

**AVALIAÇÃO DO VALOR PROGNÓSTICO DA EXPRESSÃO
IMUNO-HISTOQUÍMICA DAS PROTEÍNAS RENINA,
ERITROPOIETINA E CATEPSINA D EM PACIENTES
PORTADORES DE CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIIS DO TIPO
CÉLULAS CLARAS**

THIAGO CAMELO MOURÃO

Tese apresentada à Fundação Antônio Prudente para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Dr. Stênio de Cássio Zequi

São Paulo

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

Mourão, Thiago Camelo.

**AVALIAÇÃO DO VALOR PROGNÓSTICO DA EXPRESSÃO
IMUNO-HISTOQUÍMICA DAS PROTEÍNAS RENINA,
ERITROPOIETINA E CATEPSINA D EM PACIENTES PORTADORES
DE CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIAS DO TIPO CÉLULAS
CLARAS. / Thiago Camelo Mourão. São Paulo, 2023.**

141f.

**Tese de Doutorado - Fundação Antônio Prudente. Curso de
Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração:
Oncologia.**

Orientador: Stênio de Cássio Zequi.

**1. Carcinoma de células renais, 2. Prognóstico, 3. Imuno-
Histoquímica**

CDU 616

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Thiago Camelo Mourão

Título: AVALIAÇÃO DO VALOR PROGNÓSTICO DA EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DAS PROTEÍNAS RENINA, ERITROPOIETINA E CATEPSINA D EM PACIENTES PORTADORES DE CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIAS DO TIPO CÉLULAS CLARAS.

Aprovado em: 21/08/2023

Banca Examinadora

Orientador: Dr. Stênio de Cássio Zequi

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da banca: Dr. Rodrigo Sousa Madeira Campos

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da banca: Dr Tiago Goss dos Santos

Instituição: Fundação Antônio Prudente

Membro da banca: Dr Rodolfo Borges dos Reis

Instituição: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo

Membro da banca: Dr Felipe José Fernández Coimbra

Instituição: Fundação Antônio Prudente

EPÍGRAFE

*É proibido chorar sem aprender,
Levantar-se um dia sem saber o que fazer
Ter medo de suas lembranças.*

*É proibido não rir dos problemas
Não lutar pelo que se quer,
Abandonar tudo por medo,
Não transformar sonhos em realidade.*

*É proibido não demonstrar amor
Fazer com que alguém pague por tuas dúvidas e mau-humor.*

*É proibido deixar os amigos
Não tentar compreender o que viveram juntos
Chamá-los somente quando necessita deles.*

*É proibido não ser você mesmo diante das pessoas,
Fingir que elas não te importam,
Ser gentil só para que se lembrem de você,
Esquecer aqueles que gostam de você.*

*É proibido não fazer as coisas por si mesmo,
Não crer em Deus e fazer seu destino,
Ter medo da vida e de seus compromissos,
Não viver cada dia como se fosse um último suspiro.*

*É proibido sentir saudades de alguém sem se alegrar,
Esquecer seus olhos, seu sorriso, só porque seus caminhos se
desencontraram,
Esquecer seu passado e pagá-lo com seu presente.*

*É proibido não tentar compreender as pessoas,
Pensar que as vidas deles valem mais que a sua,
Não saber que cada um tem seu caminho e sua sorte.*

*É proibido não criar sua história,
Deixar de dar graças a Deus por sua vida,
Não ter um momento para quem necessita de você,
Não compreender que o que a vida te dá, também te tira.*

*É proibido não buscar a felicidade,
Não viver sua vida com uma atitude positiva,
Não pensar que podemos ser melhores,
Não sentir que sem você este mundo não seria igual.*

- Pablo Neruda

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antônio Telmo e Francisca Maria, cuja batalha, foco e fé me guiaram e tornaram possível cada um dos meus passos.

À minha amada companheira, Amanda, que me completa e está presente nos momentos de euforia e felicidade e nunca me abandona nos momentos de luta. Minha namorada fiel em todos esses anos de convivência.

Às minhas doces e amadas filhas, Alice e Helena, que me fazem transbordar de amor e me enchem de orgulho com cada uma de suas descobertas!

Ao meu irmão, Fábio, com quem dividi minha infância e desenvolvimento.

Aos pacientes portadores de câncer urológico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Stênio de Cássio Zequi, meu orientador e idealizador desta linha de pesquisa, por ter desde o início acreditado no meu potencial, ter sido um amigo e mentor e me inserido em projetos além dos relacionados à pós-graduação.

À Dra. Stephania Martins Bezerra, por ter sido fundamental na instrução sobre a metodologia da técnica imuno-histoquímica e pela leitura lado-a-lado de cada uma das lâminas. Sem ela, este trabalho não teria sido possível.

Ao Prof. Dr. Gustavo Cardoso Guimarães, pelo incentivo, apoio e confiança na execução de novas ideias e projetos.

Ao Prof. Dr. Walter Henriques da Costa, pelo incentivo e troca de ideias.

Aos colegas Dr. Felipe de Almeida e Paula e Dr. Daniel Beltrame Ferreira por me antecederem na pesquisa e compartilharem parte dos dados de suas dissertações.

Ao meu amigo Dr. Leonardo Welter Neto, pela parceria e convívio diários.

Ao Núcleo de Urologia do A.C. Camargo Cancer Center, onde pude dar um grande salto em minha carreira e onde pude encontrar grandes amigos.

Aos técnicos do Departamento de Patologia do A.C. Camargo Cancer Center pelo auxílio técnico e dedicação.

Aos meus amigos Éder Brazão e Victor Espinheira, pelo companheirismo em nosso *fellowship* em Uro-oncologia no A.C. Camargo. Foi um ano de grande aprendizado, que foi fundamental em nossa carreira.

Aos meus amigos João Victor Caprini, Paulo José Zeraick e Tarso Nascimbem Ferraz, pela convivência ao longo dos anos de residência médica.

Ao Prof. Dr. Vinícius Calsavara, estatístico, pelos ensinamentos estatísticos em outros projetos realizados neste período de pós-graduação.

Pelos amigos Carlos Eduardo e Cinthia Montenegro, Tércia Nogueira e Marcelo, Gabriel Montezuma, Roberta Lisboa e Tiago Bastos por serem âncoras em nossa moradia em São Paulo, longe de nossas famílias e de nossa terra natal.

Aos professores e médicos assistentes da Divisão de Urologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, que me formaram na especialidade. Um agradecimento, em particular, para o Prof. Dr. Sílvio Tucci Jr. e Prof. Dr. Rodolfo Borges dos Reis, alicerces em nossa formação.

Ao Prof. Dr. João Batista Gadelha de Cerqueira, da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, meu primeiro incentivador e com quem dei os primeiros passos na vida acadêmica

À Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, minha *alma mater*

A cada um dos pacientes que confiou em meu trabalho

Conflito de interesses e suporte econômico

Este estudo é parte integrante do Projeto LARCG 001, proveniente do programa INCITO/INOTE* (Instituto Nacional para Ciência e Tecnologia em Oncogenômica e de Inovação Terapêutica), cujo suporte econômico ao AC Camargo Cancer Center possibilita a aquisição de reagentes, biomarcadores e materiais de bancada e laboratoriais necessários para a realização das reações imuno-histoquímicas necessárias a esse projeto.

Os autores não receberam suporte econômico para este projeto e não têm conflitos de interesse com essa pesquisa, tampouco no tocante à interpretação da mesma.

*O INCITO INOTE é suportado por agências oficiais governamentais e por agências de fomento não governamentais brasileiras.

RESUMO

Mourão, TC. **Avaliação do valor prognóstico da expressão imuno-histoquímica das proteínas renina, eritropoietina e catepsina D em pacientes portadores de carcinoma de células renais do tipo células claras.** [Tese de doutorado]. São Paulo; Fundação Antônio Prudente; 2023.

INTRODUÇÃO: Nas últimas décadas, houve uma migração do diagnóstico do carcinoma de células renais (CCR) para estádios mais precoces. Contudo, não houve uma concomitante redução das taxas de mortalidade. Características tumorais e relacionadas aos pacientes apresentam o maior impacto prognóstico, particularmente estágio clínico, tamanho tumoral, grau nuclear e subtipo histológico. No entanto, agrupá-las com outros parâmetros, inclusive biomoleculares, pode levar a uma análise mais acurada. **OBJETIVO:** Nosso objetivo foi avaliar a expressão imuno-histoquímica (IHQ) e o valor prognóstico da eritropoietina (EPO), da catepsina D (CTSD), além de entender se a expressão concomitante da renina (REN), com cada um desses dois marcadores, interfere nos desfechos oncológicos do CCR do tipo células claras (CCRcc) em pacientes não metastáticos. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram analisados dados de 729 pacientes com CCRcc submetidos a tratamento cirúrgico no A.C. Camargo Cancer Center entre 1985 e 2016. Todas as lâminas passaram por revisão anatomopatológica central por uropatologistas especializadas. Blocos de *tissue microarray* (TMA) foram construídos com amostras duplicadas de cada caso e as reações IHQ foram realizadas com clones de anticorpos previamente selecionados para REN, EPO e CTSD. As expressões de REN e EPO foram classificadas qualitativamente em “positiva” ou “negativa”. A expressão da CTSD foi classificada em “expressão fraca ou ausente” ou “forte expressão”. Foram analisadas associações com as variáveis clínicas e patológicas e as taxas de sobrevida global (SG), sobrevida câncer específica (SCE) e sobrevida livre de recorrência (SLR) em 10 anos. **RESULTADOS:** A REN mostrou-se positiva em 426 casos (70,6%) e negativa em 177 (29,4%). A expressão positiva de EPO ocorreu em 86,6% da amostra. Já a CTSD, apresentou expressão fraca ou ausente em 58,2% e expressão forte em 41,3% dos casos. A expressão de EPO não impactou os desfechos oncológicos, nem se associou com variáveis clínicas ou patológicas de destaque, mesmo quando analisada em conjunto com a expressão de REN. Esta última, quando ausente, associou-se com idade mais elevada, anemia pré-operatória, tamanho

tumoral, infiltração de gordura perirrenal, hilo ou seio renal, invasão microvascular, necrose, alto grau nuclear de ISUP e estágio clínico III-IV. Por outro lado, a forte expressão de CTSD também se associou com várias dessas variáveis de pior prognóstico. A ausência de expressão IHQ de REN e a forte expressão de CTSD, tanto de modo isolado, como em conjunto, foram fatores preditores de pior SG e SCE em 10 anos. A ausência da primeira e, particularmente, a combinação dos dois fatores influenciaram negativamente também a SLR. **CONCLUSÃO:** Enquanto a EPO não demonstrou valor prognóstico neste estudo, a ausência de REN, a forte expressão de CTSD, além da combinação destes dois fatores, foram capazes de se associar com piores desfechos oncológicos no CCR não metastático.

Descritores: Carcinoma de células renais, expressão imuno-histoquímica, fatores prognósticos, catepsina D, eritropoietina, renina

ABSTRACT

Mourão, TC. **[Analysis of the immunohistochemical expression and the prognostic value of renin, erythropoietin, and cathepsin D in patients with clear cell renal cell carcinoma]**. [Tese de doutorado]. São Paulo; Fundação Antônio Prudente; 2023.

INTRODUCTION: In the last decades, it has been observed a stage migration in renal cell carcinoma (RCC). However, there was no concomitant reduction in mortality rates. The tumoral factors, such as the clinical stage, tumor size, nuclear grade, or histologic subtype, have been characterized as major predictors. Nonetheless, an improvement of this analysis can be achieved after combine them with other variables, including biomolecular factors.

PURPOSE: To assess the immunohistochemical (IHC) expression and the prognostic value of erythropoietin (EPO) and cathepsin D (CTSD), besides evaluating if the concomitant expression of the previously studied protein renin (REN), with each one of the other markers, can influence the prognostic outcomes in non-metastatic patients. **MATERIAL AND METHODS:** A total of 729 patients with clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) who underwent surgical treatment at A.C.Camargo Cancer Center between 1985 and 2016 were evaluated. All cases of the tumor bank were centrally reviewed by dedicated uropathologists. IHC expression patterns of the markers were assessed with a tissue microarray technique. REN and EPO were classified as “positive” or “negative expression”. CTSD was grouped in “absent or weak expression” or “strong expression”. Associations among clinical and pathological variables and the studied markers, besides of the 10-year overall survival (OS), cancer specific survival (CSS), and recurrence free survival (RFS) rates were described. **RESULTS:** The REN expression was positive in 426 (70.6%) cases, and the EPO positive expression was observed in 86.6%. It was evidenced an absent or weak expression of CTSD in 58.2%, and a strong expression in 41.3% of this cohort. EPO expression showed no impact on survival rates, even if concomitantly assessed with REN. The negative expression of REN associated with advanced age, preoperative anemia, larger tumors, perirenal fat, hilum or renal sinus infiltration, microvascular invasion, necrosis, high nuclear grade, and clinical stages III or IV. On the other hand, the strong expression of CTSD associated with poor prognostic variables. Both of these expression patterns of REN and CTSD were unfavorable predictors of 10-year OS and CSS.

Particularly, the combination of negative REN and strong CTSD expression presented worse impact on these rates than the isolated analysis of each one, including a higher risk of recurrence. **CONCLUSION:** The loss of REN expression and the strong expression of CTSD were independent prognostic factors in non-metastatic ccRCC, particularly when the concomitant expression pattern of both markers is present. The immunohistochemical expression of EPO did not influence survival rates in this study.

Keywords: Renal cell carcinoma, immunohistochemical expression, prognostic factors, cathepsin D, erythropoietin, renin

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática da evolução das terapias sistêmicas para o carcinoma de células renais metastático	11
Figura 2	Representação do sistema renina-angiotensina com suas vias sinalização alternativas e convergentes	24
Figura 3	Desenho esquemático de um néfron adulto	26
Figura 4	Mecanismo proposto da função da pCTSD/CTSD na progressão do câncer	29
Figura 5	Contribuição da sinalização do SRAA para a inflamação, angiogênese e crescimento tumoral.....	31
Figura 6	Demonstração esquemática de preparo das lâminas pelo método de TMA	36
Figura 7	Fotomicrografias exibindo a expressão imuno-histoquímica da renina em tecido renal neoplásico (Aumento original de 100x)	56
Figura 8	Fotomicrografias exibindo a expressão imuno-histoquímica da eritropoietina em tecido renal neoplásico (Aumento original de 100x)	57
Figura 9	Distribuição do número de casos com relação a expressão imuno-histoquímica dos marcadores ao longo do período do estudo	58
Figura 10	Fotomicrografia exibindo um caso com ausência de expressão imuno-histoquímica da catepsina D em tecido renal neoplásico (Aumento original de 100x)	64

Figura 11	Fotomicrografias exibindo a expressão imuno-histoquímica da catepsina D em tecido renal neoplásico (Aumento original de 100x)	65
Figura 12	Gráfico descritivo de Boxplot demonstrando grau de expressão da catepsina D no CCR e nas amostras de tecido renal não neoplásico (p=0,175).....	66
Figura 13	Distribuição dos casos com relação a expressão imuno-histoquímica da catepsina D ao longo do período do estudo	66
Figura 14	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com a expressão qualitativa de renina em doentes com CCRcc não metastático	69
Figura 15	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com a expressão qualitativa de eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático	70
Figura 16	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com a expressão de ambos os marcadores ou a ausência de expressão de pelo menos um dos marcadores REN e/ou EPO em doentes com CCRcc não metastático	70
Figura 17	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses estratificada de acordo com a expressão qualitativa de renina em doentes com CCRcc não metastático	74
Figura 18	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses de acordo com a expressão de eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático	75

Figura 19	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses estratificada de acordo com a expressão de ambos os marcadores ou a ausência de expressão de pelo menos um dos marcadores REN e/ou EPO em doentes com CCRcc não metastático	75
Figura 20	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com a expressão qualitativa de renina em doentes com CCRcc não metastático	79
Figura 21	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses de acordo com a expressão de eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático	80
Figura 22	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com a expressão de ambos os marcadores ou a ausência de expressão de pelo menos um dos marcadores REN e/ou EPO em doentes com CCRcc não metastático	80
Figura 23	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático	84
Figura 24	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático	85
Figura 25	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático	85

Figura 26	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com o grau de expressão qualitativa da catepsina D em doentes com CCRcc não metastático	86
Figura 27	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses estratificada de acordo com o grau de expressão qualitativa da catepsina D em doentes com CCRcc não metastático	88
Figura 28	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com o grau de expressão qualitativa da catepsina D em doentes com CCRcc não metastático	91
Figura 29	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e catepsina D em doentes com CCRcc não metastático	96
Figura 30	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer específica em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e catepsina D em doentes com CCRcc não metastático	96
Figura 31	Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e catepsina D em doentes com CCRcc não metastático	97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Subtipos histológicos do carcinoma de células renais	5
Tabela 2	Modelos de avaliação de risco no carcinoma de células renais avançado.	13
Tabela 3	Descrição das variáveis epidemiológicas e clínicas dos pacientes portadores de CCRcc (n = 729 casos)	49
Tabela 4	Descrição das variáveis cirúrgicas dos pacientes portadores de CCRcc (n = 729 casos)	51
Tabela 5	Descrição das variáveis patológicas dos pacientes portadores de CCRcc (n = 729 casos)	52
Tabela 6	Descrição do estadiamento patológico dos pacientes portadores de CCRcc, de acordo com o sistema de estadiamento TNM AJCC (8ª edição), 2016 (n = 729 casos)	53
Tabela 7	Distribuição dos pacientes portadores de CCRcc de acordo com os escores prognósticos UISS, SSIGN e GRANT	53
Tabela 8	Análise qualitativa da expressão de renina segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático	59
Tabela 9	Análise qualitativa da expressão de eritropoietina segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático	60
Tabela 10	Estratificação dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático em grupos com expressão de ambos os marcadores (REN e EPO) ou perda de	

	expressão de pelo menos um deles segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas	62
Tabela 11	Análise qualitativa da expressão de catepsina D segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não metastático	67
Tabela 12	Análise simples do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.....	71
Tabela 13	Modelo de análise múltipla do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	73
Tabela 14	Análise simples do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	76
Tabela 15	Modelo de análise múltipla do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	78
Tabela 16	Análise simples do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	81
Tabela 17	Modelo de análise múltipla do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	82

Tabela 18	Análise simples do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.....	87
Tabela 19	Modelo de análise múltipla do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	87
Tabela 20	Análise simples do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	89
Tabela 21	Modelo de análise múltipla do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	89
Tabela 22	Análise simples do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.....	90
Tabela 23	Modelo de análise múltipla do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	92
Tabela 24	Modelo de análise múltipla do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	93
Tabela 25	Modelo de análise múltipla do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	94

Tabela 26	Modelo de análise múltipla do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas	94
Tabela 27	Modelo de análises múltiplas do subgrupo de pacientes com pequenas massas renais, de acordo com variáveis selecionadas	99
Tabela 28	Modelo de análises múltiplas do subgrupo de pacientes no estágio clínico III-IV, de acordo com variáveis selecionadas	100

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAPC	Alteração anual percentual média (do inglês <i>average annual percentage change</i>)
AC-IX	Anidrase carbônica-IX
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ASA	Sociedade Americana de Anestesiologistas (ASA, do inglês: <i>American Society of Anesthesiologists</i>)
CCR	Carcinoma de células renais
CCRcc	Carcinoma de células renais do tipo células claras
CCRm	Carcinoma de células renais metastático
CTLA-4	Antígeno associado ao linfócito T citotóxico 4 (do inglês <i>cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4</i>)
CTSD	Catepsina-D
DRC	Doença renal crônica
EC	Estádio clínico
ECA	Enzima conversora de angiotensina
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EPO	Eritropoietina
GLOBOCAN	Observatório Global do Câncer (do inglês <i>Global Cancer Observatory</i>)
GRANT	Nomograma que avalia grau, idade, linfonodos e estágio tumoral (do inglês <i>Grade, Age, Nodes, and Tumor</i>)
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HIF	Fator indutor de hipóxia (do inglês <i>hypoxia inducible factor</i>)
HiFU	Ultrassom focalizado de alta intensidade (do inglês <i>High-intensity focused ultrasound</i>)
IFNα	Interferon-alfa
IGF	Fator de crescimento insulina-like (do inglês <i>insulin-like growth factor</i>)
IHQ	Imuno-histoquímica
IIQ	Intervalo interquartil

IL-2	Interleucina-2
IMC	Índice de massa corpórea
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ISUP	Sociedade Internacional de Patologia Urológica (do inglês <i>International Society of Urological Pathology</i>)
LARCG	Grupo Latino-Americano de Câncer Renal (do inglês <i>Latin American Renal Cancer Group</i>)
miRNA	microRNA
MSKCC	<i>Memorial Sloan Kettering Cancer Center</i>
mTOR	Proteína-alvo da rapamicina em mamíferos (do inglês <i>mammalian target of rapamycin</i>)
NOS	Sintase do óxido nítrico (do inglês <i>Nitric Oxide Synthase</i>)
NP	Nefrectomia parcial
NR	Nefrectomia radical
OMS	Organização Mundial da Saúde
PD-1	Proteína de morte celular programada 1 (do inglês <i>programmed death 1</i>)
PMR	Pequenas massas renais
REN	Renina
SBRT	Radioterapia estereotática (do inglês <i>stereotactic body radiation therapy</i>)
SCE	Sobrevida câncer-específica
SG	Sobrevida global
SLR	Sobrevida livre de recorrência
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
SSIGN	Nomograma que avalia estágio, tamanho tumoral, grau e necrose (do inglês <i>Stage, Size, Grade, and Necrosis</i>)
TCGA	O Atlas do Genoma do Câncer (do inglês <i>The Cancer Genome Atlas</i>)
UISS	Sistema de estadiamento integrado da Universidade da Califórnia em Los Angeles (do inglês <i>UCLA Integrated Staging System for renal cell carcinoma</i>)
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular (do inglês <i>vascular endothelial growth factor</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Revisão de literatura	1
1.1.1	Epidemiologia do câncer renal	1
1.1.2	Fatores de risco	2
1.1.3	Aspectos clinicopatológicos	4
1.1.4	Métodos diagnósticos	6
1.1.5	Tratamento	7
1.2	Fatores prognósticos no carcinoma de células renais	12
1.2.1	Fatores anatômicos, clínicos e histopatológicos	12
1.2.2	Nomogramas prognósticos no carcinoma de células renais	16
1.2.3	Fatores biomoleculares	18
1.3	O sistema renina-angiotensina-aldosterona	22
1.3.1	A renina	25
1.3.2	As catepsinas	27
1.3.3	O sistema renina-angiotensina-aldosterona e o câncer	29
1.4	A hipóxia e sua relação com o carcinoma de células renais	32
1.4.1	A eritropoietina	33
1.5	O <i>tissue microarray</i> (TMA)	35
1.6	Justificativa do estudo	37
2	OBJETIVOS	39
2.1	Objetivo geral	39
2.2	Objetivos específicos	39
3	MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1	População do estudo	40
3.1.1	Critérios de inclusão	40
3.1.2	Critérios de exclusão	40

3.2	Seleção das variáveis	40
3.2.1	Diagnóstico e estadiamento	41
3.2.2	Tratamento cirúrgico	41
3.2.3	Seguimento	42
3.3	Confecção do <i>Tissue Microarray</i> (TMA)	43
3.3.1	Técnica imuno-histoquímica	44
3.4	Análise estatística	45
3.5	Ética	46
3.6	Casuística	48
3.6.1	Aspectos demográficos, clínicos e patológicos	48
3.6.2	Situação clínica ao término do estudo	54
4	RESULTADOS	55
4.1	Reações imuno-histoquímicas da renina e da eritropoietina	55
4.1.1	Análise qualitativa da expressão de REN e EPO no CCRcc não metastático	57
4.2	Reações imuno-histoquímicas da catepsina D	64
4.2.1	Análise qualitativa da expressão de CTSD no CCRcc não metastático	67
4.3	Análises de sobrevida da EPO e REN	69
4.3.1	Sobrevida global	69
4.3.2	Sobrevida câncer específica	74
4.3.3	Sobrevida livre de recorrência	79
4.4	Análises de sobrevida da CTSD	86
4.4.1	Sobrevida global	86
4.4.2	Sobrevida câncer específica	88
4.4.3	Sobrevida livre de recorrência	91
4.4.4	Análises de sobrevida da expressão de REN e CTSD	93
4.5	Análises de sobrevida em subgrupos	98
4.5.1	Pequenas massas renais	98
4.5.2	Estádio clínico III-IV	99
5	DISCUSSÃO	102

5.1	Aspectos gerais	102
5.2	Reações imuno-histoquímicas de REN e EPO	105
5.3	Reações imuno-histoquímicas de CTSD	109
5.4	Limitações do estudo	111
6	CONCLUSÕES	112
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

ANEXOS

Anexo 1	Sistema de estadiamento TNM do American Joint Committee on Cancer (AJCC) para câncer renal, oitava edição (2016)
Anexo 2	Nomogramas prognósticos para pacientes com carcinoma de células renais
Anexo 3	Classificação das complicações cirúrgicas de <i>Clavien-Dindo</i>
Anexo 4	Carta de aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP
Anexo 5	Carta de aceitação do Artigo 1 (03/04/2023)
Anexo 6	Carta de aceitação do Artigo 2 (18/05/2023)

APÊNDICE

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

1 INTRODUÇÃO

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 Epidemiologia do câncer renal

O carcinoma de células renais (CCR) é considerado a neoplasia urológica mais letal e tem incidência crescente, representando a sexta neoplasia em homens e a décima, em mulheres (Campbell et al. 2021; Capitanio et al. 2019). Os dados mais atuais do Observatório Global do Câncer (GLOBOCAN, do inglês: *Global Cancer Observatory*) apontam que o CCR corresponde a uma proporção de 2,2% dos novos casos de câncer, considerando todos os tipos, além de 1,8% das mortes por câncer (Sung et al. 2021).

Sabidamente, esta é uma neoplasia que acomete mais homens, em uma razão de cerca de 1,9 homens para uma mulher diagnosticada (Campbell et al. 2021). Nas estimativas para 2020, houve mais de 270 mil novos casos em homens e 160 mil, em mulheres. A taxa de incidência padronizada por idade foi de 6,1 novos casos para cada 100.000 homens e de 3,2 para cada 100.000 mulheres. Do mesmo modo, a taxa de mortalidade padronizada por idade também foi maior na população masculina, sendo de 2,5 mortes para 100.000 homens, em comparação à feminina, de 1,2 mortes para cada 100.000 mulheres (Ferlay et al. 2021). No mundo, as taxas de incidência são mais altas em países como República Tcheca (21,9 por 100.000 em homens), Lituânia (18,7 por 100.000 homens) e Estados Unidos (15,6 por 100.000 homens negros e 14 por 100.000 homens brancos) (Scelo and Larose 2018).

Somente nos Estados Unidos, mais de 76 mil casos foram projetados para serem diagnosticados em 2021 (Siegel et al. 2021). Naquele país, existe uma probabilidade de 1,7% de desenvolver CCR ao longo de toda a vida (Howlader et al. 2021). Já no Brasil, a incidência estimada pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) é de cerca de 7 a 10 casos para cada 100 mil habitantes, correspondendo a mais de 6,2 mil casos anualmente (Instituto Nacional do Câncer José Gomes de Alencar-INCA 2019).

De acordo com análises feitas a partir de dados do DATASUS, existe uma tendência de aumento de mortalidade crescente em ambos os sexos no Brasil. Entre 1996 e 2019, a alteração anual percentual média (AAPC, do inglês: *average annual percentage change*) foi de 2,03 em homens e de 1,04, em mulheres. Nesse mesmo período, embora as taxas de

mortalidade padronizadas por idade sejam maiores na região Sul do país, a tendência de aumento tem sido mais expressiva nas regiões Norte e Nordeste em ambos os sexos (Mourão et al. 2022).

Além do aumento da incidência, percebe-se uma migração do diagnóstico para estágios mais precoces, particularmente com achados incidentais de massas renais por exames de imagem, como ultrassonografia ou tomografia (Nguyen et al. 2006). No entanto, atesta-se, de modo consistente, que a maior detecção de pequenas massas renais (PMR) não vem reduzindo as taxas de mortalidade da doença (Hollingsworth et al. 2006).

Com relação à distribuição do CCR por estágios no momento do diagnóstico, 65% são tumores localizados, 16% apresentam disseminação para linfonodos regionais e 16% já são metastáticos. Abrangendo todos os casos, a sobrevida relativa em 5 anos é de 75,6%, sendo que nos tumores localizados esse percentual é de 92,7%, na doença regional é de 71% e, na doença metastática, de apenas 13% (Howlader et al. 2021).

Nos casos não metastáticos, cerca de 20% a 30% irão apresentar recorrência sistêmica durante o seguimento pós-operatório. Em um estudo populacional recente na Suécia, apenas metade dos pacientes que evoluíram com metástases receberam algum tipo de tratamento sistêmico (Mikami et al. 2014; Dabestani et al. 2016; Choueiri and Motzer 2017).

1.1.2 Fatores de risco

Além do sexo masculino, a idade é um fator de risco bem estabelecido no CCR. O pico de incidência ocorre na sétima década de vida (Snyder et al. 2006; Capitano et al. 2019) e a idade mediana de óbito dos pacientes é de 72 anos (Howlader et al. 2021), sendo que a idade avançada também está associada a uma maior mortalidade câncer-específica (Bandini et al. 2018). Os principais fatores de risco associados ao CCR são o tabagismo, a obesidade e a hipertensão arterial sistêmica (HAS).

Com relação ao tabagismo, esse risco aumenta tanto para o desenvolvimento da doença, como para o surgimento do CCR de alto grau, tendo associação com a intensidade e duração desse hábito (Lotan et al. 2016). O risco relativo de desenvolver um CCR situa-se em torno de 1,36 para fumantes atuais e de 1,16 para ex-fumantes, sendo que em pacientes com uma carga tabágica maior do que 37,5 maços-ano, o risco foi 60% maior do que nos não fumantes (Macleod et al. 2013; Cumberbatch et al. 2016).

Os mecanismos biológicos que explicam a relação entre obesidade e CCR são incertos, embora existam evidências sugerindo o papel de fatores de crescimento insulina-*like* (IGF, do inglês: *insulin-like growth factor*), das adipocinas, de hormônios sexuais ou mesmo da inflamação crônica presente na obesidade (Gild et al. 2017; Liao et al. 2017). Os estudos demonstram uma razão de risco de cerca de 1,7 entre aqueles com o índice de massa corpórea (IMC) maior do que 35 kg/m² em comparação com os pacientes com IMC normal (Macleod et al. 2013; Lotan et al. 2016). Nessa mesma linha, o hábito de realizar atividades físicas regularmente pode ser apontado como um fator protetor, com redução de até cerca de 20% do risco de CCR (Behrens and Leitzmann 2013).

Indivíduos hipertensos têm um aumento do risco de CCR em torno de 70%, sendo que quanto maior o grau de hipertensão, maior é esse risco (Macleod et al. 2013; Capitanio et al. 2019). A principal hipótese que explica essa relação é o envolvimento da hipóxia renal crônica causada pela transcrição de fatores indutores de hipóxia (HIF, do inglês: *hypoxia-inducible factors*) e da peroxidação lipídica (Hidayat et al. 2017).

A doença renal crônica (DRC) é um outro fator de risco bem estabelecido. O risco ao longo da vida chega a 10 vezes maior quando comparado ao da população geral. Esses tumores podem ser encontrados em um percentual de cerca de 4% dos rins nativos de pacientes com DRC em estágio final (Christensson et al. 2013; Lowrance et al. 2014). Inclusive, existe a descrição do subtipo específico de CCR associado à doença renal cística adquirida, com um comportamento mais indolente e ocorrendo na doença renal em estágio final (Srigley et al. 2013; Ljungberg et al. 2021).

Por fim, existem outros fatores potenciais, com resultados discutíveis na literatura. Modificações na dieta, com maior ingestão de frutas e verduras, é um deles. O efeito protetor de uma ingestão moderada de álcool é verificado em alguns estudos. Atribui-se também um potencial aumento de risco a outras comorbidades, como litíase urinária, diabetes tipo 2 e hepatopatias crônicas, assim como também ao uso excessivo do analgésico acetaminofeno e de anti-inflamatórios não esteroidais (Capitanio et al. 2019). Dentre os fatores ambientais e ocupacionais, a exposição ao tricloroetileno é a mais estudada, com aumento do risco de até 40%, além da contaminação pelo ácido aristolóquico, mais relacionada ao carcinoma urotelial (Scelo and Larose 2018).

É necessário mencionar também os fatores de risco genéticos, sendo que cerca de 5% dos CCR são considerados hereditários. A Síndrome de *von-Hippel Lindau* é a síndrome

genética mais comumente associada ao aumento do risco de CCR (Scelo and Larose 2018). A suspeita das síndromes hereditárias geralmente ocorre naqueles pacientes com história familiar, idade jovem (até 45 anos) e múltiplas lesões. Outras síndromes familiares são o carcinoma renal papilífero hereditário, a leiomiomatose hereditária e CCR, a síndrome de *Birt-Hogg-Dube*, a esclerose tuberosa, o CCR com deficiência de succinato desidrogenase, a síndrome de *Cowden* (PTEN hamartoma), a síndrome com predisposição de tumor BAP1, a síndrome do câncer com fator de transcrição associado à microftalmia (MiTF), a síndrome do câncer colorretal não polipóide hereditário (HNPCC) e a translocação constitucional do cromossomo 3 (Campbell et al. 2021; Ljungberg et al. 2021).

1.1.3 Aspectos clinicopatológicos

As massas renais possuem classificações baseadas em sua histologia, características clínicas, aparência radiográfica (lesões sólidas, cistos simples ou lesões císticas complexas) e, mais recentemente, baseadas em alterações citogenéticas distintas.

A histologia mais frequente é o CCR do tipo células claras (CCRcc), seguido do subtipo papilífero, ambos originados dos túbulos contorcidos proximais. O terceiro subtipo em frequência é o CCR cromóforo, cuja origem se dá mais distalmente na estrutura dos néfrons.

A maioria dos CCR são lesões únicas, sendo que o envolvimento bilateral pode ocorrer em 2-4% dos tumores esporádicos. Além disso, a multicentricidade pode ser encontrada ao redor de 10% a 20% dos casos, particularmente no CCR papilífero (Krambeck et al. 2008; Campbell et al. 2021).

O sexo masculino e o aumento do tamanho tumoral são os maiores preditores de malignidade (Pierorazio et al. 2016). Com relação ao tamanho da lesão, sabe-se que 20% a 30% das massas menores que 4 cm e, até 40% das menores que 2 cm, são benignas. Além disso, essas PMR, mesmo quando malignas, demonstram muitas vezes um comportamento mais indolente (Frank et al. 2003; Kutikov et al. 2006; Umbreit et al. 2012; Johnson et al. 2015).

A classificação mais atual compreende os subtipos histológicos apresentados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2016 (Moch et al. 2016). A **Tabela 1** apresenta a descrição desses subtipos, prevalência, fatores genéticos envolvidos e características imunohistoquímicas que auxiliam na sua diferenciação.

O diagnóstico incidental desses tumores ocorre em mais de 60% dos casos, sendo que a chamada tríade clássica, envolvendo hematuria, dor no flanco e massa palpável, é

raramente vista atualmente (Campbell et al. 2021), verificada em 4,5% dos pacientes brasileiros) (Nardi et al. 2010). A presença de sintomas sistêmicos como perda de peso, febre, anorexia, sudorese noturna, além de sinais como linfonodomegalia cervical, varicocele bilateral, edema bilateral de membros inferiores ou hepatoesplenomegalia estão relacionados com doença avançada. Uma outra característica, encontrada em 10% a 20% dos casos, é a presença de síndromes paraneoplásicas, como anemia, elevação da velocidade de hemossedimentação, coagulopatias, elevação da fosfatase alcalina, hipercalcemia, policitemia ou hipertensão (Eble et al. 2004).

Tabela 1 – Subtipos histológicos do carcinoma de células renais.

Subtipo histológico	Prevalência	Fatores genéticos	Imuno-histoquímica
Células claras	70% - 80%	-3p, -8p, -9p, -14q, +5q	CQBPM (CQ8, CQ18, CQ19, CAM 5.2), vimentina, AEM, AC-IX
Papilífero tipo 1	5% - 10%	Alteração do MET, +7, +17	CQBPM (CQ7), AMACR
Papilífero tipo 2	5% - 10%	Gene fumarato-hidratase (1q)	CQBPM, AMACR
Cromóforo	3% - 5%	Mutação do gene foliculina (17p), -1, -2, -6, -10, -13, -17, -21, -Y, mutação de PTEN	CQ7 difuso, AEM difuso, E-caderina +, CD10 -, vimentina -
Papilífero de células claras	~5%	Incerto	CQ7 difuso, AC-IX com distribuição <i>cuplike</i> , AMACR -
Não classificados	1% - 3%	Desconhecido	Variado
Ductos coletores	< 1%	-1q, -6p, -8p, -13q, -21q	CQBPM, vimentina, 34βE12, AEM
Medular renal	< 1%	Perda rara do cromossomo 22	INI1/SMARCB1 -, CQBPM, AEM, CQ AE1/AE3
Associado à doença cística adquirida	< 1%	+3, +7, +17, +1, +2, +6, +Y	Ausência de CQ7, AMACR difuso
Células claras cístico multilocular	< 1%	-3p	AEM, AC-IX
Tubulocístico	< 1%	+7, +17, -Y	CQ8, CQ18, CQ19, CD10, AMACR
Mucinoso tubular	< 1%	-1, -4, -6, -8, -13, -14, +7, +11, +16, +17	CQBPM, CQ7, CD10 -, UEA, PNA e SBA
Translocação da família MiT (incluindo Xp11.2 e t(6;11))	~1%	Fusões envolvendo o gene TFE3	Proteína TFE3, CD10

Fonte: Adaptado de EBLE (2004), MOCH (2016) e SRIGLEY (2013).

Legenda: CQBPM: Citoqueratina de baixo peso molecular. AEM: Antígeno epitelial de membrana. AC-IX: Anidrase carbônica-IX. CQ: Citoqueratina. AMACR: Alfa-metilacil-coenzima A racemase. SMARCB1: SWI/SNF-related

matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily B member 1. UEA, PNA e SBA: aglutininas *Ulex europaeus*, *peanut* e *soybean*.

1.1.4 Métodos diagnósticos

Diante do achado de uma lesão suspeita, as principais diretrizes internacionais convergem na recomendação da avaliação diagnóstica e estadiadora. Dentre os exames diagnósticos, a avaliação radiográfica, particularmente com exames de imagem de corte transversal, como tomografia computadorizada (TC) e ressonância nuclear magnética (RNM), são os mais importantes para auxiliar na decisão de conduta (Berland et al. 2010; Pierorazio et al. 2016). De modo geral, a ultrassonografia é o exame que mais comumente detecta incidentalomas renais (DeCastro and McKiernan 2008; Nardi et al. 2010).

A caracterização das massas renais deve incluir o grau de complexidade da lesão, o realce pós-contraste e a presença ou ausência de gordura intralesional. Casos com suspeita de envolvimento vascular venoso, pacientes com alergia ao contraste iodado ou aqueles com insuficiência renal moderada (taxa de filtração glomerular acima de 30 ml/min/1,73m²) devem preferencialmente realizar RNM. Este exame também tem uma acurácia superior na avaliação de lesões menores do que 2 cm ou lesões císticas complexas ao se comparar com a TC. Além do exame abdominal, recomenda-se imagem do tórax (radiografia ou tomografia), painel metabólico, hemograma completo e análise de urina. Exames de cintilografia óssea, RNM de crânio e PET/CT não são realizados rotineiramente (Campbell et al. 2017; Motzer et al. 2020; Ljungberg et al. 2021).

O realce pós-contraste maior do que 15 – 20 UH na TC ou maior do que 20% na RNM sugere histologia maligna (Berland et al. 2010; Campbell et al. 2017). Do mesmo modo, a atenuação da densidade de uma lesão renal abaixo de – 20 UH é mais sugestivo do diagnóstico de um angiomiolipoma (Nelson and Sanda 2002). Subtipos histológicos, como o papilífero, tendem a apresentar uma menor densidade do realce. No entanto, não é possível de modo seguro diferenciar muitos dos subtipos histológicos ou mesmo lesões benignas, como os oncocitomas, somente com os exames de imagem disponíveis na atualidade (Pierorazio et al. 2013; Young et al. 2013).

A biópsia renal percutânea pode auxiliar no diagnóstico e na melhor seleção dos pacientes, particularmente daqueles com PMR candidatos a vigilância ativa, terapias ablativas ou casos metastáticos na apresentação para definição da estratégia a ser utilizada (Shannon et al. 2008; Abel et al. 2010; Richard et al. 2015). Em pacientes com lesões altamente

suspeitas, quando o tratamento cirúrgico já está planejado, bem como pacientes com múltiplas comorbidades e idosos frágeis, quando uma conduta conservadora será realizada, a biópsia renal não deve ser indicada. O valor preditivo positivo deste teste é alto, contudo até 22% das biópsias não são diagnósticas (Ljungberg et al. 2021). Dentre as características tumorais, o grau nuclear descrito pela biópsia possui uma baixa acurácia (Ball et al. 2015; Marconi et al. 2016).

1.1.5 Tratamento

O CCR permanece até os dias atuais como sendo primariamente uma doença de tratamento cirúrgico. Na história, a primeira nefrectomia planejada ocorreu em 1869 por Gustav Simon. Já na década de 60, Robson descreveu a primeira nefrectomia radical por tumor, iniciando a era moderna do tratamento do CCR. Clayman realizou a primeira nefrectomia radical laparoscópica em 1991 e Guillonneau descreveu a primeira nefrectomia assistida por robô em 2001, utilizando a plataforma Zeus (Robson 1963; Clayman et al. 1991; Guillonneau et al. 2001; Campbell et al. 2021).

Com a maior incidência de tumores em estádios iniciais, o tratamento padrão vem se tornando a realização de cirurgias poupadoras de néfrons, visando o menor risco de evolução para DRC e diminuindo o supertratamento das PMR (Lau et al. 2000; Touijer et al. 2010; Van Poppel et al. 2011; Scosyrev et al. 2014). Atualmente, inclusive no Brasil, nota-se a difusão das técnicas minimamente invasivas para a realização desse procedimento (Volpe et al. 2011).

As nefrectomias parciais (NP) propiciam um controle oncológico equivalente ao das nefrectomias radicais (NR), além de demonstrarem uma diminuição da mortalidade global em alguns estudos (Thompson 2014). Ainda assim, grandes séries na literatura ainda evidenciam uma alta proporção de NR, mesmo em PMR (Hollenbeck et al. 2006; Huang et al. 2009; Zini et al. 2009; Hadjipavlou et al. 2016).

Um recente trabalho do LARCG (*Latin American Renal Cancer Group*) relatou que, até 2009, menos da metade dos casos de PMR eram submetidos à NP na América Latina. Desde 2010, essa proporção subiu para quase 75% dos casos (Mourão et al. 2020). Dall'Oglio et al reportaram, em uma análise retrospectiva entre 2003 e 2007, que o percentual de NP foi quase o dobro em uma instituição privada brasileira, comparado a uma instituição pública. Essa diferença, em parte, justificou-se pelo fato de que o percentual de PMR foi também o dobro na instituição privada (Dall'Oglio et al. 2011).

Em um primeiro momento, apenas as lesões T1a eram adequadas para receber a indicação de NP (Novick 2002). Mais recentemente, ampliou-se a indicação de NP inclusive para lesões T1b (Leibovich et al. 2004; Patard et al. 2004b). Para estádios maiores, como lesões T2, o uso da NP deve ser mais seletivo e existe um maior risco de complicações perioperatórias comparado à realização de NR (Breau et al. 2010; Mir et al. 2017; Shum et al. 2017). Nesse cenário, a NP deve ser priorizada naqueles pacientes aptos a receber esse tratamento e que possuem rim único, tumores renais bilaterais, síndromes familiares que predispõem ao CCR, bem como nos portadores de DRC prévia (Campbell et al. 2017; Meissner et al. 2018).

Com relação à via de acesso, os desfechos de longo prazo já estão bem estabelecidos para a realização da NR laparoscópica em tumores renais localizados (Permpongkosol et al. 2005; Hemal and Kumar 2009). Esta via propicia menor perda sanguínea, menor tempo de internação, menor uso de analgésicos e o retorno mais precoce às atividades habituais, demonstrando algumas dessas vantagens mesmo em casos localmente avançados com equipes experientes (Hemal et al. 2007; Laird et al. 2015).

Da mesma forma, a NP laparoscópica também já se mostrou um excelente método a longo prazo para tumores T1 (Lane et al. 2013). Neste cenário, a via robô-assistida vem ganhando destaque, particularmente por demonstrar uma menor taxa de conversão para cirurgia aberta, menor tempo de isquemia quente, menor alteração na taxa de filtração glomerular estimada e menor estadia hospitalar (Choi et al. 2015).

Uma das ferramentas para auxiliar na seleção de pacientes que serão submetidos a cirurgias poupadoras de néfrons e que são úteis na divulgação de estudos no meio acadêmico são os escores nefrométricos. Esses escores agrupam os casos com tumores de diferentes localizações e graus de complexidade e podem ajudar na predição de complicações. Os mais conhecidos são o R.E.N.A.L. (*Radius, Endophytic vs. Exophytic, Nearness to collecting system, Anterior/posterior, Location relative to polar lines*), o escore de PADUA e o C-index (Ficarra et al. 2009; Kutikov and Uzzo 2009; Simmons et al. 2010). O grau de complexidade tumoral também evidencia relação com agressividade da lesão, risco de superestadiamento e de margens positivas na patologia final (Pierorazio et al. 2016; Mouracade et al. 2017).

Embora a remoção da glândula adrenal ipsilateral fizesse parte da descrição original de uma NR, não é um passo preconizado atualmente de rotina (Campbell et al. 2021). A adrenalectomia ipsilateral só deve ser realizada na presença de sinais radiográficos de acometimento da glândula ou na suspeita durante o intraoperatório (Lane et al. 2009). Já com

relação à linfadenectomia retroperitoneal/hilar, reconhece-se o seu papel no estadiamento da doença, embora seu benefício terapêutico seja bastante controverso. Mesmo em tumores localmente avançados (cT3-cT4N0M0), não há evidência suficiente para se recomendar a linfadenectomia concomitante (Blom et al. 2009; Bekema et al. 2013). Sua realização deve ser feita em pacientes com suspeita de acometimento linfonodal, basicamente com propósito de estadiamento (Gershman et al. 2018; Marchioni et al. 2018).

O manejo cirúrgico não é a única opção de tratamento, particularmente no cenário das PMR, onde as terapias ablativas (TA) ou a vigilância ativa (VA) também são oferecidas. A possibilidade de se realizar VA é baseada no comportamento mais indolente das PMR, uma vez que apenas cerca de 1% desses pacientes progridem para doença metastática, sendo uma opção segura em pacientes jovens ou idosos (Jewett et al. 2011; Sun et al. 2014; Metcalf et al. 2021). A taxa de crescimento desses tumores é em torno de 0,1 – 0,3 cm/ano (Chawla et al. 2006; Pierorazio et al. 2015).

Dentre as TA, a crioablação e a ablação por radiofrequência são as mais estudadas, sendo mais comumente indicadas em indivíduos com PMR periféricas e pacientes idosos ou com múltiplas comorbidades. Outras modalidades de TA sob investigação são a radiocirurgia, o ultrassom focalizado de alta intensidade (HiFU, do inglês *High-intensity focused ultrasound*), a ablação por micro-ondas, a terapia térmica com laser intersticial e a eletroporação irreversível. Alguns estudos sugerem taxas de recidiva mais altas em tumores acima de 3 cm e, particularmente, acima de 4 cm. Além disso, essas taxas também são maiores quando comparadas com os resultados da NP, mas pela qualidade dos dados não são possíveis conclusões definitivas (Abu-Ghanem et al. 2020; Ljungberg et al. 2021). Tanto a crioablação como a ablação por radiofrequência podem ser realizadas por via percutânea ou laparoscópica. O controle do efeito do tratamento é melhor monitorizado na crioablação, devido a chamada bola de gelo resultante do método. Em algumas situações, a identificação da suspeita de recidiva tumoral pode ser desafiadora pelos métodos de imagem disponíveis (Campbell et al. 2021).

No momento, o papel da terapia sistêmica adjuvante no CCR é motivo de investigação e progressos isolados vêm ocorrendo. O estudo S-TRAC mostrou uma vantagem de sobrevida no braço que utilizou sunitinibe adjuvante, embora às custas de significativos efeitos colaterais e necessidade de redução ou mesmo suspensão da medicação (Motzer et al. 2018). Outros estudos com inibidores de tirosina-quinase não mostraram diferenças significativas

em termos de sobrevida global (SG). É o caso dos estudos ASSURE (sunitinibe vs. sorafenibe vs. placebo), PROTECT (pazopanibe vs. placebo) e ATLAS (axitinibe vs. placebo) (Haas et al. 2017; Motzer et al. 2017; Gross-Goupil et al. 2018). Recentemente, o *trial* KEYNOTE-564 utilizou um anticorpo anti-PD1, o imunoterápico pembrolizumabe, de modo adjuvante, evidenciando uma maior sobrevida livre de doença em pacientes com CCRcc de alto risco (Choueiri et al. 2021). Esses resultados levaram à aprovação de seu uso adjuvante para tumores de células claras de alto risco ou tumores metastáticos sincrônicos submetidos a metastasectomia em até um ano da nefrectomia e que estão sem evidência clínica de doença, tanto nos Estados Unidos, como também no Brasil desde dezembro de 2021.

A radioterapia adjuvante já foi previamente avaliada como sendo útil em casos de tumores localmente avançados para a redução de recorrência da doença, embora *trials* prospectivos não tenham confirmado esse achado. (Kjaer et al. 1987; Stein et al. 1992; Makarewicz et al. 1998; Rodríguez-Fernández et al. 2019).

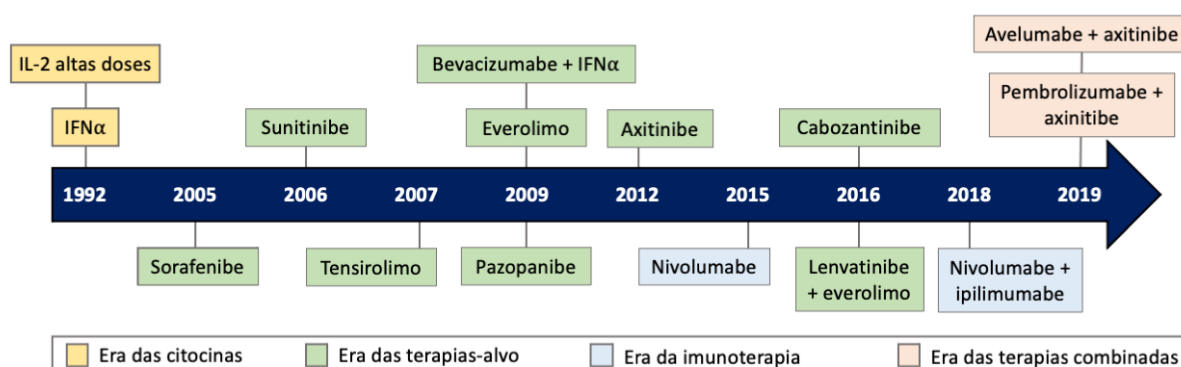
O CCR metastático (CCRm) é tradicionalmente resistente aos agentes quimioterápicos citotóxicos. Ao longo dos estudos sobre a biologia tumoral dos CCR, pôde-se elucidar os tratamentos envolvendo as vias do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, do inglês *vascular endothelial growth factor*), da proteína-alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR, do inglês *mammalian target of rapamycin*) e as vias envolvendo o sistema imunológico (Zibelman and Plimack 2017; Campbell et al. 2021).

