

**ROBERTO AUGUSTO PLAZA TEIXEIRA**

**Fatores clínicos e biológicos para recidivas em tumores de Wilms  
localizados**

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina da Universidade de São Paulo  
para a obtenção do título de Doutor em  
Ciências

Área de Concentração: Pediatria  
Orientadora: Dra. Lílian Maria Cristófani

São Paulo  
2005

***“Talvez mais que teoricamente justos, esteticamente sensíveis ou politicamente inteligentes, o que nós precisamos ser é ativamente bons.”***

***José Saramago***

## **DEDICATÓRIA**

À minha esposa Débora,

Minha adorável e amada esposa, que como ninguém, consegue somar qualidades tão admiráveis numa só mulher, como grande amiga e companheira, brilhante médica e pesquisadora, e mãe tão atenciosa e dedicada.

Às minhas filhas Gabriela e Natália. Agradeço a Deus todos os dias pelas duas filhas tão saudáveis, carinhosas, educadas e inteligentes que tenho. Crianças como elas enchem-me de esperança de que o futuro do mundo pode ser melhor.

Aos meus amados pais Wilmes e Candida. Muito mais que amigos, dois dos meus maiores ídolos. Sou realmente afortunado por ter como pais duas pessoas tão boas, cultas, inteligentes, trabalhadoras e honestas, além de docentes e pesquisadores brilhantes, cujo exemplo procuro seguir e transmitir.

Aos meus queridos irmãos e amigos Ricardo e Renata, também cujos elevados espíritos científicos e de conduta moral servem-me de inspiração para o exercício da profissão. E à minha cunhada Divina, pelo carinho e apoio.

Aos meus sobrinhos Ariel e Letícia, crianças amáveis e inteligentes, tão boas de coração e ricas de entusiasmo.

Aos meus sogros Rafael e Carmem, agradeço por me acolherem como filho e pela confiança, apoio e compreensão sempre dedicados.

À minha cunhada Elena, pelo exemplo de como a coragem, a força de vontade e a determinação podem superar quaisquer obstáculos, por maiores que sejam .

À minha querida avó Sylvia, exemplo de como a idade não impede a busca incessante da felicidade.

*In memoriam:*

Ao meu avô Lázaro, pelo exemplo de professor, de educador e de refinado estilista do idioma pátrio; à minha avó Julieta, pelo espírito de luta, e ao meu avô Sérgio, pelos exemplos de bondade e de amor à família e à vida.

Enfim, minha eterna gratidão por pertencer a uma família cujos exemplos orgulho-me e obrigo-me a seguir e honrar.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

*À Dra. Lílian Maria Cristófani, médica e amiga, admirável não só pela competência e conhecimento científico como também pela irrepreensível conduta como ser humano, exemplo que busco seguir e tem contribuído para aumentar o meu interesse pela oncologia pediátrica. Agradeço por ter-me aceito como pós-graduando e pelo carinho, compreensão, segurança e paciência dispensados na orientação desse trabalho.*

*Ao Professor Dr. Vicente Odone Filho, Chefe da Unidade de Onco-Hematologia do ITACI - ICR, médico brilhante e professor extremamente dedicado. Além de grande amigo, uma das pessoas mais geniais, inteligentes, estudiosas, e, principalmente, humanas que Deus me concedeu a felicidade de conviver.*

## **AGRADECIMENTOS**

Aos Professores Yassuhiko Okay e Flávio Adolfo Costa Vaz, do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, casa de alta expressividade científica nacional e internacional, que tão bem me acolheu e da qual me orgulho de ter feito parte nestes últimos cinco anos.

Ao Professor Dr. Paulo T. Maluf Jr, médico de extrema inteligência e elevado espírito científico, cujas opiniões emitidas sempre foram momentos de grande aprendizado.

À Dra. Maria Tereza Assis Almeida, médica que prima pela extrema dedicação à profissão e aos pequenos pacientes, além de amiga extremamente culta.

À Dra Marcia Datz Abadi, grande amiga, tão jovem e já predestinada a brilhar nesta árdua especialidade que abraça com tanta dedicação

À Professora Doutora Beatriz de Camargo, Chefe do Departamento de Pediatria do Hospital do Câncer, oncologista de renome internacional com contribuições inestimáveis para o tratamento das crianças com tumor de Wilms. Uma das principais responsáveis pelo meu interesse em ter abraçado esta especialidade e realizado esta pesquisa, para a qual também muito contribuiu.

À Professora Doutora Maria Claudia Zerbini e à Dra Renne, minhas amigas e colegas patologistas, extremamente competentes e amáveis e que, com muita paciência, dedicação e competência, contribuíram intensamente para esse trabalho.

Ao Professor Doutor João Gilberto Maksoud, que capitaneou o primeiro estudo cooperativo de oncologia pediátrica em nosso país, justamente em tumor de

Wilms e que, juntamente com sua equipe de renomados cirurgiões aos quais também agradeço, operou tão bem os pacientes contribuindo decisivamente para o sucesso desse estudo.

À Dra. Ana Carnachionne, colega ponderada, agradeço pela atenção e disposição constantes em procurar ajudar, principalmente nestes últimos meses.

Aos jovens colegas oncologistas Juliana, Cassiano, Carolina, Raquel, Francine, Claudio, Alessandra, Luciana, Cláudia, Pérola e todos os outros médicos residentes com os quais tive e tenho a felicidade de conviver, pela certeza de que nossa especialidade deverá continuar sempre em boas mãos, bem como aos colegas Marcelo e Elitânia, pela valiosa colaboração.

A todos os colegas e professores com quem tenho tido a honra de conviver, e de todas as especialidades médicas no ICR, como os médicos Dra. Vera, Dr. Jorge Carneiro, Dr. Hilton, Dra. Maria Zilda, Dra. Heloisa, Dr. Troster, Dra. Cristina, Dra. Silvia, Dr. Takanori, Prof. Dr. Uenis, Dr. Ricardo e tantos outros, verdadeiros amigos, tão atenciosos comigo e com os pacientes portadores de câncer, e que sempre contribuíram para enriquecer meus conhecimentos na especialidade.

No Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da USP, à médica Dra. Sheila, e às biólogas Rita e Neila, pela realização das técnicas imunoistoquímicas, e ao Douglas, do Arquivo de Lâminas e Blocos, cuja ajuda permitiu a realização deste trabalho.

À toda equipe de enfermagem e colegas funcionários do ITACI e do ICR que contribuem tão bem para o cuidado e tratamento de nossos pequenos pacientes.

À Dra. Telma Suely Okay e demais professores e funcionários da pós-graduação do Departamento de Pediatria-ICR-HC-FMUSP, pela dedicação, paciência e companheirismo.

À Sra. Airlane Alencar, estatista, pela contribuição dada a este trabalho, com dedicação e paciência.

À Sra. Elaine, cuja contribuição de senso estético para esse trabalho, sempre com muita atenção e paciência, foi decisiva para sua finalização.

À bibliotecária Mariza, sempre tão atenciosa e disposta a ajudar.

À minha querida Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, um dos celeiros da medicina brasileira, na qual durante 15 anos de minha formação médica, desde a graduação até a defesa de mestrado, tive a oportunidade de conhecer e conviver com inesquecíveis professores, médicos brilhantes, grandes amigos e funcionários capacitados, toda a minha gratidão.

Aos colegas e amigos do Centro de Hematologia de São Paulo e do Instituto Integrado de Oncologia de Mogi das Cruzes, com os quais tenho tido o privilégio de conviver nestes últimos anos.

Ao Capes (Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior), pelo apoio financeiro, de fundamental importância para a execução da pesquisa e deste trabalho.

Ao meu pai, Wilmes Roberto Gonçalves Teixeira, também médico, à minha mãe, Candida Maria Plaza Teixeira, e irmãos, Ricardo e Renata, bem como à minha mulher, Débora Garcia Y Narvaiza, agradeço mais uma vez pelo incansável e valioso trabalho na revisão do texto e pelas oportunas sugestões.



Finalmente, aos meus e a todos os pequenos pacientes portadores de câncer, bem como aos seus familiares, cujo sofrimento e luta incansável contra essa terrível doença tanto nos ensinam e cuja coragem tanto nos fortalece, para seguirmos pesquisando e aprimorando seu diagnóstico e tratamento.

## NORMALIZAÇÃO ADOTADA

---

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

## SUMÁRIO

Lista de abreviaturas	
Listas de Figuras	
Lista de Tabelas	
Resumo	
Summary	
1 INTRODUÇÃO .....	01
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	07
3 OBJETIVOS .....	54
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	55
4.1 Casuística .....	55
4.2 Métodos imunoistoquímicos .....	61
4.3 Análise estatística .....	64
5 RESULTADOS .....	66
6 DISCUSSÃO .....	87
7 CONCLUSÕES .....	104
8 ANEXOS .....	105
9 REFERÊNCIAS .....	113

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Protocolo I do GCBTTW (1986 – 1988) .....	57
Figura 2 - Protocolo III do GCBTTW (1989 – 1992) .....	57
Figura 3 - Protocolo III do GCBTTW (1992 – 1994) .....	58
Figura 4 - Tratamento para - E-I, TW -85 ICr – HC – FMUSP .....	58
Figura 5 - Tratamento para - E-II, TW –85 ICr – HC – FMUSP .....	59
Figura 6 - Tratamento para - E-I, TW – V – 97 ICr – HC – FMUSP .....	59
Figura 7 - Tratamento para - E-II, TW – V– 97 ICr – HC – FMUSP.....	60
Figura 8 - Glicoproteína-P, positividade para o componente epitelial, aumento de 400x .....	70
Figura 9 - Glicoproteína-P, positividade no endotélio tumoral, aumento de 400X .....	70
Figura 10 - Presença de Pseudo-cápsula inflamatória, aumento de 400X – HE .....	73
Figura 11 - Invasão do seio renal, aumento de 400X – HE .....	73
Figura 12 - Sobrevida global comparativa para todas as idades por ocasião do diagnóstico para 122 pacientes tratados por TW ..	78
Figura 13 - Sobrevida livre de recidiva comparativa para todas as idades por ocasião do diagnóstico em 122 pacientes tratados por TW .....	78
Figura 14 - Sobrevida global para peso do tumor em 122 pacientes tratados por TW .....	79

Figura 15 - Sobrevida livre de recidiva para peso do tumor para 122 pacientes tratados por TW .....	80
Figura 16 - Sobrevida global de acordo com o sexo para 122 pacientes tratados por TW .....	81
Figura 17 - Sobrevida global de acordo com o sexo para 122 pacientes tratados por TW.....	81
Figura 18 - Sobrevida global de acordo com o estágio para 122 pacientes tratados por TW .....	82
Figura 19 - Sobrevida livre de recidiva de acordo com o estágio para 122 pacientes tratados por TW .....	83
Figura 20 - Gráfico de dispersão para Peso e Idade .....	85
Figura 21 - Sobrevida livre de recidiva para 122 pacientes tratados por TW .....	86
Figura 22 - Sobrevida global para 122 pacientes tratados por TW .....	86

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sistema de estadiamento clínico-patológico para TW segundo o <i>NWTS</i> e a <i>SIOP</i> .....	25
Tabela 2 - Intensidade da marcação para a P-glicoproteína nos casos que apresentaram positividade nas células tumorais de acordo com a presença de recidiva ou não .....	69
Tabela 3 - Correlação entre o número de variáveis de microestadiamento e a presença de recidiva nos pacientes com TW com E-I estudados .....	72
Tabela 4 - Risco de recidiva para todas as variáveis segundo o modelo de regressão de Cox .....	84

TEIXEIRA R A P. *Fatores clínicos e biológicos para recidiva em tumores de Wilms localizados* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005. 129p.

O tumor de Wilms (TW) é paradigma do sucesso do tratamento do câncer na infância, com índices de cura próximos de 90%. Apesar disso, 15% dos pacientes apresentam recidiva, sendo que em 40% das vezes ela ocorre naqueles classificados como de baixo risco por apresentarem estádios localizados com histologia favorável (HF). Revisamos 122 casos de TW unilaterais e localizados (estádios I e II), com histologia favorável, diagnosticados entre julho de 1976 e fevereiro de 2001, submetidos a nefrectomia sem quimioterapia prévia. Os objetivos foram avaliar nesses pacientes as variáveis clínicas idade por ocasião do diagnóstico, peso do tumor, sexo e estágio para todos os pacientes, e as variáveis de microestadiamento, invasão da cápsula tumoral, do seio renal e dos vasos intra-renais, e a presença de pseudocápsula inflamatória, somente nos pacientes classificados como estágio I, e correlacioná-las com recidiva ou óbito. Também analisamos as variáveis biológicas TP53 e glicoproteína-P (gpP) por estudos imunoistoquímicos, procurando correlacioná-las com a presença de recidiva. A idade média ao diagnóstico foi de 39,2 meses (variando de 3 a 144 meses). Foram analisados 51 meninos e 71 meninas. O peso tumoral apresentou média de 572,75 gramas. Setenta e quatro casos foram classificados como estágio I e 48 como estágio II. Recaída tumoral foi encontrada em 19 (15,6%) pacientes, 10 em estágio I e 9 em estágio II, sendo em 14 pacientes pulmonar, 3 local e 2 combinadas. Destes, 10 (52,6%) estão vivos, 7 com recidiva pulmonar, e 3, recaída local. Dos 40 casos selecionados para os estudos imunoistoquímicos (28 sem recidiva, 12 com recidiva), observamos a positividade para o TP53 em apenas 1 caso pertencente ao grupo recidivado. Em relação à detecção da gpP, observamos positividade em 18/40 (45%) pacientes, sendo 10/12 (83,3%) em pacientes recidivados, e 8/28 (28,6%) em pacientes não recidivados, sendo que, utilizando uma pontuação para analisar a força dessa positividade, não houve diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,150$ ). Nos 24 casos de TW estágio I analisados para as variáveis de microestadiamento, encontramos 2 ou mais variáveis positivas em 3/6 (50%) que recidivaram, contra 0/18 não recidivados, diferença essa estatisticamente significativa ( $p = 0,01$ ). Ao comparar os fatores de prognóstico com a curva de sobrevida global e livre de recaída, apenas o peso tumoral maior de 550 gramas foi associado a uma chance maior de recidiva e óbito, permanecendo estatisticamente significativo para recaída em análise multivariada. Nosso estudo chama a atenção para a importância do peso tumoral como fator de prognóstico para os TW localizados com HF e da determinação das variáveis de microestadiamento nos TW E-I com HF. Os resultados também demonstram não existir correlação dos fatores biológicos TP53 e gpP com o prognóstico para os pacientes com TW de HF.

Descritores: 1. Nefroblastoma 2. Genes p53 3. Proteína p53 4. Glicoproteína-P 5. Recidiva 6. Prognóstico

TEIXEIRA RAP. *Clinical and biological factors for relapse in localized Wilms' tumor* [Thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005. 129p.

Wilms' tumor (WT) is a paradigm of success in the treatment of childhood cancer, with cure rates near 90%. Despite that, 15% of patients will relapse, 40% of the cases of relapse occurring in patients classified as low risk with localized disease and favorable histology (FH). We have reviewed 122 cases of unilateral localized WT (stages I and II) with FH diagnosed between July 1976 and February 2001 who received nephrectomy without prior chemotherapy. Our aims were to assess the clinical features, i.e. age at diagnosis, tumor weight, gender, and stage, in all studied patients, and the microsubstaging variables, i.e. invasion of tumor capsule, sinus invasion, tumor in intrarenal vessels, and the presence of an inflammatory pseudocapsule, only in stage I patients, and to correlating them with relapse and death. We also have studied the biological features TP53 and P-glycoprotein (gpP) using immunohistochemical analysis and correlated them with relapse. The mean age at diagnosis was 39.2 months (range, 3 to 144 months). There were 71 girls and 51 boys. The mean tumor weight was 572.5 g. Seventy-four cases were classified as stage I, and 48 as stage II. Tumor relapse was found in 19 (15.6%) patients, 10 in stage I and 9 in stage II, among which 14 were pulmonary, 3 were local, and 2 were combined. Ten (52.6%) patients are alive, 7 with pulmonary relapse and 3 with local relapse. Forty cases were selected for immunohistochemical studies (28 without relapse and 12 with relapse). We found TP53 expression in only one case that belongs to the relapsed group. In our results analysis we found gpP expression in 18/40 (45%) patients, 10/12 (83.3%) occurring in relapsed patients and 8/28 (18,6%), in patients without relapse. On the other hand, using a score to assess the strength of gpP positivity, we did not found any statistical significant difference ( $p=0.150$ ). In the 24 cases of favorable stage I patients assessed for the microsubstaging features, we found 2 or more positive variables in 3/6 (50%) of relapsed patients in contrast with 0/18 of no relapsed patients, and this difference was statistically significant ( $p = 0.001$ ). Comparing prognosis factors with overall survival and relapse free survival, only the tumor weight over 550 g was associated with an increased chance of relapse and death, and its strength was confirmed by multivaried analysis. This study draws attention to the importance of tumor weight as a prognosis factor for localized favorable histology WT and the importance to assess the microsubstaging features in stage I favorable histology WT. Besides that, our results did not show any correlation between the biological factors TP53 and gpP and the prognosis in patients with FH WT.

Descriptors: 1.Nephroblastoma 2. p53 Genes 3. Protein p53  
4. P-Glycoprotein 5. Recurrence 6. Prognosis



## 1. INTRODUÇÃO

O tumor de Wilms (TW), identificado há mais de um século pelo notável cirurgião alemão CARL MAX WILMS (Wilms, 1899), também conhecido como embrioma renal ou nefroblastoma, é exemplo marcante de neoplasia maligna em que se comprovou o sucesso do tratamento do câncer na infância. É a neoplasia renal mais freqüente e o segundo tumor sólido extracraniano mais comum da faixa etária pediátrica, correspondendo a 6 a 7% das neoplasias malignas (Breslow et al., 1993). Sua incidência é de 8,1 casos por milhão de crianças brancas com menos de 15 anos de idade, com 650 casos novos por ano nos Estados Unidos (Gurney et al., 1995). Acomete principalmente crianças entre 3 e 4 anos de idade e manifesta-se, na maioria das vezes, como massa abdominal que pode ser percebida pelos pais ou detectada em exames médicos rotineiros (Green et al., 1996). Os sintomas costumam ser dor abdominal, hipertensão arterial, hematúria macro ou microscópica, febre, adinamia e perda de peso. Em 6% das vezes apresenta-se bilateralmente e, em 7 a 18%, associa-se a anomalias congênitas, principalmente aniridia, hemi-hipertrofia e a malformações geniturinárias (Kalapurakal et al., 2004).

No diagnóstico, os exames de imagem mais importantes são a ultrasonografia abdominal, que possibilita distinguir massas renais de extrarrenais, complementada pela tomografia computadorizada (TC) do abdome, de modo a permitir uma visão maior da anatomia da região, a ajudar no diagnóstico da existência de doença contralateral e a avaliar a função renal (Goske et al., 1999). Também é mandatória a realização de radiografia simples de tórax por ocasião do

diagnóstico, para excluir metástases pulmonares, presentes em 10 a 15% dos casos (Petruzzi e Green, 1997).

Atualmente, mais de 85% dos pacientes sobrevivem quatro anos após a data do diagnóstico, esta dramática melhora na sobrevida tendo resultado dos avanços das técnicas cirúrgicas, da utilização da radioterapia e da disponibilidade de agentes quimioterápicos altamente efetivos, principalmente a vincristina e a actinomicina-D, empregadas no tratamento de todos os pacientes portadores de TW, e a doxorrubicina, adicionada nos casos de estágio mais avançado (Wiener et al., 1998). O extraordinário sucesso no tratamento do TW deve ser atribuído também aos estudos clínicos randomizados conduzidos por grupos cooperativos multidisciplinares, principalmente o *National Wilms Tumor Study (NWTS)* nos Estados Unidos e no Canadá, e a *Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique (SIOP)* na Europa (Neville e Ritchey, 2000; Graf et al., 2000), cabendo destacar, no Brasil, os trabalhos conduzidos pelo Grupo Cooperativo Brasileiro para Tratamento do Tumor de Wilms (GCBTTW) (de Camargo et al., 1994).

Os dois principais grupos cooperativos (*NWTS* e *SIOP*) diferem na abordagem terapêutica inicial, pois, enquanto o *NWTS* preconiza a nefrectomia seguida de quimioterapia e radioterapia, conforme a classificação histológica e o estadiamento, a *SIOP* recomenda o tratamento quimioterápico pré-operatório, seguido da cirurgia e quimioterapia e/ou radioterapia, de acordo com o tipo histológico e estadiamento determinados pela resposta do tumor à quimioterapia pré-operatória (Neville e Ritchey, 2000).

Não obstante estes expressivos avanços, 10 a 15% dos portadores de TW apresentarão recorrência da enfermidade após o tratamento inicial (Pinkerton et

al.,1991; Miser e Tournade, 1995; Petruzzi e Green, 1997), com a presença de doença avançada por ocasião do diagnóstico ou a ocorrência do tipo histológico anaplásico sendo os principais indicadores de um prognóstico mais reservado (Faria et al., 1996). A maior idade dos pacientes na época do diagnóstico e o peso do tumor maior que 550 g também estão associados à chance maior de recidiva (Breslow et al., 1991; de Camargo, 1996; Pritchard et al., 2003). Além disso, há maior chance de recidiva em pacientes com doença localizada e classificada como estágio I, que evidenciam dois ou mais achados histopatológicos denominados por Weeks et al. (1987) como variáveis de microestadiamento (invasão da cápsula renal, do seio renal, dos vasos intra-renais e presença de pseudocápsula inflamatória).

A anaplasia, embora rara (4 a 5% dos TW), responde por 30% dos óbitos (Beckwith et al., 1996). Contudo, 60% das recidivas ocorrem em casos de histologia favorável e, um número não desprezível, naqueles classificados como de baixo risco (estádios I e II). Estes pacientes, inexplicavelmente, não respondem ao tratamento clássico para TW, corroborando a hipótese de que outros fatores de prognóstico, clínicos, patológicos e moleculares, possam ser determinantes de tal evolução desfavorável (Wiener et al., 1998). A identificação desses fatores permitiria estratificar tais pacientes num grupo de maior risco para recidiva, para o qual o tratamento deveria ser intensificado.

Na última década observou-se um avanço na compreensão da biologia do TW, principalmente com a identificação de mutações em certas regiões de cromossomos, especificamente em 16q, 1p e 22q, que foram associadas a um pior prognóstico (Grundy et al., 1998; Pritchard et al., 2000). Achados como a

perda de heterozigose dos cromossomos 1p e 16q já foram utilizados nos estudos do *NWTS-5* como marcadores de uma maior chance de recidiva, com a conseqüente estratificação dos correspondentes pacientes para receberem tratamento quimioterápico mais intenso (Wiener et al., 1998). Também houve um grande progresso na identificação de fatores biológicos graças à utilização de métodos imunistoquímicos, estudos tendo demonstrado hiperexpressão de proteínas identificadas por esses métodos como, entre outras, as relacionadas a mutações do gene de supressão do tumor *TP53* e à identificação da P-glicoproteína (gpP) associada ao gene de múltipla resistência a drogas (*MDR-1*), que parecem estar relacionadas a evoluções desfavoráveis do TW (Sola et al., 1994; Govender et al.; 1998).

Desde sua identificação em 1979, as mutações do gene de supressão do tumor *TP53*, que na sua forma “selvagem” parece agir como um guardião do ciclo celular na transição G1/S, estão entre as alterações genéticas mais comumente associadas à oncogênese no ser humano, incluindo neoplasias de cólon, mama, pulmão e cérebro (Batsakis e El-Naggar, 1995). Na presença de lesão na estrutura do DNA, os níveis da proteína p53 aumentam e bloqueiam a replicação de DNA, levando a uma parada em G1 e impedindo que as células lesadas entrem na fase S do ciclo celular a fim de possibilitar o reparo do DNA. Além disso, o gene *TP53*, pela superexpressão de sua proteína em G1, parece possuir atividade antiproliferativa, de modo a induzir a morte celular programada (apoptose) na presença de um insulto genotóxico, habilidade esta muito mais importante na capacidade de induzir a supressão do tumor do que a conquistada pelo bloqueio do ciclo celular (Clarke et al., 1993; Lowe et al., 1993). Embora as mutações do

gene *TP53* sejam raramente encontradas no TW, estudos têm demonstrado positividade para tais mutações nas células tumorais anaplásicas e também em outros componentes histológicos, correlacionando a maior expressão do gene *TP53* mutante nas crianças portadoras de TW (demonstrável por métodos imunohistoquímicos ou de biologia molecular) com a ocorrência mais freqüente de recidivas e evolução clínica desfavorável na maioria das vezes, inclusive para óbito (Cheah et al., 1996; Lahoti et al., 1996; Kusafuka et al., 1997; Govender et al., 1998; Teixeira, 2000; Sredni et al., 2001).

Há vários mecanismos de resistência a drogas, mas, certamente, o mais conhecido e estudado é o relacionado ao gene *MDR1* (*multidrug resistance gene*), que se localiza no braço longo do cromossomo 7, banda q21.1, e codifica uma glicoproteína de membrana com 1.280 aminoácidos e peso de 170 kDa, a denominada glicoproteína P 170 (gpP) (Ueda et al., 1986; Callen et al., 1987). A gpP afeta a concentração intracelular dos agentes quimioterápicos, atuando como uma bomba de efluxo ao diminuir o acúmulo intracelular de vários tipos de drogas quimioterápicas, como a vincristina, actinomicina D e a doxorubicina, empregadas para o tratamento de muitas neoplasias malignas e classicamente utilizadas no tratamento do TW (Sola et al., 1994).

