumulada de sobrevida livre de doença em 10 anos segundo variáveis anatomopatológicas de 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos.....	89
Tabela 25	Probabilidade acumulada de sobrevida livre de doença em 10 anos segundo variáveis relacionadas ao estadiamento de 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos.....	90
Tabela 26	Probabilidade acumulada de sobrevida livre de doença específica em 10 anos segundo o grau de expressão da renina de 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos	91

Tabela 27	Risco de recidiva da doença por variáveis em portadores de CCRcc não metastáticos, incluindo a expressão qualitativa de renina	93
Tabela 28	Risco de recidiva da doença por variáveis em portadores de CCRcc não metastáticos, incluindo a expressão quantitativa de renina	93

LISTA DE ABREVIATURAS

ACS	American Cancer Society's
AJCC	American Joint Comitte on Cancer
ASA	American Society of Anesthesiology
BAP1	BRCA1 associated protein-1 ubiquitin carboxy-terminal hydrolase
CCR	Carcinoma de Células Renais
CCRcc	Carcinoma de Células Renais células claras
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
COSMIC	Catálogo de Mutações Somáticas em Câncer
CTT	Células-Tronco Tumerais
DHL	Desidrogenase Láctica
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status
EPO	Eritropoetina
FISH	Hibridação <i>in situ</i> por Fluorescência
HE	Hematoxilina e Eosina
HIF-1α	Fator Induzido por Hipóxia-1
IFN	Interferon-alfa
IGP	Invasão da Gordura Perinefrética
IL-2	Interleucina-2
IMV	Invasão Microvascular
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ISR	Invasão do Seio Renal
ISUP	International Society of Urological Pathology
KPS	Karnofsky's Performance Status
LARCG	Latin American Renal Cancer Group
MCP	Margens Cirúrgicas Positivas
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
NOS	Sintases do Óxido Nítrico
NP	Nefrectomia Parcial

NR	Nefrectomia Radical
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBRM1	Polybromo 1
PDGF- β	Fator de Crescimento Derivado das Plaquetas
PTEN	Fosfatase Homóloga à Tensina
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatístico
SCE	Sobrevida Câncer Específica
SEDT2	SET domain containing 2
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results Program
SG	Sobrevida Global
SLD	Sobrevida Livre de Doença
SPSS	Statistical Package for Social Science
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
SSIGN	Mayo Clinic Stage, Size, Grade and Necrosis
SWI/SNF	Switch/Sucrose non fermentable
TMA	Microarranjo de tecido
TNM	Tumour-Node-Metastasis
UCLA	University of California Los Angeles
UISS	UCLA Integrate Staging System
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
VHL	Von Hippel-Lindau
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
WT1	Gene Supressor do Tumor de Wilms

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Justificativa do estudo	1
1.2	Revisão da literatura.....	3
1.2.1	Epidemiologia	3
1.2.2	Classificação histológica	6
1.2.3	Tratamento	8
1.3	Fatores prognósticos	11
1.3.1	Fatores clínicos, anatômicos e histopatológicos	11
1.3.2	Fatores biomoleculares e o CCR.....	20
1.3.3	A renina	29
1.3.4	A angiotensinogenase e o câncer	33
2	OBJETIVOS	37
3	CASUÍSTICA E MÉTODOS	38
3.1	População do estudo	38
3.1.1	Crítérios de inclusão	38
3.1.2	Crítérios de exclusão	38
3.2	Metodologia	39
3.2.1	Diagnóstico e estadiamento	40
3.2.2	Procedimento cirúrgico	41
3.2.3	Seguimento	41
3.3	O microarranjo de tecido (TMA)	42
3.3.1	A construção do TMA	45
3.3.2	Técnica imunoistoquímica	46
3.3.3	Análise das reações	47
3.4	Estatística	48
3.5	Análise de riscos e aspectos éticos.....	50
3.6	Casuística.....	51

4	RESULTADOS	61
4.1	Reações imunoistoquímicas da renina	61
4.1.1	Análise qualitativa da expressão de renina	64
4.1.2	Análise quantitativa da expressão de renina	69
4.2	Análise de sobrevida	73
4.2.1	Sobrevida global (SG)	73
4.2.2	Sobrevida câncer específica (SCE).....	80
4.2.3	Sobrevida livre de doença (SLD).....	87
5	DISCUSSÃO	94
5.1	Aspectos gerais	94
5.2	Expressão de renina.....	99
6	CONCLUSÕES	106
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

ANEXOS

- Anexo 1** *Karnofsky's Performance Status (KPS)*
- Anexo 2** *Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG)*
- Anexo 3** *Classificação TNM da AJCC Cancer Staging Manual 2017*
- Anexo 4** *Estadiamento clínico da AJCC Cancer Staging Manual 2017*
- Anexo 5** *Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do A.C.Camargo Cancer Center, para o projeto temático*
- Anexo 6** *Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do A.C.Camargo Cancer Center, para o projeto afiliado*

APÊNDICE

- Apêndice 1** *Ficha de levantamento de dados*

1 INTRODUÇÃO

1.1 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

O carcinoma de células renais (CCR) compreende aproximadamente 3% de todas as neoplasias malignas do adulto. Dentre os tumores urológicos mais frequentes é o mais letal, sendo que 30 a 40% desses pacientes irão morrer devido à doença (LANDIS et al. 1999; PANTUCK et al. 2001).

No decorrer das últimas décadas, tem se registrado o crescimento progressivo da incidência do CCR, chegando a elevar-se cerca de 3% ao ano. Tal progressão relaciona-se em especial aos tumores incidentais em estadio inicial, onde as taxas alcançam até 4% ao ano, e tem sido tradicionalmente atribuída ao aumento da utilização dos métodos de diagnóstico por imagem (CHOW et al. 1999; HOLLINGSWORTH et al. 2006). No entanto, esse panorama tem se alterado e publicações recentes evidenciam o declínio do uso de exames de imagem, justificado principalmente pela tentativa de minimizar as morbidades referentes ao emprego da radiação ionizante (SMITH-BINDMAN et al. 2012). A frequência de uso da tomografia computadorizada estabilizou-se em 2007, e passou a diminuir após 2009, período no qual a incidência do CCR persistiu em sua curva ascendente. Ademais, se o aumento da incidência atribui-se exclusivamente à melhoria da capacidade de detecção da doença clinicamente localizada, subentende-se que essas taxas deveriam estabilizar

em determinado momento, e que a proporção de pacientes com doença localmente avançada ou metastática deveria diminuir ao longo do tempo. Infelizmente, os achados atuais indicam que não existe esse decréscimo concomitante, nem tendência a longo prazo para que isso ocorra (GANDAGLIA et al. 2014).

Contribuindo também para o aumento da incidência estão alguns fatores etiológicos, que mesmo sem um paralelismo exato entre exposição e impacto, são sabidamente envolvidos. O tabaco, o índice de massa corpórea e a hipertensão estão associados ao aumento do risco de CCR. Nas últimas décadas, a mudança do estilo de vida e dos padrões dietéticos populacionais acarretaram em um crescimento epidêmico da obesidade e de suas implicações (CHOW et al. 2000; HUNT et al. 2005; RENEHAN et al. 2008).

Outra constatação importante consiste do aumento das taxas de mortalidade por doença localizada, mesmo em anos contemporâneos. Isso nos remete à idéia de que apesar do prognóstico desses pacientes ter se mostrado favorável, parte dos casos detectados precocemente não sejam clinicamente insignificantes como se imaginou (NGUYEN et al. 2006; LJUNGBERG et al. 2010). Além disso, a inesperada desconexão entre o tratamento ativo dos tumores localizados e o aumento das taxas de mortalidade, mesmo que a intervenção cirúrgica permaneça como a modalidade de escolha, pode ser sugestiva de *overtreatment* (WELCH e BLACK 2010). Atualmente advoga-se que com o aumento de diagnósticos incidentais e o envelhecimento da população, a observação vigilante e a

utilização de técnicas ablativas minimamente invasivas podem ser consideradas opções para pacientes com pequenas massas renais, visando minimizar riscos. Dados sugerem que o atraso da intervenção não comprometeria o período de curabilidade (CRISPEN et al. 2008a; CAIRNS 2010).

O aumento da incidência do CCR localizado e o dilema clínico a respeito da melhor conduta terapêutica a ser adotada ainda não são claros. Alguns pacientes com pequenos tumores não vivem tempo suficiente para se beneficiar da cirurgia, enquanto outros abrigam fenótipos agressivos da doença. Os critérios baseados nas características do tumor e em modelos de nomogramas não são precisos (MOTZER et al. 2004; LAM et al. 2005). Portanto, a melhoria da seleção dos candidatos que serão beneficiados com o tratamento ativo faz-se imperativa, e um caminho promissor parece ser o estudo de biomarcadores moleculares. A adequada identificação dessas proteínas pode ajudar a distinguir doenças com comportamento indolente ou agressivo, bem como auxiliar na predição de tumores com potencial metastático.

1.2 REVISÃO DA LITERATURA

1.2.1 Epidemiologia

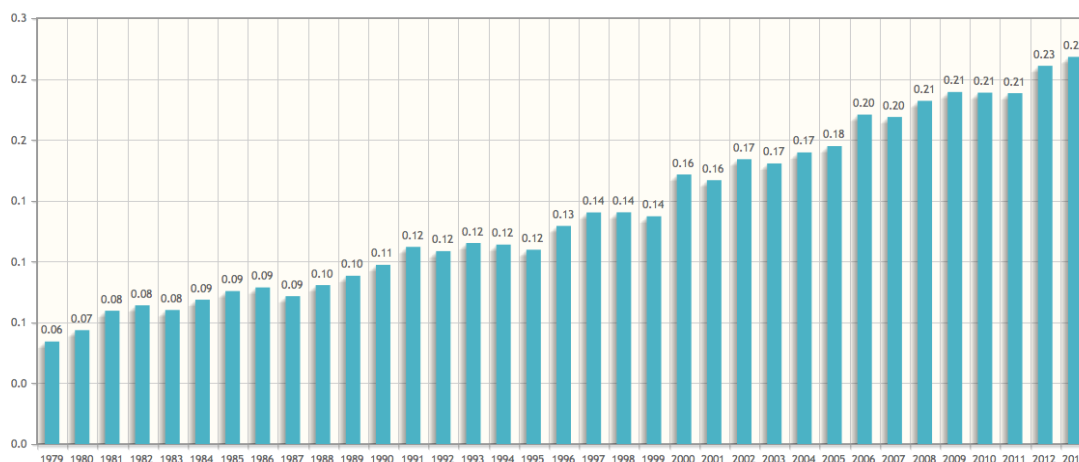
O CCR é a sétima neoplasia mais comum em homens e a décima mais comum em mulheres. É um tumor mais frequente em homens, com uma proporção de 3:2 em relação ao sexo feminino e tem média de idade de

apresentação aos 64 anos, quando do diagnóstico (WOLDRICH et al. 2008; HOWLADER et al. 2014).

A incidência do CCR tem aumentado globalmente, e nos tempos atuais representa aproximadamente 3% de todos os casos novos de câncer no mundo (JEMAL et al. 2009). Segundo fontes norte-americanas para o ano de 2015 estão previstos 61.560 novos casos de CCR (38.270 homens e 23.290 mulheres) naquele país. Aproximadamente 14.080 pessoas (9.070 homens e 5.010 mulheres) irão morrer da doença (American Cancer Society's-ACS 2015). No Brasil não encontramos dados nas estatísticas oficiais, inclusive não figurando o CCR dentre as neoplasias mais frequentes no site do Instituto Nacional do Câncer - INCA (Ministério da Saúde 2014). No entanto publicações apontam que a incidência no país varia de 7 a 10 casos por 100.000 habitantes / ano, principalmente nas regiões industrializadas (WÜNSCH-FILHO 2002). Contrariando as estimativas de incidência estáveis ou em declínio de 70% dos cânceres mais frequentes no Brasil e no mundo, o CCR exhibe taxas em progressão a exemplo dos tumores de próstata, mama e cólon / reto. Tal avanço registrado desde a década de 70 tem sido atribuído ao aumento da utilização dos métodos de imagem para avaliação de uma variedade de queixas abdominais. No Brasil 73,4% dos diagnósticos de CCR são dados pela ultrassonografia e 19,1% pela tomografia computadorizada (NARDI et al. 2010).

O aumento da incidência deve-se principalmente ao crescimento proporcional da descoberta de tumores incidentais e localizados. Entretanto outros pontos devem ser considerados pois CHOW et al. (1999)

evidenciaram constante aumento das taxas de mortalidade devido ao CCR por unidade populacional desde os anos 80, o que foi observado em ambos os sexos e em todos os grupos étnicos. No Brasil, as taxas de mortalidade nas últimas décadas acompanham a tendência mundial de progressão (Figuras 1 e 2).

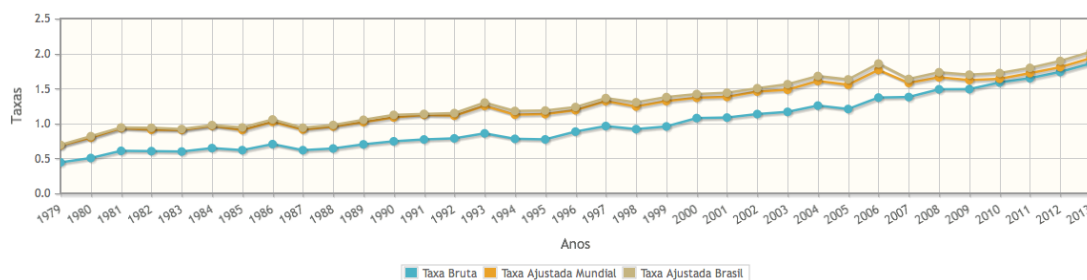


Fontes: MS/SVS/DASIS/CGIAE/Sistema de Informação sobre Mortalidade - SIM

MP/Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE

MS/INCA/Conprev/Divisão de Vigilância

Figura 1 - Mortalidade proporcional não ajustada por câncer de rim, homens e mulheres, Brasil, entre 1979 e 2013.



Fontes: MS/SVS/DASIS/CGIAE/Sistema de Informação sobre Mortalidade - SIM

MP/Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE

MS/INCA/Conprev/Divisão de Vigilância

Figura 2 - Taxas de mortalidade por câncer de rim, brutas e ajustadas por idade, pelas populações mundial e brasileira de 2010, por 100.000 homens, Brasil, entre 1979 e 2013.

O aumento das taxas de mortalidade independente da crescente incidência de tumores em estadio inicial, implica que a melhoria da capacidade diagnóstica pode estar sendo superada pelo provável aumento da prevalência de alguns fatores de risco para essa doença. Entre eles estão tabagismo, obesidade, hipertensão arterial, diuréticos, anti-hipertensivos, história familiar de CCR, insuficiência renal crônica, esclerose tuberosa, doença renal cística adquirida, e causas ocupacionais como exposição ao asbesto, gasolina ou tricloroetileno (solvente industrial) (LIPWORTH et al. 2006). É importante ressaltar que apenas 2 a 5% das apresentações estão relacionadas às síndromes de alto risco para CCR, como a síndrome de Von Hippel-Lindau, a síndrome de Birt-Hogg-Dube e a síndrome do carcinoma renal papilífero hereditário (EDGE et al. 2009).

1.2.2 Classificação histológica

Dentre os tumores renais de maior incidência, sobressaem-se os grupos das neoplasias epiteliais e os tumores mesenquimais. O termo carcinoma de células renais designa as neoplasias parenquimatosas renais de origem epitelial com potencial maligno.

A classificação dos tumores urogenitais da Organização Mundial da Saúde (OMS) proposta em 2004 e revisada em 2016 através de sua quarta edição, contém alterações significativas bem como novas entidades tumorais. Entre os tumores renais epiteliais recentemente reconhecidos estão o CCR associado à leiomiomatose hereditária, associado à deficiência de succinato desidrogenase, associado à doença renal cística adquirida,

carcinoma tubulocístico, e o papilífero de células claras (MOCH et al. 2016).

O quadro seguinte apresenta os tipos histológicos de CCR e suas respectivas alterações citogenéticas.

Quadro 1 - Tipos histológicos e respectivas alterações citogenéticas dos carcinomas de células renais

<i>Tipo histológico</i>	<i>Alterações citogenéticas</i>
Células claras	-3p, +5q22, -6q, -8p, -9p, -14q
Papilífero	+3q, +7, +8, +12, +16, +17, +20, -Y
Cromóforo	-1, -2, -6, -10, -17, -21, hipoploidia
Ductos coletores (Bellini)	-1q, -6p, -8p, -13q, -21q, -3p
HLCCR - Leiomiomatose hereditária e carcinoma das células renais hereditário	Mutação no gene LmjF24.0320 da enzima fumarato hidratase (autossômica dominante)
Medular	Perda do cromossomo 22
Translocação da família MiTF-TFE (Xp11)	t(X;1)(p11.2;q21), t(X;17)(p11.2;q25)
Deficiência de succinato desidrogenase	Mutação do gene SDHB (linhagem germinativa)
Tubular mucinoso e de células fusiformes	-1, -4, -6, -8, -13, -14 +7, +11, +16, +17
Tubulocístico	Mutações em ABL1 e PDGFA
Associado à doença renal cística adquirida	Ganhos de cromossomos 3, 7, 16 e Y
Inclassificável	Desconhecido
Papilífero de células claras	Sem alterações características de células claras ou papilíferos
Multilocular cística de baixo potencial de malignidade	Mutação do gene VHL

Fonte: Adaptado de MOCH et al. (2016).

É importante 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).

1.2.3 Tratamento

A sustentação da enorme maioria dos planejamentos terapêuticos para o CCR encontra-se nos procedimentos cirúrgicos. Dentre esses, conceitualmente utilizamos a cirurgia de extirpação total do órgão, nefrectomia radical (NR); ou a cirurgia preservadora de néfrons, nefrectomia parcial (NP). A primeira, descrita inicialmente por ROBSON et al. em 1969 vigorou por muitos anos como o tratamento padrão para os tumores considerados operáveis. O procedimento envolve a completa remoção do rim, cápsula de Gerota, ureter proximal e, particularmente da glândula supra-renal ipsilateral apenas quando os achados radiológicos ou intra-operatórios sugerirem invasão direta ou metastática (CAMPBELL et al. 2017).

A princípio a NP foi empregada de modo sistemático apenas para portadores de insuficiência renal estabelecida ou iminente, tumores bilaterais, rins únicos e síndromes familiares de CCR nos quais as chances de recidiva tumoral são muito elevadas. Atualmente a cirurgia preservadora de néfrons é o padrão de tratamento para o CCR localizado, especialmente para os tumores inferiores a 4cm (LJUNGBERG et al. 2015). A equivalência oncológica e os melhores resultados funcionais da NP quando comparada à NR para os CCR T1a têm sido amplamente relatados. Um grande estudo multicêntrico internacional sugeriu a viabilidade e segurança em expandir as indicações de NP para os tumores T1b (PATARD et al. 2004a), o que

concatenou com recentes publicações demonstrando não haver diferenças relativas às sobrevidas global e câncer específica, inclusive a longo prazo, que sejam atribuíveis a escolha da técnica (CAI et al. 2017).

A cirurgia pode ser realizada por via aberta, laparoscópica ou laparoscópica robô-assistida. As vantagens da abordagem minimamente invasiva são inegáveis e figuram menor tempo de convalescença, dor pós-operatória, sangramento, melhores resultados estéticos, entre outros benefícios. No entanto, a utilização ou não da plataforma robótica para as nefrectomias ainda é foco de discussão. A utilização do robô aumentou em muito o acesso dos pacientes aos procedimentos laparoscópicos reconstrutivos, embora dados clínicos não demonstrem as mesmas lacunas de resultados para os procedimentos extirpativos. Tal circunstância é observada tanto para as comparações relativas à NR (BOGER et al. 2010), quanto para as relacionadas à NP (HAN et al. 2017).

O tratamento de massas renais exofíticas menores do que 3cm, tipicamente realizado através da NP minimamente invasiva, considerando questões clínicas, anatômicas e psicossociais, pode contemplar o uso das terapias ablativas ou mesmo de um protocolo de vigilância ativa. Dentre as terapêuticas ablativas, a crioablação tem alcançado melhores resultados oncológicos do que a radiofrequência, sendo que ambas parecem apresentar melhor preservação da função renal quando comparadas às abordagens cirúrgicas (CHODEZ et al. 2015). No entanto, ainda assim apresentam limitações importantes como a persistência tumoral pós-procedimento, a impossibilidade de controle radiológico adequado, e a falta

de dados relativos à sobrevida livre de recorrência em longo prazo. Para os pacientes com baixa expectativa de vida ou alto risco cirúrgico, especialmente com lesões menores do que 2cm, a vigilância ativa eventualmente incorporando a biópsia da massa renal é uma alternativa razoável (LALLAS et al. 2015).

Para o CCR metastático, a associação quando possível da NR citorrredutora, e imunoterapia ou terapia com alvos moleculares é opção de escolha. Em casos com metástase única é possível sua ressecção cirúrgica. As imunoterapias com interferon-alfa (IFN) ou interleucina-2 (IL-2) foram consideradas como alternativas embora com resultados modestos, demonstrando taxas de respostas objetivas em torno de 12% e respostas completas em apenas 4% dos pacientes (COPPIN et al. 2005). Com o desenvolvimento da terapia alvo molecular na última década, vários agentes encontram-se hoje em protocolos de estudo: axitinibe, pazopanibe, sorafenibe, sunitinibe, everolimo ou tensirolimo. Essas drogas vêm mostrando resultados superiores à imunoterapia primária no que se refere a maior sobrevida global e menor taxa de efeitos colaterais, porém devido à intensa individualização do tratamento, a escolha do fármaco ou combinação mais apropriada continua a ser um grande desafio. Ao invés disso, recentemente, um novo passo dentro da imunoterapia tem sido buscado através dos chamados "inibidores de *checkpoint*" (ipilimumabe, por exemplo), tentando otimizar as respostas terapêuticas (IVANYI e GRÜN WALD 2015).

1.3 FATORES PROGNÓSTICOS

1.3.1 Fatores clínicos, anatômicos e histopatológicos

Os critérios classicamente utilizados como fatores prognósticos em pacientes portadores de CCR são o estágio clínico, o grau histológico de malignidade, o envolvimento linfonodal e a presença de metástases à distância (ROBSON et al. 1969; FUHRMAN et al. 1982). Dentre os pacientes com CCR não metastáticos, fatores importantes relacionados à sobrevida câncer-específica incluem sinais e sintomas clínicos, condições relativas ao tumor, e diversos achados laboratoriais. Em geral, os fatores inerentes ao próprio tumor como estágio patológico, tamanho da massa neoplásica, grau nuclear, e subtipo histológico, têm maior utilidade de forma independente. Contudo, construir uma análise multivariada utilizando-se da combinação de vários fatores que provaram ter valor isoladamente, aparenta ser mais relevante (MESKAWI et al. 2012).

Os fatores prognósticos podem ser divididos em clínicos, anatômicos e histopatológicos, conforme representado no Quadro 2.

Quadro 2 - Fatores prognósticos para o carcinoma de células renais

<i>Clínicos</i>	<i>Anatômicos</i>	<i>Histopatológicos</i>
Performance status	Tamanho	Grau nuclear
Sintomas sistêmicos	Envolvimento venoso	Subtipo histológico
Sintomático x incidental	Invasão de órgãos contíguos	Componente sarcomatóide
Anemia	Envolvimento adrenal	Presença de necrose
Hipercalemia	Metástase linfonodal	Invasão microvascular
Desidrogenase láctica elevada	Metástase à distância	Invasão da gordura perinefrética ou do hilo renal
Velocidade de hemossedimentação elevada	Doença disseminada	Invasão do sistema coletor
Proteína C reativa elevada		Status da margem cirúrgica
Trombocitose		
Fosfatase alcalina elevada		

Fonte: Adaptado de LANE e KATTAN (2008).

Achados clínicos sugestivos de pior prognóstico em portadores de CCR incluem a manifestação sintomática, a perda de mais do que 10% do peso corpóreo, e performance status ruim (LANE e KATTAN 2008). Trombocitose, albuminúria, e elevadas taxas de fosfatase alcalina, proteína C reativa, e desidrogenase láctica (DHL), correlacionam-se com piores desfechos. Embora valores laboratoriais anormais sejam mais comuns para pacientes em estágios avançados, alguns desses indicadores como hipercalemia, anemia e velocidade de hemossedimentação (VHS) aumentada, diferenciam-se em importância e são considerados preditores independentes de mortalidade câncer-específica mesmo em pacientes com doença localizada (MAGERA et al. 2008).

Vários mecanismos de avaliação e estratificação de performance clínica tem sido usados, e dentre os mais comumente aplicados para pacientes com CCR estão o *Karnofsky's Performance Status* (KPS) e o *Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status* (ECOG) - Anexos

1 e 2. Ambos tem implicações prognósticas confirmadas quando avaliados isoladamente. MOTZER et al. (2004) demonstraram que o KPS é fator preditivo independente de sobrevida para os casos de CCR metastáticos submetidos à terapias de primeira ou segunda linha. PATARD et al. (2004b) em um grande estudo multicêntrico elencando pacientes submetidos a nefrectomia para doença localizada e metastática, evidenciaram a importância prognóstica da classificação do ECOG. Outro mecanismo utilizado para dimensionar condições clínicas é a classificação pré-operatória da *American Society of Anesthesiology* (ASA). Nossa equipe publicou estudo indicando que a sobrevida câncer-específica foi influenciada pela classificação da ASA nas análises uni e multivariadas, e que os pacientes ASA 3 apresentaram mais metástases quando comparados aos dos outros grupos (DE CÁSSIO ZEQUI et al. 2010).

Quanto aos fatores anatômicos, o tamanho da massa tumoral provou ser importante fator prognóstico independente para os CCR localizados ou invasivos. Isso ocorre mesmo considerando a forte associação entre o tamanho do tumor e o estadiamento patológico, pois notadamente tumores maiores apresentam com maior frequência fatores de pior prognóstico como o alto grau nuclear. CRISPEN et al. (2008b) em uma série de 637 nefrectomias parciais para carcinomas menores do que 7 cm, mostrou que a cada 1 cm de aumento do tumor, houve decréscimo significativo nas taxas de sobrevida global, câncer-específica, livre de recorrência e de metástases.

Sobre o envolvimento venoso, temos que a extensão cefálica do trombo tumoral como fator prognóstico mantém-se como fonte de

controvérsias. No entanto, a invasão direta da parede da veia deve ser considerada um marcador prognóstico isolado, associado com alto risco de recorrência e decréscimo da sobrevida câncer-específica, classificando tal situação como pT3c independente do nível do trombo tumoral (ZINI et al. 2008).

O comprometimento adrenal, seja por contiguidade ou por metástase ipsilateral, está relacionado com altas taxas de disseminação sistêmica da doença, e portanto péssimo prognóstico. VON KNOBLOCH et al. (2009) demonstraram que pacientes com metástase adrenal, não são curados quando incorporamos rotineiramente a adrenalectomia ipsilateral simultânea à nefrectomia radical durante o tratamento do CCR. A extirpação da glândula em portadores de tumores localmente avançados não oferece benefício oncológico e posiciona uma parcela significativa de pacientes em risco de sofrer com metástase assincrônica em uma adrenal solitária (WEIGHT et al. 2011).

O envolvimento linfonodal apresenta grande impacto prognóstico. As taxas de SCE em cinco anos variam de 11% a 30%. Além disso, cerca de 50% destes casos já apresentam metástases hematogênicas sincrônicas à distância. É consensual que pacientes com doença localizada e sem evidência clínica de metástase linfonodal, não apresentam qualquer ganho de sobrevida quando submetidos à linfadenectomia. O único estudo prospectivo, randomizado, controlado descrito não mostrou diferença significativa entre os dois grupos durante período de seguimento de cinco anos (BLOM et al. 2009). Para aqueles com doença localizada e linfonodos

alterados, o benefício da dissecação ganglionar não é demonstrado, favorecendo apenas o estadiamento (LJUNGBERG et al. 2015).