Até o desenvolvimento das terapias-alvo anti-VEGF, a imunoterapia com interferon-alfa (IFN α) e com interleucina-2 (IL-2) em altas doses eram as únicas terapias sistêmicas com algum grau razoável de efetividade (Zibelman and Plimack 2017). Demonstrando a relação imunogênica desses tumores, até 7% dos que utilizavam IL-2 apresentavam remissão total da doença (Zibelman and Plimack 2017).

Atualmente, as drogas que realizam bloqueio do *checkpoint* imunológico estão revolucionando o tratamento sistêmico do CCRm, tendo como alvo a via da proteína de morte celular programada 1 (PD-1, do inglês *programmed death 1*), além do ligante de PD-1 (PD-L1) e inibidores do antígeno associado ao linfócito T citotóxico 4 (CTLA-4, do inglês *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*) (Dizman et al. 2020). A **Figura 1** mostra a evolução, ao longo das últimas décadas, do tratamento do CCRm.

Com relação aos padrões de tratamento no Brasil, um estudo de 2018 utilizou uma base de dados comercial e comparou os tratamentos para o CCRm. Nesse estudo, 79% dos

pacientes receberam terapia de primeira-linha e apenas 20% e 5% receberam terapias de segunda e terceira-linhas, respectivamente. Um número significativamente menor de pacientes (45% vs. 55%) recebeu terapia de primeira-linha em hospitais públicos comparado aos pacientes de hospitais privados. O sunitinibe, seguido do pazopanibe, foram as drogas mais frequentemente utilizadas nesse cenário no Brasil no período do estudo (Bergerot et al. 2018).



Fonte: Adaptado de DIZMAN et al (2020).

Figura 1 – Representação esquemática da evolução das terapias sistêmicas para o carcinoma de células renais metastático.

Embora a radioterapia convencional tenha falhado em mostrar benefícios convincentes nos cenários de adjuvância, neoadjuvância e metastático, a radioterapia estereotática (SBRT, do inglês *stereotactic body radiation therapy*) vem mostrando resultados no tratamento de lesões oligometastáticas intra ou extracranianas, além de alguns estudos preliminares no tratamento do tumor primário, além de palição de sintomas locais (Siva et al. 2017; Miccio and Johung 2019; Zaorsky et al. 2019).

No que diz respeito ao manejo cirúrgico no paciente metastático, devemos considerar tanto a nefrectomia citorrredutora como a metastasectomia em pacientes selecionados. Na era das citocinas, esse procedimento era considerado parte do tratamento do CCRm, demonstrando ganho de SG em dois estudos clínicos randomizados fase III – o SWOG 8949 e o EORTC 30947 – ao se comparar com o uso isolado de IFN α (Flanigan et al. 2004). Na era das terapias-alvo, uma metanálise retrospectiva sugeria a manutenção do benefício de se realizar nefrectomia citorrredutora, reduzindo o risco de morte por câncer em mais de 50% (Petrelli et al. 2016). Mais recentemente, o estudo fase III SURTIME sugeriu que a cirurgia postergada

após 3 ciclos de sunitinibe apresentava melhor SG que a cirurgia imediata, contudo este estudo teve um baixo recrutamento (Bex et al. 2019). Já o estudo CARMENA, um estudo de não inferioridade, não mostrou vantagens da nefrectomia seguido de sunitinibe em comparação com o sunitinibe isolado em pacientes de risco intermediário ou ruim, embora possa haver um papel no grupo de risco favorável (Méjean et al. 2018, 2021). Na era dos imunoterápicos, dois estudos fase III estão em andamento, utilizando nivolumabe e ipilimumabe com/sem nefrectomia citorrredutora (NORDIC-SUN *trial*) e o PROBE *trial*, que está comparando diferentes imunoterápicos com/sem a associação de cirurgia (Kuusk et al. 2021).

Sobre a metastasectomia, alguns dados sugerem a relevância do seu papel mesmo na era das terapias-alvo e dos inibidores de *checkpoint*. Lyon et al sugeriram em um estudo recente uma diminuição de 53% no risco de morte nos pacientes tratados cirurgicamente (Lyon et al. 2020). Por ser o sítio mais comum de metástases, a ressecção de lesões pulmonares são as mais realizadas, seguido das ressecções ósseas. Estas últimas agregando um maior potencial destrutivo e com piora da qualidade de vida. A melhor seleção desses pacientes envolve lesões solitárias ou oligometástases, pacientes sintomáticos, resistência aos tratamentos sistêmicos e/ou radioterápicos, um risco de complicações aceitável, além de um tempo livre de doença prolongado e um bom *performance status* (Psutka and Master 2018; Kato et al. 2019).

Por fim, um vasto caminho ainda há de se prosseguir no tratamento sistêmico do CCR não células claras. Pouco consenso existe sobre esse tema, em particular devido a menor prevalência, maior heterogeneidade e menor disponibilidade de drogas que visem alterações moleculares específicas. Há uma tendência para se preferir regimes terapêuticos envolvendo sunitinibe ou cabozantinibe, além de pembrolizumabe, nivolumabe, combinações de drogas ou a inclusão em estudos clínicos (Salgia et al. 2017; Motzer et al. 2020).

1.2 FATORES PROGNÓSTICOS NO CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIAS

1.2.1 Fatores anatômicos, clínicos e histopatológicos

A avaliação do prognóstico de uma doença possibilita uma maior capacidade de antecipar desfechos, uma melhor compreensão da biologia tumoral e, por fim, uma melhor orientação do tratamento a ser proposto.

Em 1958, Flocks e Kadesky propuseram o primeiro sistema de estadiamento descrito e utilizaram características anatômicas do tumor e a sua disseminação para linfonodos ou à distância (Flocks and Kadesky 1958). Posteriormente, Robson publicou sua classificação e ressaltou a importância prognóstica do estágio e grau tumoral (Robson et al. 1969).

De fato, os fatores relacionados ao tumor apresentam o maior impacto isolado na avaliação prognóstica, tais como estágio clínico (EC), tamanho tumoral, grau nuclear e subtipo histológico. Contudo, agrupar esses dados com parâmetros clínicos, demográficos e biomoleculares pode levar a uma melhor análise (Campbell et al. 2021).

Os fatores clínicos e demográficos são aqueles relacionados ao paciente. Dessa forma, o sexo feminino já foi descrito como estando relacionado com uma redução do risco de morte por câncer de 19% em comparação com o sexo masculino, contudo essa diferença não foi observada em mulheres com idade acima de 59 anos (Rampersaud et al. 2014).

Podemos incluir também como fatores clínicos algumas alterações laboratoriais, como anemia (< 13,0 g/dL em homens e < 11,5 g/dL em mulheres), trombocitose ($\geq 450.000/\text{mm}^3$), hipercalcemia (> 10 mg/dL), elevação de fosfatase alcalina, proteína C-reativa alterada, níveis de lactato desidrogenase (> 1,5 vez o valor normal), velocidade de hemossedimentação, nível de albumina e contagem de neutrófilos e linfócitos. Estes fatores estão presentes principalmente na doença avançada e, quando agrupados com o sistema de classificação de performance clínica de Karnofsky, formam-se os principais modelos de avaliação de risco da doença avançada (MSKCC - *Memorial Sloan Kettering Cancer Center* e IMDC - *International Metastatic RCC Database Consortium*) visualizados na **Tabela 2** (Motzer et al. 1999, 2002; Heng et al. 2009, 2013; Goebell et al. 2020).

Tabela 2 – Modelos de avaliação de risco no carcinoma de células renais avançado.

Fator de risco	IMDC	MSKCC
<i>Performance status</i> de Karnofsky < 80%	✓	✓
Tempo do diagnóstico ao tratamento < 1 ano	✓	✓
Concentração de hemoglobina < LSN	✓	✓
Concentração de cálcio > LSN	✓	
Cálcio corrigido > 10 mg/dL		✓
Contagem de neutrófilos > LSN	✓	
Contagem de plaquetas > LSN	✓	
Concentração de LDH > 1,5 vez o valor normal		✓

Avaliação	IMDC	MSKCC
Grupo de risco favorável	0 fator de risco	0 fator de risco
Grupo de risco intermediário	1 – 2 fatores de risco	1 – 2 fatores de risco
Grupo de risco ruim/desfavorável	≥ 3 fatores de risco	≥ 3 fatores de risco

Fonte: Adaptado de GOEBELL (2020).

Legenda: IMDC: *International Metastatic RCC Database Consortium*. LIN: Limite inferior da normalidade. LDH: Lactato desidrogenase. LSN: Limite superior da normalidade. MSKCC: *Memorial Sloan Kettering Cancer Center*.

Além do Karnofsky, o sistema de classificação ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) também é amplamente utilizado em pacientes oncológicos e seu impacto prognóstico em pacientes com CCR já foi demonstrado (Patard et al. 2004a; Shuch et al. 2008), assim como a classificação de risco anestésico da Sociedade Americana de Anestesiologistas (ASA, do inglês *American Society of Anesthesiologists*). Nosso grupo publicou estudos evidenciando que esta classificação foi um fator preditor independente para SG e sobrevida câncer-específica (SCE) no CCR. Desse modo, pacientes portadores de CCR, classificados como ASA 3, encontram-se em maior risco de progressão da doença e morte por câncer, além do maior risco de complicações cirúrgicas (de Cássio Zequi et al. 2010; Ferreira et al. 2013). Numa análise com 5670 pacientes não metastáticos provenientes do banco de dados do LARCG, a classificação de ASA ≥ 3 aumentou em mais de 48% o risco de morte global em análise multivariada (Zequi et al. 2019). Além disso, um outro estudo do LARCG envolvendo 530 pacientes metastáticos *de novo*, dentre os quais 511 haviam sido previamente nefrectomizados, propôs uma estratificação em grupos de risco para SG em 5 anos composta pela classificação de ASA, a presença de invasão da gordura perirrenal e a evidência de pelo menos dois sítios de metástases (Abreu et al. 2021).

Por fim, pacientes que apresentam sinais ou sintomas na apresentação também são impactados tanto em SG como SCE. Dentre as queixas, pode-se citar a hematúria macroscópica, dor lombar, massa palpável, síndromes paraneoplásicas, sintomas neurológicos, perda ponderal, fadiga ou varicocele de início agudo (Zequi et al. 2019).

Partindo para os fatores anatômicos, o sistema de estadiamento TNM para classificação das neoplasias malignas substituiu o anteriormente utilizado sistema de Robson, estando atualmente em sua oitava edição, conforme descrito no **Anexo 1** (Amin et al. 2017). Esse sistema descreve a extensão anatômica do tumor (T), o acometimento de linfonodos regionais (N) e a presença de metástases à distância (M).

As características nucleares representam um fator prognóstico independente nos subtipos células claras e papilífero (Fuhrman et al. 1982; Klatte et al. 2018; Delahunt et al. 2021). A classificação de grau nuclear é feita atualmente pelo sistema de graduação desenvolvido pela OMS e pela Sociedade Internacional de Patologia Urológica (ISUP, do inglês: *International Society of Urological Pathology*), sendo baseada nas características nucleolares e na presença de pleomorfismos e diferenciação sarcomatóide e/ou rabdóide (Delahunt et al. 2013). Essa classificação substituiu o clássico sistema de graduação de Fuhrman (Moch et al. 2016). Acrescenta-se aqui o fato de que, em pacientes com CCR do tipo cromóforo, nem o tamanho tumoral e nem o grau nuclear relacionaram-se com pior prognóstico em comparação com os casos de CCRcc (Steffens et al. 2014). Casos com variações histológicas, apresentando diferenciação sarcomatóide ou rabdóide, tendem a apresentar uma pior SCE (Deuker et al. 2020).

Com relação ao aspecto radiográfico, a identificação de um padrão de crescimento infiltrativo pode ter implicação prognóstica e demandar investigação diagnóstica para excluir outros tumores, como carcinoma urotelial, linfomas ou mesmo processos não neoplásicos. Os tipos de CCR que são exceção e costumam ter esse padrão infiltrativo são as variantes sarcomatóide e o carcinoma de ducto coletor. Por outro lado, lesões císticas associam-se com um melhor prognóstico comparadas aos tumores puramente sólidos (Campbell et al. 2021).

Finalmente, uma série de características histopatológicas macroscópicas e/ou microscópicas já foram descritas como tendo impacto no prognóstico do paciente com CCR. Assim, a invasão de cápsula renal, seio renal ou de sistema coletor é encontrada em cerca de 20% dos casos e representam um comportamento agressivo da lesão. Uma característica marcante do CCR é sua predileção por apresentar um envolvimento do sistema venoso (cerca de 10% dos casos) (Schefft et al. 1978). Os trombos tumorais podem estar presentes na veia renal, estenderem-se até veia cava, ou mesmo até átrio direito. Quando o trombo compromete a parede da veia, isso está relacionado com um pior prognóstico e já foi mencionado previamente, nesta seção, como parte da descrição do sistema de estadiamento TNM (Schefft et al. 1978; Zini et al. 2008; Haddad et al. 2014).

Embora pacientes com infiltração de gordura perirrenal ou com invasão de gordura do seio renal sejam agrupados no mesmo estágio tumoral (pT3a), existem evidências que sugerem diferenças prognósticas para esses casos. Em um estudo, a combinação dessas duas características patológicas representou um fator prognóstico desfavorável para desfecho e

maior associação de doença metastática. Enquanto a SCE em 5 anos foi de 64,6% e 63,3% nos grupos apenas com infiltração de gordura perirrenal e apenas infiltração do seio renal, respectivamente, essa mesma taxa foi de apenas 31% em casos com a combinação desses fatores (Bedke et al. 2009). Esses achados também foram observados pelo grupo do LARCG, onde o acometimento concomitante da gordura perirrenal e do seio renal levou a pior SCE (HR = 4,5) e maior risco de recidiva local (HR = 8,08) e sistêmica (HR = 2,42), tendo como referência pacientes com acometimento isolado da veia renal (García Marchiñena et al. 2019). Acrescenta-se ainda um estudo de nosso grupo, que avaliou 220 pacientes tratados entre 1992 e 2009, evidenciando que a presença de invasão de gordura perirrenal concomitante à invasão de veia renal apresentou um risco 2,6 vezes maior de morte por câncer e 2,5 vezes maior de progressão comparado aos pacientes com somente um desses fatores presentes (da Costa et al. 2012a).

Com o crescente aumento das técnicas com preservação de parênquima renal, houve também o aumento das discussões sobre as margens cirúrgicas da lesão. De fato, muitos desses pacientes com margens positivas não apresentam recorrência da doença e nem necessitam de tratamentos adicionais, particularmente lesões T1 (Lam et al. 2008; Kang et al. 2016). Contudo, uma maior preocupação com as margens cirúrgicas existe em pacientes de alto risco, como aqueles pT2 – pT3a ou com alto grau nuclear (Shah et al. 2016).

Um estudo utilizando o banco de dados do LARCG, envolvendo 28 centros de oito países, descreveu ainda impacto prognóstico em outras variáveis histopatológicas, como a presença de necrose tumoral (SG 10 anos de 54,4% e SCE 10 anos de 67,9% nos casos com necrose), presença de invasão microvascular (SG 10 anos de 56,6% e SCE 10 anos de 65,9%), além de invasão da pelve renal, invasão venosa e acometimento da glândula adrenal. Nesta análise, as margens cirúrgicas comprometidas representaram uma redução da SCE em 10 anos em torno de 10% em comparação com os casos com margens livres, mas não se manteve como fator de risco independente em uma análise multivariada (Zequi et al. 2019).

1.2.2 Nomogramas prognósticos no carcinoma de células renais

Modelos matemáticos multifatoriais vem sendo desenvolvidos nos últimos anos com o objetivo de servirem como ferramentas prognósticas, estratificando os pacientes em categorias de risco.

Os principais algoritmos para uso em pacientes com CCR não metastático incluem o escore SSIGN (*Stage, Size, Grade, and Necrosis*) da *Mayo Clinic*, o nomograma de Kattan do *MSKCC* e o sistema de estadiamento integrado da UCLA (Universidade da Califórnia em Los Angeles, do inglês: *University of California, Los Angeles*), chamado UISS (*UCLA Integrated Staging System for renal cell carcinoma*) (Kattan et al. 2001; Frank et al. 2002; Zisman et al. 2002). O estágio TNM está presente nesses nomogramas, além de variáveis como grau nuclear, tamanho tumoral, presença de sinais ou sintomas, *performance status* e presença de necrose tumoral. Os nomogramas mencionados estão descritos no **Anexo 2** desta tese.

Por fim, mais recentemente, foi validado um escore prognóstico de sobrevida livre de doença denominado GRANT (*Grade, Age, Nodes, and Tumor*), que utilizou uma grande população de pacientes com CCR do ensaio clínico ASSURE, envolvendo terapia adjuvante no câncer renal não metastático (Buti et al. 2017).

O escore UISS relaciona-se com a sobrevida livre de doença em 5 anos. Esse escore possui uma classificação para doença localizada e uma para doença metastática. Na doença localizada são avaliados o estágio T, o grau nuclear de Fuhrman e o ECOG *performance status*. Já na doença metastática são avaliados os estádios N e M, ao invés do estágio T. Analisando a SG e a SCE em 5 anos, encontra-se, no CCR não metastático, taxas de 83,8% e 91,1% no baixo risco, 71,9% e 80,4% no risco intermediário, 44% e 54,7% no grupo de alto risco, respectivamente (Galfano et al. 2008).

No que diz respeito ao nomograma de Kattan, este foi desenvolvido com o intuito de prever apenas sobrevida livre de recorrência em pacientes submetidos a tratamento cirúrgico. Dentre suas variáveis, o estágio patológico utilizado foi o do TNM de 1997, além de subtipo histológico, sintomatologia e tamanho tumoral (Galfano et al. 2008).

O escore SSIGN foi proposto originalmente com o intuito de prever SCE em CCRcc submetidos à NR. Foram descritas dez categorias, com diferentes taxas de SCE em 10 anos. Posteriormente, o algoritmo foi atualizado para estimar sobrevida livre de doença em pacientes com CCR não metastático, sendo também atualizada para a versão do sistema TNM de 2002. Agrupando as diferentes categorias, os autores propuseram estratificar os pacientes em baixo risco (escores 0 – 2), risco intermediário (escores 3 – 5) e alto risco de progressão (escores ≥ 6) (Galfano et al. 2008). Mais recentemente, uma análise retrospectiva demonstrou que essa ferramenta permanece útil em pacientes com longo tempo de seguimento acima de

20 anos, além de manter sua capacidade preditiva em séries contemporâneas de pacientes submetidos a NR ou NP (Parker et al. 2017).

1.2.3 Fatores biomoleculares

A capacidade de identificar genes ou proteínas associadas com cânceres mais ou menos agressivos levaria a uma melhor capacidade de se avaliar prognóstico, bem como a um tratamento mais individualizado. Já foi sugerido uma série de potenciais marcadores moleculares com impacto em desfechos oncológicos. No entanto, o uso rotineiro desses marcadores não é aplicado na prática clínica atual. Os principais achados da rede de pesquisa do Atlas do Genoma do Câncer (TCGA, do inglês: *The Cancer Genome Atlas*), envolvendo a caracterização molecular do CCRcc, incluíram a identificação de alterações nos genes relacionados com as proteínas VHL, PBRM1, BAP1 e SETD2 (Campbell et al. 2021).

Além de ocorrerem alterações do gene VHL em síndromes familiares, a maioria dos tumores esporádicos também está relacionada com a perda de função desse gene. No entanto, a sua alteração isolada não é capaz de iniciar a carcinogênese. Já foi sugerido que determinadas alterações no gene VHL (*locus* 3p25-p26) poderiam estar relacionadas com algumas variáveis clínicas, como perda de heterozigosidade e associação com grau nuclear, envolvimento linfonodal e necrose tumoral, ou detecção de mutação e relação com sexo, assim como hipermetilação e relação com o grau. No entanto, não foi possível determinar um efeito prognóstico causado por essas alterações específicas (Young et al. 2009).

Ainda com relação aos estudos de prognóstico envolvendo alterações do VHL, Patard et al avaliaram o papel da mutação do gene VHL e da expressão imuno-histoquímica da anidrase carbônica do tipo IX (AC-IX) em 100 pacientes submetidos a tratamento cirúrgico. Nesse estudo, a ausência de mutações do VHL e a baixa expressão de AC-IX estavam associados com doença avançada e presença de metástases. Em análise multivariada, apenas a expressão de AC-IX caracterizou-se como fator prognóstico independente (Patard et al. 2008). Nosso grupo avaliou previamente o *status* mutacional do gene VHL e seu impacto clínico em portadores de CCRcc esporádico. Nesse estudo, a expressão da proteína VHL esteve presente em 80% dos casos e não se associou com dados clínicos ou de sobrevida. Já a mutação gênica foi descrita em 57% da amostra, mostrando uma não concordância com a expressão da proteína. Apenas mutações do tipo *nonsense* (5% dos casos) pareceram se associar com pior prognóstico (Alves et al. 2014).

A AC-IX parece ter um papel na regulação do pH intra- e extracelular durante períodos de hipóxia nas células tumorais. Já foi descrito que cerca de 94% das células de CCRcc coram positivamente para AC-IX. Quando ocorre uma baixa expressão desse marcador, há uma associação com pior taxa de sobrevida e menor resposta à imunoterapia com IL-2 no CCRm (Bui et al. 2004; Atkins et al. 2005; Downs et al. 2009). Em pacientes com baixa expressão de AC-IX, a alta expressão de Ki67, uma proteína que reflete a velocidade de multiplicação celular, foi um preditor independente de pior sobrevida quando associados (Bui et al. 2004). No entanto, fazendo um contraponto a esse dado, a análise imuno-histoquímica do marcador MIB-1/Ki-67 foi feita em pacientes com CCRcc localizado em nosso grupo, não se encontrando associação com recidiva ou morte por câncer (Zequi 2000).

Dentre as alterações de outros genes identificadas com maior frequência no CCR, pode-se citar mutações de PBRM1 (até 41%), SETD2 (até 12%) e BAP1 (até 11% dos casos), além de outros. Estes três genes também estão localizados no braço curto do cromossomo 3 (Morris and Latif 2017).

A proteína BAF180, codificada pelo gene PBRM1, é uma das subunidades do complexo de remodelamento da cromatina SWI/SNF, promovendo a mobilização de histonas da cromatina. Este complexo apresenta características de supressor tumoral, de modo que mutações nas suas subunidades têm associação também com outros cânceres. Nosso grupo analisou previamente a expressão imuno-histoquímica do PBRM1 em tecido renal neoplásico, evidenciando que a ausência de expressão desse marcador associou-se com pior estágio tumoral, além de pior SCE e pior sobrevida livre de recorrência (SLR) (da Costa et al. 2014). Outros autores também divulgaram resultados semelhantes relacionados com agressividade tumoral e a ausência de expressão desse gene (Pawłowski et al. 2013; Joseph et al. 2016).

O gene BAP1 codifica a proteína-1 associada ao BRCA-1, a qual funciona como enzima desubiquitinante, regulando múltiplas vias celulares relacionadas com a tumorigênese. Em dois estudos recentes, da Costa et al. publicaram que a perda de expressão imuno-histoquímica do BAP1 em tecido tumoral metastático – oriundo de metastasectomia ou biópsia – demonstrou piores taxas de sobrevida. Além disso, mesmo tumores com estágios mais precoces (EC I ou II), que apresentavam perda de expressão concomitante do PBRM1 e do BAP1, apresentavam maior risco de recorrência e morte por câncer (da Costa et al. 2018, 2019).

Nessa mesma linha, a expressão de SETD2 foi analisada em 662 casos de CCRcc e sugeriu ser um preditor independente de SCE e SG em 10 anos nesses pacientes, com um aumento do risco em mais de 60%. O SETD2 é considerado um gene supressor tumoral relacionado com diferentes tipos de câncer, estando também situado no cromossomo 3p (Santos et al. 2021). Seu papel como biomarcador prognóstico também foi sugerido na doença metastática, particularmente no subtipo CCRcc em pacientes no grupo de risco intermediário pelos critérios do IMDC (Wang et al. 2016).

Outros genes também são implicados no prognóstico do CCR, tais como os genes remodeladores de cromatina EZH2 e o KDM5C, além dos genes de reparo do DNA MET, TERT, NF2, SMARCB1 e TFE3, e de genes relacionados com a via de sinalização mTOR, como o gene supressor de tumor PTEN e o próprio gene MTOR (Morris and Latif 2017; Mitchell et al. 2018; Dizman et al. 2020). Este campo de pesquisas é vasto e resultados muitas vezes contraditórios não são incomuns. Com relação ao gene PTEN, por exemplo, nosso grupo analisou 53 casos, com o achado de deleção em 40% da amostra. Não foi evidenciada relação com piores taxas de sobrevida e nem com fatores de mau prognóstico (Campos et al. 2013).

Os microRNAs (miRNAs) representam uma classe de RNAs não codificadores, com cerca de 22 nucleotídeos e que têm papel em vários processos biológicos. Sua desregulação pode levar a alterações na expressão gênica e no desenvolvimento de neoplasias. Em estudo nacional, a expressão de miRNAs envolvidos com a angiogênese (miR-99a, 99b, 100; 199th; 106a; 106b; 29a; 29b; 126; 200b) foram analisados por RT-PCR em amostras de CCRcc. miR-99a, miR-106a e miR-106b estavam superexpressos na maioria das amostras. Apenas a expressão de miR-200b associou-se com tumores de alto risco, enquanto a superexpressão de miR-126 associou-se com baixo grau nuclear de Fuhrman (Oliveira et al. 2017).

Mutações no gene supressor de tumor TP53 são associadas a uma série de cânceres. Seus efeitos na evolução do CCR ainda não estão determinados. Em uma análise de dados do TCGA, mutações nesse gene associaram-se com tempo de sobrevida no CCRcc e no subtipo papilífero, além de tempo de sobrevida livre de doença no CCR cromóforo (Li et al. 2019). Morshaeuser et al realizaram uma validação externa de um painel com múltiplos marcadores moleculares, evidenciando um ponto de corte de 20% na expressão da proteína p53 com impacto em progressão da doença e na mortalidade câncer-específica (Morshaeuser et al. 2018). A hiperexpressão de p53 também se associou com pior prognóstico em outros estudos (Girgin et al. 2001; Noon et al. 2010; Wang et al. 2017).

Nosso grupo vem se dedicando nas últimas décadas a estudar potenciais biomarcadores relacionados com o CCR. Essa linha de pesquisa considera o rim como um órgão endócrino, de modo que as proteínas produzidas no córtex renal podem nos auxiliar a melhor entender a carcinogênese e o prognóstico das diferentes apresentações do câncer renal.

Em estudo realizado em nossa instituição, os marcadores de células-tronco CD44 e CD133 foram avaliados isoladamente por meio da expressão imuno-histoquímica em uma população de pacientes com CCRcc submetidos a tratamento cirúrgico. A baixa expressão de CD133 mostrou ser um preditor independente de SCE e de sobrevida livre de progressão. Já a glicoproteína CD44, embora tenha tido sua hiperexpressão associada a estágio e grau nuclear, não foi demonstrado implicação em sobrevida (Costa et al. 2012; da Costa et al. 2012b). Contudo, por ser um tema ainda sob debate, uma metanálise prévia evidenciou uma relação entre a hiperexpressão de CD44 e pior SG, SCE e sobrevida livre de doença. Já a expressão de CD133 foi um fator protetor para SCE (Cheng et al. 2016).

Uma tese de doutorado feita em nossa instituição analisou uma série de marcadores por meio de expressão imuno-histoquímica. Dentre eles, as metaloproteinases de matriz extracelular, um conjunto de enzimas relacionadas à digestão da membrana basal e que podem estar relacionadas aos mecanismos de metastatização, associaram-se com alguns fatores de mau prognóstico, mas permaneceram como controversos neste estudo. Já as sintases do óxido nítrico (NOS, do inglês: *nitric oxide synthase*), responsáveis por mediar a produção do óxido nítrico, estão relacionadas com uma série de tumores. Neste estudo, particularmente a NOS-3, teve seu valor prognóstico demonstrado ao se associar com pior SG, além de maior tamanho tumoral (Zequi 2008; Cássio Zequi et al. 2013).

A via da apoptose celular demanda a ativação de caspases iniciadoras e efetoras. A falta de expressão dessas proteínas pode resultar em comprometimento dos sinais que levam à morte celular, permitindo o crescimento descontrolado de células neoplásicas. Vilella-Arias et al investigaram o papel da perda de expressão da caspase 7, uma caspase efetora, na agressividade de tumores renais. Tecidos tumorais demonstraram menor expressão desse marcador, além de associar-se com pior SCE e maior taxa de recidiva em casos sem expressão dessa caspase (Vilella-Arias et al. 2013).

Como já comentado na sessão sobre o tratamento do CCR, a inibição do *checkpoint* imunológico vem ganhando um grande destaque no tratamento da doença sistêmica, bem

como no potencial papel adjuvante de agentes como anti-PD1, anti-PD-L1 ou anti-CTLA-4. O valor prognóstico da expressão de PD-1 e PD-L1 foi avaliada em estudo com mais de 700 casos. A positividade desses marcadores associou-se com maior estágio tumoral, necrose e invasão linfovascular. Além disso, a expressão de PD-L1 foi um preditor independente de pior SLR, podendo representar uma ferramenta para melhor estratificação de pacientes a serem submetidos a adjuvância (Chipollini et al. 2019).

Dentre os reguladores do ciclo celular envolvidos no desenvolvimento do câncer, a ciclina D1 é um dos mais prevalentes e já observada sua hiperexpressão em vários tumores. No caso do CCR, um estudo nacional avaliou 109 espécimes tumorais e demonstrou que a baixa expressão (até 30% de células positivas) associou-se com pior desfecho clínico e características de mau prognóstico, como alto grau nuclear, maior tamanho tumoral, necrose e padrão sarcomatóide (Lima et al. 2014).

Outros grupos também têm se dedicado à investigação de potenciais biomarcadores de prognóstico do CCR. Kovacs et al analisaram o papel da β -catenina, uma proteína envolvida em diversas vias de sinalização celular, atuando principalmente como fator de transcrição e como proteína relacionada à aderência celular. Os autores descreveram que a expressão desse marcador estaria relacionado com um risco quatro vezes maior de morte por câncer (Kovacs et al. 2017).

Por fim, Ferreira et al (2017) e de Almeida e Paula et al (2019) fizeram contribuições ao entendimento dos possíveis biomarcadores envolvidos no CCR. O primeiro evidenciou que a ausência de expressão tumoral da eritropoietina (EPO) foi um fator preditivo independente no prognóstico do CCR. Já o segundo, encontrou que a ausência de expressão intratumoral de renina (REN) associou-se com tumores de alto grau, invasão vascular venosa e se mostrou um fator prognóstico desfavorável de sobrevida livre de doença em uma análise multivariada (Ferreira et al. 2017; de Almeida e Paula et al. 2019). Mais informações sobre esses marcadores serão dadas nas próximas sessões.

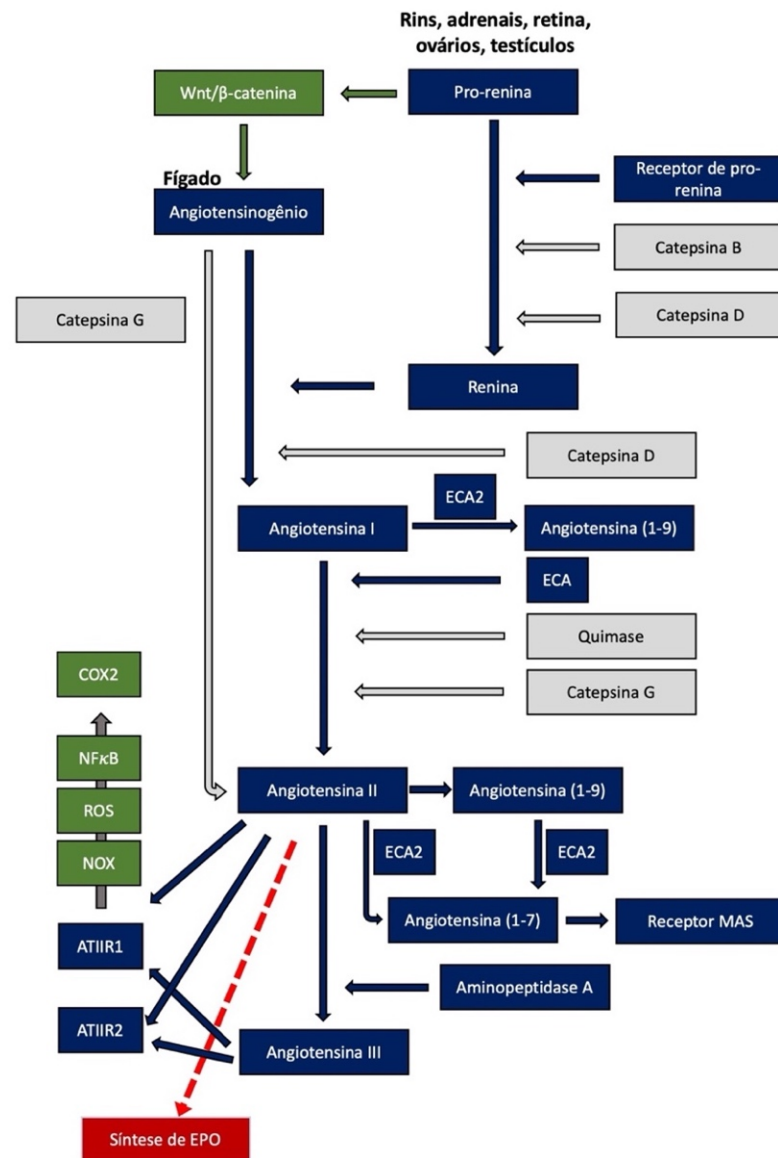
1.3 O SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA

O sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) é um sistema baseado em peptídeos, reconhecido por ser o principal determinante da pressão arterial e do balanço hidroeletrólítico. A via clássica inicia-se com o angiotensinogênio, produzido e liberado pelo

fígado, que é clivado pela protease REN em angiotensina I. A REN é liberada pelos rins em resposta à baixa pressão arterial ou ao baixo sódio sérico. Na sequência, a angiotensina I é processada pela enzima conversora de angiotensina (ECA), expressa pelas células endoteliais pulmonares, para a produção de angiotensina II. Nessa mesma etapa, a enzima ECA2, um homólogo da ECA, converte as angiotensinas I e II em angiotensina 1-7, um fragmento peptídico que funciona através do seu receptor MAS (MASR), antagonizando as ações cardiovasculares da angiotensina II. Posteriormente, a angiotensina II pode ser processada pelas aminopeptidases A e N para produzir angiotensina III e angiotensina IV (Ang3-8), respectivamente. Esta última, liga-se ao receptor aminopeptidase regulado por insulina, também chamado de AT4R, mediando cognição, memória e efeitos cardiovasculares (George et al. 2010). A **Figura 2** ilustra o SRAA com suas vias de sinalização principais.

As vias de sinalização alternativas, para produção de angiotensina, utilizam quimase e enzima geradora de angiotensina II sensível a quimostatina (CAGE, do inglês: *chymostatin-sensitive angiotensin II-generating enzyme*). As angiotensinas II e III ligam-se a seus receptores de angiotensina para iniciar variadas respostas biológicas. Como exemplo, a angiotensina II promove vasoconstrição, aumenta a aldosterona plasmática, retém sódio e água, além de aumentar a sede e o apetite por sal (George et al. 2010).

A maioria das ações da angiotensina II envolve a ativação do receptor tipo 1 de angiotensina. Este receptor, quando ativado, pode também acoplar-se a receptores de tirosina quinase conhecidos como MAPKs e à via Jak-STAT, gerando espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês: *reactive oxygen species*) e modulando vários canais iônicos. Os mecanismos de ligação desse receptor às vias relacionadas com a tirosina quinase podem envolver a síntese *de novo* de citocinas e de ligantes de fatores de crescimento pelas células, como o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR, do inglês: *epidermal growth factor receptor*) (Yin et al. 2003; Oro et al. 2007).



Fonte: Adaptado de ROTH et al (2019).

Legenda: Em azul está demonstrado a via clássica, que regula a pressão arterial. Vias alternativas envolvem enzimas como a quimase e as catepsinas B, D e G (cinza). Pro-renina induz a sinalização de Wnt/ β -catenina por meio de uma alça de retroalimentação. AT1R1 pode resultar na ativação de uma via inflamatória por meio do eixo NOX (óxido nítrico) – ROS (espécies reativas de oxigênio) – NF κ B - COX2 (verde). Em um ambiente de hipoxemia, com um estímulo à revascularização e angiogênese, ocorre uma maior síntese de EPO que pode ser induzida pelo SRA (vermelho). AT1R1(ou II): receptor tipo 1 (ou tipo 2) da angiotensina II; ECA: enzima conversora de angiotensina.

Figura 2 – Representação do sistema renina-angiotensina com suas vias sinalização alternativas e convergentes.

O SRAA atinge uma série de processos homeostáticos e modulatórios que vão muito além das suas ações no coração, na musculatura lisa vascular, rins, adrenais e cérebro. Suas ações também se estendem para processos de hipertrofia, hiperplasia, fibrose e remodelamento, além de angiogênese, respostas pró-inflamatórias, diferenciação celular, programação de células-tronco e hematopoiese (Kranzhöfer et al. 1999; Aplin et al. 2009; Hoch et al. 2009; George et al. 2010).

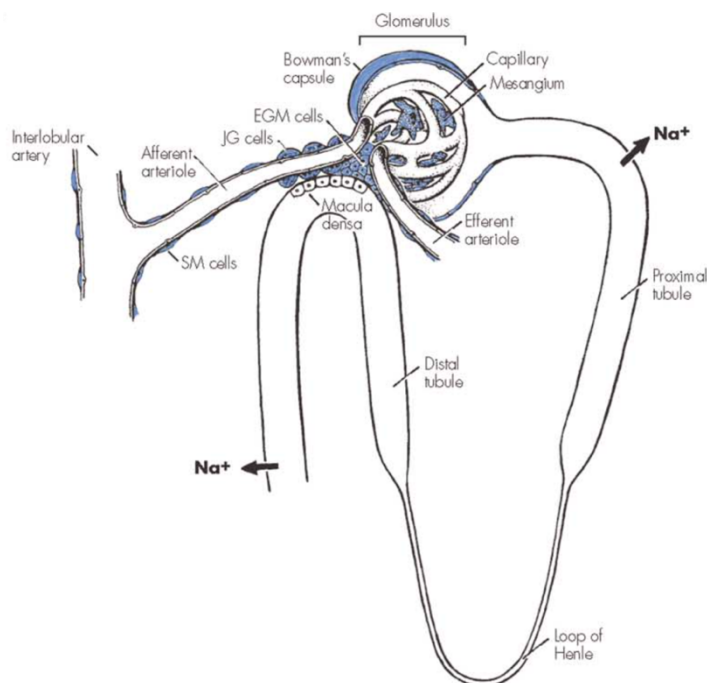
Outros mecanismos alternativos de ativação dessa via envolvem proteinases como as catepsinas B, D e G, além de vias inflamatórias e de sinalização de Wnt/ β -catenina. Alguns estudos indicam que moléculas, como a catepsina D (CTSD), ao gerar alternativamente angiotensina II, manifestam um aumento da atividade pró-inflamatória (Hackenthal et al. 1978; Li et al. 2020).

1.3.1 A renina

A REN, também conhecida como angiotensinogenase, tem expressão no desenvolvimento de artérias intrarrenais e uma maior produção junto à porção final da arteríola aferente. Contudo, alterações regulatórias podem estar relacionadas com recrutamento da expressão da REN em outras porções das arteríolas renais (Sequeira López et al. 2004; Sauter et al. 2008). A REN é um dos componentes-chave da ativação da via clássica do SRAA, cujo papel se dá particularmente na manutenção da homeostase do sistema cardiovascular, regulando a pressão arterial e o balanço hídrico (Roth et al. 2019).

No adulto, a região formada pela porção final da arteríola aferente, início da arteríola eferente, células da mácula densa no túbulo contorcido distal e pelo mesângio extraglomerular, formam o chamado aparelho justaglomerular, onde ocorre a produção de REN, como demonstrado na **Figura 3**.

Durante o desenvolvimento do néfron adulto, a REN expressa-se de modo generalizado em toda a região das artérias intrarrenais, tornando-se depois restrita às células granulares do aparelho justaglomerular. Dependendo da demanda funcional, essa expressão pode novamente estender-se para regiões vasculares mais proximais (Sequeira López et al. 2004).



Fonte: Adaptado de SEQUEIRA LÓPEZ et al. (2004).

Legenda: Os néfrons são formados pelo corpúsculo renal, que é constituído pelo glomérulo e pela cápsula de Bowman, além dos túbulos renais (túbulos contorcidos proximal e distal, alça de Henle e ductos coletores) e de um componente vascular, que abrange o aparelho justaglomerular. As células justaglomerulares (*JG cells*) liberam renina em resposta aos estímulos sistêmicos e das células adjacentes. A coloração azul indica as células que expressam renina do início da vida. EGM: mesângio extraglomerular (do inglês: *extraglomerular mesangium*).

Figura 3 – Desenho esquemático de um néfron adulto.

Há décadas, identificou-se que o CCR pode comumente secretar REN, sem no entanto representar uma forma biologicamente ativa (Lindop and Fleming 1984). A expressão imunohistoquímica da REN foi analisada previamente em uma amostra de 89 casos de neoplasias renais. Dentre os subtipos histológicos, os oncocitomas apresentaram maior percentual de casos com expressão desse marcador (61,5%), seguido do CCR cromóforo (31,6%). Não foi encontrada relação da expressão de REN com presença de HAS em nenhum desses grupos e a ressecção das lesões que expressavam REN não levou à diminuição dos níveis pressóricos (Arias et al. 2010).

Recentemente, um estudo de nossa instituição demonstrou que a expressão imunohistoquímica da REN é maior em tecido renal não neoplásico, em comparação com células de CCRcc, o que pode estar relacionado com os desbalanços regulatórios presentes nas células tumorais e que poderiam interferir com o recrutamento de expressão da REN. Além da

associação da baixa expressão de REN com características patológicas desfavoráveis, foi demonstrado, tanto na análise univariada como na multivariada, um impacto na sobrevida livre de doença em 10 anos (de Almeida e Paula et al. 2019).

1.3.2 As catepsinas

As catepsinas representam uma família de proteases que são encontradas em todos os tipos de células. Sua ativação se dá particularmente sob o pH ácido de lisossomos. Altos níveis de catepsinas podem ser evidenciados em tecidos que apresentam uma alta taxa de *turnover* proteico, como é o caso dos rins e fígado, por exemplo. Até o momento, já foram identificados quinze tipos diferentes, distribuídos tanto no espaço intra como no extracelular e divididos em proteases de serina (A e G), proteases de cisteína (B, C, F, H, K, L, O, S, V, W e X) e proteases de ácido aspártico (D e E) (Chen et al. 2017).

Especificamente, a catepsina D (CTSD) é uma enzima lisossomal intracelular ubíqua, que é considerada responsável pela degradação proteica intracelular, degradando colágenos e proteoglicanos e que apresenta uma baixa atividade em tecidos com pH acima de 6,0 (Hackenthal et al. 1978). Estudos mostram que uma de suas funções biológicas é a de formação de angiotensina I, funcionando como uma enzima *renina-like* na via alternativa do eixo do SRAA, em órgãos como o cérebro, útero e disco intervertebral (Morris and Reid 1978; Genest et al. 1983; Li et al. 2020). Além disso, seus níveis em alguns locais, como o fígado e nas articulações, podem predizer grau de inflamação local (Walenbergh et al. 2015). Uma diferença biológica marcante da ação da CTSD com a REN é que, esta última, é ativa em tecidos com pH em torno de 7,0, diferente da CTSD (Morris and Reid 1978).

No cenário da oncologia, a CTSD é altamente expressa em células tumorais de câncer de mama, em receptores de estrogênio, estando inclusive envolvida com a progressão para metástases e pior SLR e SG no câncer de mama sem doença linfonodal (Spyratos et al. 1989; Rochefort et al. 1990; Tandon et al. 1990). Além disso, sua expressão gênica pode ser induzida por fatores de crescimento, como o IGF-I, o fator de crescimento transformador- α (TGF α) e o fator de crescimento epidérmico (EGF) (Wang et al. 2000).

A atividade aumentada da CTSD também mostrou ser um fator relacionado com a progressão mais precoce do câncer colorretal (Tumminello et al. 1995). Uma outra hipótese que foi proposta é a de que altos níveis plasmáticos de CTSD em pacientes cirróticos podem representar um preditor de malignização para carcinoma hepático (Brouillet et al. 1991).

Ainda relacionado a este marcador, sua alta expressão em lesões cutâneas pré-neoplásicas associou-se, em estudos prévios, com o desenvolvimento de melanoma (Podhajcer et al. 1995), assim como também foi demonstrado uma relação com o grau nuclear e a proporção de aneuploidia em amostras de biópsias prostáticas positivas, mas os resultados não conseguiram comprovar ser um fator prognóstico independente (Ross et al. 1995).

Diversos outros estudos relataram associação dos níveis de CTSD com tamanho, grau e agressividade tumoral em outras neoplasias, como neuroblastoma, glioma, câncer de endométrio, tumores de cabeça e pescoço, pâncreas, pulmão, bexiga e estômago. Um conflito existente é o de que não existe padronização nas técnicas de mensuração desse marcador, de modo que mais de uma forma de CTSD coexiste simultaneamente no ambiente das células tumorais, como a pró-catepsina D, a CTSD intermediária enzimaticamente e as formas de cadeia leve e pesada (Benes et al. 2008). O mecanismo proposto para a relação da CTSD com a progressão do câncer está exposto na **Figura 4**.

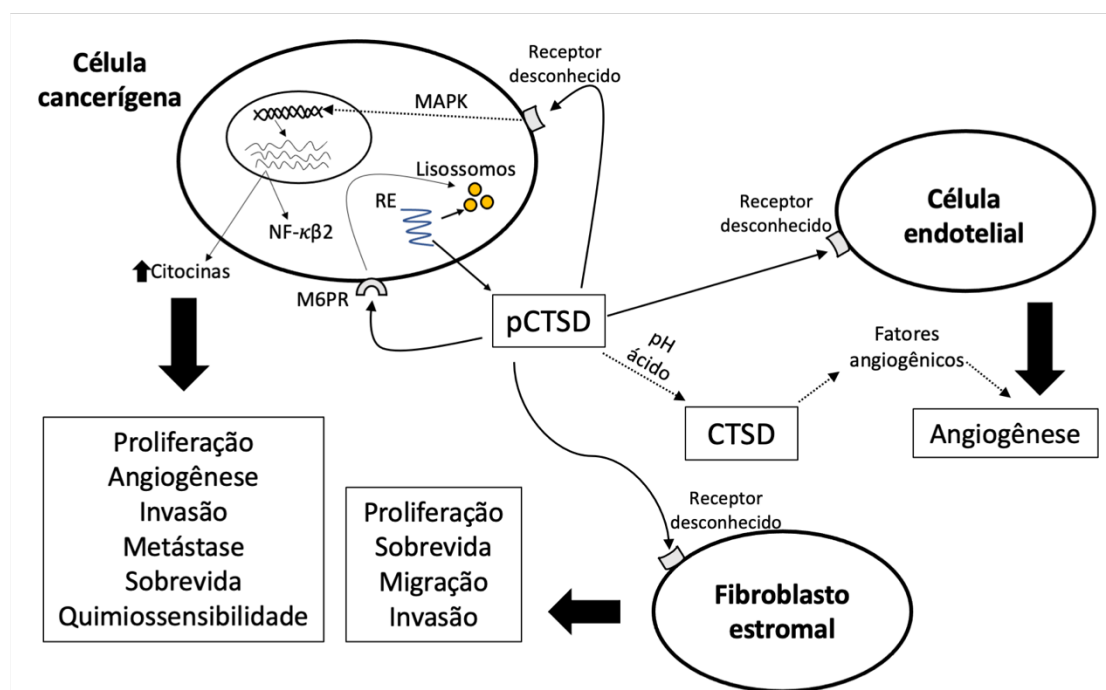
Por outro lado, já foi proposto que a CTSD pode mediar a morte celular programada através de várias citocinas. Sua superexpressão foi responsável por induzir morte celular na ausência de estímulos externos, sendo um mediador positivo da apoptose (Deiss et al. 1996).

Ao realizar a relação de outras catepsinas com neoplasias humanas, uma série de estudos já foram publicados no passado, como por exemplo a associação dos níveis séricos de catepsina B com o estágio avançado do câncer gástrico (Ebert et al. 2005) e com outros cânceres do trato digestório em combinação com outras catepsinas (Chen et al. 2017). Por fim, a expressão das catepsinas B, D e G, previamente mencionadas como pertencentes às vias alternativas de ativação do SRAA, têm expressão aumentada em células-tronco tumorais de meningioma, de metástases hepáticas de carcinoma colorretal, de glioblastoma, de carcinoma espinocelular de língua, bem como um papel no desenvolvimento do hemangioma infantil (Featherston et al. 2017; Koh et al. 2017; Mehrotra et al. 2018; Chen et al. 2019; Rahman et al. 2019). Mais informações sobre a associação do SRAA com o câncer serão descritas na próxima sessão.

A associação da expressão da CTSD com o CCR foi escassamente estudada por Merseburger et al. em dois estudos distintos. Inicialmente, 176 amostras tumorais foram investigadas, evidenciando que a expressão imuno-histoquímica se associou negativamente com potencial metastático e sobrevida em longo prazo, sendo que sua expressão foi mais encontrada em tecido tumoral do que em tecido renal sadio. Posteriormente, o mesmo grupo

avaliou a relação dos níveis séricos desse marcador, não sendo encontradas diferenças significativas em indivíduos saudáveis e nenhuma associação com as características tumorais (Merseburger et al. 2005, 2007).

Ainda sobre essa associação, um estudo do Reino Unido conseguiu encontrar um potencial papel dos níveis de CTSD urinária pré-operatória como fator prognóstico relacionado a SG em pacientes com CCR, embora os autores tenham reconhecido o limitado poder estatístico dos seus resultados (Vasudev et al. 2009).



Fonte: Adaptado de BENES et al. (2008).

Legenda: A catepsina D (CTSD) é sintetizada no retículo endoplasmático (RE) como pré-procatepsina D, sendo clivada posteriormente em pró-catepsina D (pCTSD), que é direcionada para os lisossomos intracelulares. Nas células cancerígenas, a pCTSD é superexpressa e secretada, sendo uma pequena parte endocitada via M6PR, enquanto a maior parte é reconhecida por um receptor de superfície ainda não identificado. Essa interação ativa a via MAPK, que resulta na expressão de genes promotores, incluindo citocinas e NF-κβ2, o qual estimula o crescimento e invasão tumoral. A pCTSD também é capturada pelas células estromais e promove proliferação de fibroblastos, invasão e progressão do câncer. Outra ação é a de promover angiogênese pelas células endoteliais.