Esta resistência intrínseca ou adquirida ao tratamento com uma ou mais drogas quimioterápicas, em decorrência da hiperexpressão da gpP, já foi demonstrada em outros tumores pediátricos, como o neuroblastoma, o rabdomyossarcoma, o retinoblastoma e o osteossarcoma, casos em que esta se associa a um pior prognóstico e a uma chance maior de recidiva (Chan et al., 1991; Serra et al., 2003). Há estudos que correlacionam a expressão da gpP com

evoluções desfavoráveis mesmo em nefroblastomas com histologia favorável (HF), em estádios localizados, tanto quando sua positividade se dá nos componentes tumorais clássicos, como quando aparece nas células endoteliais dos capilares intratumorais (Sola et al., 1994; Camassei et al., 2002). Apesar da existência de inúmeros trabalhos que analisam os fatores de prognóstico clínico, histológico e imunoistoquímico no TW, não há estudos que contemplem todas essas variáveis de prognóstico, especificamente nos TW localizados (estádios I e II), que são os enfocados neste trabalho.

Foram estas as principais questões, associadas à possibilidade de dar continuidade à dissertação de mestrado, que motivaram o presente estudo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO

A primeira descrição do tumor de Wilms (TW) data de 1793, quando John Hunter, estudou um espécime de TW bilateral sem desconfiar do seu verdadeiro diagnóstico (Beckwith, 1986). Vinte quatro anos após, Thomas F. Hance, em seu manuscrito “*Case of Fungus Haematodes of the Kidnies*” (Rence, 1814), descreveu um TW com acometimento do rim esquerdo de uma menina de 17 meses.

Foi, porém, em 1899, que o médico alemão CARL MAX WILMS, publicou sua memorável monografia “*Die Michesgeschwultse der Niere*”, deixando a indelével marca de seu nome associado à história da oncologia pediátrica. Na citada publicação, Wilms fez uma revisão dos trabalhos sobre tumores renais da infância realizados por outros autores que o precederam (Rance, 1814; Van Der Byl, 1856; Von-Eberth, 1872; Doderlein e Birch-Hirschfeld, 1874; Osler, 1879) e descreveu sete casos de sua experiência, tecendo considerações sobre a histogênese dos nefroblastomas e correlacionando-os ao desenvolvimento do rim. A partir de então, seu nome ficou ligado definitivamente à história da mencionada neoplasia, que passou a ser denominada e conhecida como TUMOR DE WILMS (Coopes-Zantinga e Coopes, 1999).

O TW era uma doença de evolução quase sempre fatal até a década de 1930. As primeiras nefrectomias por tumor renal efetuadas em crianças foram

realizadas em 1876 e descritas na revisão de Döderlein e Birch-Hirschfeld em 1894. A partir de 1938, quase 70 anos após a primeira nefrectomia para o tratamento de TW em crianças, o cirurgião norte-americano William Ladd padronizou a técnica cirúrgica que permitia a remoção do tumor sem causar disseminação e sem danificar as estruturas adjacentes, o que permitiu a elevação dos índices de cura para mais de 20% (Ladd e White, 1941).

Apesar de Friedlander, já em 1916, haver demonstrado a sensibilidade do TW à radioterapia, foi somente a partir de 1950, com a associação da nefrectomia à radioterapia — procedimento terapêutico pós-operatório que, então, passou a ser rotineiramente aplicado —, que a taxa de sobrevivência superou o patamar dos 50% (Gross e Neuhauser, 1950).

Em 1956, Farber et al. utilizaram pela primeira vez a actinomicina D para tratamento do TW. Nos anos 1960, o grupo de oncologistas da *Pediatric Division of the Southwest Cancer Chemotherapy Group* conseguiu uma significativa regressão da doença metastática pelo uso da vincristina, e, em 1966, 10 anos após a demonstração da sensibilidade do TW à actinomicina D, ela foi definitivamente incorporada no tratamento do TW não metastático (Sutow et al., 1963; Farber et al., 1966). No início dos anos 1970, foi demonstrada a sensibilidade do TW ao antracíclico doxorrubicina, que, apesar de sua cardiotoxicidade, passou a ser incorporado ao esquema quimioterápico junto às outras duas drogas clássicas (vincristina e actinomicina D), mas somente nos casos de doença extensiva ou metastática, o que possibilitou um progresso



notável e permitiu que os índices de mortalidade caíssem a níveis menores que 20% (Bellani et al., 1975).

Portanto, já no final da década de 1960, e desde então, como já havíamos mencionado, principalmente devido à formação de grupos cooperativos multidisciplinares para o tratamento do tumor de Wilms, como o *National Wilms Tumor Study (NWTs)* nos Estados Unidos e no Canadá em 1969, e a *Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique (SIOP)* na Europa em 1971, que a sobrevivência das crianças portadoras de TW tem melhorado consideravelmente em decorrência da associação da cirurgia, radioterapia e quimioterapia. Nesses últimos 35 anos, os avanços terapêuticos foram tamanhos que, pode-se dizer, atualmente, a doença é passível de cura em mais de 90% das crianças afetadas, a ponto de o TW constituir-se em paradigma de sucesso no tratamento do câncer na infância (Kalapurakal et al., 2004), como também já foi realçado.

## **2.2 EPIDEMIOLOGIA**

A incidência do tumor de Wilms é de 8 casos por milhão em menores de 15 anos, correspondendo de 5 a 7% das neoplasias malignas, 10% dos tumores sólidos malignos e 98% dos cânceres renais que incidem na infância, sendo diagnosticados por volta de 650 novos casos a cada ano na América do Norte (Breslow et al., 1993).

Até o início da década de 1970, a incidência era considerada mais ou menos igual em todo o mundo, a ponto de ser tomada como um índice do tumor

na infância para os registros de câncer (Innis, 1972; Innis, 1973). No início dos anos 1980, porém, verificou-se que isso não correspondia à realidade, tendo sido constatada uma incidência maior do TW na Escandinávia, Brasil e Nigéria, e menor no Japão, Índia e Singapura (Breslow e Langholz, 1983). Tal incidência parece variar mais em decorrência das diferentes etnias do que de fatores geográficos, ocorrendo menos nas populações asiáticas, de modo intermediário nas caucasóides, e mais nas populações negras (Breslow et al., 1993; Petruzzi e Green, 1997). A incidência em determinadas regiões parece variar também em relação ao sexo, os maiores coeficientes de incidência para o sexo masculino tendo sido encontrados em Zimbabwe-Harare (17,4/milhão), e para o feminino, na Croácia (17,7/milhão), superiores aos índices também altos encontrados no município de São Paulo com, respectivamente, 11,1/milhão e 12,6/milhão (Pastore et al., 1998; Mirra et al., 2004).

Embora a maioria dos registros mundiais para o TW indique uma relação entre os sexos próxima de 1:1, nos EUA foi constatada a incidência 22% maior no sexo feminino (Breslow et al., 1993) de TW unilateral. Uma incidência maior em meninas também foi observada nas formas bilaterais sincrônicas nas populações norte-americana e européia (Coppes et al., 1989).

Em 80% dos casos o TW se manifesta antes dos cinco anos de idade, na maioria dos pacientes o diagnóstico sendo feito entre os três e quatro anos (Breslow et al., 1988). A idade, por ocasião do diagnóstico, parece variar de acordo com alguns fatores como: sexo, ocorrendo seis meses mais tarde nas meninas do que nos meninos; raça, surgindo em média aos 41 meses em

negros, 37 meses em brancos, e 30 meses nos asiáticos, sendo que os tumores bilaterais surgem mais cedo que os unilaterais (Heuch et al., 1996; Petruzzi e Green, 1997). Cerca de 6% dos pacientes acometidos por TW têm doença bilateral na ocasião do diagnóstico (TW bilateral sincrônico), enquanto que 1% desenvolve nova doença no rim contralateral após tratamento do TW unilateral (TW bilateral metacrônico), e 10% apresentam doença unilateral multicêntrica (Petruzzi e Green, 1997). Estima-se que a ocorrência de casos de TW familiar varia entre 1 e 2,5%, sendo que a doença bilateral incide em 16% dos casos familiares, em oposição a 6 a 7% dos casos esporádicos (Matsunaga, 1981). Raramente o TW incide em adultos, com menos de 300 casos relatados na literatura (Arrigo et al., 1990; Terenziani et al., 2004).

Vários estudos tipo caso-controle têm sido efetuados para analisar a influência de condições ambientais como possível causa do TW, porém, devido ao pequeno número de casos e à inconstância dos padrões de exposição, tais estudos não têm sido conclusivos. Parece, no entanto, que os fatores de maior relevância estariam ligados à prévia exposição dos pais a agentes tóxicos como chumbo, pesticidas e herbicidas (Sharpe et al., 1995; Fear et al., 1998).

Em estudo realizado pelo *Children's Cancer Group*, Yeazel et al. (1997), verificaram aumento significativo na incidência de TW em crianças maiores de dois anos de idade e que, por ocasião do nascimento, pesavam mais de quatro quilos. Além disso, o TW apresenta nítida associação (13 a 28% dos casos) com anomalias congênitas, particularmente do aparelho geniturinário (criptorquidia, hipospádia, hermafroditismo e disgenesias gonadais), bem como

aniridia e hemi-hipertrofia, sendo que, nestes casos, aparecem mais comumente nos tumores bilaterais (Breslow e Beckwith, 1982; Coppes et al., 1989). O TW também tem sido associado a distúrbios de supercrescimento, como a síndrome de Beckwith-Wiedemann (gigantismo, macroglossia, hemi-hipertrofia, onfalocele, visceromegalias, microcefalia e eventração diafragmática) e a outras síndromes, como as de Perlmann, Sotos, Simpson-Golabi-Behmel, Denys-Drash (genitália ambígua e insuficiência renal progressiva), WAGR (aniridia, retardo mental e anomalias geniturinárias), bem como a anomalias do sistema nervoso central e músculo-esquelético (Petruzzi e Green, 1997).

### **2.3 GENÉTICA**

O tumor de Wilms também constitui importante modelo para o estudo de mecanismos da carcinogênese. Inicialmente, admitia-se que sua origem era semelhante ao do retinoblastoma, doença na qual cerca de 10% dos pacientes com tumores esporádicos unilaterais e todos com tumores bilaterais, apresentam mutação germinal, a neoplasia originando-se ao ocorrer um segundo evento (Knudson e Strong, 1972).

A gênese do TW, porém, tem-se mostrado mais complexa. O TW parece ocorrer quando células mesenquimais pluripotentes, presentes no rim em desenvolvimento, param de se diferenciar para glomérulos ou túbulos, continuando, porém, a proliferar. A presença do TW em algumas síndromes,

especialmente nas de WAGR e de Beckwith-Wiedemann, possibilitou o início das investigações sobre o papel da Genética na etiologia do tumor (Huff, 1998).

Três anormalidades cromossômicas distintas parecem estar associadas ao TW. A primeira delas foi demonstrada através da análise do cariótipo de certos pacientes com aniridia, retardo mental e TW, que revelou deleções constitucionais na parte distal do braço curto do cromossomo 11, banda 13, onde foi localizado e clonado um gene de supressão do tumor, denominado *WT1*, que codifica um fator de transcrição essencial para o desenvolvimento normal dos rins e gônadas (Call et al., 1990). Essas mutações inativadoras da linha germinal do gene *WT1* são as responsáveis por 10 a 14% dos casos de TW esporádico. Embora o nefroblastoma possa se desenvolver em decorrência de mutações em outras regiões cromossômicas, o *WT1* é o único gene que, após ter sido clonado, comprovadamente inibe o crescimento do tumor.

Conseqüentemente, outros *loci* foram suspeitados, um dos quais identificado como *WT2*, também no braço curto do cromossomo 11 e localizado na posição 11p15, que é telomérica à do *WT1* (Coppes et al., 1994). Os *loci* localizados no *WT2*, não só apresentam este segundo gene TW-supressor como também o gene que causa a síndrome de Beckwith-Wiedemann, doença freqüentemente associada ao TW (Koufos et al., 1989).

Recentemente, foram identificadas duas outras anormalidades cromossômicas associadas à predisposição familiar para o TW: a *FWT1*, localizada no braço longo do cromossomo 17, e a *FWT2*, no braço longo do cromossomo 19. Embora raras, e presentes em apenas 1,5% dos pacientes

com TW, essas anormalidades cromossômicas foram encontradas em pacientes de mesmas famílias (Coppes e Pritchard-Jones, 2000).

Outros estudos correlacionaram certas alterações citogenéticas encontradas no TW mais ao prognóstico do que à gênese do tumor, como a perda alélica do braço longo do cromossomo 16 em 17% dos casos, e do braço curto do cromossomo 1 em 11% (Grundy et al., 1994; Grundy et al., 2005). Ambas perdas alélicas parecem estar associadas a uma chance maior de recidiva, principalmente nos estádios localizados classificados como histologia favorável (Grundy et al., 2005). Mais recentemente, Bown et al. (2002), ao analisarem as várias anormalidades citogenéticas em crianças com TW tratadas pelo *U.K. Children's Cancer Study Group*, constataram que a monossomia do cromossomo 22 foi a principal alteração associada a um pior prognóstico. Vários autores têm correlacionado o conteúdo de DNA ao prognóstico do TW, principalmente com o achado de hiperdiploidia associada a tumores anaplásicos, variante histológica de evolução desfavorável (Douglass et al., 1986; Kumar et al., 1989). Também existe uma forte correlação entre o achado de anaplasia e a presença de mutações do gene supressor *TP53* (Malkin et al., 1994).

## **2.4 QUADRO CLÍNICO**

A apresentação clínica inicial mais comum do TW corresponde à descoberta de uma massa abdominal assintomática, freqüentemente encontradas pelo pediatra num exame físico de rotina ou, ocasionalmente,

notada pelos pais. (Odone et al., 1983). Outros sintomas associados, como dor abdominal, astenia, vômitos, ou uma combinação desses sintomas, aparecem em 30% dos pacientes (Green et al., 1996). A hipertensão arterial é observada em cerca de 25% dos casos no momento do diagnóstico, podendo ser decorrente da elevação dos níveis de renina plasmática, ou, provavelmente, de isquemia renal secundária à compressão da artéria renal pelo tumor, e, indiretamente, pela compressão do parênquima renal dentro da cápsula, ou então, de eventual fístula arteriovenosa intra-renal (Mastroi, 1991).

Aproximadamente, 30% dos pacientes apresentam hematúria, em 25% das vezes macroscópica, resultante da invasão do tumor na pelve renal ou no ureter (Ledlie et al., 1970; Wiener et al., 1998). Varicocele, hepatomegalia, ascite e insuficiência cardíaca congestiva ocorrem em menos de 10% de pacientes, relacionadas à presença de trombos tumorais na veia renal, na veia cava inferior ou no coração, com localização intra-atrial (Ritchey et al., 1988).

Podem estar ainda presentes outras alterações, embora mais raras, tais como aumento da secreção de hormônio adrenocorticotrófico, a elevação dos níveis séricos de eritropoetina e a hipercalcemia, esta última estando mais freqüentemente associada ao nefroma mesoblástico e ao tumor rabdóide maligno do rim (Coppes, 1993). Também descreve-se, em menos de 10% dos casos, a associação (de mecanismo ainda obscuro) do TW com distúrbios de coagulação, principalmente com a doença de von Willebrand adquirida (Coppes et al., 1992; Leung et al., 2004).

## 2.5 EXAMES COMPLEMENTARES

Os exames laboratoriais complementares deverão incluir, inicialmente, hemograma completo, provas de função hepática, de função renal, urinálise e dosagem de cálcio sérico.

Os exames de imagem são úteis para demonstrar a presença de tumor renal, uni ou bilateral e, também, as condições de permeabilidade da veia cava inferior e eventuais metástases pulmonares (Green et al., 1996).

A ultra-sonografia abdominal (USGA) constitui o exame de escolha para a avaliação inicial de tumores no abdome, devido à facilidade de sua execução, menor custo, ausência de necessidade de sedação do paciente e por permitir o diagnóstico diferencial entre lesões renais sólidas e císticas, como também entre tumores intra e extra-renais. Outra vantagem específica da USGA é possibilitar a verificação de trombos nas veias renal e cava inferior, presentes em 4% dos casos de TW (Ritchey et al., 1988).

A tomografia computadorizada (TC) fornece visão mais detalhada da anatomia abdominal e do tumor, sendo que, quando associada ao uso de contraste intravascular, permite visualizar qual a parte remanescente funcionante do rim e delimitar melhor os limites do tumor, bem como avaliar o rim contralateral. Mas, conquanto seja excelente método para visualizar a presença de tumor no rim contralateral, a TC não substitui a exploração cirúrgica para esta finalidade, além de não ser eficiente para excluir invasão vascular. Ressalte-se que estudos do *NWTS-4* mostraram que 7% dos casos



de TW sincrônico bilateral não foram identificados pelos métodos de imagem pré-operatórios (Wiener et al., 1998).

A ressonância nuclear magnética (RNM) apresenta, como principal vantagem, a possibilidade de avaliar a extensão e possível invasão do tumor na veia cava inferior, que a USGA com *doppler* não permite excluir. Além disso, parece ser útil na diferenciação entre restos nefrogênicos (RN) e TW. Porém, em virtude de seu alto custo, da necessidade de sedação e da ineficácia para avaliação da função renal, a RNM é pouco utilizada, seu papel como recurso diagnóstico do TW merecendo ainda ser melhor estabelecido (Rohrscheneider et al., 1998).

A urografia excretora, que, historicamente, foi o exame de escolha na avaliação do TW e no diagnóstico diferencial com neuroblastoma, com a clássica apresentação de imagens de distorção do sistema pielocalicial ou de exclusão renal, cedeu sua posição de importância para a TC contrastada (Wiener et al., 1998).

Metástases hematogênicas são observadas em 10 a 15% dos pacientes por ocasião do diagnóstico, sendo o pulmão (85%), o fígado (7%), ou ambos simultaneamente (8%), as sedes mais freqüentes (Petruzzi e Green, 1997). Por isto, todos os pacientes portadores de TW devem ser submetidos à radiografia simples de tórax. Há controvérsias sobre o uso de TC do tórax em pacientes com radiografia torácica normal, pois a presença de metástases identificadas somente na TC do tórax não altera o prognóstico das crianças tratadas de acordo com a extensão do tumor renal (Babyn et al., 1995). Por outro lado,

estudos de Wilimas et al., em 1988, demonstraram recorrência da doença em 40% dos TW de HF com metástase pulmonar identificada somente na TC de tórax, casos em que a radioterapia de tórax não havia sido realizada. Owens et al., em 2002, em estudo do *UKCCSG*, demonstraram uma chance maior de recidiva para os pacientes com estágio I tratados só com vincristina, nos portadores de nódulos pulmonares detectados somente pela TC de tórax.

Metástases hepáticas podem ser evidenciadas por TC de abdome e USGA, sendo, porém, melhor identificadas durante o ato cirúrgico. A avaliação de possíveis metástases ósseas pela cintilografia, e de metástases cerebrais na TC de crânio, deve ser reservada para os sarcomas de células claras e para o tumor rabdóide maligno renal (Wiener et al., 1998).

## **2.6 ANATOMIA PATOLÓGICA**

### **(a) MACROSCOPIA**

Macroscopicamente, o TW é geralmente um tumor solitário, esférico e delimitado por uma pseudocápsula que pode comprometer o rim, parcial ou totalmente. Em 12% dos casos, o TW pode apresentar-se de forma multifocal dentro de um único rim. Ao corte, apresenta abaulamento depressível e coloração cinza-esbranquiçada, com focos de hemorragia e necrose, ou formações císticas e, menos freqüentemente, calcificações (Schmidt e Beckwith, 1995).

### **(b) MICROSCOPIA**

Derivado do blastema metanéfrico primitivo, o TW apresenta diversidade histológica com importantes conotações de prognóstico. Em sua forma clássica, é característica a presença de células blastematosas, epiteliais e mesenquimais (tumor embrionário trifásico) em proporções variáveis, com diversidade tanto de arranjo arquitetural como de graus de diferenciação (Beckwith, 1983). Quando a presença de um dos três tipos celulares supracitados for igual ou maior do que 65% na constituição do tumor, tal componente é considerado predominante.

Os casos de TW monofásico, com a presença apenas do componente blastematoso, costumam ser bastante invasivos, tornando difícil o diagnóstico diferencial com outros tumores de células pequenas e redondas, tais como o neuroblastoma, o tumor neuroectodérmico primitivo e o linfoma (Beckwith, 1983). Já os casos de TW monofásico com presença somente do componente mesenquimal costumam mimetizar sarcomas primários do rim, como o sarcoma de células claras, o nefroma mesoblástico e o sarcoma sinovial (Kalapurakal et al., 2004). Outros TW diferenciados com predomínio mesenquimal, mostram uma diferenciação músculo-esquelética freqüentemente associada a mutações do WT1, variando de uma forma bem diferenciada (rabdomiomatosa) até uma pouco diferenciada (rabdomioblástica) (Beckwith, 1983; Kalapurakal et al., 2004).

A anaplasia, definida por Beckwith e Palmer (1978) pela presença de (a) figuras mitóticas anormais hiperdiplóides, (b) polimorfismo dos componentes histológicos, com aumento do tamanho nuclear (sendo os dois diâmetros perpendiculares pelo menos três vezes maiores do que os do núcleo

do mesmo tipo celular adjacente) e (c) hipercromasia nuclear, corresponde a apenas 5% dos TW. Sua frequência correlaciona-se com a idade, raramente manifestando-se antes dos dois primeiros anos de idade, correspondendo a aproximadamente 13% dos TW nos maiores de cinco anos (Bonadio et al., 1985), sendo mais comum nos de ascendência afro-americana e estando fortemente associada a mutações do *TP53*.

A anaplasia pode ser focal ou difusa, denominações anteriormente baseadas em métodos quantitativos, considerando-se como focal quando menos de 10% dos campos microscópicos mostravam alterações anaplásicas, independentemente da existência de focos anaplásicos disseminados no tumor ou em áreas extra-renais. Em 1993, Faria e Beckwith propuseram uma nova classificação, considerando a topografia da anaplasia como o fator determinante para ser considerada como focal ou difusa. A anaplasia focal é caracterizada pela distribuição das alterações anaplásicas em focos dentro do tumor, inexistindo em qualquer outra área fora do parênquima renal, enquanto que a anaplasia difusa caracteriza-se por uma das seguintes condições: (a) presença de alterações anaplásicas em qualquer área extra-renal, (b) anaplasia presente em biópsia ou em amostra incompleta do tumor, (c) anaplasia localizada, porém na presença de atipias nucleares em qualquer parte do tumor, caracterizando uma região com “instabilidade nuclear”, e (d) presença de alterações anaplásicas em mais de um espécime de secções obtidas de diferentes áreas do tumor (Faria et al., 1996). A presença de anaplasia corresponde a um pior prognóstico, embora os pacientes com TW estágio I e

anaplasia focal apresentem evolução favorável, quando comparado àqueles com anaplasia difusa (Beckwith, 1998).

Os critérios utilizado pela *SIOF* para classificar o TW difere dos utilizados pelo *NWTS*, pois está baseado na avaliação histológica realizada após a quimioterapia pré-operatória, o que altera os achados histopatológicos originais do tumor, descritos em 1978 por Beckwith e Palmer. Portanto, o primeiro passo é determinar a porcentagem de área de necrose, sendo que somente tumores com mais de 1/3 de massa do tumor preservada serão classificados de acordo com o componente histológico remanescente após a ação da quimioterapia pré-operatória, segundo a *SIOF Working Classification of Renal Tumors* (1994), revisada em 2001 (Vujanic et al., 2002). Os últimos resultados dos estudos da *SIOF* incorporados a essa nova classificação demonstraram que tumores com 100% de necrose são extremamente responsivos ao tratamento, sendo classificados de baixo risco, necessitando, portanto, de menos tratamento adicional (Boccon-Gibod et al., 2000). Já a persistência do componente blastematoso após a quimioterapia inicial, demonstra uma maior resistência desse componente do TW, conhecido pela sua grande agressividade, mas extremamente responsivo ao tratamento quimioterápico. Sua persistência significa um pior prognóstico, o que classifica estes tumores como de alto risco e os torna merecedores de uma quimioterapia mais intensiva (Graf et al., 2000).

Assim sendo, para o estudo atual da *SIOF* — que também é utilizado pelo GBTTW —, apenas três grupos de TW serão considerados na proposta de

tratamento: (a) os TW de baixo risco, em que o principal representante é o TW completamente necrótico, (b) os TW de risco intermediário, formado pelos tipos epitelial, mesenquimal, misto e regressivo (entre 66-99% de necrose após quimioterapia pré-operatória), e os TW com anaplasia focal, e (c) os de alto risco, como os TW tipo blastematoso e os com anaplasia difusa (Vujanic et al., 2002).

Além dos tumores anaplásicos, fazem parte dos 15% dos TW considerados como de quadro histopatológico desfavorável, o sarcoma de células claras do rim (SCC) e o tumor rabdoide do rim (TR), que correspondem, respectivamente, a 5 e 2% dos tumores renais malignos da infância. Estes dois tumores, embora incluídos nos protocolos para tratamento de TW de histologia desfavorável no *NWTSG* e nos grupos de alto risco para a *SIOP*, e tratados, portanto, de maneira mais agressiva, são entidades distintas e não devem ser considerados variantes do TW (D'Angio et al., 1989).

Outra característica histológica a ser definida diz respeito à importância dos restos nefrogênicos remanescentes do tecido embrionário renal, considerados precursores do TW, que são encontrados em 30 a 40% dos rins removidos no *NWTS*. Beckwith et al. (1990) classificaram os restos nefrogênicos (RN) em duas categorias, de acordo com a sua posição no lobo renal e sua aparência histológica: os perilobares (RNPL) e os intralobares (RNIL), ambos aparecendo associados ao TW bilateral e com incidência maior que nos tumores unilaterais (Ritchey e Coppes, 1995). Os RNPL são geralmente numerosos, localizando-se na periferia do lobo renal, ocorrem

tardamente no desenvolvimento do rim associado à hemi-hipertrofia e à doença bilateral sincrônica, com menor probabilidade de induzir à formação de TW. Os RNIL, ao contrário, são geralmente únicos, ocorrem precocemente na vida fetal, localizam-se em qualquer local do lobo renal e podem se acompanhar de aniridia, malformações geniturinárias e doença renal bilateral metacrônica (Beckwith et al., 1990). A presença de restos nefrogênicos múltiplos ou difusos é denominada nefroblastomatose (Ritchey e Coppes, 1995). Somente um pequeno número de RN apresenta uma transformação clonal para TW, a maioria deles permanecendo inalterados ou então, podendo envolver espontaneamente. A presença de RN em TW ressecados indica a necessidade de monitorização quanto ao desenvolvimento de TW no rim contralateral, principalmente em pequenos lactentes (Coppes et al., 1989).