Ao lado da presença de linfonodos positivos, a evidência de metástases corrobora com a queda vertiginosa do prognóstico, com taxas de sobrevida menores que 50% em 1 ano, de 5 a 30% em 5 anos, e de 0 a 5% para 10 anos. Pacientes com metástases sincrônicas associam-se com piores desfechos, morrendo pelo carcinoma entre 1 e 2 anos. Os que cursam com metástases assincrônicas, tem no intervalo livre de disseminação uma ferramenta que reflete no tempo de progressão da doença (HADDAD e RINI 2012).

Dentre os fatores histopatológicos, o grau nuclear e o subtipo histológico têm relevância significativa. Entre as classificações que utilizam-se do tamanho e da morfologia nuclear, e da presença ou ausência do nucléolo, a mais usualmente adotada é a de FUHRMAN et al. (1982). Na publicação original as taxas de sobrevida em 5 anos para os graus, que variam de 1 a 4, foram 64%, 34%, 31% e 10%, respectivamente. O grau nuclear correlaciona-se diretamente com o tamanho tumoral, presença de metástases, envolvimento linfonodal e invasão vascular (FICARRA et al. 2009). Em estudo utilizando análise multivariada, TSUI et al. (2000) reportaram que o grau de Fuhrman e o estágio clínico se apresentam como os fatores prognósticos mais relevantes. Apesar de importante para os carcinomas de células claras, não se observa a mesma acurácia para os demais tipos histológicos. Recentemente, um estudo demonstrou que sua

utilização como preditor prognóstico pode ser significativa em CCR papilíferos (DELAHUNT et al. 2013).

A importância dos subtipos histológicos incide notadamente nos extremos da classificação. Os CCR do tipo células claras tem pior prognóstico quando comparados aos papilíferos ou cromóforos, embora cada classe possa apresentar tumores pouco diferenciados que venham a ser letais (DENG e MELAMED 2012). Carcinomas dos ductos coletores, medular renal e de células renais inclassificável estão associados com rápida disseminação e óbito em curto prazo. Em contrapartida os CCR cístico multiloculado, bem como os de células fusiformes e tubular mucinoso, são indolentes, com baixo estágio à apresentação, e pouquíssimos casos de metástases relatados até então, cursando portanto com excelente prognóstico (ZHAO et al. 2015).

Ainda sobre os achados histológicos três aspectos devem ser ressaltados: a diferenciação sarcomatóide, a presença de necrose tumoral e a invasão microvascular. O padrão sarcomatóide, representado por células fusiformes pleomórficas similares às do fibrossarcoma, considerado grau 4 de Furhman, é identificado em 1 a 8% de todos os CCR e pode ser encontrado em qualquer subtipo. Entre esses pacientes, 45 a 77% apresentam doença avançada e metástases no momento do diagnóstico. O prognóstico é sombrio, com sobrevida média de 4 a 9 meses, e câncer-específica de 15 a 22% em 5 anos (HUMPHREY 2012). Em consonância, a necrose tumoral também é um fator adverso e sempre teve foco nos estudos prognósticos. Nos últimos anos, tem sido provado que a avaliação

prospectiva considerando simplesmente sua presença ou ausência, não fornece informações de forma independente. A precisão baseada na extensão da necrose é superior e então considerada fator preditivo independente de sobrevida global, incluindo tumores confinados ao órgão (KLATTE et al. 2009; RENSHAW e CHEVILLE 2015). Igualmente representativa é a invasão microvascular (IMV), aceita como fator de risco para vários cânceres, está estreitamente correlacionada com características clínicopatológicas como à recorrência tumoral e a progressão da doença. DALL'OGGIO et al. (2007) demonstraram que em pacientes submetidos à nefrectomia parcial ou radical por doença clinicamente localizada, a IMV estava presente em 26% dos casos, sendo que desses 46% apresentaram recidiva do tumor, enquanto nos casos sem a IMV apenas 6%. Assim sendo, presente em 1 de cada 5 pacientes com CCR, a IMV é fator preditor independente de disseminação metastática, bem como de sobrevida câncer-específica (KROEGER et al. 2012).

Nos atuais sistemas de classificação, a presença de invasão da gordura perinefrética (IGP) ou do seio renal (ISR), estão igualmente alocadas sugerindo impactos prognósticos similares para esses achados. Muitos estudos documentaram redução nas taxas de sobrevida em 5 anos de até 20% quando da IGP (LANE e KATTAN 2008). No entanto, recentemente em uma metanálise ZHANG et al. (2016) demonstraram que pacientes com ISR tiveram alto grau de Furhman, grande possibilidade de metástase linfonodal, diferenciação sarcomatóide e necrose tumoral, levando a piores desfechos quando comparados aos que exibiram somente

IGP. Nosso grupo publicou que a presença concomitante de IGP e ISR está associada com piora da sobrevida câncer-específica e livre de progressão, recomendando que os critérios de estadiamento devessem diferenciar as invasões quando isoladas e associadas (DA COSTA et al. 2012a).

Relativo aos possíveis fatores de risco referentes às margens cirúrgicas positivas (MCP) e sua influência sobre a recorrência do CCR após a cirurgia com preservação de néfrons, existe consenso entre a maioria dos autores. Embora as MCP sejam prevalentes, elas parecem ter pouco ou nenhum impacto sobre as taxas de sobrevida a curto e longo prazo, ou de recorrência tumoral (ANI et al. 2013; KANG et al. 2016).

Considerando os vários fatores clínicos, anatômicos e histopatológicos, diferentes grupos desenvolveram modelos prognósticos preditivos integrados visando alcançar melhores resultados que os obtidos com os coeficientes isoladamente. O sistema *Tumour-Node-Metastasis* (TNM), amplamente utilizado para o CCR, categorizou os tumores renais em 1974 e desde então é submetido a revisões periódicas pelo *American Joint Comitte on Cancer* (AJCC). A oitava edição, publicada em Outubro de 2016 e efetivada a partir de Janeiro de 2017, apresentou atualizações para a categoria T3a, que são: a retirada do adjetivo "grosseiramente" quando se refere ao comprometimento da veia renal; a supressão da expressão "contendo músculo" quando se refere às veias segmentares; e a inclusão dos casos com invasão do sistema pielocalicial. O Anexo 3 exibe o estadiamento TNM completo em sua última versão: *AJCC Cancer Staging Manual 2017* (RINI et al. 2017).

Entre outros modelos prognósticos desenvolvidos para prever o comportamento da doença, vários nomogramas com diferentes abordagens e variáveis foram usados. ZISMAN et al. (2002) da Universidade da Califórnia - Los Angeles (UCLA) desenvolveram o UCLA *Integrated Staging System* (UISS), que considerou o estadiamento TNM, a performance ECOG e o grau nuclear. LEIBOVICH et al. (2003) da *Mayo Clinic* criaram o *Mayo Clinic Stage, Size, Grade and Necrosis* (SSIGN), que abrange o estadiamento patológico, tamanho do tumor, grau nuclear e presença de necrose. SORBELLINI et al. (2005) do *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center* atualizaram o nomograma da instituição proposto por KATTAN et al. (2001), que utiliza-se além dos critérios clássicos como estágio patológico, grau de Fuhman, tamanho tumoral e necrose, também da invasão vascular e componentes da apresentação clínica como o diagnóstico incidental versus lesões sintomáticas, performance de Karnofsky, tempo de recorrência após a cirurgia, anemia, calcemia e alterações da DHL.

Como descrito, os diversos fatores prognósticos tem importante impacto na evolução de pacientes portadores de CCR isoladamente, e quando avaliados em conjunto através de modelos multivariados intensificam de forma significativa seu valor junto a prática clínica. Entretanto, buscamos ainda refinar a capacidade de predizer o comportamento de tais tumores antevendo fielmente implicações sobre a sobrevida, a recorrência tumoral e o risco de metástases. Nos últimos anos, o estudo dos marcadores biomoleculares tem vigorado em posição de

destaque e talvez esse seja o próximo passo implementando as avaliações preditivas.

1.3.2 Fatores biomoleculares e o CCR

O papel dos biomarcadores no CCR tem aumentado significativamente nos últimos anos, abrangendo desde o auxílio do diagnóstico patológico, a compreensão da histogênese tumoral, a classificação de novas entidades, a escolha de terapias adequadas para pacientes com doença avançada, até a arena investigativa da elucidação do comportamento preditivo e prognóstico das neoplasias renais.

Entre os métodos utilizados para a determinação da presença de marcadores biológicos em espécimes cirúrgicos, a imunohistoquímica é a ferramenta mais comumente disponível e utilizada, permitindo a detecção de antígenos expressos em células tumorais e caracterizando o tumor. Recursos menos frequentes no contexto das neoplasias renais são a cariotipagem convencional, a hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) e outras técnicas de citogenética molecular. As novas análises moleculares como o perfil de expressão gênica, a hibridação genômica comparativa, o polimorfismo de nucleotídeo único, o estado de metilação e as análises mutacionais, são usadas atualmente com cunho experimental visando identificar vias moleculares específicas e potenciais alvos terapêuticos (MOCH et al. 2014).

Os biomarcadores moleculares podem ser agrupados de acordo com sua localização fisiológica em: "circulantes", que incluem o Fator de

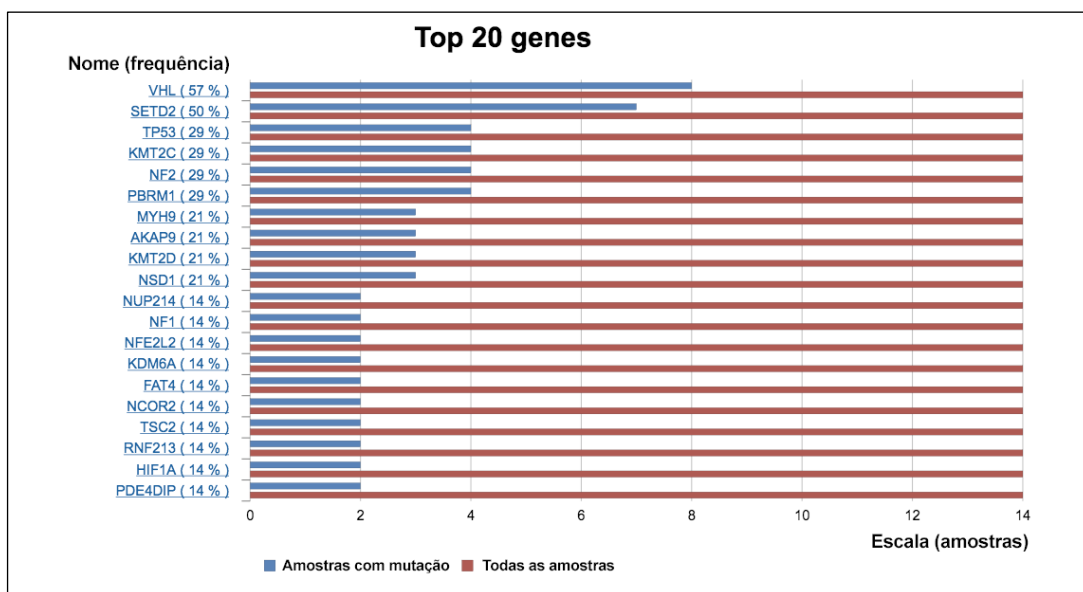
Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) e proteínas relacionadas, fatores angiogênicos e citocinas inflamatórias, células endoteliais circulantes, e a desidrogenase láctica; e "relacionados ao tecido", que contém polimorfismos de nucleotídeo único, aspectos relacionados às vias de Von Hippel-Lindau (VHL) e de sinalização do *Mammalian Target of Rapamycin* (mTOR).

Avanços recentes no entendimento da genética, epigenética e dos transcriptomas, implementados particularmente pela tecnologia de sequenciamento de DNA de segunda geração, e complementado por informações obtidas acerca do proteoma, projetam a identificação de novos biomarcadores e terapias alvo molecular (STRATTON 2011).

Dentre as anormalidades genéticas, ponto fundamental sobre a biologia dos CCR do tipo células claras (CCRcc) é a perda de função do gene supressor de tumor de VHL, localizado no cromossomo 3p. Essa condição causada por hipoxemia, mutações, deleções ou hipermetilação, está presente em mais de 90% desses tumores quando esporádicos, quase definindo esse subgrupo de neoplasias (YOUNG et al. 2009). Tal deficiência proteica acarreta, mesmo na ausência de um ambiente de hipóxia tecidual, em estabilização e acúmulo do fator induzido por hipóxia-1 (HIF-1 α) no citoplasma e ativação de fatores de transcrição nuclear incluindo aqueles que codificam o VEGF, o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF- β) e a eritropoetina (EPO). As mutações com perda de função no alelo VHL remanescente representam um evento inicial no desenvolvimento do CCRcc, mas não são suficientes isoladamente para impulsionar o crescimento tumoral (YOUNG et al. 2008). Nosso grupo evidenciou em

recente publicação elencando 148 casos que apesar das proteínas VHL estarem expressas em grande parte deles (80%), não houve correlação significativa entre tal expressão e os achados clínicos e de sobrevida (ALVES et al. 2014).

Atrás apenas do VHL, mutações igualmente importantes para a gênese do CCRcc e extremamente prevalentes, estão as várias alterações de genes envolvidos com a regulação da cromatina. Entre esses podemos destacar: o SETD2 (*SET domain containing 2*), o PBRM1 (*Polybromo 1*) e o BAP1 (*BRCA1 associated protein-1 ubiquitin carboxy-terminal hydrolase*). Ambos estão localizados no braço curto do cromossomo 3 (locus 3p21), o mesmo braço do VHL (locus 3p25), mostrando que a perda de um dos alelos do braço 3p poderia resultar na alteração de função de genes com possíveis ligações funcionais entre si (TOMA et al. 2008). As 20 mutações mais incidentes até o momento, segundo o catálogo de mutações somáticas em câncer (COSMIC), estão listadas por frequência na Figura 3.



Fonte: Wellcome Trust Sanger Institute, Genome Research, in COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer - Cell Lines Project), 2017.

Figura 3 - Frequência de mutações em CCRcc. Principais genes estudados e respectivos percentuais de mutações observadas em CCRcc.

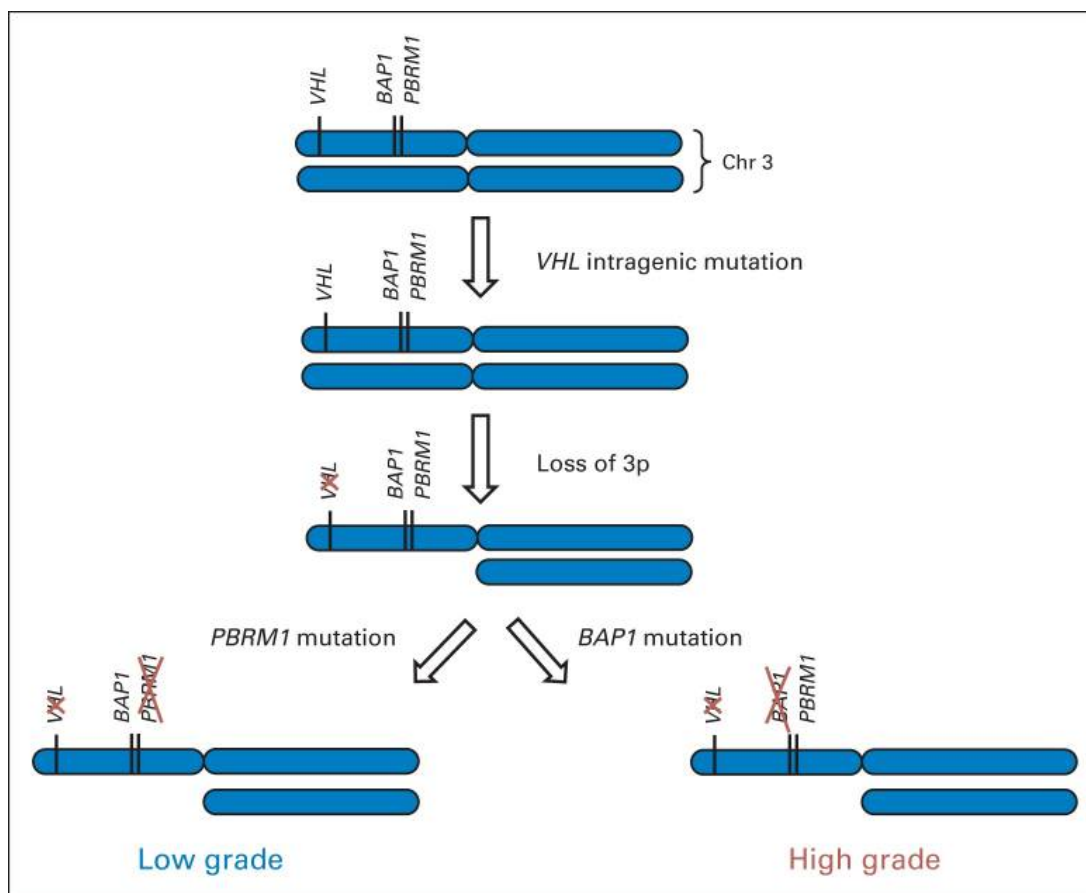
A cromatina consiste em uma matriz protéica circundada por material de DNA. Centenas de diferentes tipos de proteína formam a estrutura, porém as histonas são as mais numerosas. A ligação do DNA ao redor das histonas é definida por um intrínseco e complexo mecanismo de controle, onde um aperto ou afrouxamento desta ligação resulta na redução ou aumento da atividade transcricional. Entre os principais mecanismos regulatórios, conhecidos como epigenéticos, estão as modificações covalentes das histonas, que incluem: a acetilação, metilação ou ubiquitinação da lisina; metilação da arginina e fosforilação da serina (BÁRTOVÁ et al. 2008). Em 2010, VAN HAAFTEN et al. evidenciaram a mutação inativadora do gene SETD2, que codifica uma metiltransferase responsável pela trimetilação da histona H3 lisina36 (H3K36me3), resultando em hipometilação e um estado

de baixa atividade transcricional. Recentemente LIU et al. (2015) avaliaram 192 casos de CCRcc não metastáticos e publicaram que pacientes com baixa expressão de SETD2 e H3K36me3 estão propensos a desenvolverem tumores de maior tamanho, e que na análise multivariada mostrou-se como fator prognóstico independente para SG e livre de recorrência. Também, tais achados se repetem quando a coorte analisada figura entre CCRcc metastáticos (WANG et al. 2016).

Sobre o gene PBRM1, sua função é codificar 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 está envolvido com a mobilização dos nucleossomos por deslizamento e promoção de inserção ou retirada de histonas da cromatina. Dessa forma, o SWI / SNF relaciona-se em múltiplos processos celulares como de diferenciação tecidual e carcinogênese, e apresenta características envolvidas com a supressão tumoral (EUSKIRCHEN et al. 2011; WILSON e ROBERTS 2011). Em nossa equipe, DA COSTA et al. (2014) demonstraram que a perda de expressão tecidual de PBRM1 em pacientes portadores de CCRcc influenciou negativamente as taxas de SLD e SCE nas análises univariadas de sobrevida.

O BAP1, que codifica a enzima de deubiquitinação (BRCA1 *associated protein*) localizada no núcleo celular, é sede eventual de mutações inativadoras em seus domínios, as quais estão associadas ao processo de tumorigênese. Como a maioria dos genes supressores tumoral, o BAP1 segue a "*two-hit hypothesis*" o que implica que ambos os alelos

devem estar comprometidos conferindo-lhe características de recessividade, contrário ao que acontece usualmente com os oncogenes, que são tipicamente dominantes. Apesar de localizar-se no mesmo locus cromossômico que o PBRM1, curiosamente as mutações de ambos os genes são em grande parte mutuamente exclusivas. Como determinado por uma metanálise, as chances de haver mutações do BAP1 estão reduzidas em 70% em tumores com PBRM1 mutados (PEÑA-LLOPIS et al. 2012 e 2013). Além disso, alterações de expressão desses genes estão associadas com diferentes características histológicas, biológicas e de desfecho. Os tumores com BAP1 mutado tendem a associar-se com marcadores de pior prognóstico como: alto grau, presença de necrose e ativação do mTORC1; enquanto para o PBRM1 mutado o panorama mais favorável compreende tumores de baixo ou alto grau, ausência de necrose e inatividade da via mTOR (KAPUR et al. 2013; CORTEZ NETO 2014). A Figura 4 representa um modelo de desenvolvimento do CCRcc. Recente análise retrospectiva do grupo da *Mayo Clinic Rochester* com 1479 pacientes operados com CCRcc não metastáticos evidenciou que a deficiência simultânea de BAP1 e PBRM1, apesar de rara, relaciona-se com maior agressividade e menor SCE, com média de 7,7 anos, e estimada em 0 para 15 anos (JOSEPH et al. 2016).



Fonte: BRUGAROLAS (2014).

Figura 4 - Modelo de desenvolvimento do CCRcc. Os genes VHL, BAP1 e PBRM1 todos localizados no cromossomo 3p (SETD2 também está nessa região, mas não foi representado). Após mutação intragênica no VHL, a perda de 3p inativa o alelo remanescente. As mutações subsequentes de BAP1 e PBRM1 resultam em CCRcc com diferentes comportamentos patológicos e desfechos.

Nos últimos anos as atenções voltaram a vigorar sobre outro gene supressor de tumor, já muito relacionado a diversos tipos de tumores, o TP53. A mutação na proteína tumoral p53 talvez influencie a transcrição de outras regiões supressoras. LIN et al. (2014) demonstraram que a regulação negativa na expressão da proteína HSPB7 esteve presente na enorme maioria dos CCRcc (85%), e que tal evento é decorrente da hipermetilação do DNA causada pelo p53 mutado. MACHER-GOEPFINGER et al. (2015)

publicaram que o PBRM1 é alvo da degradação proteica proteossomal induzida pelo p53, e que esta ativação em CCR resulta em acentuada diminuição dos níveis de proteína do PBRM1. ZHAO et al. (2016) relacionaram o sinergismo entre os genes de VHL e o p53 contribuindo para a quimiossensibilidade dos CCRcc. Achados indicaram que a co-expressão gênica de ambos inibiu a proliferação celular e promoveu apoptose após o tratamento com adriamicina ou sunitinib.

Há quase duas décadas nosso grupo dedica-se a pesquisa de marcadores biomoleculares relacionados ao CCR, e além dos já elencados outros tantos foram foco de estudo como o Ki-67, CD133, CD44, as sintases do óxido nítrico e o PTEN.

O marcador de proliferação celular MIB-1 / Ki-67 é citado como fator prognóstico de pior evolução em pacientes portadores de CCR. Em estudo com 55 pacientes de nossa instituição, este marcador apresentou baixa expressão e não comprovou valor prognóstico (ZEQUI 2000). Recente publicação com uma coorte de 367 pacientes com CCRcc não metastáticos relacionou o Ki-67 e mais 4 marcadores, entre 24 triados, como preditivos para recorrência da doença após a cirurgia (HADDAD et al. 2017).

Acredita-se que os cânceres sejam em parte regulados por uma pequena subpopulação de células-tronco tumorais (CTT), as quais seriam responsáveis pela renovação celular, multidiferenciação, recidiva tumoral e progressão. CTT em CCR podem ser identificados funcionalmente por vários marcadores de superfície celular, incluindo as glicoproteínas de membrana CD133 e CD44. Em dissertação de mestrado do nosso serviço, 142

pacientes com CCR foram investigados quanto à expressão de imunohistoquímica de CD133 / CD44 e suas correlações clínico patológicas e prognósticas. O CD44 não apresentou impacto nas taxas de sobrevida, enquanto a baixa expressão de CD133 foi evento desfavorável, associando-se com a invasão vascular microscópica e a redução dos índices de SG, SCE e SLD na análise univariada (DA COSTA 2011). Em uma metanálise incluindo 25 artigos relevantes englobando 2673 casos de CCR, a hiperexpressão do CD44 correlacionou-se com piora da SG, SCE e SLD, enquanto o CD133 foi fator prognóstico independente para SCE (CHENG et al. 2016).

As sintases do óxido nítrico (NOS) são enzimas responsáveis pela mediação da produção de óxido nítrico através da conversão de L-arginina e L-citrulina. As NOS estão envolvidas na imunidade e podem promover a carcinogênese, sendo seus tipos 1, 2 e 3 expressos em muitos tumores. Em nossa instituição a avaliação da expressão imunohistoquímica das NOS em tecidos intratumorais e não neoplásicos de 110 portadores de CCR, foi correlacionada com fatores prognósticos. Altas concentrações de NOS foram associadas com pior prognóstico e tumores volumosos, além disso a NOS-3 influenciou a SG pela análise univariada (ZEQUI 2008).

O PTEN (fosfatase homóloga à tensina) é um gene supressor de tumor localizado no cromossomo 10q23, que no CCR quando deletado ou mutado manifesta-se com baixa expressão imunohistoquímica e fenótipos tumorais invasivos e metastáticos. Analisando 53 casos de CCR metastáticos ou não, nossa equipe encontrou que a deleção do PTEN foi

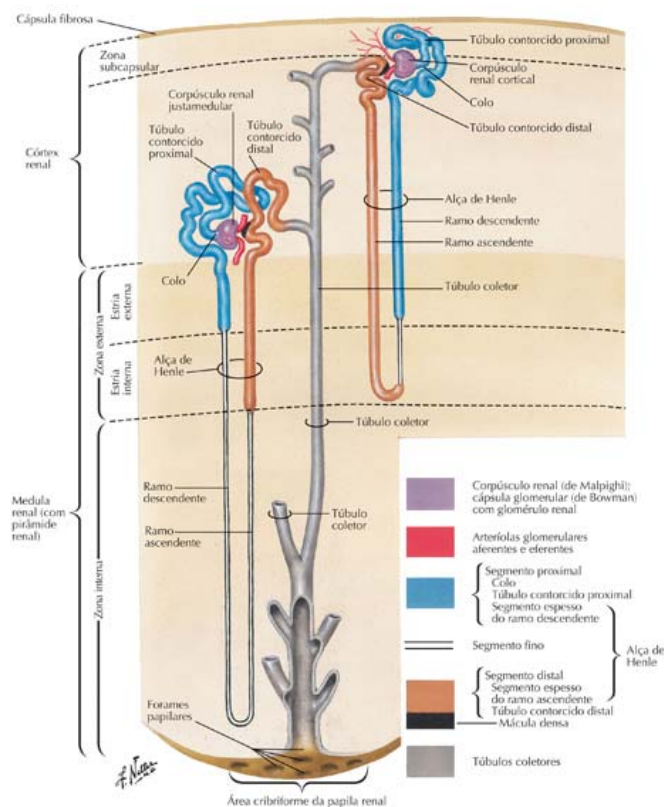
detectada em aproximadamente 40% dos casos e sua presença não foi determinante de menores taxas de sobrevida global em 5 anos (DE CAMPOS et al. 2013). Análises correlacionando dois ou mais genes tem sido cada vez mais frequentes, e há pouco as associadas baixas expressões do PTEN e do PIK3C2A foram significativamente correlacionadas com alto risco, e baixos períodos de SG e SCE (DAI et al. 2016).

A enorme maioria dos estudos busca identificar marcadores correlacionados com vantagens adaptativas das células tumorais como: autossuficiência aos fatores de crescimento, insensibilidade aos sinais que inibem o crescimento celular, evasão da morte programada (apoptose), potencial replicativo ilimitado, angiogênese sustentada e invasão tecidual e metástase. Até então pouca atenção foi dada ao eventual valor prognóstico dos hormônios secretados pelo rim, que também é um órgão endócrino, e seguindo essa linha de investigação objetivamos avaliar a importância da renina nesse contexto.