Figura 4 – Mecanismo proposto da função da pCTSD/CTSD na progressão do câncer.

1.3.3 O sistema renina-angiotensina-aldosterona e o câncer

Vários dados de estudos clínicos e experimentais demonstraram que alterações na regulação do SRAA são frequentes em várias neoplasias e estão relacionadas com pior

prognóstico. Além disso, modelos experimentais sugerem que o antagonismo do SRAA pode suprimir o crescimento tumoral e a angiogênese (George et al. 2010).

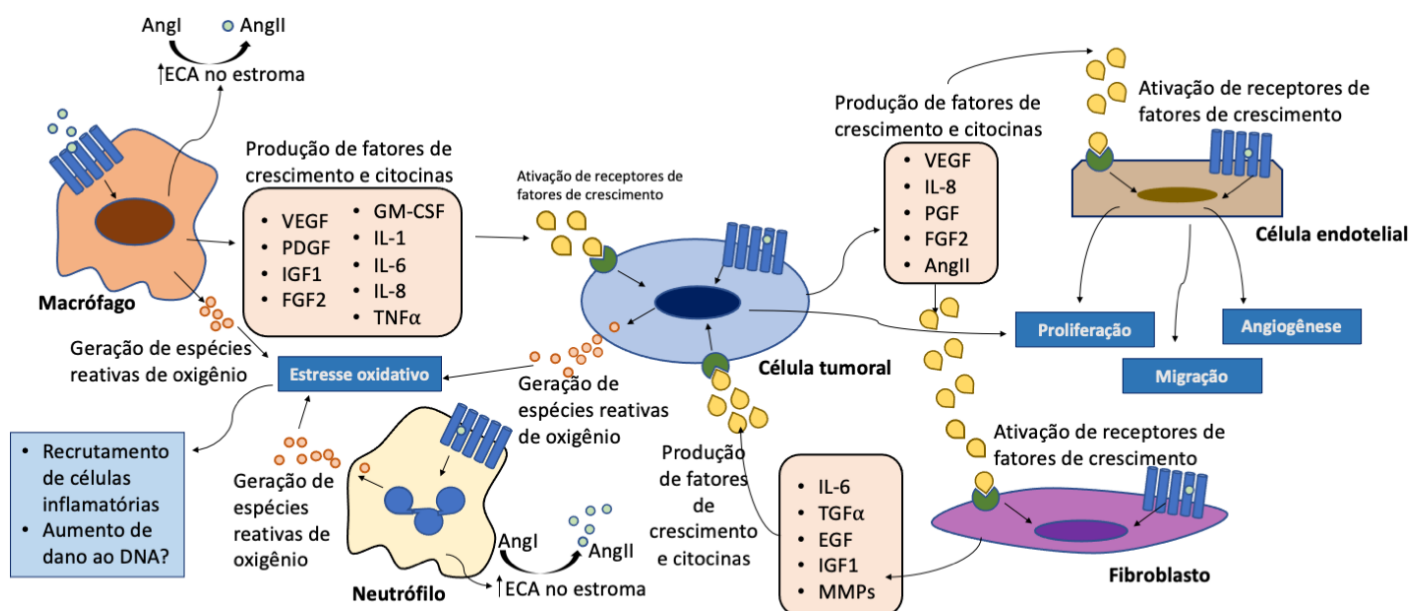
Um dos estudos clássicos que mostraram a relação do SRAA com o risco de câncer é o de Lever et al, um estudo de coorte retrospectivo com mais de 5000 pacientes na Escócia. Neste estudo, usuários de inibidores de ECA ou de bloqueadores do receptor de angiotensina tiveram uma redução na incidência de câncer em torno de 35%, comparado com usuários de outras drogas anti-hipertensivas, particularmente mulheres (Lever et al. 1998).

Um estudo experimental, utilizando um modelo murino, sugeriu que o eixo angiotensina II/receptor tipo 1 de angiotensina exerceria um papel importante no potencial de progressão e metástase do CCR. Nesse estudo, animais que receberam drogas bloqueadoras do receptor de angiotensina ou inibidores de ECA apresentaram uma diminuição da proliferação tumoral, com tumores de menor tamanho e menor quantidade de metástases pulmonares. Além disso, os animais do grupo experimental tiveram menor expressão de VEGF e de CD34 em comparação com o grupo controle (Araújo et al. 2015). Do ponto de vista clínico, já foi proposto que o uso de inibidores do SRAA associou-se com melhora de sobrevida nos portadores de CCRm na era das terapias-alvo, aumentando em até 10 meses a SG mediana, além de ter impactado a SCE em 5 anos (96,8% vs. 89,8%) em doentes operados de CCR não metastático (McKay et al. 2015; Miyajima et al. 2015). Apesar do exposto, não há recomendação formal do uso dessas medicações em portadores dessa neoplasia. O que ocorre é que, até 46% dos pacientes com CCRm, utilizando terapias anti-VEGF, desenvolvem HAS e o tratamento apropriado deve ser precocemente iniciado para diminuir risco cardiovascular e permitir a manutenção do tratamento (Derosa et al. 2016).

Mutações de linhagem germinativa de componentes do SRAA podem contribuir para o risco de desenvolver algumas malignidades, como polimorfismos no gene ACE e aumento do risco de alguns cânceres, como estômago, próstata, colorretal e endométrio (Rigat et al. 1990; Medeiros et al. 2004; Ebert 2005; van der Knaap et al. 2008). Assim como, mutações somáticas já foram evidenciadas em amostras de tumores de mama relacionadas com o gene AGTR1 (Rhodes et al. 2009).

A ligação entre a inflamação relacionada ao câncer e a sinalização do SRAA convergem na resposta à hipóxia tumoral e aos mecanismos de estresse oxidativo, particularmente com o receptor tipo 1 de angiotensina levando à ativação de fatores de transcrição, como o fator nuclear κ B (NF- κ B), além de membros da família de transdutores de sinal e ativação de

transcrição (STAT, do inglês: *signal transducer and activation of transcription*) e do HIF1 α (Marrero et al. 1995; Pagé et al. 2002; Smith and Missailidis 2004; Deshayes and Nahmias 2005; Hunyady and Catt 2006; Ager et al. 2008). A desregulação das ações fisiológicas do SRAA no microambiente de inflamação e angiogênese promove crescimento das células tumorais. Essa resposta da sinalização do SRAA pode ser observada na **Figura 5**.



Fonte: Adaptado de GEORGE et al (2010).

Legenda: O SRAA local pode aumentar a resposta das células no microambiente tumoral. Particularmente, a Ang II, através do receptor tipo 1 de angiotensina, regula a secreção de vários fatores de crescimento e citocinas pelas células tumorais, realçando o crescimento de células como fibroblastos, células endoteliais vasculares e a própria proliferação das células tumorais. Além disso, células do sistema imune inato, como neutrófilos e macrófagos, são capazes de gerar e expressar componentes do SRAA. Em um cenário de hipóxia ou inflamação, estas células são estimuladas pela Ang II e geram espécies reativas de oxigênio, levando ao aumento da sinalização de crescimento, com proliferação e angiogênese. Ang: angiotensina; ECA: enzima conversora de angiotensina; EGF: fator de crescimento epidérmico; FGF: fator de crescimento de fibroblastos; GM-CSF: fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos; IGF1: fator de crescimento insulina-like 1; IL: interleucina; MMP: metaloproteinase de matriz; PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas; PGF: fator de crescimento placentário; TGF α : fator de crescimento transformador- α ; TNF α : fator de necrose tumoral- α ; VEGF: fator de crescimento do endotélio vascular

Figura 5 – Contribuição da sinalização do SRAA para a inflamação, angiogênese e crescimento tumoral.

Por sua vez, o papel do receptor tipo 2 de angiotensina é menos claro na inflamação do câncer e na angiogênese. Um estudo prévio sugeriu que a inibição desse receptor retarda a tumorigênese ao prejudicar a produção de VEGF (Clere et al. 2010). No cenário do CCR, ambos os receptores parecem ter expressão aumentada em tumores de alto grau, sendo que em análise multivariada, apenas o tipo 2 associou-se com pior sobrevida livre de progressão e estágio clínico (Dolley-Hitze et al. 2010).

Ainda no cenário das neoplasias renais, um estudo multicêntrico recente avaliou a associação entre a expressão e atividade de enzimas que regulam a angiotensina e os desfechos no CCRcc. As peptidases avaliadas foram a endopeptidase neutra, a ECA, a ECA2 e a aminopeptidase A, por meio de expressão imuno-histoquímica no tecido tumoral. A ECA associou-se negativamente com prognóstico, além de ter sido descrita uma maior atividade sérica das demais enzimas nos pacientes com CCRcc, sugerindo um desbalanço metabólico do SRAA intrarrenal nestes pacientes (Errarte et al. 2017).

1.4 A HIPÓXIA E SUA RELAÇÃO COM O CARCINOMA DE CÉLULAS RENAIAS

O ambiente tumoral torna-se hipoxêmico devido à proliferação de neovasos aberrantes que possuem um fluxo sanguíneo comprometido e pela proliferação celular descontrolada. Essa hipóxia leva à ativação de vias de sinalização que regulam a produção de fatores de crescimento, levando à proliferação e à angiogênese, além da morte celular. A hipóxia também induz a produção de EPO nos rins e de tirosina hidroxilase nas células neurais, envolvidos na produção de hemoglobina e de catecolaminas, respectivamente (Harris 2002).

O CCR é considerado um dos tumores mais vasculares existentes, sendo relacionado com um padrão de neovascularização distinto e levando aos estudos iniciais de fatores de crescimento como o VEGF (Campbell et al. 2021). Sabe-se que muitos subtipos de VEGF são regulados pela proteína VHL e pelos HIFs (Lane et al. 2007).

O HIF-1, por sua vez, é um fator de transcrição que auxilia na resposta celular aos níveis reduzidos de oxigênio. É um heterodímero que consiste na subunidade HIF- α , representada por HIF-1 α , HIF-2 α e HIF-3 α , e na subunidade HIF- β , sendo esta última uma proteína translocadora nuclear do receptor de aril-hidrocarboneto (ARNT, do inglês: *aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator*) (Harris 2002).

A proteína VHL é o produto do gene homônimo, o qual se apresenta como gene supressor tumoral, sendo responsável pela degradação de HIF- α . Suas mutações, deleções ou hipermetilação levam à desregulação e ao acúmulo do HIF, ativando a transcrição de vários genes relacionados, como o VEGF, a EPO, o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF, do inglês: *platelet-derived growth factor*), o fator de crescimento transformador α (TGF α), transporte de glicose (GLUT1 e GLUT3), controle do pH (AC-IX) e migração celular (CXCR4) (Maxwell et al. 1999; Young et al. 2009). Mutações de linhagem germinativa no gene VHL ou no gene fumarato hidratase (FH), visto em síndromes familiares específicas, geram um estado de pseudo-hipóxia que leva aos eventos acima (Bratslavsky et al. 2007).

Em condições de normóxia, a proteína VHL funcional liga-se com a elonguina B, elonguina C, RBX1 e CUL2 para formar o complexo pVHL-E3 ubiquitina ligase. Esse complexo liga-se, por sua vez, ao HIF- α levando a sua poli-ubiquitinação e degradação proteossomal (Morais et al. 2013). Diante do acúmulo citoplasmático de HIF- α na hipóxia, este se dirige ao núcleo e forma um complexo ativo com HIF- β , iniciando os eventos mencionados anteriormente.

Já há uma extensa documentação da influência negativa da anemia e da hipoxemia tecidual em pacientes com câncer, além de uma pior resposta a tratamentos local ou sistêmico. Assim, buscar a correção desses fatores podem impactar na qualidade de vida e sobrevida destes pacientes (Caro et al. 2001; Vaupel 2001; Zequi et al. 2019).

1.4.1 A eritropoietina

A EPO é uma glicoproteína, cuja principal função é o controle da diferenciação das células eritrocitárias na medula óssea, sendo o único fator eritropoiético que é regulado de um modo oxigênio-dependente (Eckardt 1996). Dessa forma, a ativação da via do VHL-HIF-EPO caracteriza o principal mecanismo adaptativo celular em resposta a condições de hipóxia. Seus principais locais de produção são fígado e rins, sendo que o primeiro predomina no período fetal. Nos rins, a expressão desse hormônio ocorre nas células peritubulares do córtex renal. Além disso, ela também já foi descrita em vários tecidos não hematopoiéticos, como útero, sistema nervoso central, pulmões, testículos, células endoteliais vasculares, além de tumores sólidos, como o próprio CCR, mama e o hepatocarcinoma (Eckardt 1996; Farrell and Lee 2004).

Clinicamente, suas ações levam ao aumento da hemoglobina sérica, de modo que o uso da EPO recombinante humana é utilizada no tratamento de pacientes com anemia devido a DRC ou ao câncer, tendo um papel limitado neste último caso, exatamente pelo potencial efeito estimulatório da EPO nas neoplasias (Farrell and Lee 2004; Miyake et al. 2013; Morais et al. 2013).

A ligação da EPO ao seu receptor (EPO-R) induz a uma alteração conformacional que ativa a via da tirosina quinase citoplasmática Janus quinase 2 (JAK2). Por sua vez, a JAK2 fosforila vários resíduos de tirosina citoplasmática do próprio EPO-R, atuando como sítios de ligação de proteínas com o domínio Src-homology 2 (SH2), constituídos pelos chamados STAT1, STAT3 e STAT5 (do inglês: *Src-homology 2 domain-containing transcription factors, signal transducer and activator of transcription*), além da proteína fosfatidilinositol 3'quinase (PI3K), promovendo suas ações adaptativas fisiológicas ou de progressão tumoral, dependendo do local (Farrell and Lee 2004; Michael et al. 2007).

Diversas pesquisas já foram realizadas nas últimas três décadas com o intuito de compreender a relação desse marcador com a neoplasia renal (Nseyo et al. 1986). Westenfelder e Baranowski (2000) demonstraram que as células tumorais de CCR humano expressam receptor de EPO (EPO-R) e que sua ativação é capaz de estimular a proliferação dessas células cancerígenas (Westenfelder and Baranowski 2000). Um fator patológico específico relacionado com a superexpressão do marcador foi o de tumores com invasão microvascular, sugerindo um papel importante nas metástases de CCR (Ito et al. 2012).

Um estudo da década de 90 analisou 165 pacientes com CCR, sendo 64 já metastáticos. Neste estudo, níveis séricos elevados de EPO (considerado como acima de 25 mUI/ml) foram identificados em apenas 33% dos casos, havendo uma relação com tumores de alto grau e impactando significativamente na sobrevida dos pacientes, incluindo nos portadores de CCRm (Ljungberg et al. 1992). Contradizendo este achado, o valor prognóstico do nível sérico de EPO, bem como de outros marcadores relacionados à angiogênese, como VEGF, receptor tipo 1 de VEGF e fator de crescimento de fibroblastos (FGF) foram analisados em pacientes com CCRm, não sendo identificada associação prognóstica (Alamdari et al. 2007).

Ao contrário da avaliação sérica dessa glicoproteína, estudos investigando a expressão imuno-histoquímica da EPO já demonstraram uma presença em até 97% dos casos de CCRcc, em detrimento de uma ausência de expressão nos tumores não células claras (Mjølnes et al. 2017). Do mesmo modo, um grupo chinês detectou a coexpressão de EPO e do receptor de

EPO (EPO-R) em mais de 92% de uma amostra de CCR esporádico, independente do estado mutacional do gene VHL (Gong et al. 2006). Já um estudo conduzido por Michael et al (2007) relacionou a expressão imuno-histoquímica de EPO a uma pior SG, com risco de morte maior do que duas vezes comparado ao grupo que não expressava o marcador (Michael et al. 2007).

Papworth et al (2009) publicaram um estudo onde não evidenciaram associação dos níveis séricos de EPO e de hemoglobina com a expressão imuno-histoquímica de EPO ou EPO-R. Ao final de uma análise multivariada, nenhum dos marcadores teciduais (EPO ou EPO-R) e nem dos níveis séricos de EPO apresentaram-se como fatores prognósticos independentes (Papworth et al. 2009).

Em nosso grupo, Ferreira et al (2017) avaliaram 176 casos de CCRcc não metastáticos, submetidos a nefrectomia entre 1989 e 2009. Nessa amostra, a expressão imuno-histoquímica de EPO ocorreu em 73,3% dos casos. A ausência de expressão associou-se com tumor incidental, maior tamanho tumoral, anemia pré-operatória, transfusão sanguínea, maior proporção de performance status de Karnofsky < 80%, além de uma idade mediana maior. Ao final do estudo, a análise multivariada mostrou que a ausência de expressão afetou negativamente as taxas de SG e SCE em 5 anos (Ferreira et al. 2017).

Indo ao encontro deste achado, Stoyanoff et al (2016) analisaram amostras de CCRcc não metastáticos e encontraram uma maior expressão de EPO nos tumores mais iniciais (T1G1), em comparação a tumores de maior grau ou estágio T2. A hipótese dos autores é a de que a superexpressão desse marcador em tumores mais precoces poderia representar um gatilho para a proliferação celular (Stoyanoff et al. 2016).

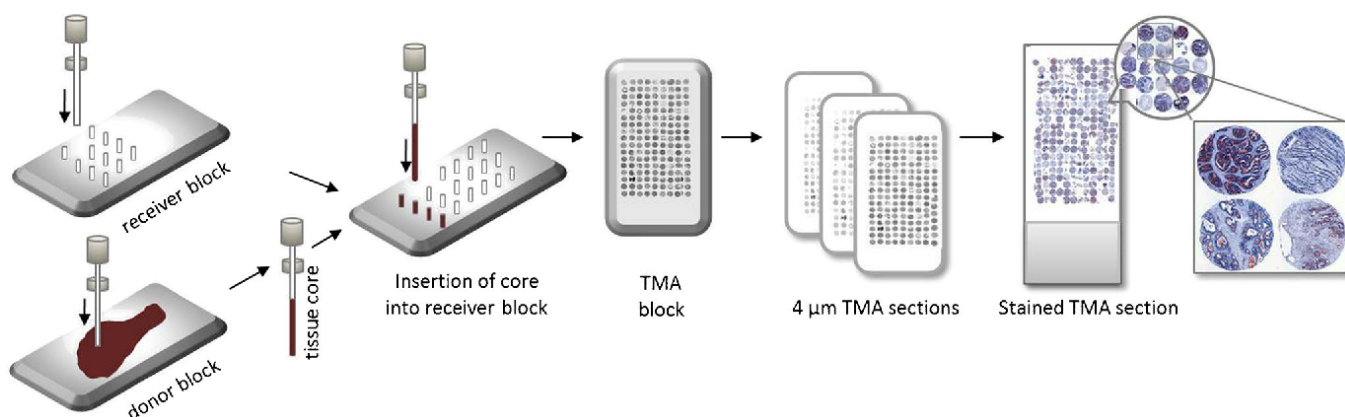
Como já mencionado, um ambiente de hipoxemia tecidual induz a produção de EPO, inclusive por estímulo do SRAA. Um estudo experimental demonstrou que a deleção da proteína VHL converte as células produtoras de REN em células produtoras de EPO, em resposta ao acúmulo de HIF-2, alterando o fenótipo das células justaglomerulares (Kurt et al. 2013).

1.5 O TISSUE MICROARRAY (TMA)

O método de microarranjo tecidual (TMA, do inglês: *tissue microarray*) vem sendo cada vez mais utilizado no estudo do padrão de expressão tecidual de proteínas, particularmente

no que diz respeito à avaliação da importância diagnóstica e prognóstica de possíveis biomarcadores (Liu et al. 2004).

Inicialmente, Battifora et al (1986) propuseram um método de extração de múltiplos fragmentos de um bloco de parafina, os quais eram desparafinados e reidratados, seguido de cortes cilíndricos com cerca de 1 mm². Cerca de 100 cilindros eram posicionados em segmentos de intestino delgado e então um novo bloco de parafina era constituído (Battifora 1986). Uma nova descrição do método, o qual passou a ser denominado TMA, foi feita por Kononen et al (1998). Os autores desenvolveram uma técnica de alto rendimento, capaz de analisar um grande número de amostras teciduais em uma única reação de coloração imuno-histoquímica. Um dispositivo extrai os cilindros do bloco doador e os transfere para um bloco de parafina receptor (Kononen et al. 1998).



Fonte: Adaptado de OBERLÄNDER et al (2014).

Legenda: Pequenas amostras teciduais são puncionadas das regiões selecionadas dos blocos de parafina doadores, sendo depositadas sequencialmente em um bloco receptor. Lâminas destes blocos são obtidas através de seções de 4 - 8 µm com micrótomo e coradas inicialmente com hematoxilina-eosina e, posteriormente, com os demais métodos de coloração, como a imuno-histoquímica.

Figura 6 – Demonstração esquemática de preparo das lâminas pelo método de TMA.

A **Figura 6** demonstra como é feito o preparo das lâminas pelo método de TMA. Além da capacidade de análise de múltiplas amostras simultaneamente, esse método também representa uma economia significativa, tanto de insumos como de necessidade de mão de obra (Ştefan et al. 2021).

1.6 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Projeções recentes demonstram que o Brasil será um dos países com maior aumento da incidência de CCR, em ambos os sexos, até o ano de 2030, requerendo esforços urgentes no planejamento dos recursos de saúde (Wong et al. 2017).

Desse modo, aumentar os esforços para estudar fatores prognósticos relacionados ao CCR é muito importante para tentar reduzir as diferenças regionais, particularmente diante da literatura ainda escassa na América Latina, em comparação com a existente na Europa e América do Norte. Nestes últimos, não ocorreu o mesmo processo de miscigenação de sua população como aconteceu na nossa (Grandez-Urbina and Arias-Nolazco 2017).

Como na maioria dos tumores sólidos, muitos estudos sobre fatores prognósticos em CCR avaliam proto-oncogenes, genes supressores de tumor, além de outros marcadores biomoleculares ou anatomopatológicos já sobejamente investigados nas vias oncológicas clássicas. Esses estudos buscam identificar marcadores associados 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 (Zequi 2008, 2000; Costa et al. 2012; da Costa et al. 2012b, 2014, 2018, 2019; Campos et al. 2013; Vilella-Arias et al. 2013; Chipollini et al. 2019; Santos et al. 2021). Até então, poucos estudos foram dirigidos ao eventual valor prognóstico dos hormônios secretados pelos rins, que também é um órgão endócrino.

Essa vertente aumenta as perspectivas para o conhecimento da carcinogênese renal, uma vez que o principal sítio produtor tanto de REN como de EPO encontra-se no córtex renal, região de origem da maioria das neoplasias renais de células claras. Investigar uma associação de ambos esses marcadores, com desfechos clínicos do tumor, faz sentido, sendo também uma forma de continuar as pesquisas anteriormente publicadas pelo nosso grupo.

Foi exposto, na seção de revisão de literatura, a ligação entre a REN e a EPO e o ambiente de hipoxemia tecidual e neovascularização, bem como a inserção desses marcadores no eixo do sistema renina-angiotensina. Nosso grupo, já demonstrou que a ausência de expressão de REN ou de EPO, de modo isolado, apresentou valor prognóstico (Ferreira et al. 2017; de Almeida e Paula et al. 2019). Não sabemos se a combinação da falta de expressão desses marcadores poderia aumentar o poder estatístico no CCRcc. Acrescenta-

se aí a complexidade de vias alternativas desse sistema, incluindo a importância da CTSD, reconhecida como uma enzima renina-*like* e que já foi demonstrado seu potencial valor em uma variedade de cânceres, inclusive como possível alvo de terapias sistêmicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Descrever a expressão imuno-histoquímica da eritropoietina (EPO) e da catepsina D (CTSD) no tecido tumoral e o seu valor prognóstico oncológico em uma coorte de pacientes portadores de CCR do tipo células claras submetidos a ressecção cirúrgica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o valor prognóstico da expressão imuno-histoquímica concomitante da EPO e da REN nas taxas de sobrevida global, sobrevida câncer-específica e sobrevida livre de recorrência nos casos de CCRcc não metastáticos.
- Avaliar o valor prognóstico da imunoexpressão concomitante da CTSD e da renina (REN) nas taxas de sobrevida global, sobrevida câncer-específica e sobrevida livre de recorrência nos casos de CCRcc não metastáticos.
- Analisar se a expressão dos marcadores EPO, CTSD e REN possuem associação com variáveis demográficas, clínicas e patológicas nos casos de CCRcc não metastáticos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Foram analisados os dados clínicos e patológicos dos prontuários de 729 pacientes portadores de CCRcc submetidos a tratamento cirúrgico no A.C.Camargo Cancer Center (ACCCC) no período de 1985 a 2016. Para o levantamento dos dados, utilizou-se a ficha apresentada no **Apêndice 1**. Todas as informações foram armazenadas em banco de dados seguro na plataforma REDCap.

3.1.1 Critérios de inclusão

- CCRcc comprovado histologicamente em laudo anatomopatológico;
- Pacientes submetidos a tratamento cirúrgico primário, por meio de nefrectomia radical ou parcial;

3.1.2 Critérios de exclusão

- Pacientes submetidos a tratamentos não cirúrgicos para a neoplasia renal;
- Prontuários com dados incompletos ou faltantes;
- Material arquivado em blocos de parafina em más condições, impossibilitando a inclusão e análise no bloco receptor;
- Portadores de subtipos histológicos não células claras ou amostras de tecido erroneamente não neoplásico;
- Identificação de TMA com descolamento de *spots* ou com presença de necrose ou fibrose excessivas, tornando o material inadequado.

3.2 SELEÇÃO DAS VARIÁVEIS

As variáveis consideradas para análise foram idade ao diagnóstico, data de admissão no serviço, sexo, presença de comorbidades (hipertensão arterial, diabetes mellitus, doença renal crônica, dislipidemia, entre outras), presença de sinais ou sintomas ao diagnóstico,

classificação de risco anestésico da Sociedade Americana de Anestesiologistas (ASA), classificação de performance clínica de Karnofsky e da ECOG, tabagismo e carga tabágica, índice de massa corpórea, tempo do diagnóstico ao tratamento, presença de metástases ao diagnóstico, histórico familiar de CCR, história pessoal de outras neoplasias, nível pré-operatório de hemoglobina, hematócrito e creatinina sérica, tipo de tratamento cirúrgico realizado, margens cirúrgicas, grau nuclear pela classificação da ISUP, tempo de internação cirúrgica, ocorrência de complicações precoces (até 30 dias) ou tardias e classificação de Clavien-Dindo, estágio clínico e patológico TNM, diâmetro do tumor (cm), lateralidade, multifocalidade, além de achados histopatológicos, como invasão microvascular, presença de componente sarcomatóide ou rabdóide, invasão linfática, invasão perineural, necrose, invasão de veia renal, infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo renal, comprometimento de cápsula renal, invasão de sistema coletor, envolvimento de glândula adrenal, evidência de recorrência local ou à distância e data da recorrência, data do último seguimento e status ao final do último seguimento. Após as análises imuno-histoquímicas, também foram incluídas as expressões qualitativas da renina, da eritropoietina e da catepsina D.

3.2.1 Diagnóstico e estadiamento

Todos os pacientes foram inicialmente submetidos a exame clínico geral e investigados quanto à presença de sinais ou sintomas relacionados à neoplasia renal. Utilizou-se tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética como exame de imagem para a confirmação diagnóstica da maioria dos casos.

O estadiamento clínico foi feito através do sistema de classificação TNM/AJCC, oitava edição, de 2016 (**Anexo 1**). A investigação de metástases pulmonares foi feita através de radiografia de tórax em incidências pósterio-anterior e perfil e, para os casos suspeitos, foi solicitada uma tomografia computadorizada de tórax. A cintilografia óssea foi feita apenas para os casos suspeitos de acometimento ósseo, como presença de dor óssea, alterações laboratoriais sugestivas ou presença de múltiplas metástases.

3.2.2 Tratamento cirúrgico

Nenhum dos pacientes recebeu tratamento sistêmico neoadjuvante. O tipo de cirurgia indicada e a via de acesso variaram de acordo com a extensão tumoral e a preferência do

cirurgião. Os procedimentos realizados foram nefrectomia radical ou parcial, fazendo uso das técnicas aberta, videolaparoscópica ou robô-assistida. Para os casos submetidos a ressecções parciais, foi analisado o status da margem cirúrgica e, em alguns casos selecionados, técnica de patologia de congelação para afastar margem residual positiva.

Durante a nefrectomia radical, a realização da linfadenectomia retroperitoneal, bem como de sua extensão, ficou a cargo de cada cirurgião, sendo realizada apenas com o intuito de estadiamento da doença, exceto na suspeita pré ou intraoperatória de linfonodos suspeitos. Para as cirurgias parciais, a linfadenectomia não foi realizada.

3.2.3 Seguimento

O seguimento dos pacientes foi realizado de modo ambulatorial após a cirurgia, com consultas preferencialmente trimestrais nos dois primeiros anos, semestrais do terceiro ao quinto ano, e anuais após cinco anos. A frequência e periodicidade dessas avaliações variou de acordo com critérios do médico assistente envolvido no seguimento do paciente. Em todas as consultas, foi realizado exame físico sistemático. Exames laboratoriais e de imagem foram utilizados rotineiramente durante o acompanhamento. A depender do estágio clínico, tomografia computadorizada ou ressonância magnética foram realizados a cada 6 meses nos dois ou três primeiros anos de acompanhamento, alternando com ultrassonografia de abdome, aumentando o intervalo para uma vez por ano a partir do quarto ano. Foram solicitados também exames de imagem do tórax, sendo radiografia torácica ou tomografia computadorizada do tórax a depender do estadiamento.

Os casos metastáticos ou com diagnóstico de recidiva tumoral tiveram acompanhamento conjunto da equipe da oncologia clínica, com seguimentos individualizados de acordo com cada caso. Para os casos com suspeita de recidiva local ou sistêmica, foi realizada tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética para confirmação diagnóstica. Ao final do seguimento, os pacientes foram classificados em:

- a) Vivos sem câncer: pacientes tratados do CCR e sem evidência clínica ou radiológica da neoplasia.
- b) Vivos com câncer: pacientes que, após o tratamento cirúrgico primário, permaneceram com evidência clínica ou radiológica 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 após a cirurgia).
- d) Mortos por outras causas: pacientes que morreram por causas não relacionadas à neoplasia ou a 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 CONFECÇÃO DO TMA

Para realizar a confecção do TMA, os blocos de parafina e suas lâminas foram recuperados. As áreas mais representativas do tumor foram demarcadas em cada lâmina. As lâminas demarcadas foram justapostas com seus respectivos blocos doadores, onde a área de interesse foi puncionada com agulha e fragmentos cilíndricos foram retirados. Esses fragmentos foram transferidos para um bloco receptor, constituindo o TMA. A partir desse bloco receptor, seccionam-se múltiplas lâminas de 4 a 8 μm para o estudo (**Figura 6**).

Cada lâmina possui amostras em duplicata, obtidas de seções em diferentes níveis de profundidade dos blocos doadores. Assim, possibilita-se a análise de diversas quantidades de tecido em diferentes regiões tumorais, sem que haja comprometimento da representatividade do material obtido. Quando presentes e viáveis, também foram selecionadas áreas de tecido renal não neoplásico, distando pelo menos 0,5 cm do tecido tumoral. Por questões éticas, as amostras não tumorais foram coletadas apenas nos espécimes cirúrgicos provenientes de nefrectomias radicais ou de nefrectomias parciais com margem cirúrgica disponível para tal análise.

Estes casos fazem parte de um banco de tumores institucional, cujas lâminas e dados histopatológicos foram submetidos a uma revisão central por duas uropatologistas experientes (Dra. Isabela Werneck da Cunha e Dra. Stephania Martins Bezerra), sem conhecimento dos desfechos clínicos de cada caso.

Foram confeccionados sete blocos de TMAs. Para isso, utilizou-se um dispositivo chamado *Manual Tissue Arrayer MTA-1* (*Beecher Instruments Microarray Technology, Silver Spring, EUA*). O caso foi definido como adequado quando o corte resultante ocupou pelo menos 25% da área total do cilindro. Foram realizados cortes sequenciais de 4 - 8 μm de

espessura por microtomia mecânica (Leica RN2255, LEICA) e colocados em lâminas para a realização das reações de imuno-histoquímica.

3.3.1 Técnica imuno-histoquímica

As reações imuno-histoquímicas foram realizadas de forma automatizada com a utilização do equipamento BenchMark ULTRA (VENTANA® - Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha), utilizando o sistema de visualização EnVision FlexPlus (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), de acordo com as especificações do fornecedor. Para a realização deste estudo, foi utilizada a seguinte padronização de anticorpos:

- a) Renina - Anticorpo primário policlonal de coelho anti-renina (Abcam© - Cambridge, MA, USA), especificação ab217761, com titulação de 1:200.
- b) Eritropoietina - Anticorpo monoclonal murino anti-EPO [EPO2] (Abcam© - Cambridge, MA, USA), especificação ab20375, com diluição 1:1000.
- c) Catepsina D - anticorpo primário monoclonal murino anti-CTD19 (Sigma-Aldrich – St. Louis, MO, USA), especificação C0715, com diluição 1:5000.

As reações imuno-histoquímicas automatizadas seguiram um protocolo estabelecido de acordo com os resultados obtidos na padronização da técnica. A desparafinação 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, sendo novamente lavadas após a finalização. 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 usados como

controles positivos, enquanto os controles negativos foram obtidos omitindo os anticorpos primários.

Na análise previamente feita com a REN, a sua expressão foi considerada positiva se presente em ao menos um dos spots de cada caso nos TMAs. Foram definidos, como expressão negativa, os casos sem expressão imuno-histoquímica observada ou com até 5% das células com expressão fraca (de Almeida e Paula et al. 2019).

Para a EPO, realizamos o mesmo procedimento de classificação. Dessa forma, os casos classificados ao final, como expressão negativa, foram aqueles não expressos em ambos os spots. Casos com pelo menos um dos spots descolados ou sem tecido tumoral viável em pelo menos 25% do *spot* foram retirados da análise.

Para a CTSD, realizamos uma escala semiquantitativa variando de 0 a 4+, dependendo da intensidade de expressão citoplasmática. Esse método foi adaptado do proposto por Merseburger et al (2005). Posteriormente, as reações imuno-histoquímicas foram classificadas em dois grupos, sendo um de ausência ou fraca expressão (grau 0-2+) e outro de forte expressão de CTSD (grau 3-4+). Casos com pelo menos um dos spots evidenciando grau de expressão 3 ou 4+ foram considerados como de forte expressão no agrupamento final.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística, foram utilizados o *software* IBM SPSS, versão 23.0 (IBM Corp. Armonk, Nova Iorque, EUA) e o *software* R versão 4.0.0 (*Comprehensive R Archive Network*, disponível em: <http://cran.r-project.org>). Realizamos a distribuição das variáveis demográficas, clínicas e anatomopatológicas e mensuramos a expressão da EPO, da REN e da CTSD, associando com desfechos de sobrevida global (SG), sobrevida câncer-específica (SCE) e sobrevida livre de recorrência (SLR), além de fatores de maior agressividade relacionados com o tumor.

De acordo com a expressão de cada um dos três marcadores, os casos foram agrupados e comparados ao longo dos anos que corresponderam ao tempo do estudo. Essa distribuição ao longo dos anos foi analisada por meio do teste do qui-quadrado de *Pearson*.

As variáveis qualitativas foram apresentadas na forma de tabelas de contingência e também comparadas pelo teste do qui-quadrado de *Pearson*. Para os casos em que a frequência foi inferior a 5, o teste exato de *Fisher* foi utilizado. Variáveis quantitativas foram

expressas por meio de medidas de tendência central, como a mediana, além do intervalo interquartil (IIQ) e amplitude e foram avaliadas pelo teste U de *Mann-Whitney*. A comparação entre o grau de expressão da CTSD no tecido renal não neoplásico e no CCR foi feita pelo teste *t* de *Student*.

As taxas de sobrevida em 10 anos foram analisadas pela técnica de *Kaplan-Meier* e as respectivas curvas comparadas pelo teste de *Log Rank*. A significância estatística foi determinada para um valor de *p* inferior a 0,05. Os pacientes que tiveram perda de seguimento foram considerados censurados nos gráficos. Para o cálculo das razões de risco relacionadas às taxas de sobrevida, as variáveis foram inicialmente submetidas a análise dos resíduos de Schoenfeld para verificação de proporcionalidade. Após essa etapa, foram realizadas análises de regressão logística de Cox simples e, aquelas significativas, foram submetidas a análises múltiplas de Cox pelo método *backward stepwise*, baseadas em teste de razão de verossimilhança para confirmações, de modo que cada variável inclusa no modelo pode ser ou não eliminada, em ordem decrescente, por etapas.

3.5 ÉTICA

Trata-se de um projeto de estudo retrospectivo. Dessa forma, não houve a participação direta dos pacientes, nem alteração da estratégia de seguimento pós-operatório. Não haverá também introdução de qualquer modificação terapêutica, aplicação de medicamento ou método que possa gerar consequências aos pacientes. Desta forma, não foi necessária a adoção de consentimento pós-informado. Quaisquer informações que possam levar a identificação dos sujeitos foram preservadas.

Foram utilizados dados de prontuários e material arquivado em blocos de parafina no Serviço de Anatomia Patológica do A.C.Camargo Cancer Center. 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 imunoistoquímica 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. No início da aprovação deste estudo, houve dispensa na submissão de novo projeto ao CEP, por ser considerado projeto afiliado ao temático em questão, recebendo o registro nº 2144/15F em 24 de janeiro de 2020 (**Anexo 4**). Posteriormente, pela inclusão de um novo marcador no estudo – a catepsina D – foi formulada uma emenda ao projeto, recebendo a apreciação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) que aprovou a versão por meio do parecer nº 4.908.103 em 16 de agosto de 2021.

3.6 CASUÍSTICA

3.6.1 Aspectos demográficos, clínicos e patológicos

Dos 729 casos de CCRcc avaliados, 64 (8,8%) eram metastáticos ao diagnóstico. Dessa população, 467 (64,2%) eram do sexo masculino e 260 (35,8%), do sexo feminino. A idade mediana foi de 55 anos, variando de 21 a 88 anos e apresentando um intervalo interquartil (IIQ) de 47 a 63 anos. No que diz respeito à raça/etnia, as informações estavam faltando em 47,6% dos casos. Dentre os casos com dados disponíveis, 301 (78,8%) eram brancos, 11 (2,9%) eram negros, 41 (10,7%) declararam-se como pardos e 29 (7,6%) eram amarelos (ou de descendência asiática), não havendo indígenas. Nessa casuística, o tempo de seguimento mediano foi de 53 meses (IIQ = 25-75 meses).

Com relação aos aspectos clínicos dos pacientes, 565 (83,8%) tinham alguma comorbidade. HAS estava presente em 348 (51,6% dos casos com informações sobre comorbidades), diabetes mellitus estava presente em 111 casos, dislipidemia em 25 e DRC foi relatada em 25 casos. O IMC mediano foi de 27,78 kg/m² (IIQ = 25,01-31,21 kg/m²), sendo que 170 casos (24,5%) tinham IMC normal, 292 (42,1%) tinham sobrepeso, 159 (22,9%) eram obesos classe I, 43 (6,2%) eram obesos classe II, 27 (3,9%) eram obesos classe III e apenas dois casos (0,3%) foram classificados na faixa de baixo peso. As informações relacionadas ao tabagismo estavam presentes em 657 casos, sendo que 378 (57,5%) nunca fumaram, 212 (32,5%) eram ex-fumantes e 67 (10,2%), fumantes. Foi levantado que 208 pacientes (31,3%) tinham ao menos algum sinal ou sintoma ao diagnóstico. A dor lombar/abdominal foi o sintoma mais comum, relatado em 97 casos (14,6%), seguido de hematúria, em 89 casos (13,4%). Noventa e cinco pacientes (13,4%) tinham um escore de *Karnofsky* ≤ 80. Já relacionado à classificação ECOG, 423 casos (59,6%) foram ECOG 0, 259 (36,5%) foram ECOG 1, 25 (3,5%) foram ECOG 2 e somente três casos (0,4%), ECOG 3.

Sobre os valores laboratoriais mais comumente coletados, o valor mediano da hemoglobina foi de 14,2 g/dl (IIQ = 13,1-15,3 g/dl), sendo que 77 casos (11,4%) tinham anemia (Hb < 12 g/dl) ao diagnóstico. O valor mediano da creatinina sérica pré-operatória foi de 0,95 mg/dl (IIQ = 0,8-1,11 g/dl), variando de 0,47 a 13,9 mg/dl. A **Tabela 3** contém a descrição das variáveis epidemiológicas e clínicas apresentadas.

Tabela 3 – Descrição das variáveis epidemiológicas e clínicas dos pacientes portadores de CCRcc (n = 729 casos).

Variável	Categoria	N	% (válida)*
Idade	< 45 anos	146	20,1
	45 – 59 anos	335	46,1
	60 – 74 anos	206	28,3
	≥ 75 anos	40	5,5
Sexo	Masculino	467	64,2
	Feminino	260	35,8
Raça	Branco	301	78,8
	Não brancos	81	21,2
Comorbidades	Não	109	16,2
	Sim	565	83,8
História familiar	Um familiar	31	5,0
	Dois ou mais	6	1,0
	Não	581	94,0
Tabagismo	Não	378	57,5
	Ex-fumante	212	32,3
	Fumante	67	10,2
Sinais ou sintomas ao diagnóstico	Ausência	456	68,7
	Um sinal/sintoma	165	24,8
	Dois sinais/sintomas	40	6,0
	Três ou mais	3	0,5
KPS	≤ 80	95	13,4
	> 80	615	86,6
ECOG performance scale	0 – 1	682	96,1
	2 – 3	28	3,9
Classificação de ASA	1 – 2	581	81,3
	3 - 4	133	18,7
Anemia ao diagnóstico (Hb < 12 g/dl)	Não	596	88,6
	Sim	77	11,4

Legenda: ASA: *American Society of Anesthesiologists*. ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*. Hb: hemoglobina. KPS: *Karnofsky performance scale*.

* Dados de porcentagens apenas dos casos com informações disponíveis.

Do ponto de vista oncológico, 38 casos (6,1%) tinham registro de história familiar de CCR, sendo que em 14 casos foi possível obter o registro do diagnóstico da síndrome de *von Hippel-Lindau*. Além disso, 134 casos (18,9%) tinham histórico oncológico prévio. Os outros

cânceres mais comuns foram próstata em 29 casos (2,1% dos casos válidos), seguido de mama em 18 casos (2,7% dos casos válidos).

A respeito do tratamento cirúrgico empregado, 376 (51,8%) submeteram-se à NP e 350 (48,2%), à NR. A via laparoscópica foi a mais comum, sendo realizada em 255 casos (37,4%), seguido da via aberta anterior em 233 casos (34,2%), via aberta por lombotomia em 119 casos (17,5%), retroperitoneoscopia em 5 casos e via robótica realizada em 69 casos (10,1%). O tempo de internação mediano foi de 3 dias (IIQ = 2-5 dias), variando de 1 a 71 dias de hospitalização. Já o tempo cirúrgico mediano registrado foi de 170 minutos (IIQ = 130-210 minutos). A conversão dos casos de cirurgia minimamente invasiva para a via aberta ou os casos que necessitaram de uma totalização da nefrectomia ocorreu em 18 pacientes (2,5% dos casos válidos). A ocorrência de complicações cirúrgicas ocorreu em 203 casos (30,9%), sendo que 15 casos foram complicações classificadas como *Clavien-Dindo* grau I, 122 casos foram grau II, 8 casos foram grau IIIa, 18 casos foram grau IIIb, 32 casos foram grau IVa, 4 casos foram grau IVb e 4 casos foram a óbito devido ao procedimento cirúrgico. O tipo de complicação mais comum foi a hemorragia, incluindo os casos que necessitaram de transfusão no período peri-operatório, seguido da insuficiência renal aguda (32 casos), infecção de sítio cirúrgico (24 casos), íleo paralítico (13 casos), fístula urinária (4 casos) e evento tromboembólico (4 casos). Na **Tabela 4** podem ser vistas a descrição das variáveis cirúrgicas e no **Anexo 3** foi apresentada a classificação de *Clavien-Dindo* utilizada.

Na revisão dos laudos anatomopatológicos, o tamanho tumoral mediano foi de 4,5 cm (IIQ = 3-6,6 cm) e variou de 0,6 a 25 cm. Dessa forma, 343 casos (47,4%) foram considerados pequenas massas (≤ 4 cm). A presença de margens cirúrgicas comprometidas foi evidenciada em 36 casos (5%). A linfadenectomia foi empregada em 191 casos (26,3%), sendo que o número mediano de linfonodos ressecados foi de quatro, variando de 1 a 84 (IIQ = 2-8,5). A identificação de doença linfonodal foi vista em 21 casos (2,9%). Em 37 casos, foi diagnosticado CCR bilateral, incluindo tumores sincrônicos (11 casos) e metacrônicos (26 casos). O grau nuclear da ISUP ficou dividido em ISUP 1 (32 casos), ISUP 2 (370 casos), ISUP 3 (252 casos) e ISUP 4 (74 casos). Demais características histopatológicas, bem como os estadiamentos clínico e patológico podem ser verificados nas **Tabelas 5 e 6**.

Uma tabela descritiva com os casos desse estudo pode ser visualizada na **Tabela 7**, realizando o agrupamento nos escores prognósticos UISS, SSIGN e GRANT.

Tabela 4 – Descrição das variáveis cirúrgicas dos pacientes portadores de CCRcc (n = 729 casos).

Variável	Categoria	N	% (válida)*
Tipo de cirurgia	Nefrectomia parcial	376	51,8
	Nefrectomia radical	350	48,2
Margem cirúrgica	Negativa	689	95,0
	Positiva	36	5,0
Transfusão sanguínea	Não	525	80,0
	Sim	131	20,0
Complicações precoces	Não	455	69,1
	Hemorragia	106	16,1
	IRA	32	4,9
	ISC	24	3,7
	Íleo paralítico	13	2,0
	TEV	4	0,6
	Fístula urinária	4	0,6
	Outras	20	3,0
Complicações tardias	Não	575	87,4
	IRC	54	8,2
	Hérnia incisional	22	3,3
	Linfocele	1	0,2
	Hipertensão	1	0,2
	Outras	5	0,8
	Outras	5	0,8
Linfadenectomia	Não	534	73,7
	Hilar	52	7,2
	Retroperitoneal	124	17,1
	Sim, ignorado	15	2,0

Legenda: IRA: Insuficiência renal aguda. IRC: Insuficiência renal crônica. ISC: Infecção de sítio cirúrgico. TEV: Tromboembolismo venoso.

* Dados de porcentagens apenas dos casos com informações disponíveis.

Tabela 5 – Descrição das variáveis patológicas dos pacientes portadores de CCRcc (n = 729 casos).

Variável	Categoria	N	% (válida)*
Tamanho tumoral	≤ 4 cm	343	47,4
	4,1 – 7 cm	226	31,2
	7,1 – 10 cm	95	13,1
	> 10 cm	60	8,3
Lateralidade	Direito	338	46,8
	Esquerdo	348	48,1
	Bilateral	37	5,1
Localização	Polo superior	207	32,2
	Terço médio	167	26,0
	Polo inferior	173	26,9
	Duas regiões	53	8,2
	Todo o parênquima renal	43	6,7
Invasão de veia renal	Não	661	92,2
	Sim	56	7,8
Infiltração de gordura perirrenal	Não	614	85,8
	Sim	102	14,2
Invasão de hilo ou seio renal	Não	597	83,4
	Sim	119	16,6
Invasão de sistema coletor	Não	697	97,2
	Sim	20	2,8
Infiltração de cápsula renal	Não	557	79,7
	Sim	143	20,4
Invasão venosa macroscópica	Não	640	92,6
	Embolismo	48	6,9
	Infiltração	3	0,4
Invasão microvascular	Não	650	90,0
	Sim	72	10,0
Invasão linfática	Não	698	96,7
	Sim	24	3,3
Invasão perineural	Não	698	97,9
	Sim	15	2,1
Acometimento de veia cava inferior	Não	696	96,9
	Sim	22	3,1
Comprometimento de adrenal	Não	700	97,6
	Ipsilateral	15	2,1
	Bilateral	2	0,3
Necrose tumoral	Não	508	70,3

Con/Tabela 5 – Descrição das variáveis patológicas dos pacientes portadores de CCRcc (n = 729 casos).

	Sim	215	29,7
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	673	93,0
	Sim	51	7,0
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	402	55,2
	Alto grau	326	44,8

Legenda: ISUP: *International Society of Urological Pathology*.

* Dados de porcentagens apenas dos casos com informações disponíveis.

Tabela 6 – Descrição do estadiamento patológico dos pacientes portadores de CCRcc, de acordo com o sistema de estadiamento TNM AJCC (8ª edição), 2016 (n = 729 casos).

Variável	Categoria	N	% (válida)*
Estádio pT	pT1a	332	45,7
	pT1b	170	23,4
	pT2a	40	5,5
	pT2b	12	1,7
	pT3a	129	17,8
	pT3b	18	2,5
	pT4	25	3,4
Estádio pN	pN0 ou Nx	708	97,1%
	pN1	21	2,9%
Estadiamento clínico AJCC	Estádio I	487	67,1
	Estádio II	42	5,8
	Estádio III	115	15,8
	Estádio IV	82	11,3

Legenda: AJCC: *American Joint Committee on Cancer*

* Dados de porcentagens apenas dos casos com informações disponíveis.

Tabela 7 – Distribuição dos pacientes portadores de CCRcc de acordo com os escores prognósticos UISS, SSIGN e GRANT.

Escore prognóstico	Grupo de risco	N	% (válida)*
UISS (Doença localizada)	Risco baixo	238	37,4
	Risco intermediário	333	52,3
	Risco alto	66	10,4
UISS (Doença metastática)	Risco baixo	13	17,1
	Risco intermediário	40	52,6

Con/Tabela 7 – Distribuição dos pacientes portadores de CCRcc de acordo com os escores prognósticos UISS, SSIGN e GRANT.

	Risco alto	23	30,3
Escore SSIGN	0 – 2	397	54,9
	3 – 4	121	16,7
	5 – 6	69	9,5
	7 – 9	92	12,7
	≥ 10	44	6,1
Escore GRANT	Grupo favorável	573	78,9
	Grupo desfavorável	153	21,1

Legenda: GRANT: *GRade, Age, Nodes, and Tumor*. SSIGN: *Stage, Size, Grade, and Necrosis*. UISS: *UCLA Integrated Staging System for renal cell carcinoma*.

* Dados de porcentagens apenas dos casos com informações disponíveis.

3.6.2 Situação clínica ao término do estudo

Ao final do seguimento, 133 pacientes (18,4%) faleceram, sendo 109 casos (15,1%) relacionados ao câncer renal. A perda de seguimento ocorreu em 44 casos (6,1%). Já a recorrência ocorreu em 144 casos (19,9%), sendo que a recorrência local exclusiva foi relatada em 46 casos (6,3%) e a recorrência à distância, em 108 casos (14,8% dos casos válidos). O tempo mediano da cirurgia até a recorrência foi de 47 meses (IIQ = 16-72 meses). O sítio mais comum de metástases à distância foram os pulmões (111 casos), seguido de metástases ósseas (63 casos), hepáticas (32 casos), sistema nervoso central (28 casos), adrenal (12 casos), pâncreas (10 casos), entre outras.