O estadiamento do TW (I a V) resulta de critérios multidisciplinares, clínicos, cirúrgicos, radiográficos, laboratoriais e anatomopatológicos. Os principais sistemas de estadiamento são dois: o do *National Wilms Tumor Study (NWTS)* e o da *Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique (SIOP)*, ambos bastante semelhantes, principalmente após a alteração promovida pelo novo estadiamento anatomopatológico da *SIOP*, em que os tumores com alterações necróticas (induzidas pela quimioterapia) em linfonodos ou nas margens de ressecção, anteriormente rotulados como estágio II, são agora classificados em estágio III, pois essas alterações seriam uma prova de comprometimento do tumor com resíduos macroscópicos nessas localizações (Vujanic et al., 2002). No entanto, persistem ainda algumas diferenças importantes, pois o *NWTS*

considera como de estágio II os tumores previamente biopsiados ou com rotura localizada, que pertenceriam, na classificação da *SIOP*, ao estágio III (D'Angio et al., 1989; Green et al., 1996). Quanto ao estágio V, para os tumores bilaterais, é constante alvo de críticas, pois estes tumores não resultam de progressão da doença, nem representam prognóstico desfavorável (Beckwith, 1991; Pritchard e Ransley, 1991; Martins, 1991). O estadiamento, que é baseado na extensão macroscópica e microscópica do tumor, é o mesmo tanto para tumores com quadro histopatológico favorável como para os de histopatologia desfavorável. A Tabela 1 resume os dois sistemas de estadiamento.



Tabela 1. Sistema de estadiamento clínico-patológico para TW segundo o *NWTS* e a *SIOP*

<b>ESTÁDIO</b>	<b>NWTS</b>	<b>SIOP</b>
I -	Tumor limitado ao rim e completamente extirpado; superfície da cápsula renal intacta. O seio renal não pode estar envolvido	Tumor limitado ao rim e completamente extirpado; superfície da cápsula renal intacta. O seio renal não está envolvido
II -	Tumor estende-se além do rim, mas foi completamente extirpado (margens negativas). Existe extensão regional do tumor: penetração nos tecidos perirenais através da cápsula renal. Vasos fora do rim podem estar infiltrados ou conter trombos soltos, totalmente retirados. Pode ter sido biopsiado e ocorrido rotura localizada no flanco. Nenhum linfonodo pode estar comprometido.	Tumor estende-se além do rim, mas foi completamente extirpado (margens negativas). Existe extensão regional do tumor: penetração nos tecidos perirenais através da cápsula renal. Vasos fora do rim podem estar infiltrados ou conter trombos soltos, e totalmente retirados.
III -	Tumor residual confinado ao abdome. Um dos seguintes itens pode ocorrer: - linfonodos comprometidos no hilo, cadeias peri-aórticas ou outros; - contaminação peritoneal por rotura do tumor; - implantes peritoneais; - vasos com êmbolo do tumor aderente à íntima e não totalmente ressecados; - tumor não completamente ressecado; - biópsia prévia com contaminação peritoneal.	Tumor residual confinado ao abdome, complicado por um dos seguintes itens: - tumor biopsiado. - rotura durante ou após a cirurgia. - metástases peritoneais. - comprometimento de linfonodos - ressecção incompleta. Contaminação peritoneal por rotura do tumor; - implantes peritoneais; - presença de alterações necróticas induzidas pela quimioterapia em linfonodos ou nas margens de ressecção
IV -	Metástases hematogênicas (pulmão, fígado, osso, cérebro), ou metástases para linfonodos fora da região abdominal e pélvica.	Metástases hematogênicas (pulmão, fígado, osso, cérebro), ou metástases para linfonodos fora da região abdominal e pélvica.
V -	Envolvimento bilateral.	Envolvimento bilateral.

## 2.7 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

O diagnóstico diferencial do tumor de Wilms deve incluir neoplasias renais como o nefroma mesoblástico, o hipernefroma, o carcinoma de células renais, o rabdomiossarcoma renal, além de outros tumores malignos abdominais como o hepatoblastoma, o carcinoma hepatocelular e o neuroblastoma, esta neoplasia maligna retroperitoneal sendo a que costuma ser mais confundida com TW. O TW também deve ser diferenciado de outras massas retroperitoneais benignas, como rins policísticos, rins multicísticos e hidronefrose (Mastroti, 1991; Space e Albano, 1999).

## 2.8 TRATAMENTO

### 2.8 (A) HISTÓRICO

Como já salientamos, o tumor de Wilms constitui paradigma na terapêutica multimodal de tumores sólidos malignos em crianças, apresentando índices de sobrevida superiores a 90% em pacientes com tumor de histologia favorável e tratados mediante associação de cirurgia, quimioterapia e, quando necessário, radioterapia. Este progresso na cura do tumor TW, como já assinalado, teve a contribuição de diversos grupos cooperativos no mundo, salientando-se, pela importância, o *National Wilms Tumor Study (NWTs)*, a *Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique (SIOP)*, o *United Kingdom Children's Cancer Study Group (UKCCSG)* e o Grupo Cooperativo Brasileiro para o Tratamento de Tumor de Wilms (*GCBTTW*).

O *NWTS*, grupo cooperativo formado nos EUA em 1969, adota basicamente, como estratégia terapêutica naquele país e no Canadá, a nefrectomia imediata do rim acometido, o que permite estabelecer um estadiamento clínico, patológico e molecular do TW mais preciso, bem como decidir a terapia adjuvante conforme os resultados dos achados histopatológicos (Wiener et al., 1998). A *SIOP*, cujos protocolos são mais utilizados na Europa desde 1971 (Voûte e Lemerle, 1972; Tournade et al., 1993), parte da premissa de que o tratamento cirúrgico deverá ser fundamentado nos resultados da avaliação pelos métodos de imagem, com quimioterapia pré-operatória. No Brasil, a primeira tentativa de formar um grupo cooperativo coube a Baratella (1980) que, entre 1977 e 1980, registrou 37 casos de TW provenientes de seis instituições da cidade de São Paulo, com o principal objetivo de avaliar os resultados obtidos nos pacientes tratados com quimioterapia pré-operatória. Em 1986, foi formado o GCBTTW, constituído por especialistas nacionais liderados pela oncologista Beatriz de Camargo, objetivando obter informações clínicas, epidemiológicas, cirúrgicas e patológicas sobre o TW no Brasil, grupo que, desde então, vem destacando a importância da oncologia brasileira no cenário mundial. Uma das suas principais contribuições para nossas crianças acometidas pelo TW foi a demonstração da maior praticidade e menor custo da administração de actinomicina D em dose única, comparativamente ao esquema de doses fracionadas, tanto do ponto de vista terapêutico como do socioeconômico (De Camargo e Franco, 1994).

## **2.8 (B) CIRURGIA**

O tratamento cirúrgico é iniciado com a exploração intra-abdominal e seu objetivo, na maioria das vezes, é a nefrectomia radical. É consenso que deva ser realizada uma incisão abdominal supra-umbilical transversa bilateral a fim de dar amplo acesso à cavidade abdominal e a ambos os rins, de modo a propiciar uma cuidadosa exploração cirúrgica quanto a eventuais metástases no fígado, em linfonodos e em outros órgãos, bem como possibilitar a avaliação do rim contralateral quanto a alterações e/ou acometimento inaparentes nos estudos de imagem (Green, 1997). Qualquer lesão suspeita deverá ser biopsiada e submetida a exame histopatológico em cortes de congelação. Excluída a possibilidade de tumor bilateral, é efetuada a nefrectomia radical em bloco, com o mínimo de manipulação a fim de evitar roturas intra-operatórias, que alteram o estadiamento e aumentam as chances de recidiva (Petruzzi e Green, 1997).

Os linfonodos abdominais, principalmente os peri-aórticos, devem ser inspecionados, não sendo necessária ressecção radical, que deve se restringir àqueles aumentados de tamanho. Caso contrário, algumas biópsias ao acaso deverão ser realizadas com o objetivo de afastar a presença de metástases microscópicas nos linfonodos, pois em até 11% das vezes, acometimento ganglionar não suspeitado macroscopicamente, é verificado no exame histológico (Othersen et al., 1990). Nos casos em que a exérese do tumor não puder ser efetuada, com a finalidade de não aumentar os índices de morbidade e/ou mortalidade, ou por apresentar grande volume e outras estruturas estarem

comprometidas, deve-se biopsiá-lo para confirmar o diagnóstico, obter o tipo histológico e possibilitar a escolha da quimioterapia pré-operatória. A biópsia, sem outros procedimentos, também deve ser feita quando houver trombose neoplásica na veia cava inferior (4% dos casos), principalmente quando localizada acima do nível das veias hepáticas, ou mesmo no coração (átrio direito) (Ritchev et al., 1988).

A nefrectomia parcial como tratamento primário do TW não é de indicação rotineira, pois na maioria dos casos a localização dos tumores é central e eles costumam ser muito grandes para merecer nefrectomia parcial, o que restringiria essa possibilidade terapêutica a menos de 10% dos casos. Além disso, a nefrectomia parcial pode levar ao risco da não identificação de restos nefrogênicos no espécime cirúrgico. Sua indicação fica restrita somente aos casos de rins solitários, TW sincrônico ou metacrônico, insuficiência renal ou comprometimento da função renal do rim contralateral, ou nas crianças com Síndrome de Beckwith-Wiedemann, que leva ao risco da ocorrência de múltiplas neoplasias (Kalapurakal et al., 2004).

## **2.8 (C) QUIMIOTERAPIA**

Os principais grupos cooperativos existentes no mundo buscam desenvolver uma combinação melhor de agentes quimioterápicos e estabelecer uma duração ideal do tratamento para todos os pacientes com TW, com o objetivo de refinar a terapêutica, diminuir a morbidade aguda e a incidência, a longo prazo, de seqüelas decorrentes desta modalidade de tratamento

(Kalapurakal et al., 2004). Atualmente há consenso sobre as três principais drogas altamente efetivas e que devem ser empregadas em todos os protocolos terapêuticos: a vincristina, a actinomicina D e a doxorubicina, embora a importância desta última em melhorar o prognóstico para os pacientes com TW estágio III e HF tenha sido recentemente questionada pelo *NWTSG* (Breslow et al., 2004; Green, 2004). Outras quatro drogas, como a ciclofosfamida, a ifosfamida, a carboplatina e a etoposide são reservadas para tratamento dos casos com histologia desfavorável ou que recaíram ou não responderam à combinação das drogas clássicas (Neville e Ritchey et al., 2000; Abu-Ghosh et al. 2002).

Para o *NWTS-5*, os pacientes com TW estádios I ou II devem receber vincristina e actinomicina-D por 18 semanas; os com estádios III e IV e HF devem receber o mesmo tratamento, mas por 24 semanas e com a adição da doxorubicina; para os pacientes com TW estádios II a IV com sarcoma de células claras ou anaplasia difusa, é indicada a combinação de vincristina, doxorubicina, ciclofosfamida e etoposide. Pelo fato de os tumores rabdóides do rim (TR) responderem mal a todas as combinações quimioterápicas, em 1995 o *NWTS-5* iniciou, para estes casos, um protocolo terapêutico com o objetivo de testar a associação de carboplatina, etoposide e ciclofosfamida. Se na etapa diagnóstica o tumor for considerado irresssecável, deverá ser instituída quimioterapia pré-operatória por sete semanas com vincristina e actinomicina-D e, eventualmente, adriamicina, seguindo-se a exeresse cirúrgica complementada por quimioterapia associada à radioterapia para os estádios III ou IV (Wiener et

al., 1998). Atualmente, o GBTTW tem utilizado o protocolo da *S/OP* 2001, que preconiza o tratamento pré-operatório com vincristina e actinomicina-D durante quatro semanas, para doença localizada, e durante seis semanas com a adição de doxorubicina, para doença metastática.

Após a realização da quimioterapia pré-operatória e de acordo com a resposta histológica do tumor, ocasião em que os pacientes são classificados em três grupos de risco e o estadiamento é definido pelos achados anatomopatológicos obtidos na nefrectomia, realizar-se-ão os tratamentos quimioterápico e radioterápico, se necessários. Então, os pacientes com necrose completa do tumor, classificados como baixo risco e estágio I, não receberão quimioterapia, enquanto que aqueles estágio I e risco intermediário, receberão durante quatro semanas uma associação de vincristina e actinomicina D. Os pacientes estágio I e de alto risco, receberão uma combinação de vincristina e actinomicina-D mais doxorubicina durante 27 semanas. Já os pacientes estádios II e III pertencentes ao grupo intermediário (tipo epitelial, mesenquimal, misto, regressivo ou com anaplasia focal) foram randomizados para receber vincristina e actinomicina-D associadamente ou não à doxorubicina, durante 27 semanas. Quanto aos com estádios II ou III e classificados de alto risco, devem receber a associação de doxorubicina e ciclofosfamida, alternada com ciclos de etoposide associado à carboplatina por 34 semanas. Finalmente, os pacientes com metástases por ocasião do diagnóstico, os que persistem com metástases pulmonares ou que, apesar de terem apresentado desaparecimento metastático, forem classificados como

blastematosos, deverão receber o protocolo de alto risco associado à radioterapia pulmonar (*Nephroblastoma Clinical Trial and Study: SIOP 2001*).

## **2.8 (D) RADIOTERAPIA**

O tratamento radioterápico continua a ser muito importante para os pacientes com TW, principalmente com o desenvolvimento das novas técnicas como a radioterapia conformacional, que utiliza sistemas de planejamento tridimensionais baseados em TC ou RNM e, mais recentemente, a radioterapia modulada por feixes, que diminui muito a morbidade do tratamento por atingir o tumor de forma mais precisa e também por poupar, de modo mais intenso, muito melhor, os tecidos adjacentes (Kalapurakal et al., 2004).

Antes dos trabalhos desenvolvidos no *NWTS-1*, a radioterapia abdominal pós-operatória era indicada para todos os pacientes portadores de TW. Entretanto, os estudos daquele e dos demais grupos cooperativos demonstraram que a radioterapia abdominal pós-nefrectomia não é necessária para casos de pacientes portadores de TW nos estádios I e II com histologia favorável, ou estágio I com anaplasia focal e estágio IV com metástases pulmonares, como também nos tumores abdominais equivalentes a estágio I ou II e de histologia favorável.

Em sua maioria, os estudos comprovaram que, nos casos de histologia favorável, uma dose de 1.080 cGy é suficiente para o controle local da doença, desde que associada à ministração de adriamicina, vincristina e actinomicina-D (Green et al., 1996). O *NWTS* recomenda doses ajustadas de acordo com a



idade, entre 1.080 cGy e 4.000 cGy para os tumores de histologia desfavorável (Jereb et al., 1994).

Para o estudo atual da *SIOP*, cujo principal objetivo é irradiar o menos possível a fim de diminuir os efeitos tardios adversos, só deverão receber radioterapia abdominal os seguintes pacientes: os com TW estágio II classificados no grupo de alto risco, os estágio III classificados como risco intermediário ou alto risco, os com doença metastática por ocasião do diagnóstico, e os com estágio abdominal II ou III, porém pertencentes ao grupo de alto risco (*Nephroblastoma Clinical Trial and Study. SIOP 2001*).

O estágio IV com histologia favorável enseja excelente prognóstico, com mais de 80% dos pacientes vivos decorridos quatro anos do diagnóstico, de acordo com o *NWTS-3* (D'Angio et al., 1989). Ainda, segundo o *NWTS*, todos os pacientes com TW no estágio IV e HF e metástases restritas aos pulmões deverão receber 1.2 Gy em ambos os pulmões nove dias após a nefrectomia, seguindo-se quimioterapia adjuvante com as três drogas clássicas (Green et al., 1996). Porém, para a *SIOP*, que recomenda seis semanas de quimioterapia pré-operatória, somente devem receber irradiação pulmonar os pacientes que não apresentem resposta completa com desaparecimento das metástases pulmonares após a quimioterapia associada ou não à excisão cirúrgica de nódulos metastáticos pulmonares residuais, ou aqueles que, embora tenham apresentado desaparecimento das metástases pulmonares, forem classificados como de alto risco, quando deverão receber 1.5 Gy (De Kraker, 1990; Claude et al., 2004).

## **2.8 (E) TUMORES BILATERAIS**

O tratamento do TW bilateral sincrônico constitui um desafio para a equipe multidisciplinar responsável, devendo ser, por isso mesmo, bem individualizado. Seu principal objetivo é erradicar todos os tumores e preservar ao máximo o parênquima remanescente funcionante a fim de diminuir a frequência de insuficiência renal crônica (Green et al., 1996). Atualmente, são recomendadas biópsias renais bilaterais com estadiamento individualizado para cada rim, seguidas de quimioterapia ou radioterapia, ou ambas, a fim de diminuir o tamanho do tumor e facilitar sua posterior ressecção por nefrectomia parcial ou tumorectomia (Ritchey e Coppes, 1995; Petruzzi e Green, 1997).

## **2.8 (F) DOENÇA RECORRENTE**

Catorze por cento das crianças tratadas por TW podem apresentar recorrência da doença, os locais mais freqüentes sendo os pulmões (58%), ou então, recidiva local (no leito do tumor primário, na região retroperitoneal ou dentro da cavidade abdominal ou da pelve, em 29% das vezes) e ainda, mais raramente, em outros órgãos (13%), como o fígado, o outro rim, ou em outras regiões do abdome (Grundy et al., 1989; Miser e Tournade, 1995; Petruzzi e Green, 1997). Recidivas no cérebro e nos ossos ocorrem ocasionalmente, principalmente em casos de TR ou SCC.

Os pacientes com recidiva e histologia favorável têm prognóstico variável, dependendo do estágio inicial, local de recidiva, tempo decorrido desde o diagnóstico inicial e tipo de tratamento prévio. Entre os fatores de

prognóstico favorável incluem-se o não uso prévio da doxorrubicina, a recidiva após 12 meses do diagnóstico, a recorrência isolada no pulmão e a recidiva subdiafragmática em pacientes que não receberam radioterapia abdominal prévia (Grundy et al., 1989; Green, 1997). De acordo com o *NWTS-4*, os fatores mais significativos para a recorrência local do tumor são a rotura do tumor durante a cirurgia e a não realização de biópsia de linfonodos abdominais (Shamberger et al., 1999).

Pacientes com fatores de prognóstico desfavorável no momento do diagnóstico e que apresentem recidiva, nos quais a chance de sobrevida é inferior a 30% com os tratamentos convencionais, deverão receber tratamento mais agressivo, como a associação de ifosfamida, carboplatina e etoposide, drogas que já demonstraram ser efetivas nesses casos, ou deverão ser incluídos nos protocolos que utilizam quimioterapia em altas doses com resgate através de transplante autoplástico de células tronco periféricas, com resultados encorajadores (Abu-Ghosg et al., 2002; Campbell et al., 2004).

## **2.9 FATORES DE PROGNÓSTICO**

A importância dos fatores de prognóstico na sobrevida dos pacientes tem sido bastante estudada por diversos autores visando à identificação de casos correspondentes a fim de tratá-los de modo mais agressivo, ou, em situação oposta, para receberem tratamento menos intenso na tentativa de minimizar efeitos colaterais indesejáveis. Muitos fatores estão relacionados entre si e têm sua influência modificada de acordo com a evolução do tratamento.

## 2.9.1 FATORES CLÍNICOS DE PROGNÓSTICO

### (A) IDADE

A idade por ocasião do diagnóstico tem importância prognóstica, o que tem sido demonstrado desde os primeiros estudos sobre TW. Postula-se que uma idade maior por ocasião do diagnóstico poderia significar um atraso na realização deste, o que ensejaria ao tumor maior tempo para se disseminar (Breslow et al., 1991). Nas análises do *NWST-1*, a idade acima de 24 meses foi associada à taxa maior de recorrência, embora com menor efeito na sobrevida (Breslow et al., 1978). No entanto, os trabalhos do *NWTS-2* mostraram que a importância da idade como fator prognóstico não foi significativa, pois as crianças acima de dois anos apresentavam evolução menos favorável devido à associação de outros fatores de prognóstico adverso, como, por exemplo, a maior chance de rotura do tumor ou de invasão intra-renal (Breslow et al., 1985). Entretanto, no estudo do *NWTS-3*, a idade voltou a apresentar relação com o prognóstico, notando-se que pacientes com idade superior a 24 meses e classificados como estágio II e III, apresentavam maior chance de recorrência e de óbito. Ressalte-se, contudo, que apesar de existir uma associação entre estadiamento avançado e idade superior a 24 meses, as taxas de recidiva abdominal aumentaram acentuadamente com a idade em qualquer estágio (Breslow et al., 1991).

Green et al. (1994) demonstraram que a idade por ocasião do diagnóstico em pacientes com menos de 24 meses, associada a peso do tumor menor de 550 g, caracteriza um subgrupo de pacientes com prognóstico mais

favorável por não apresentarem fatores adversos de microestadiamento, como pseudocápsula inflamatória e invasão de cápsula renal, dos vasos do seio renal e das veias intra-renais. Estes pacientes têm sido tratados somente com nefrectomia, de acordo com o *NWTS-5*. Num amplo estudo brasileiro, De Camargo (1996) demonstrou a importância da idade como fator prognóstico, estando associada a uma maior taxa de recorrência do tumor principalmente nas crianças acima de 60 meses, mesmo se considerada separadamente dos demais fatores que interferem no prognóstico. Recentemente, estudos como o *UKCCSG* e o da *German Society of Oncology and Hematology (GPOH)*, que trataram os pacientes de acordo com o protocolo empregado no estudo da *SIOP-9*, demonstraram um melhor prognóstico para os pacientes classificados como estágio I, portadores de tumores pequenos e com menos de 24 meses de idade quando do diagnóstico (Pritchard-Jones, 2003; Weirich, 2004).

## **(B) PESO DO TUMOR**

Desde os primeiros estudos, o peso do tumor tem sido considerado uma variável de valor prognóstico importante. A razão para a maior chance de recidiva conforme o aumento de peso do tumor poderia ser explicada pelo fato de o tumor, quanto maior, mais vascularizado ser, o que aumentaria a chance de disseminação sistêmica da doença, principalmente para o pulmão. Cassady et al. (1973) criaram um modelo de estadiamento no qual os pacientes menores de 24 meses, com tumor pesando menos de 550 g, deveriam ser considerados estágio I (Cassady) e tratados exclusivamente com nefrectomia, devido ao

excelente prognóstico. Esta hipótese foi testada no *Dana Farber Cancer Center* onde oito crianças com estas características foram tratadas exclusivamente com nefrectomia. A taxa de recorrência foi semelhante à verificada do *NWTS*, em que o tratamento consistiu na associação de actinomicina-D e vincristina (Larsen et al., 1990).

O *NWTS-1* constatou taxas menores de recorrência no abdome e de óbito, conquanto não muito significativas, nos pacientes com tumores de peso inferior a 250 g (Breslow et al., 1978). Muito embora os resultados do *NWTS-2* não tenham demonstrado influência do peso do tumor no prognóstico (Breslow et al., 1985), de acordo com os estudos do *NWTS-3*, o fator ponderal voltou a apresentar significância prognóstica, sendo que em análise multivariada foi o principal fator isolado para recorrência em qualquer local, mas somente para os portadores de TW estágio I, não estando, porém, associado a uma chance maior de óbito (Breslow et al., 1991). Estudos mais recentes demonstraram uma correlação entre o peso do tumor abaixo de 550 g e a ausência de variáveis de prognóstico desfavoráveis (Weeks et al., 1987). Entre nós, De Camargo (1996), demonstrou a importância do peso do tumor no prognóstico de crianças tratadas conforme o GCBTTW, sendo significativamente maior a chance de recorrência pulmonar nos casos de tumores com peso maior que 550 g.

### **C) HISTOLOGIA**

O quadro histológico é um dos mais importantes fatores que interferem no prognóstico dos portadores de TW. Os TW anaplásicos corresponderam, no trabalho de Beckwith et al. (1996), a 4,8% do total de casos de TW nos *NWTS*-1,2 e 3. A anaplasia foi considerada achado histológico indicativo de resistência à quimioterapia, evidenciada similarmente pelo *NWTS* (5%) e os estudos da *SIOP* (5,3%), segundo os quais a anaplasia persistia após quimioterapia pré-operatória (Schimidt e Beckwith, 1995; Beckwith et al., 1996).

Com a nova definição de anaplasia focal e difusa proposta pelo *NWTS*, já anteriormente citada e baseada em princípios anatômicos topográficos, foi demonstrado que somente a anaplasia difusa corresponde a um pior prognóstico, daí que os pacientes portadores de tumor com este tipo histológico são beneficiados por quimioterapia mais agressiva (Faria et al., 1996). Estas conclusões demonstram que a anaplasia é um fator indicativo mais de resistência à quimioterapia do que de agressividade do tumor.

### **D) ESTADIAMENTO**

O estadiamento clínico, cirúrgico e anatomopatológico é importante como fator de prognóstico em crianças portadoras de TW, sendo que os pacientes com doença localizada (estádios I e II) têm melhor prognóstico que os com doença avançada (estádios III e IV). Os principais fatores que definem o estadiamento são:

(a) Linfonodos: o comprometimento microscópico de linfonodos classifica o paciente com TW num estágio mais avançado, o estágio III, que corresponde à maior taxa de recidiva abdominal e em outras regiões, como ficou demonstrado no *NWTS-1* (Beckwith, 1978). Estudos efetuados na *SIOF*, com 300 pacientes submetidos à biópsia de linfonodos abdominais, demonstraram a ocorrência de metástases em 15% dos casos, pacientes nos quais a sobrevida global e a sobrevida livre de doença foram menores, pois o estadiamento do tumor estava relacionado com o comprometimento de linfonodos (Jereb et al., 1980). Cabe, ainda, ressaltar que para os estudos do *GCBTTW-1* e *NWTS-4* a não realização de biópsia em linfonodos foi um dos principais fatores que concorreram, respectivamente, para recidiva pulmonar e abdominal (Schettini, 1999; Shamberger et al., 1999).