1.3.3 A renina

O aparato funcional do rim, parenquimatoso, é constituído pelo córtex e pelas pirâmides renais da região medular. No parênquima estão cerca de 1 a 2,5 milhões de unidades morfofuncionais renais, os néfrons. Estes são formados por dois componentes principais: o corpúsculo renal, constituído pelo glomérulo (tufo de capilares) e pela cápsula de Bowman; e o túbulo renal, contendo os túbulos contorcidos proximais, alça de Henle, túbulos contorcidos distais e coletores.

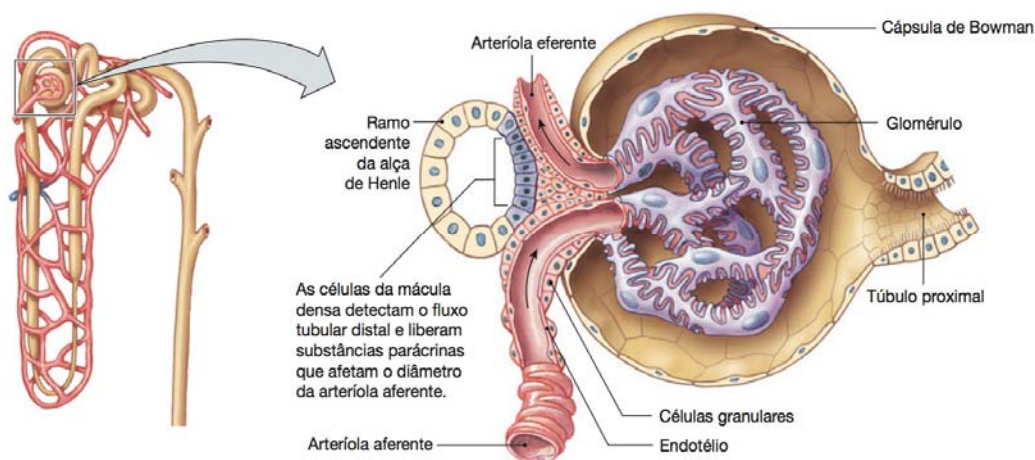
O aparelho justaglomerular é uma estrutura microscópica localizada no polo vascular do corpúsculo renal, formado por um componente vascular (porção terminal da arteríola aferente, porção inicial da arteríola eferente, e mesângio extraglomerular), e um componente tubular (mácula densa). A mácula densa é o segmento terminal espesso do ramo ascendente da alça de Henle, que encontra-se em contato com o componente vascular. Dentro desse componente, podemos distinguir dois tipos celulares distintos: as células granulares justaglomerulares, também chamadas epitelióides ou mioepiteliais; e as células mesangiais extraglomerulares agranulares, também chamadas células lacis (BARAJAS 1970, 1979, BARAJAS e SALIDO 1994).



Fonte: NETTER (2014).

Figura 5 - Néfron e ductos coletores: esquema representativo das zonas renais cortical e medular.

As células granulares estão localizadas principalmente nas paredes das arteríolas aferentes, e em menor quantidade nas eferentes. Possuem características de células musculares lisas, e com exceção dos grânulos são indistinguíveis das células arteriolares vizinhas; e de células epiteliais secretoras, com retículos endoplasmáticos bem desenvolvidos e Complexo de Golgi com pequenos grânulos e subestrutura cristalina. Tais grânulos contêm proteases aspárticas do tipo renina, que são enzimas proteolíticas compostas por uma molécula de água ligada a um ou mais resíduos aspárticos para a catálise de substratos peptídicos, com máxima atividade em pH ácido (SCHNERMANN e BRIGGS 2013).



Fonte: CIALDELLA (2014).

Figura 6 - O aparelho justaglomerular, suas porções e funções.

Durante o desenvolvimento renal, a renina ou angiotensinogenase, tem expressão generalizada no desenvolvimento das artérias intrarrenais. Posteriormente desaparece das grandes artérias e arteríolas e torna-se

restrita às células granulares na porção final da arteríola aferente. Entretanto, em resposta à depleção do volume extracelular, a expressão de renina pode novamente se estender para as porções proximais das arteríolas, sugerindo que as células musculares lisas das artérias renais mantêm a habilidade de produzir renina e que podem ser recrutadas para a secreção dessa enzima, dependendo da demanda funcional (SEQUEIRA LOPEZ et al. 2004; SAUTER et al. 2008). Situações que compreendam alterações do metabolismo e desbalanços regulatórios moleculares, como as que habitualmente acontecem em cenários oncológicos, possivelmente poderiam relacionar-se com esse recrutamento de expressão.

A síntese e a secreção de renina pelas células granulares justaglomerulares são controladas por vários fatores, incluindo neurotransmissores do sistema nervoso simpático, a pressão de perfusão glomerular (através de baroreceptores arteriolares), e mediadores na mácula densa. Há evidências cada vez maiores de que o controle de secreção de renina através da mácula densa seja mediado pelo óxido nítrico, produtos da ciclo-oxigenase como a PGE_2 , e a adenosina (PETI-PETERDI e HARRIS 2010). Nosso grupo, assim como publicações que se sucederam, demonstrou o impacto das NOS no curso das neoplasias renais (CÁSSIO ZEQUI et al. 2013).

Recentemente, uma dissertação de mestrado (FERREIRA 2014) em nossa instituição evidenciou o impacto da eritropoetina, outra enzima cortical renal, nas taxas de sobrevivência dos portadores de CCR. A perda de expressão imunohistoquímica da enzima no tumor foi fator prognóstico independente

desfavorável para SG e SCE nas análises univariadas e multivariadas. Nesse mesmo caminho, interessamo-nos pelas enzimas funcionais renais. E, embora a maior parte dos CCR (principalmente os carcinomas de células claras e papilíferos) tenham origem nos túbulos contorcidos proximais, localizados na região cortical assim como os aparelhos justaglomerulares, muito pouco se estudou até hoje a respeito do papel da renina nas neoplasias malignas corticais renais.

1.3.4 A angiotensinogenase e o câncer

Diferente dos objetivos desse projeto, a literatura se mostra escassa e praticamente não existem estudos que investiguem a angiotensinogenase como fator prognóstico em oncologia, na maioria dos tumores sólidos ou mesmo em doenças linfoproliferativas.

Encontramos no site da *National Center for Biotechnology Information* - PubMed, divisão da *U.S. National Library of Medicine*, poucas publicações datando dos últimos 20 anos. Na verdade, em sua quase totalidade, analisam o papel e o impacto de drogas bloqueadoras do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) sobre a evolução de pacientes com alguns tipos de neoplasia. No âmbito biomolecular, trabalhos que envolvam conexões com a renina são ainda mais raros.

Alterações na expressão da angiotensinogenase talvez sejam resultado de mutações de fatores TRANS (produzidos em outra molécula de DNA) que interagem com elementos regulatórios CIS (presentes na mesma molécula de DNA), alterando a transcrição do RNAm no gene da renina.

Exemplo disso, são as mutações do gene supressor do tumor de Wilms (WT1) no cromossomo 11p13. STEEGE et al. (2008) através de ensaios imunohistoquímicos com animais mostraram que uma proteína do WT1 expressa por variação no *splicing* pode suprimir a transcrição do gene da renina, favorecendo a idéia de coexpressão das proteínas do WT1 e da renina. Uma proteína de WT1 mutada, encontrada no tumor de Wilms, falha em suprimir o gene da renina e sua expressão endógena. Esses achados sugerem que a transcrição do gene da renina seja regulada pela proteína de WT1, e talvez explique porquê nos pacientes com WT1 mutado ocorra aumento da renina plasmática e consequente hipertensão arterial.

ARIAS et al. (2010) avaliaram a expressão de renina em tumores epiteliais renais utilizando métodos imunohistoquímicos e sua associação com quadros hipertensivos. Em uma coorte de 89 pacientes, encontraram 28,1% de imunorreatividade, sendo que os oncocitomas tiveram maior percentual (61,5%), seguidos pelos do tipo cromóforo (31,6%). Após a extirpação dessas massas, não identificaram declínio dos níveis de pressão sanguínea, sugerindo enzimas clinicamente inativas.

ARAÚJO et al. (2015) sugeriram que os bloqueadores do SRAA diminuem a proliferação tumoral e a capacidade metastática dos CCR em modelos experimentais. No estudo, animais tratados com os inibidores apresentaram tumores menores, e metástases pulmonares em menores quantidades e dimensões, quando comparados ao grupo controle. Além disso, as expressões do fator de crescimento endotelial vascular e CD34

foram significativamente inferiores nos tumores renais dos animais que receberam o tratamento.

Um estudo multicêntrico recém publicado avaliou a associação entre a expressão e atividade das enzimas que regulam a angiotensina e os desfechos prognósticos em pacientes com CCRcc. O estudo avaliou 4 peptidases do SRAA, expressas nas células tumorais (endopeptidase neutra, enzima conversora de angiotensina 2, aminopeptidase A) e nas células endotélias dos vasos sanguíneos intratumorais (enzima conversora de angiotensina), de 144 pacientes. Essas são expressas diferentemente em diferentes subtipos de tumores renais, e sua presença ou ausência está significativamente associada a agressividade tumoral e piores desfechos em portadores de CCRcc. Além disso, a atividade sérica das enzimas é maior em pacientes com CCR quando comparada a indivíduos saudáveis, e a atividade da enzima conversora de angiotensina correlaciona-se negativamente com o prognóstico de portadores de CCRcc. Esses resultados favorecem a possibilidade de um desequilíbrio metabólico do SRAA e um papel de peptidases reguladoras da angiotensina em doenças neoplásicas renais (ERRARTE et al. 2017).

Uma vez que o rim é a maior fonte produtora de renina, que assim como a enorme maioria dos tumores essa enzima encontra-se na região cortical renal, e que os pacientes que tem CCR apresentam muitas vezes hipertensão arterial, o que inclusive pode representar uma síndrome paraneoplásica, parece interessante investigar a expressão desse marcador. Esse estudo vai de encontro ao atual foco do nosso grupo, que é avaliar o

rim como um órgão endócrino, e o eventual impacto dessa característica sobre a natureza do CCR. É certo que tal vertente abre novas perspectivas para o conhecimento da carcinogênese renal.

2 OBJETIVOS

- Analisar a expressão imunoistoquímica da renina no tecido tumoral e nos tecidos não neoplásicos peritumorais, em pacientes portadores de CCR submetidos à nefrectomia, em uma grande coorte latino-americana.
- Avaliar o impacto prognóstico da expressão imunoistoquímica da renina nas taxas de sobrevida global, sobrevida câncer específica e sobrevida livre de doença.
- Investigar as associações desses marcadores com variáveis demográficas, clínicas e epidemiológicas.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO

3.1.1 Critérios de inclusão

- CCR, tipo células claras, comprovado histologicamente;
- Pacientes tratados por nefrectomia radical ou nefrectomia parcial, sem tratamento neoadjuvante prévio;
- Prontuários com dados completos;
- Material arquivado em parafina em boas condições;
- Ausência de comorbidades que reduzam a expectativa de vida a menos de 6 meses.

3.1.2 Critérios de exclusão

- Pacientes submetidos a outros tratamentos para o CCR além da cirurgia ou com comorbidades que possam comprometer a sobrevida;
- Pacientes com outros tumores renais que não células claras;
- Prontuários com dados incompletos ou faltantes;
- Material arquivado em parafina (blocos) em más condições;
- Microarranjo de tecido (TMA) com descolamento de *hotspot*, presença de necrose ou fibrose excessiva, ou material inadequado.

3.2 METODOLOGIA

A população do estudo foi caracterizada por indivíduos portadores de CCR submetidos inicialmente à tratamento cirúrgico no Núcleo de Urologia do A.C.Camargo Cancer Center e na Santa Casa de Presidente Prudente, centros especializados que compõem o *Latin American Renal Cancer Group* (LARCG). O LARCG fundado em 2013, sem fins lucrativos, independente, multidisciplinar, atualmente composto por 25 centros terciários de 6 países da América Latina (Brasil, Uruguai, Argentina, Chile, Peru e México), regido por estatuto e comitês científico e de ética, com reuniões regulares presenciais e eletrônicas, ordenou um grande banco de dados contendo centenas de variáveis sobre pacientes portadores do CCR, que tem sido constantemente alimentado por seus participantes.

No total, 558 casos envolvendo nefrectomia radical ou parcial para CCRcc, realizados entre 1990 e 2016, foram selecionados do banco de dados do LARCG. Para a criação deste, inicialmente foram revisados os prontuários médicos arquivados no Serviço de Arquivo Médico e Estatístico (SAME) das instituições envolvidas e os dados coletados registrados em uma ficha de levantamento previamente definida (Apêndice 1). Os dados epidemiológicos, demográficos e clínicopatológicos coletados foram armazenados em base simples (Excel), constituindo o arquivo de dados final. As variáveis consideradas foram idade, sexo, raça, *índice de performance status* pela classificação de ECOG e Karnofsky (KPS), sintomatologia ao diagnóstico, tabagismo, tempo de evolução, lateralidade

da lesão, multifocalidade, antecedentes pessoais (inclui hipertensão arterial), tipo de cirurgia, data da cirurgia, complicações cirúrgicas precoces e tardias, necessidade de transfusão, estadiamento pelo TNM AJCC/UICC 2017, grau de Furhman, tamanho da lesão (maior diâmetro no exame anatomopatológico), tipo histológico, presença de metástases ao diagnóstico, invasão venosa microscópica, acometimento linfonodal, invasão linfática microscópica, presença de necrose tumoral, evolução pós-operatória, tempo de seguimento, desenvolvimento de metástases, tratamento das metástases e situação clínica ao final do estudo. Após análise imunoistoquímica também foram incluídas as expressões de renina de forma qualitativa e quantitativa.

3.2.1 Diagnóstico e estadiamento

Todos os pacientes foram avaliados inicialmente por exame clínico geral. Os pacientes foram indagados quanto a presença de sinais e sintomas relacionados à neoplasia renal. Utilizou-se a tomografia computadorizada de abdome ou a ressonância nuclear magnética como métodos de imagem padrão para a confirmação diagnóstica.

O estadiamento clínico foi realizado pelo sistema TNM (Anexos 3 e 4). As metástases pulmonares foram investigadas através de radiografias de tórax realizadas nas incidências pósterio-anterior e perfil. Quando se observou lesões pulmonares suspeitas ou duvidosas, utilizou-se a tomografia computadorizada de tórax para confirmação de possíveis focos tumorais metastáticos. Cintilografia óssea foi solicitada apenas nos casos de

supeita clínica de metástases ósseas (sintomatologia, alteração laboratorial sugestiva ou doença metastática em múltiplos sítios).

3.2.2 Procedimento cirúrgico

Todos os pacientes foram submetidos à tratamento cirúrgico. O tipo de cirurgia realizada variou de acordo com a extensão do tumor e preferência do cirurgião. Os procedimentos realizados foram: nefrectomia radical convencional ou videolaparoscópica, nefrectomia parcial convencional ou videolaparoscópica, e nodulectomia (enucleação). Para os pacientes submetidos a ressecções parciais, foi observada a margem cirúrgica macroscópica mínima e em casos selecionados, utilizou-se da técnica anatomopatológica de congelação para exclusão de neoplasia residual.

Durante a nefrectomia radical, a linfadenectomia retroperitoneal foi restrita ao hilo renal e realizada apenas com o intuito de estadiamento da doença, exceto na detecção intraoperatória de linfonodos suspeitos. Para as cirurgias parciais, a linfadenectomia não foi realizada.

3.2.3 Seguimento

O acompanhamento dos pacientes foi realizado em consultas ambulatoriais. As consultas foram realizadas trimestralmente no primeiro e segundo anos. Do segundo ao terceiro ano de seguimento estas consultas passaram a ser semestrais, e após o terceiro ano, realizadas anualmente.

Em todas as consultas, foi realizado exame físico sistemático. Exames laboratoriais e de imagem foram utilizados rotineiramente durante o acompanhamento clínico.

Ao final do seguimento, os pacientes foram classificados como:

- a) vivos sem câncer: pacientes tratados do CCR e sem evidência clínica, radiológica ou laboratorial da neoplasia.
- b) vivos com câncer: pacientes que após o tratamento cirúrgico primário permaneceram com evidência clínica, radiológica ou laboratorial da doença ou que apresentaram recidiva durante o seguimento.
- c) mortos pelo câncer: pacientes que morreram decorrentes do CCR ou por complicação do tratamento, incluindo óbito pós-operatório (até 30 dias pós- cirurgia).
- d) mortos por outras causas: pacientes que morreram por causas não relacionadas à neoplasia ou complicações do seu tratamento.
- e) perda de seguimento: pacientes que não retornaram nas consultas de seguimento num período de tempo igual ao dobro do estipulado e que não foram localizados.

3.3 O MICROARRANJO DE TECIDO (TMA)

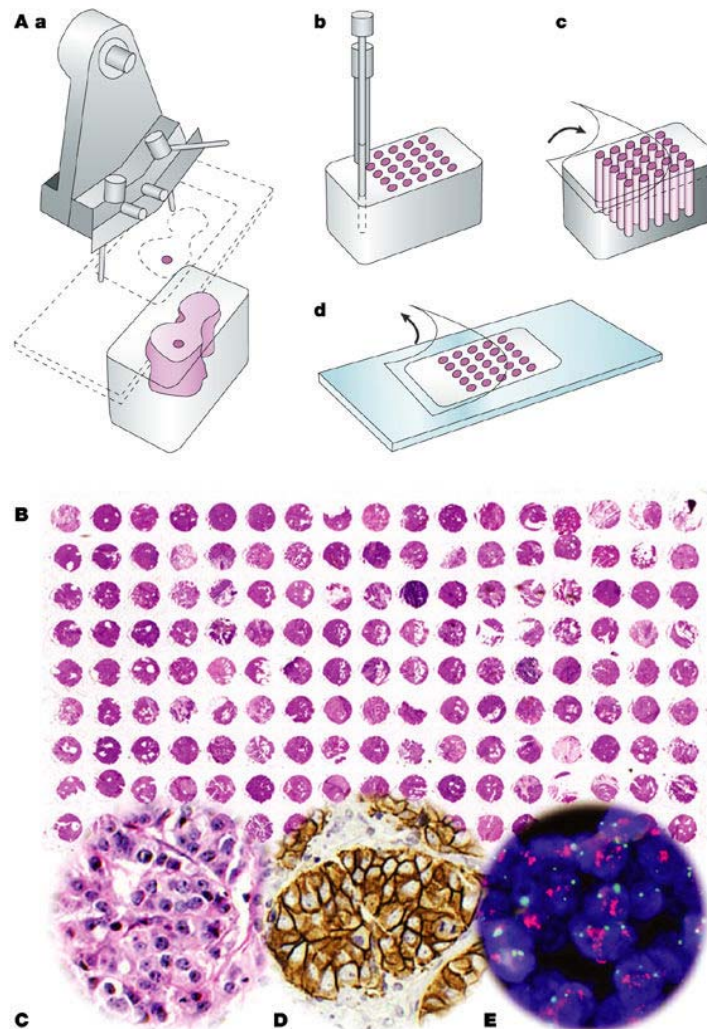
O estudo dos genes, vias de sinalização e de inúmeros marcadores teciduais pode ser útil no entendimento das interações moleculares dos fenômenos oncológicos. Porém a quantidade de material disponível para

estudo é finita e o desgaste a cada secção para confecção de lâminas para processos de imunistoquímica tradicionais é intenso.

A técnica do TMA foi descrita inicialmente por BATTIFORA (1986) e permite, de forma mais prática e rápida, o estudo simultâneo de marcadores e proteínas em múltiplas amostras de tecido. Desse modo, se torna metodologia atraente por promover economia de reagentes, submissão de todas as amostras às mesmas condições físico-químicas das reações e permitir economia de material para estudo. Posteriormente, a técnica foi aperfeiçoada aos moldes atuais por KONONEN et al. (1998).

Para confecção do TMA, os blocos de parafina e as suas respectivas lâminas devem ser recuperados. As lâminas são analisadas ao microscópio comum e as áreas mais representativas do tumor são demarcadas. A seguir, por justaposição das lâminas marcadas com os respectivos blocos de parafina são selecionadas as áreas de interesse formando um bloco doador para cada caso. Assim, essas áreas de interesse demarcadas no bloco doador são puncionadas com um instrumento em forma de agulha para obtenção de fragmentos cilíndricos microscópicos. Esses pequenos fragmentos, com a área de interesse de cada caso, são posteriormente transferidos para um único bloco receptor, constituindo o TMA. A partir deste bloco receptor, procede-se a secção de múltiplas lâminas de 3 a 5 μm para o estudo. Cada lâmina contém amostras de cada caso e, sempre são amostras em duplicata, obtidas de secções a diferentes profundidades dos blocos doadores. Deste modo, é possível a análise de diversas quantidades teciduais e de diferentes regiões tumorais sem comprometer a

representatividade do material obtido em comparação as secções em lâminas tradicionais (RIMM et al. 2001).



Fonte: SAUTER et al. (2003).

Figura 7 - Demonstração esquemática do método de TMA. **A.** Amostras cilíndricas de tecido são removidas do bloco de parafina doador e depositadas no bloco receptor. Lâminas, então, obtidas através de micrótomos. **B.** Aspecto da secção corada com hematoxilina-eosina (HE). **C-E.** Magnificação óptica de secções de neoplasia de mama, utilizando-se métodos de HE, imunohistoquímica e FISH.

3.3.1 A construção do TMA

Após levantar as amostras de todos os pacientes do estudo, 604 arquivados no Departamento de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center e 47 provenientes de Presidente Prudente, os blocos foram identificados e novos cortes histológicos corados por hematoxilina e eosina (HE) realizados. As lâminas e os dados anatomopatológicos foram revisados por duas uropatologistas experientes (Dra. Isabela Werneck da Cunha e Dra. Stephania Martins Bezerra), sem conhecimento dos desfechos clínicos e das características de cada caso. Todos os tumores foram reclassificados de modo uniforme e as áreas mais representativas selecionadas para a confecção do TMA. Ao todo, utilizando-se dessa técnica foram construídos 7 blocos, e todos os casos "spotados" em duplicata. Concomitantemente, quando presente e viável, também foi realizada análise de tecido não neoplásico (distando pelo menos 0,5 cm do tumor) obtido das peças cirúrgicas (blocos de parafina) para comparação entre os graus de expressão dos referidos marcadores em CCR e do tecido não neoplásico adjacente. Amostras de tecido benigno de 80 casos foram incluídas.

Os TMAs foram construídos utilizando-se o dispositivo técnico chamado *Manual Tissue Arrayer MTA-1 (Beecher Instruments Microarray technology, Silver Spring, USA)*. A área identificada no bloco de parafina do doador foi puncionada com agulha de 1mm e os cilindros obtidos (dois, de diferentes partes do tumor) transferidos para o bloco de parafina receptor. Um mapa com identificação detalhada de cada cilindro foi construído em planilha de Excel®, permitindo a localização exata de cada amostra. Um

caso foi definido como adequado quando o corte resultante ocupou pelo menos 25% da área total do cilindro. Foram realizados cortes sequenciais de 4 µm de espessura por microtomia mecânica (Leica RN2255, LEICA), e colhidos em lâminas para realização das reações de imunohistoquímica. O controle do número de casos avaliáveis foi realizado pela coloração de 1 lâmina de HE a cada 20 cortes e pela contagem dos cilindros quando presentes.

3.3.2 Técnica imunohistoquímica

As reações imunohistoquímicas foram realizadas de forma automatizada com a utilização do equipamento BenchMark ULTRA (VENTANA® - Roche). O marcador utilizado foi o anticorpo primário policlonal de coelho anti-renina (Abcam© - Cambridge, MA, USA), especificação ab217761, com titulação de 1:200. O sistema de visualização utilizado foi o *iVIEW DAB Detection Kit*, que exibe uma coloração marrom-acastanhada.

As reações imunohistoquímicas automatizadas seguiram um protocolo estabelecido de acordo com os resultados obtidos na padronização da técnica. A desparafinização das lâminas foi realizada aplicando-se *EZPrep* (ROCHE) e aquecidas a 75°C por 8 minutos. Para recuperação antigênica foi aplicado *Cell Conditioner* (ROCHE) por 8 minutos a 95°C, e depois 64 minutos a 100°C. As lâminas foram lavadas com *Reaction Buffer* (ROCHE) e incubadas por 4 minutos nessa solução. Em seguida, foi aplicado *UV INHIBITOR* (ROCHE) nas lâminas por 4 minutos e depois lavadas com

Reaction Buffer. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado aplicando-se *UV DAB H2O2* (água oxigenada a 10 volumes). As lâminas foram incubadas com os anticorpos primários, focos do estudo, por 32 minutos e depois lavadas novamente com *Reaction Buffer*. Foi realizada nova incubação por 8 minutos com *UV DAB* (ROCHE) e *UV DAB H2O2* (ROCHE), lavagem com *Reaction Buffer* e aplicado *UV COPPER* (ROCHE) por 4 minutos, findando novamente sendo lavadas. Após esse processo as lâminas foram retiradas do equipamento e submetidas à desidratação com banhos sucessivos de Etanol a 80%, 95% e 100%, por 30 segundos cada um, e a quatro banhos de xileno de 30 segundos cada. Tecidos sabidamente positivos para os marcadores foram utilizados como controles positivos e os controles negativos foram obtidos pela omissão dos anticorpos primários.

3.3.3 Análise das reações

As análises das reações foram feitas de forma manual, pelas mesmas patologistas, sem conhecimento de resultados, utilizando-se de critérios pré-estabelecidos. Cada *spot* foi analisado e classificado, a princípio quantitativamente, em relação ao grau de intensidade da coloração nuclear pela renina de acordo com o número de células positivas, variando de 0 a 100%. Para a avaliação do escore imunoistoquímico, todos os *spots* foram categorizados em duplicata para cada caso, e então a média aritmética dos dois *spots* utilizada para as análises.

Posteriormente, uma classificação complementar qualitativa foi realizada, extratificando a expressão de renina em ausente ou presente.

Para uma melhor interpretação, as categorias "expressão negativa" e "expressão positiva" foram utilizadas com base na ausência (0%) ou presença (1 a 100%) da coloração próximo ao núcleo pela renina, respectivamente.

3.4 ESTATÍSTICA

Para as análises estatísticas foram utilizados os softwares *Windows Statistical Package for Social Science* (SPSS) versão 24.0, e Livre R versão 3.4. As distribuições de frequências absolutas e relativas das variáveis qualitativas, como as clínicas, demográficas, anatomopatológicas e referentes ao tratamento foram apresentadas na forma de tabelas de frequências e de contingência. As medidas resumo das variáveis quantitativas (numéricas) foram expressas pelas medidas de posição, como a média e mediana e as medidas de dispersão, como desvio padrão e amplitude. A comparação entre os graus de expressão dos marcadores em tecido não neoplásico e CCR foi realizada por meio do teste não paramétrico U de Mann-Whitney.

As avaliações da associação entre os níveis de expressão imunohistoquímica da renina e as demais variáveis foram realizadas por meio do teste Qui-Quadrado de Pearson (MORETTIN e BUSSAB 2005). Para os casos em que as frequências esperadas foram inferiores a 5 foi utilizado o teste exato de Fisher. Os fatores independentes relacionados à SG, SCE e SLD foram identificados por meio do ajuste do modelo de riscos

proporcionais de Cox (simples/múltiplo). A seleção de variáveis para o modelo de regressão de Cox múltiplo foi obtida com base no modelo de Cox simples (as que foram significativas), bem como aquelas que eram objeto alvo de estudo. O modelo final foi obtido pela estratégia *backward stepwise selection*, onde inicialmente incorporam-se todas as variáveis de interesse ou significância das análises univariadas e depois, por etapas, cada uma pode ser ou não eliminada, em ordem decrescente (COX 1972).