Considerando toda a casuística, a sobrevida global (SG) em 5 e 10 anos foi de 82,9% e 62,2%, respectivamente e a sobrevida câncer-específica (SCE) em 5 e 10 anos foi de 85,7% e 70,4%, respectivamente.

Por fim, considerando somente os casos de CCR não metastático, a SG em 5 e 10 anos foi de 89,1% e 66,7%, respectivamente. A SCE em 5 e 10 anos foi de 92,1% e 75,7%, respectivamente. Já a SLR em 5 e 10 anos foi de 80,4% e 59,6%, respectivamente.

4 RESULTADOS

4.1 REAÇÕES IMUNO-HISTOQUÍMICAS DA RENINA E DA ERITROPOIETINA

A expressão imuno-histoquímica da REN já havia sido avaliada previamente em 603 casos desta série, pelo nosso mesmo grupo (de Almeida e Paula et al. 2019), com resultados transcritos aqui, sendo que a expressão classificada como positiva ocorreu em 426 casos (70,6%) e a ausência de expressão, em 177 casos (29,4%).

Já a expressão imuno-histoquímica da EPO foi possível de ser analisada em 714 casos, sendo evidenciada uma expressão positiva em 618 casos (86,6%) e uma expressão negativa em 96 casos (13,4%).

Nesta análise, o padrão de expressão da EPO nas células tumorais ocorreu de maneira homogênea, de modo que quando um caso teve expressão positiva, todas as células do *spot* demonstravam reação ao marcador e, quando teve expressão negativa, não houve coloração por nenhuma das células tumorais. Assim, como descrito na seção sobre a metodologia do estudo, optamos pela classificação qualitativa em expressão positiva ou negativa de cada caso.

Realizando o agrupamento desses dados, foi possível verificar que a expressão positiva de ambos os marcadores ocorreu em 366 casos (61,9%), a expressão de somente um dos marcadores, em 206 casos (34,9%) e a ausência concomitante de expressão da REN e da EPO, em apenas 19 casos (3,2%). Nos tecidos renais fenotipicamente benignos testados, tanto REN como EPO mostraram expressão em todas as amostras. A REN apresentou um padrão de expressão imuno-histoquímica difusa, porém predominantemente nuclear. Já a EPO apresentou um padrão de expressão imuno-histoquímica citoplasmático (**Figuras 7 e 8**).

Realizando uma análise descritiva de como foi a distribuição dos casos com expressão positiva ou negativa de cada marcador, ao longo do período de estudo, foi detectado que a maior proporção de casos com expressão positiva da REN ocorreu nos anos mais recentes dessa casuística ($p < 0,001$), enquanto para a EPO, os casos com expressão positiva do marcador foram significativamente mais frequentes do que os casos com expressão negativa ao longo de todo o período ($p < 0,001$) (**Figura 9**).

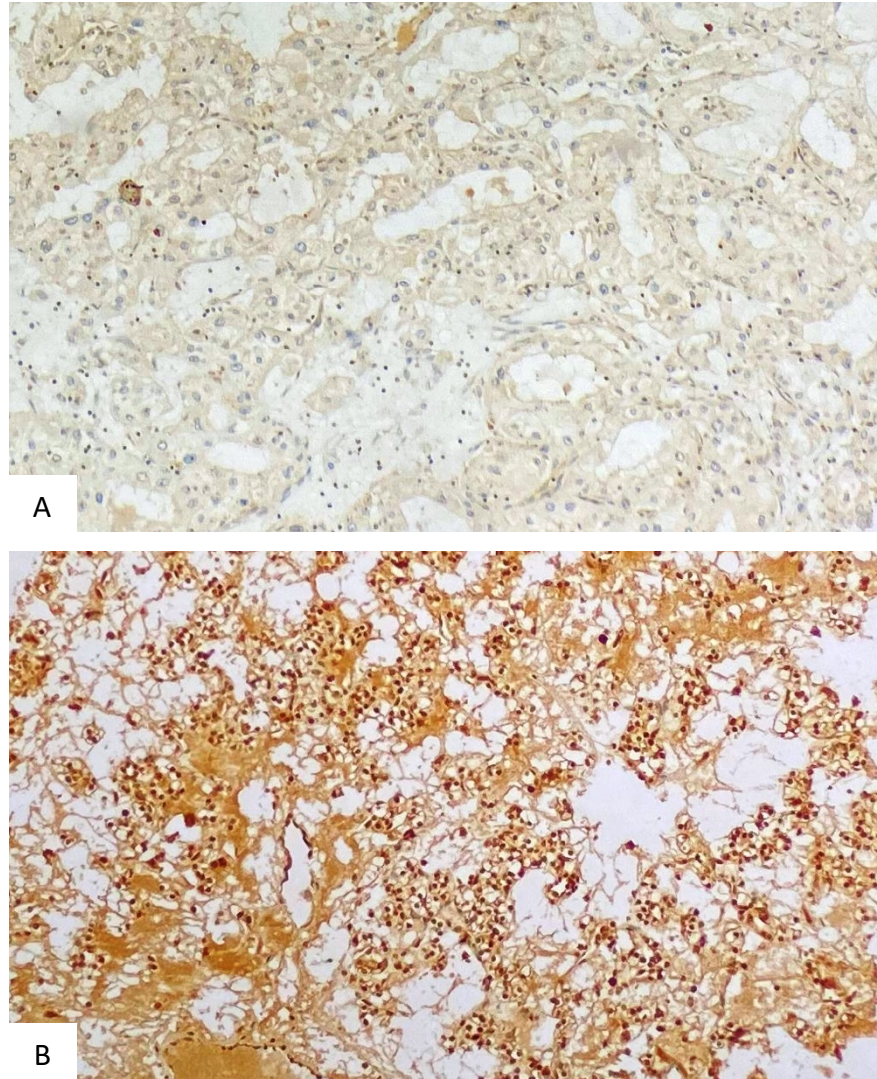


Figura 7 – Fotomicrografias exibindo a expressão imuno-histoquímica da renina em tecido renal neoplásico (Aumento original de 100x). (A): Expressão negativa. (B): Expressão positiva.

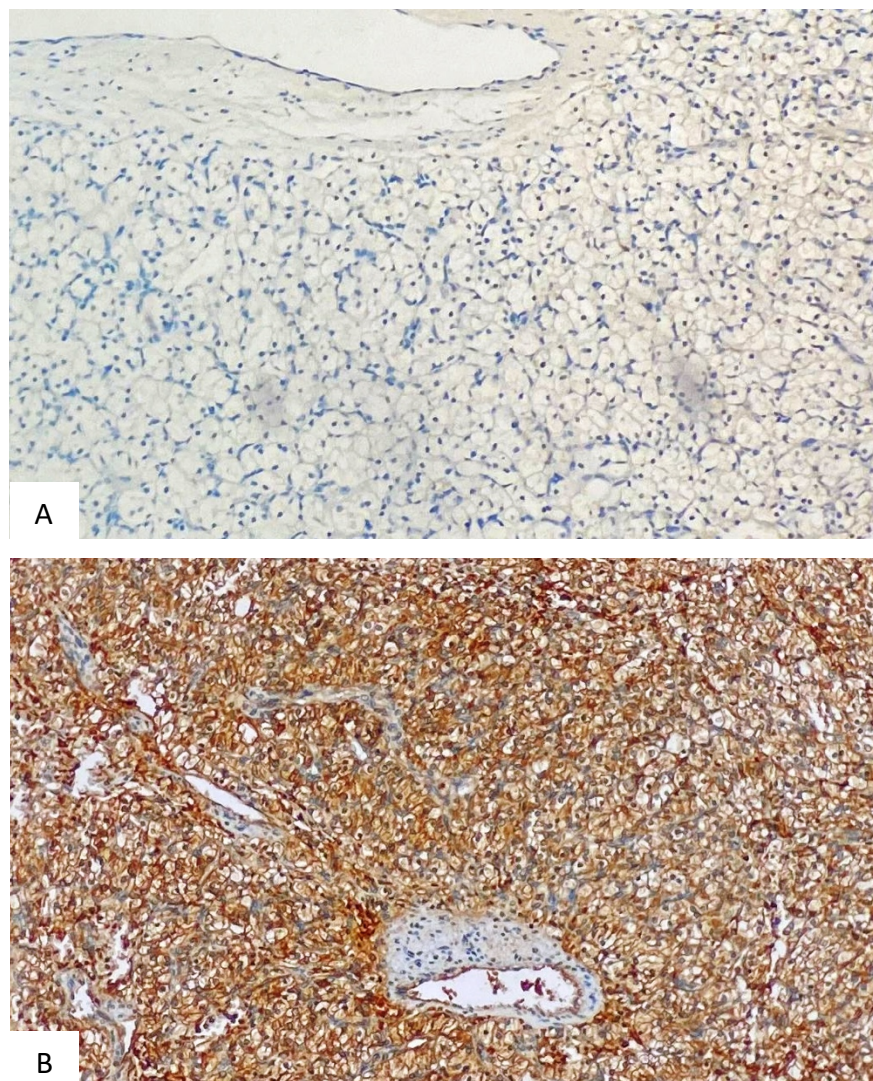


Figura 8 – Fotomicrografias exibindo a expressão imuno-histoquímica da eritropoietina em tecido renal neoplásico (Aumento original de 100x). (A): Expressão negativa. (B): Expressão positiva.

4.1.1 Análise qualitativa da expressão de REN e EPO no CCRcc não metastático

Quando analisamos a expressão qualitativa desses marcadores em associação às variáveis demográficas, clínicas e patológicas, somente nos doentes com CCRcc não metastático, evidenciamos que a ausência de expressão de REN ou de EPO associaram-se a uma população com mediana de idade significativamente mais velha.

A ausência de expressão de REN associou-se a uma maior proporção significativa de pacientes com anemia no pré-operatório ($p = 0,01$), com lesões maiores ($p < 0,001$), com uma maior proporção de casos com infiltração de gordura perirrenal ($p = 0,001$), invasão do hilo

ou seio renal ($p < 0,001$), invasão microvascular ($p = 0,003$), necrose tumoral ($p = 0,007$), maior grau nuclear ISUP ($p = 0,001$) e uma maior proporção de casos com estágio clínico III-IV ($p < 0,001$). Casos com expressão positiva para REN não tiveram doença linfonodal presente neste estudo, além de terem tido uma taxa de recorrência significativamente menor (16,1% vs 32,5%), com um valor de $p < 0,001$.

Com relação aos escores prognósticos UISS, SSIGN e GRANT, a falta de expressão de REN associou-se com casos de pior prognóstico. Já a falta de expressão de EPO somente se associou a uma maior proporção significativa de casos do grupo desfavorável no escore de GRANT (**Tabela 8 e 9**).

Ao realizarmos a combinação qualitativa desses marcadores em grupos de CCRcc não metastático com expressão de ambos (333 casos) ou com perda de expressão de pelo menos um deles (201 casos), obtivemos as associações expostas na **Tabela 10**. Por essa combinação, houve associação significativa com as mesmas variáveis da REN, exceto invasão microvascular ($p = 0,051$) e obesidade. Nos casos com expressão de ambos os marcadores foram descritos uma maior proporção de obesos (36,9% vs 26,9%).

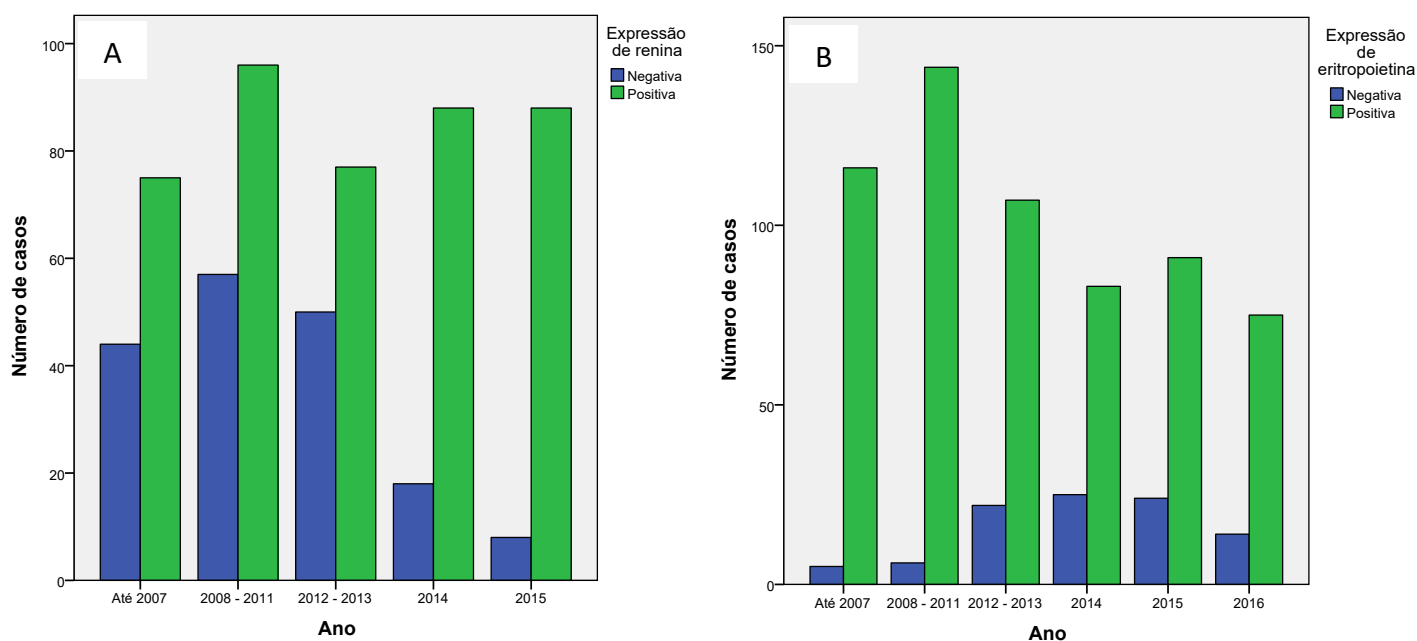


Figura 9 – Distribuição do número de casos com relação a expressão imuno-histoquímica dos marcadores ao longo do período do estudo. (A) Expressão de renina. (B) Expressão de eritropoietina.

Tabela 8 – Análise qualitativa da expressão de renina segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático.

		Expressão negativa (REN) – 152 casos <i>n</i> (%)	Expressão positiva (REN) – 392 casos <i>n</i> (%)	Valor de P *
Sexo	Masculino	101 (66.4)	245 (62.5)	0.448
	Feminino	51 (33.6)	147 (37.5)	
Idade (anos)	Mediana (IIQ)	57 (50 – 63.75)	54.5 (46 – 62.7)	0.028^a
	Amplitude	21 - 85	23 - 85	
Hipertensão	Não	55 (43.3)	189 (49.7)	0.249
	Sim	72 (56.7)	191 (50.3)	
Doença renal crônica	Não	120 (94.5)	372 (97.9)	0.067
	Sim	7 (5.5)	8 (2.1)	
Obesidade	Não	105 (72.9)	246 (64.9)	0.102
	Sim	39 (27.1)	133 (35.1)	
Tabagismo	Não	71 (53.4)	227 (60.7)	0.171
	Ex-fumante ou fumante	62 (46.6)	147 (39.3)	
Classificação ASA	1 - 2	122 (81.9)	327 (84.1)	0.631
	3 - 4	27 (18.1)	62 (15.9)	
ECOG Performance Status	0 - 1	145 (97.3)	381 (98.2)	0.508
	2 - 3	4 (2.7)	7 (1.8)	
Anemia pré-operatória (Hb < 12 g/dL)	Não	115 (83.9)	343 (92.2)	0.010
	Sim	22 (16.1)	29 (7.8)	
Tamanho tumoral (cm)	Mediana (IIQ)	5.9 (4 - 8)	3.8 (2.5 – 5.5)	< 0.001^a
	Amplitude	1.2 - 20	0.6 - 16	
Invasão de veia renal	Não	136 (90.1)	369 (94.6)	0.087
	Sim	15 (9.9)	21 (5.4)	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	127 (84.1)	363 (93.6)	0.001
	Sim	24 (15.9)	25 (6.4)	
Invasão de hilo ou seio renal	Não	116 (76.8)	351 (90.2)	< 0.001
	Sim	35 (23.2)	38 (9.8)	
Invasão microvascular	Não	130 (85.5)	366 (93.8)	0.003
	Sim	22 (14.5)	24 (6.2)	
Necrose tumoral	Não	100 (66.2)	304 (77.9)	0.007
	Sim	51 (33.8)	86 (22.1)	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	78 (51.3)	261 (66.6)	0.001
	Alto grau	74 (48.7)	131 (33.4)	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	143 (95.3)	384 (99.0)	0.138
	Sim	7 (4.7)	8 (2.0)	
Estádio pN	pN0 ou Nx	143 (94.1)	392 (100)	< 0.001
	pN+	9 (5.9)	0 (0)	
Estádio clínico AJCC	I - II	102 (67.1)	333 (85.2)	< 0.001
	III - IV	50 (32.9)	58 (14.8)	
Recorrência	Não	102 (67.5)	329 (83.9)	< 0.001
	Sim	49 (32.5)	63 (16.1)	
Tempo de seguimento (meses)	Mediana (IIQ)	63 (31 - 90)	62 (44 - 85)	0.984 ^a

Con/Tabela 8 – Análise qualitativa da expressão de renina segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático.

Escore SSIGN	Amplitude	0 - 248	0 - 230	< 0.001^a
	Mediana (IIQ)	3 (1 - 5)	1 (0 - 3)	
Escore UISS	Amplitude	0 - 13	0 - 11	< 0.001
	Risco baixo	34 (24.3)	165 (42.5)	
	Risco intermediário	80 (57.1)	193 (49.7)	
Escore GRANT	Risco alto	26 (18.6)	30 (7.7)	0.045
	Grupo favorável	117 (77.0)	332 (84.7)	
	Grupo desfavorável	35 (23.0)	60 (15.3)	

Legenda: ASA, American Society of Anesthesiologists; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; EPO, eritropoietina; GRANT, GRade, Age, Nodes, and Tumor; IIQ, Intervalo interquartil; ISUP, International Society of Urological Pathology; REN, renina; SSIGN, Stage, Size, Grade, and Necrosis; UISS, UCLA Integrated Staging System for renal cell carcinoma.

* Valor de P representa um dos testes de significância, como qui-quadrado de Pearson, correção de continuidade ou teste exato de Fisher, quando apropriado. Valores em negrito indicam significância estatística.

^a Valor de P representa o teste de Mann-Whitney. Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 9 – Análise qualitativa da expressão de eritropoietina segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático.

		Expressão negativa (EPO) – 89 casos <i>n</i> (%)	Expressão positiva (EPO) – 561 casos <i>n</i> (%)	Valor de P *
Sexo	Masculino	47 (52.8)	362 (64.5)	0.045
	Feminino	42 (47.2)	199 (35.5)	
Idade (anos)	Mediana (IIQ)	58 (50 – 65)	54 (46 – 62)	0.015^a
	Amplitude	36 - 83	21 - 88	
Hipertensão	Não	38 (43.2)	255 (48.8)	0.394
	Sim	50 (56.8)	268 (51.2)	
Doença renal crônica	Não	86 (97.7)	505 (96.6)	0.754
	Sim	2 (2.3)	18 (3.4)	
Obesidade	Não	64 (71.9)	344 (64.3)	0.202
	Sim	25 (28.1)	191 (35.7)	
Tabagismo	Não	50 (58.8)	289 (57.6)	0.922
	Ex-fumante ou fumante	35 (41.2)	213 (42.4)	
Classificação ASA	1 - 2	72 (80.9)	461 (83.2)	0.699
	3 - 4	17 (19.1)	93 (16.8)	
ECOG Performance Status	0 - 1	85 (98.8)	540 (98.2)	1.000
	2 - 3	1 (1.2)	10 (1.8)	
Anemia pré-operatória (Hb < 12 g/dL)	Não	81 (92.0)	471 (90.2)	0.733

Con/Tabela 9 – Análise qualitativa da expressão de eritropoietina segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático.

	Sim	7 (8.0)	51 (9.8)	
Tamanho tumoral (cm)	Mediana (IIQ)	4 (2.8 – 5.9)	4 (2.8 – 6.5)	0.758 ^a
	Amplitude	0.7 - 16	0.6 - 20	
Invasão de veia renal	Não	82 (93.2)	524 (94.1)	0.931
	Sim	6 (6.8)	33 (5.9)	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	76 (86.4)	499 (89.9)	0.413
	Sim	12 (13.6)	56 (10.1)	
Invasão de hilo ou seio renal	Não	75 (85.2)	476 (85.6)	1.000
	Sim	13 (14.8)	80 (14.4)	
Invasão microvascular	Não	84 (95.5)	511 (91.6)	0.298
	Sim	4 (4.5)	47 (8.4)	
Necrose tumoral	Não	61 (69.3)	413 (74.0)	0.426
	Sim	27 (30.7)	145 (26.0)	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	52 (59.1)	331 (59.0)	1.000
	Alto grau	36 (40.9)	230 (41.0)	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	83 (94.3)	533 (95.2)	0.790
	Sim	5 (5.7)	27 (4.8)	
Estádio pN	pNO ou Nx	87 (97.8)	551 (98.2)	0.674
	pN+	2 (2.2)	10 (1.8)	
Estádio clínico AJCC	I - II	70 (78.7)	447 (79.8)	0.910
	III - IV	19 (21.3)	113 (20.2)	
Recorrência	Não	75 (84.3)	446 (79.6)	0.381
	Sim	14 (15.7)	114 (20.4)	
Tempo de seguimento (meses)	Mediana (IIQ)	46 (29.5 – 62)	59 (34 – 84)	0.002^a
	Amplitude	0 - 230	0 - 248	
Escore SSIGN	Mediana (IIQ)	1 (0 – 4.75)	2 (0 – 4)	0.715 ^a
	Amplitude	0 - 11	0 - 13	
Escore UISS	Risco baixo	33 (39.8)	199 (36.8)	0.867
	Risco intermediário	42 (50.6)	285 (52.7)	
	Risco alto	8 (9.6)	57 (10.5)	
Escore GRANT	Grupo favorável	64 (72.7)	466 (83.1)	0.029
	Grupo desfavorável	24 (27.3)	95 (16.9)	

Legenda: ASA, American Society of Anesthesiologists; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; EPO, eritropoietina; GRANT, GRade, Age, Nodes, and Tumor; IIQ, Intervalo interquartil; ISUP, International Society of Urological Pathology; SSIGN, Stage, Size, Grade, and Necrosis; UISS, UCLA Integrated Staging System for renal cell carcinoma.

* Valor de P representa um dos testes de significância, como qui-quadrado de Pearson, correção de continuidade ou teste exato de Fisher, quando apropriado. Valores em negrito indicam significância estatística.

^a Valor de P representa o teste de Mann-Whitney. Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 10 – Estratificação dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático em grupos com expressão de ambos os marcadores (REN e EPO) ou perda de expressão de pelo menos um deles segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas.

		Ambos negativos ou apenas um expresso – 201 casos <i>n</i> (%)	Expressão positiva de ambos – 333 casos <i>n</i> (%)	Valor de P *
Sexo	Masculino	123 (61.2)	215 (64.6)	0.490
	Feminino	78 (38.8)	118 (35.4)	
Idade (anos)	Mediana (IIQ)	57 (49 – 63.5)	54 (46 – 62)	0.021^a
	Amplitude	21 - 85	23 - 85	
Hipertensão	Não	78 (44.1)	161 (50.2)	0.227
	Sim	99 (55.9)	160 (49.8)	
Doença renal crônica	Não	170 (96.0)	313 (97.5)	0.522
	Sim	7 (4.0)	8 (2.5)	
Obesidade	Não	141 (73.1)	202 (63.1)	0.027
	Sim	52 (26.9)	118 (36.9)	
Tabagismo	Não	100 (54.9)	192 (61.0)	0.224
	Ex-fumante ou fumante	82 (45.1)	123 (39.0)	
Classificação ASA	1 - 2	162 (81.8)	278 (84.2)	0.546
	3 - 4	36 (18.2)	52 (15.8)	
ECOG Performance Status	0 - 1	193 (97.5)	323 (98.2)	0.754
	2 - 3	5 (2.5)	6 (1.8)	
Anemia pré-operatória (Hb < 12 g/dL)	Não	160 (86.0)	289 (92.0)	0.046
	Sim	26 (14.0)	25 (8.0)	
Tamanho tumoral (cm)	Mediana (IIQ)	5 (3.5 – 7.5)	4 (2.5 – 5.5)	< 0.001^a
	Amplitude	0.7 - 20	0.6 – 14.5	
Invasão de veia renal	Não	181 (90.5)	314 (94.9)	0.078
	Sim	19 (9.5)	17 (5.1)	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	172 (86.0)	308 (93.6)	0.006
	Sim	28 (14.0)	21 (6.4)	
Invasão de hilo ou seio renal	Não	162 (81.0)	295 (89.4)	0.010
	Sim	38 (19.0)	35 (10.6)	
Invasão microvascular	Não	177 (88.1)	309 (93.4)	0.051
	Sim	24 (11.9)	22 (6.6)	
Necrose tumoral	Não	135 (67.5)	259 (78.2)	0.008
	Sim	65 (32.5)	72 (21.8)	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	111 (55.2)	222 (66.7)	0.011
	Alto grau	90 (44.8)	111 (33.3)	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	192 (96.0)	326 (97.9)	0.311
	Sim	8 (4.0)	7 (2.1)	
Estádio pN	pN0 ou Nx	192 (95.5)	333 (100)	< 0.001
	pN+	9 (4.5)	0 (0)	

Con/Tabela 10 – Estratificação dos pacientes portadores de CCRcc não-metastático em grupos com expressão de ambos os marcadores (REN e EPO) ou perda de expressão de pelo menos um deles segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas.

Estádio clínico AJCC	I - II	145 (72.1)	281 (84.6)	0.001
	III - IV	56 (27.9)	51 (15.4)	
Recorrência	Não	147 (73.1)	276 (82.9)	0.010
	Sim	54 (26.9)	57 (17.1)	
Tempo de seguimento (meses)	Mediana (IIQ)	61 (33 – 81.75)	63.5 (48 – 90.75)	0.054 ^a
	Amplitude	0 - 248	0 - 213	
Escore SSIGN	Mediana (IIQ)	3 (0 - 5)	1 (0 – 3)	< 0.001^a
	Amplitude	0 - 13	0 - 9	
Escore UISS	Risco baixo	58 (30.7)	136 (41.3)	0.003
	Risco intermediário	101 (53.4)	168 (51.1)	
	Risco alto	30 (15.9)	25 (7.6)	
Escore GRANT	Grupo favorável	155 (77.1)	287 (86.2)	0.010
	Grupo desfavorável	46 (22.9)	46 (13.8)	

Legenda: ASA, American Society of Anesthesiologists; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; EPO, eritropoietina; GRANT, GRade, Age, Nodes, and Tumor; IQR, Interquartile range; ISUP, International Society of Urological Pathology; REN, renina; SSIGN, Stage, Size, Grade, and Necrosis; UISS, UCLA Integrated Staging System for renal cell carcinoma.

* Valor de P representa um dos testes de significância, como qui-quadrado de Pearson, correção de continuidade ou teste exato de Fisher, quando apropriado. Valores em negrito indicam significância estatística.

^a Valor de P representa o teste de Mann-Whitney. Valores em negrito indicam significância estatística.

4.2 REAÇÕES IMUNO-HISTOQUÍMICAS DA CATEPSINA D

Do total de 729 casos, a análise imuno-histoquímica da CTSD foi avaliável em 692 casos. Agrupando a média de expressão semiquantitativa das amostras duplicadas obtivemos apenas três casos (0,4%) sem qualquer expressão do marcador, 403 casos (58,2%) exibindo fraca expressão (casos com grau de expressão 1-2+), além de 286 casos (41,3%) com forte expressão (casos com grau de expressão 3-4+). As **Figuras 10 e 11** demonstram, respectivamente, fotomicrografias exemplificando um caso com ausência de expressão do marcador e casos classificados como grau de expressão 1 a 4+.

A avaliação da média do grau de expressão da CTSD nos casos de CCR e nas amostras de tecido benigno (não neoplásico) adjacentes foram semelhantes ($p=0,175$). A média do grau de expressão nos casos de CCR foi de 2,24 ($dp=0,928$; mediana=2) e nos casos de tecido benigno foi de 2,32 ($dp=0,772$ e mediana=2) (**Figura 12**).

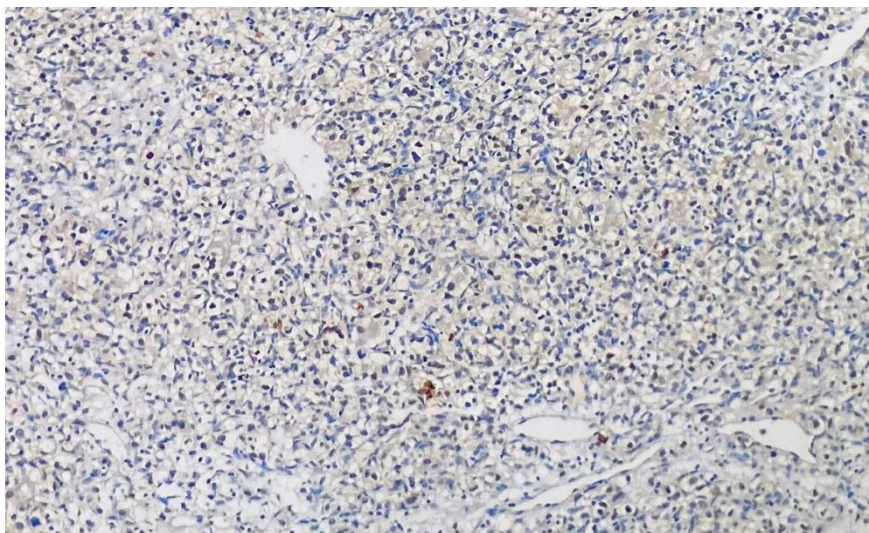


Figura 10 – Fotomicrografia exibindo um caso com ausência de expressão imuno-histoquímica da catepsina D em tecido renal neoplásico (Aumento original de 100x).

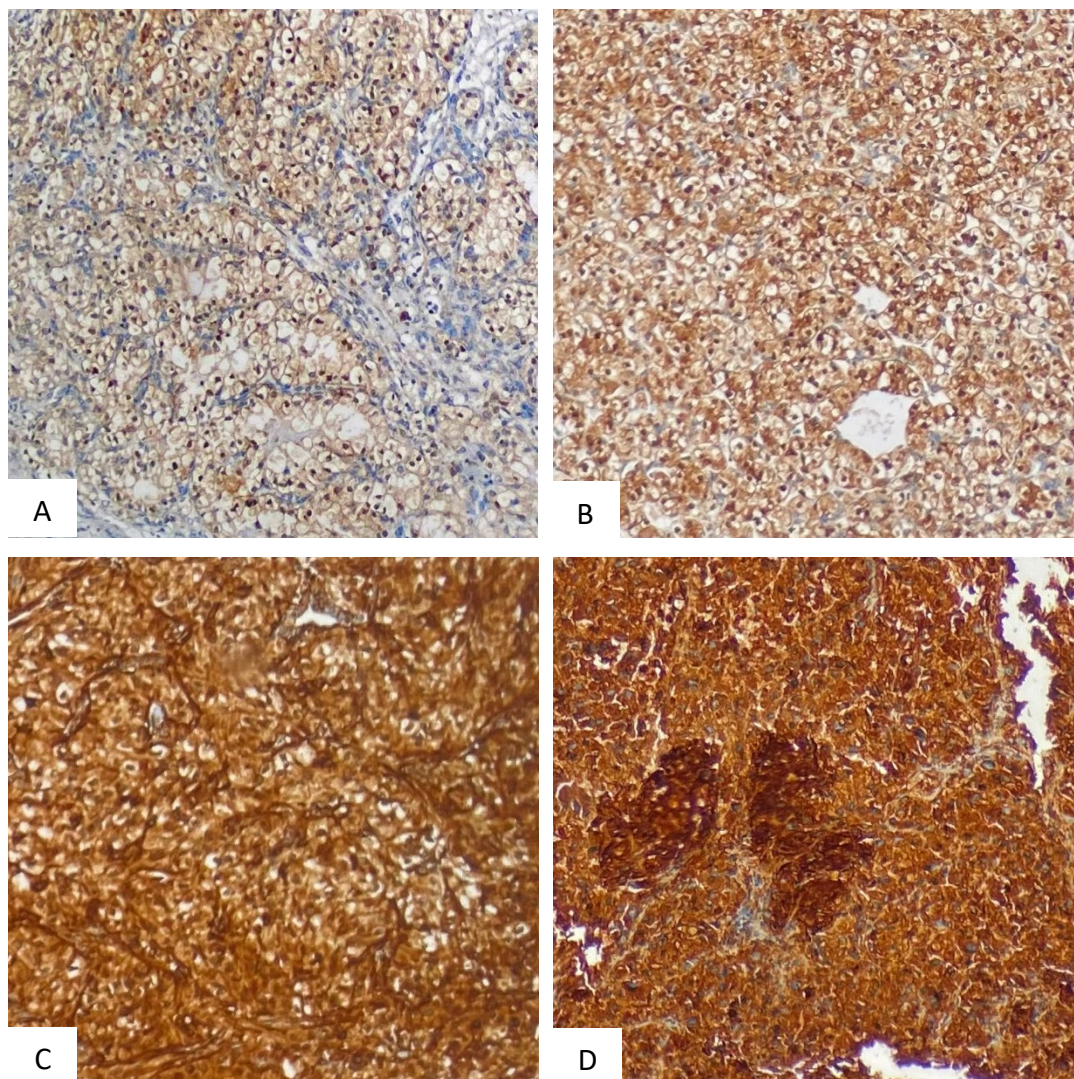


Figura 11 – Fotomicrografias exibindo a expressão imuno-histoquímica da catepsina D em tecido renal neoplásico (Aumento original de 100x). (A): Grau de expressão 1+. (B): Grau de expressão 2+. (C): Grau de expressão 3+. (D): Grau de expressão 4+.

A análise da distribuição dos casos entre o grupo com expressão fraca ou ausente em comparação com o grupo com expressão forte da CTSD, ao longo do período de estudo, demonstrou uma diferença significativa, particularmente nos dois últimos anos do estudo ($p < 0,001$) (**Figura 13**).

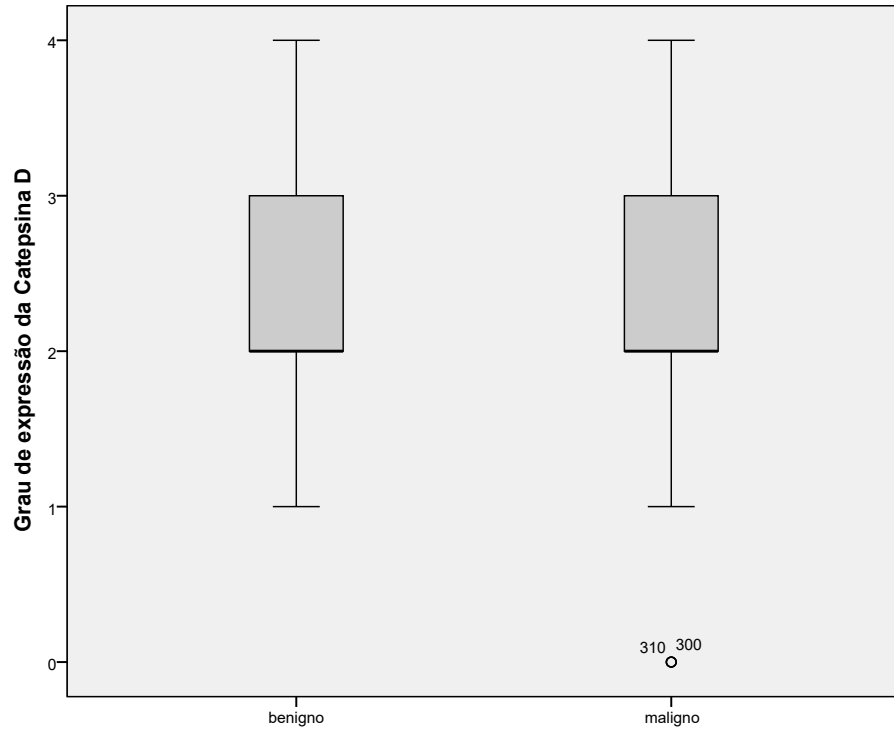


Figura 12 – Gráfico descritivo de *Boxplot* demonstrando grau de expressão da catepsina D no CCR e nas amostras de tecido renal não neoplásico ($p=0,175$).

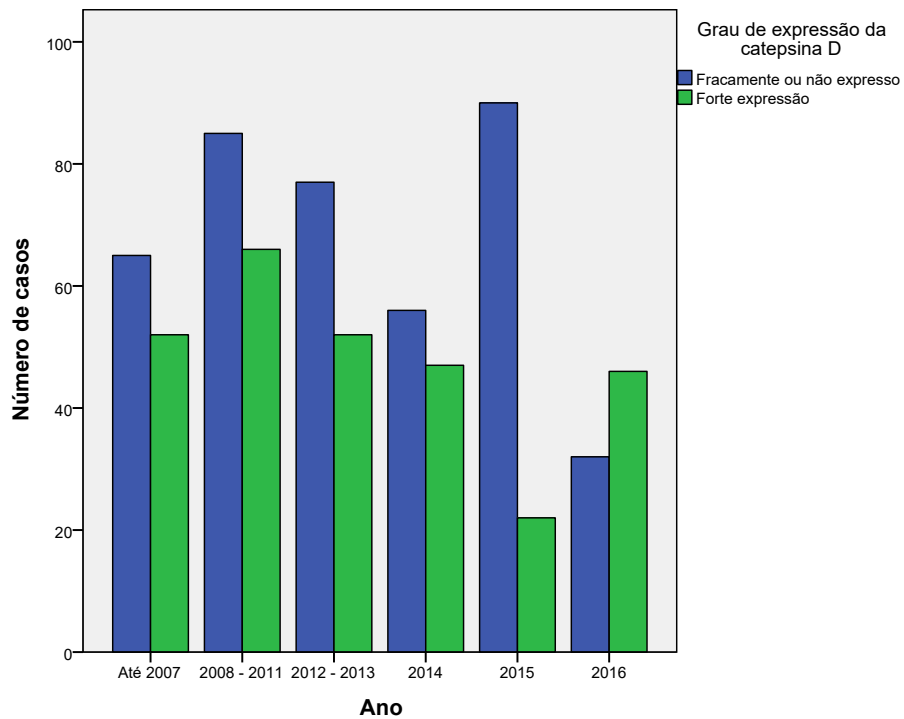


Figura 13 – Distribuição dos casos com relação a expressão imuno-histoquímica da catepsina D ao longo do período do estudo.

4.2.1 Análise qualitativa da expressão de CTSD no CCRcc não metastático

Ao se analisar a expressão qualitativa da CTSD em associação às variáveis demográficas, clínicas e patológicas, somente nos doentes com CCRcc não metastático, evidenciou-se uma população com idade discretamente maior, embora estatisticamente significativa, no grupo com forte expressão do marcador. Esse grupo também demonstrou maior quantidade de doentes renais crônicos, tabagistas/ex-tabagistas, além de maior número de pacientes com anemia no pré-operatório, em comparação ao grupo com expressão fraca ou ausente da CTSD (**Tabela 11**).

Do ponto de vista da comparação das variáveis patológicas, o grupo com forte expressão da CTSD demonstrou estar associado a uma série de fatores de pior prognóstico, como infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo ou seio renal, invasão microvascular, necrose tumoral, alto grau nuclear de ISUP e maior presença de acometimento linfonodal, como visto na **Tabela 11**.

Desse modo, os escores prognósticos UISS, SSIGN e GRANT foram de pior risco no grupo de casos com forte expressão da CTSD.

Tabela 11 – Análise qualitativa da expressão de catepsina D segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não metastático.

		Fraca expressão (CTSD) – 378 casos n (%)	Forte expressão (CTSD) – 253 casos n (%)	Valor de P *
Sexo	Masculino	230 (60.8)	166 (65.6)	0.259
	Feminino	148 (39.2)	87 (34.4)	
Idade (anos)	Mediana (IIQ)	54 (45 – 62)	56 (48 - 63)	0.041^a
	Amplitude	23 - 85	21 - 85	
Hipertensão	Não	183 (51.4)	104 (44.1)	0.096
	Sim	173 (48.6)	132 (55.9)	
Doença renal crônica	Não	352 (98.9)	221 (93.6)	0.001
	Sim	4 (1.1)	15 (6.4)	
Obesidade	Não	244 (66.8)	156 (64.5)	0.603
	Sim	121 (33.2)	86 (35.5)	
Tabagismo	Não	215 (61.4)	115 (51.3)	0.022
	Ex-fumante ou fumante	135 (38.6)	109 (48.7)	
Classificação ASA	1 - 2	316 (84.5)	201 (80.4)	0.222
	3 - 4	58 (15.5)	49 (19.6)	
ECOG Performance Status	0 - 1	365 (97.9)	242 (98.8)	0.540
	2 - 3	8 (2.1)	3 (1.2)	

Con/Tabela 11 – Análise qualitativa da expressão de catepsina D segundo variáveis clínicas, demográficas e patológicas dos pacientes portadores de CCRcc não metastático.

Anemia pré-operatória (<i>Hb</i> < 12 g/dL)	Não	340 (93.9)	195 (84.4)	< 0.001
	Sim	22 (6.1)	36 (15.6)	
Tamanho tumoral (cm)	Mediana (IIQ)	3.8 (2.5 – 5.5)	5 (5.5 – 7)	< 0.001^a
	Amplitude	0.6 - 16	0.7 – 20	
Invasão de veia renal	Não	356 (94.7)	231 (92.4)	0.323
	Sim	20 (5.3)	19 (7.6)	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	346 (92.3)	212 (85.1)	0.007
	Sim	29 (7.7)	37 (14.9)	
Invasão de hilo ou seio renal	Não	338 (89.9)	197 (79.1)	< 0.001
	Sim	38 (10.1)	52 (20.9)	
Invasão microvascular	Não	358 (94.7)	219 (88.0)	0.004
	Sim	20 (5.3)	30 (12.0)	
Necrose tumoral	Não	300 (79.6)	161 (64.4)	< 0.001
	Sim	77 (20.4)	89 (35.6)	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	258 (68.3)	111 (44.0)	< 0.001
	Alto grau	120 (31.7)	141 (56.0)	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	363 (96.0)	234 (93.2)	0.167
	Sim	15 (4.0)	17 (6.8)	
Estádio pN	pN0 ou Nx	376 (99.5)	243 (96.0)	0.005
	pN+	2 (0.5)	10 (4.0)	
Estádio clínico AJCC	I - II	322 (85.2)	179 (71.0)	< 0.001
	III - IV	56 (14.8)	73 (29.0)	
Recorrência	Não	320 (84.9)	185 (73.1)	< 0.001
	Sim	547 (15.1)	68 (26.9)	
Tempo de seguimento (meses)	Mediana (IIQ)	59 (38.5 – 82)	53 (29 – 77)	0.096 ^a
	Amplitude	0 - 248	0 - 203	
Escore SSIGN	Mediana (IIQ)	1 (0 - 3)	3 (1 – 5)	< 0.001^a
	Amplitude	0 - 12	0 - 13	
Escore UISS	Risco baixo	159 (42.9)	65 (27.7)	0.001
	Risco intermediário	178 (48.0)	140 (59.6)	
	Risco alto	34 (9.2)	30 (12.8)	
Escore GRANT	Grupo favorável	325 (86.0)	186 (73.8)	< 0.001
	Grupo desfavorável	53 (14.0)	66 (26.2)	

Legenda: ASA, American Society of Anesthesiologists; CTSD, Catepsina D; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; GRANT, GRade, Age, Nodes, and Tumor; IIQ, Intervalo interquartil; ISUP, International Society of Urological Pathology; SSIGN, Stage, Slze, Grade, and Necrosis; UISS, UCLA Integrated Staging System for renal cell carcinoma.

* Valor de P representa um dos testes de significância, como qui-quadrado de Pearson, correção de continuidade ou teste exato de Fisher, quando apropriado. Valores em negrito indicam significância estatística.

^a Valor de P representa o teste de Mann-Whitney. Valores em negrito indicam significância estatística.

4.3 ANÁLISES DE SOBREVIDA DA EPO E REN

Realizamos análises de sobrevida com os desfechos oncológicos em 10 anos dos pacientes com CCRcc não metastático para as sobrevidas global (SG), câncer-específica (SCE) e sobrevida livre de recorrência (SLR).

4.3.1 Sobrevida global

Considerando todo o período de seguimento dos casos com CCRcc não metastático, o tempo médio de SG foi de 162,5 meses (SE = 11,878; IC95% = 139,22-185,78 meses) no grupo com falta de expressão de pelo menos um dos marcadores e de 179,96 meses (SE = 5,573; IC95% = 169,03-190,88 meses) no grupo com expressão de ambos. A SG em 5 anos foi 84,2% e 91,4% e, em 10 anos, de 52,7% e 74,2%, em cada um desses grupos, respectivamente. As **Figuras 14, 15 e 16** representam as curvas de Kaplan-Meier para SG considerando o padrão de expressão qualitativa da REN, da EPO e da combinação de ambas, respectivamente.

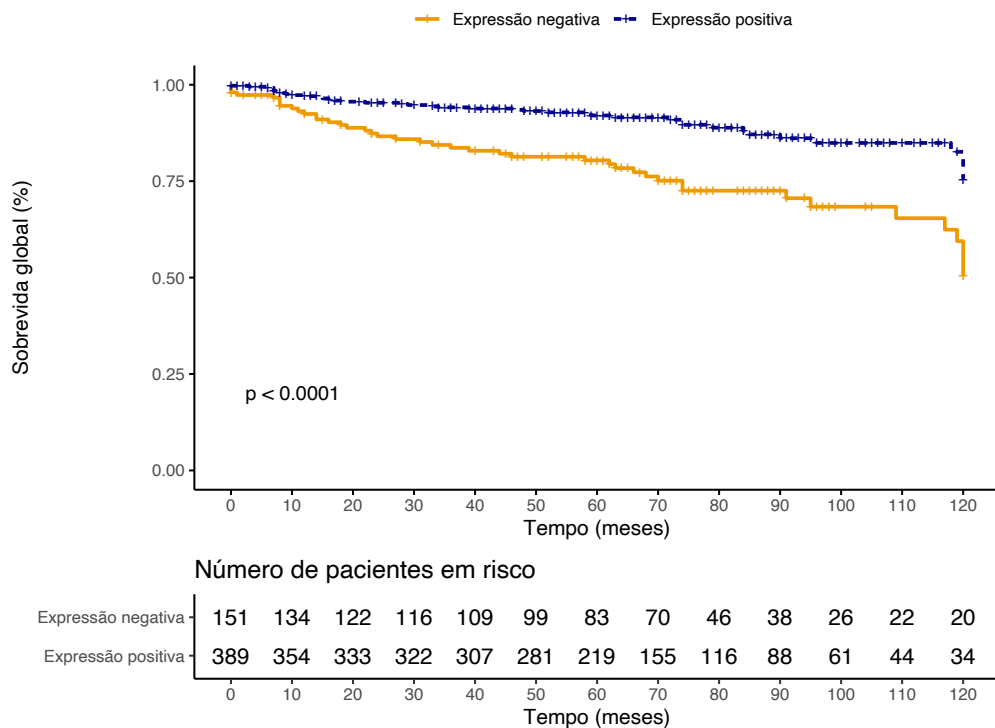


Figura 14 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com a expressão qualitativa de renina em doentes com CCRcc não metastático.

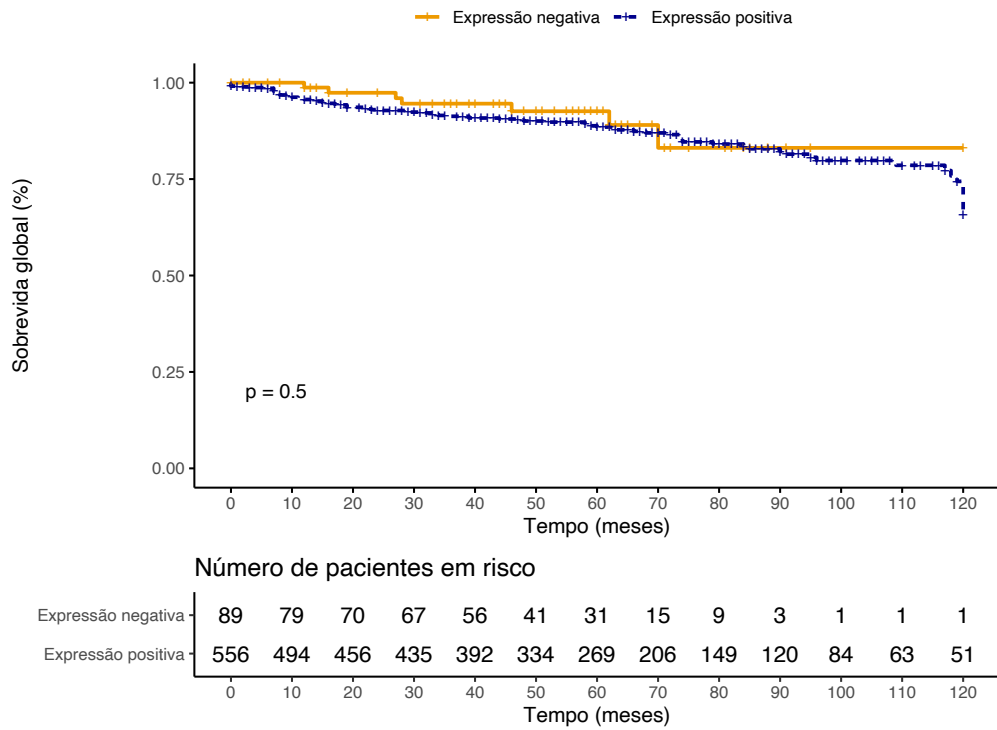


Figura 15 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com a expressão qualitativa de eritropoietina em doentes com CCRc não metastático.