(b) Disseminação peritoneal: a rotura do tumor com disseminação peritoneal está correlacionada, é claro, com maior chance de recorrência abdominal, de modo a afetar a sobrevida, principalmente dos pacientes que não receberam radioterapia abdominal (Shamberger et al., 1999). Estudos da *SIOF* demonstraram que a ministração de quimioterapia pré-operatória fez diminuir o número de roturas tumorais e, conseqüentemente, de recorrências abdominais (Lemerle et al., 1981).

(c) Comprometimento da veia cava inferior: a presença de invasão da veia cava inferior com trombos aderidos à camada íntima do vaso ou não passíveis de ressecção, classifica os pacientes em estágio III e, de acordo com o *NWTS-2*, aumenta o risco de recaída (Breslow et al., 1985). Porém, como estes pacientes



já são tratados de forma mais agressiva com a adição de adriamicina associada à radioterapia abdominal, os estudos do *NWTS-3* mostraram que a presença deste comprometimento não implicou impacto na sobrevida destes pacientes (Ritchey et al., 1988).

(d) Metástases: a presença de metástases, principalmente pulmonares e hepáticas, que classificam estes pacientes em doença disseminada (estádio IV), confere prognóstico menos favorável, conforme conclusões dos estudos da *SIOP* e do *NWTS*.

### **E) VÁRIÁVEIS DE MICROESTADIAMENTO**

Para os pacientes com doença localizada e classificados como estágio I, Weeks et al. (1987) observaram, durante os estudos do *NWTS-3*, que certos achados histológicos poderiam ter implicações prognósticas. Isso decorreria da observação de que tumores classificados como estágio I, por estarem limitados ao rim e serem completamente ressecados, permitiriam uma considerável variação na extensão do tumor dentro do rim, do seio renal e da cápsula renal. Quatro características histológicas que expressariam o grau de extensão tumoral dentro da unidade composta pelo rim e tumor, denominadas variáveis de microestadiamento e constituídas pela presença de pseudocápsula renal, invasão do seio renal, dos vasos intra-renais e da cápsula tumoral, quando presentes, estariam associadas a uma chance maior de recidiva (Weeks et al., 1987). O *NWTS-3* demonstrou que, uma ou mais dessas variáveis estavam presentes em 100% dos casos recidivados, em oposição a apenas 46% dos

não recidivados, e que 62.5% dos pacientes recidivados apresentavam duas ou mais variáveis de microestadiamento presentes, comparativamente aos mesmos achados em 25% dos pacientes não recidivados (Weeks et al., 1987). Por outro lado, não foi observada recidiva nos pacientes em que todas essas quatro estavam ausentes.

A presença da pseudocápsula inflamatória, demonstrando processo inflamatório no tecido conectivo tumoral, foi a variável de microestadiamento mais presente nos casos recidivados e a mais significativa em análise multivariada, sendo que, segundo Garcia et al. (1963), os tumores que aderem a outros órgãos, pela maior chance de recidiva, deveriam ser supraestadiados e merecedores de tratamento mais intenso. Os resultados obtidos no *NWTS-4*, assim como os dos estudos anteriores do *NWTSG*, demonstraram que a associação entre idade inferior a 24 meses por ocasião do diagnóstico e tumor com peso menor que 550 g foi fortemente correlacionada a um melhor prognóstico e a um número menor de recidivas, e diretamente associada à ausência das variáveis de microestadiamento (Green et al., 1993; Green et al., 1994). Recentemente, o *NWTS-5* demonstrou também que os pacientes com TW de idade inferior a 24 meses e peso tumoral menor que 550 g, cujos tumores não foram adequadamente avaliados quanto à extensão do comprometimento do seio renal, apresentaram maior chance de recidiva local e de desenvolver metástases pulmonares (Green et al., 2001).

## 2.9 (B) FATORES BIOLÓGICOS DE PROGNÓSTICO

Várias alterações moleculares têm sido associadas a um prognóstico desfavorável em TW com HF, na tentativa de explicar o porquê de ainda ocorrer recidiva nesses tumores, mesmo em estádios baixos.

Com certeza, a perda de heterozigose, para os cromossomos 16q, 1p e 22q, tem mostrado ser um dos fatores de prognóstico desfavorável no TW por vários estudos (Grundy et al., 1994). Análise recente de pacientes tratados no *NWTS-5* demonstrou uma maior chance de recaída e de óbito somente para os que apresentassem, simultaneamente, perda de heterozigose para os cromossomos 16q e 1p, e para estádios I e II (Grundy et al., 2005). Ganho do cromossomo 1p também tem sido correlacionado a um pior prognóstico em pacientes com TW e HF (Hing et al., 2001; Yong-Jie et al., 2002).

Vários autores avaliaram, por meio de citometria de fluxo, o conteúdo celular de DNA no tecido tumoral dos TW, correlacionando-o com o prognóstico, sendo que a maioria deles observou uma correlação de hiperdiploidia e aneuploidia com anaplasia, estádios mais avançados e evolução desfavorável (Douglass et al., 1986; Rainwater et al. 1987; Kumar et al., 1989; Layfield, 1989; Iyer et al., 1999).

Outros estudos menos extensos focalizaram alterações moleculares mais específicas, correlacionando-as a um prognóstico adverso no TW, tais como, entre outras, o aumento da expressão do gene da transcriptase reversa associada à telomerase (*TERT*), o aumento da expressão do receptor de tirosinoquinase (*NTRK2*), a expressão gênica identificada por técnicas de

*microarray* (Dome et al., 1999; Eggert et al., 2001; Williams et al., 2004; Ghanem et al., 2005). Além disso, estudos imunohistoquímicos têm demonstrado associação do aumento da expressão do antígeno de proliferação nuclear (PCNA) e da proteína associada à síntese de ácidos graxos (FAS), a uma pior evolução (Skotnicka-Klonowicz et al., 2002; Camassei et al., 2003). Outros estudos constataram uma associação de baixa expressão de proteínas associadas à E-caderina, e à proteína relacionada com o gene de múltipla resistência às drogas (MRP), a tumores indiferenciados ou metastáticos (Efferth et al., 2001a, 2001b; Alami et al., 2003). Similarmente, um pior prognóstico tem sido associado a um aumento da expressão protéica do *WT1* no componente blastematoso dos TW (Ghanem et al., 2001). Finalmente, Williams et al. (2004) estudando uma série de genes marcadores tumorais em TW de HF que recidivaram, através de técnicas moleculares *microarray*, demonstraram uma concordância entre o ganho cromossômico em 1q e a hiperexpressão gênica nesta região, que associaram a uma chance maior de recidiva.

### **A) GENE *TP53***

Desde sua identificação, em 1979, o gene de supressão do tumor *TP53* tem sido reconhecido como um dos mais importantes genes correlacionados ao câncer, suas mutações estando diretamente associadas à gênese ou progressão do tumor de inúmeras neoplasias malignas de adultos, principalmente as de cólon, mama, pulmão, esôfago, estômago, fígado e cérebro, correspondendo à alteração genética mais estudada nos tumores

malignos que acometem adultos (Levine et al., 1991; Batsakis e EL-Naggar, 1995). Inicialmente acreditava-se que o *TP53* possuísse atividade oncogênica, funcionando como um proto-oncogene. Em 1989, porém, foi demonstrado que essas propriedades oncogênicas decorriam de mutações desse gene (Baker et al., 1989; Finlay et al., 1989; Hinds et al., 1989). A proteína p53, membro da família das proteínas p53, p63 e p73, é a mais freqüentemente estudada e correlacionada ao desenvolvimento das neoplasias humanas, pois raramente ocorrem mutações nas proteínas p63 e p73 (Donehower et al., 1992).

O gene de supressão do tumor *TP53* compreende cerca de 20Kb de DNA e contém 11 exons (Chen et al., 1990; Chang et al., 1993), está localizado no braço curto do cromossomo 17, banda 17p13 (Donehover e Bradley, 1993), e dá origem a uma fosfoproteína nuclear de 393 aminoácidos e 53-kDa que age como fator de transcrição e regulador negativo do ciclo celular. A proteína p53 modula funções celulares como transcrição gênica, síntese de DNA, reparo no DNA, parada no ciclo celular, senescência e apoptose programada (Fridman e Lowe, 2003). Parece também estar associada à regulação da angiogênese, por meio da síntese de trombospondina-1 (*TSP-1*), supressor endógeno da angiogênese envolvido na regulação do fator de crescimento do endotélio vascular (*VEGF*), um mediador crítico da angiogênese em muitos cânceres que acometem o ser humano (Huang et al., 2002).

O gene *TP53*, na sua forma selvagem, age como um guardião do ciclo celular na transição G1/S. Na presença de lesão na estrutura do DNA, os níveis da proteína p53 aumentam, o que resulta na parada do ciclo celular em G1, que

impede que a célula lesada entre na fase S do ciclo celular a fim de possibilitar o reparo do DNA por meio da ativação de genes que promovam a reparação dessas anormalidades. Além disso, sua principal função antiproliferativa parece ser a de induzir a morte celular programada (apoptose) na presença de um insulto genotóxico, através da superexpressão de sua proteína em G1, o que ocorre tanto no ciclo celular normal quanto em resposta a agentes citotóxicos. (Clarke et al., 1993; Lowe et al., 1993; Picksley e Lane, 1994; Lahoti et al., 1996).

Cabe ressaltar que alterações no gene *TP53* concorrem para a formação de uma proteína p53 anormal, mutante, cuja vida média é maior que a da proteína selvagem e que, além de perder sua função normal, ganha nova função, a de inativar a proteína selvagem. Esta proteína p53 mutante também parece estar relacionada à ativação do *MDR1* (*multidrug resistant gene*), gene responsável pela resistência de determinados tumores a inúmeros agentes quimioterápicos (Chin et al., 1992; Dittmer et al., 1993). Portanto, as mutações do *TP53* estão associadas ao aumento da proliferação celular do tumor e a uma resistência maior ao tratamento quimioterápico.

A inativação do gene *TP53* pode ocorrer por alterações estruturais, como mutações ou deleções, ou por sua ligação a proteínas virais (Picksley e Lane, 1994). As alterações estruturais são, no entanto, as formas de inativação mais freqüentemente associadas à carcinogênese humana, o gene *TP53* estando mutado ou sofrendo deleção em 50% das neoplasias humanas (Perry e Levine, 1993). Tais alterações podem levar à síntese de uma proteína ineficaz, com as

mutações produzindo alterações seqüenciais na proteína p53, tornando-a estável e alterando sua função transcricional (Harris, 1993), enquanto que as deleções, na maioria das vezes, impedem a transcrição genética, não havendo produção da proteína p53 (Donehover e Bradley, 1993). Apesar da comprovada associação das mutações do gene *TP53* com a gênese do tumor em inúmeras neoplasias malignas que acometem adultos, elas são geralmente incomuns em tumores pediátricos, incidindo raramente em tumores como hepatoblastoma, rabdomiossarcoma, sarcoma de Ewing, casos em que sua relação com um pior prognóstico precisa ser melhor definida (Kusafuka et al., 1997).

Embora essas mutações do gene *TP53* raramente sejam encontradas no TW, estudos têm demonstrado positividade para este gene em 60% das células tumorais anaplásicas dos TW de histologia desfavorável. Em verdade, a alta incidência de hiperexpressão do *TP53* nas células anaplásicas alimentou a controvérsia se é a célula anaplásica que adquire a mutação do *TP53*, ou se as alterações do *TP53* é que são as responsáveis pelo desenvolvimento dos componentes anaplásicos (D'Angelo et al., 2003).

A detecção do *TP53* mutante pode ser feita pela análise molecular (detecção da seqüência de DNA) ou por estudos imunistoquímicos, técnica que permite avaliar a expressão do gene *TP53* através da proteína p53 presente na célula (Malkin et al., 1994; Cheah et al., 1996; Lahoti et al., 1996; Kusafuka et al., 1997; Govender et al., 1998; Defavery et al., 2000). A detecção imunistoquímica da proteína p53 está baseada na premissa de que a p53 tipo selvagem está presente no núcleo das células em pequena quantidade e que,

devido a sua vida média reduzida, que varia de 5 a 30 minutos, não é normalmente detectada. Quando, porém, ocorre mutação do *TP53*, vários fatores que regulam sua expressão são acionados, as proteínas mutantes ficam mais estáveis, apresentando sua meia-vida aumentada em até três horas, o que resulta em níveis detectáveis por métodos imunistoquímicos (Cheah et al., 1996). Apesar de a detecção imunistoquímica da proteína p53 não ser um método perfeito nem espelhe de modo preciso as mutações do *TP53* no TW, e de existir uma documentada correlação entre a detecção da p53 por imunistoquímica e a detecção das mutações através da seqüência de DNA, sua positividade, muito mais freqüentemente encontrada em estudos imunistoquímicos, demonstra que outros mecanismos, como, por exemplo, a ligação com outras proteínas, possam também contribuir para sua expressão no TW (Batsakis e El-Naggar, 1995; Beniers, 2001).

À semelhança do que tem sido descrito sobre os estudos que correlacionam perda da heterozigose e sobrevida, tem sido também observada uma correlação entre sobrevida e expressão do *TP53* nas crianças portadoras de TW, demonstrando, por métodos imunistoquímicos, que a positividade da p53 nos TW, embora rara, aparece nos pacientes que apresentam anaplasia, que desenvolvem mais freqüentemente recaídas e que evoluem na maioria das vezes de forma desfavorável, inclusive, para óbito (Cheah et al., 1996; Lahoti et al., 1996; Kusafuka et al., 1997; Govender et al., 1998; Beniers et al., 2001; Hill et al., 2003; Peres et al., 2004).



Conquanto não haja dúvida sobre a relação direta entre mutações do *TP53* e a presença de histologia desfavorável (anaplasia), sua correlação com os estádios clínicos e seu papel na progressão do tumor e na recaída dos pacientes com TW de HF permanece incerto (Sredni et al., 2001). Alguns estudos correlacionam sua presença a estádios mais avançados, e poucos trabalhos associam-no à histologia favorável de comportamento agressivo, ou sugerem que quando exista positividade do p53 nos componentes favoráveis, deva-se buscar a anaplasia (Lahoti et al., 1996; Govender et al., 1998; Teixeira, 2000; Sredni et al., 2001; Huang et al., 2002). Muitos estudos, porém, demonstram que a positividade da p53 nos TW de HF não está associada ao estágio por ocasião do diagnóstico ou a um comportamento biológico mais agressivo (El Bahtimi et al., 1996; Beniers et al., 2001; D'Angelo et al., 2003).

## **B. GLICOPROTEÍNA-P (gpP)**

Avanços no tratamento quimioterápico nestas últimas três décadas melhoraram significativamente a sobrevida dos pacientes portadores de câncer, fato este observado de modo mais evidente nas neoplasias malignas pediátricas. Porém, o sucesso definitivo ainda é limitado devido à resistência das células neoplásicas às drogas, que pode ser observada já no início do tratamento ou, mais comumente, desenvolvida durante seu curso, parecendo decorrer da seleção e proliferação de uma subpopulação de células com resistência às drogas (Chan et al., 1988).

Entre os inúmeros mecanismos de resistência às drogas já estudados, o fenótipo associado à hiperexpressão do gene de múltipla resistência às drogas (*MDR1*) e o seu produto, a glicoproteína-P (gpP), são, certamente, os mais descritos para um grande número de neoplasias malignas (Beck et al., 1996).

Descrita pela primeira vez em 1975, a gpP é uma glicoproteína de membrana com 1.280 aminoácidos e peso de 170 Kda, que apresenta um domínio extracelular e uma porção intracelular denominada glicoproteína P 170, onde “p” significa permeabilidade (Juliano, 1976). A gpP age como uma bomba de efluxo de drogas ATP-dependente, reduzindo a quantidade intracelular de quimioterápicos como as epipodofilotoxinas, os alcalóides da vinca, a actinomicina D e as antraciclinas, estes três últimos grupos de drogas sendo utilizados classicamente no tratamento do TW (Sola et al., 1992).

Basicamente, os quimioterápicos funcionam como substratos para a gpP, entrando na célula por difusão passiva. A seguir, ligam-se à gpP e, por transporte ativo, são eliminados para o meio extracelular. A gpP também reduz o afluxo dessas drogas à célula, sendo que os dois mecanismos somados têm como resultado a diminuição da concentração celular dos quimioterápicos, cuja consequência é uma menor atividade anti-neoplásica (Licht et al., 1996).

Na década de 1980, Gros et al. (1986) clonaram e caracterizaram o gene que codifica a gpP, denominado gene de múltipla resistência às drogas (*MDR1*), localizado no braço longo do cromossomo 7 na banda q21.1 (Callen, 1987). O gene *MDR1* pertence à família *MDR*, altamente conservadora através da escala filogenética. Só o gene *MDR1*, através da codificação da gpP, parece

estar associado à resistência às drogas no ser humano, enquanto os genes *MDR2* e *MDR3* funcionam como transportadores para fosfolípedes nas células hepáticas (Licht et al., 1996).

Os achados de níveis baixos de expressão de gpP em linhagens celulares apresentando moderada resistência a drogas, ou a presença de níveis baixos de resistência a drogas em outras linhagens celulares que evidenciam um aumento da expressão da gpP, sem o aumento do número de cópias, sugerem que a expressão desta proteína pode estar sendo regulada nos níveis de transcrição, tradução e pós-tradução (Shen et al., 1986; Juranka et al., 1989).

Entretanto, nem todos os tumores resistentes a agentes quimioterápicos apresentam hiperexpressão da gpP, e a refratariedade à quimioterapia pode ser explicada somente em parte por essa glicoproteína, sugerindo que outros mecanismos podem estar associados à aquisição de múltipla resistência às drogas, como o gene da proteína relacionada à múltipla resistência às drogas (MRP), a glutathione peroxidase, e níveis intracelulares de inibidores de topoisomerase II (Grant et al., 1994; Meister, 1994; Giaccone et al., 1992).

A gpP está presente em tecidos normais, expressando-se em nível mais acentuado no córtex da supra-renal e, de maneira menos intensa, nos rins, fígado, pulmões, pâncreas, jejuno, cólon e placenta (Fojo et al., 1987). O aumento da expressão do *MDR1* e da glicoproteína-p foi descrito em uma variedade de tumores de adultos, como o carcinoma ovariano, carcinoma de mama, sarcomas, leucemias, feocromocitoma e carcinoma de cólon (Chan et

al., 1988). Nas crianças, esse fenômeno foi descrito principalmente em neuroblastomas, osteossarcomas, rabdomiossarcomas e retinoblastomas, nos quais o aumento dos níveis de gpP parece estar associado a uma chance maior de recidiva e, conseqüentemente, a pior prognóstico (Chan et al., 1990; Bates et al., 1991; Serra et al., 2003). Mas, ao contrário do que acontece em tumores como o neuroblastoma e o osteossarcoma, sobre os quais existem vários trabalhos demonstrando uma relação entre aumentos dos níveis de gpP e um pior prognóstico, poucos são os trabalhos na literatura que investigam o real papel da gpP no TW (Sola et al., 2002).

Apesar de o TW ser altamente sensível ao tratamento quimioterápico, em 20% dos casos o tratamento não consegue controlar a progressão da doença e o óbito acontece em 50% dos casos recidivados (Campbell et al., 2004). Uma vez que o TW origina-se no rim que expressa normalmente a gpP, a resistência às drogas mediadas por essa proteína poderia representar um enorme obstáculo para o sucesso do tratamento nos casos de doença agressiva (Camassei et al., 2002).

O'Meara et al. (1992), estudando 12 TW não encontraram positividade para a gpP. Sola et al. (1994), encontraram positividade para a gpP, por ocasião do diagnóstico, em 12 TW estudados, sendo oito com HF e quatro anaplásicos. Porém, a intensidade da positividade foi maior nos quatro pacientes com HF que recidivaram, em comparação com os quatro que não recidivaram, portanto, com diferença estatisticamente significativa. Já Oda et al. (1996), estudando 11 nefroblastomas, encontraram positividade em sete, tanto

pela gpP quanto pelo PCR, não tendo observado, porém, correlação com maior recidiva ou pior prognóstico. Finalmente, Camassei et al. (2002), estudando 93 pacientes com TW, grande número deles tendo recebido quimioterapia pré-operatória, constataram que a grande maioria apresentava positividade para gpP, não tendo, contudo, encontrado associação com um pior prognóstico, exceto nos casos em que esta positividade se deu no endotélio capilar dos vasos tumorais.

### 3. OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são os seguintes:

1. Avaliar, nos pacientes portadores de tumor de Wilms estádios I e II, as variáveis idade por ocasião do diagnóstico, sexo, peso e estadiamento do tumor, e correlacioná-las com a ocorrência de recidiva do tumor e óbito.
2. Avaliar também, nos pacientes portadores de tumor de Wilms estágio I, as variáveis histopatológicas de microestadiamento, como a invasão da cápsula renal, do seio renal e de vasos intra-renais, e a presença de pseudocápsula inflamatória.
3. Correlacionar as variáveis biológicas, detecção imunohistoquímica do p53 e da gpP, com a ocorrência de recidiva do tumor.
4. Verificar, em todos os pacientes, a influência das variáveis idade por ocasião do diagnóstico, sexo, estágio e peso do tumor, na sobrevida livre de doença e na sobrevida global.

## **4. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

### **4.1 CASUÍSTICA**

Selecionamos, para este nosso estudo, 122 crianças tratadas por Tumor de Wilms (TW) nos estádios I e II e com histologia favorável (HF), que apresentaram ou não recidiva. Desse total, 69 (56,5%) casos foram diagnosticados no Departamento de Pediatria do Hospital do Câncer durante o período de julho de 1976 a maio de 1999, e 53 (43,5 %) casos, na Unidade de Oncologia Pediátrica do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICR-HC-FMUSP), no período de março de 1982 a fevereiro de 2001. Foram incluídos somente os casos de crianças com TW e HF classificadas como estágio I e II que não haviam recebido quimioterapia pré-operatória e foram tratadas nos referidos hospitais de acordo com protocolos utilizados nos correspondentes períodos de estudo (os protocolos utilizados na Unidade de Oncologia Pediátrica para tratamento do TW no Instituto da Criança, e os protocolos I, II e III do GBTTW) os quais continham em comum a associação terapêutica clássica de vincristina e actinomicina-D.

O tratamento quimioterápico foi instituído de acordo com recomendações e conclusões do GCBTTW, obedecendo às modificações de cada um dos três protocolos instituídos no período de 1986 a 1992, como mostram as Figuras 1, 2 e 3. As modificações básicas efetuadas, que podem ser observadas nos protocolos I e II, decorreram da constatação, no primeiro protocolo quimioterápico, da superioridade do regime no qual a actinomicina D foi usada em dose única, em comparação com o regime em que foi ministrada em doses fracionadas para todos os estádios, e ainda, da não necessidade de 15 meses de tratamento quimioterápico para pacientes em estágio II (HF).

A única modificação do terceiro protocolo em relação ao segundo, foi a de voltar a tratar os TW em estágio I (HF) com quimioterapia e durante sete semanas, tratamento igual ao do estágio II, a fim de evitar um maior número de recidivas em pacientes estágio I, conforme o observado no tratamento abrangente de apenas quatro meses (De Camargo, 1996).

Por outro lado, os dois principais protocolos utilizados pela Unidade de Oncologia Pediátrica do ICR-HC-FMUSP, têm em comum também a associação de vincristina e actinomicina, sendo que, para pacientes estágio I, é ministrada apenas uma dose a mais de vincristina e actinomicina –D, conforme o Protocolo TW-V-97. Já para o estágio II, as principais diferenças são: inclusão de duas doses adicionais de vincristina e actinomicina-D, e supressão de radioterapia abdominal para os pacientes tratados de acordo com o Protocolo TW-V-97 (Figuras 4, 5, 6 e 7).



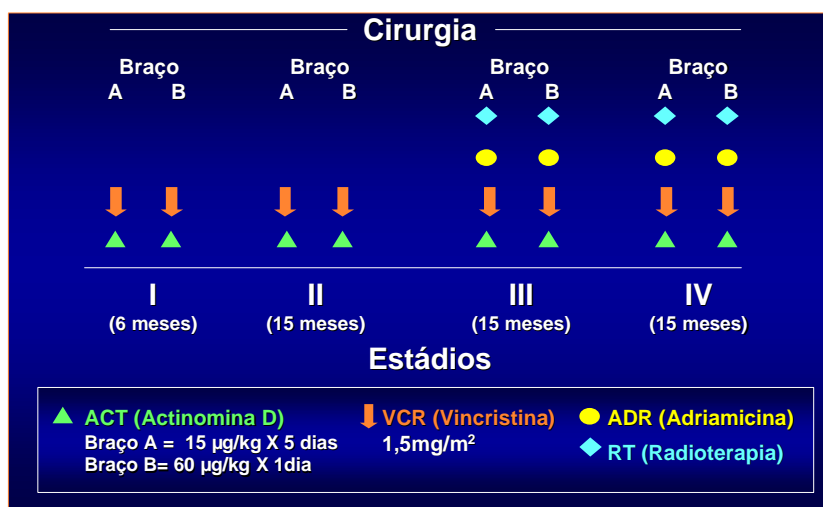


Figura 1. Protocolo I do GCBTTW (1986-1988).