Para estudar as análises de SG, SCE e SLD utilizamos o estimador de KAPLAN e MEIER (1958) como ferramenta para estimar a probabilidade de um paciente com CCR estar vivo ou não apresentar recidiva até o instante de tempo considerado. Através da representação gráfica desse estimador, conseguimos visualizar, para uma determinada variável, qual categoria de pacientes apresenta maior probabilidade de não morrer por CCR ou não apresentar recidiva de CCR ao longo do tempo. Quanto mais superior for a curva referente a uma determinada categoria, maior será a probabilidade de os pacientes dessa categoria estarem vivos ou sem recidiva da doença até o instante de tempo considerado. Para a comparação das curvas estimadas para cada categoria dentro de uma determinada variável utilizou-se o teste não-paramétrico de Log-Rank. Os valores p correspondentes aos testes estão apresentados no canto inferior direito de cada gráfico.

Pacientes considerados perdidos de seguimento na data da última informação contribuíram para a curva de sobrevida até tal data, sendo então considerados sob censura.

Para a análise quantitativa da expressão de renina utilizamos a determinação de 2 grupos de observações em relação a um ponto de corte simples (≤ 35 ou > 35), que foi estimada usando o máximo da estatística log-rank padronizada (LAUSEN e SCHUMACHER 1992). Nós avaliamos a hipótese proporcional sobre os chamados resíduos de Schoenfeld (SCHOENFELD 1982; GRAMBSCH e THERNEAU 1994). Em todos os casos, houve evidências de que as covariáveis tiveram um efeito constante ao longo do tempo. Em todos os testes foi fixado o nível de significância de 0,05.

3.5 ANÁLISE DE RISCOS E ASPECTOS ÉTICOS

Por se tratar de estudo retrospectivo, não houve a participação direta de pacientes, nem a alteração da estratégia de seguimento pós-operatório ou a introdução de qualquer modificação terapêutica, ou aplicação de qualquer medicação ou método que tenha gerado danos, benefícios, ou outras consequências a qualquer paciente. Desta forma, não foi necessária a adoção de consentimento pós-informado.

Foram utilizados dados de prontuários e material arquivado em blocos de parafina no Serviço de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center e da Santa Casa de Presidente Prudente. O uso do material parafinado não acarretou prejuízo aos pacientes, pois, a terapêutica julgada necessária para os mesmos já havia sido instituída e sempre foi mantido material residual no bloco.

Inicialmente inscrevemos o projeto de pesquisa temático ("guarda-chuva") no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação Antonio Prudente-A.C.Camargo Cancer Center, intitulado "Expressão imunistoquímica e valor prognóstico de um painel de marcadores (BAP1; Beta-Catenina; CD133; Complexo Ezrina-Moesina; EPO/EPO-R; FOXP3; KDM5C; NOS-3; PBRM1; PTEN; REN/REN-R; SETD2 e STAT3) em carcinoma de células renais. Estudo multicêntrico internacional", sob o registro nº. 2144/15. Por se tratar de estudo abrangendo várias instituições, sendo algumas internacionais, o CEP solicitou apreciação pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) que aprovou o projeto por meio do parecer nº. 1.580.842, referendado pelo Comitê em 12/07/2016 parecer nº. 1.637.076. Posteriormente o primeiro projeto afiliado, que se refere à renina, foi inscrito no CEP sob o nº. 2144/15B, e por associação aprovado sem restrições (Anexos 5 e 6)

3.6 CASUÍSTICA

Da população estudada, um total de 356 (63,8%) eram do sexo masculino e 202 (36,2%) eram do sexo feminino. A grande maioria dos pacientes da raça branca, quase 80% dos indivíduos com dados registrados. A idade variou entre 21 e 87 anos, tendo como média 55 anos. Aproximadamente um terço dos indivíduos obtiveram seu diagnóstico de maneira incidental (38%) e dois terços não (62%). Dos pacientes sintomáticos, o principal achado foi a hematúria isoladamente (11,3%),

seguido pela dor lombar (9,7%). A chamada tríade clássica composta por hematúria, dor lombar e massa palpável, foi evidenciada em apenas 7 casos (1,5% dos que apresentavam sintomas). O tempo de evolução médio entre as queixas iniciais e o diagnóstico foi de 3,38 meses, variando entre 1 e 24 meses. Dentre os antecedentes pessoais o tabagismo foi observado em 259 pacientes (86,1% dos dados válidos), sendo que mais da metade (53,5%) desses já havia cessado o hábito. É importante ressaltar que entre os fumantes ou ex-fumantes, 45,6% deles tinham histórico de mais de 10 anos de hábito, contendo 25% com mais de 30 anos. Sobre os antecedentes familiares de CCR, apenas 17 pacientes referiram conhecimento de 1 (3,5%) ou mais (0,5%) casos incidentes em parentes (**Tabela 1**).

Sobre as características clínicas observamos que quanto à classificação de *performance status* 325 pacientes (65%) eram ECOG 0 e 160 ECOG 1 (32%), ou seja, acima de 95% assintomáticos ou pouco sintomáticos. Em contrapartida, considerando o risco anestésico 366 indivíduos eram ASA 2 (68,2%) e 90 classificados como ASA 3 (16,7%), o que demonstra que mais de 80% dos pacientes apresentavam no momento do tratamento antecedentes mórbidos com doenças sistêmicas leves ou graves. Cerca de 67 pacientes (12,9%) tinham níveis pré-operatórios de hemoglobina inferiores a 12g/dL, enquanto a média foi 14g/dL e a mediana 14,2g/dL. Considerando a lesão tumoral, não houve predileção por lado com 278 (49,8%) à direita e 261 (46,8%) à esquerda, além disso registramos apenas 19 (3,4%) casos de bilateralidade. Referente ao tamanho tumoral houve uma variação entre 0,6 e 25cm, com média de 5,4cm e mediana de

4,6cm, mas quase metade dos casos classificaram-se como T1a apresentando menos do que 4cm de diâmetro (44,5%). A maior parte deles foram identificados com sua topografia contendo o polo superior (37%), o que dificulta tecnicamente o procedimento cirúrgico (**Tabela 2**).

Acerca das variáveis terapêuticas, a abordagem cirúrgica parcial foi utilizada em metade dos casos (47,3%) enquanto a radical em outra metade (52,7%). O mais frequente foram procedimentos com menos do que 3 horas de duração (51,1%), o mínimo foi 40 minutos, a média 318 minutos, e a mediana 195 minutos. Aproximadamente 1/4 dos pacientes necessitaram de transfusão sanguínea intra ou perioperatória, principalmente para os tumores de grande volume ou pacientes já depletados previamente. Pouquíssimos tumores apresentaram comprometimento intraoperatório, com apenas 17 casos de margem microscópica (congelação), 9 casos de margem macroscópica, e somente 1 irressecável, representando em conjunto 4,9% do total. A maioria dos doentes receberam alta com menos do que 4 dias de internação (61,6%), variando entre 1 e 81 dias, com média de 5,42 e mediana de 4 dias. Relativo às complicações vimos que mais de 80% dos casos não exibiram nenhuma delas, 15% tiveram complicações precoces e 6,1% complicações tardias, sendo as insuficiências renais aguda e crônica os eventos respectivamente mais prevalentes (**Tabela 3**).

Referente aos aspectos anatomopatológicos observamos predominância dos tumores de baixo grau (classificação II de Furhman) com 310 casos (55,6%), seguido pelos tumores de alto grau (classificação III de Furhman) em 160 casos (28,7%). A maior parte das avaliações não continha

achados de pior prognóstico como necrose tumoral (28,1%), componente sarcomatóide (3,8%), invasão linfática (3,6%), venosa microscópica (13,1%) ou macroscópica (10,7%), tecido adiposo (16,1%), sistema coletor (4,1%) ou glândula adrenal (2,9%). Somente 19 casos (3,6%) manifestaram invasão de veia cava inferior (**Tabela 4**).

A presença de acometimento linfonodal (pN1-2) foi observada em 16 casos (2,9%). Em 395 pacientes (70,8%) os linfonodos foram negativos (pN0) e em 147 (26,3%) os linfonodos foram ignorados (pNx). Dos 262 indivíduos tratados com a nefrectomia parcial, por princípio, todos foram considerados como pN0. Dentre aqueles submetidos à nefrectomia radical, em 146 deles houve a ressecção de linfonodos. Considerando uma linfadenectomia "adequada" quando são extirpados 8 ou mais gânglios (AJCC *Cancer Staging Manual* 2017), notamos 41 casos dessa forma, enquanto em 105 vezes o número de linfonodos não alcançou esse valor e a linfadenectomia foi considerada "inadequada" (RINI et al. 2017). A distribuição do estadiamento clínico I, II, III e IV, segundo a *American Joint Committee on Cancer* ocorreu respectivamente em 376 (67,4%), 61 (10,9%), 93 (16,7%) e 28 (5,0%) pacientes (**Tabela 5**).

Para analisar os dados referentes aos desfechos clínicos, devemos considerar que ao momento do diagnóstico 44 pacientes (7,9%) eram metastáticos. Considerando os 514 que não possuíam metástases, após o tratamento primário, 70 indivíduos cursaram com recorrência da doença sendo 9 local (1,8%), 51 à distância (10,2%), e 10 para ambas (2%). Predominaram as recorrências pulmonares (41 casos) e ósseas (27 casos).

Dentre os pacientes recidivados 31 indivíduos foram submetidos à nova ressecção, computando 46,2% desse grupo. Ao término do estudo haviam ocorrido 78 óbitos, dos quais 58 (10,8% da coorte) pelo câncer. Em meio aos pacientes vivos, 444 (79,6%) mantinham-se sem doença e 36 (6,5%) seguiam com a doença (**Tabela 6**).

Tabela 1 - Variáveis epidemiológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	N	% (válida)
Idade	≤ 40 anos	66	11,8
	41 a 60 anos	317	56,8
	≥ 61 anos	175	31,4
Sexo	Masculino	356	63,8
	Feminino	202	36,2
Raça	Branços	270	48,4 (79,2)
	Outras etnias	71	12,7 (20,8)
	Ignorado	217	38,9
Sintomático ao diagnóstico	Não	346	62,0
	Sim	212	38,0
Sintomas	Não	298	53,4 (61,6)
	Hematúria	55	9,9 (11,3)
	Dor lombar	47	8,4 (9,7)
	Massa palpável	1	0,2 (0,2)
	Emagrecimento	12	2,2 (2,5)
	Febre	3	0,5 (0,6)
	Dois sintomas	36	6,4 (7,4)
	Tríade	7	1,3 (1,5)
	Outros	25	4,4 (5,2)
	Ignorado	74	13,3
	Histórico familiar	Não	410
Sim (1 caso)		15	2,8 (3,5)
Sim (≥2 casos)		2	0,4 (0,5)
Ignorado		131	23,4
Tabagismo	Não	42	7,5 (14,0)
	Ex-fumante	161	28,9 (53,5)
	Fumante	98	17,6 (32,6)
	Ignorado	257	46,1
Metástase ao diagnóstico	Não	514	92,1
	Sim	44	7,9
Total	-	558	100

Tabela 2 - Variáveis clínicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	N	% (válida)
ECOG	0	325	58,2 (65,0)
	1	160	28,7 (32,0)
	2	12	2,2 (2,4)
	3	3	0,5 (0,6)
	Ignorado	58	10,4
ASA	1	76	13,6 (14,2)
	2	366	65,6 (68,2)
	3	90	16,1 (16,7)
	4	5	0,9 (0,9)
	Ignorado	21	3,8
Hemoglobina (pré-operatório)	<12,0	67	12,0 (12,9)
	≥12,0	452	81,0 (87,1)
	Ignorado	39	7,0
Lateralidade	Direito	261	46,8
	Esquerdo	278	49,8
	Bilateral	19	3,4
Diâmetro tumoral	≤4cm	243	43,5 (44,5)
	>4 e ≤7	177	31,7 (32,4)
	>7	126	22,6 (23,1)
	Ignorado	12	2,2
Topografia renal	Superior	166	29,8 (37,0)
	Médio	84	15,0 (18,6)
	Inferior	147	26,4 (32,7)
	2 regiões	41	7,4 (9,1)
	3 regiões	12	2,1 (2,6)
	Ignorado	108	19,3
Total		558	100

Tabela 3 - Variáveis terapêuticas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	N	% (válida)
Tipo de cirurgia	Nefrectomia parcial	262	47,0 (47,3)
	Nefrectomia radical	292	52,3 (52,7)
	Ignorado	4	0,7
Tempo cirúrgico	≤ 3 horas	243	43,5 (51,1)
	> 3 horas	232	41,6 (48,9)
	Ignorado	83	14,9
Transfusão sanguínea	Não	363	65,1 (72,7)
	Sim	136	24,4 (27,3)
	Ignorado	59	10,5
Margens cirúrgicas	Ressecção total	509	91,2 (94,9)
	Macroscópica (+)	9	1,7 (1,7)
	Microscópica (+)	17	3,0 (3,2)
	Irressecável	1	0,2 (0,2)
	Ignorado	22	3,9
Tempo de internação	≤ 4 dias	318	57,0 (61,6)
	> 4 e ≤ 8 dias	161	28,9 (31,1)
	> 8 dias	38	6,8 (7,3)
	Ignorado	41	7,3
Complicações precoces	Não	441	79,0 (85,0)
	IRA	19	3,4 (3,6)
	Íleo paralítico	4	0,7 (0,8)
	Hemorragia	5	0,9 (1,0)
	Cardiovasculares	8	1,5 (1,5)
	Deiscência (parede)	4	0,7 (0,8)
	Outros	38	6,8 (7,3)
	Ignorado	39	7,0
Complicações tardias	Não	461	82,6 (93,9)
	IRC	14	2,5 (2,8)
	HAS	2	0,4 (0,5)
	Outras	14	2,5 (2,8)
	Ignorado	67	12,0
Total	-	558	100

Tabela 4 - Variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	N	% (válida)
Grau de Furhman	1	45	8,1
	2	310	55,6
	3	160	28,7
	4	43	7,7
Necrose tumoral	Não	401	71,9
	Sim	157	28,1
Componente sarcomatóide	Não	357	96,2
	Sim	21	3,8
Invasão linfática microscópica	Não	530	95,0 (96,4)
	Sim	20	3,6 (3,6)
	Ignorado	8	1,4
Invasão venosa microscópica	Não	485	86,9
	Sim	73	13,1
Invasão da veia renal	Não	477	85,5 (89,3)
	Sim	57	10,2 (10,7)
	Ignorado	24	4,3
Invasão da gordura (perirrenal ou seio renal)	Não	468	83,9
	Sim	90	16,1
Invasão do sistema coletor	Não	515	92,3 (95,9)
	Sim	22	3,9 (4,1)
	Ignorado	21	3,8
Invasão adrenal	Não	512	91,8 (97,1)
	Sim	15	2,7 (2,9)
	Ignorado	31	5,5
Invasão da veia cava inferior	Não	506	90,7 (96,4)
	Sim	19	3,4 (3,6)
	Ignorado	33	5,9
Total		558	100

Tabela 5 - Variáveis relacionadas ao estadiamento de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	N	%
Classificação da ISUP*	1	12	2,2
	2	314	56,3
	3	176	31,5
	4	56	10,0
Estadiamento patológico (T)	T1a	236	42,3
	T1b	145	26,0
	T2a	46	8,2
	T2b	21	3,8
	T3a	92	16,5
	T3b	10	1,8
	T4	8	1,4
Estadiamento patológico (N)	Nx	147	26,3
	N0	395	70,8
	N1	16	2,9
Estadiamento clínico AJCC**	I	376	67,4
	II	61	10,9
	III	93	16,7
	IV	28	5,0
Total	-	558	100

*International Society of Urological Pathology

** American Joint Committee on Cancer

Tabela 6 - Desfechos clínicos após tratamento do tumor primário e situação clínica aos 10 anos do estudo de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	N	% (válida)
Metastáticos ao diagnóstico	Não	514	92,1
	Sim	44	7,9
Falha, recorrência, para os não metastáticos (n 514)	Não	428	83,3 (86,0)
	Sim - Local	9	1,8 (1,8)
	Sim - Distância	51	9,9 (10,2)
	Sim - Ambos	10	1,9 (2,0)
	Informações faltantes	16	3,1
Situação clínica ao término do estudo	Vivo sem doença	444	79,6
	Vivo com doença	36	6,5
	Óbito pela doença	60	10,8
	Óbito por outra causa	18	3,1
Total	-	558	100

4 RESULTADOS

4.1 REAÇÕES IMUNOISTOQUÍMICAS DA RENINA

A avaliação da média do escore de expressão de renina nos casos de CCRcc e nos tecidos benignos (não neoplásicos) adjacentes revelou maior grau de expressão nos tecidos benignos ($p < 0,001$). A média de expressão de renina nuclear nos casos de CCRcc foi de 46,141 (dp=38,41 e mediana=45). Nos tecidos benignos, a expressão aconteceu intensamente em todos os *spots* amostrados (**Figura 8**), porém não de maneira difusa. Especialmente nas células dos túbulos a expressão se mostra mais homogênea.

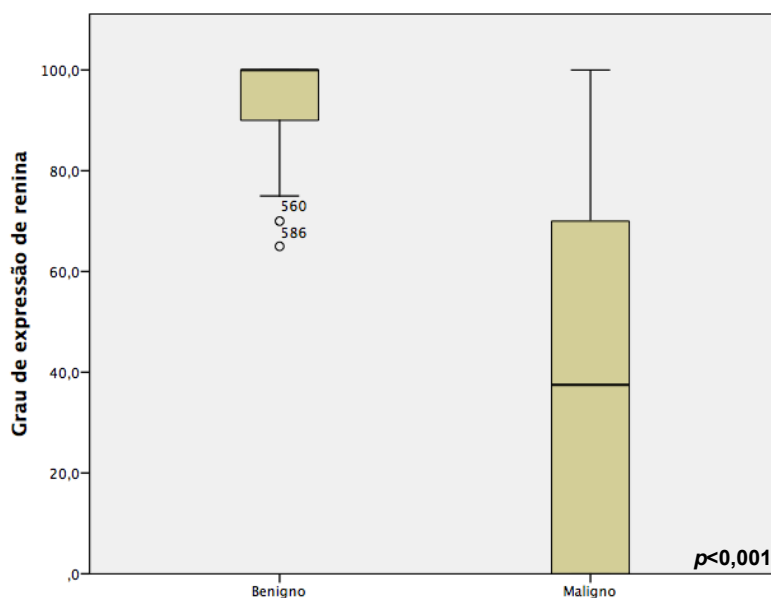


Figura 8 - Gráfico descritivo de Boxplot demonstrando os graus de expressão de renina em amostragem de tecido não neoplásico (n=80) e em CCRcc (n=558).

A renina apresentou um padrão de expressão nuclear. Eventualmente pôde se visualizar alguma marcação citoplasmática, de fundo, no entanto inespecífica e não significativa. O padrão de expressão do marcador foi escalonado, de 10 em 10, variando de 0 a 100% de acordo com a porcentagem de células positivas por 1000 células contadas (**Figuras 9, 10 e 11**).

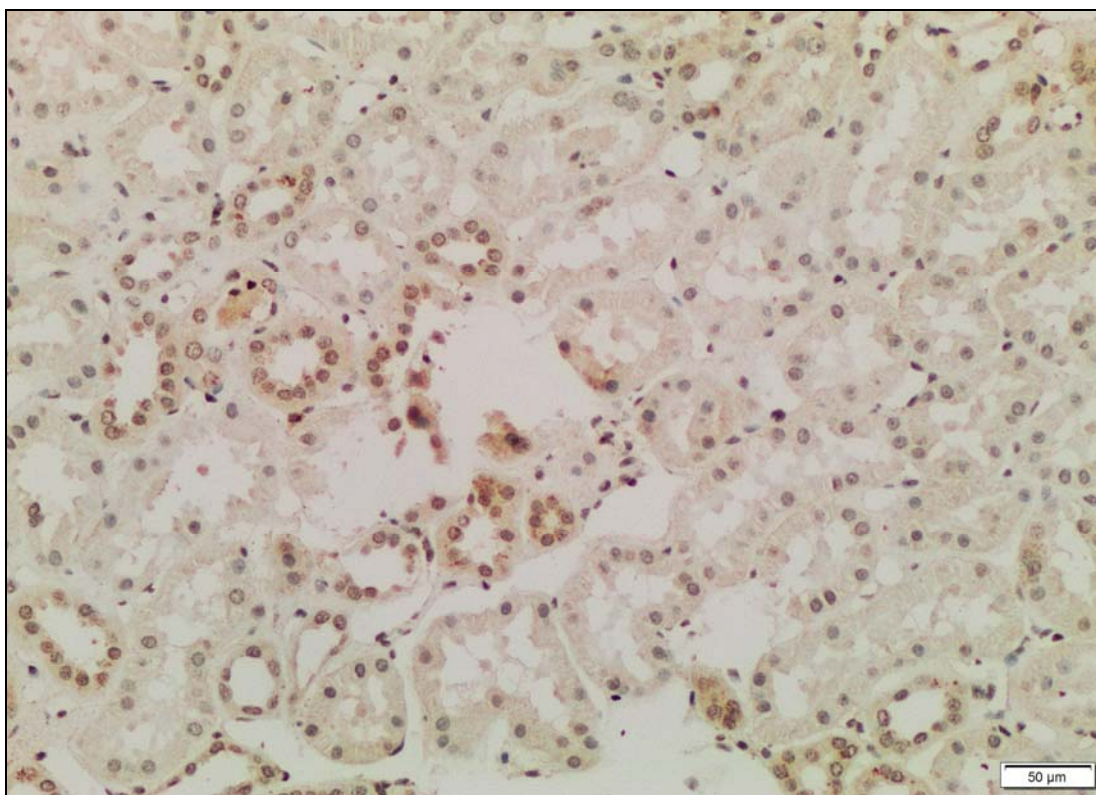


Figura 9 - Fotomicrografia exibindo a expressão imunoistoquímica nuclear da renina em parte dos túbulos renais do parênquima renal não neoplásico.

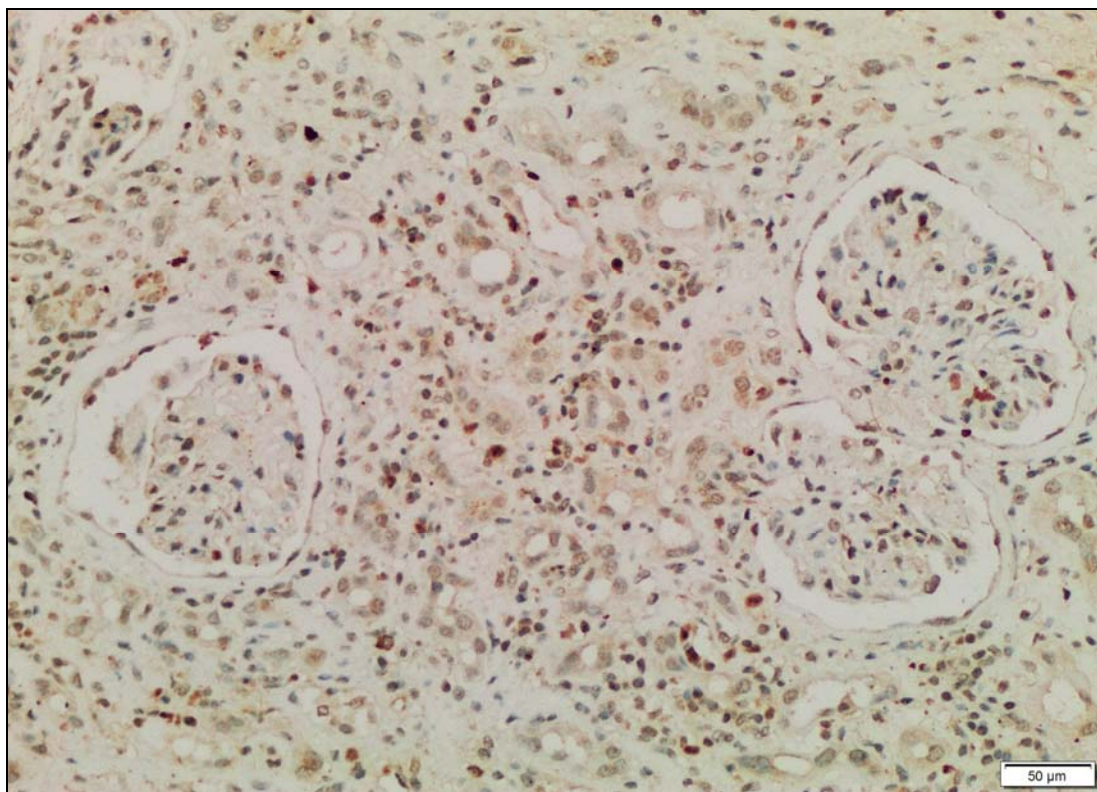


Figura 10 - Fotomicrografia de tecido benigno exibindo a expressão imunohistoquímica nuclear da renina em glomérulos renais.

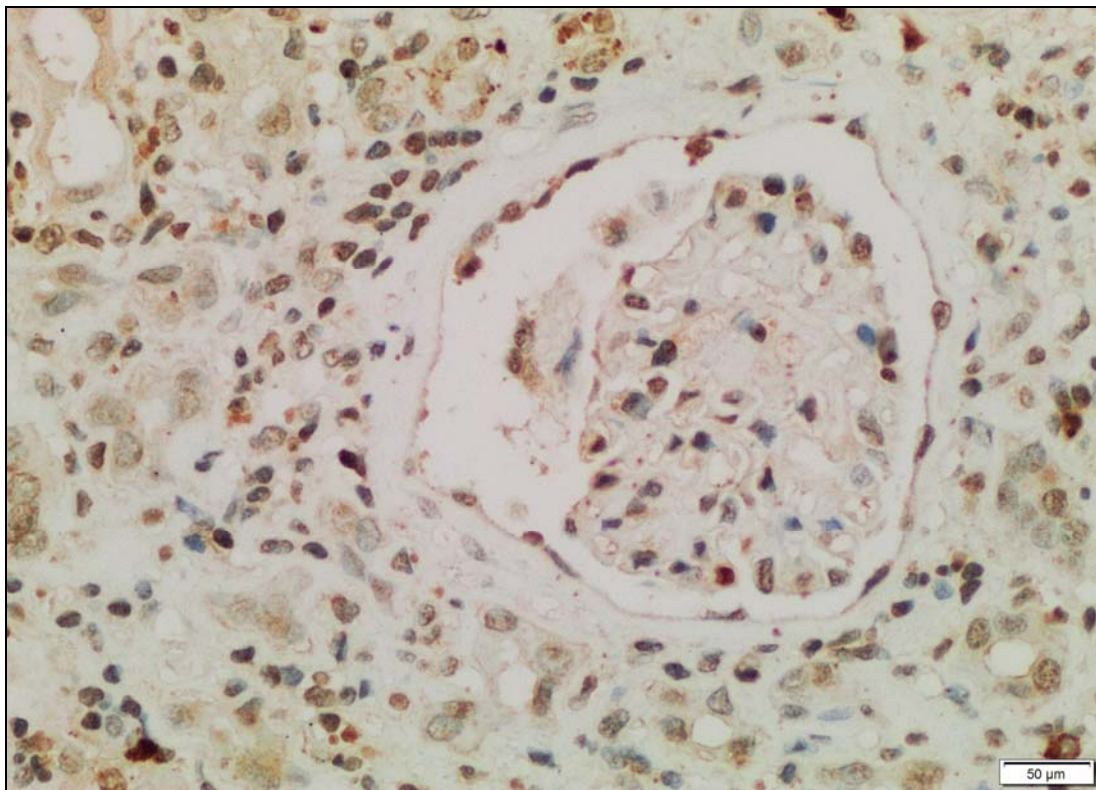


Figura 11 - Fotomicrografia de tecido benigno exibindo expressão imunohistoquímica nuclear da renina, em maior aumento, em um glomérulo renal. Nota-se positividade parcial desse marcador nas células glomerulares.