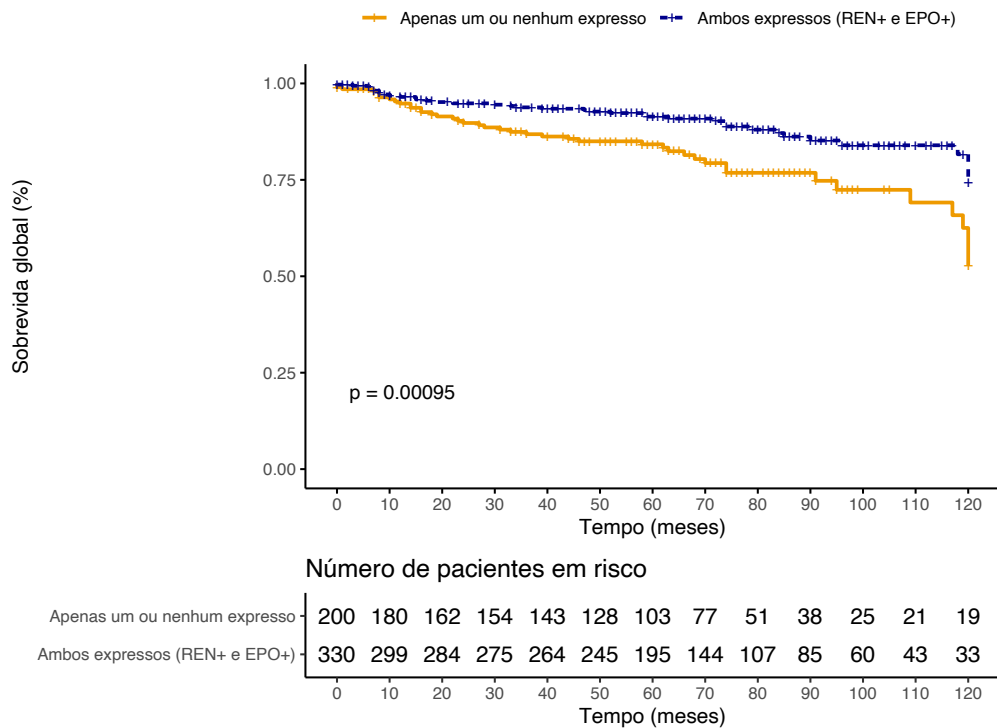


Figura 16 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com a expressão de ambos os marcadores ou a ausência de expressão de pelo menos um dos marcadores REN e/ou EPO em doentes com CCRc não metastático.

Realizando uma regressão logística de Cox para avaliação de risco das variáveis clínicas e patológicas que influenciaram na SG em 10 anos, identificamos, em uma análise simples, que foram significativas as categorias de idade ≥ 55 anos, tumores > 7 cm, classificação de ASA 3 – 4, escala de performance ECOG 2 – 3, invasão de veia renal, infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo ou seio renal, invasão microvascular, presença de necrose tumoral, alto grau nuclear ISUP, presença de componente sarcomatóide/rabdóide, presença de doença linfonodal em comparação com os doentes pN0 ou Nx e o estágio clínico III – IV (**Tabela 12**).

Com relação aos marcadores do estudo, a perda de expressão da REN resultou em um *hazard ratio* (HR) de 2,609 ($p < 0,001$) e a expressão da EPO não foi um fator de risco significativo. Quando categorizadas as combinações de expressão desses marcadores e, tendo como referência os casos com expressão positiva de ambos, os dezenove casos com dupla perda de expressão dos marcadores associaram-se a um HR = 3,444 ($p = 0,019$).

Para a análise múltipla, foi realizado um modelo de regressão logística de Cox. Permaneceram como fatores de risco independentes, nesse modelo, a idade ≥ 55 anos, a classificação de ASA 3 – 4, o tamanho tumoral > 7 cm, a infiltração de gordura perirrenal, a presença de necrose tumoral e o alto grau nuclear ISUP. Na combinação de expressão dos marcadores, apenas os casos com perda de expressão da renina (REN-) com eritropoietina positiva (EPO+) associaram-se significativamente a um HR = 2,086, tendo como referência os casos com expressão de ambos os marcadores (**Tabela 13**).

Tabela 12 – Análise simples do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise simples		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	< 0.001
	≥ 55	3.356	2.019 – 5.577	
Tamanho tumoral (cm)	≤ 7 cm	1	-	< 0.001
	> 7 cm	4.238	2.773 – 6.476	
Classificação de ASA	1 - 2	1	-	< 0.001
	3 - 4	3.807	2.459 – 5.893	
ECOG Performance Score	0 - 1	1	-	0.025

Con/Tabela 12 – Análise simples do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

	2 - 3	3.144	1.152 – 8.581	
Invasão de veia renal	Não	1	-	< 0.001
	Sim	3.215	1.780 – 5.806	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	< 0.001
	Sim	3.766	2.325 – 6.097	
Invasão de hilo ou seio renal	Não	1	-	< 0.001
	Sim	3.159	1.978 – 5.045	
Invasão microvascular	Não	1	-	< 0.001
	Sim	4.668	2.819 – 7.728	
Necrose tumoral	Não	1	-	< 0.001
	Sim	3.111	2.016 – 4.802	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	1	-	< 0.001
	Alto grau	2.669	1.735 – 4.105	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	1	-	0.018
	Sim	2.557	1.174 – 5.568	
Estádio pN	pN0 ou Nx	1	-	0.001
	pN+	4.994	2.014 – 12.383	
Estádio clínico AJCC	I/II	1	-	< 0.001
	III/IV	3.800	2.491 – 5.796	
Expressão de REN	Expressão positiva	1	-	< 0.001
	Expressão negativa	2.609	1.690 – 4.028	
Expressão de EPO	Expressão positiva	1	-	0.506
	Expressão negativa	0.767	0.352 – 1.673	
Expressão de EPO e REN	Ambos expressos	1	-	0.001
	Expressão de apenas um ou nenhum	2.049	1.324 – 3.172	
Expressão de EPO e REN	Expressão de ambos	1	-	-
	REN- e EPO+	2.424	1.540 – 3.815	< 0.001
	REN+ e EPO-	0.435	0.105 – 1.809	0.252
	Expressão negativa de ambos	3.444	1.221 – 9.710	0.019

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; ECOG, *Eastern Cooperative Oncology Group*; EPO, eritropoietina; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; ISUP, *International Society of Urological Pathology*; REN, renina.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 13 – Modelo de análise múltipla do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,006
	≥ 55	2,355	1,278 – 4,338	
Classificação ASA	1 - 2	1	-	< 0,001
	3 - 4	4,391	2,632 – 7,326	
Tamanho tumoral (cm)	≤ 7 cm	1	-	0,001
	> 7 cm	2,357	1,433 – 3,877	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	0,001
	Sim	2,513	1,459 – 4,328	
Necrose tumoral	Não	1	-	0,001
	Sim	2,338	1,392 – 3,927	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	1	-	0,040
	Alto grau	1,720	1,025 – 2,887	
Expressão de REN e EPO	REN+ e EPO+	1	-	-
	REN+ e EPO-	0,294	0,069 – 1,254	0,098
	REN- e EPO+	2,086	1,287 – 3,380	0,003
	REN- e EPO-	2,116	0,719 – 6,225	0,174

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; EPO, eritropoietina; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; ISUP, *International Society of Urological Pathology*; REN, renina.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

4.3.2 Sobrevida câncer específica

Considerando todo o período de seguimento do estudo, a SCE média do grupo com falta de expressão de pelo menos um dos marcadores foi de 174,78 meses (SE = 12,133; IC95% = 151,01-198,56 meses), cuja SCE em 5 anos foi de 86,8% (SE = 0,026) e, em 10 anos, de 59,4% (SE = 0,077). Para o grupo com expressão de ambos os marcadores, o tempo de SCE médio foi de 192,44 meses (SE = 4,654; IC95% = 183,32-201,56 meses), a SCE em 5 anos foi de 95,5% (SE = 0,012) e, em 10 anos, de 85,7% (SE = 0,037). As **Figuras 17, 18 e 19** representam as curvas de Kaplan-Meier para SCE, considerando o padrão de expressão qualitativa da REN, da EPO e da combinação de ambas, respectivamente.

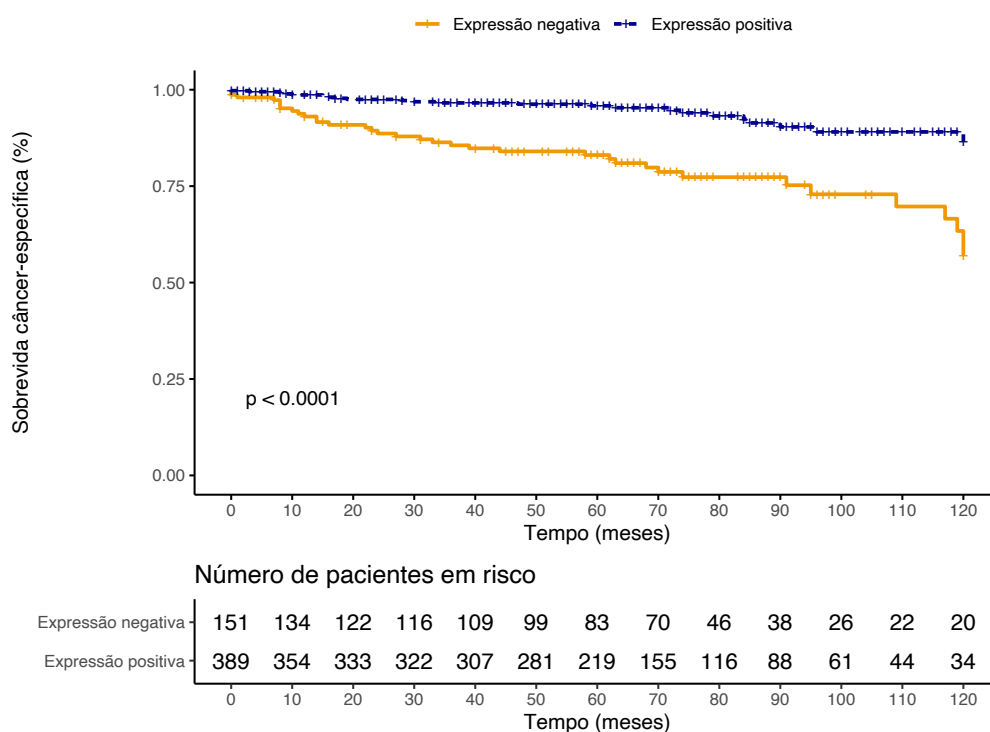


Figura 17 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses estratificada de acordo com a expressão qualitativa de renina em doentes com CCRcc não metastático.

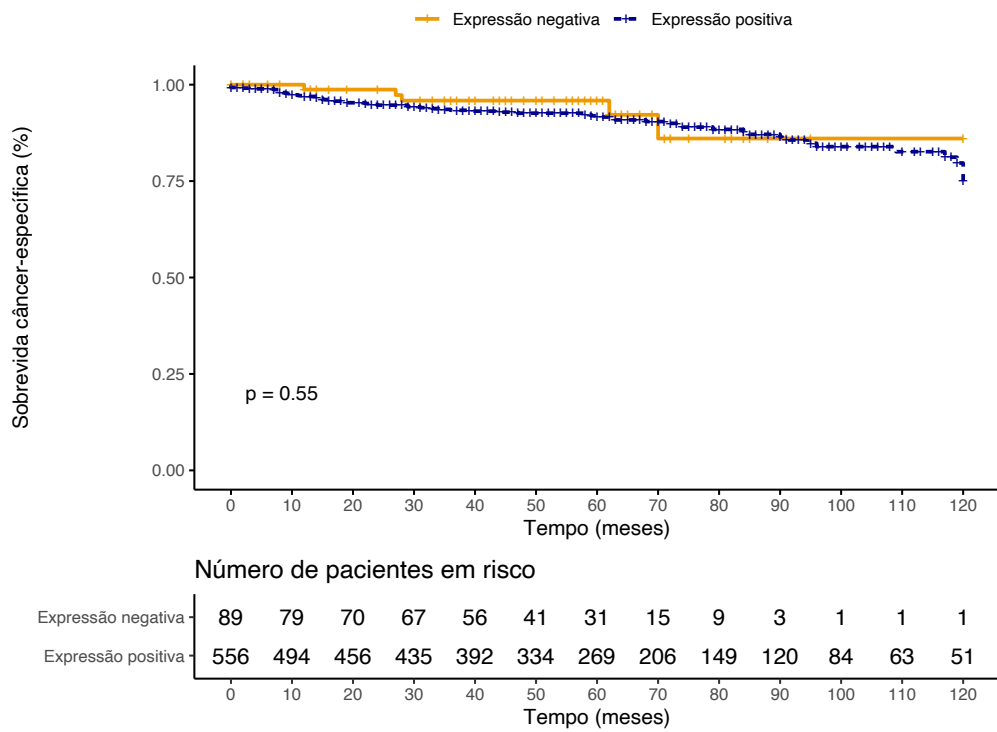


Figura 18 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses de acordo com a expressão de eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático.

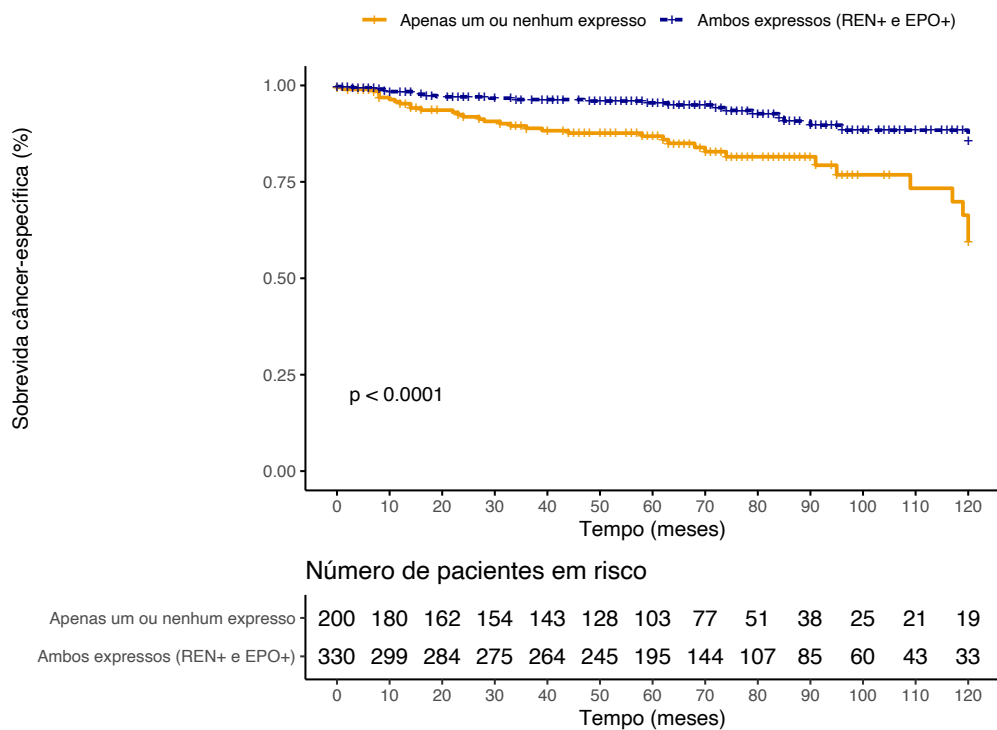


Figura 19 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses estratificada de acordo com a expressão de ambos os marcadores ou a ausência de expressão de pelo menos um dos marcadores REN e/ou EPO em doentes com CCRcc não metastático.

Realizando uma regressão logística de Cox, para avaliação de risco das variáveis clínicas e patológicas que influenciaram na SCE em 10 anos, identificamos, em uma análise simples, que foram significativas as mesmas variáveis que já demonstraram ser fatores preditores na análise de SG (**Tabela 14**).

Com relação aos marcadores do estudo, a perda de expressão da REN resultou em um *hazard ratio* (HR) de 3,797 ($p < 0,001$) e a expressão da EPO não foi um fator de risco significativo. Quando categorizadas as combinações de expressão desses marcadores e, tendo como referência os casos com expressão positiva de ambos, os dezenove casos com dupla perda de expressão dos marcadores associaram-se a um HR = 4,497 ($p = 0,015$).

Na análise múltipla, permaneceram como fatores de risco independentes, nesse modelo, a idade ≥ 55 anos, a classificação de ASA 3 – 4, o tamanho tumoral > 7 cm, a infiltração de gordura perirrenal e a presença de necrose tumoral. Na combinação de expressão dos marcadores, apenas os casos com perda de expressão da renina (REN-) com eritropoietina positiva (EPO+) associaram-se significativamente a um HR = 3,169, tendo como referência os casos com expressão de ambos os marcadores (**Tabela 15**).

Tabela 14 – Análise simples do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise simples		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	< 0.001
	≥ 55	3.618	1.968 – 6.653	
Tamanho tumoral (cm)	≤ 7 cm	1	-	< 0.001
	> 7 cm	6.437	3.920 – 10.571	
Classificação de ASA	1 - 2	1	-	< 0.001
	3 - 4	3.099	1.827 – 5.256	
ECOG Performance Score	0 - 1	1	-	0.047
	2 - 3	3.239	1.015 – 10.336	
Invasão de veia renal	Não	1	-	< 0.001
	Sim	4.406	2.344 – 8.283	

Con/Tabela 14 – Análise simples do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	< 0.001
	Sim	4.920	2.871 – 8.429	
Invasão de hilo ou seio renal	Não	1	-	< 0.001
	Sim	4.309	2.550 – 7.283	
Invasão microvascular	Não	1	-	< 0.001
	Sim	5.267	2.971 – 9.338	
Necrose tumoral	Não	1	-	< 0.001
	Sim	4.266	2.563 – 7.101	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	1	-	< 0.001
	Alto grau	2.804	1.687 – 4.659	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	1	-	0.001
	Sim	3.738	1.689 – 8.275	
Estádio pN	pN0 ou Nx	1	-	0.001
	pN+	5.329	1.926 – 14.746	
Estádio clínico AJCC	I/II	1	-	< 0.001
	III/IV	5.577	3.390 – 9.174	
Expressão de REN	Expressão positiva	1	-	< 0.001
	Expressão negativa	3.797	2.241 – 6.433	
Expressão de EPO	Expressão positiva	1	-	0.551
	Expressão negativa	0.755	0.301 – 1.899	
Expressão de EPO e REN	Ambos expressos	1	-	< 0.001
	Expressão de apenas um ou nenhum	2.900	1.701 – 4.946	
Expressão de EPO e REN	Expressão de ambos	1	-	-
	REN- e EPO+	3.523	2.038 – 6.088	< 0.001
	REN+ e EPO-	0.379	0.051 – 2.821	0.343
	Expressão negativa de ambos	4.497	1.335 – 15.147	0.015

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; ECOG, *Eastern Cooperative Oncology Group*; EPO, eritropoietina; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; ISUP, *International Society of Urological Pathology*; REN, renina.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 15 – Modelo de análise múltipla do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,004
	≥ 55	3,224	1,459 – 7,123	
Classificação ASA	1 - 2	1	-	< 0,001
	3 - 4	4,060	2,139 – 7,706	
Tamanho tumoral (cm)	≤ 7 cm	1	-	< 0,001
	> 7 cm	4,294	2,380 – 7,747	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	< 0,001
	Sim	3,148	1,691 – 5,861	
Necrose tumoral	Não	1	-	< 0,001
	Sim	4,409	2,394 – 8,119	
Expressão de REN e EPO	REN+ e EPO+	1	-	-
	REN+ e EPO-	0,191	0,025 – 1,481	0,113
	REN- e EPO+	3,169	1,733 – 5,794	< 0,001
	REN- e EPO-	1,839	0,520 – 6,508	0,345

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; EPO, eritropoietina; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; ISUP, *International Society of Urological Pathology*; REN, renina.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

4.3.3 Sobrevida livre de recorrência

Já para o tempo médio de SLR ao longo do período do estudo, esse valor foi também menor no grupo com falta de expressão de pelo menos um dos marcadores, sendo de 142,90 meses (SE = 12,251; IC95% = 118,89-166,91 meses), em comparação com o grupo com expressão de ambos, que foi de 168,99 meses (SE = 5,998; IC95% = 157,23-180,74 meses). No primeiro grupo, a SLR em 5 anos foi de 76% (SE = 0,033) e, em 10 anos, de 48,1% (SE = 0,076). No segundo grupo, a SLR em 5 anos foi de 82,8% (SE = 0,023) e, em 10 anos, de 72,5% (SE = 0,047). Da mesma forma que nos desfechos anteriores, as **Figuras 20, 21 e 22** representam as curvas para SLR nos grupos da REN, da EPO e de ambas, respectivamente.

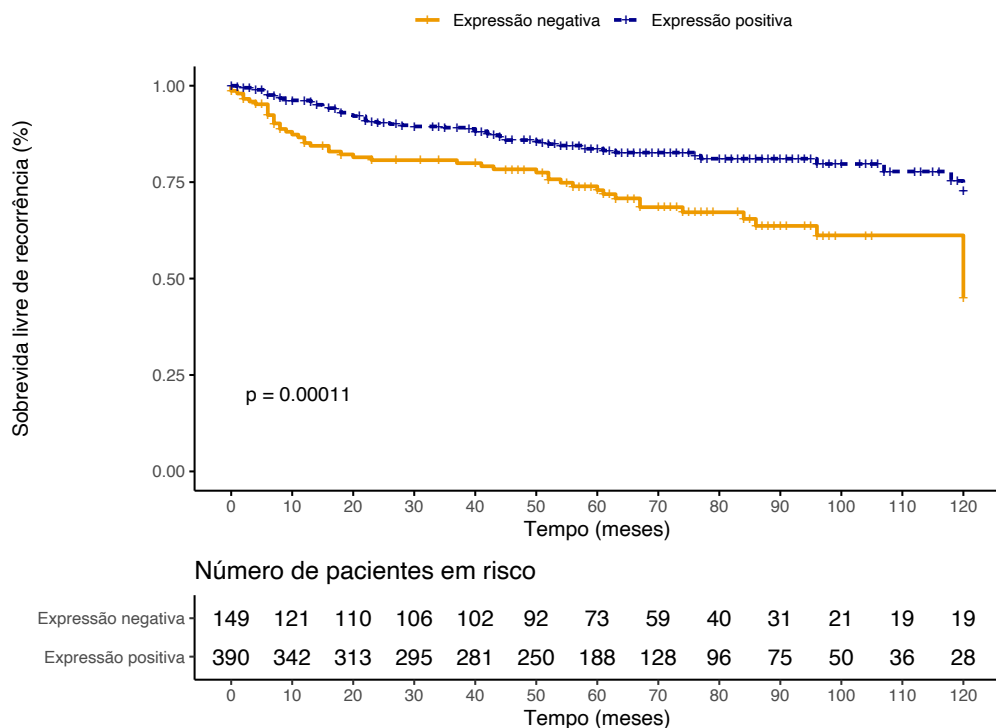


Figura 20 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com a expressão qualitativa de renina em doentes com CCRcc não metastático.

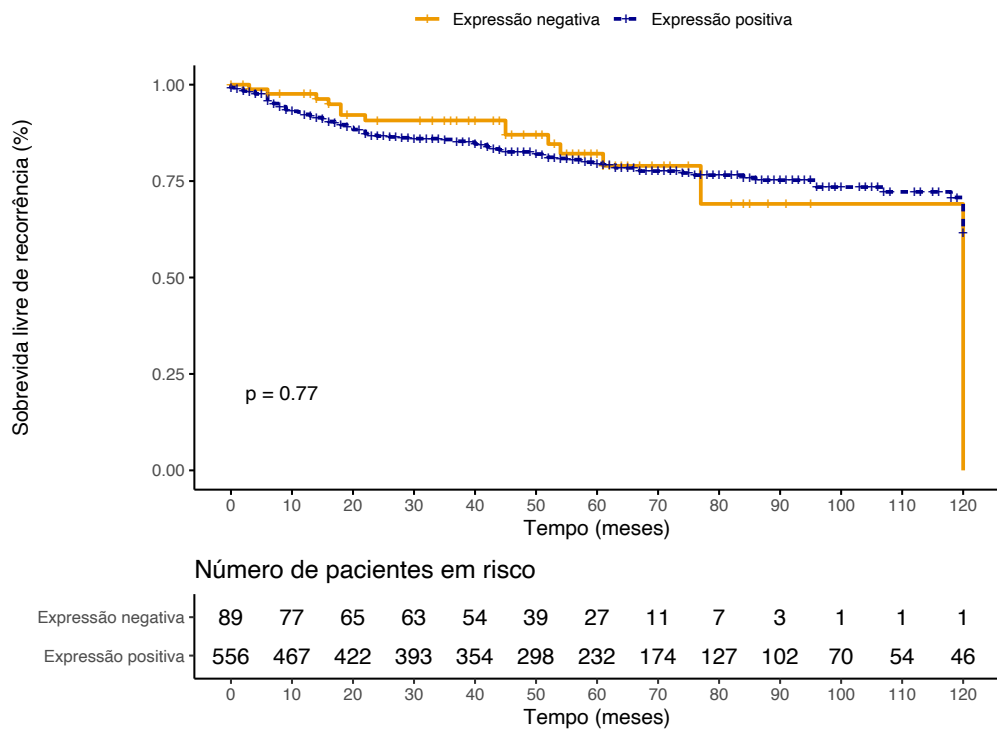


Figura 21 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses de acordo com a expressão de eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático.

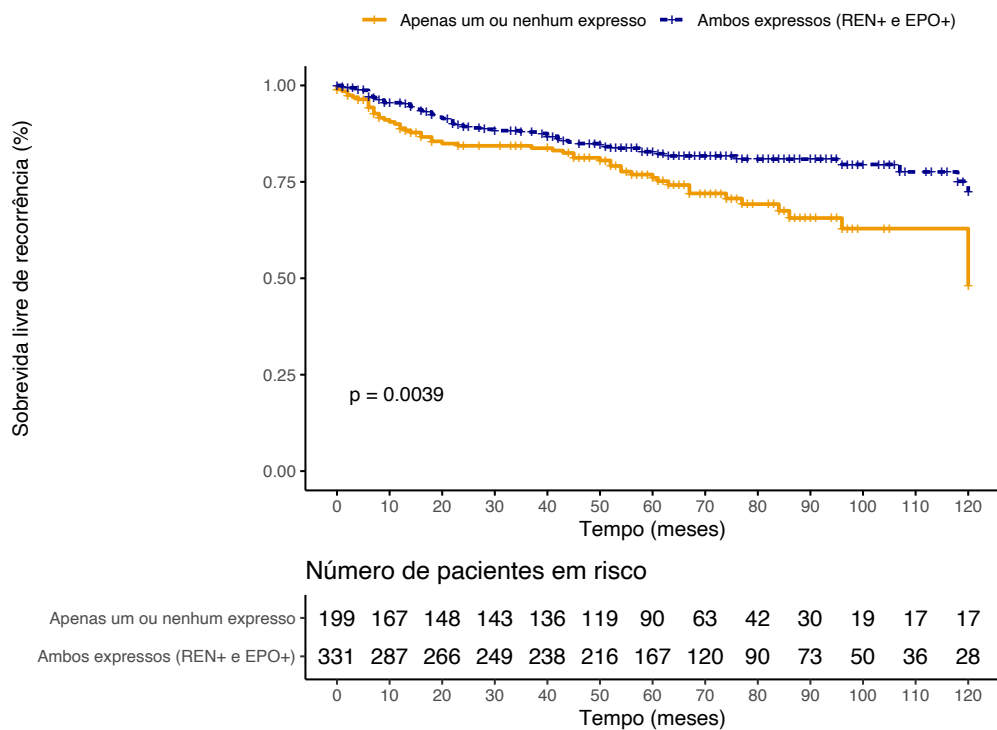


Figura 22 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com a expressão de ambos os marcadores ou a ausência de expressão de pelo menos um dos marcadores REN e/ou EPO em doentes com CCRcc não metastático.

Considerando as variáveis clínicas e patológicas, que influenciaram na SLR em 10 anos, identificamos, em uma análise simples, que foram significativas as categorias de idade ≥ 55 anos, classificação de ASA 3 – 4, escala de performance ECOG 2 – 3, invasão de veia renal, infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo ou seio renal, invasão microvascular, presença de necrose tumoral, alto grau nuclear ISUP, presença de componente sarcomatóide/rabdóide e a presença de doença linfonodal em comparação com os doentes pN0 ou Nx (**Tabela 16**).

Com relação aos marcadores do estudo, a perda de expressão da REN resultou em um *hazard ratio* (HR) de 2,056 ($p < 0,001$) e a expressão da EPO não foi um fator de risco significativo. Quando categorizadas as combinações de expressão desses marcadores e, tendo como referência os casos com expressão positiva de ambos, apenas o grupo com REN- e EPO+ mostrou ser um fator de risco significativo com um HR=2,037 ($p < 0,001$).

Para a análise múltipla, as variáveis que permaneceram como fatores independentes estão listadas na **Tabela 17**. Apenas os casos com perda de expressão da renina (REN-) com eritropoietina positiva (EPO+) associaram-se significativamente a um HR = 1,616, tendo como referência os casos com expressão de ambos os marcadores.

Tabela 16 – Análise simples do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise simples		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	< 0.001
	≥ 55	2.020	1.397 – 2.922	
Classificação de ASA	1 - 2	1	-	0.002
	3 - 4	1.918	1.263 – 2.912	
ECOG Performance Score	0 - 1	1	-	< 0.001
	2 - 3	4.570	2.004 – 10.422	
Invasão de veia renal	Não	1	-	< 0.001
	Sim	6.460	4.096 – 10.187	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	< 0.001
	Sim	4.322	2.904 – 6.431	
Invasão de hilo ou seio renal	Não	1	-	< 0.001

Con/Tabela 16 – Análise simples do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

	Sim	3.282	2.216 – 4.861	
Invasão microvascular	Não	1	-	< 0.001
	Sim	5.094	3.316 – 7.824	
Necrose tumoral	Não	1	-	< 0.001
	Sim	2.893	2.024 – 4.133	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	1	-	< 0.001
	Alto grau	2.734	1.911 – 3.911	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	1	-	< 0.001
	Sim	4.886	2.822 – 8.461	
Estádio pN	pN0 ou Nx	1	-	< 0.001
	pN+	8.612	4.338 – 17.096	
Expressão de REN	Expressão positiva	1	-	< 0.001
	Expressão negativa	2.056	1.412 – 2.994	
Expressão de EPO	Expressão positiva	1	-	0.771
	Expressão negativa	0.920	0.526 – 1.610	
Expressão de EPO e REN	Ambos expressos	1	-	0.005
	Expressão de apenas um ou nenhum	1.718	1.182 – 2.498	
Expressão de EPO e REN	Expressão de ambos	1	-	-
	REN- e EPO+	2.037	1.372 – 3.025	< 0.001
	REN+ e EPO-	0.754	0.324 – 1.754	0.511
	Expressão negativa de ambos	2.111	0.764 – 5.836	0.150

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; ECOG, *Eastern Cooperative Oncology Group*; EPO, eritropoietina; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; ISUP, *International Society of Urological Pathology*; REN, renina.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 17 – Modelo de análise múltipla do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	< 0,001
	≥ 55	2,150	1,398 – 3,307	

Con/Tabela 17 – Modelo de análise múltipla do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

Invasão de veia renal	Não	1	-	< 0,001
	Sim	4,651	2,748 – 7,783	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	0,001
	Sim	2,325	1,387 – 3,896	
Necrose tumoral	Não	1	-	0,034
	Sim	1,619	1,037 – 2,527	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	1	-	0,022
	Sim	2,464	1,141 – 5,319	
Expressão de REN e EPO	REN+ e EPO+	1	-	-
	REN+ e EPO-	0,492	0,206 – 1,176	0,111
	REN- e EPO+	1,616	1,062 – 2,459	0,025
	REN- e EPO-	1,072	0,375 – 3,062	0,896

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; EPO, eritropoietina; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; ISUP, *International Society of Urological Pathology*; REN, renina.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

Ao se considerar isoladamente a EPO, nenhum desses desfechos (SG, SCE ou SLR) demonstrou apresentar diferenças significativas para os grupos com ou sem expressão do marcador.

Por fim, as **Figuras 23, 24 e 25** demonstram graficamente esses mesmos desfechos, mas estratificando-os em quatro grupos (expressão de ambos; REN+ e EPO-; REN- e EPO+ ou ambos negativos).

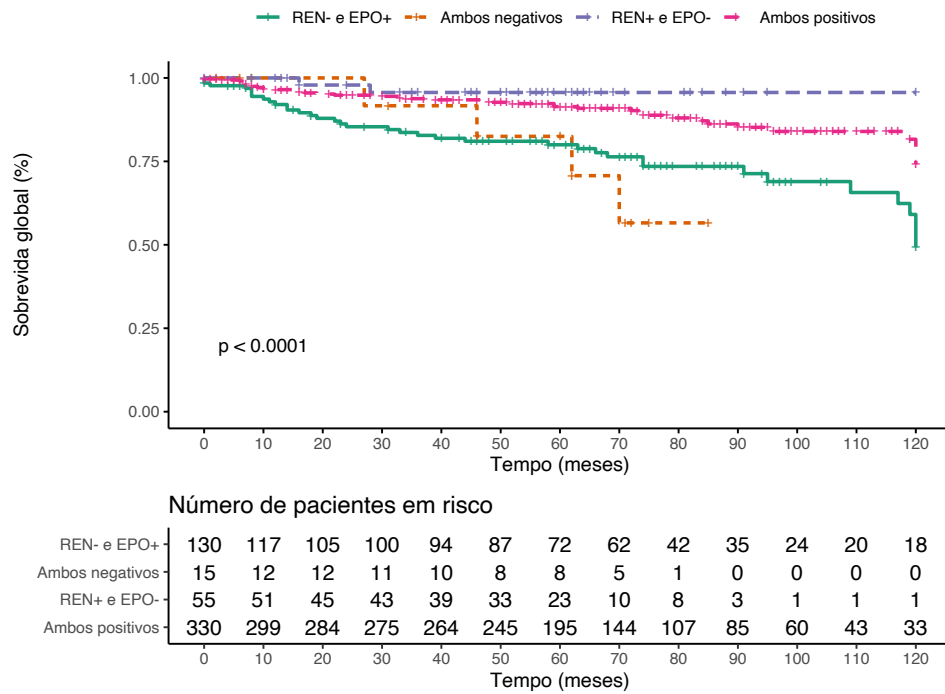


Figura 23 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático.

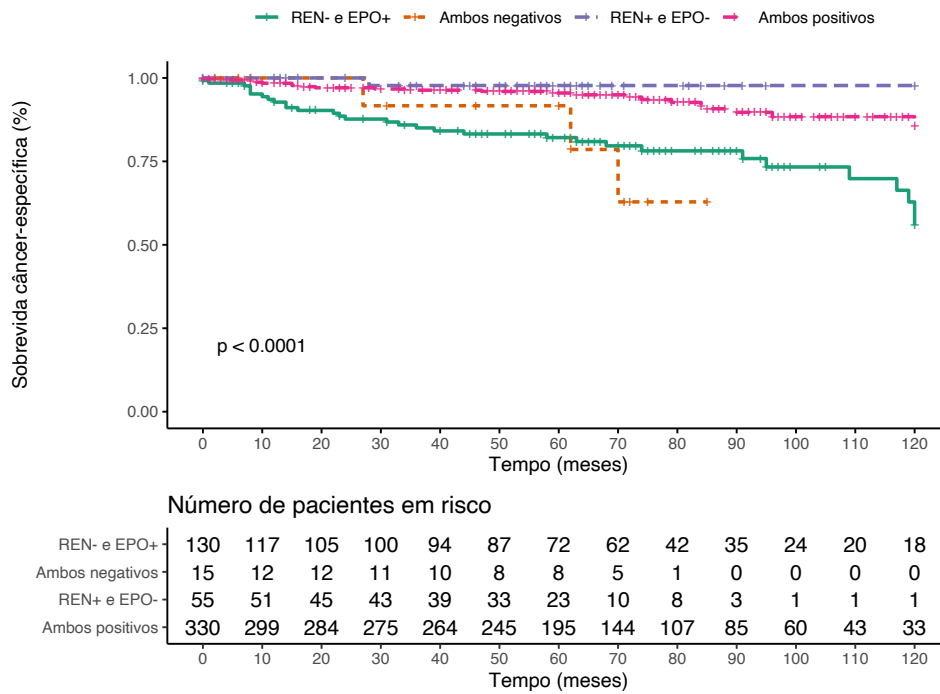


Figura 24 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático.

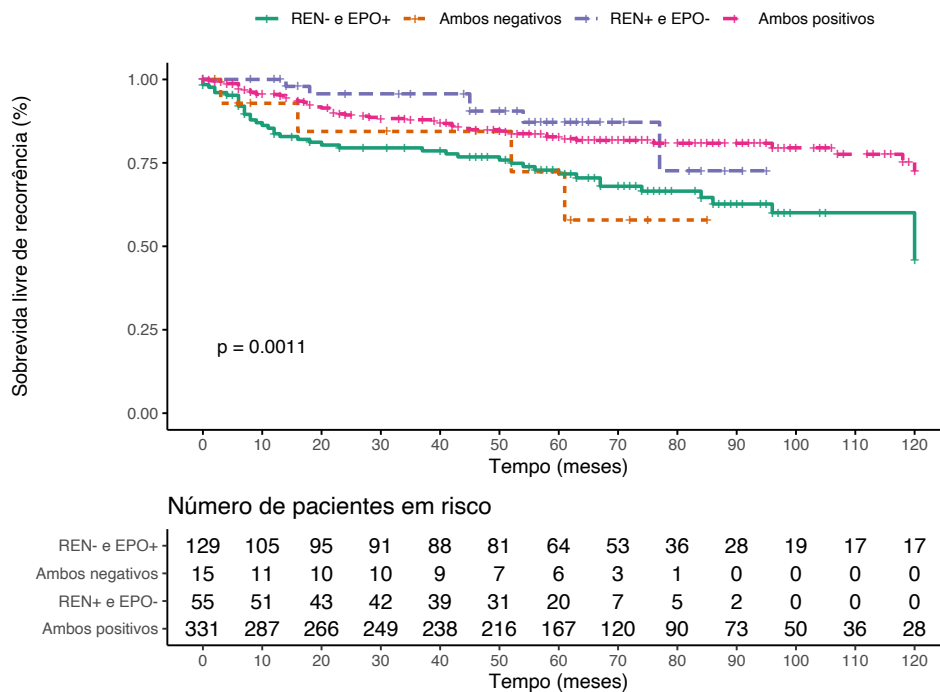


Figura 25 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e eritropoietina em doentes com CCRcc não metastático

4.4 ANÁLISES DE SOBREVIDA DA CTSD

Assim como nas análises anteriores, a associação do grau de expressão da CTSD com os desfechos de SG, SCE e SLR foi realizada com os casos de CCRcc não metastáticos.

4.4.1 Sobrevida global

Sobre o tempo de SG médio ao longo do seguimento, esse valor foi de 202,27 meses (SE = 9,589; IC95% = 183,47-221,06 meses) no grupo com expressão fraca ou ausente da CTSD e de 141,65 meses (SE = 7,674; IC95% = 126,62-156,70 meses) no grupo com forte expressão. A SG em 5 anos foi 91,5% (SE=0,016) e 84,6% (SE=0,026) e, em 10 anos, de 78,8% (SE=0,049) e 51,6% (SE=0,075), em cada um desses grupos, respectivamente. A **Figura 26** representa a curva de Kaplan-Meier para SG considerando o padrão de expressão qualitativa da CTSD.

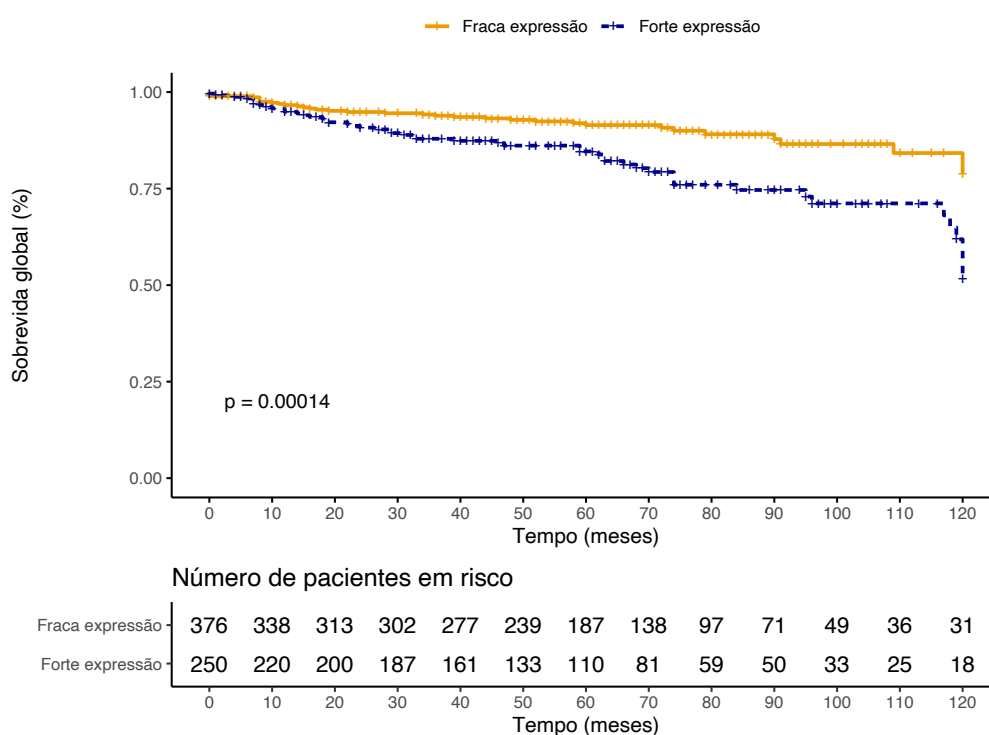


Figura 26 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com o grau de expressão qualitativa da catepsina D em doentes com CCRcc não metastático.

Realizando uma regressão logística de Cox para avaliação de risco do grau de expressão da CTSD e seu impacto na SG em 10 anos, identificamos que a expressão forte desse marcador, em uma análise simples, resultou em um HR = 2,259 ($p < 0,001$).

Na análise múltipla, utilizando as variáveis clínicas e patológicas significativas, já demonstradas previamente, permaneceram como fatores de risco independentes a idade ≥ 55 anos, a classificação de ASA 3 – 4, o tamanho tumoral > 7 cm, a invasão microvascular e a presença de necrose tumoral. Nesse modelo final, o grau de expressão forte da CTSD permaneceu como preditor de morte global (HR = 1,601) (**Tabela 19**).

Tabela 18 – Análise simples do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise simples		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Expressão Catepsina D	Expressão fraca ou ausente (0 – 2+)	1	-	< 0,001
	Forte expressão (3 – 4+)	2.259	1.466 – 3.480	

Legenda: HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 19 – Modelo de análise múltipla do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,007
	≥ 55	2,235	1,242 – 4,022	
Classificação ASA	1 - 2	1	-	< 0,001
	3 - 4	2,902	1,774 – 4,747	
Tamanho tumoral (cm)	≤ 7 cm	1	-	0,005
	> 7 cm	2,046	1,237 – 3,384	
Invasão microvascular	Não	1	-	0,028
	Sim	1,930	1,072 – 3,474	
Necrose tumoral	Não	1	-	0,011
	Sim	1,956	1,168 – 3,275	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	1	-	0,085

Con/Tabela 19 – Modelo de análise múltipla do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

	Alto grau	1,572	0,940 – 2,630	
Expressão Catepsina D	Expressão fraca ou ausente (0 – 2+)	1	-	-
	Forte expressão (3 – 4+)	1,601	1,009 – 2,542	0,046

Legenda: ASA, American Society of Anesthesiologists; HR, hazard ratio; IC, Intervalo de Confiança; ISUP, International Society of Urological Pathology. * Valores em negrito indicam significância estatística.

4.4.2 Sobrevida câncer específica

O tempo de SCE médio do grupo com expressão fraca ou ausente foi de 224,65 meses (SE = 5,553; IC95% = 213,76-235,53 meses), cuja SCE em 5 anos foi de 94,2% (SE = 0,014) e, em 10 anos, de 87,5% (SE = 0,034). Para o grupo com expressão forte da CTSD, o tempo de SCE médio foi de 154,41 meses (SE = 7,613; IC95% = 139,48-169,33 meses), a SCE em 5 anos foi de 88,5% (SE = 0,023) e, em 10 anos, de 61,8% (SE = 0,074). A **Figura 27** representa a curva de Kaplan-Meier para SCE, considerando o padrão de expressão qualitativa da CTSD.

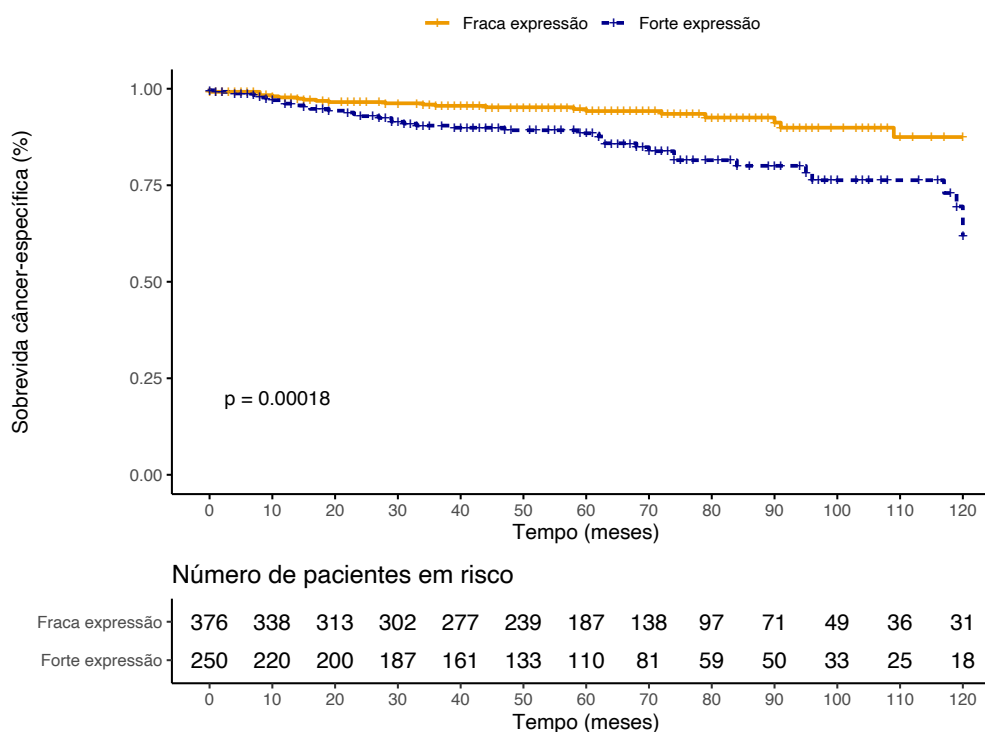


Figura 27 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer-específica em 120 meses estratificada de acordo com o grau de expressão qualitativa da catepsina D em doentes com CCRcc não metastático.

Pelo método de regressão logística de Cox simples, a avaliação do grau de expressão da CTSD mostrou que a expressão forte desse marcador apresentou um HR de 2,591 ($p < 0,001$).

Já na análise múltipla, considerando todas as variáveis clínicas e patológicas apresentadas como preditoras de SCE, mencionadas anteriormente, permaneceram como fatores de risco independentes, nesse modelo, a idade ≥ 55 anos, a classificação de ASA 3 – 4, o tamanho tumoral > 7 cm, a infiltração de gordura perirrenal e a presença de necrose tumoral. Assim como para SG, a forte expressão da CTSD permaneceu como preditor independente de morte por câncer na análise final deste modelo (HR = 1,765) (**Tabela 21**).

Tabela 20 – Análise simples do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise simples		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Expressão Catepsina D	Expressão fraca ou ausente (0 – 2+)	1	-	< 0,001
	Forte expressão (3 – 4+)	2.591	1.544 – 4.350	

Legenda: HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 21 – Modelo de análise múltipla do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,013
	≥ 55	2,487	1,208 – 5,121	
Classificação ASA	1 - 2	1	-	0,004
	3 - 4	2,372	1,310 – 4,294	
Tamanho tumoral (cm)	≤ 7 cm	1	-	< 0,001
	> 7 cm	3,339	1,870 – 5,963	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	0,047
	Sim	1,896	1,010 – 3,560	

Con/Tabela 21 – Modelo de análise múltipla do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

Necrose tumoral	Não	1	-	< 0,001
	Sim	2,912	1,599 – 5,303	
Expressão Catepsina D	Expressão fraca ou ausente (0 – 2+)	1	-	-
	Forte expressão (3 – 4+)	1,765	1,005 – 3,098	0,048

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

4.4.3 Sobrevida livre de recorrência

Já para o tempo médio de SLR, esse valor foi também menor no grupo com expressão forte da CTSD, sendo de 130,08 meses (SE = 7,207; IC95% = 115,96-144,21 meses), em comparação com o grupo com expressão fraca ou ausente, que foi de 186,62 meses (SE = 10,024; IC95% = 166,97-206,26 meses). No primeiro grupo, a SLR em 5 anos foi de 72,6% (SE = 0,032) e, em 10 anos, de 49% (SE = 0,073). No segundo grupo, a SLR em 5 anos foi de 84,7% (SE = 0,021) e, em 10 anos, de 68,8% (SE = 0,055). Da mesma forma que nos desfechos anteriores, a **Figura 28** representa a curva para SLR para os graus de expressão da CTSD.

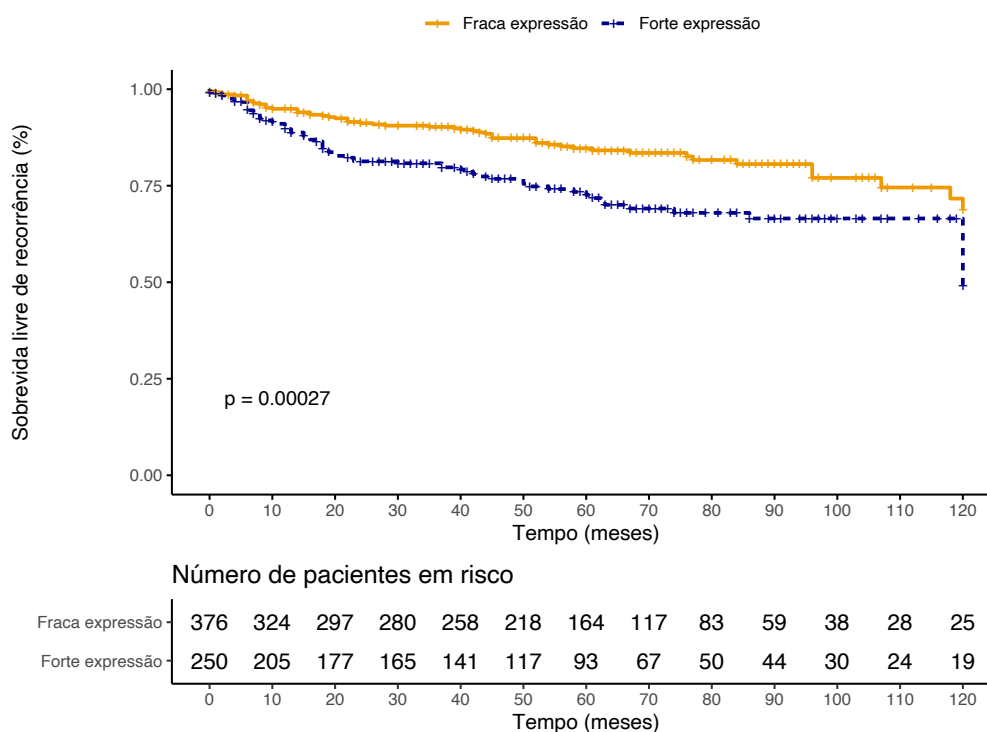


Figura 28 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com o grau de expressão qualitativa da catepsina D em doentes com CCRcc não metastático.