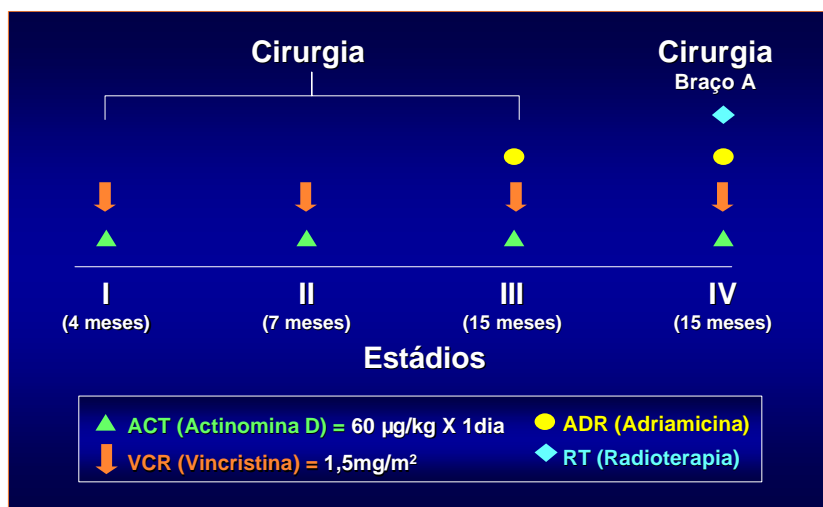


Figura 2. Protocolo III do GCBTTW (1989–1992).

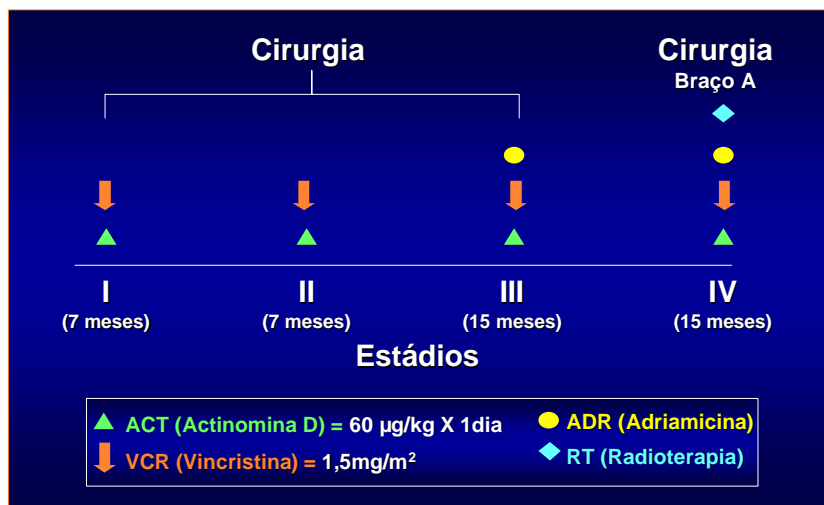


Figura 3. Protocolo III do GCBTTW (1992–1994).

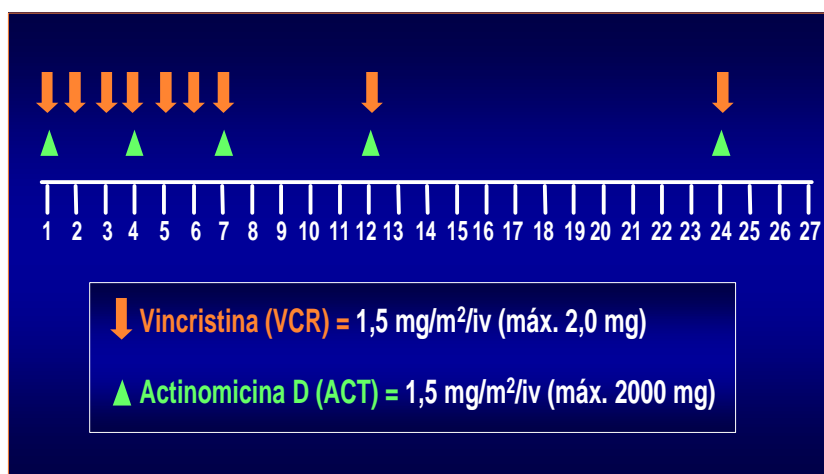


Figura 4. Tratamento para - E-I, TW-85, ICr-HC-FMUSP.

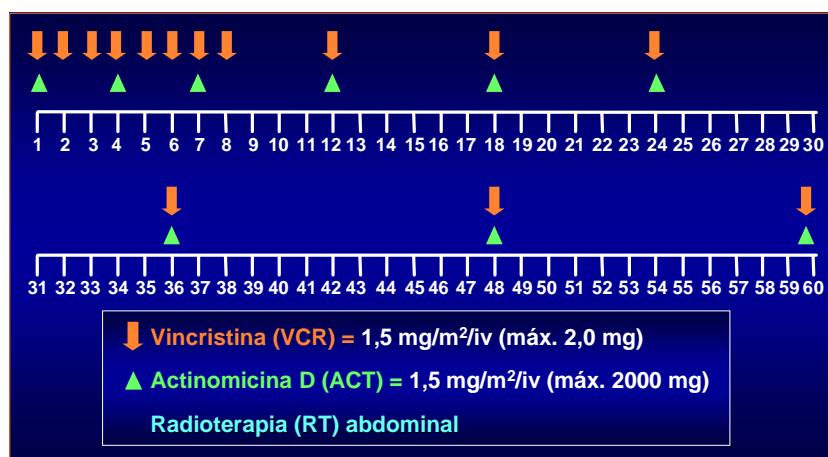


Figura 5. Tratamento para - E-II, TW-85, ICr-HC-FMUSP.

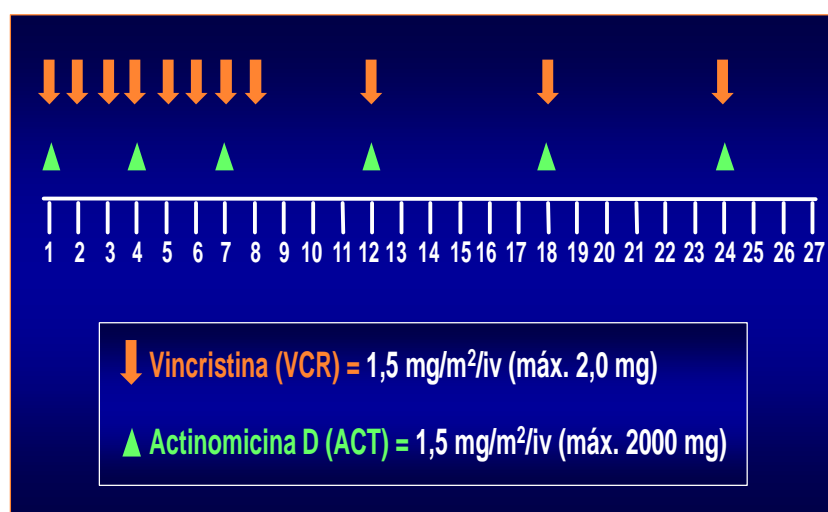


Figura 6. Tratamento para - E-I, TW-V97, ICr-HC-FMUSP.

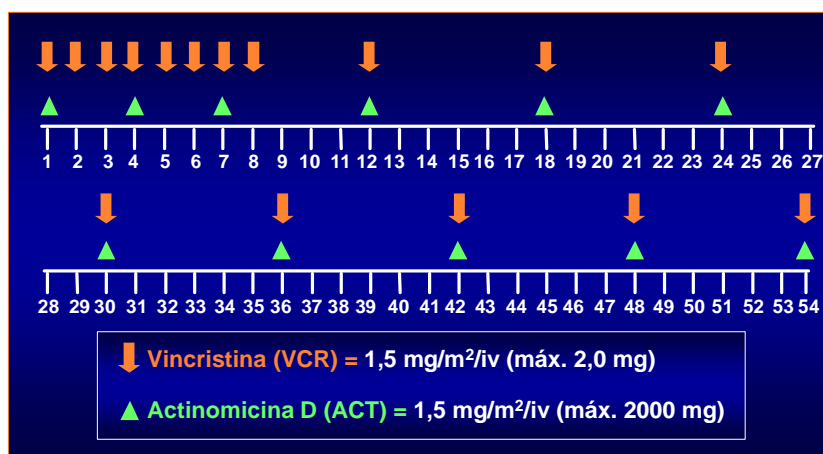


Figura 7. Tratamento para - E-I, TW-97, ICr-HC-FMUSP.

O estadiamento que utilizamos foi o proposto pelo NWTS-2 (D'Angio et al., 1981). Os pacientes foram avaliados quanto à idade por ocasião do diagnóstico nos grupos de idade (menor de 24 meses, igual ou maior que 24 e menor que 48 meses, igual ou maior que 48 e menor que 60 meses, e igual ou maior que 60 meses), quanto ao sexo (masculino ou feminino), à lateralidade do tumor (esquerdo ou direito), ao tipo histológico (componente histológico blastematoso, mesenquimal, epitelial, misto) e ao peso tumoral (menor que 550 g e igual ou maior que 550 g). Todos os dados estudados foram obtidos pelo levantamento e revisão dos correspondentes prontuários médicos e relatórios anatomopatológicos daquelas duas instituições.

Os fatores biológicos foram determinados mediante exames imunohistoquímicos efetuados no material tumoral em blocos anatomopatológicos para a detecção da proteína p53 mutante e da glicoproteína-p gpP em 40 casos. Esses exames foram realizados no Setor

de Imunoistoquímica do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Acompanhamos pessoalmente a revisão dos cortes efetuados por um médico patologista que avaliou os parâmetros histológicos sem conhecer os dados referentes às evoluções clínicas correspondentes. Foram utilizados os critérios do *NWTS* para as definições do tipo histológico (Faria et al., 1996). Nos casos duvidosos, uma segunda avaliação dos correspondentes blocos foi efetuada por outro patologista. Vinte e oito tumores de pacientes, classificados como estágio I, foram avaliados segundo os critérios de Weeks et al. (1987) quanto à presença das seguintes variáveis de microestadiamento: invasão da cápsula renal, do seio renal, dos vasos intra-renais e da presença da pseudocápsula inflamatória.

A pesquisa foi aprovada pelas comissões de ética do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e do Hospital do Câncer.

#### **4.2 MÉTODOS IMUNOISTOQUÍMICOS PARA DETECÇÃO DA p53 DA gpP**

Blocos de parafina de cada amostra tumoral foram fixados em solução de formol a 10%, para avaliação imunoistoquímica. Na medida do possível, foram escolhidos blocos que continham tecido tumoral circundado por tecido renal normal. De cada bloco foram obtidos dois cortes consecutivos, cada um com 5 µm de espessura.

As lâminas foram desparafinizadas com xilol aquecido a 60 ° C durante 15 minutos e, a seguir, em temperatura ambiente durante o mesmo período de tempo. Os cortes histológicos foram então hidratados numa seqüência de lavados de etanol em concentrações decrescentes de 100, 92 e 70%, durante 30 segundos em cada imersão, e, finalmente, mergulhados em água destilada.

A seguir foi feita a recuperação antigênica pelo calor úmido (panela de pressão a 100 °C), utilizando solução tampão de citrato de sódio 10mMol, pH 6, durante três minutos e meio para o p53, e cinco minutos para gpP. Depois, os cortes foram resfriados em temperatura ambiente e lavados em água corrente. O bloqueio da peroxidase endógena foi realizado com peróxido de hidrogênio a 0,3% (diluído em metanol), em três banhos de cinco minutos cada, seguidos de lavado em água destilada e PBS.

Após o equilíbrio, os cortes foram incubados com anticorpo monoclonal primário anti-p53 (DO7: DAKO – título 1: 5.000) para a p53, e com anticorpo monoclonal anti-glicoproteína-P (NC-JSB1: NOVOCASTRA – título 1: 50) para a gpP, durante 60 minutos em temperatura ambiente e lavados em PBS. O procedimento teve seqüência com incubação em Kit DAKO LSAB (+), Mouse/Rabbit, por 12 minutos, finalizando com lavado em solução PBS. A visibilidade foi obtida com o substrato de cromógeno 3-3' diaminobenzidina (DAB) (0,06g de DAB e 1ml de peróxido de hidrogênio a 20 volumes) durante três a cinco minutos a 37°C, ao abrigo da luz. Após o lavado em água destilada,

pôde ser observada, ao microscópio, a formação de precipitado castanho escuro.

A seguir, os cortes foram contracorados com hematoxilina de Harris durante um minuto, seguindo-se imersão em água amoniacal e, subseqüentemente, em água destilada. Em seguida, foi realizada desidratação com etanol em concentrações crescentes de 70, 92 e 100%, mergulhando-se os cortes durante um minuto por três vezes. O procedimento foi ultimado com a diafanização em três banhos de xilol durante um minuto, finalizando-se com a correspondente montagem entre lâmina e lamínula com resina.

As imunoexpressões da p53 e da gpP foram avaliadas pela análise semi-quantitativa microscópica sob aumento de 400x. Para a proteína p53, as reações foram consideradas positivas somente quando os núcleos apresentaram coloração acastanhada. Controles negativos e positivos foram utilizados para garantir a qualidade da reação. Para cada tumor, a proporção de células exibindo positividade nuclear foi quantificada em 0%, 1-5%, 5-25% e mais de 25%. Para a gpP, as reações foram consideradas positivas somente quando os núcleos, a membrana celular ou o endotélio dos capilares intra-tumorais apresentaram coloração acastanhada. Para a avaliação da expressão da proteína gpP foram usadas as seguintes pontuações: (a) porcentagem de células positivas: 0: 0% de células positivas; 1: menos que 25% de células positivas; 2: 26 a 50% de positividade; 3: mais do que 50% de células positivas; (b) intensidade da coloração: 0: negativa; 1: fraca; 2: intermediária; 3: forte. A

somatória de a+b pode alcançar seis (6) como pontuação máxima. Uma pontuação total de 0 a 2 foi classificada como baixa, e, entre 3 e 6, como alta (Volm et al., 1995).

### **4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

A comparação das médias das variáveis peso e idade nos grupos de recidiva e de não recidiva foi realizada por meio do teste t de Student para duas amostras independentes, após o teste de igualdade de variâncias de Levine (Bussab, Morretin, 2002).

Foi estudada a associação entre ocorrência de recidiva e as variáveis peso, idade, sexo, positividade para a p53 e para a gpP, categorizadas por meio do teste de associação de qui-quadrado, sendo que, quando a frequência esperada foi menor que 5, utilizamos o teste exato de Fisher (Agresti, 2002).

Caso algum fator de prognóstico apresentasse significado estatístico, para confirmar sua expressividade em comparação com as outras variáveis de prognóstico, utilizou-se o modelo de regressão de Cox para análise multivariada (Cox, 1972).

Empregamos o programa estatístico SPSS 11 para a realização dos testes, tendo sido adotado o nível de significância de 5% para a conclusão de todos os testes.

A resposta à terapia foi considerada conforme os critérios da Organização Mundial de Saúde. A curva de sobrevida global dos pacientes foi



calculada desde o dia da ressecção do tumor até a data do óbito (ocorrido por qualquer causa) ou, então, até o mês da última avaliação no seguimento do paciente. A sobrevida livre de doença foi calculada a partir do desaparecimento macroscópico do tumor até a ocorrência da recidiva (Kaplan, Meier, 1958). Na comparação das variáveis de prognóstico idade por ocasião do diagnóstico e peso do tumor, foi utilizado o estimador de Kaplan-Meier para a obtenção das curvas de sobrevida global e de sobrevida livre de doença. Para comparar as curvas de sobrevivência nos dois grupos definidos pelas variáveis de prognóstico, utilizaram-se testes diferentes: quando as curvas se cruzaram, foi utilizado o teste de Wilcoxon (Wonnacott e Wonnacott, 1990); quando não se cruzaram, utilizamos o teste de Log-rank (Mantel, 1967).

## 5. RESULTADOS

Nosso estudo abrangeu 122 crianças portadoras de tumor de Wilms (TW) unilateral, sem tratamento prévio. A faixa etária variou de três meses a 12 anos, com mediana de 31 meses, média de 39,2 meses e desvio padrão de  $\pm 28,7$  meses, sendo 71 (58,2%) pacientes do sexo feminino e 51 (41,8%) do sexo masculino (relação masculino: feminino = 0,72). A média de idade das meninas foi 38,3 meses e, dos meninos, 40,4 meses. Ainda, com relação à idade por ocasião do diagnóstico, em 43 (32,8%) casos, os pacientes tinham menos de 24 meses; em 47 (35,9%) casos, tinham entre 24 e 48 meses; em 15 (12,3%) casos, entre 48 e 60 meses e, em 26 (21,3%) casos, mais que 60 meses. Em 52 (42,6%) casos, o rim acometido foi o direito, e em 70 (57,4%), o esquerdo. A Tabela 2, Anexo A mostra os pacientes discriminados por idade, sexo, lateralidade, estágio, tipo histológico, peso do tumor, presença de recidiva e evolução durante o seguimento clínico.

Em relação às variáveis obtidas nos relatórios anatomopatológicos, o peso tumoral foi registrado em 104 (85,2%) dos 122 casos, com mediana de 492,5 g, média de 572,5 g e desvio padrão de  $\pm 334,7$  g. Em 11 (10,6%) casos, o tumor pesou mais de 1.000 g; em 36 (34,6%) casos, o peso variou entre 550 e 1.000 g; em 57 (54,8%) casos, foi menor que 550g.

Com relação ao tipo histológico, todos os casos pertenciam ao grupo de histologia favorável, sendo 23 casos (18,9%) com predomínio blastematoso, 24 (19,7%), com predomínio epitelial, 9 (7,4%), com predomínio mesenquimal, e

66 (54,1%), de tipo misto. Houve 74 (60,7%) casos classificados como estágio I, e 48 (39,3%), como estágio II.

Ocorreu recidiva tumoral em 19 (15,6%) pacientes, sendo em 10 (52,6%) de estágio I e em 9 (47,4%) de estágio II. Dos 10 pacientes estágio I, em 7 (70%) casos a recidiva ocorreu no pulmão, e em 3 (30%) casos, foi local. Deles, apenas 6 estão vivos, 3 com recidiva pulmonar e 3 com recidiva local. Quanto à recidiva, nos casos classificados como estágio II, ela foi pulmonar em 7 (77,8%) casos; em 1 (11,1%) caso, foi local e hepática, e em 1 (11,1%) caso, foi no pulmão e no fígado. Desses pacientes, 4 (44,4%) estão vivos, todos com recidiva pulmonar.

Foram efetuados exames imunoistoquímicos em 40 casos de TW unilateral, dos quais 28 casos em tumores não recidivados e 12 em tumores recidivados. Nestes 40 casos, 39 (97,5%) mostraram ausência de expressão da p53, somente 1 (2,5%) tendo mostrado positividade para o p53, este caso fazendo parte do grupo de tumores recidivados. Em relação à gpP, foram realizadas, inicialmente, análises qualitativas para a presença ou ausência da sua expressão. Em 18/40 (45%) casos houve imunoexpressão para a gpP, sendo que em 10/12 (83%) pacientes que apresentaram recidiva, os resultados foram positivos (6 na membrana do componente epitelial, 1 na membrana do componente blastematoso, 2 no endotélio capilar intra-tumoral e 1 na membrana dos componentes epitelias e blastematoso), enquanto 8/28 (28,5%) casos não recidivados foram positivos (7 na membrana do componente epitelial e 1 no componente blastematoso). Utilizando, então, o escore de pontuação

para averiguar a importância da positividade, observamos que não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos que apresentaram positividade para a gpP ( $p = 0,153$ ) (Tabela 3 e Figuras 8 e 9).

Tabela 3. Intensidade da marcação para a P-glicoproteína nos casos que apresentaram positividade nas células tumorais de acordo com a presença de recidiva ou não.

<b>Nº DO CASO</b>	<b>RECIDIVA</b>	<b>PONTUAÇÃO</b>
1	+	B
2	+	B
3	+	B
4	+	B
5	+	A
6	+	A
8	+	B
9	+	B
10	+	A
19	+	B
22	-	A
38	-	A
42	-	B
49	-	B
54	-	A
56	-	A
60	-	A
62	-	A

A: pontuação alta; B: pontuação baixa. A pontuação total (porcentagem + intensidade de células tumorais positivas) de 0 a 2 foi classificada como baixa, e a pontuação entre 3 e 6 foi considerada alta.

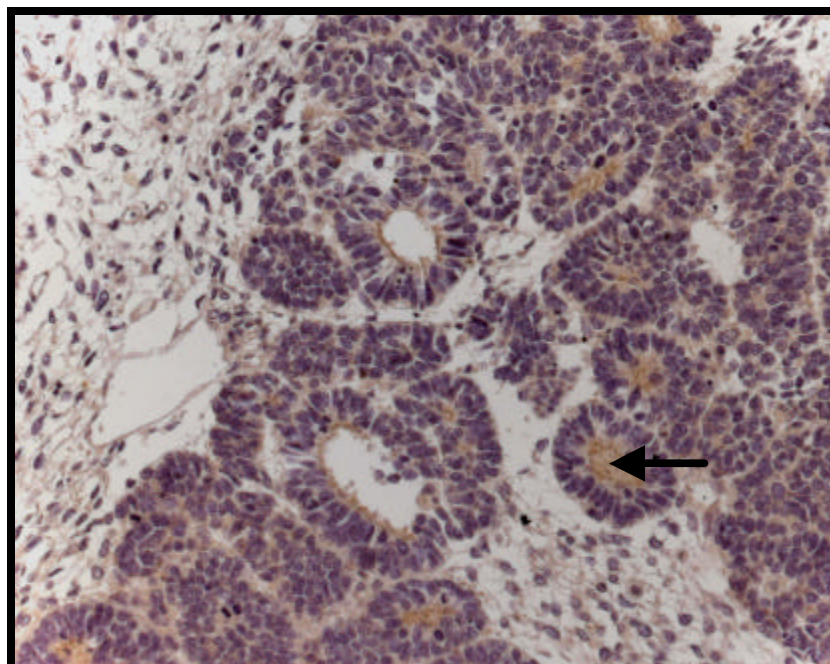


Figura 8. Fotomicrografia de corte histológico mostrando (seta) a glicoproteína-P positiva no componente epitelial do tumor (aumento de 400X).

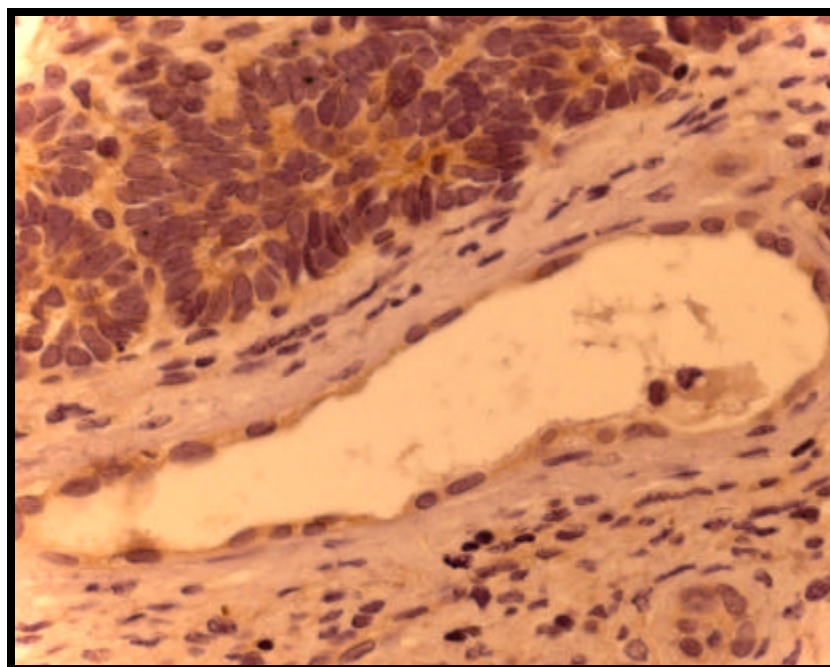


Figura 9. Fotomicrografia de corte histológico mostrando a glicoproteína-P positiva no endotélio tumoral (aumento de 400X).

Dos 40 casos estudados, 28 (70%), por serem classificados como estágio I, foram revisados quanto aos achados histopatológicos e avaliados quanto à presença ou não das variáveis de microestadiamento analisadas. Nos 24 (85,7%) casos que possibilitaram a avaliação de todas as variáveis de microestadiamento, foi verificada a presença de duas ou mais variáveis em 3/6 (50%) casos no grupo de pacientes recidivados (2 com pseudocápsula inflamatória e invasão da cápsula renal, e 1 com invasão de cápsula renal e do seio renal). Nenhum (0%) dos 18 casos não recidivados apresentava duas ou mais dessas variáveis, também nenhum caso tendo apresentado mais de uma variável (Tabela 4).



Tabela 4. Correlação entre o número de variáveis de microestadiamento e a presença de recidiva nos pacientes com TW com E-I estudados.

Nº DO CASO	RECIDIVA	PSEUDO CÁPSULA	INVASÃO DE CÁPSULA TUMORAL	INVASÃO DE VASOS INTRA-RENAIS	INVASÃO SEIO RENAL	TOTAL DE VARIÁVEIS PRESENTES
1	+	não	sim	não	sim	2
4	+	não	não	não	não	0
5	+	não	não	não	não	0
12	+	não	não	não	sim	1
16	+	sim	sim	não	não	2
19	+	sim	sim	não	não	2
23	-	não	sim	não	não	1
24	-	não	sim	não	não	1
25	-	não	não	não	não	0
29	-	não	não	não	não	0
33	-	não	sim	não	não	1
38	-	sim	não	não	não	1
39	-	não	não	não	não	0
41	-	não	sim	não	não	1
42	-	não	não	não	não	0
46	-	não	não	não	não	0
50	-	não	não	não	não	0
53	-	sim	não	não	não	1
54	-	não	não	não	sim	1
56	-	não	não	não	não	0
58	-	não	não	não	não	0
59	-	não	não	não	sim	1
62	-	não	não	não	não	0
63	-	não	sim	não	não	1

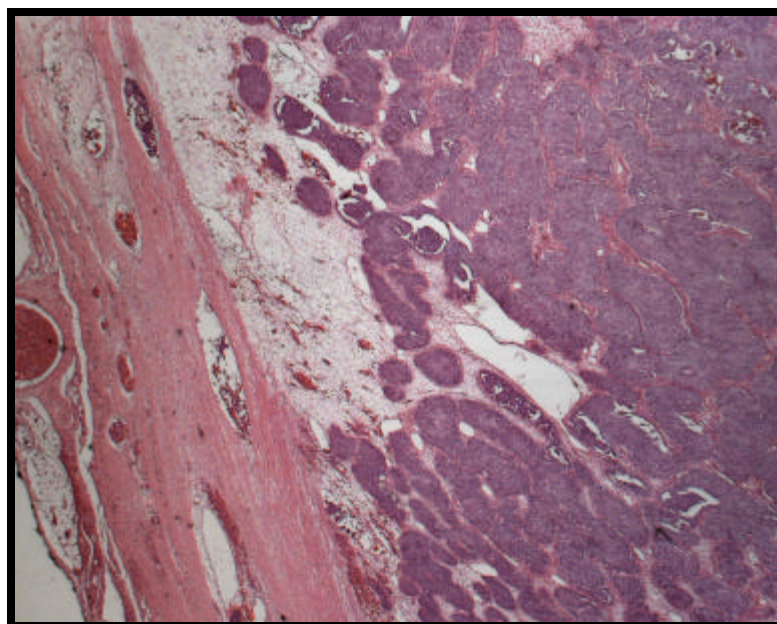


Figura 10. Fotomicrografia de corte histológico mostrando a presença de pseudo-cápsula inflamatória, aumento de 400X – HE.