4.1.1 Análise qualitativa da expressão de renina

Em nossa casuística, dos 558 pacientes, 156 (28%) não expressaram a renina, enquanto 402 (72%) apresentaram expressão desse marcador em algum grau, sendo considerados positivos (**Figura 12**).

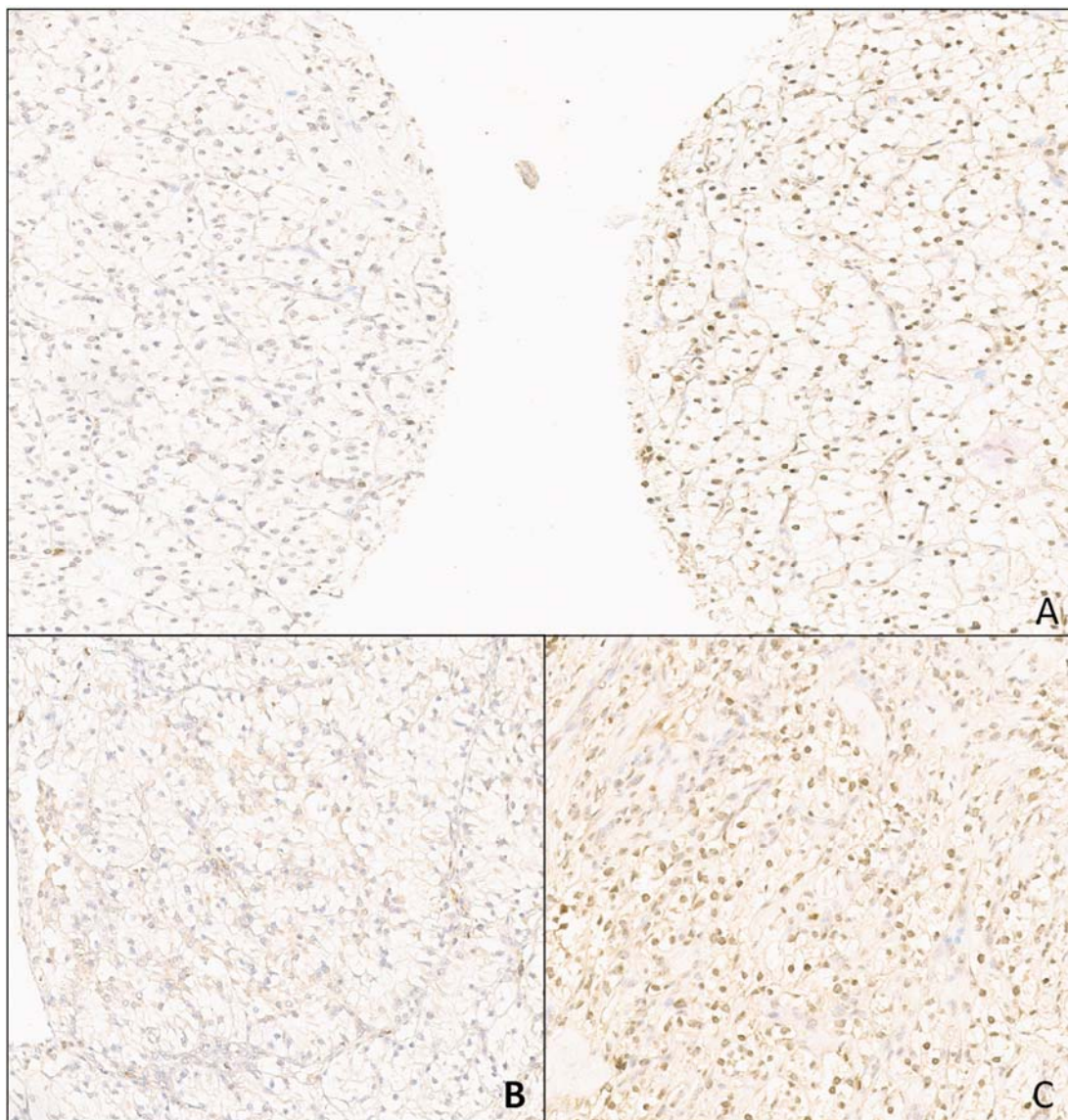


Figura 12 - Fotomicrografias das expressões imunoistoquímicas da renina. (A) Dois *spots* de carcinoma renal de células claras lado a lado, à esquerda negativo e à direita positivo para renina. (B) Detalhe em maior aumento do caso com expressão negativa. (C) Detalhe em maior aumento do caso com expressão positiva.

Os valores de expressão de renina não se associaram com as variáveis clínicas e demográficas, como exposto na **Tabela 7**.

Tabela 7 - Expressão qualitativa da renina segundo variáveis clínicas e demográficas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	Negativa (%)	Positiva (%)	p
Idade	≤ 40 anos	17 (10,9)	49 (12,2)	0,581
	41 a 60 anos	89 (57)	228 (56,7)	
	≥ 61 anos	50 (32,1)	125 (31,1)	
Sexo	Masculino	100 (64,1)	256 (63,7)	0,926
	Feminino	56 (35,9)	146 (36,3)	
Raça	Branços	82 (81,2)	188 (78,3)	0,553
	Não brancos	19 (18,8)	52 (21,7)	
Anemia	Hb < 12	21 (14,5)	46 (12,3)	0,506
	Hb ≥ 12	124 (85,5)	328 (87,7)	
Sintomático ao diagnóstico	Não	66 (42,3)	146 (36,3)	0,191
	Sim	90 (57,7)	256 (63,7)	
Tabagismo	Não	15 (16,8)	27 (12,7)	0,617
	Ex-fumante	45 (50,6)	16 (54,7)	
	Fumante	29 (32,6)	69 (32,6)	
Metástase ao diagnóstico	Não	140 (89,7)	374 (93)	0,195
	Sim	16 (10,3)	28 (7)	
ECOG	0	84 (60,4)	241 (66,8)	0,184
	≥ 1	55 (39,6)	120 (33,2)	
ASA	1	27 (18)	49 (12,7)	0,138
	2	93 (62)	273 (70,5)	
	≥ 3	30 (20)	65 (16,8)	
Diâmetro tumoral	≤4cm	66 (42,3)	177 (45,4)	0,608
	>4 e ≤7	50 (32,1)	127 (32,6)	
	>7	40 (25,6)	86 (22,1)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

Quando confrontadas as expressões de renina frente às variáveis anatomopatológicas, observamos associação entre a presença de

expressão de renina e os graus da classificação da ISUP ($p < 0,0001$) e de Furhman ($p < 0,001$). Os tumores com baixo grau (1 ou 2) tiveram maior prevalência de expressão positiva para ambas as variáveis, enquanto os de alto grau (3 ou 4) corresponderam a 56,4% e 47,4% dos casos que não expressaram a renina, respectivamente (**Tabela 8**).

Tabela 8 - Expressão qualitativa da renina segundo variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	Negativa (%)	Positiva (%)	<i>p</i>
Classificação da ISUP	1 ou 2	68 (43,6)	256 (63,7)	< 0,0001
	3 ou 4	88 (56,4)	146 (36,3)	
Grau de Furhman	1 ou 2	82 (52,6)	272 (67,7)	0,001
	3 ou 4	74 (47,4)	130 (32,3)	
Necrose tumoral	Não	111 (71,2)	290 (72,1)	0,899
	Sim	45 (28,8)	112 (27,8)	
Componente sarcomatóide	Não	150 (96,2)	387 (96,3)	1,0
	Sim	6 (3,8)	15 (3,7)	
Invasão linfática microscópica	Não	152 (98,1)	378 (95,7)	0,252
	Sim	3 (1,9)	17 (4,3)	
Invasão venosa microscópica	Não	134 (85,9)	351 (87,3)	0,760
	Sim	22 (14,1)	51 (12,7)	
Invasão da veia renal	Não	134 (88,7)	343 (89,6)	0,613
	Sim	17 (11,3)	40 (10,4)	
Invasão da gordura (perirrenal ou seio renal)	Não	125 (80,1)	343 (85,3)	0,171
	Sim	31 (19,9)	59 (14,7)	
Invasão do sistema coletor	Não	149 (96,1)	366 (95,8)	1,0
	Sim	6 (3,9)	16 (4,2)	
Invasão adrenal	Não	147 (96,1)	365 (97,6)	0,371
	Sim	6 (3,9)	9 (2,4)	
Invasão da veia cava inferior	Não	147 (96,7)	359 (96,2)	0,803
	Sim	5 (3,3)	14 (3,8)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

A ausência de expressão da renina está associada com piores casos. Dentre as variáveis relacionadas ao estadiamento, tal circunstância confirmou-se quando avaliamos a recidiva, a presença de linfonodo positivo e metástase. Os tumores sem expressão da renina são em sua maioria de alto grau ($p < 0,001$), apresentam duas vezes mais recidivas quando comparados aos renina positivos ($p = 0,011$), contém 50% mais achados de linfonodos positivos ($p = 0,05$), e três vezes mais quadros que envolvam metástases ($p = 0,003$), conforme exhibe a **Tabela 9**.

Tabela 9 - Expressão qualitativa da renina segundo variáveis relacionadas ao estadiamento patológico de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	Negativa (%)	Positiva (%)	<i>p</i>
Recidiva	Não	109 (79)	319 (88,6)	0,011
	Sim	29 (21)	41 (11,4)	
Estadiamento patológico (pT)	pT1	103 (66)	277 (68,9)	0,685
	pT2	18 (11,5)	48 (11,9)	
	pT3 ou pT4	35 (22,4)	77 (19,2)	
Estadiamento patológico (pN)	N0	103 (66)	292 (72,6)	0,05
	N1	2 (1,3)	14 (3,5)	
	Nx	51 (32,7)	96 (23,9)	
Estadiamento patológico (pM)	M0	38 (31,9)	79 (23,3)	0,003
	M1	12 (10,1)	13 (3,8)	
	Mx	69 (58)	247 (72,9)	
Estadiamento clínico AJCC	I ou II	117 (75)	320 (79,6)	0,285
	III ou IV	39 (25)	82 (20,4)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

4.1.2 Análise quantitativa da expressão de renina

Visando refinar a avaliação da expressão de renina no tecido tumoral, buscamos através da técnica estatística proposta por LAUSEN E SCHUMACHER (1992) um ponto de corte simples que melhor se adequasse dentre os achados obtidos. Dessa forma, novamente analisamos a correlação dentre as diversas variáveis estudadas e a expressão de renina quantificada abaixo ou igual ao valor de 35, e acima de 35.

Nesse cenário, observando variáveis clínicas e demográficas evidenciamos agora que no grupo de tumores com expressão de renina inferior a 35, os pacientes com pior performance/status pelo ECOG (≥ 1) foram percentualmente mais prevalentes ($p=0,031$) (**Tabela 10**).

Tabela 10 - Expressão quantitativa da renina segundo variáveis clínicas e demográficas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	Expressão da Renina ≤35 (%)	Expressão da Renina >35 (%)	p
Idade	≤ 40 anos	29 (10,4)	37 (13,3)	0,525
	41 a 60 anos	163 (58,4)	153 (55)	
	≥ 61 anos	87 (31,2)	88 (31,7)	
Sexo	Masculino	181 (64,9)	174 (62,6)	0,636
	Feminino	98 (35,1)	104 (37,4)	
Raça	Branços	142 (77,6)	128 (81)	0,521
	Não brancos	41 (22,4)	30 (19)	
Anemia	Hb < 12	36 (14,3)	31 (11,6)	0,427
	Hb ≥ 12	215 (85,7)	236 (88,4)	
Sintomático ao diagnóstico	Não	105 (37,6)	107 (38,5)	0,904
	Sim	174 (62,4)	171 (61,5)	
Tabagismo	Não	23 (15,2)	19 (12,7)	0,805
	Ex-fumante	79 (52,3)	82 (54,7)	
	Fumante	49 (32,5)	49 (32,6)	
Metástase ao diagnóstico	Não	254 (91)	259 (93,2)	0,440
	Sim	25 (9)	19 (6,8)	
ECOG	0	151 (60,2)	173 (69,8)	0,031
	≥ 1	100 (39,8)	75 (30,2)	
ASA	1	37 (13,9)	39 (14,5)	0,706
	2	179 (67)	186 (69,1)	
	≥ 3	51 (19,1)	44 (16,4)	
Diâmetro tumoral	≤4cm	114 (41,3)	128 (47,6)	0,313
	>4 e ≤7	93 (33,7)	84 (31,2)	
	>7	69 (25)	57 (21,2)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

Considerando as variáveis anatomopatológicas, além da associação com o grau de Furhman já demonstrada ($p < 0,001$), quando utilizado o corte abaixo de 35 houve significância estatística para a ocorrência de invasão venosa microscópica ($p = 0,046$) e de invasão da veia renal ($p = 0,026$), como mostra a **Tabela 11**.

Tabela 11 - Expressão quantitativa da renina segundo variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	Expressão da Renina ≤35 (%)	Expressão da Renina >35 (%)	<i>p</i>
Classificação da ISUP	1 ou 2	135 (48,4)	188 (67,6)	< 0,001
	3 ou 4	144 (51,6)	90 (32,4)	
Grau de Furhman	1 ou 2	155 (55,6)	198 (71,2)	< 0,001
	3 ou 4	124 (44,4)	80 (28,8)	
Necrose tumoral	Não	196 (70,3)	204 (73,4)	0,467
	Sim	83 (29,7)	74 (26,6)	
Componente sarcomatóide	Não	270 (96,8)	266 (95,7)	0,650
	Sim	9 (3,2)	12 (4,3)	
Invasão linfática microscópica	Não	267 (97,1)	262 (95,6)	0,489
	Sim	8 (2,9)	12 (4,4)	
Invasão venosa microscópica	Não	234 (83,9)	250 (89,9)	0,046
	Sim	45 (16,1)	28 (10,1)	
Invasão da veia renal	Não	230 (86,1)	246 (92,5)	0,026
	Sim	37 (13,9)	20 (7,5)	
Invasão da gordura (perirrenal ou seio renal)	Não	230 (82,4)	237 (85,3)	0,431
	Sim	49 (17,6)	41 (14,7)	
Invasão do sistema coletor	Não	263 (96,7)	251 (95,1)	0,469
	Sim	9 (3,3)	13 (4,9)	
Invasão adrenal	Não	262 (97,8)	249 (96,5)	0,549
	Sim	6 (2,2)	9 (3,5)	
Invasão da veia cava inferior	Não	257 (97,3)	248 (95,4)	0,333
	Sim	7 (2,7)	12 (4,6)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

Considerando a expressão da renina menor ou igual a 35 ganha força a relação com os casos que cursaram com recidiva ($p < 0,001$). Esses foram três vezes maiores quando comparados aos tumores com expressão acima de 35 (**Tabela 12**).

Tabela 12 - Expressão quantitativa da renina segundo variáveis relacionadas ao estadiamento patológico de 558 pacientes portadores de CCRcc do banco de dados do LARCG.

Variável	Categoria	Expressão da Renina ≤35 (%)	Expressão da Renina >35 (%)	p
Recidiva	Não	196 (79,4)	231 (92,4)	< 0,001
	Sim	51 (20,6)	19 (7,6)	
Estadiamento patológico (pT)	pT1	183 (65,6)	196 (70,5)	0,248
	pT2	32 (11,5)	34 (12,2)	
	pT3 ou pT4	64 (22,9)	48 (17,3)	
Estadiamento patológico (pN)	N0	191 (68,5)	203 (73)	0,342
	N1	7 (2,5)	9 (3,2)	
	Nx	81 (29)	66 (23,7)	
Estadiamento patológico (pM)	M0	53 (24,7)	64 (26,4)	0,213
	M1	16 (7,4)	9 (3,7)	
	Mx	146 (67,9)	169 (69,8)	
Estadiamento clínico AJCC	I ou II	211 (75,6)	225 (80,9)	0,157
	III ou IV	68 (24,4)	53 (19,1)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

4.2 ANÁLISE DE SOBREVIDA

4.2.1 Sobrevida Global (SG)

Durante o seguimento ocorreram 72 óbitos globais entre os pacientes analisados. A taxa de SG em 10 anos foi 87,1%, conforme ilustrado na **Figura 13**.

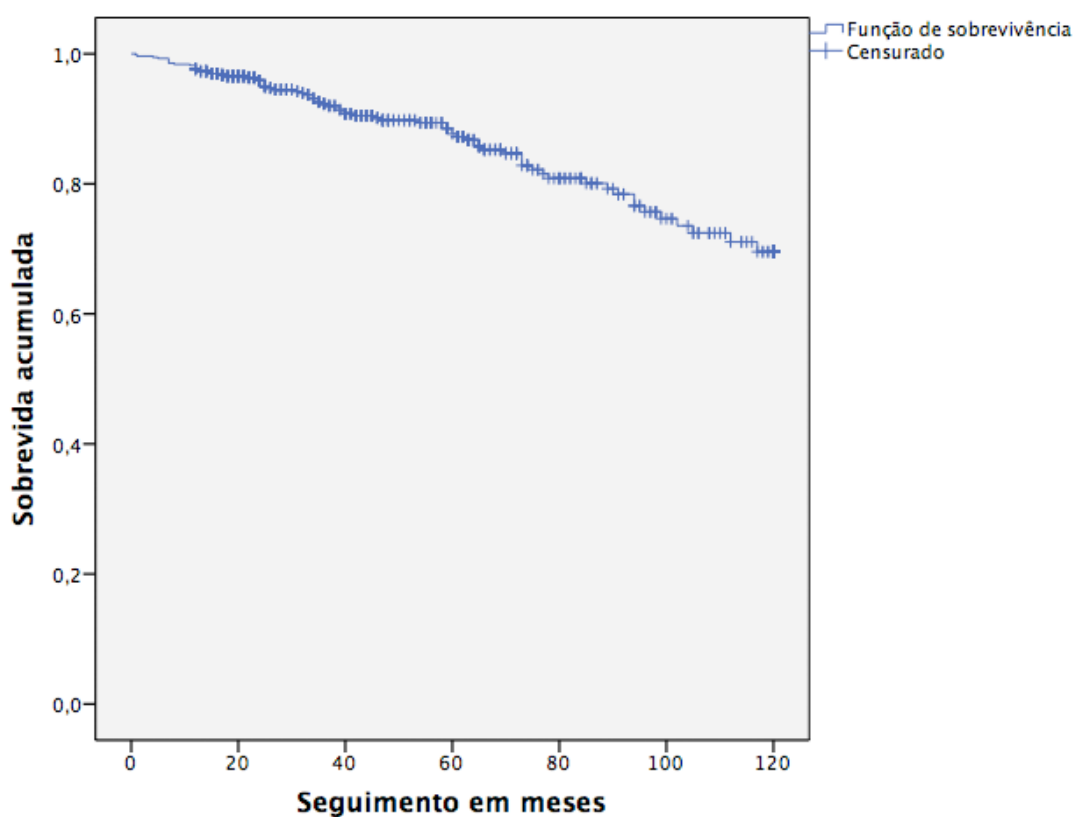


Figura 13 - Curva de sobrevida global em 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc.

Dentre as variáveis clínicas e demográficas, as que influenciaram a SG foram a idade ($p=0,023$), a presença de anemia ($p<0,001$), a presença de sintomas ao diagnóstico ($p<0,001$), metástase ao diagnóstico ($p<0,001$), ECOG ($p<0,001$) e ASA ($p<0,001$), como ilustrado na **Tabela 13**.

Tabela 13 - Probabilidade acumulada de sobrevida global em 10 anos segundo variáveis clínicas e demográficas de 558 pacientes portadores de CCRcc.

Variável	Categoria	SG em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Idade	≤ 40 anos	64 (9,7)	0,023
	41 a 60 anos	280 (88,3)	
	≥ 61 anos	142 (81,1)	
Sexo	Masculino	308 (86,5)	0,230
	Feminino	178 (88,1)	
Raça	Branco	224 (83)	0,295
	Não brancos	58 (81,7)	
Anemia	Hb < 12	40 (59,7)	<0,001
	Hb ≥ 12	421 (93,1)	
Sintomático ao diagnóstico	Não	198 (93,4)	<0,001
	Sim	288 (83,2)	
Tabagismo	Não	31 (73,8)	0,110
	Ex-fumante	142 (88,2)	
	Fumante	87 (88,8)	
Metástase ao diagnóstico	Não	465 (90,5)	<0,001
	Sim	21 (47,7)	
ECOG	0	301 (92,6)	<0,001
	≥ 1	131 (74,9)	
ASA	1	72 (94,7)	<0,001
	2	325 (88,8)	
	≥ 3	71 (74,7)	
Diâmetro tumoral	≤4cm	231 (95,1)	<0,001
	>4 e ≤7	158 (89,3)	
	>7	85 (67,5)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

Considerando as variáveis anatomopatológicas, quase 70% dos fatores avaliados foram significantes. Apenas a classificação da ISUP, o grau de Furhman, o componente sarcomatóide e a invasão da glândula adrenal não interferiram na SG, como exposto na **Tabela 14**.

Tabela 14 - Probabilidade acumulada de sobrevida global em 10 anos segundo variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc.

Variável	Categoria	SG em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Classificação da ISUP	1 ou 2	281 (86,7)	0,788
	3 ou 4	205 (87,6)	
Grau de Furhman	1 ou 2	302 (85,3)	0,513
	3 ou 4	184 (90,2)	
Margem cirúrgica	Livre	441 (89,1)	0,012
	Comprometida	30 (76,9)	
Necrose tumoral	Não	365 (91)	<0,001
	Sim	121 (77,1)	
Componente sarcomatóide	Não	469 (87,3)	0,195
	Sim	17 (81)	
Invasão linfática microscópica	Não	470 (88,7)	<0,001
	Sim	9 (45)	
Invasão venosa microscópica	Não	438 (90,3)	<0,001
	Sim	48 (65,8)	
Invasão da veia renal	Não	422 (88,5)	0,003
	Sim	40 (70,2)	
Invasão da gordura (perirrenal ou seio renal)	Não	419 (89,5)	<0,001
	Sim	67 (74,4)	
Invasão do sistema coletor	Não	452 (87,8)	0,002
	Sim	13 (59,1)	
Invasão adrenal	Não	445 (86,9)	0,143
	Sim	10 (66,7)	
Invasão da veia cava inferior	Não	441 (87,2)	0,030
	Sim	12 (63,2)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

Quanto às variáveis relacionadas aos estadiamentos patológico (tumoral, linfonodal e metastático) e clínico, todas influenciaram a SG, com $p < 0,001$, como demonstrado na **Tabela 15**.

Tabela 15 - Probabilidade acumulada de sobrevida global em 10 anos segundo variáveis relacionadas ao estadiamento de 558 pacientes portadores de CCRcc.

Variável	Categoria	SG em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Estadiamento patológico (pT)	pT1	358 (94,2)	<0,001
	pT2	46 (69,7)	
	pT3 ou pT4	82 (73,2)	
Estadiamento patológico (pN)	N0 ou Nx	478 (88,2)	<0,001
	N1	8 (50)	
Estadiamento patológico (pM)	M0 ou Mx	470 (88,5)	<0,001
	M1	14 (56)	
Estadiamento clínico AJCC	I ou II	400 (91,5)	<0,001
	III ou IV	86 (71,1)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

Avaliando isoladamente a expressão de renina, tanto qualitativamente quanto quantitativamente, apesar das apresentações com positividade e *cut-off* acima de 35 serem favoráveis, não houve interferência significativa na SG para as análises univariadas, conforme constatado na **Tabela 16** e **Figuras 14 e 15**.

Tabela 16 - Probabilidade acumulada de sobrevida global em 10 anos segundo o grau de expressão da renina de 558 pacientes portadores de CCRcc.

Variável	Categoria	SG em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Renina	Positiva	357 (88,8)	0,435
	Negativa	130 (83,9)	
Renina <i>cut-off</i>	>35	252 (90,3)	0,118
	≤ 35	235 (84,5)	

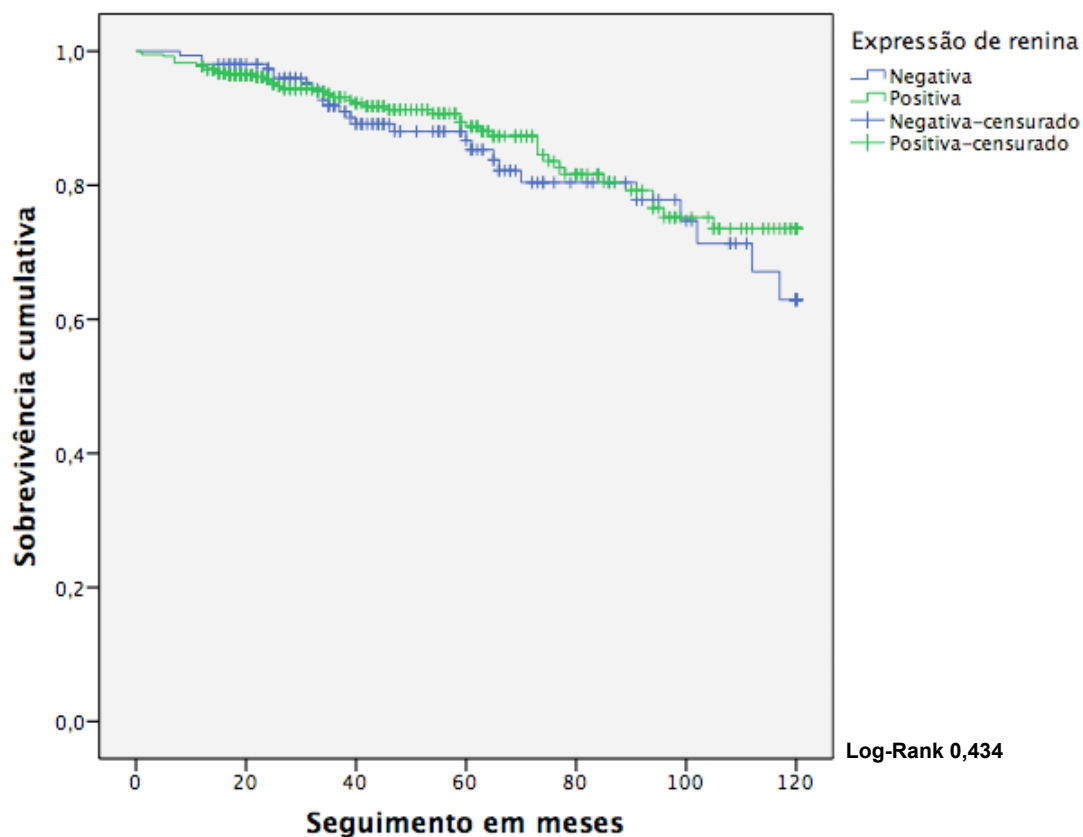


Figura 14 - Curva de sobrevida global aos 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc estratificados em expressão de renina negativa e positiva.