Tal como exposto nas demais seções sobre os desfechos oncológicos, o grau de expressão da CTSD influenciou a SLR em uma análise simples (HR = 1,903; $p < 0,001$) (**Tabela 22**). Já na análise múltipla, apenas as variáveis idade ≥ 55 anos, invasão de veia renal, necrose tumoral, presença de componente sarcomatóide/rabdóide e estágio pN permaneceram como preditores de SLR em 10 anos (**Tabela 23**).

Tabela 22 – Análise simples do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise simples		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Expressão Catepsina D	Expressão fraca ou ausente (0 – 2+)	1	-	< 0,001
	Forte expressão (3 – 4+)	1.903	1.336 – 2.710	

Legenda: HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 23 – Modelo de análise múltipla do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,002
	≥ 55	1,952	1,286 – 2,963	
Invasão de veia renal	Não	1	-	< 0,001
	Sim	3,338	1,902 – 5,858	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	0,054
	Sim	1,672	0,991 – 2,822	
Necrose tumoral	Não	1	-	0,031
	Sim	1,641	1,047 – 2,572	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	1	-	0,005
	Sim	2,469	1,314 – 4,636	
Estádio pN	pN0 ou Nx	1	-	0,019
	pN+	3,000	1,202 – 7,485	
Expressão Catepsina D	Expressão fraca ou ausente (0 – 2+)	1	-	0,319
	Forte expressão (3 – 4+)	1,224	0,822 – 1,822	

Legenda: ECOG, *Eastern Cooperative Oncology Group*; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança.

* Valores em negrito indicam significância estatística.

4.4.4 Análises de sobrevida da expressão de REN e CTSD

Uma outra análise a ser realizada é a da combinação da expressão de REN com a expressão da CTSD. Desse modo, quando utilizado essa variável nos modelos de análise múltipla para SG, SCE e SLR em 10 anos, chegamos aos dados expostos nas **Tabelas 24, 25 e 26**.

Tabela 24 – Modelo de análise múltipla do risco de óbito global em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,011
	≥ 55	2,233	1,207 – 4,133	
Tamanho tumoral (cm)	≤ 7 cm	1	-	0,002
	> 7 cm	2,253	1,364 – 3,722	
Classificação ASA	1 - 2	1	-	< 0,001
	3 - 4	4,005	2,390 – 6,711	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	0,002
	Sim	2,391	1,386 – 4,126	
Necrose tumoral	Não	1	-	0,007
	Sim	2,054	1,221 – 3,453	
Grau histológico de ISUP	Baixo grau	1	-	0,038
	Alto grau	1,733	1,030 – 2,914	
Expressão de REN e CTSD	REN+ e CTSD fraca ou ausente	1	-	-
	REN+ e forte expressão de CTSD	1,884	0,959 – 3,702	0,066
	REN- e CTSD fraca ou ausente	2,520	1,155 – 5,498	0,020
	REN- e forte expressão de CTSD	3,325	1,828 – 6,049	< 0,001

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; REN, renina; CTSD, catepsina D. * Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 25 – Modelo de análise múltipla do risco de óbito câncer-específico em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,008
	≥ 55	2,935	1,329 – 6,481	
Tamanho tumoral (cm)	≤ 7 cm	1	-	< 0,001
	> 7 cm	3,889	2,134 – 7,088	
Classificação ASA	1 - 2	1	-	< 0,001
	3 - 4	3,555	1,866 – 6,774	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	0,001
	Sim	2,957	1,582 – 5,525	
Necrose tumoral	Não	1	-	< 0,001
	Sim	3,589	1,941 – 6,637	
Expressão de REN e CTSD	REN+ e CTSD fraca ou ausente	1	-	-
	REN+ e forte expressão de CTSD	2,474	0,969 – 6,320	0,058
	REN- e CTSD fraca ou ausente	4,552	1,685 – 12,294	0,003
	REN- e forte expressão de CTSD	5,795	2,570 – 13,067	< 0,001

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; REN, renina; CTSD, catepsina D. * Valores em negrito indicam significância estatística.

Tabela 26 – Modelo de análise múltipla do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

		Análise múltipla		Valor de P *
		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,001
	≥ 55	2,118	1,371 – 3,274	
Invasão de veia renal	Não	1	-	0,001
	Sim	3,048	1,557 – 5,970	
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	0,001
	Sim	2,300	1,383 – 3,824	
Invasão microvascular	Não	1	-	0,042

Con/Tabela 26 – Modelo de análise múltipla do risco de recorrência em 10 anos dos pacientes portadores de CCRcc não metastático de acordo com variáveis selecionadas.

	Sim	2,030	1,027 – 4,014	
Componente sarcomatóide/rabdóide	Não	1	-	0,001
	Sim	3,557	1,631 – 7,757	
Expressão de REN e CTSD	REN+ e CTSD fraca ou ausente	1	-	-
	REN+ e forte expressão de CTSD	1,268	0,723 – 2,224	0,408
	REN- e CTSD fraca ou ausente	1,532	0,778 – 3,014	0,217
	REN- e forte expressão de CTSD	2,027	1,249 – 3,288	0,004

Legenda: ECOG, *Eastern Cooperative Oncology Group*; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; REN, renina; CTSD, catepsina D. * Valores em negrito indicam significância estatística.

Por fim, ao agruparmos os dados de expressão qualitativa da REN com os grupos com expressão fraca ou ausente e os grupos com forte expressão da CTSD, observamos os gráficos de SG, SCE e SLR em 10 anos, respectivamente, nas **Figuras 29, 30 e 31**.

Em todas os gráficos, nota-se uma diferença significativa entre os grupos ($p < 0,001$), particularmente entre os grupos opostos de ausência de expressão da REN e forte expressão de CTSD, em comparação com aqueles com expressão positiva da REN e expressão fraca ou ausente de CTSD.

Desse modo, o grupo com ausência de expressão da REN e forte expressão de CTSD apresentou SG em 10 anos de apenas 40,9% (SE = 0,102), com um tempo médio de SG de 92,14 meses (SE = 4,834; IC95% = 82,66-101,61 meses). A SCE em 10 anos foi de 50,1% (SE = 0,104), com um tempo médio de 96,03 meses (SE = 4,696; IC95% = 86,83-105,23 meses). E a SLR de 10 anos foi de 42,7% (SE = 0,100), evidenciando um tempo médio até a recorrência de 82,92 meses (SE = 5,488; IC95% = 72,17-93,68 meses).

Já o grupo com expressão positiva da REN e expressão fraca ou ausente de CTSD apresentou SG em 10 anos de 83,1% (SE = 0,056) e tempo médio de 113,08 meses (SE = 1,669; IC95% = 109,81-116,36 meses); SCE em 10 anos de 93,8% (SE = 0,024), com um tempo médio de 116,10 meses (SE = 1,275; IC95% = 113,60-118,60 meses); além de uma SLR em 10 anos de 73,2% (SE = 0,060), apresentando um tempo médio de 104,48 meses (SE = 2,307; IC95% = 99,96-109,00 meses).

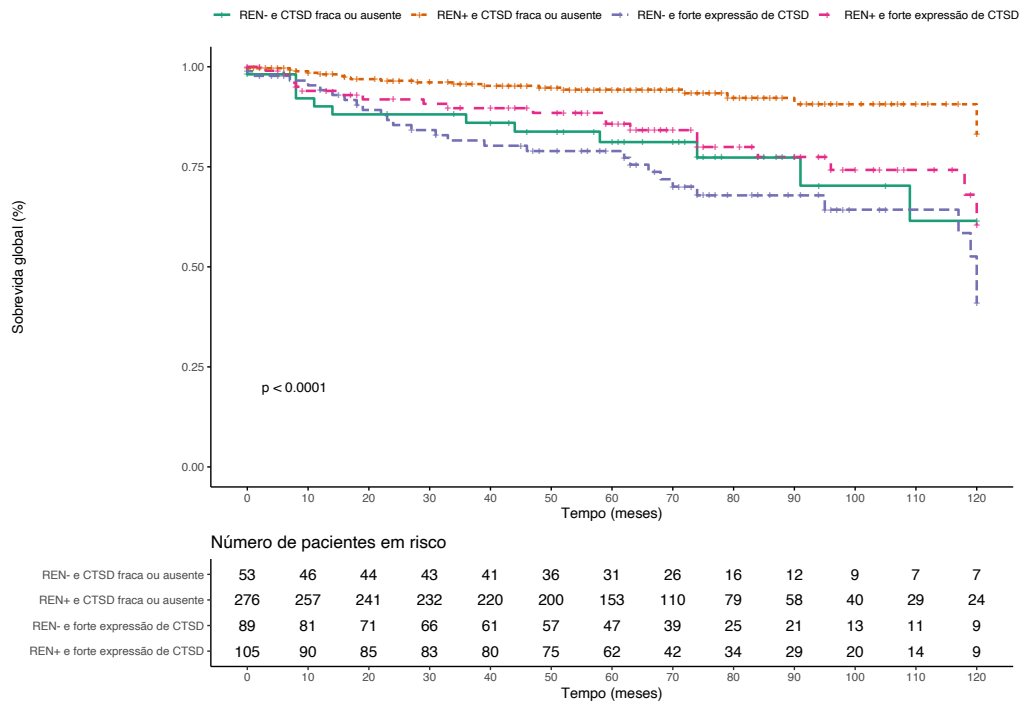


Figura 29 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida global em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e catepsina D em doentes com CCRcc não metastático.

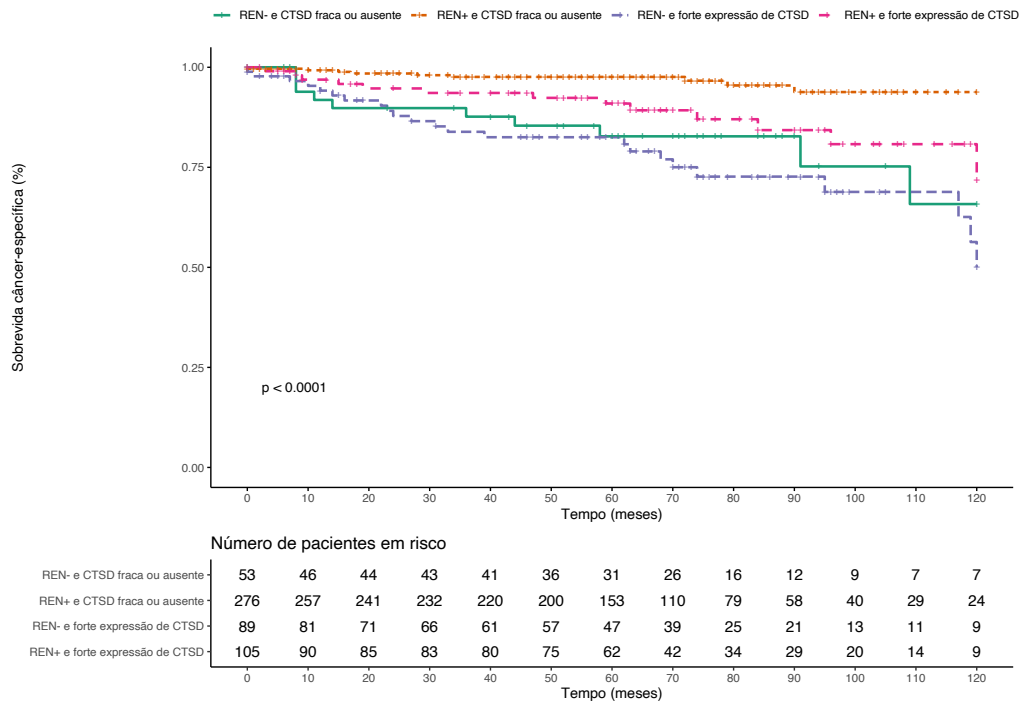


Figura 30 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida câncer específica em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e catepsina D em doentes com CCRcc não metastático.

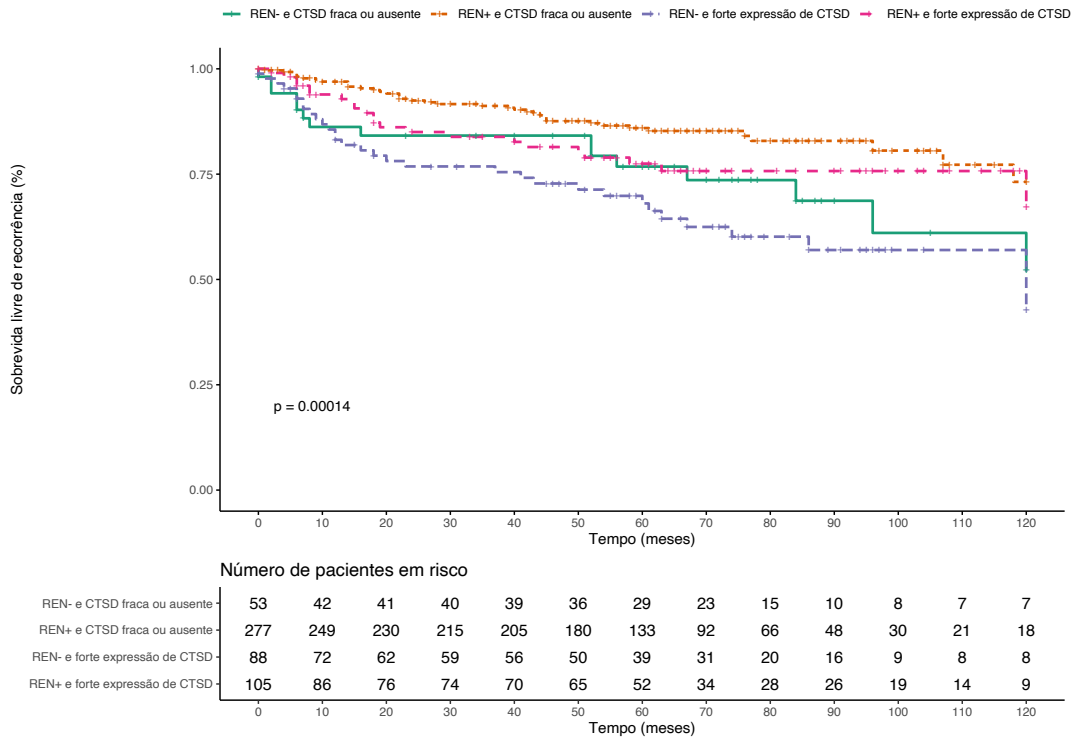


Figura 31 – Curva de Kaplan-Meier para sobrevida livre de recorrência em 120 meses estratificada de acordo com as combinações de expressão de renina e catepsina D em doentes com CCRcc não metastático.

4.5 ANÁLISES DE SOBREVIDA EM SUBGRUPOS

Realizaram-se análises de sobrevida no subgrupo de pequenas massas renais (pT1a) e no subgrupo de tumores estágio clínico III – IV, incluindo as variáveis cuja proporcionalidade foi possível verificar.

4.5.1 Pequenas massas renais

Esse subgrupo incluiu 340 casos de tumores classificados como pequenas massas renais não metastáticas ao diagnóstico, apresentando um tamanho mediano de 2,8 cm (IIQ = 2-3,5 cm). A SG em 10 anos deste subgrupo foi de 82% (SE = 0,055), a SCE em 10 anos foi de 93,9% (SE = 0,021) e a SLR em 10 anos foi de 75,4% (SE = 0,066).

Inicialmente, realizou-se uma análise simples de Cox, cujas variáveis significativas para sobrevida global foram a idade ≥ 55 anos (HR = 23,86; IC95% = 3,209-177,400; $p = 0,002$), a classificação de ASA 3-4 (HR = 7,954; IC95% = 3,443-18,375; $p < 0,001$), a infiltração de gordura perirrenal (HR = 6,166; IC95% = 1,426-26,661; $p = 0,015$) e a forte expressão de CTSD (HR = 2,755; IC95% = 1,19-6,378; $p = 0,018$).

Para a análise simples considerando a SCE, as variáveis significativas foram a classificação de ASA 3-4 (HR = 6,109; IC95% = 1,639-22,773; $p = 0,007$), a infiltração de gordura perirrenal (HR = 16,692; IC95% = 3,424-81,378; $p < 0,001$), a presença de necrose (HR = 4,121; IC95% 1,023-16,599; $p = 0,046$), o estágio clínico III-IV (HR = 9,728; IC95% = 2,426-39,007; $p = 0,001$), a forte expressão de CTSD (HR = 18,157; IC95% = 2,27-145,206; $p = 0,006$) e o grupo com ausência de expressão de EPO e REN, quando consideradas as outras combinações (HR = 12,251; IC95% = 1,422-105,566; $p = 0,023$).

Já para a SLR, as variáveis significativas em análise simples foram a infiltração de gordura perirrenal (HR = 10,244; IC95% = 2,997-35,022; $p < 0,001$), o alto grau nuclear de ISUP (HR = 3,711; IC95% = 1,659-8,30; $p = 0,001$), a presença de acometimento linfonodal (HR = 8,612; IC95% = 1,135-65,360; $p = 0,037$), o estágio clínico III-IV (HR = 5,83; IC95% = 2,163-15,712; $p < 0,001$) e a forte expressão de CTSD (HR = 2,399; IC95% = 1,056-5,447; $p = 0,037$).

A **Tabela 27** mostra as análises múltiplas, considerando as variáveis significativas mencionadas acima.

Tabela 27 – Modelo de análises múltiplas do subgrupo de pacientes com pequenas massas renais, de acordo com variáveis selecionadas.

		SG		Valor de P *	SCE		Valor de P *	SLR		Valor de P *
		HR	IC 95%		HR	IC 95%		HR	IC 95%	
Idade (anos)	< 55	1	-	0,008	N/A	-	N/A	-		
	≥ 55	15,558	2,032 – 119,106							
Classificação ASA	1-2	1	-	< 0,001	1	-	N/A	-		
	3-4	5,061	2,072 – 12,366							
Infiltração de gordura perirrenal	Não	1	-	0,030	1	-	1	-		
	Sim	5,567	1,180 – 26,273							
Necrose	Não		N/A	-	1	-	0,171	N/A	-	
	Sim									
Estádio clínico	I-II		N/A	-	1	-	1	-		
	III-IV									
Grau de ISUP	Baixo grau		N/A	-	N/A	-	1	-		
	Alto grau									
Estádio pN	pN0 ou Nx		N/A	-	N/A	-	1	-		
	pN+									
Expressão de CTSD	Fraca	1	-	0,348	1	-	1	-		
	Forte	1,524	0,632 – 3,674							

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; HR, *hazard ratio*; IC, Intervalo de Confiança; CTSD, catepsina D; SG, Sobrevida global; SCE, Sobrevida câncer-específica; SLR, Sobrevida livre de recorrência. * Valores em negrito indicam significância estatística.

4.5.2 Estádio clínico III-IV

Esse subgrupo incluiu 198 casos do banco de dados, sendo 64 casos de pacientes metastáticos ao diagnóstico. Os casos metastáticos ao diagnóstico registraram tanto uma SG como uma SCE em 5 anos de 14,6% (SE = 0,054), não atingindo o seguimento de 10 anos neste estudo. O tempo mediano de sobrevida foi de 29,38 meses (SE = 4,544; IC95% = 20,476-38,287). Considerando todo este subgrupo, a SG em 10 anos foi de 30% (SE = 0,079), a SCE em 10 anos foi de 31,3% (SE = 0,082) e, a SLR em 10 anos, de 33,2% (SE = 0,087).

As variáveis significativas para SG em análise simples foram o tamanho tumoral > 7 cm (HR = 1,939; IC95% = 1,215-3,095; p = 0,005), a classificação de ASA 3-4 (HR = 2,083; IC95% = 1,322-3,282; p = 0,002), o ECOG 2-3 (HR = 3,030; IC95% = 1,739-5,278; p < 0,001), a anemia pré-operatória (HR = 2,410; IC95% = 1,487-3,906; p < 0,001), a existência de necrose tumoral (HR = 1,829; IC95% = 1,164-2,872; p = 0,009), o alto grau nuclear de ISUP (HR = 1,908; IC95% = 1,113-3,270; p = 0,019), o acometimento linfonodal (HR = 2,002; IC95% = 1,081-3,708; p = 0,027) e a ausência de expressão de REN (HR = 1,829; IC95% = 1,174-2,850; p = 0,008).

Para SCE, as variáveis, por sua vez, foram o tamanho tumoral > 7 cm (HR = 2,134; IC95% = 1,305-3,489; p = 0,003), a classificação de ASA 3-4 (HR = 1,964; IC95% = 1,224-3,151; p = 0,005), o ECOG 2-3 (HR = 3,299; IC95% = 1,884-5,777; p < 0,001), a anemia pré-operatória (HR = 2,34; IC95% = 1,421-3,855; p = 0,001); a presença de necrose tumoral (HR = 1,759; IC95% = 1,107-2,795; p = 0,017), o alto grau nuclear de ISUP (HR = 1,775; IC95% = 1,031-3,058; p = 0,038), o acometimento linfonodal (HR = 1,935; IC95% = 1,018-3,677; p = 0,044) e a ausência de expressão de REN (HR = 1,803; IC95% = 1,14-2,851; p = 0,012).

Por fim, as variáveis que influenciaram a SLR em análise simples foram a invasão de veia renal (HR = 1,996; IC95% = 1,235-3,224; p = 0,005), o acometimento linfonodal (HR = 2,779; IC95% = 1,483-5,205; p = 0,001) e a perda de expressão de REN (HR = 1,654; IC95% = 1,016-2,693; p = 0,043).

A expressão IHQ da CTSD não influenciou nenhuma das análises de sobrevida deste subgrupo de tumores estágio III-IV. A **Tabela 28** demonstra os preditores independentes em análise múltipla para as SG, SCE e SLR em 10 anos neste subgrupo.

Tabela 28 – Modelo de análises múltiplas do subgrupo de pacientes no estágio clínico III-IV, de acordo com variáveis selecionadas.

		SG		Valor de P *	SCE		Valor de P *	SLR		Valor de P *
		HR	IC 95%		HR	IC 95%		HR	IC 95%	
Tamanho tumoral	≤ 7 cm	1	-	0,007	1	-	0,005	N/A	-	
	> 7 cm	2,157	1,229 – 3,788		2,327	1,287 – 4,211				
Classificação ASA	1-2	1	-	0,003	1	-	0,022	N/A	-	
	3-4	2,280	1,315 – 3,953		1,968	1,104 – 3,509				

Con/Tabela 28 – Modelo de análises múltiplas do subgrupo de pacientes no estágio clínico III-IV, de acordo com variáveis selecionadas.

ECOG	0 - 1	1	-	0,042	1	-	0,018	N/A	-
Performance score	2 - 3	1,953	1,024 – 3,724		2,209	1,148 – 4,250			
Necrose	Não	1	-	0,005	1	-	0,009	N/A	-
	Sim	2,185	1,272 – 3,754		2,111	1,207 – 3,690			
Anemia pré-operatória	Não	1	-	0,705	1	-	0,608	N/A	-
	Sim	0,892	0,494 – 1,611		0,852	0,461 – 1,574			
Grau de ISUP	Baixo grau	1	-	0,180	1	-	0,350	N/A	-
	Alto grau	1,577	0,810 – 3,072		1,376	0,704 – 2,689			
Estádio pN	pN0 ou Nx	1	-	0,192	1	-	0,140	1	-
	pN+	1,622	0,785 – 3,351		1,741	0,834 – 3,635		1,771	0,831 – 3,775
Invasão de veia renal	Não		N/A	-		N/A	-	1	-
	Sim							2,229	1,347 – 3,690
Expressão de REN	Presente	1	-	0,004	1	-	0,006	1	-
	Ausente	2,097	1,264 – 3,478		2,070	1,229 – 3,489		1,692	1,030 – 2,780

Legenda: ASA, *American Society of Anesthesiologists*; ECOG, *Eastern Cooperative Oncology Group*; HR, *hazard ratio*; IC, *Intervalo de Confiança*; ISUP, *International Society of Urological Pathology*; REN, *renina*; SG, *Sobrevida global*; SCE, *Sobrevida câncer-específica*; SLR, *Sobrevida livre de recorrência*. * Valores em negrito indicam significância estatística.

5 DISCUSSÃO

5.1 ASPECTOS GERAIS

Este estudo representa mais um passo no amadurecimento da nossa linha de pesquisa em potenciais marcadores tumorais relacionados com prognóstico no cenário do CCRcc. Particularmente, no estudo de substâncias com papel endocrinológico nos rins. Dentre os 729 pacientes portadores de CCRcc, cujo material anatomopatológico foi sistematicamente submetido a revisão central e utilizado para a confecção de blocos de TMA, procuramos focar as análises de sobrevida especialmente nos casos com tumor não metastático, perfazendo um total de 665 casos.

Como em outras casuísticas, há o predomínio de homens nesta população. No entanto, a idade mediana reportada de 55 anos é inferior àquela descrita em documentos estatísticos, como o do Programa americano de Vigilância, Estatística e Resultados Finais (SEER, do inglês *Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*), que é de 65 anos ao diagnóstico (Howlader et al. 2021). Isso provavelmente deve-se ao fato de que nossa instituição é referência oncológica no país e tende a receber casos com diferentes graus de complexidade. Além disso, o percentual de casos metastáticos descritos (8,8%) é inferior aos da literatura, o que pode ser explicado pelo fato deste ser um banco de tumores de casos cirúrgicos (Howlader et al. 2021). Além disso, a popularização e facilidade de acesso crescente aos exames de imagem, provavelmente contribuiu para o diagnóstico mais precoce, com lesões de menores dimensões, menos sintomáticas e talvez em idade inferior a daqueles pacientes que tem o CCR detectado tardiamente na forma sintomática (Nguyen et al. 2006).

Ao mesmo tempo, o percentual de casos que apresentaram recorrência ao longo do seguimento (19,9%) ficou de acordo com os dados registrados da literatura, em torno de 20-30% (Dabestani et al. 2016; Choueiri and Motzer 2017). Do mesmo modo, a SCE em 5 anos de 92,1%, para o tumor localizado, foi semelhante aos dados descritos no SEER (Howlader et al. 2021).

Outro dado que vale mencionar, que está relacionado com os fatores de risco para essa neoplasia, é que mais da metade dos pacientes relataram ser hipertensos, mais de 42% fumavam ou eram ex-tabagistas, além de um terço de obesos.

A coleta de tecidos para compor esse banco de tumores renais iniciou-se com casos operados na década de 80. Contudo, a maior proporção dos casos foi coletada nos últimos anos (2014–2016 tiveram mais de 40% dos casos) e isso pode estar relacionado com o fato de que 67% dos tumores foram classificados no estágio I, com mais de 47% de tumores considerados pequenas massas renais (T1a), sendo um reflexo do diagnóstico mais precoce da doença nos últimos anos (Capitanio et al. 2019).

Dentre os fatores clínicos e patológicos, nosso estudo demonstrou que a idade mais elevada, pacientes com um escore de ASA 3 – 4 ou de ECOG 2 – 3, além de aspectos como maior tamanho tumoral, invasão de veia renal, infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo ou seio renal, presença de invasão microvascular, necrose tumoral, alto grau de ISUP, presença de componente sarcomatóide ou rabdóide, acometimento linfonodal ou pacientes classificados como estágio clínico III ou IV foram fatores prognósticos para SG e SCE em 10 anos para os CCRcc não metastáticos.

Esses fatores já foram descritos previamente na literatura, como no caso da idade mais avançada, que foi incluída em um nomograma que avalia o risco de morte em 5 anos em pacientes com CCR localizado elaborado por Kutikov et al. (2010). Essa pior sobrevida atribuída à idade elevada persiste em pacientes com tumores de baixo grau e baixo estágio clínico, mesmo ajustando para mortes por outras causas (Sun et al. 2011). Mais recentemente, Bandini et al. (2018) descreveu a associação entre indivíduos idosos e pior SCE em pacientes com PMR e Buti et al. (2017) validou um escore prognóstico denominado GRANT, que utilizou como um dos parâmetros a idade, com um ponto de corte de 60 anos, estratificando-os em um grupo de risco favorável ou desfavorável, tendo sido aplicado na população do ASSURE *trial*, que estudou o cenário da adjuvância no CCR localizado.

Em nosso estudo, o ponto de corte de 55 anos foi utilizado nas análises de sobrevida, pelo fato desta ser a idade mediana da população analisada. Indivíduos acima dessa idade tiveram sinais ou sintomas ao diagnóstico com maior frequência, maior proporção de casos no EC III ou IV (17,4% vs 35,9%) e com metástases ao diagnóstico (5,9% vs 11,2%). Como já era de se esperar, indivíduos com maior idade foram mais comumente classificados em piores escores de ASA e de ECOG. No entanto, estes indivíduos também se associaram com maior proporção de casos com tamanho tumoral acima de 7 cm (11,7% em menores de 45 anos e 42,5% naqueles com idade \geq 75 anos) e maior percentual de casos com alto grau de ISUP (34,9% nos menores de 45 anos e 62,5% nos com idade \geq 75 anos).

Nosso grupo também já havia descrito a classificação de ASA como fator prognóstico no CCR. A classificação de ASA associou-se com risco de metástases e com SG e SCE, além de aumentar o risco de complicações perioperatórias (de Cássio Zequi et al. 2010; Ferreira et al. 2013). Estudos realizados por outros grupos também analisaram outros sistemas de classificação, como os escores de Karnofsky e ECOG, tendo sido evidenciado associação com piores taxas de SG e SCE (Motzer et al. 1999; Patard et al. 2004a; Shuch et al. 2008; Heng et al. 2009).

No que diz respeito ao grau tumoral, a classificação mais recente considera características nucleolares, pleomorfismos, além de diferenciação sarcomatóide ou rabdóide, sendo estes últimos categorizados como grau 4 da classificação da ISUP (Srigley et al. 2013; Moch et al. 2016). As diferenciações sarcomatóide/rabdóide foram descritas em 7% de nossa casuística, o que corrobora com a literatura, que exhibe uma prevalência entre 3% e 8% dos CCRcc (Delahunt et al. 2013). Além da pior sobrevida atribuída à diferenciação sarcomatóide (Deuker et al. 2020), já foram discutidos em consenso outros fatores histopatológicos, como a necrose tumoral e a invasão microvascular (Delahunt et al. 2013).

Estas características associadas com o tamanho tumoral e, por conseguinte, com a classificação TNM originaram o nomograma prognóstico SSIGN, de fácil aplicabilidade clínica (Frank et al. 2002). Pacientes com escore ≥ 10 possuem uma SCE em 5 anos de apenas 7,4%. Nossa casuística com esse subgrupo não atingiu essa sobrevida, tendo sido possível descrever uma SCE em 2 anos de cerca de 33%.

Zequi et al. (2019) publicaram estudo com quase seis mil pacientes do banco de dados do LARCG, corroborando que, além das variáveis clínicas mencionadas, a invasão microvascular, a invasão de gordura perirrenal, a necrose tumoral, o alto grau nuclear, o maior tamanho tumoral e o acometimento linfonodal associaram-se com maior risco de morte por câncer em análise multivariada. Outros grupos nacionais também demonstraram o valor prognóstico da invasão microvascular, tanto para risco de recorrência como de morte por câncer (Gonçalves et al. 2004; Dall'Oglio et al. 2007). Em nosso estudo, a presença de invasão microvascular influenciou negativamente, em análise simples, a SG (HR = 4,67), a SCE (HR = 5,27) e a SLR (HR = 5,094) em valores tão altos quanto o de outras variáveis, como o estágio clínico, o tamanho tumoral, a necrose tumoral ou o acometimento linfonodal.

Embora seja controversa a existência de um ponto de corte do tamanho tumoral que aponte diferenças absolutas na sobrevida (Ficarra et al. 2004; Delahunt et al. 2019, 2021),

nossa casuística evidenciou que tumores localizados acima de 7 cm associaram-se significativamente com maior proporção de infiltração de gordura perirrenal (32,1% vs 5,9%), invasão de hilo ou seio renal (48,2% vs 7,2%), invasão de veia renal (26,8% vs 1,7%), invasão microvascular (29,2% vs 3,3%), necrose tumoral (50,5% vs 21,4%), alto grau de ISUP (69% vs 35,1%) e presença de diferenciação sarcomatóide ou rabdóide (15,3% vs 2,7%) em comparação com as lesões com até 7 cm. Acerca disso, Jeon et al. (2009) publicaram estudo retrospectivo com 946 casos associando a invasão de gordura perirrenal (pT3a) com o tamanho tumoral. Neste estudo, a significância prognóstica da invasão de gordura perirrenal dependeu do tamanho tumoral, sendo mantida como fator prognóstico independente apenas nos casos com lesões acima de 7 cm.

Um estudo retrospectivo com 771 casos operados de CCR não metastático encontrou como preditores independentes de sobrevida livre de doença, o tamanho tumoral acima de 5 cm e a trombocitopenia (Brookman-Amisshah et al. 2009). Já um outro grupo chinês publicou estudo demonstrando que o tamanho do tumor, o grau de Fuhrman, o estágio clínico T, altos níveis de LDH, cálcio e fibrinogênio influenciaram esta sobrevida livre de doença em 5 anos (Du et al. 2013). Em nosso estudo, as variáveis de tamanho tumoral e estágio clínico não foram incluídas na análise de SLR, pois não satisfizeram a verificação de proporcionalidade exigidas. Permaneceram como variáveis preditoras de SLR em 10 anos, em análise simples, a idade mais elevada, os escores de ASA e ECOG, além de invasão macroscópica de veia renal, infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo ou seio renal, invasão microvascular, necrose tumoral, alto grau nuclear de ISUP, presença de componente sarcomatóide ou rabdóide e o acometimento linfonodal.

5.2 REAÇÕES IMUNO-HISTOQUÍMICAS DE REN E EPO

Adicionalmente aos fatores preditores clínicos e patológicos mencionados, não foi possível a identificação da influência da expressão IHQ de EPO nos desfechos de sobrevida analisados. A perda de expressão de REN, por sua vez, associou-se com pacientes mais idosos, maior proporção de pacientes com anemia pré-operatória, maior tamanho tumoral, além de casos com infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo ou seio renal, invasão microvascular, necrose tumoral, maior proporção de casos com alto grau nuclear de ISUP e com o estágio clínico III-IV. Quando estes dois marcadores foram analisados conjuntamente,

a perda de expressão de ambos não se manteve como preditor independente de sobrevida em análise múltipla.

Sobre o estudo da combinação da expressão de ambos os marcadores, apenas 19 casos apresentaram-se com dupla perda de expressão de REN e EPO, o que pode ter influenciado essa análise. Como forma de equiparar os grupos, optamos por avaliar se os casos com expressão IHQ de ambos poderia representar um fator protetor em comparação com os que expressavam apenas um desses marcadores. Como demonstrado, a análise separada da EPO não se associou com prognóstico. Ainda assim, em análise de regressão simples, o risco de óbito global e pelo câncer foi maior nos casos com dupla perda de expressão, não se mantendo como fator preditor nas análises múltiplas.

Nesse grupo com dupla perda de expressão de REN e EPO, foi encontrada uma associação com a variável obesidade. No entanto, é possível que isso seja apenas um fator confundidor, de modo que estudos posteriores necessitam ser realizados com o intuito de verificar esse achado. Outro ponto, é que diferente do que se poderia pensar, a hipertensão não se associou com o padrão de expressão de nenhum dos marcadores estudados. Contribuir com as análises envolvendo o papel prognóstico da HAS e dos anti-hipertensivos no câncer renal poderia ser fruto de outras pesquisas com este banco de dados (Lever et al. 1998; McKay et al. 2015; Miyajima et al. 2015; Derosa et al. 2016).

O racional de estudar conjuntamente estes marcadores, além da CTSD, discutida mais adiante, está ligado ao ambiente hipoxêmico dos tumores renais, ocasionado pela proliferação de neovasos aberrantes e pela proliferação celular descontrolada. A manifestação do pH ácido em tumores sólidos está relacionada com este ambiente hipoxêmico.

As células sobrevivem nesse microambiente na dependência de mecanismos adaptativos, controlados particularmente pelo fator de transcrição HIF-1. Com o intuito de manter níveis adequados de energia intracelular, as células hipóxicas favorecem o processo de glicólise, levando ao aumento de utilização da glicose e conseqüente produção de lactato. Esse processo é facilitado pelo próprio HIF-1, que aumenta a expressão de enzimas glicolíticas e transportadores de glicose (Kato et al. 2013; Ward et al. 2020).

O microambiente tumoral acidótico facilita ainda a promoção de eventos de migração, invasão e metástases de células cancerígenas, explicado tanto pelo aumento da atividade de componentes que degradam a matriz extracelular, como pelo aumento da expressão de

citocinas e fatores de crescimento já mencionados. Além disso, relaciona-se também com mecanismos de resistência a quimioterapia ou radioterapia (Ward et al. 2020).

Com relação aos resultados das análises IHQ envolvendo a EPO, várias diferenças podem ser pontuadas em comparação com o estudo prévio de Ferreira et al (2017). A própria casuística foi menor naquele estudo, que analisou 220 pacientes com diferentes subtipos histológicos de CCR (20% eram tumores não células claras). Além disso, os casos metastáticos (12,3%) também haviam sido utilizados nas análises (Ferreira et al. 2017).

Um outro ponto importante é que o clone de anticorpo utilizado para as reações foi diferente. No estudo de Ferreira et al, os autores optaram por um anticorpo policlonal de coelho (Abcam® - Cambridge, MA, USA), enquanto, neste estudo, utilizamos anticorpo monoclonal murino, como descrito na sessão de material e métodos (Ferreira et al. 2017).

Embora inicialmente o autor tenha feito uma avaliação quantitativa em diferentes graus de expressão, posteriormente a análise qualitativa classificou em “expressão ausente” ou “presente”, semelhante a este estudo. Desse modo, a ausência de expressão da EPO esteve associada com idade mais elevada, com presença de sintomas ao diagnóstico, com maior taxa de transfusão sanguínea, menor nível de hemoglobina pré-operatória e maior proporção de casos com escore de Karnofsky < 80. O estudo de Ferreira et al também evidenciou que a falta de expressão de EPO associou-se com o CCRcc, em comparação com os subtipos não células claras.

Diferente do presente estudo, a ausência de expressão de EPO impactou a SG em 10 anos no trabalho de Ferreira et al, sendo de 56,3%, comparado a uma taxa de SG em 10 anos de 79,5% em pacientes que expressaram EPO ($p < 0,001$). Em uma análise de regressão múltipla de Cox, a falta de expressão de EPO permaneceu como fator de risco independente para SG e SCE (Ferreira et al. 2017).

No que diz respeito ao uso de eritropoietina recombinante humana (rhEPO) e sua associação com a evolução do câncer, alguns estudos sugeriram que esta medicação poderia levar à progressão do câncer renal, como visto em pequenos estudos clínicos ou experimentais (Morere et al. 1997; Li et al. 2007). No entanto, os resultados são contraditórios, sendo que um estudo fase II chegou a mostrar um efeito de controle neoplásico em pacientes com CCRm que progrediram após o uso de IL-2 isolada (Lissoni et al. 2001).

Nosso estudo demonstrou uma expressão de EPO em 86,6% dos casos de CCRcc. Esse alto percentual de expressão foi demonstrado por Clark et al. (1998), com identificação em 74% das amostras de CCR, além de Gong et al. (2006), com mais de 90% em casos de CCR esporádicos e Mjølnes et al. (2017), com até 97% de expressão IHQ nos CCRcc.

Já no que diz respeito aos estudos que avaliaram a associação da expressão de EPO com variáveis clínicas e tumorais e com desfechos oncológicos, evidenciamos que a significância clínica desses achados ainda é controversa.

Stoyanoff et al. (2016) demonstraram uma maior expressão de EPO em tumores iniciais (T1G1), em comparação ao grupo controle de tumores T2 ou de maior grau. Estes autores sugeriram que a superexpressão de EPO em tumores em estágio precoce poderia funcionar como um gatilho para a proliferação celular.

Assim como em nosso estudo, Papworth et al. (2009) avaliou a expressão IHQ de EPO utilizando anticorpo monoclonal murino, além de ter analisado também a expressão sérica do marcador. Não foi evidenciada nenhuma associação com sobrevida câncer-específica. Do mesmo modo, Alamdari et al. (2007) também não encontraram associação prognóstica do nível sérico de EPO em CCRm. Curiosamente, vale mencionar a maior proporção de casos com ausência de expressão de EPO, que encontramos no grupo desfavorável do escore prognóstico de GRANT, possivelmente pelo fato deste englobar a variável idade, que foi maior nos que não expressaram o marcador.

No entanto, outros autores sugeriram que a superexpressão da EPO é que estaria associada com tumores de alto grau e com impacto em sobrevida, tanto em estudos que avaliaram a expressão sérica (Ljungberg et al. 1992; Ito et al. 2012), como naqueles envolvendo a expressão IHQ (Michael et al. 2007; Feng et al. 2013).

Com relação à REN, esta é dedicada à formação do decapeptídeo angiotensina I, a partir do seu precursor, o angiotensinogênio (Ondetti and Cushman 1982). Como mencionado previamente, utilizamos os dados de expressão IHQ qualitativa da REN extraídos do estudo de Almeida e Paula et al. (2019). Na época deste estudo mencionado, foi analisada a expressão IHQ da REN em 603 casos. Desse modo, optamos por aproveitar essa avaliação recente como ponto de partida para as análises conjuntas com os outros dois marcadores em questão.

A identificação de que o CCR pode secretar REN já se conhece há décadas (Lindop and Fleming 1984). Assim como a EPO, a discussão existe na demonstração de uma implicação prognóstica associada a esse marcador.

Nesta análise, enquanto todos os tecidos renais não neoplásicos expressaram REN, pouco mais de 70% dos casos de CCR testados demonstraram expressão do marcador. Este achado pode ter associação com desbalanços regulatórios e estruturais existentes no ambiente tumoral.

Reiteramos, neste estudo, a associação da ausência de expressão IHQ da REN com fatores de mau prognóstico, sendo importante destacar que não conhecemos outros estudos na literatura com metodologia semelhante, que possam servir como contraponto a estes achados.

Ainda sobre a expressão IHQ destas duas proteínas, observou-se que uma maior proporção de casos positivos para a REN ocorreu em anos mais recentes da casuística, em detrimento dos casos com ausência de expressão. Tal diferença não foi observada com a EPO, que ao longo de todo o período destacou-se a proporção bem maior de casos com expressão positiva em comparação com a negativa. Podemos associar isso com o fato de que, dentre esses dois marcadores, apenas a ausência de REN demonstrou associação com fatores de pior prognóstico em nossa análise. Fato que pode estar relacionado com um diagnóstico mais tardio nos anos iniciais.

5.3 REAÇÕES IMUNO-HISTOQUÍMICAS DE CTSD

A catepsina D (CTSD) é uma protease lisossomal encontrada em praticamente todas as células e tecidos em mamíferos, constituindo cerca de 10% de todas as proteínas lisossomais solúveis. Seu papel na degradação de componentes da matriz extracelular é um evento essencial na progressão tumoral (Scarborough et al. 1993; Pimenta et al. 2000).

Como dito anteriormente, a CTSD atua geralmente em ambientes com pH baixo, sendo que o pH extracelular em tecidos tumorais é mais ácido do que os tecidos normais (Griffiths 1991). Desde estudos experimentais, já foi demonstrado que a CTSD possui uma atividade geradora de angiotensina I no plasma de ratos, bem como um papel na liberação de cininas (Figueiredo et al. 1983; Okamoto and Greenbaum 1983). Além disso, uma atividade proteolítica em meio ácido foi relatada por vários autores diante de protocolos de purificação da REN, sendo identificada como proveniente da CTSD (Yokosawa et al. 1978; Slater and Strout 1981; Figueiredo et al. 1983).

Nossos dados mostraram que há uma associação entre os casos com ausência de expressão de REN e aqueles com forte expressão da CTSD, de modo que, 62,5% dos casos não metastáticos, que demonstraram uma falta de expressão da REN, expressaram fortemente a CTSD. Já 72,5% daqueles com expressão positiva de REN evidenciaram expressão fraca ou ausente da CTSD ($p < 0,001$). Isso pode estar relacionado com o fato de que a CTSD torna-se ativa em tecidos com pH ácido, diferentemente da REN (Morris and Reid 1978). As condições de hipoxemia tecidual, particularmente em tecidos com maior celularidade no CCRcc, poderiam justificar essa associação, bem como o impacto no prognóstico desses pacientes evidenciado neste estudo.

Ao que pudemos ter acesso de literatura avaliando o papel prognóstico deste marcador com o CCR, apenas o grupo de Vasudev et al. (2009) encontraram associação de sobrevida com níveis de CTSD urinária no pré-operatório, enquanto um grupo alemão, contrapondo-se aos nossos resultados, encontraram que a alta expressão IHQ da CTSD associou-se negativamente com risco de metástases e sobrevida em longo prazo (Merseburger et al. 2005). Esse mesmo grupo analisou a expressão sérica da CTSD e não encontrou associação com fatores tumorais ou prognósticos (Merseburger et al. 2007).

Desse modo, a investigação do papel da CTSD no cenário das neoplasias renais, permanece ainda em aberto para futuros estudos e discussões, haja vista as evidências encontradas em outros tumores, como os de mama, colorretal, fígado, melanoma, entre outros (Spyratos et al. 1989; Rochefort et al. 1990; Brouillet et al. 1991; Podhajcer et al. 1995; Tumminello et al. 1995; Benes et al. 2008).

A forte expressão de CTSD não influenciou os desfechos oncológicos no subgrupo de tumores estágio III-IV, incluindo os casos metastáticos. Ao contrário, demonstrou estar associada com SCE no subgrupo de pequenas massas renais. Uma hipótese para esse fenômeno é que a maior expressão tecidual da CTSD em estádios iniciais poderia estar associada aos mecanismos que levariam ao desarranjo e maior agressividade desses casos. Já nos casos com diagnóstico em estágio mais avançado, outros fatores já presentes estariam sobrepondo a importância isolada desse marcador nos desfechos oncológicos. Como explicitado na seção introdutória deste trabalho, o papel das catepsinas nas células cancerígenas, estroma e células endoteliais leva ao aumento de citocinas e mecanismos de proliferação, angiogênese, invasão, metástase e quimiossensibilidade (Benes et al. 2008). Diante disso, o incremento da análise da expressão de CTSD em casos de PMR em vigilância

ativa, a qual poderia ser detectada através da análise imuno-histoquímica dos fragmentos biopsiados, poderia ser um tema de estudo posteriormente.

5.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Podemos elencar uma série de limitações ao nosso estudo, iniciando pelo fato de ser uma análise retrospectiva realizada com um banco de tumores renais de um único centro. Embora existam protocolos institucionais que guiem as condutas dos profissionais que estão na assistência aos pacientes, o longo período da casuística e a própria experiência de cada um dos médicos, que atuaram no tratamento dos casos, determinam uma heterogeneidade que pode ter influenciado as taxas de sobrevida desta coorte. Pelo fato ainda de ser um centro de referência em oncologia, muitos pacientes retornaram para suas cidades de origem após o tratamento inicial, de modo que em 6% da casuística houve perda de seguimento, podendo também influenciar na análise dos desfechos. Outro ponto importante a ressaltar é o das questões técnicas envolvidas no processo de confecção das lâminas de TMA e na IHQ, como a fixação inadequada do material, a potencial perda de antigenicidade do material ao longo do tempo, a heterogeneidade inerente ao tumor presente em diferentes regiões da lesão, os erros de interpretação do examinador e a influência do clone de anticorpo utilizado em cada uma das análises imuno-histoquímicas. Procuramos minimizar essas questões a partir do protocolo explicitado na sessão de material e métodos, como a coleta de duas amostras de diferentes regiões de cada um dos casos.

Estudos como este estão sujeitos a uma variabilidade na classificação dos tumores renais (Evans et al. 2015), além de fatores como o grau nuclear, a invasão microvascular e a diferenciação sarcomatóide (Lohse et al. 2002). Deste modo, a revisão patológica central de nossa casuística é um ponto forte deste estudo, pois já se demonstrou associação com uma maior capacidade preditiva da gradação histológica (Lohse et al. 2002).

Além disso, outras variáveis não controladas poderiam ser potenciais influenciadores de nossos resultados, como certas dietas, medicamentos, doenças hemorrágicas crônicas, anemias congênitas, poliglobulias, verminoses e os inúmeros fatores genômicos, proteômicos ou epigenéticos não analisados.

Apesar dessas limitações, consideramos nossos resultados bem representativos e de acordo com a literatura disponível na atualidade.

6 CONCLUSÕES

1. A expressão imuno-histoquímica da EPO ocorreu de maneira homogênea nas amostras de CCRcc, de modo que os casos com expressão positiva apresentaram coloração de todas as células e os casos com expressão negativa não apresentaram nenhuma coloração.
2. A expressão imuno-histoquímica da CTSD ocorreu de modo heterogêneo no tecido neoplásico, além de que a média do grau de expressão do marcador foi semelhante no tecido renal não neoplásico adjacente às lesões.
3. A perda de expressão de EPO associou-se com uma população com mediana de idade significativamente maior. No entanto, esse marcador não representou um fator prognóstico para SG, SCE ou SLR neste estudo.
4. A expressão forte de CTSD associou-se com pacientes mais idosos, maior proporção de doentes renais crônicos, pacientes tabagistas ou ex-tabagistas, maior proporção de pacientes com anemia pré-operatória, além de casos com infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo ou seio renal, invasão microvascular, necrose tumoral, maior proporção de casos com alto grau nuclear de ISUP e com doença linfonodal.
5. A ausência de expressão de REN associou-se com pacientes mais idosos, maior proporção de pacientes com anemia pré-operatória, maior tamanho tumoral, além de casos com infiltração de gordura perirrenal, invasão de hilo ou seio renal, invasão microvascular, necrose tumoral, maior proporção de casos com alto grau nuclear de ISUP e com o estágio clínico III-IV.
6. Neste estudo, houve associação entre os casos com ausência de expressão de REN e aqueles com forte expressão da CTSD.

7. A perda de expressão concomitante da REN e da EPO influenciou a SG e a SCE em uma análise de regressão simples, mas não permaneceu como fator prognóstico independente na análise múltipla.
8. A expressão forte de CTSD foi fator prognóstico independente desfavorável para SG e SCE, mas não para SLR.
9. A forte expressão de CTSD concomitante à ausência de imunoexpressão da REN evidenciou-se como fator prognóstico independente de pior SG, SCE e SLR nos casos de CCRcc não metastático neste estudo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abel EJ, Culp SH, Matin SF, Tamboli P, Wallace MJ, Jonasch E, et al. Percutaneous biopsy of primary tumor in metastatic renal cell carcinoma to predict high risk pathological features: Comparison with nephrectomy assessment. *J Urol* 2010;184(5):1877–1881. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2010.06.105>

Abreu D, Carvalhal G, Gueglio G, Tobia I, Garcia P, Zuñiga A, et al. Prognostic Factors in De Novo Metastatic Renal Cell Carcinoma: A Report From the Latin American Renal Cancer Group. *JCO Glob Oncol* 2021 Dec;(7):671–685. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/GO.20.00621>

Abu-Ghanem Y, Fernández-Pello S, Bex A, Ljungberg B, Albiges L, Dabestani S, et al. Limitations of Available Studies Prevent Reliable Comparison Between Tumour Ablation and Partial Nephrectomy for Patients with Localised Renal Masses: A Systematic Review from the European Association of Urology Renal Cell Cancer Guideline Panel. *Eur Urol Oncol* 2020 Aug;3(4):433–452. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2588931120300262>

Ager EI, Neo J, Christophi C. The renin-angiotensin system and malignancy. *Carcinogenesis* 2008 Jun 9;29(9):1675–1684. Disponível em: <https://academic.oup.com/carcin/article-lookup/doi/10.1093/carcin/bgn171>

Alamdari FI, Rasmuson T, Grankvist K, Ljungberg B. Angiogenesis and other markers for prediction of survival in metastatic renal cell carcinoma. *Scand J Urol Nephrol* 2007 Jan 1;41(1):5–9. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365590600830433>

de Almeida e Paula F, Bezerra SM, da Cunha IW, Munhoz GC, Abreu D, Lara PN, et al. Immunohistochemical expression of renin is a prognostic factor for recurrence in nonmetastatic renal cell carcinoma. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 2019 Dec;37(12):947–954. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078143919302881>

Alves MR, Carneiro FC, Lavorato-Rocha AM, da Costa WH, da Cunha IW, de Cássio Zequi S, et al. Mutational status of VHL gene and its clinical importance in renal clear cell carcinoma. *Virchows Arch* 2014 Sep 16;465(3):321–330. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00428-014-1629-z>

Amin MB, Edge SB, Greene FL, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, et al., editors. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. Springer International Publishing; 2017.