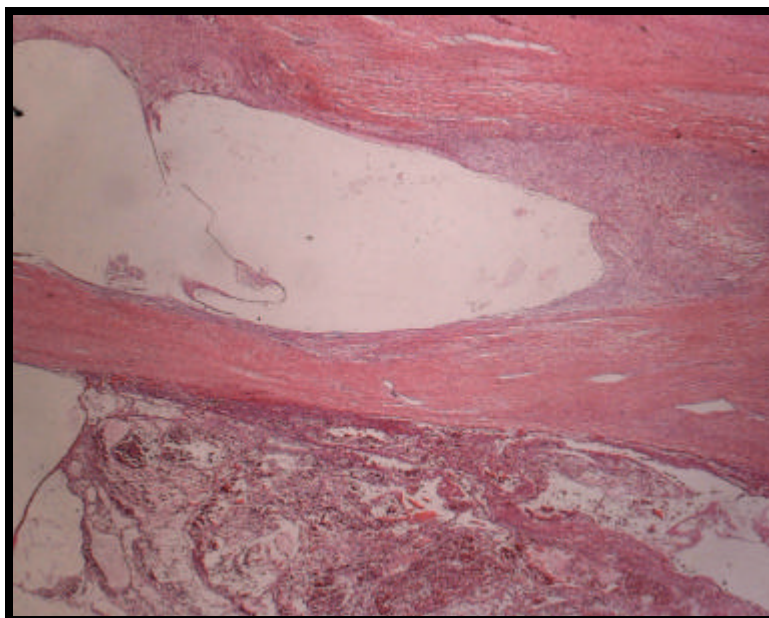


Figura 11. Fotomicrografia de corte histológico mostrando Invasão do seio renal, aumento de 400X – HE.

## **ANÁLISE COMPARATIVA DOS FATORES PROGNÓSTICOS PARA OS PACIENTES ESTUDADOS**

Inicialmente, analisamos todos os pacientes diagnosticados no Hospital do Câncer e no Instituto da Criança, e comparamos esses dois grupos quanto às variáveis idade por ocasião do diagnóstico, peso do tumor (utilizando o teste t de Student) e também as variáveis sexo e idade (utilizando o teste do qui-quadrado), para ver se a amostra populacional era homogênea. O não encontro de diferença estatisticamente significativa para esses grupos evidenciou a homogeneidade da amostra entre pacientes diagnosticados com TW nas duas Instituições durante o período em que transcorreu nosso estudo. Procedemos, então, a uma análise comparativa, na casuística estudada, dos fatores de prognóstico nos grupos que apresentaram recidiva ou não.

### **IDADE POR OCASIÃO DO DIAGNÓSTICO**

Utilizando o teste t de Student, foi comparada, inicialmente, a média da idade para todos os pacientes que compunham os grupos que apresentaram recidiva, com a dos que não recaíram, não tendo encontrado diferença estatisticamente significativa ( $p=0,428$ ). Todos os pacientes foram, então, divididos em seis subgrupos, de acordo com a idade por ocasião do diagnóstico: menos que 24 meses, igual ou mais que 24 meses, menos que 48 meses, igual ou mais que 48 meses, menos que 60 meses, e igual ou mais que 60 meses, nesses pacientes tendo sido avaliada, pelo teste do qui-quadrado, a ocorrência de associação ou não de recidiva. Quanto à ocorrência de recidiva,

não foi observada diferenças estatisticamente significativas em quaisquer desses grupos. Foi constatado que, tanto para pacientes cujo corte foi de 24 meses ( $p=0,839$ ), de 48 meses ( $p=0,393$ ) ou de 60 meses ( $p=0,562$ ), não houve diferença estatisticamente significativa.

### **PESO DO TUMOR**

O peso do tumor foi comparado, por meio do teste t de Student, em todos os pacientes que compunham os grupos que apresentaram recidiva com os que não a tiveram, tendo sido encontrada diferença estatisticamente significativa ( $p=0,001$ ). Utilizamos, então, o teste do qui-quadrado para estudar a associação entre recidiva ou não e o peso tumoral, em pacientes nos quais o este era menor que 550 g e naqueles em que era igual ou maior que 550 g, tendo, novamente sido observada diferença estatisticamente significante entre ambos os grupos ( $p=0,002$ ).

### **SEXO**

O teste do qui-quadrado foi utilizado para estudar uma associação entre recidiva ou não, em pacientes do sexo masculino e do feminino, não tendo sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre ambos os sexos ( $p=0,592$ ).

## **ESTÁDIO**

Utilizamos, mais uma vez, o teste do qui-quadrado para estudar a existência de associação entre recidiva ou não, em pacientes classificados como estádios I e II, também não tendo sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre ambos ( $p = 0,436$ ).

## **DETECÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO p 53**

Não houve associação entre presença ou não de recidiva e a imunopresença do p53, sendo que, em apenas um caso, que fazia parte do grupo recidivado, tal associação foi positiva para a p53.

## **DETECÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DO GLICOPROTEÍNA-P (gpP)**

Utilizando o teste do qui-quadrado, observamos a ocorrência de uma associação maior entre a imunopresença da gpP e a presença de recidiva (10/12 casos), em comparação com 7/28 dos casos presentes no grupo não recidivado, essa diferença tendo sido estatisticamente significativa ( $p=0,001$ ). Porém, quando foi analisada a expressão da proteína gpP pelo critério de pontuação utilizado, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na marcação deste anticorpo entre os dois grupos estudados ( $p=0,153$ ).

## **VARIÁVEIS DE MICROESTADIAMENTO.**

Utilizando o teste do qui-quadrado, observamos uma maior associação entre a presença de duas ou mais variáveis de microestadiamento nos pacientes que apresentaram recidiva (3/6; correspondendo a 50%), enquanto nenhum dos pacientes que não tiveram recidiva apresentaram mais de uma variável positiva, essa diferença tendo sido estatisticamente significativa ( $p=0,010$ ).

### **ANÁLISE COMPARATIVA DOS FATORES DE PROGNÓSTICO IDADE POR OCASIÃO DO DIAGNÓSTICO E PESO TUMORAL, SEXO E ESTÁDIO SEGUNDO A TÉCNICA DE KAPLAN-MEIER**

Os resultados das análises comparativas entre sobrevida global e sobrevida livre de recidiva, e a presença ou ausência das variáveis prognósticas idade por ocasião do diagnóstico e peso do tumor, foram obtidos com o emprego de análise univariada, e podem ser vistos nas figuras apresentadas a seguir.

#### **IDADE**

Comparando as idades por ocasião do diagnóstico  $<24$  meses,  $\geq 24$  e  $< 48$  meses,  $\geq 48$  e  $< 60$  meses e  $\geq$  de 60 meses, não encontramos diferença estatisticamente significativa para sobrevida global e sobrevida livre de recidiva, com  $p=0,2283$  e  $p=0,9096$ , respectivamente (Figuras 12 e 13).

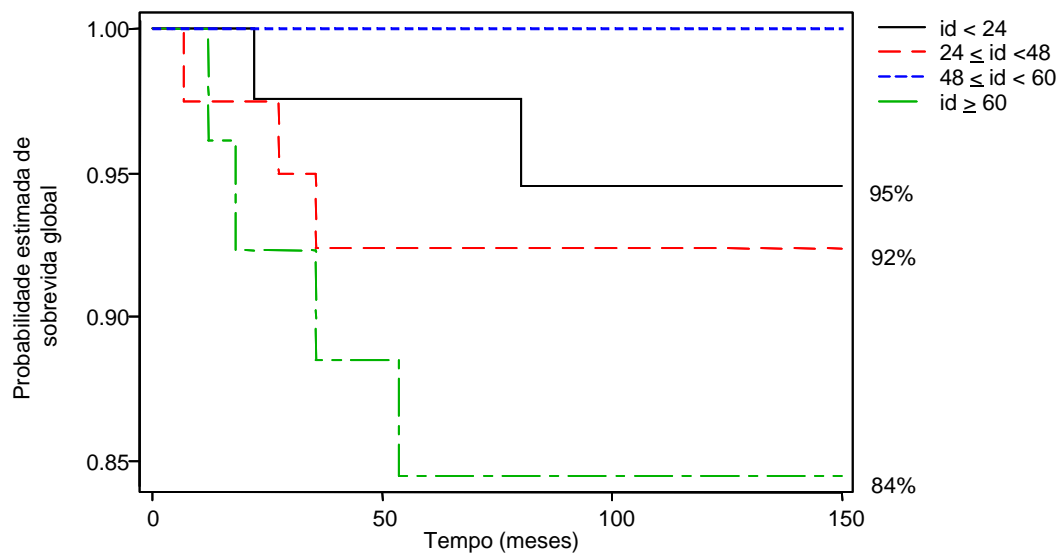


Figura 12. Sobrevida global comparativa para idade por ocasião do diagnóstico para 122 pacientes tratados por TW

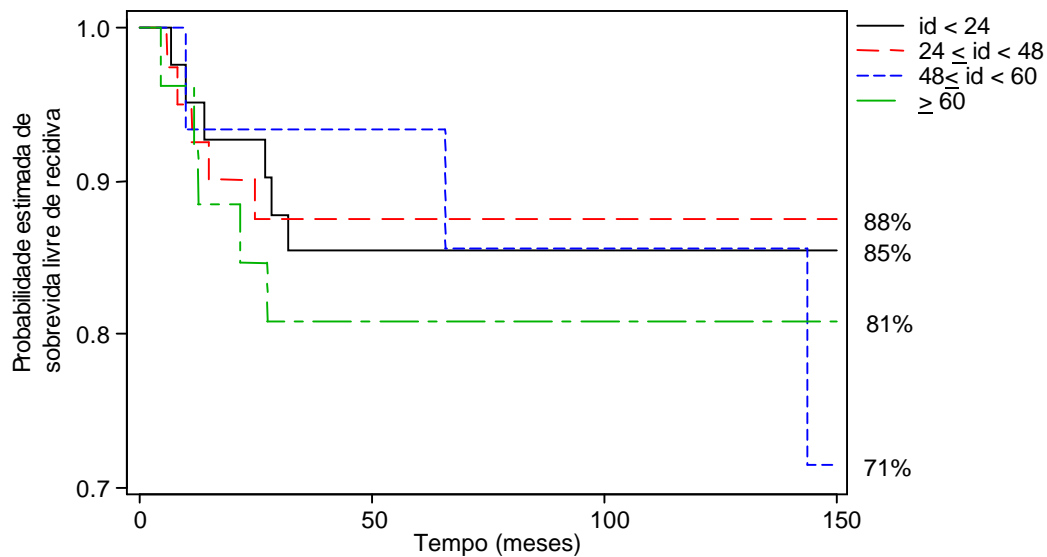


Figura 13. Sobrevida livre de recidiva comparativa para todas as idades por ocasião do diagnóstico para 122 pacientes tratados por TW

## PESO DO TUMOR

Os pacientes com tumor pesando menos que 550 g, apresentaram sobrevida global e sobrevida livre de recidiva maiores, em comparação com os do grupo com tumores pesando 550 g ou mais, essa diferença tendo sido estatisticamente significativa ( $p=0,0027$  e  $p=0,0017$ , respectivamente) (Figuras 14 e 15). É importante ressaltar a não ocorrência de óbito nos pacientes com peso tumoral inferior a 550 g.

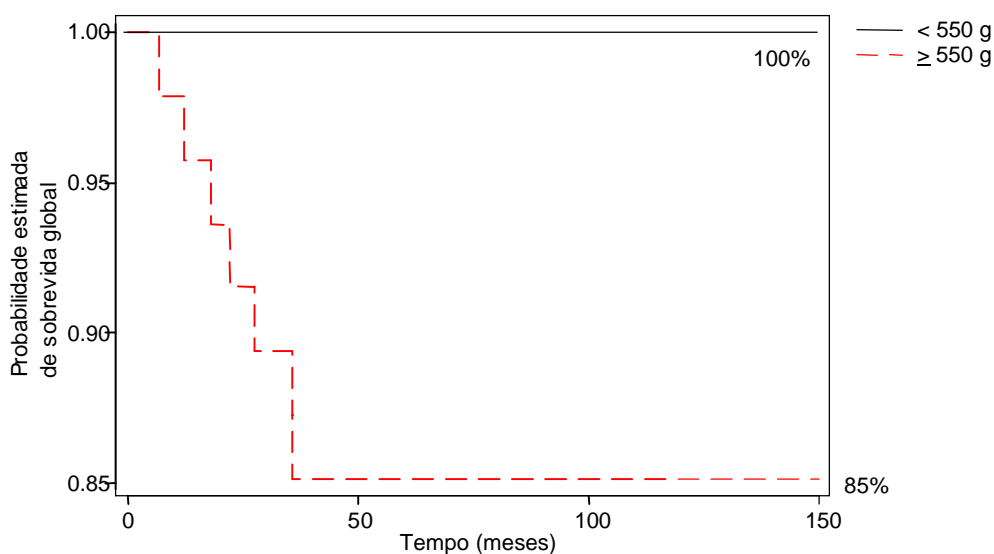


Figura 14. Sobrevida global para peso do tumor para 122 pacientes tratados por TW



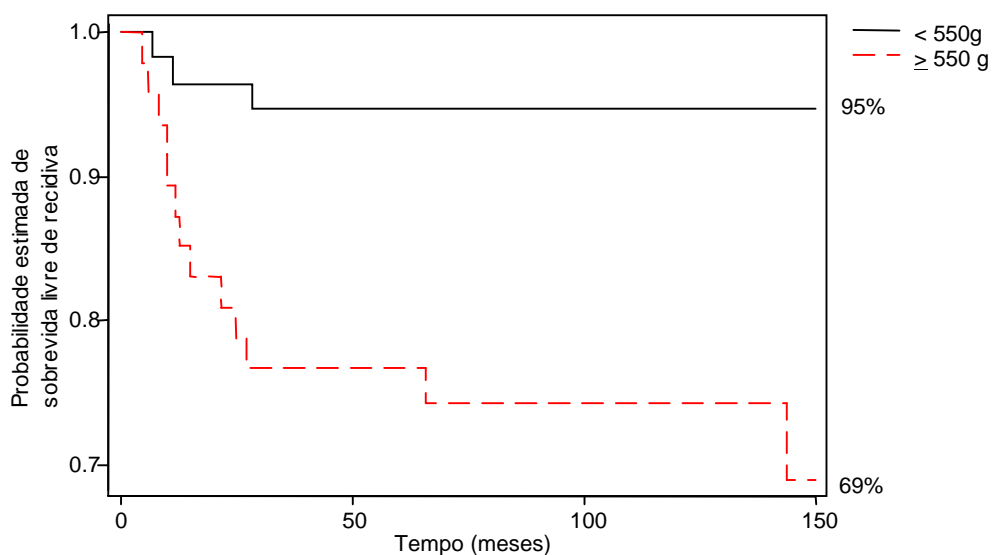


Figura 15. Sobrevida livre de recidiva para peso do tumor para 122 pacientes tratados por TW

## SEXO

Pacientes de sexo feminino apresentaram sobrevida global e sobrevida livre de recidiva maiores, comparativamente aos pacientes de sexo masculino, estas diferenças, contudo, não tendo sido estatisticamente significantes ( $p=0,3946$  e  $p=0,4904$ , respectivamente) (Figuras 16 e 17).

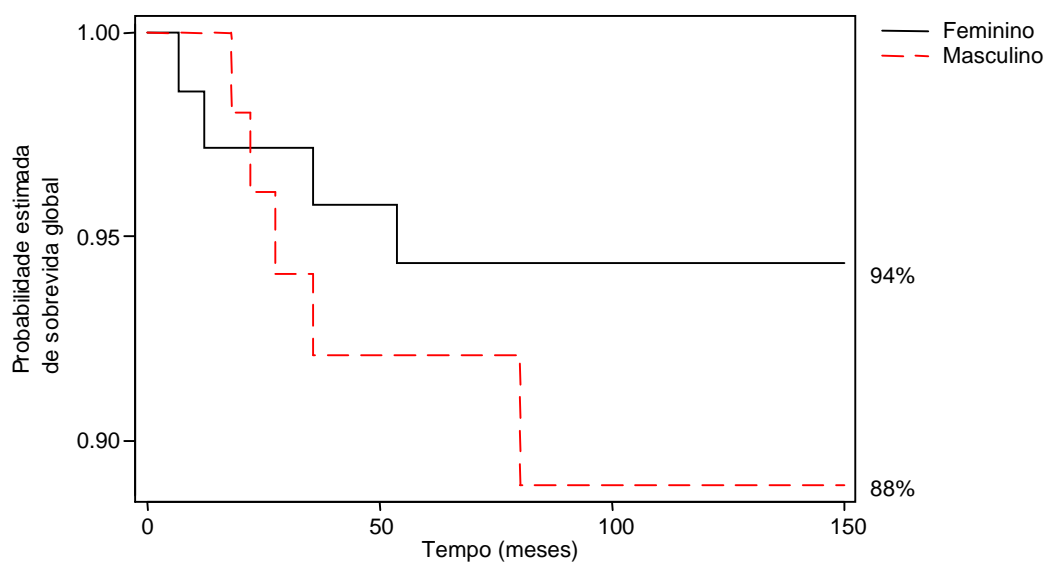


Figura 16. Sobrevida global de acordo com o sexo para 122 pacientes tratados por TW

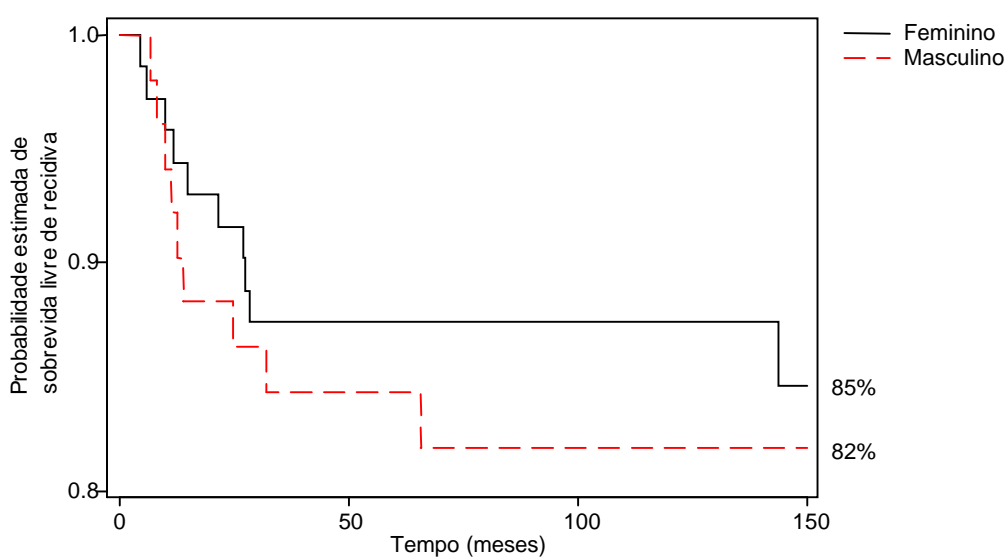


Figura 17. Sobrevida livre de recidiva de acordo com o sexo para 122 pacientes tratados por TW

## ESTÁDIO

Pacientes classificados como estágio I, apresentaram sobrevida global e sobrevida livre de recidiva maiores, comparativamente aos pacientes de estágio II, diferenças essas não estatisticamente significantes ( $p=0,4136$  e  $p=0,5619$ , respectivamente) (Figuras 18 e 19).

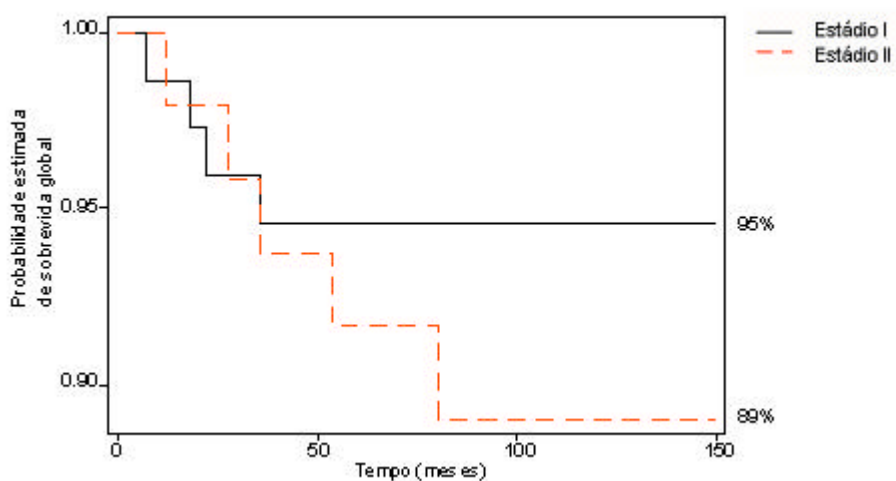


Figura 18. Sobrevida global de acordo com o estágio para 122 pacientes tratados por TW

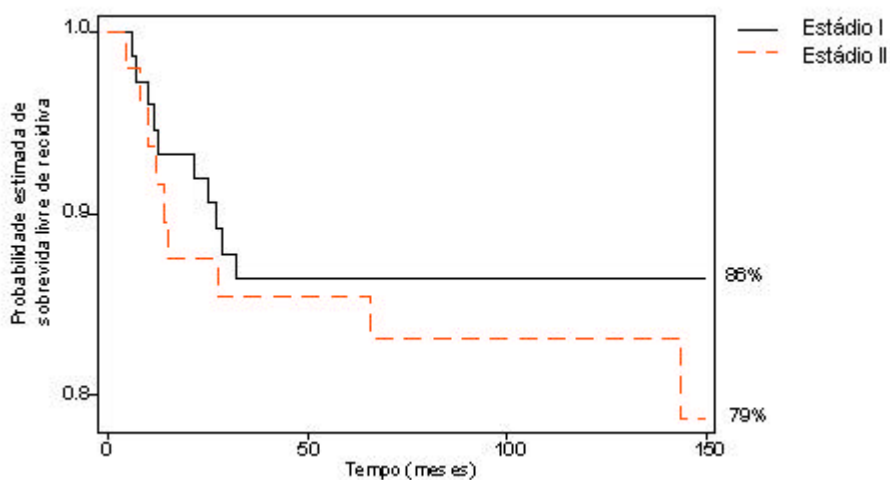


Figura 19. Sobrevida livre de recidiva de acordo com o estágio para 122 pacientes tratados por TW

### **ANÁLISE DOS FATORES DE PROGNÓSTICO ESTUDADOS PELO MODELOS DE RISCO PROPORCIONAL DE COX PARA RECIDIVA.**

Utilizando o modelo de regressão de Cox para suposição de riscos proporcionais, com a finalidade de avaliar o risco de recidiva e de óbito em função das variáveis sexo, estágio, peso e idade, observamos que o peso do tumor persistiu como sendo o único fator significativo com relação ao risco de recidiva ( $p=0,005$ ). Quando o peso do tumor é igual ou superior a 550 g, o risco de recidiva é seis vezes maior que quando o peso é menor que 550 g (Tabela 5).

Tabela 5. Risco de recidiva para todas as variáveis segundo o modelo de regressão de Cox

VARIÁVEIS	COEFICIENTE	ERRO PADRÃO	p	RAZÃO DE RISCOS
sexo	.284	.520	.585	1.329
estádio	- 0.38	.566	.946	.962
peso	1.823	.653	.005	.6.192
idade (1)			.848	
idade(2)	.147	.709	.835	1.159
idade(3)	.705	.839	.399	2.023
idade(4)	.217	.735	.768	1.242

Peso: peso $\geq$ 550 g; idade(1):<24 meses; idade (2):  $\geq$  de 24 e < 48;  
Idade (3):  $\geq$  48 e < 60 meses; idade (4) > 60 meses

### **CORRELAÇÃO ENTRE PESO E IDADE**

Investigamos se poderia existir uma correlação entre aumento do peso tumoral e aumento da idade por ocasião do diagnóstico, tendo observado, entretanto, que os coeficientes de correlação de Pearson e de Spearman não mostraram a existência de significado estatístico.