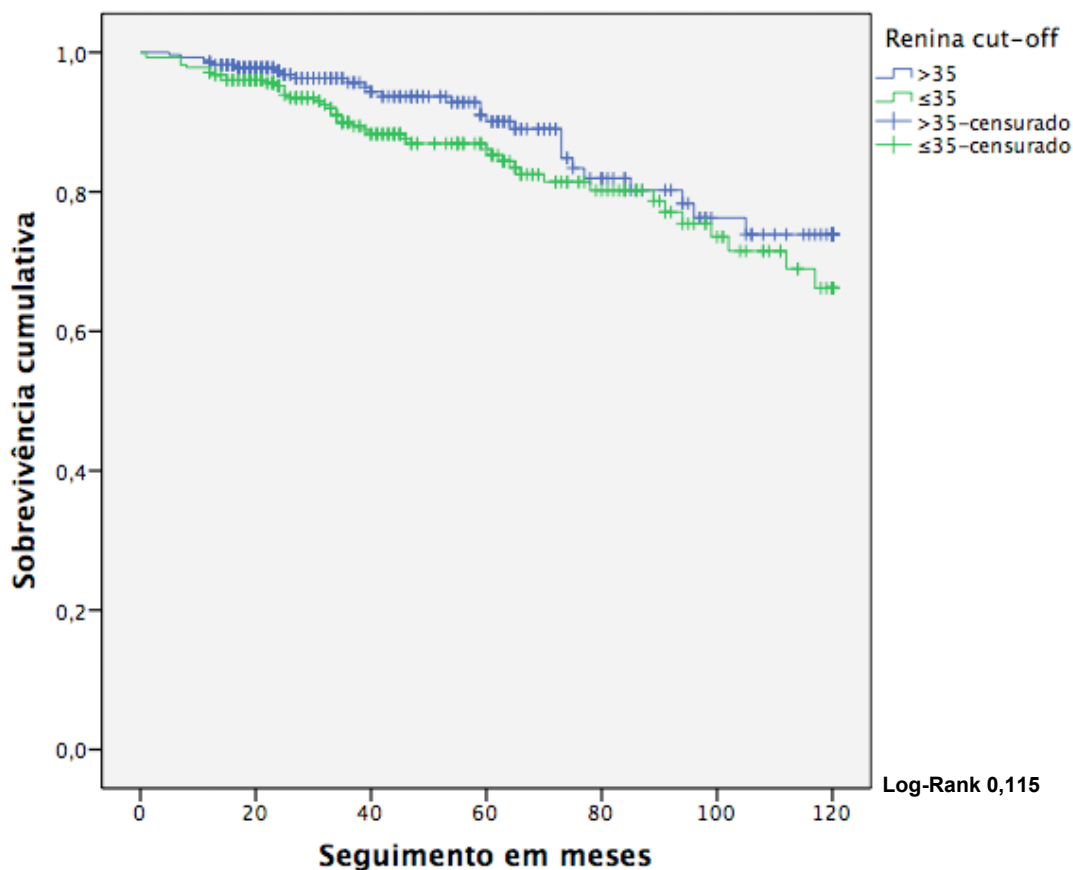


Figura 15 - Curva de sobrevida global aos 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc estratificados em expressão de renina abaixo ou igual a 35, e acima de 35.

Análise multivariada

As variáveis que atingiram significância estatística na análise univariada para SG, bem como a variável de interesse do estudo (renina) foram selecionadas para a análise multivariada.

Considerando incluir no modelo a expressão qualitativa de renina (positiva ou negativa), após avaliação pela *regressão logística de Cox (Backward)* em 14 passos, a variável mantém-se como preditor associado

para o risco de óbito global ($p=0,018$). Tal condição de significância também é encontrada para outras variáveis, como ilustrado na **Tabela 17**.

Tabela 17 - Risco de óbito por variáveis em portadores de CCRcc, incluindo a expressão qualitativa de renina. Variáveis independentes remanescentes após análise regressiva de cox em modelo multivariado.

Variável	Categoria	Multivariada		
		Risco Relativo	IC 95%	valor-p
Anemia	Hb \geq 12	1	referência	
	Hb < 12	2,188	1,205 - 3,984	0,010
Sintomático ao diagnóstico	Não	1	referência	
	Sim	3,773	1,584 - 8,991	0,003
Metastático ao diagnóstico	Não	1	referência	
	Sim	2,368	1,265 - 4,432	0,007
ECOG	0	1	referência	
	\geq 1	2,596	1,391 - 4,844	0,003
Invasão linfática microscópica	Não	1	referência	
	Sim	2,611	1,155 - 5,902	0,021
Estadiamento patológico (pT)	pT1	1	referência	0,011
	pT2	3,193	1,490 - 6,839	0,003
	pT3 ou pT4	1,939	0,941 - 3,998	0,073
Renina	Positiva	1	referência	
	Negativa	2,008	1,130 - 3,571	0,018

Quando utilizada para a análise multivariada a expressão quantitativa de renina, com *cut-off* em valores abaixo ou acima de 35, a variável é eliminada no modelo de regressão na 13 etapa, de um total de 15.

4.2.2 Sobrevida Câncer Específica (SCE)

Durante o seguimento ocorreram 52 mortes por CCRcc. A SCE dos pacientes estudados foi de 90,5% em 10 anos, como demonstrado na **Figura 16**.

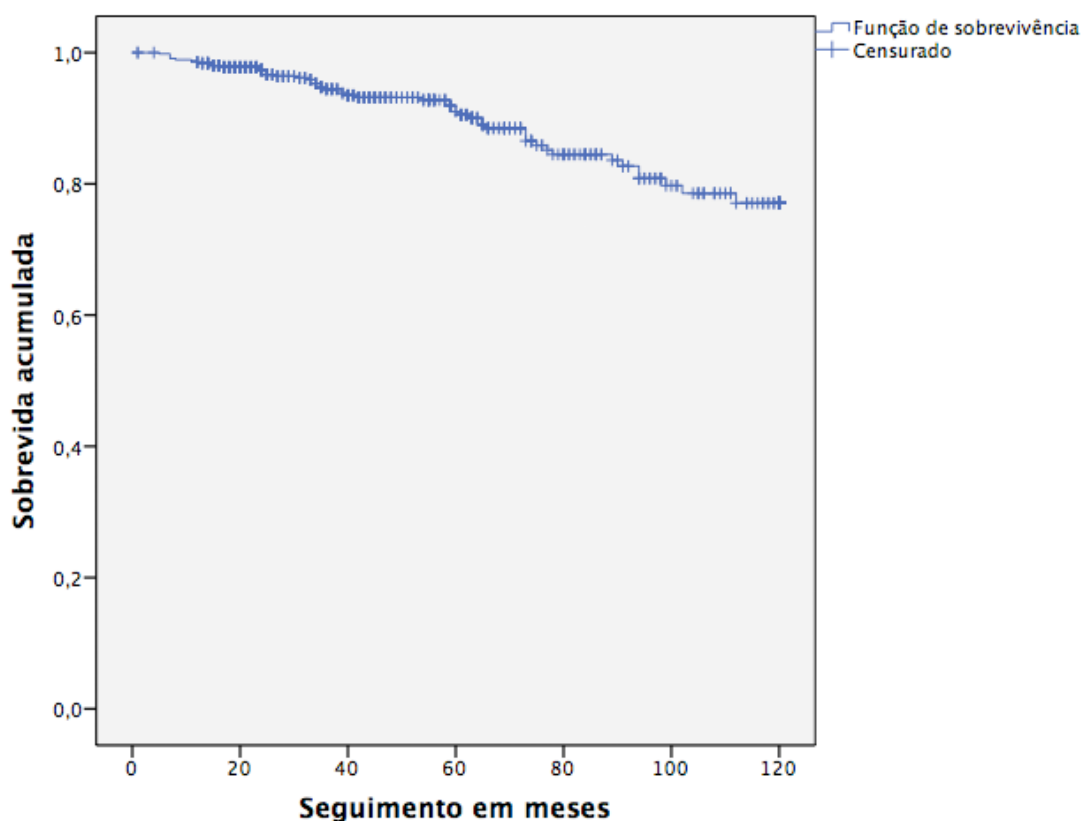


Figura 16 - Curva de sobrevida câncer específica em 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc.

Em análise univariada, as variáveis clínicas e demográficas que influenciaram significativamente a SCE foram: anemia ($p<0,001$), sintomas ao diagnóstico ($p=0,008$), metástase ao diagnóstico ($p<0,001$), ECOG ($p<0,001$), ASA ($p=0,033$) e diâmetro tumoral ($p<0,001$) (**Tabela 18**).

Tabela 18 - Probabilidade acumulada de sobrevida câncer específica em 10 anos segundo variáveis clínicas e demográficas de 558 pacientes portadores de CCRcc.

Variável	Categoria	SCE em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Idade	≤ 40 anos	64 (9,7)	0,139
	41 a 60 anos	288 (91,2)	
	≥ 61 anos	153 (87,4)	
Sexo	Masculino	322 (90,4)	0,551
	Feminino	184 (91,1)	
Raça	Branços	240 (88,9)	0,117
	Não brancos	61 (85,9)	
Anemia	Hb < 12	49 (73,1)	<0,001
	Hb ≥ 12	429 (94,9)	
Sintomático ao diagnóstico	Não	201 (94,8)	0,008
	Sim	305 (88,2)	
Tabagismo	Não	36 (85,7)	0,204
	Ex-fumante	147 (91,3)	
	Fumante	89 (90,8)	
Metástase ao diagnóstico	Não	483 (94)	<0,001
	Sim	23 (52,3)	
ECOG	0	307 (94,5)	<0,001
	≥ 1	144 (82,3)	
ASA	1	73 (96,1)	0,241
	2	335 (91,5)	
	≥ 3	80 (84,2)	
Diâmetro tumoral	≤4cm	237 (97,5)	0,034
	>4 e ≤7	165 (93,2)	
	>7	92 (73)	

Dentre as variáveis anatomopatológicas observou-se que a sua maioria influenciou a SCE. Apresentaram $p < 0,001$ a presença de necrose

tumoral, e as invasões linfática, venosa, de gordura e do sistema coletor. Outros fatores como o componente sarcomatóide, invasão de veia renal e da veia cava inferior, também foram significativos (**Tabela 19**).

Tabela 19 - Probabilidade acumulada de sobrevida câncer específica em 10 anos segundo variáveis anatomopatológicas de 558 pacientes portadores de CCRcc.

Variável	Categoria	SCE em 10 anos - n(%)	Univariada valor-p
Classificação da ISUP	1 ou 2	292 (90,1)	0,621
	3 ou 4	214 (91,5)	
Grau de Furhman	1 ou 2	315 (89)	0,348
	3 ou 4	191 (93,6)	
Margem cirúrgica	Livre	454 (91,7)	0,471
	Comprometida	36 (90)	
Necrose tumoral	Não	379 (94,5)	<0,001
	Sim	127 (80,9)	
Componente sarcomatóide	Não	489 (91,1)	0,050
	Sim	17 (81)	
Invasão linfática microscópica	Não	486 (91,7)	<0,001
	Sim	13 (65)	
Invasão venosa microscópica	Não	452 (93,2)	<0,001
	Sim	54 (74)	
Invasão da veia renal	Não	437 (91,6)	0,010
	Sim	45 (78,9)	
Invasão da gordura (perirrenal ou seio renal)	Não	435 (92,9)	<0,001
	Sim	71 (78,9)	
Invasão do sistema coletor	Não	472 (91,7)	<0,001
	Sim	13 (59,1)	
Invasão adrenal	Não	463 (90,4)	0,444
	Sim	12 (80)	
Invasão da veia cava inferior	Não	461 (91,1)	0,003
	Sim	12 (63,2)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

Tal como exposto para a SG, as variáveis relacionadas aos estadiamentos patológico (tumoral, linfonodal e metastático) e clínico, todas foram fortemente influentes sobre a SCE, com $p < 0,001$, como ilustrado na

Tabela 20.

Tabela 20 - Probabilidade acumulada de sobrevida câncer específica em 10 anos segundo variáveis relacionadas ao estadiamento de 558 pacientes portadores de CCRcc.

Variável	Categoria	SCE em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Estadiamento patológico (pT)	pT1	368 (96,8)	
	pT2	49 (74,2)	<0,001
	pT3 ou pT4	89 (79,5)	<0,001
Estadiamento patológico (pN)	N0 ou Nx	497 (91,7)	
	N1	9 (56,3)	<0,001
Estadiamento patológico (pM)	M0 ou Mx	488 (91,9)	
	M1	16 (64)	<0,001
Estadiamento clínico AJCC	I ou II	413 (94,5)	
	III ou IV	93 (76,9)	<0,001

* Excluindo-se os dados faltantes.

Quando estudada a renina, seja de forma qualitativa (simples positividade) ou quantitativa (grau de expressão considerando ponto de corte), as variáveis independentes não influenciaram a SCE aos 10 anos de seguimento, conforme mostra a **Tabela 21** e as **Figuras 17** e **18**.

Tabela 21 - Probabilidade acumulada de sobrevida câncer específica em 10 anos segundo o grau de expressão da renina de 558 pacientes portadores de CCRcc.

Variável	Categoria	SCE em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Renina	Positiva	367 (91,3)	0,850
	Negativa	138 (89,0)	
Renina cut-off	> 35	257 (92,1)	0,427
	≤ 35	248 (89,2)	

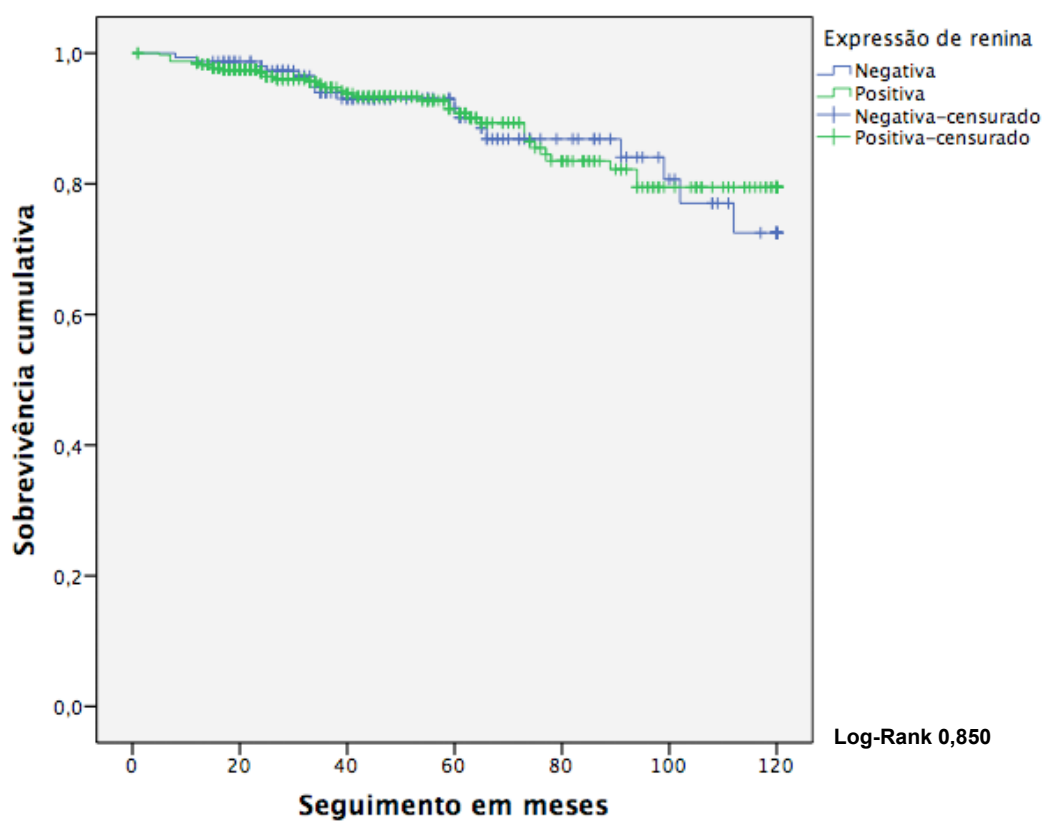


Figura 17 - Curva de sobrevida câncer específica aos 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc estratificados em expressão de renina negativa e positiva.

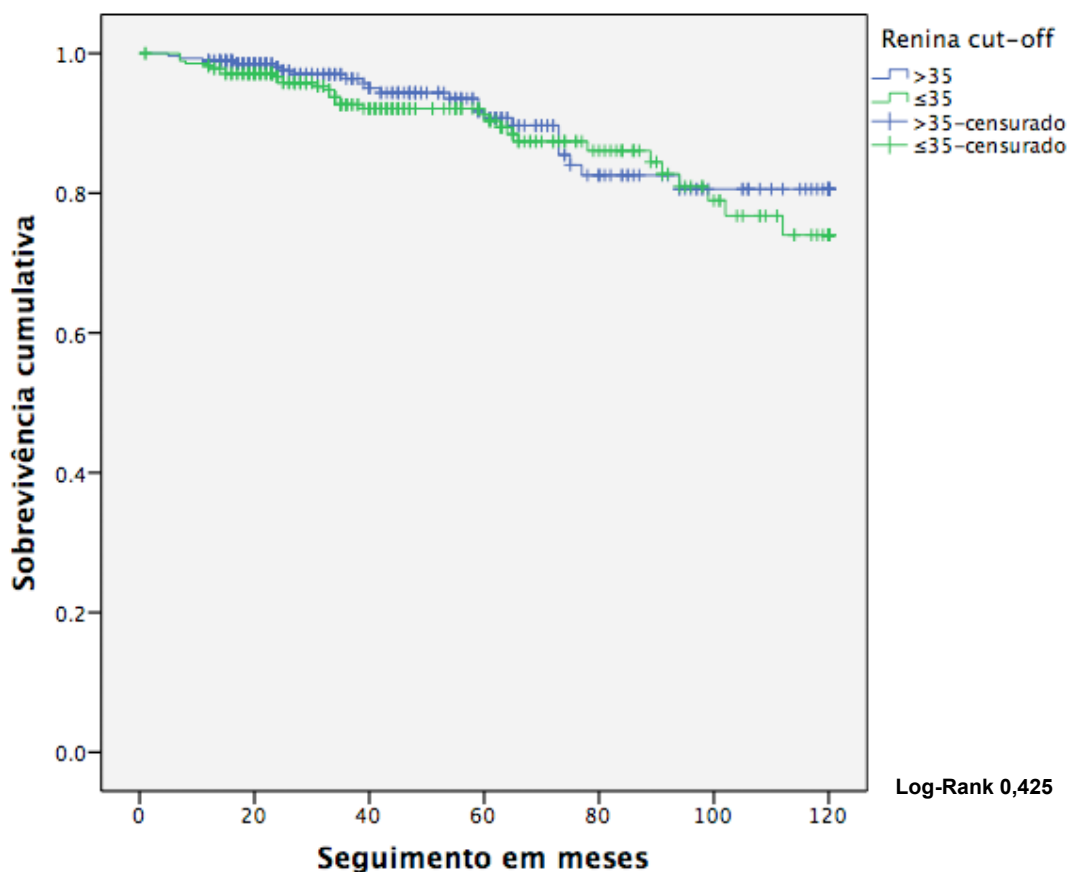


Figura 18 - Curva de sobrevida câncer específica aos 120 meses para os 558 pacientes portadores de CCRcc estratificados em expressão de renina abaixo ou igual a 35, e acima de 35.

Análise multivariada

As variáveis que atingiram significância estatística na análise univariada para SCE, assim como a variável de interesse do estudo (renina) foram selecionadas para a análise multivariada.

Após avaliação pela *regressão logística de Cox (Backward)* em 16 passos, incluindo nesse modelo a expressão qualitativa de renina (positiva ou negativa), a variável demonstrou influência favorável para a SCE quando presente ($p=0,037$). Pacientes que não expressaram a renina tiveram um

risco duas vezes maior de morrer pela doença, comparados aos que expressaram. Outras variáveis consideradas fatores de risco para a SCE foram: sintomáticos ao diagnóstico ($p=0,006$), metastáticos ao diagnóstico ($p<0,001$), invasão linfática ($p=0,021$), e estadiamento patológico tumoral ($p<0,001$) (**Tabela 22**).

Tabela 22 - Risco de óbito câncer específico por variáveis em portadores de CCRcc, incluindo a expressão qualitativa de renina. Variáveis independentes remanescentes após análise regressiva de cox em modelo multivariado.

Variável	Categoria	Multivariada		
		Risco Relativo	IC 95%	valor-p
Sintomático ao diagnóstico	Não	1	referência	
	Sim	3,810	1,459 - 9,948	0,006
Metastático ao diagnóstico	Não	1	referência	
	Sim	4,908	2,456 - 9,808	<0,001
Invasão linfática microscópica	Não	1	referência	
	Sim	2,909	1,173 - 7,219	0,021
Invasão do sistema coletor	Não	1	referência	
	Sim	2,333	0,991 - 5,493	0,052
Estadiamento patológico (pT)	pT1	1	referência	<0,001
	pT2	6,750	2,604 - 17,494	<0,001
	pT3 ou pT4	4,031	1,576 - 10,312	0,004
Renina	Positiva	1	referência	
	Negativa	2,040	1,043 - 4,0	0,037

Quando utilizada para a análise multivariada a expressão quantitativa de renina, com *cut-off* em valores abaixo ou acima de 35, a variável é eliminada no modelo de regressão não alcançando um total de 17 etapas.

4.2.3 Sobrevida Livre de Doença (SLD)

Para a análise da SLD foram excluídos os pacientes sabidamente metastáticos ao diagnóstico (n=44), bem como aqueles com dados faltantes relacionados à recidiva da doença (n=16). Os pacientes com tumores não metastáticos totalizaram 498 casos. Ao final de 10 anos de seguimento, 68 indivíduos cursaram com recidiva da doença, caracterizando 86,3% de SLD na população estudada (**Figura 19**).

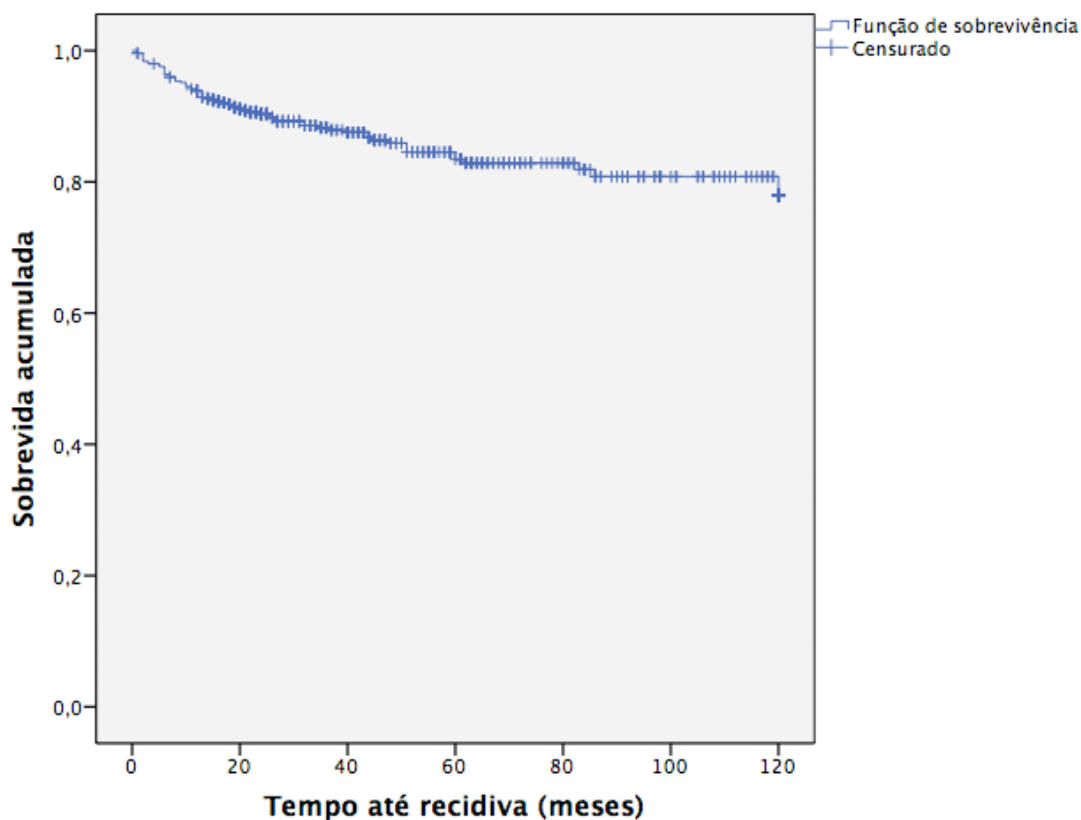


Figura 19 - Curva de sobrevida livre de doença em 120 meses para os 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos.

Em análise univariada, as variáveis clínicas e demográficas que influenciaram a SLD foram a idade ($p=0,027$), a presença de anemia ($p<0,001$), ASA ($p=0,014$) e o diâmetro tumoral ($p<0,001$) (**Tabela 23**).

Tabela 23 - Probabilidade acumulada de sobrevida livre de doença em 10 anos segundo variáveis clínicas e demográficas de 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos.

Variável	Categoria	SLD em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Idade	≤ 40 anos	60 (98,4)	0,071
	41 a 60 anos	240 (84,5)	0,022
	≥ 61 anos	130 (85,0)	0,027
Sexo	Masculino	269 (85,9)	0,637
	Feminino	161 (87,0)	
Raça	Branco	200 (81,6)	0,452
	Não brancos	51 (79,7)	
Anemia	Hb < 12	39 (73,6)	<0,001
	Hb ≥ 12	378 (90,9)	
Sintomático ao diagnóstico	Não	171 (89,5)	0,056
	Sim	259 (84,4)	
Tabagismo	Não	33 (89,2)	0,497
	Ex-fumante	130 (87,2)	0,815
	Fumante	71 (81,6)	0,387
ECOG	0	273 (88,3)	0,062
	≥ 1	116 (81,7)	
ASA	1	63 (95,5)	0,029
	2	292 (87,7)	0,089
	≥ 3	67 (80,7)	0,014
Diâmetro tumoral	≤4cm	219 (95,2)	<0,001
	>4 e ≤7	136 (86,1)	0,002
	>7	64 (65,3)	<0,001

Dentre as variáveis anatomopatológicas que influenciaram significativamente a SLD estão a margem cirúrgica ($p<0,001$), necrose tumoral ($p<0,001$), as invasões venosa microscópica ($p<0,001$), de veia renal ($p=0,010$) e da gordura perirrenal ($p<0,001$) (**Tabela 24**).

Tabela 24 - Probabilidade acumulada de sobrevida livre de doença em 10 anos segundo variáveis anatomopatológicas de 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos.

Variável	Categoria	SLD em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Classificação da ISUP	1 ou 2	255 (86,7)	0,702
	3 ou 4	175 (85,8)	
Grau de Furhman	1 ou 2	273 (85,6)	0,832
	3 ou 4	157 (87,7)	
Margem cirúrgica	Livre	394 (88,5)	<0,001
	Comprometida	28 (80,0)	
Necrose tumoral	Não	329 (89,6)	<0,001
	Sim	101 (77,1)	
Componente sarcomatóide	Não	420 (86,4)	0,556
	Sim	10 (83,3)	
Invasão linfática microscópica	Não	410 (86,3)	0,293
	Sim	12 (80,0)	
Invasão venosa microscópica	Não	392 (88,9)	<0,001
	Sim	38 (66,7)	
Invasão da veia renal	Não	379 (87,1)	0,010
	Sim	31 (72,1)	
Invasão da gordura (perirrenal ou seio renal)	Não	382 (89,7)	<0,001
	Sim	48 (66,7)	
Invasão do sistema coletor	Não	401 (86,2)	0,651
	Sim	13 (81,3)	
Invasão adrenal	Não	401 (86,8)	0,197
	Sim	5 (62,5)	
Invasão da veia cava inferior	Não	395 (86,8)	0,568
	Sim	11 (78,6)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

As variáveis relacionadas aos estadiamentos patológico (tumoral e linfonodal) e clínico atuaram significativamente sobre a SLD, com $p < 0,001$, como exibido na **Tabela 25**.

Tabela 25 - Probabilidade acumulada de sobrevida livre de doença em 10 anos segundo variáveis relacionadas ao estadiamento de 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos.

Variável	Categoria	SLD em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Estadiamento patológico (pT)	pT1	333 (93,8)	<0,001
	pT2	42 (76,4)	
	pT3 ou pT4	55 (62,5)	
Estadiamento patológico (pN)	N0 ou Nx	427 (87,5)	<0,001
	N1	3 (30,0)	
Estadiamento clínico AJCC	I ou II	374 (91,4)	<0,001
	III ou IV	56 (62,9)	

* Excluindo-se os dados faltantes.