Aplin M, Bonde MM, Hansen JL. Molecular determinants of angiotensin II type 1 receptor functional selectivity. *J Mol Cell Cardiol* 2009 Jan;46(1):15–24. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022282808007098>

Araújo WF, Naves MA, Ravanini JN, Schor N, Teixeira VPC. Renin-angiotensin system (RAS)

blockade attenuates growth and metastatic potential of renal cell carcinoma in mice. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 2015 Sep;33(9):389.e1-389.e7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urolonc.2014.11.022>

Arias LF, Bruneval P, Blanco J. Renin expression in adult renal epithelial tumors with granular cells. *Pathol - Res Pract* 2010 Nov;206(11):731–734. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prp.2010.06.002>

Atkins M, Regan M, McDermott D, Mier J, Stanbridge E, Youmans A, et al. Carbonic Anhydrase IX Expression Predicts Outcome of Interleukin 2 Therapy for Renal Cancer. *Clin Cancer Res* 2005 May 15;11(10):3714–3721. Disponível em: <http://clincancerres.aacrjournals.org/lookup/doi/10.1158/1078-0432.CCR-04-2019>

Ball MW, Bezerra SM, Gorin MA, Cowan M, Pavlovich CP, Pierorazio PM, et al. Grade Heterogeneity in Small Renal Masses: Potential Implications for Renal Mass Biopsy. *J Urol* 2015;193(1):36–40. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2014.06.067>

Bandini M, Marchioni M, Pompe RS, Tian Z, Martel T, Chun FK, et al. The effect of age on cancer-specific mortality in patients with small renal masses: A population-based analysis. *Can Urol Assoc J* 2018 Mar 15;12(7):E325-30. Disponível em: <https://cuaj.ca/index.php/journal/article/view/4854>

Battifora H. The multitumor (sausage) tissue block: novel method for immunohistochemical antibody testing. *Lab Invest* 1986 Aug;55(2):244–248. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3525985>

Bedke J, Buse S, Pritsch M, Macher-Goeppinger S, Schirmacher P, Haferkamp A, et al. Perinephric and renal sinus fat infiltration in pT3a renal cell carcinoma: possible prognostic differences. *BJU Int* 2009 May;103(10):1349–1354. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1464-410X.2008.08236.x>

Behrens G, Leitzmann MF. The association between physical activity and renal cancer: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer* 2013 Mar 14;108(4):798–811. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/bjc201337>

Bekema HJ, MacLennan S, Imamura M, Lam TBL, Stewart F, Scott N, et al. Systematic Review of Adrenalectomy and Lymph Node Dissection in Locally Advanced Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* 2013 Nov;64(5):799–810. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23643550>

Benes P, Vetvicka V, Fusek M. Cathepsin D—Many functions of one aspartic protease. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008 Oct;68(1):12–28. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842808000486>

Bergerot PG, Bergerot CD, Dizman N, Zequi S, Fay A, Dara Y, et al. Assessment of Treatment Patterns for Metastatic Renal Cell Carcinoma in Brazil. *J Glob Oncol* 2018 Dec;(4):1–8. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29281478> <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JGO.17.00113>

Berland LL, Silverman SG, Gore RM, Mayo-Smith WW, Megibow AJ, Yee J, et al. Managing Incidental Findings on Abdominal CT: White Paper of the ACR Incidental Findings Committee. *J Am Coll Radiol* 2010 Oct;7(10):754–773. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacr.2010.06.013>

Bex A, Mulders P, Jewett M, Wagstaff J, van Thienen J V., Blank CU, et al. Comparison of Immediate vs Deferred Cytoreductive Nephrectomy in Patients With Synchronous Metastatic Renal Cell Carcinoma Receiving Sunitinib. *JAMA Oncol* 2019 Feb 1;5(2):164. Disponível em: <http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2018.5543>

Blom JHM, van Poppel H, Maréchal JM, Jacqmin D, Schröder FH, de Prijck L, 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 Jan;55(1):28–34. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18848382>

Bratslavsky G, Sudarshan S, Neckers L, Linehan WM. Pseudohypoxic Pathways in Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007 Aug 15;13(16):4667–4771. Disponível em: <http://clincancerres.aacrjournals.org/lookup/doi/10.1158/1078-0432.CCR-06-2510>

Breau RH, Crispen PL, Jimenez RE, Lohse CM, Blute ML, Leibovich BC. Outcome of Stage T2 or Greater Renal Cell Cancer Treated With Partial Nephrectomy. *J Urol* 2010;183(3):903–908. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2009.11.037>

Brookman-Amisshah S, Kendel F, Spivak I, Pflanz S, Roigas J, Klotz T, et al. Impact of clinical variables on predicting disease-free survival of patients with surgically resected renal cell carcinoma. *BJU Int* 2009 May;103(10):1375–1380. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-410X.2008.08233.x>

Brouillet JP, Hanslick B, Maudelonde T, Pivat MT, Grenier J, Blanc F, et al. Increased plasma cathepsin D concentration in hepatic carcinoma and cirrhosis but not in breast cancer. *Clin Biochem* 1991 Dec;24(6):491–496. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009912005800086>

Bui MHT, Visapaa H, Seligson D, Kim H, Han K-R, Huang Y, et al. Prognostic value of carbonic anhydrase IX and KI67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. *J Urol* 2004 Jun;171(6 Pt 1):2461–2466. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15126876>

Buti S, Puligandla M, Bersanelli M, DiPaola RS, Manola J, Taguchi S, et al. Validation of a new prognostic model to easily predict outcome in renal cell carcinoma: the GRANT score applied to the ASSURE trial population. *Ann Oncol* 2017 Nov;28(11):2747–2753. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419346113>

Campbell S, Uzzo RG, Allaf ME, Bass EB, Cadeddu JA, Chang A, et al. Renal Mass and Localized Renal Cancer: AUA Guideline. *J Urol* 2017 Sep;198(3):520–529. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2017.04.100>

Campbell SC, Lane BR, Pierorazio PM. Malignant renal tumors. In: Partin A, Dmochowski RR, Kavoussi L, Peters C, editors. *Campbell-Walsh-Wein Urology*. 12th ed. Filadélfia: Elsevier;

2021. p. 2133–2184.

Campos ECR de, Fonseca FP da, Zequ S de C, Guimarães GC, Soares FA, Lopes A. Análise do gene PTEN por hibridização in situ fluorescente no carcinoma de células renais. *Rev Col Bras Cir* 2013 Dec;40(6):471–475. Disponível em: <http://elibrary.ru/item.asp?doi=10.7868/S0869565214210269>

Capitanio U, Bensalah K, Bex A, Boorjian SA, Bray F, Coleman J, et al. Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* 2019 Jan;75(1):74–84. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.08.036>

Caro JJ, Salas M, Ward A, Goss G. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review. *Cancer* 2001 Jun 15;91(12):2214–2221. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11413508>

de Cássio Zequi S, de Campos ECR, Guimarães GC, Bachega Jr. W, 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(1):67–72. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/273469>

Cássio Zequi S de, Fregnani JHGT, Favaretto RL, Costa WH, Madeira Campos RS, Fonseca FP, et al. The impact of immunohistochemical expression of nitric oxide synthases on clinical and pathological features of renal cell carcinoma. *World J Urol* 2013 Oct 6;31(5):1197–1203. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00345-012-0878-1>

Chawla SN, Crispen PL, Hanlon AL, Greenberg RE, Chen DYT, Uzzo RG. The natural history of observed enhancing renal masses: Meta-analysis and review of the world literature. *J Urol* 2006;175(2):425–431.

Chen S, Dong H, Yang S, Guo H. Cathepsins in digestive cancers. *Oncotarget* 2017 Jun 20;8(25):41690–700. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/lookup/doi/10.18632/oncotarget.16677>

Chen Z-Y, Wang Q-N, Zhu Y-H, Zhou L-Y, Xu T, He Z-Y, et al. Progress in the treatment of infantile hemangioma. *Ann Transl Med* 2019 Nov;7(22):692–692. Disponível em: <http://atm.amegroups.com/article/view/30918/26804>

Cheng B, Yang G, Jiang R, Cheng Y, Yang H, Pei L, et al. Cancer stem cell markers predict a poor prognosis in renal cell carcinoma: a meta-analysis. *Oncotarget* 2016 Oct 4;7(40):65862–75. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/lookup/doi/10.18632/oncotarget.11672>

Chipollini J, da Costa WH, Werneck da Cunha I, de Almeida e Paula F, Guilherme O, Salles P, Azizi M, et al. Prognostic value of PD-L1 expression for surgically treated localized renal cell carcinoma: implications for risk stratification and adjuvant therapies. *Ther Adv Urol* 2019 Jan 13;11:1–7. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1756287219882600>

Choi JE, You JH, Kim DK, Rha KH, Lee SH. Comparison of Perioperative Outcomes Between Robotic and Laparoscopic Partial Nephrectomy: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol* 2015 May;67(5):891–901. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2014.12.028>

Choueiri TK, Motzer RJ. Systemic Therapy for Metastatic Renal-Cell Carcinoma. Longo DL, editor. *N Engl J Med* 2017 Jan 26;376(4):354–366. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1601333>

Choueiri TK, Tomczak P, Park SH, Venugopal B, Ferguson T, Chang Y-H, et al. Adjuvant Pembrolizumab after Nephrectomy in Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2021 Aug 19;385(8):683–694. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2106391>

Christensson A, Savage C, Sjoberg DD, Cronin AM, Frank O'Brien M, Lowrance W, et al. Association of cancer with moderately impaired renal function at baseline in a large, representative, population-based cohort followed for up to 30 years. *Int J Cancer* 2013 Sep 15;133(6):1452–1458. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.28144>

Clark D, Kersting R, Rojiani AM. Erythropoietin immunolocalization in renal cell carcinoma. *Mod Pathol* 1998 Jan;11(1):24–28. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9556419>

Clayman R V., Kavoussi LR, Soper NJ, Dierks SM, Meretyk S, Darcy MD, et al. Laparoscopic Nephrectomy: Initial Case Report. *J Urol* 1991 Aug;146(2 Part 1):278–282. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/S0022-5347%2817%2937770-4>

Clere N, Corre I, Faure S, Guihot A-L, Vessières E, Chalopin M, et al. Deficiency or blockade of angiotensin II type 2 receptor delays tumorigenesis by inhibiting malignant cell proliferation and angiogenesis. *Int J Cancer* 2010 Feb 8;127(10):2279–2291. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.25234>

da Costa WH, da Cunha IW, Fares AF, Bezerra SM, Shultz L, Clavijo DA, et al. Prognostic impact of concomitant loss of PBRM1 and BAP1 protein expression in early stages of clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 2018 May;36(5):243.e1-243.e8. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.urolonc.2018.01.002>

da Costa WH, Fares AF, Bezerra SM, Morini MA, de Toledo Benigno LA, Clavijo DA, et al. Loss of BAP1 expression in metastatic tumor tissue is an event of poor prognosis in patients with metastatic clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 2019 Jan;37(1):78–85. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078143918304010>

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 Feb;109(4):544–548. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21711437>

da Costa WH, Rezende M, Carneiro FC, Rocha RM, da Cunha IW, Carraro DM, et al. Polybromo-1 (PBRM1), a SWI/SNF complex subunit is a prognostic marker in clear cell renal cell carcinoma. *BJU Int* 2014 May;113(5b):E157–63. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/bju.12426>

da Costa WH, Rocha RM, da Cunha IW, da Fonseca FP, Guimaraes GC, Zequi S de C. CD133 immunohistochemical expression predicts progression and cancer-related death in renal cell

carcinoma. *World J Urol* 2012b Aug 4;30(4):553–538. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00345-011-0769-x>

Costa WH da, Rocha RM, Cunha IW da, Guimaraes GC, Zequi S de C. Immunohistochemical expression of CD44s in renal cell carcinoma lacks independent prognostic significance. *Int braz j urol* 2012 Aug;38(4):456–465. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-55382012000400004&lng=en&tlng=en

Cumberbatch MG, Rota M, Catto JWF, La Vecchia C. The Role of Tobacco Smoke in Bladder and Kidney Carcinogenesis: A Comparison of Exposures and Meta-analysis of Incidence and Mortality Risks. *Eur Urol* 2016 Sep;70(3):458–466. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283815009525>

Dabestani S, Thorstenson A, Lindblad P, Harmenberg U, Ljungberg B, Lundstam S. Renal cell carcinoma recurrences and metastases in primary non-metastatic patients: a population-based study. *World J Urol* 2016 Aug 5;34(8):1081–1086. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00345-016-1773-y>

Dall’Oglio MF, Coelho R, Lopes R, Antunes A a, Crippa A, Camara C, 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 Oct;37(5):584–590. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22099269>

Dall’Oglio MF, Ribeiro-Filho LA, Antunes AA, Crippa A, Nesrallah L, Gonçalves PD, et al. Microvascular Tumor Invasion, Tumor Size and Fuhrman Grade: A Pathological Triad for Prognostic Evaluation of Renal Cell Carcinoma. *J Urol* 2007 Aug;178(2):425–428. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2007.03.128>

DeCastro GJ, McKiernan JM. Epidemiology, Clinical Staging, and Presentation of Renal Cell Carcinoma. *Urol Clin North Am* 2008 Nov;35(4):581–592. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ucl.2008.07.005>

Deiss LP, Galinka H, Berissi H, Cohen O, Kimchi A. Cathepsin D protease mediates programmed cell death induced by interferon-gamma, Fas/APO-1 and TNF-alpha. *EMBO J* 1996 Aug;15(15):3861–3870. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00760.x>

Delahunt B, Cheville JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Grading System for Renal Cell Carcinoma and Other Prognostic Parameters. *Am J Surg Pathol* 2013 Oct;37(10):1490–1504. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24025520>

Delahunt B, Dagher J, Egevad L, Yaxley J, Varma M, Samaratunga H. Is the UICC/AJCC pT2 Staging Category for Clear Cell Renal Cell Carcinoma Meaningful? *Am J Surg Pathol* 2019 Sep;43(9):1249–1252. Disponível em: <https://journals.lww.com/10.1097/PAS.0000000000001308>

Delahunt B, Eble JN, Samaratunga H, Thunders M, Yaxley JW, Egevad L. Staging of renal cell

carcinoma: current progress and potential advances. *Pathology* 2021 Jan;53(1):120–128. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031302520309302>

Derosa L, Izzedine H, Albiges L, Escudier B. Hypertension and angiotensin system inhibitors in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Oncol Rev* 2016 Nov 24;10(2):54–59. Disponível em: <https://www.oncologyreviews.org/site/article/view/298>

Deshayes F, Nahmias C. Angiotensin receptors: a new role in cancer? *Trends Endocrinol Metab* 2005 Sep;16(7):293–299. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043276005001566>

Deuker M, Stolzenbach F, Rosiello G, Palumbo C, Martin T, Tian Z, et al. Renal Cell Carcinoma: Comparison between Variant Histology and Clear Cell Carcinoma across All Stages and Treatment Modalities. *J Urol* 2020 Oct;204(4):671–676. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1097/JU.0000000000001063>

Dizman N, Philip EJ, Pal SK. Genomic profiling in renal cell carcinoma. *Nat Rev Nephrol* 2020 Aug 19;16(8):435–451. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41581-020-0301-x>

Dolley-Hitze T, Jouan F, Martin B, Mottier S, Edeline J, Moranne O, et al. Angiotensin-2 receptors (AT1-R and AT2-R), new prognostic factors for renal clear-cell carcinoma? *Br J Cancer* 2010 Nov 23;103(11):1698–1705. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6605866>

Downs TM, Schultzel M, Shi H, Sanders C, Tahir Z, Sadler GR. Renal cell carcinoma: Risk assessment and prognostic factors for newly diagnosed patients. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009 Apr;70(1):59–70. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1040842808002126>

Du J, Zheng J-H, Chen X-S, Yang Q, Zhang Y-H, Zhou L, et al. High preoperative plasma fibrinogen is an independent predictor of distant metastasis and poor prognosis in renal cell carcinoma. *Int J Clin Oncol* 2013 Jun 19;18(3):517–523. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10147-012-0412-x>

Ebert MPA. The Angiotensin I-Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion Polymorphism Is Linked to Early Gastric Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005 Dec 1;14(12):2987–2989. Disponível em: <http://cebp.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1055-9965.EPI-05-0411>

Ebert MPA, Krüger S, Fogeron M-L, Lamer S, Chen J, Pross M, et al. Overexpression of cathepsin B in gastric cancer identified by proteome analysis. *Proteomics* 2005 Apr;5(6):1693–1704. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pmic.200401030>

Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. World Health Organization classification of tumours: Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editors. Lyon, France: IARC Press; 2004.

Eckardt K-U. Erythropoietin production in liver and kidneys. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1996 Jan;5(1):28–34. Disponível em: <http://journals.lww.com/00041552-199601000-00007>

Errarte P, Beitia M, Perez I, Manterola L, Lawrie CH, Solano-Iturri JD, et al. Expression and activity of angiotensin-regulating enzymes is associated with prognostic outcome in clear cell renal cell carcinoma patients. Bottaro DP, editor. *PLoS One* 2017 Aug 15;12(8):e0181711. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0181711>

Evans AJ, Delahunt B, Srigley JR. Issues and challenges associated with classifying neoplasms in percutaneous needle biopsies of incidentally found small renal masses. *Semin Diagn Pathol* 2015 Mar;32(2):184–195. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740257015000106>

Farrell F, Lee A. The Erythropoietin Receptor and Its Expression in Tumor Cells and Other Tissues. *Oncologist* 2004 Nov 1;9(S5):18–30. Disponível em: <https://academic.oup.com/oncolo/article/9/S5/18/6388134>

Featherston T, Marsh RW, van Schaijik B, Brasch HD, Tan ST, Itinteang T. Expression and Localization of Cathepsins B, D, and G in Two Cancer Stem Cell Subpopulations in Moderately Differentiated Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma. *Front Med* 2017 Jul 20;4(JUL). Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2017.00100/full>

Feng C, Ding G, Song N, Li X, Wu Z, Jiang H, et al. Paraneoplastic hormones: parathyroid hormone-related protein (PTHrP) and erythropoietin (EPO) are related to vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in clear cell renal cell carcinoma. *Tumor Biol* 2013 Dec 19;34(6):3471–3476. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s13277-013-0924-7>

Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer* 2021 Aug 15;149(4):778–789. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.33588>

Ferreira DB, da Costa WH, Clavijo DA, Decia R, Cunha IW, Schultz L, et al. Tissue Expression of Erythropoietin Predicts Survival Rates in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Kidney Cancer* 2017 Nov 27;1(2):143–149. Disponível em: <https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/KCA-170013>

Ferreira DB, Zequi S de C, Costa WH da, Clavijo DA, Decia R, Neto DC, et al. Use of the American Society of Anesthesiologists Classification as an Additional Planning Tool for Renal Cell Carcinoma Assessment. *J Cancer Ther* 2013;04(09):7–14. Disponível em: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/jct.2013.49A2002>

Ficarra V, Novara G, Secco S, Macchi V, Porzionato A, De Caro R, et al. Preoperative Aspects and Dimensions Used for an Anatomical (PADUA) Classification of Renal Tumours in Patients who are Candidates for Nephron-Sparing Surgery. *Eur Urol* 2009 Nov;56(5):786–793. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030228380900788X>

Ficarra V, Prayer-Galetti T, Novara G, Bratti E, Zanolla L, Dal Bianco M, et al. Tumor-size breakpoint for prognostic stratification of localized renal cell carcinoma. *Urology* 2004 Feb;63(2):235–239. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429503011968>

Figueiredo AFS, Takii Y, Tsuji H, Kato K, Inagami T. Rat kidney renin and cathepsin D:

purification and comparison of properties. *Biochemistry* 1983 Nov 1;22(24):5476–5481. Disponible em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi00293a004>

Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, Tangen C, Van Poppel H, Crawford ED. Cyto-reductive Nephrectomy in Patients With Metastatic Renal Cancer: A Combined Analysis. *J Urol* 2004 Mar;171(3):1071–1076. Disponible em: <http://www.jurology.com/doi/10.1097/01.ju.0000110610.61545.ae>

Flocks RH, Kadesky MC. Malignant Neoplasms of the Kidney: An Analysis of 353 Patients Followed Five Years or More. *J Urol* 1958 Feb;79(2):196–201. Disponible em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/S0022-5347%2817%2966258-X>

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 Dec;168(6):2395–2400. Disponible em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12441925>

Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. Solid renal tumors: an analysis of pathological features related to tumor size. *J Urol* 2003 Dec;170(6 Pt 1):2217–2220. Disponible em: <http://www.jurology.com/doi/10.1097/01.ju.0000095475.12515.5e>

Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1982 Oct;6(7):655–664. Disponible em: <http://journals.lww.com/00000478-198210000-00007>

Galfano A, Novara G, Iafrate M, Cavalleri S, Martignoni G, Gardiman M, et al. Mathematical Models for Prognostic Prediction in Patients with Renal Cell Carcinoma. *Urol Int* 2008;80(2):113–123. Disponible em: <https://www.karger.com/Article/FullText/112599>

García Marchiñena P, Tobia I, Abreu D, de Cássio Zequi S, Jurado A, Gueglio G. Valor pronóstico de la invasión de grasa perirrenal y/o del seno en pacientes con carcinoma de células renales pT3a: estudio de cohorte multicéntrico. Grupo LARCG. *Actas Urológicas Españolas* 2019 Nov;43(9):495–502. Disponible em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S021048061930035X>

Genest J, Cantin M, Garcia R, Thibault G, Gutkowska J, Schiffrin E, et al. Extrarenal Angiotensin-Forming Enzymes. *Clin Exp Hypertens Part A Theory Pract* 1983 Jan 3;5(7–8):1065–1080. Disponible em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10641968309048842>

George AJ, Thomas WG, Hannan RD. The renin–angiotensin system and cancer: old dog, new tricks. *Nat Rev Cancer* 2010 Nov 22;10(11):745–759. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2945>

Gershman B, Thompson RH, Boorjian SA, Larcher A, Capitanio U, Montorsi F, et al. Radical Nephrectomy with or without Lymph Node Dissection for High Risk Nonmetastatic Renal Cell Carcinoma: A Multi-Institutional Analysis. *J Urol* 2018 May;199(5):1143–1148. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.juro.2017.11.114>

Gild P, Ehdaie B, Kluth LA. Effect of obesity on bladder cancer and renal cell carcinoma

incidence and survival. *Curr Opin Urol* 2017 Sep;27(5):409–414. Disponível em: <https://journals.lww.com/00042307-201709000-00003>

Girgin C, Tarhan H, Hekimgil M, Sezer A, Gürel G. p53 Mutations and Other Prognostic Factors of Renal Cell Carcinoma. *Urol Int* 2001;66(2):78–83. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/56575>

Goebell PJ, Ivanyi P, Bedke J, Bergmann L, Berthold D, Boegemann M, et al. Consensus paper: current state of first- and second-line therapy in advanced clear-cell renal cell carcinoma. *Futur Oncol* 2020 Oct;16(29):2307–2328. Disponível em: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fon-2020-0403>

Gonçalves PD, Srougi M, Dall'lio MF, Leite KRM, Ortiz V, Hering F. Low clinical stage renal cell carcinoma: relevance of microvascular tumor invasion as a prognostic parameter. *J Urol* 2004 Aug;172(2):470–474. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15247705>

Gong K, Zhang N, Zhang Z, Na Y. Coexpression of erythropoietin and erythropoietin receptor in sporadic clear cell renal cell carcinoma. *Cancer Biol Ther* 2006 Jun 27;5(6):582–585. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cbt.5.6.2709>

Grandez-Urbina JA, Arias-Nolazco R. Renal cell carcinoma in Latin America: Do we know the relationship between demographic changes and the impact on our population? *Actas Urológicas Españolas* 2017 May 1;41(4):280. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S021048061630170X?via%3Dihub>

Griffiths J. Are cancer cells acidic? *Br J Cancer* 1991 Sep 1;64(3):425–427. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/bjc1991326>

Gross-Goupil M, Kwon TG, Eto M, Ye D, Miyake H, Seo SI, et al. Axitinib versus placebo as an adjuvant treatment of renal cell carcinoma: results from the phase III, randomized ATLAS trial. *Ann Oncol* 2018 Dec;29(12):2371–2378. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923753419342413>

Guillonneau B, Jayet C, Tewari A, Vallancien G. Robot assisted laparoscopic nephrectomy. *J Urol* 2001 Jul;166(1):200–201. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11435858>

Haas NB, Manola J, Dutcher JP, Flaherty KT, Uzzo RG, Atkins MB, et al. Adjuvant Treatment for High-Risk Clear Cell Renal Cancer. *JAMA Oncol* 2017 Sep 1;3(9):1249. Disponível em: <http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2017.0076>

Hackenthal E, Hackenthal R, Hilgenfeldt U. Isorenin, pseudorenin, cathepsin D and renin. A comparative enzymatic study of angiotensin-forming enzymes. *Biochim Biophys Acta - Enzymol* 1978 Feb;522(2):574–588. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/000527447890089X>

Haddad AQ, Wood CG, Abel EJ, Krabbe L-M, Darwish OM, Thompson RH, et al. Oncologic outcomes following surgical resection of renal cell carcinoma with inferior vena caval thrombus extending above the hepatic veins: a contemporary multicenter cohort. *J Urol* 2014

Oct;192(4):1050–1056. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2014.03.111>

Hadjipavlou M, Khan F, Fowler S, Joyce A, Keeley FX, Sriprasad S. Partial vs radical nephrectomy for T1 renal tumours: an analysis from the British Association of Urological Surgeons Nephrectomy Audit. *BJU Int* 2016 Jan;117(1):62–71. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/bju.13114>

Harris AL. Hypoxia — a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2002 Jan;2(1):38–47. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nrc704>

Hemal AK, Kumar A. A prospective comparison of laparoscopic and robotic radical nephrectomy for T1-2N0M0 renal cell carcinoma. *World J Urol* 2009 Feb 13;27(1):89–94. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00345-008-0321-9>

Hemal AK, Kumar A, Kumar R, Wadhwa P, Seth A, Gupta NP. Laparoscopic Versus Open Radical Nephrectomy for Large Renal Tumors: A Long-Term Prospective Comparison. *J Urol* 2007 Mar;177(3):862–866. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2006.10.053>

Heng DY, Xie W, Regan MM, Harshman LC, Bjarnason GA, Vaishampayan UN, et al. External validation and comparison with other models of the International Metastatic Renal-Cell Carcinoma Database Consortium prognostic model: a population-based study. *Lancet Oncol* 2013 Feb;14(2):141–148. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204512705594>

Heng DY, Xie W, Regan MM, Warren MA, Golshayan AR, Sahi C, et al. Prognostic Factors for Overall Survival in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated With Vascular Endothelial Growth Factor–Targeted Agents: Results From a Large, Multicenter Study. *J Clin Oncol* 2009 Dec 1;27(34):5794–5799. Disponível em: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2008.21.4809>

Hidayat K, Du X, Zou S-Y, Shi B-M. Blood pressure and kidney cancer risk. *J Hypertens* 2017 Jul;35(7):1333–1344. Disponível em: <https://journals.lww.com/00004872-201707000-00002>

Hoch NE, Guzik TJ, Chen W, Deans T, Maalouf SA, Gratze P, et al. Regulation of T-cell function by endogenously produced angiotensin II. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 2009 Feb;296(2):R208–16. Disponível em: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpregu.90521.2008>

Hollenbeck BK, Taub DA, Miller DC, Dunn RL, Wei JT. National utilization trends of partial nephrectomy for renal cell carcinoma: A case of underutilization? *Urology* 2006 Feb;67(2):254–259. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429505012094>

Hollingsworth JM, Miller DC, Daignault S, Hollenbeck BK. Rising Incidence of Small Renal Masses: A Need to Reassess Treatment Effect. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2006 Sep 20;98(18):1331–1334. Disponível em: <http://academic.oup.com/jnci/article/98/18/1331/2521785/Rising-Incidence-of-Small-Renal-Masses-A-Need-to>

Howlander N, Noone A-M, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2018, National Cancer Institute. Bethesda, MD; 2021. Disponível em: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2018/

Huang WC, Elkin EB, Levey AS, Jang TL, Russo P. Partial Nephrectomy Versus Radical Nephrectomy in Patients With Small Renal Tumors—Is There a Difference in Mortality and Cardiovascular Outcomes? *J Urol* 2009 Jan;181(1):55–62. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2008.09.017>

Hunyady L, Catt KJ. Pleiotropic AT1 Receptor Signaling Pathways Mediating Physiological and Pathogenic Actions of Angiotensin II. *Mol Endocrinol* 2006 May 1;20(5):953–970. Disponível em: <https://academic.oup.com/mend/article/20/5/953/2738111>

Ito K, Yoshii H, Asano T, Horiguchi A, Sumitomo M, Hayakawa M, et al. Impact of increased erythropoietin receptor expression and elevated serum erythropoietin levels on clinicopathological features and prognosis in renal cell carcinoma. *Exp Ther Med* 2012 Jun;3(6):937–944. Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2012.513>

Jeon HG, Jeong IG, Kwak C, Kim HH, Lee SE, Lee E. Reevaluation of Renal Cell Carcinoma and Perirenal Fat Invasion Only. *J Urol* 2009 Nov;182(5):2137–2143. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2009.07.065>

Jewett MAS, Mattar K, Basiuk J, Morash CG, Pautler SE, Siemens DR, et al. Active Surveillance of Small Renal Masses: Progression Patterns of Early Stage Kidney Cancer. *Eur Urol* 2011 Jul;60(1):39–44. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283811002831>

Johnson DC, Vukina J, Smith AB, Meyer A-M, Wheeler SB, Kuo T-M, et al. Preoperatively Misclassified, Surgically Removed Benign Renal Masses: A Systematic Review of Surgical Series and United States Population Level Burden Estimate. *J Urol* 2015 Jan;193(1):30–35. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2014.07.102>

Joseph RW, Kapur P, Serie DJ, Parasramka M, Ho TH, Cheville JC, et al. Clear Cell Renal Cell Carcinoma Subtypes Identified by BAP1 and PBRM1 Expression. *J Urol* 2016 Jan;195(1):180–187. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2015.07.113>

Kang HW, Lee SK, Kim WT, Yun SJ, Lee S-C, Kim W-J, et al. Surgical margin does not influence recurrence rate in pT1 clear cell renal cell carcinoma after partial nephrectomy: A multicenter study. *J Surg Oncol* 2016 Jul;114(1):70–74. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/jso.24259>

Kato S, Demura S, Murakami H, Tsuchiya H. Surgical metastasectomy for renal cell carcinoma: which patients are the real candidates for surgery? *Ann Transl Med* 2019 Dec;7(S8):S273–S273. Disponível em: <http://atm.amegroups.com/article/view/33937/html>

Kato Y, Ozawa S, Miyamoto C, Maehata Y, Suzuki A, Maeda T, et al. Acidic extracellular microenvironment and cancer. *Cancer Cell Int* 2013;13(1):89. Disponível em: <http://cancer-ci.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2867-13-89>

Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, Katz J, Russo P. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *J Urol* 2001 Jul;166(1):63–67. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/S0022-5347%2805%2966077-6>

Kjaer M, Iversen P, Hvidt V, Bruun E, Skaarup P, Bech Hansen J, et al. A Randomized Trial of Postoperative Radiotherapy Versus Observation in Stage II and III Renal Adenocarcinoma. *Scand J Urol Nephrol* 1987 Jan 1;21(4):285–289. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/00365598709180784>

Klatte T, Rossi SH, Stewart GD. Prognostic factors and prognostic models for renal cell carcinoma: a literature review. *World J Urol* 2018 Dec 30;36(12):1943–1952. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2309-4>

van der Knaap R, Siemes C, Coebergh J-WW, van Duijn CM, Hofman A, Stricker BHC. Renin-angiotensin system inhibitors, angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism, and cancer. *Cancer* 2008 Feb 15;112(4):748–757. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.23215>

Koh SP, Wickremesekera AC, Brasch HD, Marsh R, Tan ST, Itinteang T. Expression of Cathepsins B, D, and G in Isocitrate Dehydrogenase-Wildtype Glioblastoma. *Front Surg* 2017 May 29;4(May):1–9. Disponível em: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fsurg.2017.00028/full>

Kononen J, Bubendorf L, Kallionimeni A, Bärnlund M, Schraml P, Leighton S, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998 Jul;4(7):844–847. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/nm0798-844>

Kovacs G, Billfeldt NK, Farkas N, Dergez T, Javorhazy A, Banyai D, et al. Cytoplasmic expression of β -catenin is an independent predictor of progression of conventional renal cell carcinoma: a simple immunostaining score. *Histopathology* 2017 Jan;70(2):273–280. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/his.13059>

Krambeck A, Iwaszko M, Leibovich B, Chevillie J, Frank I, Blute M. Long-term outcome of multiple ipsilateral renal tumours found at the time of planned nephron-sparing surgery. *BJU Int* 2008 Jun;101(11):1375–1379. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-410X.2008.07588.x>

Kranzhöfer R, Browatzki M, Schmidt J, Kübler W. Angiotensin II Activates the Proinflammatory Transcription Factor Nuclear Factor- κ B in Human Monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 Apr;257(3):826–828. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X99905430>

Kurt B, Paliege A, Willam C, Schwarzensteiner I, Schucht K, Neymeyer H, et al. Deletion of von Hippel–Lindau Protein Converts Renin-Producing Cells into Erythropoietin-Producing Cells. *J Am Soc Nephrol* 2013 Mar;24(3):433–444. Disponível em: <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2012080791>

Kutikov A, Egleston BL, Wong Y-N, 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 Jan 10;28(2):311–317. Disponível em: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2009.22.4816>

Kutikov A, Fossett LK, Ramchandani P, Tomaszewski JE, Siegelman ES, Banner MP, et al. Incidence of benign pathologic findings at partial nephrectomy for solitary renal mass presumed to be renal cell carcinoma on preoperative imaging. *Urology* 2006 Oct;68(4):737–740. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429506006029>

Kutikov A, Uzzo RG. The R.E.N.A.L. Nephrometry Score: A Comprehensive Standardized System for Quantitating Renal Tumor Size, Location and Depth. *J Urol* 2009 Sep;182(3):844–853. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2009.05.035>

Kuusk T, Abu-Ghanem Y, Mumtaz F, Powles T, Bex A. Perioperative therapy in renal cancer in the era of immune checkpoint inhibitor therapy. *Curr Opin Urol* 2021 May;31(3):262–269. Disponível em: <https://journals.lww.com/10.1097/MOU.0000000000000868>

Laird A, Choy KCC, Delaney H, Cutress ML, O'Connor KM, Tolley DA, et al. Matched pair analysis of laparoscopic versus open radical nephrectomy for the treatment of T3 renal cell carcinoma. *World J Urol* 2015 Jan 20;33(1):25–32. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00345-014-1280-y>

Lam JS, Bergman J, Breda A, Schulam PG. Importance of surgical margins in the management of renal cell carcinoma. *Nat Clin Pract Urol* 2008 Jun 13;5(6):308–317. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/ncpuro1121>

Lane BR, Campbell SC, Gill IS. 10-Year Oncologic Outcomes After Laparoscopic and Open Partial Nephrectomy. *J Urol* 2013 Jul;190(1):44–49. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2012.12.102>

Lane BR, Rini BI, Novick AC, Campbell SC. Targeted Molecular Therapy for Renal Cell Carcinoma. *Urology* 2007 Jan;69(1):3–10. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429506021522>

Lane BR, Tiong H-Y, Campbell SC, Fergany AF, Weight CJ, Larson BT, et al. Management of the Adrenal Gland During Partial Nephrectomy. *J Urol* 2009 Jun;181(6):2430–2437. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2009.02.027>

Lau WKO, Blute ML, Weaver AL, Torres VE, Zincke H. Matched Comparison of Radical Nephrectomy vs Nephron-Sparing Surgery in Patients With Unilateral Renal Cell Carcinoma and a Normal Contralateral Kidney. *Mayo Clin Proc* 2000 Dec;75(12):1236–1242. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4065/75.12.1236>

Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. Nephron sparing surgery for appropriately selected renal cell carcinoma between 4 and 7 cm results in outcome similar to radical nephrectomy. *J Urol* 2004 Mar;171(3):1066–1070. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1097/01.ju.0000113274.40885.db>

Lever AF, Hole DJ, Gillis CR, McCallum IR, McInnes GT, MacKinnon PL, et al. Do inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme protect against risk of cancer? *Lancet* 1998

Jul;352(9123):179–184. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673698032280>

Li J, Vesey DA, Johnson DW, Gobe GC. Erythropoietin reduces cisplatin-induced apoptosis in renal carcinoma cells via a PKC dependent pathway. *Cancer Biol Ther* 2007 Dec 27;6(12):1944–1950. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/cbt.6.12.4975>

Li VD, Li KH, Li JT. TP53 mutations as potential prognostic markers for specific cancers: analysis of data from The Cancer Genome Atlas and the International Agency for Research on Cancer TP53 Database. *J Cancer Res Clin Oncol* 2019 Mar 12;145(3):625–36. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00432-018-2817-z>

Li Z, Wystrach L, Bernstein A, Grad S, Alini M, Richards R, et al. The tissue-renin-angiotensin-system of the human intervertebral disc. *Eur Cells Mater* 2020 Oct 2;40:115–132. Disponível em: <https://www.ecmjournal.org/papers/vol040/pdf/v040a07.pdf>

Liao LM, Hofmann JN, Cho E, Pollak MN, Chow W-H, Purdue MP. Circulating levels of obesity-related markers and risk of renal cell carcinoma in the PLCO cancer screening trial. *Cancer Causes Control* 2017 Jul 8;28(7):801–807. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10552-017-0901-3>

Lima MS, Pereira RA, Costa RS, Tucci S, Dantas M, Muglia VF, et al. The prognostic value of cyclin D1 in renal cell carcinoma. *Int Urol Nephrol* 2014 May 17;46(5):905–913. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s11255-013-0602-0>

Lindop GBM, Fleming S. Renin in renal cell carcinoma--an immunocytochemical study using an antibody to pure human renin. *J Clin Pathol* 1984 Jan 1;37(1):27–31. Disponível em: <http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.37.1.27>

Lissoni P, Rovelli F, Baiocco N, Tangini G, Fumagalli L. A phase II study of subcutaneous low-dose interleukin-2 plus erythropoietin in metastatic renal cell carcinoma progressing on interleukin-2 alone. *Anticancer Res* 2001;21(1B):777–779. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11299843>

Liu X, Minin V, Huang Y, Seligson DB, Horvath S. Statistical Methods for Analyzing Tissue Microarray Data. *J Biopharm Stat* 2004 Dec 29;14(3):671–685. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/BIP-200025657>

Ljungberg B, Albiges L, Bedke J, Bex A, Capitanio U, Giles RH, et al. EAU Guidelines on Renal Cell Carcinoma. In: *EAU Guidelines Edn presented at the EAU Annual Congress Milan 2021*. Arnhem, The Netherlands: EAU Guidelines Office; 2021.

Ljungberg B, Rasmuson T, Grankvist K. Erythropoietin in renal cell carcinoma: evaluation of its usefulness as a tumor marker. *Eur Urol* 1992;21(2):160–163. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/474825>

Lohse CM, Blute ML, Zincke H, Weaver AL, Chevillie JC. Comparison of Standardized and Nonstandardized Nuclear Grade of Renal Cell Carcinoma to Predict Outcome Among 2,042 Patients. *Am J Clin Pathol* 2002 Dec 1;118(6):877–886. Disponível em:

<https://academic.oup.com/ajcp/article-lookup/doi/10.1309/VLV6-BRTR-HY5B-H485>

Lotan Y, Karam JA, Shariat SF, Gupta A, Roupret M, Bensalah K, et al. Renal-cell carcinoma risk estimates based on participants in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial and national lung screening trial. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 2016 Apr;34(4):167.e9-167.e16. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078143915004974>

Lowrance WT, Ordoñez J, Udaltsova N, Russo P, Go AS. CKD and the Risk of Incident Cancer. *J Am Soc Nephrol* 2014 Oct;25(10):2327–2334. Disponível em: <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2013060604>

Lyon TD, Thompson RH, Shah PH, Lohse CM, Boorjian SA, Costello BA, et al. Complete Surgical Metastasectomy of Renal Cell Carcinoma in the Post-Cytokine Era. *J Urol* 2020 Feb;203(2):275–282. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1097/JU.0000000000000488>

Macleod LC, Hotaling JM, Wright JL, Davenport MT, Gore JL, Harper J, et al. Risk Factors for Renal Cell Carcinoma in the VITAL Study. *J Urol* 2013 Nov;190(5):1657–1661. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2013.04.130>

Makarewicz R, Zarzycka M, Kulińska G, Windorbska W. The value of postoperative radiotherapy in advanced renal cell cancer. *Neoplasma* 1998;45(6):380–383. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10210113>

Marchioni M, Bandini M, Pompe RS, Martel T, Tian Z, Shariat SF, et al. The impact of lymph node dissection and positive lymph nodes on cancer-specific mortality in contemporary pT 2-3 non-metastatic renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy. *BJU Int* 2018 Mar;121(3):383–392. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/bju.14024>

Marconi L, Dabestani S, Lam TB, Hofmann F, Stewart F, Norrie J, et al. Systematic Review and Meta-analysis of Diagnostic Accuracy of Percutaneous Renal Tumour Biopsy. *Eur Urol* 2016 Apr;69(4):660–673. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2015.07.072>

Marrero MB, Schieffer B, Paxton WG, Heerdt L, Berk BC, Delafontaine P, et al. Direct stimulation of Jak/STAT pathway by the angiotensin II AT1 receptor. *Nature* 1995 May;375(6528):247–250. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/375247a0>

Maxwell PH, Wiesener MS, Chang G-W, Clifford SC, Vaux EC, Cockman ME, et al. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 1999 May;399(6733):271–275. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/20459>

McKay RR, Rodriguez GE, Lin X, Kaymakcalan MD, Hamnvik OPR, Sabbisetti VS, et al. Angiotensin system inhibitors and survival outcomes in patients with metastatic renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2015;21(11):2471–2479.

Medeiros R, Vasconcelos A, Costa S, Pinto D, Lobo F, Morais A, et al. Linkage of angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism to the progression of human prostate cancer. *J Pathol* 2004 Mar;202(3):330–335. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.1529>

Mehrotra S, Wickremesekera SK, Brasch HD, Van Schaijik B, Marsh RW, Tan ST, et al. Expression and Localization of Cathepsins B, D and G in Cancer Stem Cells in Liver Metastasis From Colon Adenocarcinoma. *Front Surg* 2018 Jun 7;5(June):1–9. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fsurg.2018.00040/full>

Meissner MA, McCormick BZ, Matin SF, Wood CG, Karam JA. Radical Nephrectomy is the Treatment of Choice for Complex, Localized Renal Tumors. *Kidney Cancer* 2018 Mar 30;2(1):5–9. Disponível em: <https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/KCA-170022>

Méjean A, Ravaud A, Thezenas S, Chevreau C, Bensalah K, Geoffrois L, et al. Sunitinib Alone or After Nephrectomy for Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma: Is There Still a Role for Cytoreductive Nephrectomy? *Eur Urol* 2021 Oct;80(4):417–424. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283821018157>

Méjean A, Ravaud A, Thezenas S, Colas S, Beauval J-B, Bensalah K, et al. Sunitinib Alone or after Nephrectomy in Metastatic Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2018 Aug 2;379(5):417–427. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1803675>

Merseburger AS, Hennenlotter J, Simon P, Ohneseit PA, Kuehs U, Kruck S, et al. Cathepsin D Expression in Renal Cell Cancer—Clinical Implications. *Eur Urol* 2005 Sep;48(3):519–526. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283805001533>

Merseburger AS, Hennenlotter J, Stenzl A, Beger G, Rinnab L, Kuczyk MA, et al. Cathepsin D Serum Levels Are Not a Valid Serum Marker in Renal Cell Carcinoma. *Urol Int* 2007;79(1):41–43. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/102912>

Metcalf MR, Cheaib JG, Biles MJ, Patel HD, Peña VN, Chang P, et al. Outcomes of Active Surveillance for Young Patients with Small Renal Masses: Prospective Data from the DISSRM Registry. *J Urol* 2021 May;205(5):1286–1293. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1097/JU.0000000000001575>

Miccio J, Johung K. When Surgery Is Not an Option in Renal Cell Carcinoma: The Evolving Role of Stereotactic Body Radiation Therapy. *Oncology (Williston Park)* 2019;33(5):167–173. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31095714>

Michael A, Politi E, Havranek E, Corbishley C, Karapanagiotou L, Anderson C, et al. Prognostic significance of erythropoietin expression in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2007 Aug;100(2):291–294. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1464-410X.2007.06978.x>

Mikami S, Oya M, Mizuno R, Kosaka T, Katsube K, Okada Y. Invasion and metastasis of renal cell carcinoma. *Med Mol Morphol* 2014 Jun 9;47(2):63–67. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00795-013-0064-6>

Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Gomes de Alencar. INCA; 2019 [2021 Nov 9]. Disponível em: <https://bit.ly/3F3qxUT>

Mir MC, Derweesh I, Porpiglia F, Zargar H, Mottrie A, Autorino R. Partial Nephrectomy Versus Radical Nephrectomy for Clinical T1b and T2 Renal Tumors: A Systematic Review and Meta-analysis of Comparative Studies. *Eur Urol* 2017 Apr;71(4):606–617. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2016.08.060>

Mitchell TJ, Rossi SH, Klatte T, Stewart GD. Genomics and clinical correlates of renal cell carcinoma. *World J Urol* 2018;36(12):1899–1911. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00345-018-2429-x>

Miyajima A, Yazawa S, Kosaka T, Tanaka N, Shirotake S, Mizuno R, et al. Prognostic Impact of Renin–Angiotensin System Blockade on Renal Cell Carcinoma After Surgery. *Ann Surg Oncol* 2015 Oct 18;22(11):3751–3759. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1245/s10434-015-4436-0>

Miyake M, Goodison S, Lawton A, Zhang G, Gomes-Giacoaia E, Rosser CJ. Erythropoietin is a JAK2 and ERK1/2 effector that can promote renal tumor cell proliferation under hypoxic conditions. *J Hematol Oncol* 2013;6(1):65.

Mjønes PG, Nordrum IS, Qvigstad G, Sjørdal Ø, Rian LLM, Waldum HL. Expression of erythropoietin and neuroendocrine markers in clear cell renal cell carcinoma. *APMIS* 2017 Mar;125(3):213–222. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/apm.12654>

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 Jul;70(1):93–105. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.029>

Morais C, Johnson DW, Vesey DA, Gobe GC. Functional significance of erythropoietin in renal cell carcinoma. *BMC Cancer* 2013 Dec 10;13(1):14.

Moreira LF, Pessôa MCM, Mattana DS, Schmitz FF, Volkweis BS, Antoniazzi JL, et al. Cultural adaptation and the Clavien-Dindo surgical complications classification translated to Brazilian Portuguese. *Rev Col Bras Cir* 2016 Jun;43(3):141–148. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912016000300141&lng=en&tlng=en

Morere JF, Bouillet T, Piperno-Neumann S, Tourani JM, Brunet A, Hennebelle F, et al. [Treatment of advanced kidney cancer using recombinant erythropoietin]. *Prog Urol* 1997 Jun;7(3):399–402. French. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9273066>

Morris BJ, Reid IA. A “Renin-Like” Enzymatic Action of Cathepsin D and the Similarity in Subcellular Distributions of “Renin-Like” Activity and Cathepsin D in the Midbrain of Dogs. *Endocrinology* 1978 Oct;103(4):1289–1296. Disponível em: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo-103-4-1289>

Morris MR, Latif F. The epigenetic landscape of renal cancer. *Nat Rev Nephrol* 2017 Jan 28;13(1):47–60. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2016.168>

Morshaeuser L, May M, Burger M, Otto W, Hutterer GC, Pichler M, et al. p53-expression in

patients with renal cell carcinoma correlates with a higher probability of disease progression and increased cancer-specific mortality after surgery but does not enhance the predictive accuracy of robust outcome models. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 2018 Mar;36(3):94.e15-94.e21. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078143917305963>

Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, Russo P, Mazumdar M. Interferon- α as a Comparative Treatment for Clinical Trials of New Therapies Against Advanced Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol* 2002 Jan 1;20(1):289-296. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2002.20.1.289>

Motzer RJ, Haas NB, Donskov F, Gross-Goupil M, Varlamov S, Kopyltsov E, et al. Randomized Phase III Trial of Adjuvant Pazopanib Versus Placebo After Nephrectomy in Patients With Localized or Locally Advanced Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol* 2017 Dec 10;35(35):3916-3923. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2017.73.5324>

Motzer RJ, Jonasch E, Boyle S, Carlo MI, Manley B, Agarwal N, et al. NCCN Guidelines Insights: Kidney Cancer, Version 1.2021. *J Natl Compr Cancer Netw* 2020 Sep;18(9):1160-1170. Disponível em: <https://jnccn.org/view/journals/jnccn/18/9/article-p1160.xml>

Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, Berg W, Amsterdam A, Ferrara J. Survival and Prognostic Stratification of 670 Patients With Advanced Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol* 1999 Aug;17(8):2530. Disponível em: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.1999.17.8.2530>

Motzer RJ, Ravaud A, Patard J-J, Pandha HS, George DJ, Patel A, et al. Adjuvant Sunitinib for High-risk Renal Cell Carcinoma After Nephrectomy: Subgroup Analyses and Updated Overall Survival Results. *Eur Urol* 2018 Jan;73(1):62-68. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2017.09.008>

Mouracade P, Kara O, Maurice MJ, Dagenais J, Malkoc E, Nelson RJ, et al. Patterns and Predictors of Recurrence after Partial Nephrectomy for Kidney Tumors. *J Urol* 2017 Jun;197(6):1403-1409. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2016.12.046>

Mourão TC, Abreu D, Carvalhal GF, Gueglio G, da Costa WH, Calsavara VF, et al. Small renal masses in Latin-American population: characteristics and prognostic factors for survival, recurrence and metastasis – a multi-institutional study from LARCG database. *BMC Urol* 2020 Dec 2;20(1):85. Disponível em: <https://bmcurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12894-020-00649-8>

Mourão TC, Curado MP, de Oliveira RAR, Santana TBM, Favaretto R de L, Guimarães GC. Epidemiology of Urological Cancers in Brazil: Trends in Mortality Rates Over More Than Two Decades. *J Epidemiol Glob Health* 2022 May 31;12:239-247. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s44197-022-00042-8>

Nardi AC, Zequi S de C, Clark OAC, Almeida JC, Glina S. Epidemiologic characteristics of renal cell carcinoma in Brazil. *Int braz j urol* 2010 Apr;36(2):151-158. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1677-55382010000200004&lng=en&tlng=en

Nelson CP, Sanda MG. Contemporary diagnosis and management of renal angiomyolipoma. *J*

Urol 2002 Oct;168:1315–1325. Disponível em:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12352384>

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 Dec;176(6):2397–2400. Disponível em:
<http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2006.07.144>

Noon AP, Vlatković N, Polański R, Maguire M, Shawki H, Parsons K, et al. p53 and MDM2 in renal cell carcinoma. *Cancer* 2010 Feb 15;116(4):780–790. Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.24841>

Novick AC. Nephron-Sparing Surgery for Renal Cell Carcinoma. *Annu Rev Med* 2002 Feb;53(1):393–407. Disponível em:
<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.med.53.082901.103937>

Nseyo UO, Williams PD, Murphy GE. Clinical significance of erythropoietin levels in renal carcinoma. *Urology* 1986 Oct;28(4):301–306. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0090429586900117>

Oberländer M, Alkemade H, Bünger S, Ernst F, Thorns C, Braunschweig T, et al. A ‘Waterfall’ Transfer-based Workflow for Improved Quality of Tissue Microarray Construction and Processing in Breast Cancer Research. *Pathol Oncol Res* 2014 Jul 7;20(3):719–726. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12253-014-9752-3>

Okamoto H, Greenbaum LM. Kininogen substrates for trypsin and cathepsin D in human, rabbit and rat plasmas. *Life Sci* 1983 Apr;32(17):2007–2013. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0024320583900528>

Oliveira RDC, Ivanovic RF, Leite KRM, Viana NI, Pimenta RCA, Junior JP, et al. Expression of micro-RNAs and genes related to angiogenesis in ccRCC and associations with tumor characteristics. *BMC Urol*. 2017;17(1):1–8.