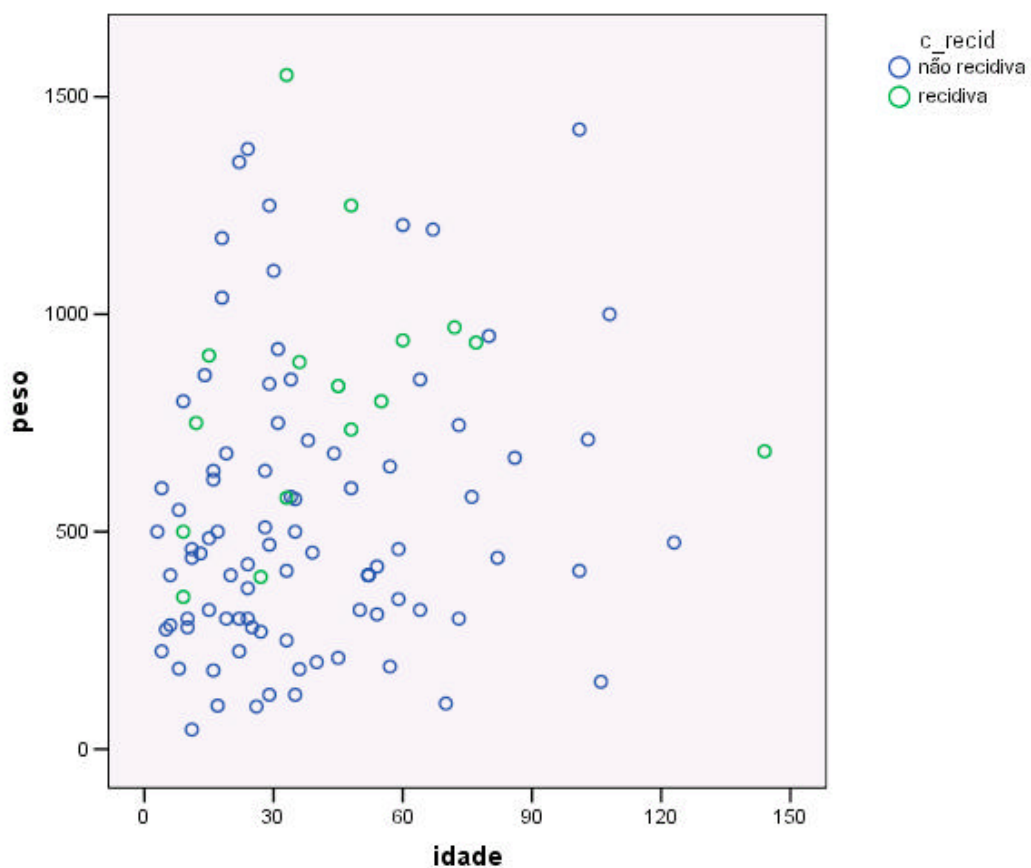


Figura 20. Gráfico de dispersão para Peso e Idade

**SOBREVIDA GLOBAL E SOBREVIDA LIVRE DE RECIDIVA PARA TODOS OS PACIENTES PORTADORES DE TW ESTUDADOS, SEGUNDO A TÉCNICA DE KAPLAN-MEIER.**

Nos 122 pacientes estudados e portadores de TW localizados com HF, foram observadas sobrevida livre de recidiva e sobrevida global, respectivamente, de 83% e 92% (Figuras 21 e 22).

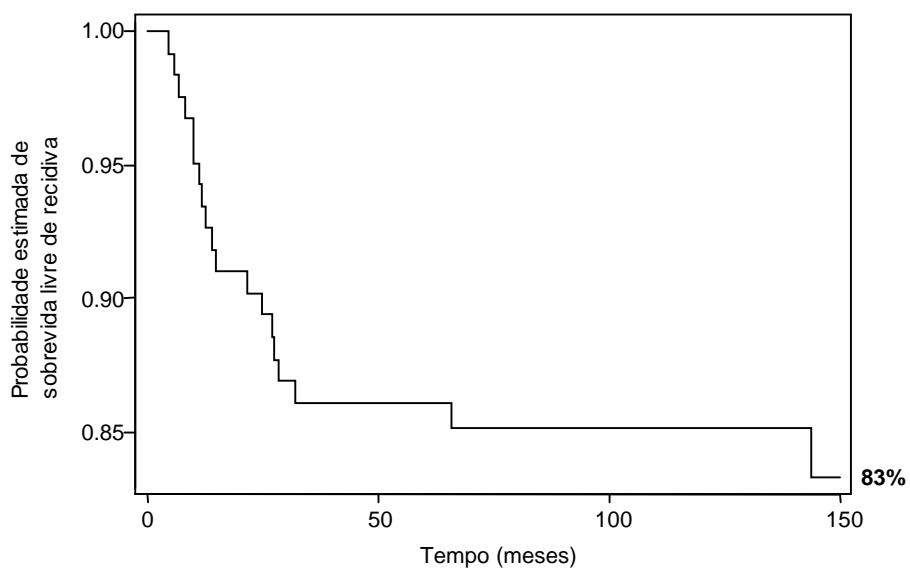


Figura 21. Sobrevida livre de recidiva para 122 pacientes tratados por TW

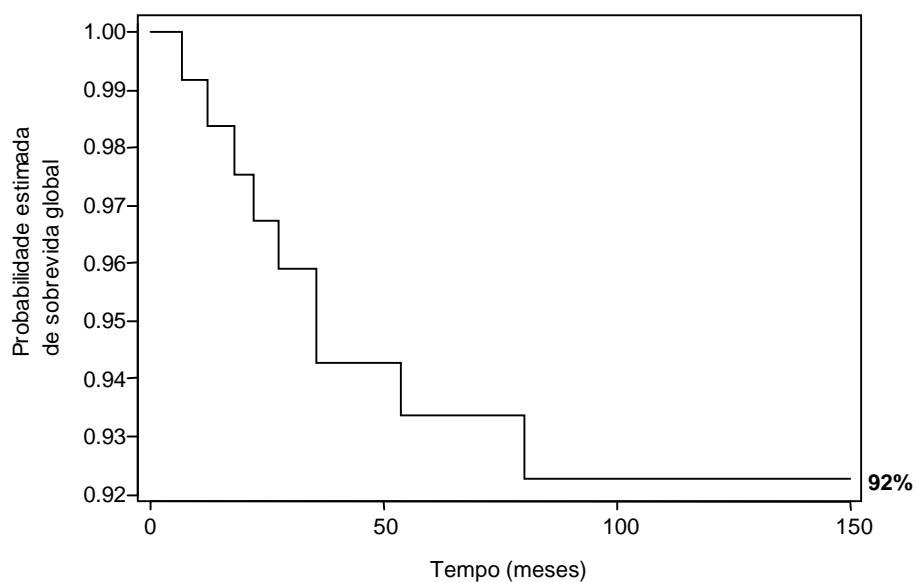


Figura 22. Sobrevida global para 122 pacientes tratados por TW

## 6. DISCUSSÃO

O tumor de Wilms (TW) constitui indubitavelmente um dos maiores exemplos do sucesso no tratamento do câncer infantil, somente conseguido graças ao esforço conjunto internacional de grupos cooperativos multidisciplinares, de modo a ter possibilitado a atual alentadora situação em que se obtém a cura de mais de 85% das crianças afetadas por essa neoplasia maligna (Green et al., 1995). Entretanto, mesmo com tratamentos quimioterápicos os mais adequados, 10 a 15% dos pacientes com histologia favorável (HF) e 50% dos com anaplasia terão progressão do tumor ou recidiva (Campbell et al., 2004; De Kraker et al., 2004). E, em que pese ser possível controlar a doença na maioria dos pacientes classificados como portadores de TW localizado (estádios I e II), com a associação de apenas vincristina e actinomicina-D, e riscos mínimos de desfavoráveis efeitos tardios, a escolha do tratamento adequado para os pacientes mais resistentes à terapêutica ou que vêm a recidivar ainda permanece um desafio (Williams et al., 2004). Deve ainda ser ressaltado que, embora apenas 15% dos pacientes com TW classificados como portadores de doença localizada e HT terem apresentado recaída, eles representaram mais de 40% dos casos de recidiva (D'Angio et al., 1989; Tournade et al., 1993; De Camargo 1996; Pritchard-Jones et al. 2004).

Por essas razões, esforços devem ser concentrados na busca por fatores clínicos e biológicos que possibilitem a classificação desses pacientes que apresentam maior risco de recaída, de modo a possibilitar tratamentos mais



eficazes. Neste contexto, foi realizado um estudo retrospectivo que englobou um longo período de tempo (1976-2001) e envolveu dois centros especializados no tratamento do câncer pediátrico, ainda mais pelo fato de o TW ser uma neoplasia maligna extremamente rara, como demonstra seu coeficiente de incidência, de 11,1/milhão em meninos e 12,4/milhão em meninas no Estado de São Paulo em 1998, o que leva a um número aproximado entre 350 e 400 casos diagnosticados com TW por ano no Brasil (Mirra et al., 2004).

Neste trabalho, selecionamos quatro variáveis clínicas de prognóstico (idade por ocasião do diagnóstico, sexo, peso e estágio do tumor) estudadas nos 122 pacientes que compõem nossa casuística, e duas variáveis biológicas (p53 e gpP) avaliadas num grupo de 42 casos (selecionados dos 122) nos quais foram realizados os correspondentes estudos imunohistoquímicos. Inicialmente procuramos saber se os grupos eram homogêneos quanto à idade, sexo, peso do tumor e estágio, o que pode ser evidenciado na comparação dos resultados dos casos estudados pelas duas instituições médicas de onde proveio nossa casuística (Anexos B, C, D, E e F).

Nesta casuística, constatamos que a média da idade por ocasião do diagnóstico (39,2 meses) está em concordância com a encontrada em outros estudos (Pastore et al., 1988; Stiller e Parkin 1990). Quanto ao sexo, observamos maior incidência do TW no sexo feminino, o que está de acordo com os dados do *NWTSG* e da *SIOP* (Pastore et al., 1988; Breslow et al., 1993). A recidiva ocorreu em 19/122 (15,6%) dos pacientes estudados, número algo superior ao encontrado pelo *NWTS-3*, que foi inferior, mas próximo de 10%

(D'Angio et al., 1989), o pulmão tendo sido o órgão com maior frequência de recidiva, o que está de acordo com os achados do *NWTS*, *SIOP*, *UKCCSG* e *GCBTTW* (De Camargo, 1996; Grundy et al., 2002).

## **AVALIAÇÃO DOS FATORES DE PROGNÓSTICO**

### **IDADE POR OCASIÃO DO DIAGNÓSTICO**

Desde os estudos mais antigos, como os publicados por Jereb e Ekland em 1973 e os resultados das análises feitas por Lemerle et al., em 1976, a idade por ocasião do diagnóstico tem sido considerada como um importante indicador de prognóstico nos TW localizados, sempre com um maior impacto na sobrevida livre de recaída do que na sobrevida global. O primeiro *NWTS-1* confirmou a importância da idade de 24 meses como divisor para identificar pacientes com maior chance de recidiva, porém questionou se o melhor prognóstico dos pacientes com menos de 24 meses poderia decorrer de, eventualmente, nesse grupo estarem incluídos os casos de histologia favorável e estádios localizados, de acordo, aliás, com o observado no *NWTS-3*. Segundo este, 50% dos pacientes com estágio I e HF apresentavam idade inferior a 24 meses, contra 20% dos classificados como estágio III (Breslow et al., 1978; D'Angio et al., 1989).

No *NWTS-3*, crianças acima de 24 meses e classificadas como estádios I e II, apresentaram maior chance de recaída no abdome, sendo que a chance

maior de recidiva no pulmão só foi observada nos estádios II, sem impacto, porém, na sobrevida global (Breslow et al., 1991).

No Brasil, De Camargo, em sua tese de doutorado, analisando os dados encontrados em três estudos consecutivos (GCBTTW 1, 2 e 3) relativos aos pacientes com TW e tratados, encontrou uma associação entre idade maior de 60 meses e maior chance de recidiva do tumor (De Camargo, 1996). Burgers et al. (1986), analisando os resultados referentes a pacientes tratados, nos estudos da *SIOP*, encontraram uma nítida associação entre idade maior por ocasião do diagnóstico e chance maior de recorrência no abdome. Em publicação mais recente, Pritchard-Jones et al. (2003), analisando a evolução clínica dos pacientes envolvidos no *UKCCSG 2 e 3*, encontraram um melhor prognóstico para as crianças com menos de 24 meses de idade tratadas de TW com E-I e HF. Por outro lado, pacientes com as mesmas características, porém idade superior a 60 meses, apresentavam maior chance de recidiva quando tratados apenas com vincristina. Finalmente, Weirch et al. (2004), em artigo publicado pelo *GPOH* (grupo associado à *SIOP*), constataram que a idade inferior a 24 meses foi associada a uma melhor sobrevida global nos tumores com HF tratados com quimioterapia pré-operatória.

Em nosso estudo não encontramos correlação entre a idade por ocasião do diagnóstico e uma maior chance de recaída ou de óbito, sendo que a média de idade para os pacientes que apresentaram ou não recidiva não apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,428$ ), o mesmo tendo sucedido quando utilizamos os cortes de 24, 48 e 60 meses. Portanto, nossos resultados

diferem de vários estudos publicados na literatura médica. Aliás, em dissertação de mestrado que envolveu estudo retrospectivo de 39 pacientes com TW tratados na Santa Casa de São Paulo (Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo), Teixeira (2000) também não havia encontrado correlação entre idade e pior prognóstico. Ressalte-se que achados como estes também já haviam sido registrados no *NWTS-2*, segundo o qual não foi constatado que a idade, isoladamente, estivesse associada a uma maior chance de recidiva ou óbito (D'Angio et al., 1981). Tendo em vista o achado de resultados divergentes quanto à verdadeira importância da idade, isoladamente, como fator determinante de prognóstico, uma sugestão é que novos estudos prospectivos multi-institucionais sejam realizados pelos grupos cooperativos que tratam dos pacientes com TW.

## **SEXO**

Não encontramos diferença estatisticamente significativa para recaída do tumor e para óbito em relação ao sexo do paciente, o que está de acordo com os resultados dos estudos obtidos pelos principais grupos cooperativos para tratamento do TW (D'Angio, 1989; Pritchard, 1995; De Camargo, 1996; Weirich, 2004).

## **PESO DO TUMOR**

Desde os primeiros estudos publicados sobre o tratamento do TW, o peso do tumor tem sido considerado um fator significativo para o prognóstico (Garcia et al., 1963; Perez et al., 1973). De fato, nossos resultados demonstraram que o peso do tumor foi, sem dúvida, o fator de prognóstico mais associado a uma maior chance de recaída e de óbito. Comparando a média e a mediana do peso do tumor obtidas em nosso estudo com as encontradas na literatura correspondente a pacientes submetidos à nefrectomia como abordagem terapêutica inicial, observamos resultados semelhantes (D'Angio et al., 1978).

Assim, analisando todo o grupo estudado, observamos que os pacientes que apresentaram recidiva tinham peso do tumor maior que os que não recidivaram, essa diferença tendo sido estatisticamente significativa ( $p = 0,001$ ). Então, aplicando como critério de corte o peso do tumor de 550 g utilizado por Cassady et al. (1973), e que estaria relacionado a uma chance maior de recidiva em pacientes com TW estágio I, observamos que pacientes com tumores de mais de 550 g apresentavam sobrevida global e sobrevida livre de recaída inferiores às daqueles com peso do tumor inferior a 550 g, com diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,002$ ). A importância do peso do tumor como variável prognóstica isolada para recidiva, mesmo quando levada em conta a contribuição das outras variáveis de prognóstico associadas ? tais

como sexo, idade e estágio ? foi evidenciada numa análise multivariada obtida com o auxílio do modelo de riscos proporcionais de COX ( $p = 0,005$ ).

Nossos resultados estão de acordo com os dados encontrados na literatura, que indicam a associação entre o peso do tumor e maior chance de recidiva, como, por exemplo, os demonstrados pelos estudos do *NWTS 1 e 3* (D'Angio et al., 1978, Breslow et al., 1989) e os do *GCBTTW 1, 2 e 3* (De Camargo et al., 1996), segundo os quais o peso maior que 550 g foi associado à maior chance de recidiva, respectivamente, abdominal e pulmonar. Porém, ao contrário desses estudos, que não demonstraram a importância do peso do tumor na sobrevida global, em nossa casuística observamos uma chance maior de óbito de pacientes cujos tumores pesavam mais de 550 g. Os estudos conduzidos pelo *NWTS-2* não demonstraram uma associação entre peso do tumor e maior chance de recidiva (D'Angio et al., 1981). Os resultados publicados pelo *UKCCG-1, 2 e 3*, falharam em demonstrar associação entre peso do tumor e maior chance de recidiva e de óbito em pacientes com estágio I, provavelmente devido ao menor número de tais eventos ocorridos nessas séries de pacientes tratados e ao impacto marginal deste fator (Pritchard, 1995; Pritchard-Jones et al., 2003).

## **ESTÁDIO**

Não encontramos diferença estatisticamente significativa para recidiva e óbito em relação ao estágio do tumor, sendo que os índices de sobrevidas

global e livre de recaída por nós observados, tanto para o estágio I quanto para o estágio II (89% e 96%, respectivamente), foram muito semelhantes aos publicados na literatura médica, estando também de acordo com os resultados obtidos pelos estudos dos principais grupos cooperativos para tratamento do TW (D'Angio, 1989; Pritchard, 1995; De Camargo, 1996; Weirich, 2004).

### **VARIÁVEIS DE MICROESTADIAMENTO EM PACIENTES COM ESTÁDIO I**

Em 3/6 (50%) casos de tumores recidivados constatamos a presença de duas variáveis de microestadiamento, enquanto nenhum dos 18 casos sem recidiva do tumor apresentou mais que uma variável, diferença esta que foi estatisticamente significativa ( $p = 0,010$ ). Nossos achados são semelhantes aos de Weeks et al. em 1987 que, ao analisarem pacientes com estágio I e HF tratados no NWTS-3, observaram a presença de duas ou mais variáveis em 62,5% dos pacientes que recidivaram, contra apenas 25% naqueles sem recidiva.

Interessante notar que o critério usado para a definição de estágio I e utilizado até o NWTS-4, o mesmo empregado no período de nosso estudo pelo Instituto da Criança e pelo Hospital do Câncer, contempla um grupo heterogêneo por envolver todos os casos de tumores limitados ao rim e completamente ressecados, com uma variação considerável da extensão do tumor dentro do rim, no seio renal e na cápsula do tumor (Weeks et al., 1987). Por essa razão, no estadiamento utilizado no recém finalizado protocolo NWTS-5, pacientes com envolvimento de vasos do seio renal ou comprometimento

extenso e invasivo da cápsula renal, passaram a ser considerados como estágio II (Beckwith, 1998).

Green et al. (1994), revisando todos os casos com estágio I e HF tratados no NWTS-4, observaram que os casos de pacientes com menos de 24 meses de idade e peso do tumor menor de 550g estavam associados à ausência das quatro variáveis de microestadiamento.

Como já citado anteriormente, o *NWTS-5* determinou que pacientes menores de 24 meses, com tumores de estágio I, HF e peso inferior a 550 g, por constituírem um grupo com menor chance de apresentar positividade para essas quatro variáveis de microestadiamento, deveriam ser submetidos à nefrectomia total sem quimioterapia adjuvante (Green et al., 1993; Green et al., 2001). Embora para pacientes com estas características esse estudo tenha sido precocemente finalizado, uma vez que o número de recaídas foi maior que 10%, todos os pacientes sobreviveram por não terem sido expostos às duas drogas clássicas para as quais a terapêutica do TW é extremamente responsiva (Green et al., 2001; Green, 2004). Além disso, revisados os oito casos que foram submetidos apenas à nefrectomia e que recidivaram, Green et al. (2001) observaram que, para eles, ou não havia adequada documentação quanto aos aspectos anatomopatológicos, ou existiam características sugestivas de E-II, tendo proposto que pacientes com TW E-I e HF adequadamente ressecados e meticulosamente analisados poderiam ser beneficiados apenas pelo tratamento cirúrgico, isoladamente.



Também experimentamos dificuldades na avaliação dessas microvariáveis, porém não encontramos associação entre sua presença e o peso do tumor ou a idade por ocasião do diagnóstico.

Finalmente, como demonstrado por estudo mais recente do NWTS-5, parece existir uma associação entre o peso do tumor inferior a 550 g e a idade do paciente menor que 24 meses por ocasião do diagnóstico, com uma ausência de variáveis biológicas de prognóstico desfavoráveis, tais como as perdas de heterozigose dos cromossomos 1p e 16q (Grundy et al., 2005).

## **VARIÁVEIS BIOLÓGICAS ESTUDADAS**

### **1. DETECÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA p53**

A razão da escolha da proteína p53 como marcador biológico em nosso estudo deveu-se ao fato de que, embora sua relação com os tumores de histologia desfavorável (cujo componente principal é a presença de anaplasia) já esteja bem documentada na literatura médica, sua presença ou não nos pacientes com TW de HF tem demonstrado resultados controversos (Velasco et al., 1993; Bardeesy et al., 1994; Bardeesy et al., 1995; Cheah et al., 1996; El Bahtimi et al., 1996; Govender et al., 1998; Teixeira, 2000, Beniers et al., 2001; Sredni et al., 2001, D'Angelo et al., 2003; Peres et al., 2004).

Em nosso trabalho não observamos associação da detecção imunoistoquímica da p53 com recidiva ou óbito. Apenas 1/40 (2,5%) de nossos

pacientes com HF, submetidos ao estudo imunoistoquímico, apresentou positividade para o p53, caso esse que faz parte do grupo recidivado. Este dado está de acordo com a literatura médica, segundo a qual a expressão da proteína p53 em pacientes com HF acontece entre 4 a 20%, devendo ser levado em conta que sua positividade pode decorrer também da estabilização protéica ou de sua ligação com outras proteínas, como p21, WT1 ou com membros da família Bcl-2 (Maheswaran et al., 1995; Takeuchi et al., 1995; Re et al., 1999; Beniers et al., 2001; Sredni et al., 2001; Huang et al., 2002; D'Angelo et al., 2003; Hill et al., 2003).

Nossos achados estão em concordância com os relatados por D' Angelo et al. (2003) que, estudando 63 TW com HF tratados sem quimioterapia pré-operatória, encontraram apenas 5 (8%) positivos para a p53, sendo 1/21 (5%) com estágio I, e 3/21 (14%) com estágio II. Somente num paciente a doença progrediu, não tendo sido observada correlação entre a presença da p53 com estadiamento ou com prognóstico.

Por outro lado, há trabalhos sobre TW com HF que demonstraram uma correlação entre a positividade da p53 e o estadiamento e/ou prognóstico (Cheah et al., 1996; Beniers et al., 2000; Sredni et al., 2001; Skotnicka-Klonowicz et al., 2001, Huang et al., 2002). Assinale-se, porém, que em dois desses trabalhos não ficou definido em que momento do tratamento quimioterápico foi efetuado o estudo imunoistoquímico, ou então se este foi realizado em tumores que haviam recebido quimioterapia pré-operatória (Beniers et al., 2000; Skotnicka-Klonowicz et al., 2001). Huang et al. (2002),

analisando três espécimes de TW, sendo um de HF que evoluiu sem recidiva, outro de HF e comportamento agressivo, e o último com HD, observou positividade para a p53 e fraca marcação para a trombospondina-1 (conhecido supressor endógeno da angiogênese), além de hiperexpressão do fator de crescimento do endotélio vascular detectado pela técnica RT-PCR, somente para os tumores de HD e os de HF, porém de comportamento agressivo. Estes achados podem sugerir que a alteração do *TP53* esteja associada a uma evolução desfavorável determinada tanto pelo crescimento do tumor quanto pelo estímulo a angiogênese que ocorre, principalmente, nos tumores com anaplasia, mas, também, naqueles com HD que apresentem recidiva.

Atualmente, sabe-se que o impacto da quimioterapia na positividade imunohistoquímica da p53 não pode ser menosprezado, pois ela atua seletivamente de modo a permitir a proliferação das linhagens de células tumorais imunorreativas, enquanto provoca a necrose das células imunonegativas, duplicando, assim, o número de tumores que apresentam positividade para a p53 após o tratamento quimioterápico (Govender et al., 1998; Sredni et al., 2001; D'Angelo et al., 2003).

### **DETECÇÃO IMUNOISTOQUÍMICA DA P-GLICOPROTEÍNA (gpP)**

Em nosso trabalho, inicialmente, realizamos uma avaliação quantitativa da gpP em todos os casos submetidos a estudo imunohistoquímico, tendo observado uma positividade maior para a gpP nos pacientes que apresentaram recidiva, ou seja, em 10/12 (83,3%), comparativamente aos 8/28 (28,6%) que

não apresentaram-na, diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,001$ ). Uma análise qualitativa de todos os pacientes que apresentaram marcação positiva para a gpP, por meio de uma escala de pontuação para avaliar tanto a intensidade da marcação quanto a porcentagem de células positivas nas lâminas analisadas, não demonstrou, porém, diferença significativa entre os grupos que apresentaram ou não recidiva ( $p = 0,153$ ).

A literatura registra muitos estudos que buscam investigar as alterações genéticas e bioquímicas relacionadas ao fenótipo de múltipla resistência a drogas e o mecanismo de ação pelo qual alguns genes e suas proteínas conferem à célula do tumor uma resistência aos agentes quimioterápicos, condição que leva ao insucesso terapêutico em muitos tumores (Kessel et al., 1968; Juliano et al., 1976; Cornell et al., 1986; Chan et al., 1995). Por exemplo, a ativação do gene *MDR1*, que, através do seu transcripto protéico, a gpP, diminui a concentração intracelular de quimioterápicos, em que pese ser apenas um dos mecanismos da célula do tumor para escapar dos efeitos citotóxicos, é, dentre eles, sem dúvida, o mais conhecido e mais amplamente estudado nos últimos 28 anos.

Para nosso trabalho escolhemos a gpP motivados pela escassez de publicações que analisam a associação dessa proteína com a presença ou não de um comportamento histopatológico invasivo no TW, e pelo fato de os trabalhos consultados envolverem pequenas séries de pacientes, metodologias distintas, utilização de anticorpos diferentes, além da peculiaridade de, em alguns deles, a análise da gpP ter sido realizada após a quimioterapia pré-

operatória, portanto, sem obtenção de resultados conclusivos (Sola et al., 1994; Volm et al., 1995; Oda et al., 1997; Camassei et al., 2002, Ghanem et al., 2005).

Optamos, também, pela análise imunoistoquímica, por ser técnica exeqüível, rápida e sensível, podendo ser realizada em amostras feitas em blocos de parafina, de modo a preservar as características histopatológicas. Quanto à escolha do anticorpo monoclonal (JSB-1), fizemo-la por ser ele um dos mais usados e acreditados para a demonstração da imunopositividade para a gpP, por ser o mais indicado para tumores preservados em blocos de parafina e guardar boa correlação com o achado de expressão do gene *MDR1* em tumores sólidos pediátricos (Beck et al., 1996; Oda et al., 1997).