As variáveis independentes relacionadas à renina mostraram impacto significativo para a SLD aos 10 anos de seguimento. As avaliações qualitativa e quantitativa demonstraram que pacientes com expressão negativa ($p=0,013$) e *cut-off* ≤ 35 ($p < 0,001$) cursaram com maior número de recidivas, como evidenciado na **Tabela 26** e nas **Figuras 20 e 21**.

Tabela 26 - Probabilidade acumulada de sobrevida livre de doença específica em 10 anos segundo o grau de expressão da renina de 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos.

Variável	Categoria	SLD em 10 anos - n(%)	Univariada
			valor-p
Renina	Positiva	321 (89,2)	0,013
	Negativa	109 (79,0)	
Renina <i>cut-off</i>	> 35	233 (92,8)	<0,001
	≤ 35	197 (79,8)	

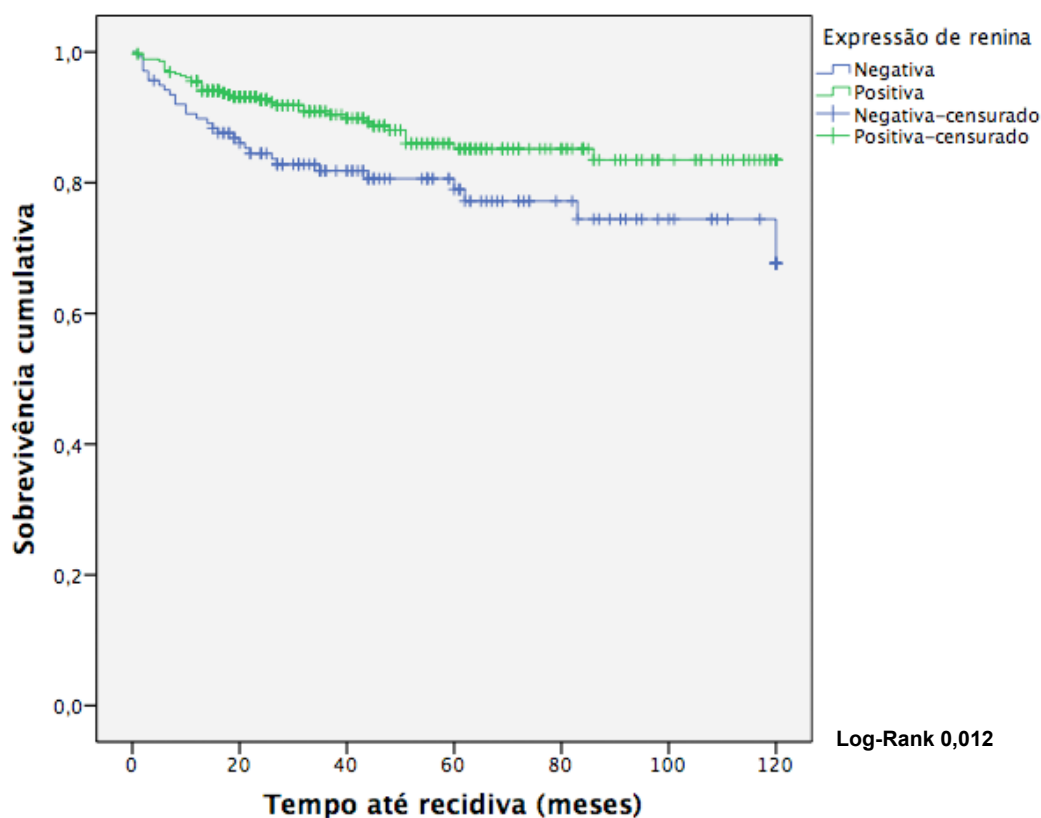


Figura 20 - Curva de sobrevida livre de doença aos 120 meses para os 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos estratificados em expressão de renina negativa e positiva.

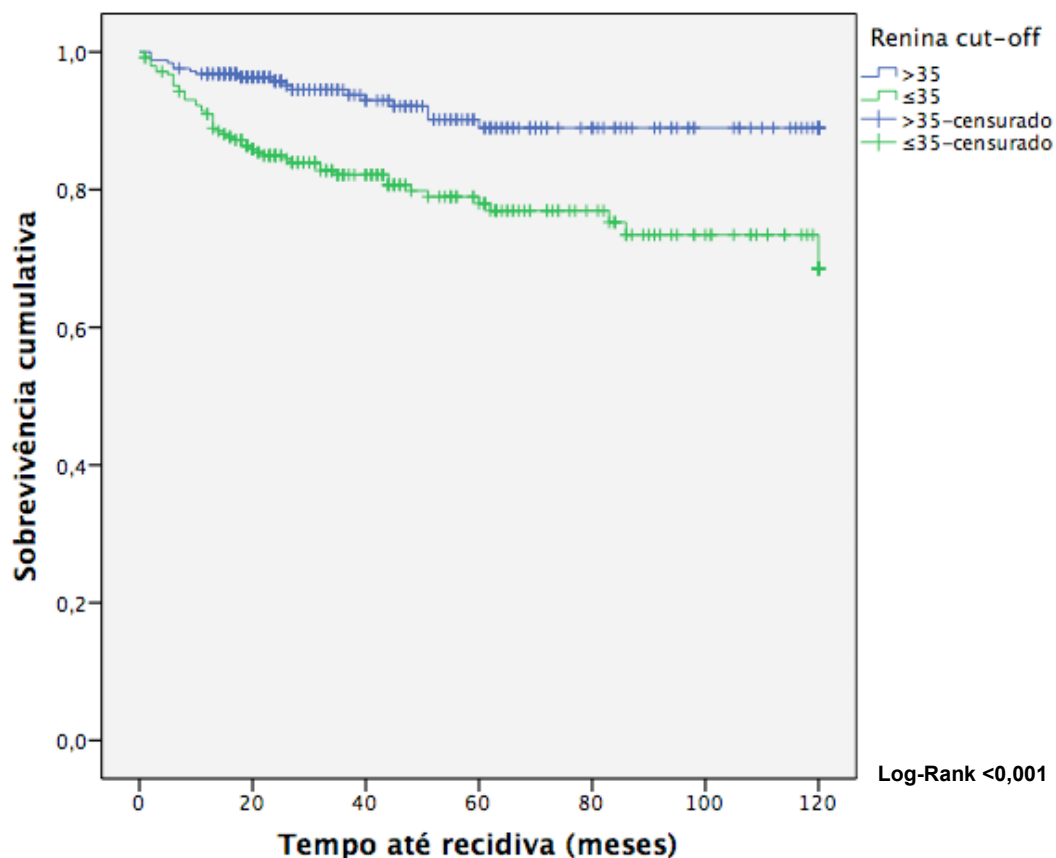


Figura 21 - Curva de sobrevida livre de doença aos 120 meses para os 498 pacientes portadores de CCRcc não metastáticos estratificados em expressão de renina abaixo ou igual a 35, e acima de 35.

Análise multivariada

As variáveis que atingiram significância estatística na análise univariada para SLD foram selecionadas para a análise multivariada.

As avaliações pela *regressão logística de Cox (Backward)* em 11 passos, incluindo nesses modelos a expressão de renina qualitativa (**Tabela 27**) ou quantitativa (**Tabela 28**), apresentaram essas variáveis de interesse como fatores de risco independente para recidiva da doença, significativos ($p < 0,001$). Renina quando positiva aumenta em quase três vezes a chance

de recidiva tumoral, e quando expressa em números inferiores a 35 aumenta acima de quatro vezes.

Tabela 27 - Risco de recidiva da doença por variáveis em portadores de CCRcc não metastáticos, incluindo a expressão qualitativa de renina. Variáveis independentes remanescentes após análise regressiva de cox em modelo multivariado.

Variável	Categoria	Multivariada		
		Risco Relativo	IC 95%	valor-p
Sintomático ao diagnóstico	Não	1	referência	
	Sim	2,226	1,059 - 4,678	0,035
Diâmetro tumoral	≤4cm	1	referência	0,002
	>4 e ≤7	2,714	1,156 - 6,369	0,022
	>7	5,287	2,130 - 13,128	<0,001
Estadiamento patológico (pN)	N0 ou Nx	1	referência	
	N1	3,934	1,289 - 12,005	0,016
Estadiamento clínico AJCC	I ou II	1	referência	
	III ou IV	2,063	1,000 - 4,255	0,050
Renina	Positiva	1	referência	
	Negativa	2,923	1,633 - 5,235	<0,001

Tabela 28 - Risco de recidiva da doença por variáveis em portadores de CCRcc não metastáticos, incluindo a expressão quantitativa de renina. Variáveis independentes remanescentes após análise regressiva de cox em modelo multivariado.

Variável	Categoria	Multivariada		
		Risco Relativo	IC 95%	valor-p
Sintomático ao diagnóstico	Não	1	referência	
	Sim	2,467	1,186 - 5,132	0,016
Diâmetro tumoral	≤4cm	1	referência	<0,001
	>4 e ≤7	2,698	1,153 - 6,311	0,022
	>7	7,295	3,239 - 16,433	<0,001
Estadiamento patológico (pN)	N0 ou Nx	1	referência	
	N1	5,922	2,001 - 17,525	0,001
Renina	> 35	1	referência	
	≤ 35	4,085	2,056 - 8,116	<0,001

5 DISCUSSÃO

5.1 ASPECTOS GERAIS

Considerando aspectos epidemiológicos, clínicos e relacionados à terapêutica, podemos afirmar que a coorte elencada para o nosso estudo foi representativa e teve conformidade com as grandes séries até então divulgadas.

Segundo o *Surveillance, Epidemiology and End Results Program SEER-Cancer Statistics Review* do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos, atualizado em 2017, a incidência do CCR em homens é duas vezes maior comparada às mulheres (21,4/100.000 e 10,7/100.000). Na população que avaliamos, tivemos 356 homens (63,8%) e 202 (36,2%) mulheres. Recente publicação relevante, com 1532 casos, sobre a distribuição dos CCRs segundo diferentes raças e sexos, confirma tal distribuição especificamente para os CCRcc (65,9% para homens e 34,1% para mulheres) enquanto evidencia a prevalência expressiva na raça caucasiana sobre as outras etnias (LIPWORTH et al. 2016). Como em nosso estudo, especificamente a raça negra correspondeu a menos de 10% dos pacientes elencados.

Sobre a idade dos pacientes ao diagnóstico, os dados presentes na literatura até 10 anos atrás variavam para indivíduos com menos de 45 anos entre 3,4 e 6% (ABOU EL FETTHOUH et al. 2002; VERHOEST et al. 2007).

No entanto, a atual estatística relatada do SEER exhibe aumento desse índice para 8,9%. Tal fato corrobora com nossos achados (11,8%), o que certamente associa-se com o crescimento progressivo da incidência de CCR, outrora atribuído exclusivamente à popularização da utilização dos métodos de diagnóstico por imagem.

Determinada progressão relaciona-se em grande parte aos tumores incidentais em estadio inicial, o que implica diretamente nos achados relacionados aos sintomas. Tradicionalmente a tríade clássica de sintomas do CCR (dor lombar, hematúria e massa palpável) tem baixa ocorrência, como reafirmado por um estudo epidemiológico brasileiro que encontrou presença para 4,5% dos pacientes (NARDI et al. 2010). Contudo apoiados no diagnóstico cada vez mais precoce, encontramos em nosso levantamento 346 assintomáticos (62%) contra um terço de sintomáticos (38%), sendo que desses apenas 1,5% apresentavam a tríade clínica.

A despeito desse cenário, o número de pessoas com doença metastática, que teoricamente deveria diminuir ao longo do tempo, mantém-se estável em todas as séries, ou mesmo ascende. Uma robusta revisão contendo 22.204 casos estadio T1 de CCRcc identificou presença de metástase ao diagnóstico em 4,5% deles (LUGHEZZANI et al. 2009). Publicação da *Mayo Clinic* que avaliou o potencial metastático das massas renais segundo diversas variáveis apontou 6,9% de incidência para 2651 pacientes (UMBREIT et al. 2012). Nós encontramos em nosso estudo 44 indivíduos (7,9%) com metástases ao diagnóstico, enquanto o SEER já divulga percentuais em 11,7%. Logo fica evidente a necessidade de

desenvolver mecanismos que possam ajudar a diferir doenças com comportamento indolente ou agressivo, bem como auxiliar na predição de tumores com potencial de disseminação.

Acerca dos critérios comumente utilizados para predizer desfecho, muitas vezes já relatados em estudos anteriores, como a presença de anemia pré-operatória (MANOLA et al. 2011; FERREIRA et al. 2017), ECOG (PATARD et al. 2004b; MOTZER et al. 2008), classificação da ASA (DE CÁSSIO ZEQUI et al. 2010), sintomas ao diagnóstico (DALL'OGGIO et al. 2011), diâmetro tumoral (DELAHUNT et al. 2002), estadiamento clínico (FRANK et al. 2002; TELOKEN et al. 2009), envolvimento linfonodal (PANTUCK et al. 2003) e a presença de metástases ao diagnóstico (FLANIGAN et al. 2004), nosso grupo demonstrou em análise univariada que todos se confirmaram como fatores prognósticos de SG e SCE.

O mesmo foi observado entre variáveis anatomopatológicas como necrose tumoral (FRANK et al. 2002; SENGUPTA et al. 2005), invasão linfática microscópica (MANCINI et al. 2008; FANDELLA et al. 2009), invasão venosa microscópica (GONÇALVES et al. 2004), invasão da veia renal (PICHLER et al. 2012), acometimento da veia cava inferior (WAGNER et al. 2009), invasão da gordura perirrenal (BEDKE et al. 2009) e do sistema coletor (CHO et al. 2009).

Considerando a SLD, onde excluímos os casos inicialmente metastáticos, notamos que fatores prognósticos relacionados à progressão da doença como sintomas ao diagnóstico, invasão linfática, acometimento do sistema coletor e da veia cava inferior, perdem significância na análise

univariada. Os outros critérios descritos para SG e SCE mantêm-se igualmente importantes para a SLD.

A idade categorizada apresentou impacto sobre a SG. Em nossa série, os indivíduos com idade superior a 60 anos apresentaram as piores taxas de SG, alcançando 78,8% de pacientes vivos ao final do seguimento (87,7% para 40 a 60 anos; 97% para abaixo de 40 anos). KUTIKOV et al. (2010) demonstraram que a idade avançada de portadores de CCR localizado constitui um fator preditivo importante de morte por outras causas. Dos pacientes com idade acima de 60 anos do nosso estudo, 40% foram classificados como ECOG 1 ou maior e 29% eram ASA 3 ou 4. A menor SG dos pacientes mais idosos pode portanto ser influenciada pela presença de um maior número de comorbidades, o que potencializaria o agravamento da performance status causado pela neoplasia.

A presença de componente sarcomatóide obteve significância estatística referente à SCE. A literatura descreve o padrão sarcomatóide como presente em 1 a 8% dos CCR, o que foi compatível com nossos achados (3,8%). Esses pacientes apresentam doença e estágio avançado e metástases à distância em 45 a 77% dos casos no momento da nefrectomia. Geralmente as massas ressecadas cirurgicamente são grandes, com diâmetro variando entre 9 e 11cm em média, fato que explica a relevante quantidade de pacientes (aproximadamente 90%) sintomáticos ao diagnóstico (DE PERALTA-VENTURINA et al. 2001; HUMPHREY 2012). Nós encontramos em nossa população de sarcomatóides 81% de pacientes sintomáticos, contendo 62% de tumores maiores que 7cm, sendo que 26,3%

deles já eram metastáticos ao diagnósticos. Como descrito na maior parte das grandes séries, o padrão sarcomatóide relaciona-se com pior prognóstico, adquire significância preditiva nas análises univariadas, mas não se sustentada nas sequências multivariadas, como também comprovamos.

Margem cirúrgica positiva foi uma variável significativa para prever SLD. Recente publicação da *Cleveland Clinic* sobre preditores de recorrência após nefrectomia parcial para CCR demonstrou presença de 7,1% de cirurgias com margens positivas e a importância da variável em análise univariada, que não se confirmou para o estudo multivariado (MOURACADE et al. 2017). Seguindo a mesma tendência, com significância apenas univariada, nosso estudo encontrou dentre os pacientes não metastáticos 35 deles com margens positivas (7%). Desses, 7 indivíduos cursaram com recidiva da doença em 10 anos de seguimento (20%). Sobre essa temática, a maioria das séries associam margem positiva com recorrência local e não com mortes globais ou específicas. Contudo, publicação envolvendo significativa coorte sul-americana elencada pelo LARCG, detectou 3 a 4 vezes mais progressão clínica e mortalidade específica em pacientes com margens comprometidas (SECIN et al. 2017). A importância das margens cirúrgicas positivas ainda é alvo de questionamento, e talvez seja somente reflexo do potencial maligno intrínseco do tumor primário.

Além de todos os fatores previamente citados, buscando encontrar novos marcadores biomoleculares que possam aperfeiçoar a capacidade de

predizer o comportamento do CCR, nosso grupo demonstrou com esse estudo que o grau de expressão da renina apresentou impacto sobre a SG, SCE e SLD.

5.2 EXPRESSÃO DE RENINA

A motivação do estudo pela investigação da angiotensinogenase, como já exposto previamente, sustenta-se nos seguintes pontos: em nosso conhecimento, ausência de publicações que associem tal protease como fator prognóstico para quaisquer desfechos possíveis; foco maciço das pesquisas existentes acerca somente das peptidases reguladoras da angiotensina e das drogas que atuam sobre elas; evidências de coexpressão de proteínas tumorais e da renina, aventando a idéia de que mutações genéticas possam alterar a expressão de ambas conjuntamente; origem compartilhada na região cortical renal, onde localizam-se os túbulos contorcidos proximais (sede dos CCRcc) e os aparelhos justaglomerulares (sede das células granulares).

Nos primeiros trabalhos da equipe do A.C.Camargo Cancer Center acerca dos CCR, marcadores biomoleculares e variáveis clínicas (como por exemplo o CD133, CD44, NOS, classificação da ASA, entre outros), englobávamos todos os subtipos histológicos nas pesquisas (DA COSTA et al. 2012b, c; CASSIO ZEQUI et al. 2010, 2013). Atualmente temos por certo que o CCR corresponde a uma miríade de doenças, cada qual com sua alteração cromossômica, molecular, fenotípica e de agressividade diferentes.

Dentre eles, enquanto os carcinomas dos ductos coletores e cromófbos surgem na porção renal medular, ambos os carcinomas de células claras e os papilíferos desenvolvem-se na porção cortical. No entanto, apesar de partilharem a mesma localização, são moléstias distintas ao passo que enquanto o CCRcc caracteriza-se pela deleção cromossômica em 3p25-26, o papilífero configura-se pela polissomia em 7q31 e 17p11. Logo, evitando incorrer em erros possivelmente causados pela ampla multiplicidade de apresentações, optamos nesse estudo por centrar atenção em uma única doença, o carcinoma de células claras.

Nosso ideal foi avaliar como se portava a expressão de renina no tecido benigno, neoplásico, e suas correlações com diferentes variáveis e desfechos clínicos. À vista disso obtivemos resultados evidenciando forte expressão nas amostras benignas, contrapondo níveis menores e por vezes ausentes para os *spots* de CCRcc ($p < 0,001$). O porquê dessa queda nos níveis de angiotensinogenase pode ser explicado considerando-se 2 pontos: o desarranjo estrutural direto do aparelho justaglomerular causado pela progressão tumoral, impulsionado por vantagens adaptativas baseadas em fatores de crescimento, angiogênese e proteínas inibidoras de apoptose (GALLEGO et al. 2012); e a desconfiguração funcional das células granulares, relacionada às alterações das vias de sinalização mTOR e principalmente VHL.

Estudo do Instituto de fisiologia da Universidade alemã de Regensburg em colaboração com centros americanos demonstrou relação entre as vias de VHL, a EPO e a renina. Criando modelos de hipóxia renal

provaram em âmbito experimental com a utilização de camundongos, que a deleção da proteína de VHL resulta em *downregulation* sobre as células granulares que expressam renina, bem como em suas linhagens subsequentes. As células justaglomerulares, em um ambiente que então acumula fator induzido por hipóxia-1 (HIF-1 α), quando não inativadas sofrem uma transição fenotípica e passam a produzir EPO nessa situação (KURT et al. 2013).

Já há algum tempo nosso grupo confere importância à análise da natureza endócrina do rim, valorizando em suas linhas de pesquisa a busca de associações entre as enzimas funcionais corticais e as diferentes manifestações oncológicas. Assim sendo, recentemente publicamos investigação sobre a expressão imunistoquímica da eritropoetina em CCRcc e sua associação com fatores prognósticos. A alta expressão de EPO foi proporcionalmente maior nos pacientes com presença de invasão adrenal e mostrou associação com a ocorrência de tumores de alto grau histológico de Furhman (FERREIRA et al. 2017). Esse atual trabalho identifica para os pacientes com tumores graus 3 e 4 de Furhman, assim como para outros fatores de pior prognóstico (invasão venosa microscópica e de veia renal), que a renina encontra-se pouco expressa ($p < 0,001$), configurando nesse aspecto uma contraposição hormonal EPO/renina.

Além dos rins, a renina também é expressa em menor intensidade nas glândulas adrenais, pulmões e gônadas, além de cérebro, coração e fígado. Mesmo com a deleção de VHL não houve mudanças na expressão de EPO ou renina para esses sítios, com exceção dos testículos que

evidenciaram aumento da EPO. Tal característica confere certa particularidade desses marcadores biomoleculares em relação a esfera renal, o que favorece possíveis achados e aplicações clínicas com maior especificidade.

Ciente de que o ambiente tumoral relaciona-se com baixas expressões de renina, tornou-se perceptível que tal característica viria concatenar com piores prognósticos. Inicialmente utilizamos para referência cruzada a metodologia de análise qualitativa, avaliando simples negatividade ou positividade (em qualquer intensidade). Encontramos que os casos com expressão negativa da renina, quando comparados aos positivos, tiveram maior prevalência de altos graus de *Furhman* ($p < 0,001$) ou ISUP ($p < 0,001$), recidiva da doença ($p = 0,011$), presença de disseminação local ($p = 0,05$) ou à distância ($p = 0,003$). Vale ressaltar que não dispomos ao que é de nosso conhecimento de dados publicados que possam servir de apoio para confrontação.

Ademais, a depender das particularidades do objeto de estudo e do conhecimento da equipe de analisadores envolvidos, mesmo com a disponibilidade de grande tecnologia aplicada, a leitura imunoistoquímica meramente qualitativa está sujeita à algum viés de subjetividade, que pode influenciar os resultados finais. É certo que como existem críticas para as avaliações qualitativas, as mesmas se fazem presente para as quantitativas. No intuito de minimizar falhas no processo de leitura, optamos por nos valermos de ambas as metodologias, inclusive a fim de encontrar meios que possam ser melhor empregados na prática diária.

Quando aplicamos nas análises o grau de expressão do marcador escalonado quantitativamente, encontramos que não só a baixa expressão é ruim, mas que quanto menor, piores foram os achados. Seguindo o ideal fundamentado em facilitar, viabilizar e padronizar reproduções técnicas futuras, buscamos encontrar a melhor linha divisória através do método de seleção de pontos de corte em análises de sobrevivência proposto por LAUSEN e SCHUMACHER (1992). Determinados e comparados então grupos separados por intensidades de expressão de renina abaixo ou acima de 35, encontramos nas tabelas de referência cruzada sobre a significância estatística, não só a adição de importância para algumas variáveis: performance status ECOG ($p=0,031$), invasão venosa microscópica ($p=0,046$) e invasão da veia renal ($p=0,026$); como a intensificação de outras: recidiva tumoral ($p=0,011$ para $p<0,001$).

Utilizando a mesma sistemática para as curvas de sobrevivência os achados demonstraram que para as análises univariadas de SG e SCE, a renina não figurou como fator preditivo independente. No entanto, quando avaliada a SLD tal significância foi evidente e intensa. Acreditamos que tal circunstância fundamenta-se pela presença ou ausência dos pacientes metastáticos ao diagnóstico. Por definição as avaliações de SLD excluem os indivíduos inicialmente metastáticos, que sabidamente congregam doenças muitas vezes agressivas e com pior prognóstico. Sendo assim, a análise univariada de SLD foi significativa qualitativamente ($p=0,013$) e mais ainda quando refinada quantitativamente ($p<0,001$).

Considerando a regressão de Cox em modelo multivariado, a pura expressão de renina que não alcançou significância como fator independente nos estudos univariados, agora figurou impacto preditivo para as curvas de SG, SCE e SLD. Isso pode ser explicado através de duas hipóteses: a primeira baseada no fato de que quanto mais variáveis incluímos para as etapas do modelo múltiplo, maior o número de *missings* acumulados do banco de dados, o que em parte altera o grupo total válido e os resultados de saída; a segunda, e que acreditamos ser mais relevante, é a de que na presença de outros fatores a renina ganhe mais importância, o que conceitualmente condiz com a idéia de análise em modelo múltiplo.

Apesar da importância que os fatores inerentes ao próprio tumor tenham de forma independente, a busca por modelos prognósticos utilizando uma combinação com diversas variáveis apresenta maior relevância (MESKAWI et al. 2012). É nesse sentido que a renina pode vir a fortalecer modelos prognósticos que já vigoram na rotina dos profissionais que lidam com os tumores renais. Exemplo se faz ao sistema de estadiamento integrado UCLA UISS para CCR, que congrega variáveis como estágio TNM, grau nuclear de Furhman e performance status ECOG, todas sinérgicas nas análises multivariadas quando na presença da renina, que também se impõe.

Frente a todos os achados, estão entre os objetivos do nosso grupo em sequência a essa linha de pesquisa: avaliar as associações da renina com modelos pré-existentes, possibilitando a implementação de resultados; investigar correlações das expressões em ambiente tumoral e séricas da

angiotensinogenase; pesquisar em uma mesma série a sincronicidade de alterações da expressão de EPO e renina, relativas aos desfechos oncológicos do CCR; e ampliar as análises do marcador para os tumores não células claras.

6 CONCLUSÕES

- A expressão imunoistoquímica de renina foi maior no tecido renal não neoplásico (benigno) em comparação ao CCRcc.
- A baixa expressão de renina associou-se com a prevalência de tumores mais agressivos, com altos graus para as classificações de ISUP e Furhman (categorias 3 e 4).
- A baixa expressão de renina é evento desfavorável e relaciona-se a casos com maiores chances de progressão da doença, sendo significativamente maiores as presenças de invasão venosa microscópica, invasão da veia renal, disseminação locorregional e metastática.
- Nas análises multivariadas, a ausência de expressão de renina foi fator prognóstico desfavorável com impacto nas taxas de SG, SCE e SLD.
- Notadamente dentre os pacientes com tumores não metastáticos ao diagnóstico, os índices de recidiva neoplásica após tratamento inicial foram superiores naqueles com baixa expressão de renina. Observou-se impacto da variável nas taxas de SLD para as análises uni e multivariadas.
- Dentre o espectro de expressão imunoistoquímica da renina, a determinação de um ponto de corte considerando valores iguais ou inferiores a 35 associados a piores desfechos, confere maior precisão prognóstica relacionada à disseminação e recidiva neoplásica após tratamento inicial.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abou El Fettouh HI, Cherullo EE, El-Jack M, Al Maslamani Y, Novick AC. Sporadic renal cell carcinoma in young adults: presentation, treatment, and outcome. **Urology** 2002; 60:806-10.

[ACS] American Cancer Society. **Kidney cancer (adult): renal cell carcinoma.** Available from: <URL:<http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003107-pdf.pdf>> [2017 mai 25]

Alves MR, Carneiro FC, Lavorato-Rocha AM, et al. Mutational status of VHL gene and its clinical importance in renal clear cell carcinoma. **Virchows Arch** 2014; 465:321-30.

Ani I, Finelli A, Alibhai SM, Timilshina N, Fleshner N, Abouassaly R. Prevalence and impact on survival of positive surgical margins in partial nephrectomy for renal cell carcinoma: a population-based study. **BJU Int** 2013; 111:E300-5.