Ondetti MA, Cushman DW. Enzymes of the Renin-Angiotensin System and their Inhibitors. *Annu Rev Biochem* 1982 Jun;51(1):283–308. Disponível em:
<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.bi.51.070182.001435>

Oro C, Qian H, Thomas WG. Type 1 angiotensin receptor pharmacology: Signaling beyond G proteins. *Pharmacol Ther* 2007 Jan;113(1):210–226. Disponível em:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163725806001835>

Pagé EL, Robitaille GA, Pouysségur J, Richard DE. Induction of Hypoxia-inducible Factor-1 α by Transcriptional and Translational Mechanisms. *J Biol Chem* 2002 Dec;277(50):48403–9. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819330728>

Papworth K, Bergh A, Grankvist K, Ljungberg B, Rasmuson T. Expression of Erythropoietin and Its Receptor in Human Renal Cell Carcinoma. *Tumor Biol* 2009;30(2):86–92. Disponível em:
<http://www.karger.com/doi/10.1159/000216844>

Parker WP, Chevillat JC, Frank I, Zaid HB, Lohse CM, Boorjian SA, et al. Application of the Stage, Size, Grade, and Necrosis (SSIGN) Score for Clear Cell Renal Cell Carcinoma in Contemporary Patients. *Eur Urol* 2017 Apr;71(4):665–673. Disponible em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283816302421>

Patard J-J, Fergelot P, Karakiewicz PI, Klatte T, Trinh Q-D, Rioux-Leclercq N, et al. Low CAIX expression and absence of VHL gene mutation are associated with tumor aggressiveness and poor survival of clear cell renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2008 Jul 15;123(2):395–400. Disponible em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.23496>

Patard J-J, Kim HL, Lam JS, Dorey FJ, Pantuck AJ, Zisman A, et al. Use of the University of California Los Angeles Integrated Staging System to Predict Survival in Renal Cell Carcinoma: An International Multicenter Study. *J Clin Oncol* 2004a Aug 15;22(16):3316–3322. Disponible em: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2004.09.104>

Patard J-J, Shvarts O, Lam JS, Pantuck AJ, Kim HL, Ficarra V, et al. Safety And Efficacy Of Partial Nephrectomy For All T1 Tumors Based On An International Multicenter Experience. *J Urol* 2004b Jun;171:2181–2185. Disponible em: <http://www.jurology.com/doi/10.1097/01.ju.0000124846.37299.5e>

Pawłowski R, Mühl SM, Sulser T, Krek W, Moch H, Schraml P. Loss of PBRM1 expression is associated with renal cell carcinoma progression. *Int J Cancer* 2013 Jan 15;132(2):E11–7. Disponible em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.27822>

Permpongkosol S, Chan DY, Link RE, Jarrett TW, Kavoussi LR. Laparoscopic Radical Nephrectomy: Long-Term Outcomes. *J Endourol* 2005 Jul;19(6):628–633. Disponible em: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/end.2005.19.628>

Petrelli F, Coinu A, Vavassori I, Cabiddu M, Borgonovo K, Ghilardi M, et al. Cytoreductive Nephrectomy in Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated With Targeted Therapies: A Systematic Review With a Meta-Analysis. *Clin Genitourin Cancer* 2016 Dec;14(6):465–472. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clgc.2016.04.001>

Pierorazio PM, Hyams ES, Tsai S, Feng Z, Trock BJ, Mullins JK, et al. Multiphasic enhancement patterns of small renal masses (≤ 4 cm) on preoperative computed tomography: utility for distinguishing subtypes of renal cell carcinoma, angiomyolipoma, and oncocytoma. *Urology* 2013 Jun;81(6):1265–1271. Disponible em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25698065>

Pierorazio PM, Johnson MH, Ball MW, Gorin MA, Trock BJ, Chang P, et al. Five-year Analysis of a Multi-institutional Prospective Clinical Trial of Delayed Intervention and Surveillance for Small Renal Masses: The DISSRM Registry. *Eur Urol* 2015;68(3):408–415. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2015.02.001>

Pierorazio PM, Patel HD, Johnson MH, Sozio SM, Sharma R, Iyoha E, et al. Distinguishing malignant and benign renal masses with composite models and nomograms: A systematic review and meta-analysis of clinically localized renal masses suspicious for malignancy. *Cancer* 2016 Nov 1;122(21):3267–3276. Disponible em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.30268>

Pimenta DC, Chen VC, Chao J, Juliano MA, Juliano L. Alpha1-antichymotrypsin and kallistatin hydrolysis by human cathepsin D. *J Protein Chem* 2000 Jul;19(5):411–418. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11131147>

Podhajcer OL, Bover L, Bravo AI, Fernanda Ledda M, Kairiyama C, Calb I, et al. Expression of Cathepsin D in Primary and Metastatic Human Melanoma and Dysplastic Nevi. *J Invest Dermatol* 1995 Mar;104(3):340–344. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15420615>

van Poppel H, Da Pozzo L, Albrecht W, Matveev V, Bono A, Borkowski A, et al. A Prospective, Randomised EORTC Intergroup Phase 3 Study Comparing the Oncologic Outcome of Elective Nephron-Sparing Surgery and Radical Nephrectomy for Low-Stage Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol* 2011 Apr;59(4):543–552. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2010.12.013>

Psutka SP, Master VA. Role of metastasis-directed treatment in kidney cancer. *Cancer* 2018 Sep 15;124(18):3641–3655. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.31341>

Rahman RMA, van Schaijik B, Brasch HD, Marsh RW, Wickremesekera AC, Johnson R, et al. Expression of Cathepsins B, D, and G in WHO Grade I Meningioma. *Front Surg* 2019 Mar 12;6(March):1–9. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fsurg.2019.00006/full>

Rampersaud EN, Klatter T, Bass G, Patard J-J, Bensaleh K, Böhm M, et al. The effect of gender and age on kidney cancer survival: Younger age is an independent prognostic factor in women with renal cell carcinoma. *Urol Oncol Semin Orig Investig* 2014 Jan;32(1):30.e9–30.e13. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1078143912003584>

Rhodes DR, Ateeq B, Cao Q, Tomlins SA, Mehra R, Laxman B, et al. AGTR1 overexpression defines a subset of breast cancer and confers sensitivity to losartan, an AGTR1 antagonist. *Proc Natl Acad Sci* 2009 Jun 23;106(25):10284–9. Disponível em: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0900351106>

Richard PO, Jewett MAS, Bhatt JR, Kachura JR, Evans AJ, Zlotta AR, et al. Renal Tumor Biopsy for Small Renal Masses: A Single-center 13-year Experience. *Eur Urol* 2015 Dec;68(6):1007–1013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2015.04.004>

Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990 Oct 1;86(4):1343–1346. Disponível em: <http://www.jci.org/articles/view/114844>

Robson CJ. Radical Nephrectomy for Renal Cell Carcinoma. *J Urol* 1963 Jan;89(1):37–42. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/S0022-5347%2817%2964494-X>

Robson CJ, Churchill BM, Anderson W. The Results of Radical Nephrectomy for Renal Cell Carcinoma. *J Urol* 1969 Mar;101(3):297–301. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/S0022-5347%2817%2962331-0>

Rocheffort H, Capony F, Garcia M. Cathepsin D: A protease involved in breast cancer metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1990 Dec;9(4):321–331. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF00049522>

Rodríguez-Fernández IA, Rodríguez-Romo L, Hernandez-Barajas D, Gonzalez-Conchas GA, Verdines-Perez A, Templeton AJ, et al. Adjuvant Radiation Therapy After Radical Nephrectomy in Patients with Localized Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol Oncol* 2019 Jul;2(4):448–455. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2588931118301780>

Ross JS, Nazeer T, Figge HL, Fisher HAG, Rifkin MD. Quantitative Immunohistochemical Determination of Cathepsin D Levels in Prostatic Carcinoma Biopsies: Correlation with Tumor Grade, Stage, PSA Level, and DNA Ploidy Status. *Am J Clin Pathol* 1995 Jul 1;104(1):36–41. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajcp/article-lookup/doi/10.1093/ajcp/104.1.36>

Roth IM, Wickremesekera AC, Wickremesekera SK, Davis PF, Tan ST. Therapeutic Targeting of Cancer Stem Cells via Modulation of the Renin-Angiotensin System. *Front Oncol* 2019 Aug 8;9:1–12. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2019.00745/full>

Salgia M, Adashek J, Bergerot P, Pal SK. Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Current Management and Best Practice. *Kidney Cancer* 2017 Nov 27;1(2):99–105. Disponível em: <https://www.medra.org/servlet/aliasResolver?alias=iospress&doi=10.3233/KCA-170019>

Santos VE, da Costa WH, Bezerra SM, da Cunha IW, Nobre JQC, Brazão ES, et al. Prognostic Impact of Loss of SETD2 in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Clin Genitourin Cancer* 2021 Mar;1–7. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2021.03.003>

Sauter A, Machura K, Neubauer B, Kurtz A, Wagner C. Development of renin expression in the mouse kidney. *Kidney Int* 2008 Jan;73(1):43–51. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815528184>

Scarborough PE, Dunn BM, Guruprasad K, Topham C, Blundell TL, Richo GR, et al. Exploration of subsite binding specificity of human cathepsin D through kinetics and rule-based molecular modeling. *Protein Sci* 1993 Feb;2(2):264–276. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pro.5560020215>

Scelo G, Larose TL. Epidemiology and Risk Factors for Kidney Cancer. *J Clin Oncol* 2018 Dec 20;36(36):3574–3581. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2018.79.1905>

Schefft P, Novick AC, Straffon RA, Stewart BH. Surgery for Renal Cell Carcinoma Extending into the Inferior Vena Cava. *J Urol* 1978 Jul;120(1):28–31. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/S0022-5347%2817%2957028-7>

Scosyrev E, Messing EM, Sylvester R, Campbell S, Van Poppel H. Renal Function After Nephron-sparing Surgery Versus Radical Nephrectomy: Results from EORTC Randomized Trial 30904. *Eur Urol* 2014 Feb;65(2):372–377. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2013.06.044>

Sequeira López MLS, 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 May;6(5):719–728. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1534580704001340>

Shah PH, Moreira DM, Okhunov Z, Patel VR, Chopra S, Razmaria AA, et al. Positive Surgical Margins Increase Risk of Recurrence after Partial Nephrectomy for High Risk Renal Tumors. *J Urol* 2016 Aug;196(2):327–334. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2016.02.075>

Shannon BA, Cohen RJ, de Bruto H, Davies RJ. The Value of Preoperative Needle Core Biopsy for Diagnosing Benign Lesions Among Small, Incidentally Detected Renal Masses. *J Urol* 2008 Oct;180(4):1257–1261. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2008.06.030>

Shuch B, La Rochelle JC, Wu J, Klatte T, Riggs SB, Kabbinavar F, et al. Performance status and cytoreductive nephrectomy. *Cancer* 2008 Sep 15;113(6):1324–1331. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cncr.23708>

Shum CF, Bahler CD, Sundaram CP. Matched Comparison Between Partial Nephrectomy and Radical Nephrectomy for T2 N0 M0 Tumors, a Study Based on the National Cancer Database. *J Endourol* 2017 Aug;31(8):800–805. Disponível em: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/end.2017.0190>

Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin* 2021 Jan 12;71(1):7–33. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21654>

Simmons MN, Ching CB, Samplaski MK, Park CH, Gill IS. Kidney Tumor Location Measurement Using the C Index Method. *J Urol* 2010 May;183(5):1708–1713. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2010.01.005>

Siva S, Kothari G, Muacevic A, Louie A V., Slotman BJ, Teh BS, et al. Radiotherapy for renal cell carcinoma: renaissance of an overlooked approach. *Nat Rev Urol* 2017 Sep 20;14(9):549–563. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2017.87>

Slater EE, Strout H V. Pure human renin. Identification and characterization and of two major molecular weight forms. *J Biol Chem* 1981 Aug 10;256(15):8164–8171. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6790533>

Smith GR, Missailidis S. Cancer, inflammation and the AT1 and AT2 receptors. *J Inflamm (Lond)* 2004;1(1):3. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15813980>

Snyder ME, Bach A, Kattan MW, Raj G V., Reuter VE, Russo P. Incidence of Benign Lesions for Clinically Localized Renal Masses Smaller Than 7 cm in Radiological Diameter: Influence of Sex. *J Urol* 2006 Dec;176(6):2391–2396. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2006.08.013>

Spyratos F, Hacene K, Rouëssé J, Brunet M, Andrieu C, Desplaces A, et al. Cathepsin D: An Independent Prognostic Factor for Metastasis of Breast Cancer. *Lancet* 1989 Nov;334(8672):1115–1118. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673689914876>

Srigley JR, Delahunt B, Eble JN, Egevad L, Epstein JI, Grignon D, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2013 Oct;37(10):1469–1489. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24025519>

Ștefan AE, Gologan D, Leavitt MO, Mușat S, Pleșea IE, Stan LGR, et al. Tissue microarrays - brief history, techniques and clinical future. *Rom J Morphol Embryol* 2021 Jul 1;61(4):1077–1083. Disponível em: <https://rjme.ro/archive/61/4/10/>

Steffens S, Roos FC, Janssen M, Becker F, Steinestel J, Abbas M, et al. Clinical behavior of chromophobe renal cell carcinoma is less aggressive than that of clear cell renal cell carcinoma, independent of Fuhrman grade or tumor size. *Virchows Arch* 2014 Oct 2;465(4):439–444. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s00428-014-1648-9>

Stein M, Kuten A, Halpern J, Coachman NM, Cohen Y, Robinson E. The value of postoperative irradiation in renal cell cancer. *Radiother Oncol* 1992 May;24(1):41–44. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/016781409290352U>

Stoyanoff TR, Rodríguez JP, Todaro JS, Espada JD, Colavita JPM, Brandan NC, et al. Tumor biology of non-metastatic stages of clear cell renal cell carcinoma; overexpression of stearyl desaturase-1, EPO/EPO-R system and hypoxia-related proteins. *Tumor Biol* 2016 Oct 28;37(10):13581–93. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-016-5279-4>

Sun M, Abdollah F, Bianchi M, Trinh Q-D, Jeldres C, Tian Z, et al. A Stage-for-Stage and Grade-for-Grade Analysis of Cancer-Specific Mortality Rates in Renal Cell Carcinoma According to Age: A Competing-Risks Regression Analysis. *Eur Urol* 2011 Dec;60(6):1152–1159. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283811008165>

Sun M, Becker A, Tian Z, Roghmann F, Abdollah F, Larouche A, et al. Management of localized kidney cancer: Calculating cancer-specific mortality and competing risks of death for surgery and nonsurgical management. *Eur Urol* 2014;65(1):235–241. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2013.03.034>

Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021 May 4;71(3):209–249. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21660>

Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Chirgwin JM, McGuire WL. Cathepsin D and Prognosis in Breast Cancer. *N Engl J Med* 1990 Feb;322(5):297–302. Disponível em: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199002013220504>

Thompson RH. Partial Versus Radical Nephrectomy: The Debate Regarding Renal Function Ends While the Survival Controversy Continues. *Eur Urol* 2014 Feb;65(2):378–379. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2013.07.036>

Touijer K, Jacqmin D, Kavoussi LR, Montorsi F, Patard JJ, Rogers CG, et al. The Expanding Role of Partial Nephrectomy: A Critical Analysis of Indications, Results, and Complications. *Eur Urol* 2010 Feb;57(2):214–222. Disponível em:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283809010239>

Tumminello FM, Gebbia N, Pizzolanti G, Russo A, Bazan V, Leto G. Cathepsin D Content in Colorectal Cancer. *Oncology* 1995;52(3):237–242. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/FullText/227464>

Umbreit EC, Shimko MS, Childs MA, Lohse CM, Cheville JC, Leibovich BC, et al. Metastatic potential of a renal mass according to original tumour size at presentation. *BJU Int* 2012 Jan;109(2):190–194. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1464-410X.2011.10184.x>

Vasudev NS, Sim S, Cairns DA, Ferguson RE, Craven RA, Stanley A, et al. Pre-operative urinary cathepsin D is associated with survival in patients with renal cell carcinoma. *Br J Cancer* 2009 Oct 29;101(7):1175–1182. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/6605250>

Vaupel P. Oxygenation status of malignant tumors: Pathogenesis of hypoxia and significance for tumor therapy. *Semin Oncol* 2001 Apr;28:29–35. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093775401902106>

Vilella-Arias SA, Rocha RM, da Costa WH, Zequi SDC, Guimarães GC, Verjovski-Almeida S, et al. Loss of Caspase 7 Expression Is Associated With Poor Prognosis in Renal Cell Carcinoma Clear Cell Subtype. *Urology* 2013 Oct;82(4):974.e1-974.e7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S009042951300770X>

Volpe A, Cadeddu JA, Cestari A, Gill IS, Jewett MAS, Joniau S, et al. Contemporary Management of Small Renal Masses. *Eur Urol* 2011 Sep;60(3):501–515. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0302283811005495>

Walenbergh SMA, Houben T, Hendriks T, Jeurissen MLJ, van Gorp PJ, Vreugdenhil ACE, et al. Plasma Cathepsin D Levels: A Novel Tool to Predict Pediatric Hepatic Inflammation. *Am J Gastroenterol* 2015 Mar;110(3):462–470. Disponível em: <https://journals.lww.com/00000434-201503000-00020>

Wang F, Duan R, Chirgwin J, Safe S. Transcriptional activation of cathepsin D gene expression by growth factors. *J Mol Endocrinol* 2000 Apr 1;24(2):193–202. Disponível em: <https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/24/2/193.xml>

Wang J, Liu L, Qu Y, Xi W, Xia Y, Bai Q, et al. Prognostic Value of SETD2 Expression in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated with Tyrosine Kinase Inhibitors. *J Urol* 2016 Nov;196(5):1363–1370. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2016.06.010>

Wang Z, Peng S, Jiang N, Wang A, Liu S, Xie H, et al. Prognostic and clinicopathological value of p53 expression in renal cell carcinoma: a meta-analysis. *Oncotarget* 2017 Nov 24;8(60):102361–70. Disponível em: <https://www.oncotarget.com/lookup/doi/10.18632/oncotarget.21971>

Ward C, Meehan J, Gray ME, Murray AF, Argyle DJ, Kunkler IH, et al. The impact of tumour pH on cancer progression: strategies for clinical intervention. *Explor Target Anti-tumor Ther* 2020 Apr 9;1(2):71–100. Disponível em:

<https://www.explorationpub.com/Journals/etat/Article/10025>

Westenfelder C, Baranowski RL. Erythropoietin stimulates proliferation of human renal carcinoma cells. *Kidney Int* 2000 Aug;58(2):647–657. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815471455>

Wong MCS, Goggins WB, Yip BHK, Fung FDH, Leung C, Fang Y, et al. Incidence and mortality of kidney cancer: temporal patterns and global trends in 39 countries. *Sci Rep* 2017 Dec 16;7(1):15698. Disponível em: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-15922-4>

Yin G, Yan C, Berk BC. Angiotensin II signaling pathways mediated by tyrosine kinases. *Int J Biochem Cell Biol* 2003 Jun;35(6):780–783. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135727250200300X>

Yokosawa H, Inagami T, Haas E. Purification of human renin. *Biochem Biophys Res Commun* 1978 Jul;83(1):306–312. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006291X78904321>

Young AC, Craven RA, Cohen D, Taylor C, Booth C, Harnden P, et al. Analysis of VHL Gene Alterations and their Relationship to Clinical Parameters in Sporadic Conventional Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009 Dec 15;15(24):7582–7592. Disponível em: <http://clincancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1078-0432.CCR-09-2131>

Young JR, Margolis D, Sauk S, Pantuck AJ, Sayre J, Raman SS. Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Discrimination from Other Renal Cell Carcinoma Subtypes and Oncocytoma at Multiphasic Multidetector CT. *Radiology* 2013 May;267(2):444–453. Disponível em: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.13112617>

Zaorsky NG, Lehrer EJ, Kothari G, Louie A V., Siva S. Stereotactic ablative radiation therapy for oligometastatic renal cell carcinoma (SABR ORCA): a meta-analysis of 28 studies. *Eur Urol Oncol* 2019 Sep;2(5):515–523. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2588931119300744>

Zequi S de C. Correlação entre os fatores clínicos e anatomopatológicos associados aos índices de proliferação celular como prognósticos em portadores de câncer do rim tratador por cirurgia. [dissertação]. São Paulo:Fundação Antônio Prudente; 2000.

Zequi S de C. 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 va. [tese]. São Paulo: Fundação Antônio Prudente; 2008.

Zequi S de C, Mourão TC, de Oliveira MM, Curado MP, Gueglio G, da Costa WH, et al. Predictors of Survival Outcomes in Non-Metastatic Renal Cell Carcinoma in Latin America and Spain: A Multicentric Analysis. *Kidney Cancer*. 2019;3(4):253–61.

Zibelman M, Plimack ER. Integrating Immunotherapy Into the Management of Renal Cell Carcinoma. *J Natl Compr Cancer Netw* 2017 Jun 8;15(6):841–847. Disponível em: <https://jnccn.org/doi/10.6004/jnccn.2017.0103>

Zini L, Destrieux-Garnier L, Leroy X, Villers A, Haulon S, Lemaitre L, 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 Feb;179(2):450–454. Disponível em: <http://www.jurology.com/doi/10.1016/j.juro.2007.09.042>

Zini L, Perrotte P, Capitanio U, Jeldres C, Shariat SF, Antebi E, et al. Radical versus partial nephrectomy. *Cancer* 2009 Apr 1;115(7):1465–1471. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.24035>

Zisman A, Pantuck AJ, Wieder J, Chao DH, Dorey F, Said JW, 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 Dec 1;20(23):4559–4566. Disponível em: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2002.05.111>

Anexo 1 – Sistema de estadiamento TNM do *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* para câncer renal, oitava edição (2016)

Tumor primário (T)			
Tx	Tumor primário não pode ser avaliado		
T0	Sem evidência de tumor primário		
T1	Tumor limitado ao rim ≤ 7 cm na maior dimensão		
T1a	Tumor limitado ao rim ≤ 4 cm na maior dimensão		
T1b	Tumor limitado ao rim > 4 cm e ≤ 7 cm na maior dimensão		
T2	Tumor limitado ao rim > 7 cm na maior dimensão		
T2a	Tumor limitado ao rim > 7 cm e ≤ 10 cm na maior dimensão		
T2b	Tumor limitado ao rim > 10 cm		
T3	Tumor estende-se para veias principais ou tecidos perinêfricos, mas não para a glândula adrenal ipsilateral e nem além da fáscia de Gerota		
T3a	Tumor estende-se para a veia renal ou seus ramos segmentares <u>ou</u> invade o sistema pielocalicinal <u>ou</u> invade a gordura perirrenal ou do seio renal, mas não além da fáscia de Gerota		
T3b	Tumor estende-se para a veia cava infradiafragmática		
T3c	Tumor estende-se para a veia cava supradiafragmática ou invade a parede da veia cava		
T4	Tumor invade além da fáscia de Gerota (incluindo extensão contígua para a glândula adrenal ipsilateral)		
Linfonodos regionais (N)			
Nx	Linfonodos regionais não podem ser avaliados		
N0	Sem metástases para linfonodos regionais		
N1	Linfonodo(s) regional(is) acometido(s)		
Metástases à distância (M)			
M0	Ausência de metástases à distância		
M1	Presença de metástase à distância		
Estádio clínico	T	N	M
Estádio I	T1	N0	M0
Estádio II	T2	N0	M0
Estádio III	T1 – T2	N1	M0
	T3	Qualquer N	M0
Estádio IV	T4	Qualquer N	M0
	Qualquer T	Qualquer N	M1

Fonte: Adaptado de AMIN (2017).

Anexo 2 – Nomogramas prognósticos para pacientes com carcinoma de células renais

Classificação UISS (*UCLA Integrated Staging System for renal cell carcinoma*)

Doença localizada (qualquer T, N0, M0)				
Estadio T	Grau nuclear	ECOG PS	Risco	
T1	Fuhrman 1-2	0	Baixo	
		≥ 1		
	Fuhrman 3-4	Qualquer		
T2	Qualquer	Qualquer	Intermediário	
T3	Fuhrman 1	0		
		≥ 1		
	Fuhrman > 1	0		
		≥ 1		Alto
Doença metastática (N+ ou M1)				
Estadio N/M	Grau nuclear	ECOG PS	Risco	
N1 M0	Qualquer	Qualquer	Baixo	
N2 M0/M1	Fuhrman 1	0	Baixo	
		≥ 1	Intermediário	
	Fuhrman 2	0	Baixo	
		≥ 1	Intermediário	
	Fuhrman 3	Qualquer		
	Fuhrman 4	0		Alto
≥ 1				

Fonte: Adaptado de ZISMAN et al. (2002).

Legenda: ECOG PS: *Eastern Cooperative Oncology Group Performance Score*.

Classificação SSIGN (*Stage, Size, Grade, and Necrosis*) para pacientes submetidos a nefrectomia radical.

Categoria		Pontuação
Estadio pT	pT1	0
	pT2	+ 1
	pT3a-c	+ 2
	pT4	+ 4
Estadio pN	pNx ou pN0	0
	pN+	+ 2
Estadio M	M0	0
	M1	+ 4
Tamanho tumoral	< 5 cm	0
	≥ 5 cm	+ 2
Grau nuclear	1 ou 2	0
	3	+ 1
	4	+ 3
Necrose tumoral	Não	0
	Sim	+ 2

Fonte: Adaptado de FRANK et al. (2002).

Classificação GRANT (*Grade, Age, Nodes, and Tumor stage*)

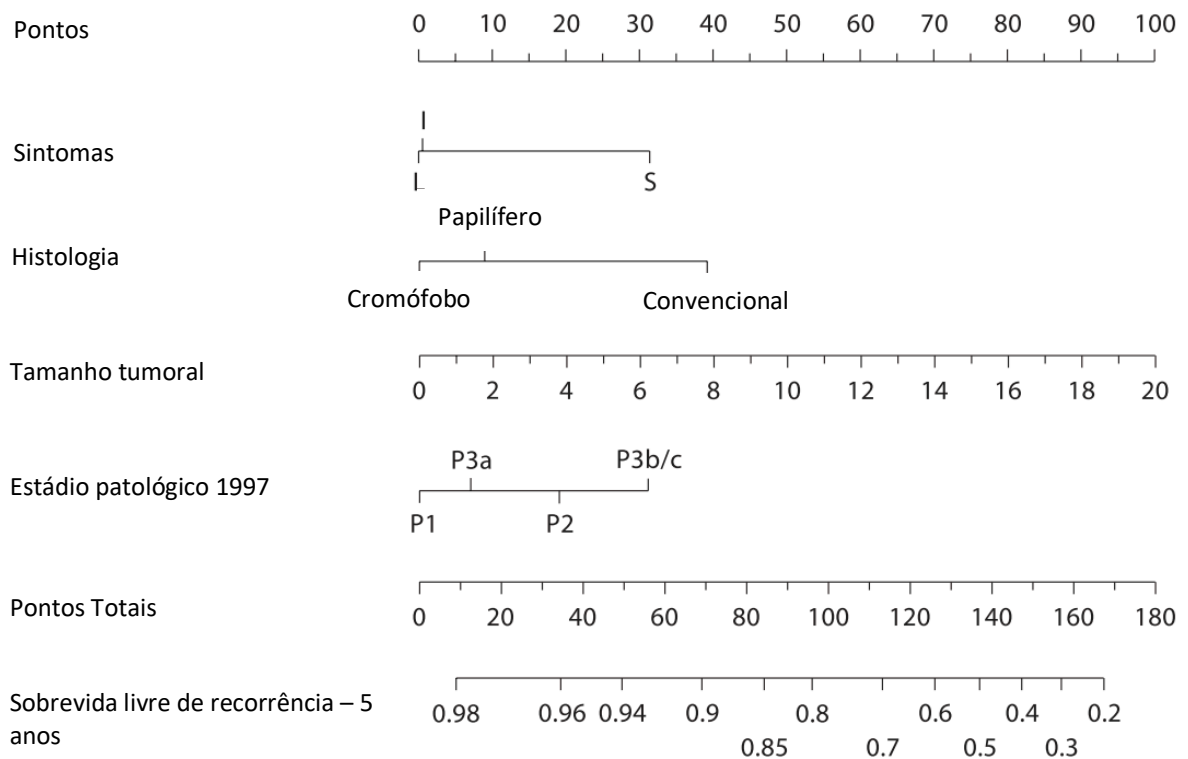
Variável	Categoria	Escore
Idade	> 60 anos	1
	≤ 60 anos	0
Estadio pT	pT1, pT2, pT3a	0
	pT3b, pT3c, pT4	1
Estadio pN	pNx ou pN0	0
	pN+	1
Grau nuclear de Fuhrman	1 – 2	0
	3 - 4	1

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

Legenda: Escore 0 – 1 é classificado como grupo de risco favorável; Escore ≥ 2 é classificado como grupo de risco desfavorável.

Nomograma de Kattan (nomograma prognóstico pós-operatório para carcinoma de células renais).

Instruções: Localize a sintomatologia do paciente (I = incidental, L = local, S = sistêmico) no eixo Sintomas. Trace uma linha reta para cima até o eixo Pontos, para determinar quantos pontos em uma recorrência o paciente recebe por seus sintomas. Repita o processo para cada um dos outros eixos separadamente. Ao final, some os pontos alcançados para cada preditor e localize a soma no eixo Pontos Totais. Trace uma linha reta para baixo e encontre a probabilidade de o paciente permanecer livre de recorrência em 5 anos, assumindo que o mesmo não morreria de nenhuma outra causa.



Fonte: Adaptado de KATTAN et al. (2001).

Anexo 3 – Classificação das complicações cirúrgicas de *Clavien-Dindo*

Grau de classificação	Definição
Grau I	- Qualquer desvio do curso pós-operatório ideal sem necessidade de tratamento farmacológico ou de intervenções cirúrgicas, endoscópicas e radiológicas. Ex.: drogas antieméticas, antipiréticos, analgésicos, diuréticos, feridas operatórias drenadas à beira do leito.
Grau II	- Tratamento farmacológico com drogas diferentes daquelas permitidas para complicações grau I. Ex.: Transfusão sanguínea e nutrição parenteral total.
Grau III	Intervenções cirúrgicas, endoscópicas ou radiológicas.
	IIIa. Sem anestesia geral
	IIIb. Com anestesia geral
Grau IV	Complicações com risco de vida, além de necessidade de unidade de terapia intensiva (UTI).
	IVa. Disfunção de um órgão (Ex.: diálise)
	IVb. Disfunção de múltiplos órgãos
Grau V	Morte do paciente

Fonte: Adaptado de MOREIRA et al. (2016)

Anexo 4 – Carta de aprovação do estudo pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP



A.C. Camargo Cancer Center

Centro Integrado de Diagnóstico, Tratamento, Ensino e Pesquisa

**COMITÊ DE ÉTICA
EM PESQUISA - CEP**

São Paulo, 24 de janeiro de 2020.

Ao

Dr. Stênio de Cássio Zequi

Aluno: Thiago Camelo Mourão (Doutorado)

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

"Análise da expressão imunoistoquímica e do valor prognóstico da associação da eritropoietina (EPO) com a renina (REN) em pacientes portadores de carcinoma de células renais do tipo células claras submetidos a nefrectomia."

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Antonio Prudente – A.C. Camargo Cancer Center, em sua última reunião de **21/01/20**, **tomaram conhecimento e aprovaram** o seguinte documento:

- 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 imunoistoquímica 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 Doutorado do aluno Thiago Camelo Mourão, sob orientação do Dr. Stênio de Cássio Zequi.

Atenciosamente,


Dra. Sandra Caíres Serrano
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1



FUNDAÇÃO ANTÔNIO
PRUDENTE - A.C. CAMARGO
CANCER CENTER



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Expressão imunoistoquímica 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.

Pesquisador: Stênio de Cássio Zequi

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 51230115.8.0000.5432

Instituição Proponente: FUNDACAO ANTONIO PRUDENTE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.908.103

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos itens "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa", "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do documento "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1802001_E1.pdf", gerado pela Plataforma Brasil em 05/08/2021.

Resumo:

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 (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 estadios iniciais, 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

Endereço: Rua Professor Antônio Prudente, 211

Bairro: Liberdade

CEP: 01.509-900

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2189-5020

Fax: (11)2189-5020

E-mail: cep_accamargo@accamargo.org.br

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 (LJUNGBERG et al. 2010; NGUYEN et al. 2006). 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 (CAIRNS 2010; CRISPEN et al. 2008). 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 (LAM et al. 2007; MOTZER 2004). 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.

Hipótese:

Analisar a expressão imunistoquímica de diversos biomarcadores moleculares (BAP1; Beta-Catenina; Catepsina D; CD133; Complexo Ezrina/Moesina; EPO/EPO-R; FOXP3; KDM5C; NOS-3; PBRM1; PTEN; REN/REN-R; SETD2 e STAT3) no tecido tumoral e nos tecidos não neoplásicos peri-tumorais, em pacientes portadores de carcinoma de células renais em uma grande coorte latino-americana.

Metodologia Proposta:

O LARCG (Latin American Renal Cancer Group): A população do estudo será caracterizada por indivíduos portadores de carcinoma de células renais (CCR) submetidos inicialmente à tratamento cirúrgico no Núcleo de Urologia do A.C. Camargo Cancer Center, na Santa Casa de Presidente Prudente e em outros centros especializados que compõem o Latin American Renal Cancer Group (LARCG). O LARCG fundado em 2013, sem fins lucrativos, independente, multidisciplinar, atualmente composto por 45 centros terciários de 9 países da América Latina (Brasil, Uruguai, Argentina, Chile, Peru, Bolívia, México, Espanha e Estados Unidos), região por estatuto e comitês científico e de ética, com reuniões regulares presenciais e eletrônicas, ordenou um grande banco de dados contendo centenas de variáveis epidemiológicas, clínicas e demográficas, sobre pacientes portadores do CCR, que tem sido constantemente alimentado por seus participantes. A casuística inicial para esse projeto contou com a coparticipação de instituições estrangeiras do Uruguai (Hospital Pasteur) e Americana (Lee Moffitt Cancer Center) contribuindo com mais 320 casos cada uma, e nacional (Santa Casa de Presidente Prudente) que contribuiu com 120 casos, constituindo em associação com cerca de 900 casos do AC Camargo Cancer Center, uma amostra total de aproximadamente 1800 pacientes. Inicialmente, serão revisados os prontuários médicos arquivados no Serviço de Arquivo Médico e Estatístico (SAME) de todas as instituições e os dados coletados serão registrados em uma ficha de levantamento previamente definida. Os dados epidemiológicos, demográficos e clinicopatológicos coletados serão armazenados em base simples (Excel), constituindo o banco de dados final. As variáveis consideradas serão 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, grau de Furthman, 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 serão incluídas as expressões dos biomarcadores moleculares de forma qualitativa e quantitativa. As lâminas e os dados anatomopatológicos de todos os pacientes do estudo, arquivados no Departamento de Anatomia Patológica do A.C. Camargo Cancer Center e os provenientes do Uruguai, Estados Unidos e de Presidente Prudente, já foram revisados por uma única patologista experiente (Dra. Isabela Werneck da Cunha), sem conhecimento dos desfechos clínicos e das características de cada caso. Todos os casos foram reclassificados de modo uniforme e as áreas mais representativas de cada caso foram selecionadas para confecção do tissue microarray (TMA). Concomitantemente, será realizada análise de tecido não neoplásico (distando pelo menos 1,0 cm do tumor) obtido das peças cirúrgicas (bloco de parafina) para comparação entre os graus de expressão dos referidos marcadores em CCR e do tecido não neoplásico adjacente.

Critério de Inclusão:

- CCR, em todos os seus subtipos, 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.

Critério de Exclusão:

- Pacientes submetidos a outros tratamentos para o CCR além da cirurgia ou com comorbidades que possam comprometer a sobrevida;
- Pacientes com sarcomas renais, neoplasias renais não corticais ou com tumor de Wilms;
- Prontuários com dados incompletos ou faltantes;
- Material arquivado em parafina (bloco) em más condições;
- TMA com descolamento de hotspot, presença de necrose ou fibrose excessiva ou material

inadequado.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Analisar a expressão imunoistoquímica de diversos biomarcadores moleculares (BAP1; Beta-Catenina; Catepsina D; CD133; Complexo Ezrin/Moesina; EPOEPO-R; FOXP3; KDM5C; NOS-3; PBRM1; PTEN; REN/REN-R; SETD2 e STAT3) no tecido tumoral e nos tecidos não neoplásicos peri-tumorais, em pacientes portadores de carcinoma de células renais em uma grande coorte latino-americana.

Objetivo Secundário:

- Avaliar o impacto prognóstico da expressão imunoistoquímica dos marcadores nas taxas de sobrevida global, sobrevida câncer específica e sobrevida livre de doença.
- Investigar as possíveis associações desses marcadores com variáveis demográficas, clínicas e epidemiológicas.

- Analisar sua expressão frente aos diferentes tipos histológicos na neoplasia renal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com os pesquisadores:

Riscos:

Os remotos riscos relativos ao estudo, recaem quanto às possibilidades de quebra de confidencialidade ao se manipular os dados clínicos oriundos de registros do prontuário; e da possível extinção do material (bloco) do arquivo de anatomia patológica pertencentes ao participante. Prevendo eliminar, ou ao menos minimizar, a chance dessas ocorrências, os pesquisadores tem como ações efetivas:- Limitar o número de investigadores que fazem a captação de informações, e restringir ao máximo os indivíduos que tem acesso à planilha geral contendo registros enviados de todos os Centros especializados; além disso, o comitê científico do LARCG (Latin American Renal Cancer Group) dispensa apenas os dados relevantes e específicos para determinada pesquisa, evitando o trânsito desnecessário de informações.- Com o intuito de preservar o material biológico arquivado do paciente, os pesquisadores optaram por utilizar a técnica de microarranjo tecidual (Tissue Microarray) - TMA, essa permite a realização de painéis com múltiplos marcadores sincronicamente e sob mesmas condições operacionais. A partir daí, possibilita-se a análise de vários eventos concomitantes com mais rapidez, menor gasto de amostra, menor custo e maior uniformidade técnica que nos processos imunoistoquímicos

habituais. Através desta técnica, fragmentos microscópicos são obtidos dos blocos de parafina de cada caso (blocos doadores) e são transferidas para um único bloco receptor, que pode comportar até 1000 amostras. Do bloco receptor procede-se a seção de múltiplas lâminas para estudo. Pode-se realizar uma determinada reação de imunohistoquímica para centenas de casos com um único padrão de desparafinização, hidratação, recuperação de antígenos, incubação com anticorpos ou amplificação e reação com cromógenos, ressaltando-se a economia de materiais e reagentes. No TMA, utilizam-se poucos microlitros de anticorpos ou reagentes em cada experimento. Numa dosagem habitualmente empregada para um caso nas técnicas tradicionais, pode-se estudar toda uma casuística com o TMA.

Benefícios:

Tendo em vista tratar-se de um estudo de análise retrospectiva, os benefícios alcançados são de ordem indireta, imbuindo principalmente agregação de conhecimento à comunidade. O estudo pode contribuir com possíveis marcadores bioquímicos relacionados ao carcinoma de células renais, que futuramente, diferenciem pacientes que necessitem de tratamento ativo (cirurgia ou técnicas minimamente invasivas) ou possam permanecer sob condutas conservadoras sem que aja prejuízo funcional ou por progressão da doença. Além disso, o conhecimento do comportamento de tais proteínas em relação aos tumores renais, pode auxiliar no desenvolvimento de terapias clínicas alvo específicas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

EMENDA 1- a emenda é exclusiva do centro coordenador.

Justificativa da Emenda:

-incluir o aluno de doutorado Thiago Camelo Mourão, que ficará responsável pelo desenvolvimento do objetivo de analisar a combinação de marcadores relacionados com o prognóstico do carcinoma de células renais do tipo células claras em casos de nossa instituição. Em particular, os marcadores que estão sendo analisados são a renina (REN) juntamente com a eritropoietina (EPO), que estão relacionados com o ambiente de hipoxemia tecidual no câncer renal.

-incluir o marcador catepsina D em nosso projeto. Este marcador está intimamente relacionado com as redes de ativação do sistema renina-angiotensina e com o projeto em questão que está sendo executado. Essa adição será feita com a confecção de um novo microarranjo

tecidual, o qual será corado com um anticorpo anti-catepsina D (Referência C0715) clone CTD-19 e as análises estatísticas iniciadas em seguida.

Para os demais dados será usado o mesmo banco clínico-patológico com as variáveis já coletadas e tabuladas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Recomendações:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após apreciação dos documentos anexados na PB, este Comitê não observou óbices éticos referentes a presente emenda.

Considerações Finais a critério do CEP:

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_180200_1_E1.pdf	05/08/2021 11:29:29		Aceito
Outros	EMENDA_PROJETO.docx	05/08/2021 11:27:06	THIAGO CAMELO MOURAO	Aceito
Outros	Emenda_CEP_PB.pdf	05/08/2021 11:18:56	THIAGO CAMELO MOURAO	Aceito
Outros	Carta_Resposta.pdf	21/06/2016 11:34:14	Sandra Fabiana de Almeida	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_21_06_2016.pdf	21/06/2016 11:25:37	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Outros	Esclarecimento_pendencias.doc	17/05/2016 16:02:45	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Outros	Pendencias_CONEP.doc	26/04/2016 17:34:52	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_especifico.doc	26/04/2016 17:31:30	Felipe de Almeida e Paula	Aceito

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Biobanco.pdf	26/04/2016 17:31:15	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Orçamento	7_Orçamento_definicao.docx	26/04/2016 17:30:25	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Orçamento	Orçamento_isolado_tabela.pdf	26/04/2016 17:29:03	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Orçamento	7_Orçamento_definicao.pdf	26/04/2016 17:27:50	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Outros	Resposta_pendencias_CEP_word.doc	10/02/2016 14:33:54	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Outros	Todos_os_documentos_editaveis_word.doc	10/02/2016 14:33:04	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Parecer_biobanco_conep.pdf	10/02/2016 12:34:55	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Outros	Resposta_pendencias_CEP.pdf	18/01/2016 14:51:14	Sandra Fabiana de Almeida	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Projeto_de_Pesquisa_2.pdf	17/01/2016 22:59:55	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Outros	Aprovacao_LARCG.pdf	17/01/2016 22:40:32	Felipe de Almeida e Paula	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Final_Completo.doc	24/11/2015 00:09:27	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	11_Lattes.pdf	24/11/2015 00:00:18	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	10_Destino_Material_biologico.pdf	23/11/2015 23:58:25	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	9_Comprometimento_Patologia.pdf	23/11/2015 23:57:33	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	8_Comprometimento_Urologia.pdf	23/11/2015 23:57:16	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	6_Infraestrutura_Patologia.pdf	23/11/2015 23:56:10	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Instituição e Infraestrutura	5_Infraestrutura_Urologia.pdf	23/11/2015 23:55:20	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	4_Declaracao_informacoes.pdf	23/11/2015 23:54:58	Stênio de Cássio Zequi	Aceito

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	3_Dispenza_TCLE.pdf	23/11/2015 23:54:09	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	2_Compromisso_com_Conselho_Nacional_de_Saude.pdf	23/11/2015 23:53:42	Stênio de Cássio Zequi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	1_Projeto_de_Pesquisa.pdf	23/11/2015 23:51:19	Stênio de Cássio Zequi	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

SAO PAULO, 16 de Agosto de 2021

Assinado por:

Luciana Fature Moredo
(Coordenador(a))

Anexo 5 – Carta de aceitação do Artigo 1 (03/04/2023)

Artigo de revisão de literatura aceito na revista *Current Urology Reports*, publicado com o doi: 10.1007/s11934-023-01160-x.

Dear Dr Mourão,

We are pleased to inform you that your manuscript, "Role of the renin–angiotensin system components in renal cell carcinoma: A literature review.", has been accepted for publication in *Current Urology Reports*.

You will receive an e-mail in due course regarding the production process.

Please remember to quote the manuscript number, CUUR-D-23-00027, whenever inquiring about your manuscript.

With kind regards,

Gaetano Ciancio, MD, MBA

Section/Guest Editor

Current Urology Reports

Anexo 6 – Carta de aceitação do Artigo 2 (18/05/2023)

Artigo aceito na revista *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, publicado com o doi: 10.1016/j.urolonc.2023.05.014.

Ms. Ref. No.: URO-D-22-00744R1

Title: Prognostic role of the immunohistochemical expression of proteins related to the renin–angiotensin system pathway in nonmetastatic clear cell renal cell carcinoma
Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations

Dear Dr. Mourão,

On behalf of the editors, I am pleased to inform you that your paper entitled "Prognostic role of the immunohistochemical expression of proteins related to the renin–angiotensin system pathway in nonmetastatic clear cell renal cell carcinoma" has been accepted for publication in *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*.

Please make sure you have completed and returned the "Conflict of Interest" form downloadable from this site.

We are privileged to publish your work. Thank you for submitting it for our review.

We encourage authors of original research papers to share the research objects – including raw data, methods, protocols, software, hardware and other outputs – associated with their paper.

More information on how our open access Research Elements journals can help you do this is available at https://www.elsevier.com/authors/tools-and-resources/research-elements-journals?dgcid=ec_em_research_elements_email.

Sincerely yours,

Michael J. Droller, M.D.

Editor-in-Chief

Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations

Apêndice 1 – Ficha de levantamento de dados

Registro: _____ **Número AP:** _____

Data de admissão: _____ **Idade:** _____ anos

Sexo: _____ **Linha TMA:** _____

Tabagismo: (1) Fumante (2) Não fumante (3) Ex-fumante (9) Ignorado

Carga tabágica (anos-maço): _____

Escala de performance de Karnofsky (20-100): (1) ≥ 80 (2) < 80

Escala de performance ECOG: (0) 0 – 1 (1) 2 – 3

Escore pré-operatório ASA: (0): 1 - 2 (1) 3 - 4

Presença de comorbidades: (0) Não (1) Sim
Qual(is)? _____

Índice de massa corpórea (kg/m^2): _____

Presença de sintomas ao diagnóstico: (0) Não (1) Sim
Qual(is)? _____

Tempo do diagnóstico ao tratamento (meses): _____

Presença de metástase ao diagnóstico: (0) Não (1) Sim

Local da metástase: _____

Tumor familiar: (0) Não (1) Sim **Nº de familiares:** (0) 0 (1) 1 (2) ≥ 2

Hemoglobina: _____ **Hematócrito:** _____ **Creatinina:**

Cirurgia: (1) Nefrectomia Radical (2) Nefrectomia Parcial

Margens: (0) Negativas (1) Positivas (9) Ignorado

Grau ISUP / Fuhrman: (1) 1 (2) 2 (3) 3 (4) 4

Data da cirurgia: _____ **Tempo da internação (dias):** _____ **Tempo cirúrgico:** _____

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

Estádio N: (0) N0 (1) N1 (2) Nx

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

Complicações precoces: (0) Não (1) Sim Clavien-Dindo: _____

Complicações tardias: (0) Não (1) Sim Qual(is): _____

Tipo histológico: (1) Células claras (2) Papilífero (3) Cromóforo (4) TTFE3 gene (5) Carcinoma de ductos coletores (6) Inclassificável (7) Outros

Diâmetro tumoral (cm): _____

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

Se tumor bilateral: (1) Sincrônico (2) Metacrônico

Multifocal: (0) Não (1) Sim

Presença de componente sarcomatóide: (0) Não (1) Sim

Percentual de componente sarcomatóide: (%): _____

Presença de invasão microvascular: (0) Não (1) Sim

Presença de invasão linfática: (0) Não (1) Sim

Presença de invasão perineural: (0) Não (1) Sim

Presença de necrose: (0) Não (1) Sim

Presença de invasão de veia renal: (0) Não (1) Sim

Presença de infiltração de gordura perirrenal: (0) Não (1) Sim

Presença de invasão de hilo renal: (0) Não (1) Sim

Presença de invasão de cápsula renal: (0) Não (1) Sim

Presença de invasão de sistema coletor: (0) Não (1) Sim

Presença de invasão de envolvimento da adrenal: (0) Não (1) Sim

Evidência de recorrência: (0) Não (1) Sim **Data da recorrência:** _____

Se recorrência: (1) Local (2) À distância

Se metastático, classificação de Heng/IMDC: (1) Bom prognóstico (2) Prognóstico intermediário (3) Prognóstico ruim

Neutrófilos: _____ **Plaquetas:** _____

Cálcio total: _____

Fez tratamento sistêmico? Qual?:

Metastasectomia: (0) Não (1) Sim **Data da metastasectomia:** _____

Topografia da metastasectomia (órgão):

Data do último "follow up": _____

Status no último "follow up": (1) Vivo, sem evidência de doença (2) Vivo, com câncer (3) óbito pelo câncer renal (4) óbito por outra causa (5) óbito pela cirurgia do câncer renal (6) Perdido de vista