Araújo WF, Naves MA, Ravanini JN, Schor N, Teixeira VP. Renin-angiotensin system (RAS) blockade attenuates growth and metastatic potential of renal cell carcinoma in mice. **Urol Oncol** 2015; 33:389.e1-7.

Arias LF, Bruneval P, Blanco J. Renin expression in adult renal epithelial tumors with granular cells. **Pathol Res Pract** 2010; 206:731-4.

Barajas L. The ultrastructure of the juxtaglomerular apparatus as disclosed by three-dimensional reconstructions from serial sections: the anatomical relationship between the tubular and vascular components. **J Ultrastruct Res** 1970; 33:116-47.

Barajas L. Anatomy of the juxtaglomerular apparatus. **Am J Physiol** 1979; 237:F333-F43.

Barajas L, Salido E. Pathology of the juxtaglomerular apparatus. In: Tisher CC, Brenner BM, editors. **Renal pathology with clinical and functional correlations**. 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1994. p.948-78.

Bártová E, Galiová G, Krejčí J, Harnicarová A, Strasák L, Kozubek S. Epigenome and chromatin structure in human embryonic stem cells undergoing differentiation. **Dev Dyn** 2008; 237:3690-702.

Battifora H. The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. **Lab Invest** 1986; 55:244-8.

Bedke J, Buse S, Pritsch M, et al. Perinephric and renal sinus fat infiltration in pT3a renal cell carcinoma: possible prognostic differences. **BJU Int** 2009; 103:1349-54.

Blom JH, van Poppel H, Maréchal JM, et al. 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.

Boger M, Lucas SM, Popp SC, Gardner TA, Sundaram CP. Comparison of robot-assisted nephrectomy with laparoscopic and hand-assisted laparoscopic nephrectomy. **JSLs** 2010; 14:374-80.

Brugarolas J. Molecular genetics of clear-cell renal cell carcinoma. **J Clin Oncol** 2014; 32:1968-76.

Cai Y, Li HZ, Zhang YS. Comparison of partial and radical laparoscopic nephrectomy: long-term outcomes for clinical T1b renal cell carcinoma. **Urol J** 2018; 15:16-20.

Cairns P. Renal cell carcinoma. **Cancer Biomark** 2010; 9:461-73.

Campbell S, Uzzo RG, Allaf ME, et al. Renal mass and localized renal cancer: AUA guideline. **J Urol** 2017; 198:520-9.

Cássio Zequi Sd, Fregnani JH, Favaretto RL, et al. The impact of immunohistochemical expression of nitric oxide synthases on clinical and pathological features of renal cell carcinoma. **World J Urol** 2013; 31:1197-203.

Cheng B, Yang G, Jiang R, et al. Cancer stem cell markers predict a poor prognosis in renal cell carcinoma: a meta-analysis. **Oncotarget** 2016; 7:65862-75.

Chodez M, Fiard G, Arnoux V, Descotes JL, Long JA. Ablative treatments in localized renal cancer: literature review for 2014. **Prog Urol** 2015; 25:499-509.

Cho HJ, Kim SJ, Ha US, et al. Prognostic value of capsular invasion for localized clear-cell renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2009; 56:1006-12.

Chow WH, Devesa SS, Warren JL, Fraumeni JF Jr. Rising incidence of renal cell cancer in the United States. **JAMA** 1999; 281:1628-31.

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

Cialdella L. The kidneys. In: Silverthorn DU, editor. **Human physiology: an integrated approach**. London: Pearson Education; 2014. Chapter 19.

[COSMIC] Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. **Cell lines project**. 2017. Available from: <URL:https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic> [2018 mai 12]

Coppin C, Porzsolt F, Autenrieth M, Kumpf J, Coldman A, Wilt T. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. **Cochrane Database Syst Rev** 2005; CD001425.

Cortez Neto DVS. **Value analysis of gene expression of CD133 and BAP1 genes as prognostic factor in renal cell carcinoma**. São Paulo; 2014. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Cox DR. Regression models and life-tables. **J R Stat Soc Series B Stat Methodol** 1972; 34:187-220.

Crispen PL, Viterbo R, Fox EB, Greenberg RE, Chen DY, Uzzo RG. Delayed intervention of sporadic renal masses undergoing active surveillance. **Cancer** 2008a; 112:1051-7.

Crispen PL, Boorjian SA, Lohse CM, et al. Outcomes following partial nephrectomy by tumor size. **J Urol** 2008b; 180:1912-7.

da Costa WH. **Estudo do valor prognóstico e da expressão imuno-histoquímica das células-tronco tumorais, através do CD133 e CD44 em carcinoma de células renais**. São Paulo; 2011. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

da Costa WH, Moniz RR, da Cunha IW, Fonseca FP, Guimaraes GC, de Cássio Zequi S. Impact of renal vein invasion and fat invasion in pT3a renal cell carcinoma. **BJU Int** 2012a; 109:544-8.

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

da Costa WH, Rocha RM, Cunha IW, Guimaraes GC, Zequi Sde C. Immunohistochemical expression of CD44s in renal cell carcinoma lacks independent prognostic significance. **Int Braz J Urol** 2012c; 38:456-65.

da Costa WH, Rezende M, Carneiro FC, et al. Polybromo-1 (PBRM1), a SWI/SNF complex subunit is a prognostic marker in clear cell renal cell carcinoma. **BJU Int** 2014; 113:E157-63.

Dai J, Lu Y, Wang J, et al. A four-gene signature predicts survival in clear-cell renal-cell carcinoma. **Oncotarget** 2016; 7:82712-26.

Dall'Oglio MF, Coelho R, Lopes R, et al. Significant heterogeneity in terms of diagnosis and treatment of renal cell carcinoma at a private and public hospital in Brazil. **Int Braz J Urol** 2011; 37:584-90.

Dall'Oglio MF, Arap MA, Antunes AA, Cury J, Leite KR, Srougi M. Impact of clinicopathological parameters in patients treated for renal cell carcinoma. **J Urol** 2007; 177:1687-91.

de Campos EC, da Fonseca FP, Zequi Sde C, Guimarães GC, Soares FA, Lopes A. Analysis of PTEN gene by fluorescent in situ hybridization in renal cell carcinoma. **Rev Col Bras Cir** 2013; 40:471-5.

de Cássio Zequi S, de Campos EC, Guimarães GC, Bachega W Jr, da Fonseca FP, Lopes A. The use of the American Society of Anesthesiology Classification as a prognostic factor in patients with renal cell carcinoma. **Urol Int** 2010; 84:67-72.

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.

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, McKenney JK, Lohse CM, et al. A novel grading system for clear cell renal cell carcinoma incorporating tumor necrosis. **Am J Surg Pathol** 2013; 37:311-22.

Deng FM, Melamed J. Histologic variants of renal cell carcinoma: does tumor type influence outcome? **Urol Clin North Am** 2012; 39:119-32.

Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. **AJCC cancer staging manual**. 7th ed. New York: Springer; 2009. Kidney; p.479-89.

Errarte P, Beitia M, Perez I, et al. Expression and activity of angiotensin-regulating enzymes is associated with prognostic outcome in clear cell renal cell carcinoma patients. **PLoS One** 2017; 12:e0181711.

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.

Fandella A, Borghesi M, Bertaccini A. Renal cell carcinoma. 2002 TNM classification is still adequate? **Arch Ital Urol Androl** 2009; 81:51-5.

Ferreira DB. **Análise da expressão imuno-histoquímica e valor prognóstico da eritropoetina (EPO) e do seu receptor (EPO-R) em carcinoma de células renais.** São Paulo; 2014. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Ferreira DB, da Costa WH, Clavijo DA, et al. Tissue expression of erythropoietin predicts survival rates in clear cell renal cell carcinoma. **Kidney Cancer** 2017; 1:143-9.

Ficarra V, Novara G, Galfano A, et al. The 'Stage, Size, Grade and Necrosis' score is more accurate than the University of California Los Angeles Integrated Staging System for predicting cancer-specific survival in patients with clear cell renal cell carcinoma. **BJU Int** 2009; 103:165-70.

Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, et al. Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. **J Urol** 2004; 171:1071-6.

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.

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

Gallego GA, Villaamil VM, Grande E, Caínzos IS, Aparicio LM. Crossing paths in Human Renal Cell Carcinoma (hRCC). **Int J Mol Sci** 2012; 13:12710-33.

Gandaglia G, Ravi P, Adbollah F, et al. Contemporary incidence and mortality rates of kidney cancer in the United States. **Can Urol Assoc J** 2014; 8:247-52.

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.

Grambsch PM, Therneau TM. Proportional hazards tests and diagnostics based on weighted residuals. **Biometrika** 1994; 81:515-26.

Haddad H, Rini BI. Current treatment considerations in metastatic renal cell carcinoma. **Curr Treat Options Oncol** 2012; 13:212-29.

Haddad AQ, Luo JH, Krabbe LM, et al. Prognostic value of tissue-based biomarker signature in clear cell renal cell carcinoma. **BJU Int** 2017; 119:741-7.

Han KS, Song GH, You D, et al. Comparison of hand-assisted laparoscopic vs robot-assisted laparoscopic vs open partial nephrectomy in patients with T1 renal masses. **J Endourol** 2017; 31:374-379.

Hollingsworth JM, Miller DC, Daignault S, Hollenbeck BK. Rising incidence of small renal masses: A need to reassess treatment effect. **J Natl Cancer Inst** 2006; 98:1331-4.

Howlader N, Noone AM, Krapcho M, et al. **SEER Cancer statistics review, 1975-2012**. Available from: <URL:http://seer.cancer.gov/csr/1975_2012/> (based on November 2014 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2015).

Humphrey PA. Sarcomatoid renal cell carcinoma. **J Urol** 2012; 188:601-2.

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.

Ivanyi P, Grünwald V. Systemic treatment of metastatic renal cell cancer--back to the future? **Aktuelle Urol** 2015; 46:467-72.

Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. **CA Cancer J Clin** 2009; 59:225-49.

Joseph RW, Kapur P, Serie DJ, et al. Clear cell renal cell carcinoma subtypes identified by BAP1 and PBRM1 expression. **J Urol** 2016; 195:180-7.

Kang HW, Lee SK, Kim WT, et al. KORCC (Korean Renal Cell Carcinoma) Group. Surgical margin does not influence recurrence rate in pT1 clear cell renal cell carcinoma after partial nephrectomy: a multicenter study. **J Surg Oncol** 2016; 114:70-4.

Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **J Am Statist Assoc** 1958; 53:457-81.

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.

Karnofsky DA, Burchenal JH. The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. In: MacLeod CM, editor. **Evaluation of chemotherapeutic agents**. New York: Columbia Univ Press; 1949. p.196.

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

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** 2009; 181:1558-64; discussion 1563-4.

Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. **Nat Med** 1998; 4:844-7.

Kroeger N, Rampersaud EN, Patard JJ, et al. Prognostic value of microvascular invasion in predicting the cancer specific survival and risk of metastatic disease in renal cell carcinoma: a multicenter investigation. **J Urol** 2012; 187:418-23.

Kurt B, Paliege A, Willam C, et al. Deletion of von Hippel-Lindau protein converts renin-producing cells into erythropoietin-producing cells. **J Am Soc Nephrol** 2013; 24:433-44.

Kutikov A, Egleston BL, Wong YN, Uzzo RG. Evaluating overall survival and competing risks of death in patients with localized renal cell carcinoma using a comprehensive nomogram. **J Clin Oncol** 2010; 28:311-7.

Lallas CD, Trabulsi EJ, Kaffenberger SD, Touijer KA. Treatment of exophytic renal cancer smaller than 3 cm: surgery versus active surveillance. **J Urol** 2015; 193:16-8.

Lam JS, Patard JJ, Leppert JT, et al. Prognostic significance of T3a renal cell carcinoma with adrenal gland involvement: an international multicenter experience. **J Urol** 2005; 173:269-70.

Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. **CA Cancer J Clin** 1999; 49:8-31.

Lane BR, Kattan MW. Prognostic models and algorithms in renal cell carcinoma. **Urol Clin North Am** 2008; 35:613-25.

Lausen B, Schumacher M. Maximally selected rank and statistics. **Biometrics** 1992; 48:73-85.

Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, et al. Prediction of progression after radical nephrectomy for patients with clear cell renal cell carcinoma: a stratification tool for prospective clinical trials. **Cancer** 2003; 97:1663-71.

Lin J, Deng Z, Tanikawa C, et al. Downregulation of the tumor suppressor HSPB7, involved in the p53 pathway, in renal cell carcinoma by hypermethylation. **Int J Oncol** 2014; 44:1490-8.

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

Lipworth L, Morgans AK, Edwards TL, et al. Renal cell cancer histological subtype distribution differs by race and sex. **BJU Int** 2016; 117:260-5.

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, Bensalah K, Canfield S, et al. EAU Guidelines on renal cell carcinoma: 2014 update. **Eur Urol** 2015; 67:913-24.

Liu W, Fu Q, An H, et al. Decreased expression of SETD2 predicts unfavorable prognosis in patients with nonmetastatic clear-cell renal cell carcinoma. **Medicine (Baltimore)** 2015; 94:e2004.

Lughezzani G, Jeldres C, Isbarn H, et al. Tumor size is a determinant of the rate of stage T1 renal cell cancer synchronous metastasis. **J Urol** 2009; 182:1287-93.

Macher-Goeppinger S, Keith M, Tagscherer KE, et al. PBRM1 (BAF180) protein is functionally regulated by p53-induced protein degradation in renal cell carcinomas. **J Pathol** 2015; 237:460-71.

Magera JS Jr, Leibovich BC, Lohse CM, et al. Association of abnormal preoperative laboratory values with survival after radical nephrectomy for clinically confined clear cell renal cell carcinoma. **Urology** 2008; 71:278-82.

Manola J, Royston P, Elson P, et al. Prognostic model for survival in patients with metastatic renal cell carcinoma: results from the international kidney cancer working group. **Clin Cancer Res** 2011; 17:5443-50.

Mancini V, Battaglia M, Ditunno P, et al. Current insights in renal cell cancer pathology. **Urol Oncol** 2008; 26:225-38.

Meskawi M, Sun M, Trinh QD, et al. A review of integrated staging systems for renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2012; 62:303-14.

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2014.

Moch H, Srigley J, Delahunt B, Montironi R, Egevad L, Tan PH. Biomarkers in renal cancer. **Virchows Arch** 2014; 464:359-65.

Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs-part A: renal, penile and testicular tumours. **Eur Urol** 2016; 70:93-105.

Morettin PA, Bussab WO. **Estatística básica**. 6^a ed. São Paulo: Saraiva; 2009. A distribuição de student; p.189-90.

Motzer RJ, Bacik J, Mazumdar M. Prognostic factors for survival of patients with stage IV renal cell carcinoma: memorial sloan-kettering cancer center experience. **Clin Cancer Res** 2004; 10:6302S-3S.

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.

Mouracade P, Kara O, Maurice MJ, et al. Patterns and predictors of recurrence after partial nephrectomy for kidney tumors. **J Urol** 2017; 197:1403-9.

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.

Netter FH. **Atlas de anatomia humana**. 6^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2014. Néfrom; p.321.

Nguyen MM, Gill IS, Ellison LM. The evolving presentation of renal carcinoma in the United States: trends from the Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. **J Urol** 2006; 176:2397-400, discussion 2400.

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.

Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun AS. The changing natural history of renal cell carcinoma. **J Urol** 2001; 166:1611-23.

Pantuck AJ, Zisman A, Dorey F, et al. Renal cell carcinoma with retroperitoneal lymph nodes: role of lymph node dissection. **J Urol** 2003; 169:2076-83.

Patard JJ, Shvarts O, Lam JS, et al. Safety and efficacy of partial nephrectomy for all T1 tumors based on an international multicenter experience. **J Urol** 2004a; 171:2181-5, quiz 2435.

Patard JJ, Leray E, Cindolo L, et al. Multi-institutional validation of a symptom based classification for renal cell carcinoma. **J Urol** 2004b; 172:858-62.

Peña-Llopis S, Vega-Rubín-de-Celis S, Liao A, Leng N, Pavía-Jiménez A, Wang S, et al. BAP1 loss defines a new class of renal cell carcinoma. **Nat Genet** 2012; 44:751-9.

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.

Peti-Peterdi J, Harris RC. Macula densa sensing and signaling mechanisms of renin release. **J Am Soc Nephrol** 2010; 21:1093-6.

Pichler M, Hutterer GC, Chromecki TF, et al. Histologic tumor necrosis is an independent prognostic indicator for clear cell and papillary renal cell carcinoma. **Am J Clin Pathol** 2012; 137:283-9.

Portal da Saúde. **Informações de saúde (TABNET) estatísticas vitais**. <URL:<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0205>> [2018 abr 12]

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.

Renshaw AA, Cheville JC. Quantitative tumour necrosis is an independent predictor of overall survival in clear cell renal cell carcinoma. **Pathology** 2015; 47:34-7.

Rimm DL, Camp RL, Charette LA, Olsen DA, Provost E. Amplification of tissue by construction of tissue microarrays. **Exp Mol Pathol** 2001; 70:255-64.

Rini BI, McKiernan JM, Chang SS, Choueiri TK, Kenney PA, Landman J, et al. Kidney. In: Amin MB, Edge S, Greene F, editor, et al. **AJCC cancer staging manual**. 8th ed. New York: Springer; 2017. p.739-48.

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

Sauter G, Simon R, Hillan K. Tissue microarrays in drug discovery. **Nat Rev Drug Discov** 2003; 2:962-72.

Sauter A, Machura K, Neubauer B, Kurtz A, Wagner C. Development of renin expression in the mouse kidney. **Kidney Int** 2008; 73:43-51.

Schnermann J, Briggs JP. Tubular control of renin synthesis and secretion. **Pflugers Arch** 2013; 465:39-51.

Schoenfeld D. Partial residuals for the proportional hazards regression model. **Biometrika** 1982; 69:239-41.

Secin FP, Castillo OA, Rozanec JJ, et al. American Confederation of Urology (CAU) experience in minimally invasive partial nephrectomy. **World J Urol** 2017; 35:57-65.

Sequeira Lopez ML, Pentz ES, Nomasa T, Smithies O, Gomez RA. Renin cells are precursors for multiple cell types that switch to the renin phenotype when homeostasis is threatened. **Dev Cell** 2004; 6:719-28.

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.

Smith-Bindman R, Miglioretti DL, Johnson E, et al. Use of diagnostic imaging studies and associated radiation exposure for patients enrolled in large integrated health care systems, 1996-2010. **JAMA** 2012; 307:2400-9.

Sorbellini M, Kattan MW, Snyder ME, et al. A postoperative prognostic nomogram predicting recurrence for patients with conventional clear cell renal cell carcinoma. **J Urol** 2005; 173:48-51.

Steege A, Föhling M, Paliege A, et al. Wilms' tumor protein (-KTS) modulates renin gene transcription. **Kidney Int** 2008; 74:458-66.

Stratton MR. Exploring the genomes of cancer cells: progress and promise. **Science** 2011; 331:1553-8.

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.

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.

Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin R, de Kernion JB, Belldegrun A. Renal cell carcinoma: prognostic significance of incidentally detected tumors. **J Urol** 2000; 163:426-30.

Umbreit EC, Shimko MS, Childs MA, et al. Metastatic potential of a renal mass according to original tumour size at presentation. **BJU Int** 2012; 109:190-4; discussion 194.

van Haaften G, Dalglish GL, Davies H, et al. Somatic mutations of the histone H3K27 demethylase gene UTX in human cancer. **Nat Genet** 2009; 41:521-3.

Verhoest G, Veillard D, Guillé F, et al. Relationship between age at diagnosis and clinicopathologic features of renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2007; 51:1298-304; discussion 1304-5.

von Knobloch R, Schrader AJ, Walthers EM, Hofmann R. Simultaneous adrenalectomy during radical nephrectomy for renal cell carcinoma will not cure patients with adrenal metastasis. **Urology** 2009; 73:333-6.

Wagner B, Patard JJ, Méjean A, et al. Prognostic value of renal vein and inferior vena cava involvement in renal cell carcinoma. **Eur Urol** 2009; 55:452-9.

Wang J, Liu L, Qu Y, et al. Prognostic Value of SETD2 expression in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with tyrosine kinase inhibitors. **J Urol** 2016; 196:1363-70.

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.

Welch HG, Black WC. Overdiagnosis in cancer. **J Natl Cancer Inst** 2010;102:605-13.

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; discussion 1713.

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

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.

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.

Zhang Z, Yu C, Velet L, Li Y, Jiang L, Zhou F. The difference in prognosis between renal sinus fat and perinephric fat invasion for pT3a renal cell carcinoma: a meta-analysis. **PLoS One** 2016; 11:e0149420.

Zhao M, He XL, Teng XD. Mucinous tubular and spindle cell renal cell carcinoma: a review of clinicopathologic aspects. **Diagn Pathol** 2015; 10:168.

Zhao Z, Chen C, Lin J, et al. Synergy between von Hippel-Lindau and P53 contributes to chemosensitivity of clear cell renal cell carcinoma. **Mol Med Rep** 2016; 14:2785-90.

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

Zequi SC. **Estudo da expressão imunoistoquímica e do valor prognóstico de sintases do óxido nítrico (NOS), metaloproteinases da matriz extracelular (MMP), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), caderina e, densidade de microvasos (DMV) e da densidade de vasos linfáticos (DVL) em pacientes portadores de carcinoma de células renais.** São Paulo; 2008. [Tese de Doutorado-Fundação Antonio Prudente].

Zini L, Destrieux-Garnier L, Leroy X, et al. Renal vein ostium wall invasion of renal cell carcinoma with an inferior vena cava tumor thrombus: prediction by renal and vena caval vein diameters and prognostic significance. **J Urol** 2008;179:450-4.

Zisman A, Pantuck AJ, Wieder J, et al. Risk group assessment and clinical outcome algorithm to predict the natural history of patients with surgically resected renal cell carcinoma. **J Clin Oncol** 2002; 20:4559-66.

Anexo 1 - Classificação de performance/status de Karnofsky (KPS).

- 100 Normal, nenhuma queixa, nenhuma evidência de doença.
- 90 Capaz para continuar atividade normal; pequenos sintomas ou sinais da doença.
- 80 Atividade normal com esforço; alguns sinais e sintomas.
- 70 Cuidados para si; incapaz para continuar suas atividades normais.
- 60 Requer ajuda ocasional; cuidados para a maioria das necessidades.
- 50 Requer ajuda considerável e cuidados médicos frequentes.
- 40 Incapacitado; requer cuidado especial e ajuda.
- 30 Severamente incapacitado; hospitalizado morte não iminente.
- 20 Muito doente; precisa de internação urgente e requer medidas de suporte ou tratamento.
- 10 Moribundo; processo de fatalidade rapidamente progredindo.
- 0 Morto.

Fonte: Adaptado de KARNOFSKY et al. (1949).

Anexo 2 - 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: Adaptado de OKEN et al. (1982).

Anexo 3 - Classificação TNM da “*American Joint Committee on Cancer's Cancer Staging Manual - 2017*”

Tx	Tumor primário não pode ser avaliado.
T0	Ausência de evidências de tumor primário.
T1	Tumor ≤ 7cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T1a	Tumor ≤ 4cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T1b	Tumor > 4cm e ≤ 7cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T2	Tumor > 7cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T2a	Tumor > 7cm e ≤ 10cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T2b	Tumor > 10cm no maior diâmetro, limitado ao rim.
T3	Tumor estende-se para ramos venosos principais ou tecidos perirrenais, mas não à adrenal ipsilateral ou além da fáscia de Gerota.
T3a	Tumor estende-se para a veia renal ou seus ramos segmentares, ou invade o sistema pielocalicial, ou o tumor invade tecido adiposo perirrenal e/ou tecido adiposo do seio renal, mas não além da fáscia de Gerota.
T3b	Tumor macroscopicamente estende-se para a veia cava abaixo do diafragma.
T3c	Tumor macroscopicamente estende-se para a veia cava supradiafragmática ou invade a parede da veia cava.
T4	Tumor com invasão além da fáscia de Gerota (incluindo extensão para a glândula adrenal ipsilateral).
Nx	Linfonodos regionais não podem ser avaliados.
N0	Ausência de metástases linfonodais.
N1	Presença de metástase em 1 linfonodo regional.
N2	Presença de metástases em mais de 1 linfonodo regional.
Mx	Metástases a distancia não podem ser avaliadas.
M0	Ausência de metástases a distância.
M1	Presença de metástases a distância.

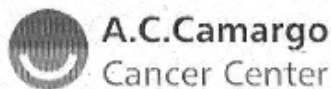
Fonte: Adaptado de RINI et al. (2017).

Anexo 4 - Estadiamento clínico da “*American Joint Committee on Cancer's Cancer Staging Manual - 2017*”

Estágio clínico	T	N	M
I	T ₁	N ₀	M ₀
II	T ₂	N ₀	M ₀
III	T ₁ ou T ₂	N ₁	M ₀
	T ₃	N ₀ ou N ₁	M ₀
IV	T ₄	Qualquer N	M ₀
	Qualquer T	Qualquer N	M ₁

Fonte: Adaptado de RINI et al. (2017).

Anexo 5 - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-cep do A.C.Camargo Cancer Center, para o projeto temático.



**A.C. Camargo
Cancer Center**

**Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP**

São Paulo, 15 de julho de 2016.

Ao
Dr. Stênio de Cássio Zequi

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 2144/15

“Expressão imunistoquímica e valor prognóstico de um painel de marcadores (BAP1; Beta-Catenina; CD133; Complexo Ezrina-Moesina; EPO/EPO-R; FOXP3; KDM5C; NOS-3; PBRM1; PTEN; REN/REN-R; SETD2 e STAT3) em carcinoma de células renais. Estudo multicêntrico internacional”.

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – A.C. Camargo Cancer Center, em sua última reunião de 12/07/2016, após analisarem a resposta da recomendação da CONEP, realizada no Parecer 1.580.842, datado de 08/06/2016, **tomaram conhecimento e aprovaram** os seguintes documentos:

- Carta resposta, datada de 14 de junho de 2016;
- Nova folha de rosto datada de 21 de junho de 2016.

Atenciosamente,

Dr. Jefferson Luiz Gross
1º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

Anexo 6 - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa-CEP do A.C.Camargo Cancer Center, para o projeto afiliado.



**A.C. Camargo
Cancer Center**

**Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP**

São Paulo, 15 de julho de 2016.

Ao
Dr. Stenio de Cássio Zequi
Aluno: Felipe de Almeida e Paula (Mestrado)

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 2144/15B

“Expressão imunistoquímica e valor prognóstico da renina (REN) e de seu receptor (REN-R) em carcinoma de células renais. Estudo multicêntrico internacional”.

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – A.C. Camargo Cancer Center, em sua última reunião de **12/07/2016**, **tomaram conhecimento e aprovaram** os seguintes documentos:

- Solicitação de dispensa da submissão da documentação obrigatória e análise ética do projeto acima mencionado por se tratar de um projeto afiliado ao temático intitulado: “Expressão imunistoquímica e valor prognóstico de um painel de marcadores (BAP1; Beta-Catenina; CD133; Complexo Ezrina-Moesina; EPO/EPO-R; FOXP3; KDM5C; NOS-3; PBRM1; PTEN; REN/REN-R; SETD2 e STAT3) em carcinoma de células renais. Estudo multicêntrico internacional”, registrado neste CEP sob nº 2144/15. O projeto afiliado em referência será Dissertação de Mestrado do aluno *Felipe de Almeida e Paula*.
- Dissertação de Mestrado – datado de 16 de dezembro de 2015.

Atenciosamente,

Dr. Jefferson Luiz Gross
1º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1

Apêndice 1 - 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) Hematuria (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: _____

Transfusão: (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) Fístula urinária (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) T2 (4) T3a (5) T3b(6) T3c (7) 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) Sim

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