Os poucos trabalhos publicados que investigam a associação entre a imunopositividade da gpP e o comportamento histopatológico mais agressivo por parte do TW, diferem em vários pontos, como, por exemplo, quanto ao anticorpo monoclonal utilizado para avaliar a positividade para a gpP, quanto aos pacientes que receberam ou não quimioterapia pré-operatória e ao número de casos estudados (Sola et al., 1994; Volm et al., 1995; Oda et al., 1997; Camassei et al., 2002). Em nossa casuística incluímos apenas casos submetidos à quimioterapia após nefrectomia, sendo que, na revisão da literatura, encontramos um trabalho que só analisou pacientes com TW não submetidos à quimioterapia pré-operatória, e que demonstrou existir uma diferença estatisticamente significativa na intensidade da positividade da gpP para os TW com HF que recidivaram ou não, ainda que tenha englobado casuística pequena (Sola et al., 1994).

O' Meara et al. (1992), analisando 12 casos de TW mediante a utilização de anticorpos anti-JSB-1 e MR16 para detecção imunoistoquímica da gpP, não encontraram positividade nos pacientes estudados. Oda et al. (1997), avaliando a positividade da gpP com o emprego dos anticorpos JSB-1 e C-219, e a expressão do gene *MDR-1* em vários tumores sólidos e em 10 nefroblastomas (cinco submetidos à quimioterapia pré-operatória, e cinco não), encontraram positividade em 7/10 (70%) dos casos. Contudo, apesar de terem encontrado correlação entre a positividade da gpP e a expressão do gene *MDR1*, não constataram correlação com o prognóstico.

O trabalho de maior casuística (94 casos) foi o realizado por Camassei et al. (2002), que abrangeu, em sua grande maioria, 73 (77,7%) pacientes submetidos à quimioterapia pré-operatória, contra apenas 21 (22,3%) nos quais foram realizadas análises imunoistoquímicas nas amostras tumorais sem prévio tratamento quimioterápico. Em ambos os grupos, os resultados não revelaram uma associação com maior chance de recaída ou de óbito, porém demonstraram que tumores submetidos previamente à quimioterapia apresentavam maior imunoexpressão para a gpP que tumores sem quimioterapia pré-nefrectomia. Por outro lado, quando observada a presença de gpP nas células endoteliais dos vasos tumorais, a evolução foi pior, sugerindo que a ativação dessa glicoproteína no endotélio desses vasos deva ser considerada como um dos fatores responsáveis pelo fenótipo de múltipla resistência às drogas nos TW (Camassei et al., 2002).

O rim normal e, principalmente, as áreas de diferenciação tubular do TW, expressam normalmente a gpP (Ernest et al., 1997). Não obstante a alta positividade (45%) obtida para a gpP em nossos casos e sua falta de correlação com o prognóstico - o que está de acordo com a literatura - , necessitam-se de trabalhos que analisem grupos maiores de pacientes não submetidos à quimioterapia pré-operatória e cujos achados positivos, obtidos por meio de estudos imunoistoquímicos, sejam comparados com resultados fidedignos obtidos por meio de técnicas de biologia molecular (RT-PCR) para o gene *MDR-1*.

Finalmente, com relação à sobrevida global (92%) e livre de recaída (83%) para todos os pacientes estudados, portadores de TW localizados com HF, esses nossos resultados foram muito semelhantes aos encontrados pelos principais grupos cooperativos existentes para tratamento de TW (D'Angio et al., 1989; Pritchard et al., 1995; De Camargo, 1996; De Kraker et al., 2004, Weirich et al., 2004).

Não obstante esses expressivos resultados, os estudos do *NWTS-5* demonstraram, para um grupo menor de pacientes com TW localizado e histologia favorável, e que apresentaram perda de heterozigose para ambos os cromossomos (16q e 1p), uma sobrevida livre de recaída de 75%, em contraste com 91% para aqueles sem essas alterações moleculares, sugerindo que esses pacientes poderiam se beneficiar pela inclusão de doxorrubicina no tratamento (Grundy et al., 2005).

Certamente, os vários estudos em andamento, que procuram identificar novos marcadores moleculares de prognóstico, tais como a identificação dos níveis de telomerase, marcadores de apoptose e de atividade mitótica, e expressão gênica por *microarray*, somados aos achados clínicos e histopatológicos já bem conhecidos, poderão, individualmente ou quando associados, determinar qual subgrupo de pacientes com doença localizada será merecedor de um tratamento mais intenso e apropriado (Dome et al., 1999; Arcellana-Panililio et al., 2000; Takamizawa et al., 2001; Williams et al., 2004; Ghanem et al., 2005; Grundy et al., 2005).



## 7. CONCLUSÕES

1. A única variável clínica estatisticamente significativa quanto à associação com a recidiva tumoral ou óbito, foi o maior peso do tumor ( $p = 0,001$ ), discriminada conforme acima ou abaixo de sua mediana, cuja importância como fator de prognóstico isolado para recidiva foi confirmada em análise multivariada ( $p=0,005$ ).

2. Nos pacientes portadores de TW estágio I, a presença de duas variáveis de microestadiamento foi mais associada ao grupo de recidiva, e essa diferença foi estatisticamente significativa ( $p = 0,010$ ).

3. As variáveis biológicas p53 e gpP não foram associadas a uma maior chance de recidiva, com  $p = 0,300$  e  $p = 0,153$ , respectivamente.

4. Os pacientes que apresentavam peso do tumor igual ou maior que 550 g, apresentaram sobrevida livre de recidiva e sobrevida global estatisticamente menor que aqueles com peso inferior a 550 g, com  $p = 0,0027$  e  $p = 0,0017$ , respectivamente.

## 8. ANEXOS

Anexo A, Tabela 2. A Características dos pacientes portadores de tumor de Wilms (estádios I e II) estudados (ICR-FMUSP, 1982-2001; Hospital do Câncer, 1976 -1999)

Caso	Sexo	Idade (meses)	Lado do tu	Estádio	Peso do tumor (gramas)	Subtipo hist.	Recidiva	Evolução
1	M	144	E	I	685	MI	sim	óbito
2	F	72	E	II	-	B	sim	óbito
3	M	48	D	II	735	B	sim	Em ttu
4	F	33	E	I	1550	B	sim	óbito
5	M	19	D	I	-	E	sim	FT
6	M	15	D	I	905	B	sim	óbito
7	F	77	D	II	935	ME	sim	óbito
8	F	72	D	II	970	E	sim	óbito
9	F	60	D	I	940	B	sim	FT
10	F	12	D	I	750	MI	sim	FT
11	M	23	E	II	-	MI	sim	óbito
12	M	9	D	I	350	MI	sim	FT
13	M	45	E	II	835	MI	sim	óbito
14	F	48	E	II	1250	E	sim	FT
15	F	55	D	II	800	E	sim	FT
16	F	9	E	I	500	E	sim	FT
17	M	36	E	I	890	MI	sim	óbito
18	F	33	E	II	578	B	sim	FT
19	M	27	E	I	396	MI	sim	FT
20	F	44	E	II	680	MI	não	FT
21	M	18	D	I	1038	MI	não	FT
22	M	30	D	II	1100	MI	não	FT
23	F	8	E	I	185	MI	não	FT
24	F	57	D	I	650	MI	não	FT
25	F	35	E	I	125	E	não	FT
26	F	59	E	II	345	MI	não	FT
27	F	54	D	II	310	MI	não	FT
28	F	31	E	I	920	ME	não	FT
29	M	29	D	I	1250	MI	não	FT
30	F	73	D	II	745	B	não	FT
31	M	48	E	II	-	MI	não	FT
32	F	42	D	I	-	MI	não	FT
33	F	26	E	I	98	B	não	FT
34	M	54	D	II	420	MI	não	FT
35	M	86	E	I	670	B	não	FT
36	M	15	E	II	320	MI	não	FT
37	F	35	D	II	575	B	não	FT
38	M	11	E	I	440	E	não	FT
39	M	14	E	I	860	ME	não	FT

40	F	19	D	I	680	MI	não	FT
41	M	6	E	I	400	MI	não	FT
42	M	29	D	I	125	MI	não	FT
43	M	82	E	I	440	E	não	FT
44	M	24	E	I	370	MI	não	FT
45	M	27	E	II	270	MI	não	FT
46	M	29	D	I	840	MI	não	FT
47	F	22	E	I	300	MI	não	FT
48	F	36	D	II	184	MI	não	FT
49	F	60	D	II	1205	B	não	FT
50	M	15	D	I	-	MI	não	FT
51	F	25	E	I	-	MI	não	FT
52	F	6	D	I	-	MI	não	FT
53	F	20	E	I	400	E	não	FT
54	M	59	E	I	460	ME	não	FT
55	F	38	E	II	710	E	não	FT
56	F	22	E	I	1350	ME	não	FT
57	F	70	D	II	-	E	não	FT
58	F	22	E	I	225	E	não	FT
59	M	101	E	I	1425	ME	não	FT
60	F	29	E	II	470	B	não	FT
61	M	123	E	II	475	ME	não	FT
62	M	28	E	I	510	B	não	FT
63	F	15	E	I	485	MI	não	FT
64	F	28	E	I	-	B	não	FT
65	M	25	E	II	280	B	não	FT
66	F	10	E	II	300	ME	não	FT
67	M	106	D	I	155	B	não	FT
68	F	11	E	I	460	E	não	FT
69	M	16	E	I	181	MI	não	FT
70	F	6	D	I	285	E	não	FT
71	F	57	E	I	190	B	não	FT
72	F	108	D	I	1000	E	não	FT
73	F	76	E	II	580	B	não	FT
74	F	24	E	I	-	MI	não	FT
75	M	45	D	I	210	MI	não	FT
76	M	33	D	I	410	B	não	FT
77	F	80	E	I	950	MI	não	FT
78	M	39	D	I	452	MI	não	FT
79	F	34	E	II	850	B	não	FT
80	M	16	E	I	640	MI	não	FT
81	F	67	E	I	1195	MI	não	FT
82	M	29	E	II	-	MI	não	FT
83	M	103	D	II	712	B	não	FT
84	M	18	E	I	1175	MI	não	FT
85	M	4	E	I	600	MI	não	FT
86	F	48	E	II	600	MI	não	FT
87	M	5	D	I	-	MI	não	FT

88	F	16	D	II	620	MI	não	FT
89	M	13	E	I	450	MI	não	FT
90	F	6	E	I	-	MI	não	FT
91	F	64	E	II	850	MI	não	FT
92	M	52	D	I	400	MI	não	FT
93	F	11	E	II	45	E	não	FT
94	F	52	D	II	400	MI	não	FT
95	M	33	D	I	250	E	não	FT
96	F	24	E	I	425	E	não	FT
97	F	8	E	I	550	E	não	FT
98	M	4	D	I	225	ME	não	FT
99	F	19	D	I	300	MI	não	FT
100	M	52	E	II	400	B	não	FT
101	F	34	E	I	580	MI	não	FT
102	F	74	D	I	-	MI	não	FT
103	F	5	D	I	275	E	não	FT
104	F	93	E	I	-	E	não	FT
105	M	31	D	II	750	E	não	FT
106	M	50	D	I	320	B	não	FT
107	F	35	E	II	500	E	não	FT
108	F	64	D	II	320	MI	não	FT
109	F	3	E	II	500	E	não	FT
110	M	101	D	II	410	MI	não	FT
111	F	95	E	II	-	MI	não	FT
112	F	24	E	I	300	MI	não	FT
113	M	73	E	I	300	MI	não	FT
114	M	17	D	II	500	MI	não	FT
115	F	17	E	II	100	MI	não	FT
116	F	9	D	I	800	MI	não	FT
117	F	24	E	II	1380	MI	não	FT
118	F	10	D	I	280	MI	não	FT
119	F	40	D	II	200	MI	não	FT
120	F	28	D	I	640	MI	não	FT
121	F	32	E	I	-	MI	não	FT
122	F	70	D	II	105	MI	não	FT

FT: Fora de terapia; em tto: em tratamento - não avaliado; M: masculino; F: feminino; E: esquerdo; D: direito; T: trifásico; B: blastematoso; E: epitelial; ME: mesenquimal; MI: mista AF: anaplasia focal; AD: anaplasia difusa; ; hist.: histológico

Anexo B. Tabela comparativa entre médias do peso e idade segundo o hospital de origem

	<b>Origem</b>	<b>n</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão da média</b>
<b>peso</b>	H. Câncer	59	521,17	302,804	39,422
	ICr	45	639,44	368,543	54,939
<b>idade</b>	H. Câncer	69	37,22	28,433	3,423
	ICr	53	41,81	29,337	4,030

Variável peso ( $p=0,075$ )  
 Variável idade ( $p=0,385$ )  
 Teste t de student

Anexo C. Tabela de frequência segundo peso do tumor e hospital de origem

			Origem		Total
			H. Câncer	ICr	
<b>Peso</b>	< 550 g	n	35	22	57
		%	61,4%	38,6%	100,0%
	≥ 550 g	n	24	23	47
		%	51,1%	48,9%	100,0%
<b>Total</b>		n	59	45	104
		%	56,7%	43,3%	100,0%

(p=0,290)

Anexo D. Tabela de frequência segundo idade ao diagnóstico e hospital de origem

<b>Idade (24 meses) X origem</b>					
		<b>Origem</b>			
			<b>H. Câncer</b>	<b>ICr</b>	<b>Total</b>
<b>Idade</b>	< 24 meses	n	25	16	41
		% Idade	61,0%	39,0%	100,0%
		% origem	36,2%	30,2%	33,6%
	≥24 meses	n	44	37	81
		% Idade	54,3%	45,7%	100,0%
		% origem	63,8%	69,8%	66,4%
<b>Total</b>		n	69	53	122
		% Idade	56,6%	43,4%	100,0%
		% origem	100,0%	100,0%	100,0%

(p=0,484)

<b>Idade (48 meses) X origem</b>					
		<b>Origem</b>			
			<b>H. Câncer</b>	<b>ICr</b>	<b>Total</b>
<b>Idade</b>	< 48 meses	n	47	34	81
		% Idade	58,0%	42,0%	100,0%
		% origem	68,1%	64,2%	66,4%
	≥48 meses	n	22	19	41
		% Idade	53,7%	46,3%	100,0%
		% origem	31,9%	35,8%	33,6%
<b>Total</b>		n	69	53	122
		% Idade	56,6%	43,4%	100,0%
		% origem	100,0%	100,0%	100,0%

(p=0,646)

<b>Idade (60 meses) X origem</b>					
		<b>Origem</b>			
			<b>H. Câncer</b>	<b>ICr</b>	<b>Total</b>
<b>Idade</b>	< 60 meses	n	55	41	96
		% Idade	57,3%	42,7%	100,0%
		% origem	79,7%	77,4%	78,7%
	≥60 meses	n	14	12	26
		% Idade	53,8%	46,2%	100,0%
		% origem	20,3%	22,6%	21,3%
<b>Total</b>		n	69	53	122
		% Idade	56,6%	43,4%	100,0%
		% origem	100,0%	100,0%	100,0%

(p=0,753)

Anexo E. Tabela de frequência segundo o sexo do paciente e hospital de origem

			Origem		
			H. Câncer	ICr	Total
<b>Sexo</b>	Feminino	n	42	29	71
		%	59,2%	40,8%	100,0%
	Masculino	n	27	24	51
		%	52,9%	47,1%	100,0%
<b>Total</b>		n	69	53	122
		%	56,6%	43,4%	100,0%

(p=0,495)



Anexo F. Tabela de frequência segundo estágio do tumor e hospital de origem

		Origem			
		H. Câncer	ICr	Total	
<b>Estádio</b>	<b>I</b>	n	41	33	74
		%	55,4%	44,6%	100,0%
	<b>II</b>	n	28	20	48
		%	58,3%	41,6%	100,0%
<b>Total</b>	n	69	53	122	
	%	56,6%	43,4%	100,0%	

(p=0,750)

## 9. REFERÊNCIAS

Abu-Ghosh AM, Krailo MD, Golsman SC, Slack RS, Davenport V, Morris E, et al. Ifosfamide, carboplatin and etoposide in children with poor-risk relapsed Wilms' tumor: a Children's Cancer Group Report. *Ann Oncol.* 2002;13:460-9.

Agresti A. *Categorical data analysis.* 2nd ed. New York: John Wiley and Sons; 2002.

Alami J, Williams R, Yeger, H. Differential expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in primary and metastatic Wilm's tumor. *Mol Pathol.* 2003;56:218-25.

Arcellana-Panililio MY, Egeler RM, Ujack E, Pinto A, Demetrick DJ, Robbins SM, et al. Decrease expression of the INK4 family of cyclin-dependent kinase inhibitors in Wilms tumor. *Genes Chromosomes, Cancer.* 2000;29:63-9.

Arrigo S, Beckwith JB, Sharples K., D'Angio GJ, Haase G. Better survival after combined modality care for adults with Wilms' tumor: A report from the National Wilms' Tumor Study. *Cancer.* 1990;66:827-30.

Babyn P, Owens C, Gyepes M, D'Angio J. Imaging patients with Wilms' tumor. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1995;9:1217-51.

Baker JS, Fearon ER, Nigro JM, Hamilton SR, Preisinger AC, Jessup JM, et al. Chromosome 17 deletions and p53 gene mutations in colorectal carcinomas. *Science.* 1989;244:217-21.

Baratella JRS. *Primeiro estudo cooperativo, realizado no Brasil, sobre o tumor de Wilms: análise preliminar [dissertação].* São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1980.

Bardeesy N, Beckwith JB, Pelletier J. Clonal expansion and attenuated apoptosis in Wilms' tumor are associated with p53 gene mutations. *Cancer Res.* 1995;55:215-9.

Bates SE, Shieeh CY, Tsokos M. Expression of MDR1/p-glycoprotein in human neuroblastoma. *Am J Pathol.* 1991;139:305-10.

Batsakis JG, El-Naggar AK. P53: Fifteen years after discovery. *Adv Anat Pathol.* 1995;2:71-88.

Beck WT, Grogan TM, Willman CL, Cordon-Cardo C, Parham DM, Kuttesch JF, et al. Methods to detect P-glycoprotein-associated multidrug resistance in patients' tumors: consensus recommendations. *Cancer Res.* 1996;56:3010-2.

Beckwith JB. National Wilms Tumor Study: An update for pathologists. *Pediatr Pathol.* 1998;1:79-84.

Beckwith JB. Staging designation for bilateral Wilms' tumours[Letter]. *Med Pediatr Oncol.* 1991;19:334.

Beckwith JB. The John Lattimer lecture. Wilms tumor and other renal tumors of childhood: an update. *J Urol.* 1986;136:320.

Beckwith JB. Wilms' tumor and other renal tumors of childhood: a selective review from the National Wilms' Tumor Study Pathology Center. *Hum Pathol.* 1983;14:481-92.

Beckwith JB, Kiviat NB, Bonadio JF. Nephrogenic rests, nephroblastomatosis, and pathogenesis of Wilms tumor. *Pediatr Pathol.* 1990;10:1-36.

Beckwith JB, Palmer NF. Histopathology and prognosis of Wilms tumor: results from the First National Wilms' Tumor Study. *Cancer.* 1978;41:1937-48.

Beckwith JB, Zuppan CE, Browning NG, Moksness J, Breslow NE. Histological analysis of aggressiveness and responsiveness in Wilms' tumor. *Med Pediatr Oncol.* 1996;27:442.

Bellani FF, Gasparini M, Bonadonna G. Adriamycin in Wilms tumor previously treated with chemotherapy. *Eur J Cancer.* 1975;11:593.

Beniers AJMC, Efferth T, Fuzesi L, Grazen B, Mertens R, Jakse G. P53 expression in Wilms' tumor: a possible role as prognostic factor. *Int J Oncol.* 2001;18:133-9.

Birch JM, Breslow N. Epidemiologic features of Wilms tumor. *Hematol Oncol Clin North Am.* 199;59:1157-78.

Boccon-Gibod L, Rey A, Sandstedt B, Delemarre J, Harms D, Vujanic G, et al. Complete necrosis induced by preoperative chemotherapy in Wilms tumor as an indicator of low risk: report of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP) Nephroblastoma Trial and Study 9. *Med Pediatr Oncol.* 2000;34:183-90.

Bown N, Cotterill SJ, Roberts P, Griffiths M, Larkins S, Hibbert S, et al. Cytogenetic Abnormalities and Clinical Outcome in Wilms Tumor: a study by the

U.K. Cancer Cytogenetics Group and the U.K. Children's Cancer Study Group. *Med Pediatr Oncol.* 2002;38:11-21.

Breslow NE, Beckwith JB. Epidemiological feature of Wilms' Tumor Study: Results of the National Wilms Tumor Study. *J Natl Cancer.* 1982;68:429-36.

Breslow NE, Langholz B. Childhood cancer incidence: geographical and temporal variations. *Int J Cancer.* 1983;32:703-16.

Breslow NE, Langholz B, Beckwith JB, Fernbach DJ, Otherson HB, Teft M, D'Angio GJ. Prognosis for Wilms' tumor patients with nonmetastatic disease at diagnosis: Results of the Second Wilms' Tumor Study. *J Clin Oncol.* 1985; 3:521-31.

Breslow N, Olshan A, Beckwith JB, Green DM. Epidemiology of Wilms tumor. *Med Pediatr Oncol.* 1993;21:172-81.

Breslow NE, Ou S, Beckwith JB, Haase GM, Kalapurakal JA, Ritchey ML, et al. Doxorubicin for favorable histology, stage II-III Wilms tumor. Results from the National Wilms Tumor Studies. *Cancer.* 2004;101:1072-80.

Breslow NE, Palmer NF, Hill LR, Buring J, D'Angio GJ. Wilms' Tumor: prognostic factors for patients without metastasis at diagnosis: results of the National Wilms' Tumor Study. *Cancer.* 1978;41:1577-89.

Breslow NE, Sharples K, Beckwith JB, Takashima J, Kelalis PP, Green D, D'Angio, GJ. Prognostic factors in nonmetastatic, favorable histology Wilms' Tumor: results of the Third National Wilms' Tumor Study. *Cancer.* 1991;68:2345-53.

Burgers JMV, Tournade MF, Bey P, Burger D, Carli M, Delamarre JFM et al. Abdominal Recurrences In Wilms' Tumour: A Report From The Siop Wilms' Tumour Trials And Studies. *Radiother Oncol.* 1986;5:175-82.

Bussab W, Morettin PA. *Estatística básica.* São Paulo: Saraiva; 2002.

Byrd RL, Evans AE, D'Angio GJ. Adult Wilms' Tumor: Effect of combined therapy on survival. *J Urol.* 1982;27:648-51.

Call KM, Glaser T, Ito CY, Buckler AJ, Pelletier J, Haber DA, et al. Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gene at the human chromosome 11 Wilms tumor locus. *Cell.* 1990;60:509-20.

Callen DF, Baker E, Simmers RN, Seshadri R, Roninson IB. Localization of the human multiple drug resistance gene, MDR1, to 7q21.1. *Hum Genet.* 1987;77:142-4.

Camassei FD, Arancia G, Cianfriglia M, Bosman C, Francalanci P, Ravá L, et al. Nephroblastoma: Multidrug-resistance P-glicoprotein expression in tumor cells and intratumoral capillary endothelial cells. *Am J Pathol.* 2002;117:484-90.

Camassei FD, Jenkner, A, Rava L, Bosman C, Francalanci P, DonFrancesco A, et al. Expression of the lipogenic enzyme fatty acis synthase (FAS) as a predictor of poor outcome in nephroblastoma: na interinstitutional study. *Med Pediatr Oncol.* 2003;40:302-8.

Campbell AD, Cohn SL, Reynolds M, Seshadri R, Morgan E, Geissler G, Rademaker A, Marymount M, Kalapurakal J, Haut PR, Duerst R, Kletzel M. Treatment of relapsed Wilms' tumor with high-dose therapy and autologous stem-cell rescue: the experience at Children's Memorial Hospital. *J Clin Oncol.* 2004; 22:2885-90.

Cassady JR, Tefft M, Filler RM, Jaffe N, Paed D, Hellman S. Considerations In the radiation of Wilms' tumor. *Cancer.*1973;32:598-608.

Chan HSL, Bradley G, Thorner P, Haddad G, Gallie BL, Ling V. A sensitive method for immunocytochemical detection of P-glycoprotein in multi-resistant human ovarian carcinoma cell lines. *Lab Invest.*1988;59:870-5.

Chan HSL, De Boer G, Haddad, G, Gallie BL, Ling V. Multidrug resistance in pediatric malignancies. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1995;9:275-318.

Chan HSL, Haddad G, Thorner PS. P-glycoprotein expression as a predictor of the outcome of therapy for neuroblastoma. *N Engl J Med.* 1991;325:1608-14.

Chan HSL, Thorner PS, Haddad G, Ling V. Immunohistochemical detection of P-glycoprotein:Prognostic correlation in soft tissue sarcoma of childhood. *J Clin Oncol.*1990;8:689-704.

Chang F, Syrjanen S, Tervahauta, Syrjanen K. Tumorigenesis associated with the p53 tumor supressor gene. *Br J Cancer.* 1993;68:653-61.

Cheah P, Looi LM, Chan LL. Immunohistochemical expression of p53 proteins in Wilms' tumour: a possible association with the histological prognostic parameter of anaplasia. *Histopathology.* 1996;28:49-54.

Chen PL, Chen Y, Bookstein R, Lee WH. Genetic mechanisms of tumor suppression by the human p53 gene. *Science*. 1990;250:1576-8.

Chin KV, Ueda K, Pastan I, Gottesman MM. Modulation of activity of the promoter of the human MDR1 gene by *ras* and p53. *Science*. 1992;255:459-62.

Clark AR, Purdie CA, Harrison DJ, Morris RG, Bird CC, Hooper ML, Wyllie AH. Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways. *Nature*. 1993;362:849-52.

Claude L, Padovani L, Carrie C. Rapporteurs' summaries of invited free papers. *Pediatr Blood Cancer*. 2004;42:481-5

Conover WS In: Practical Nonparametric Statistics. 2nd ed. New York: John Wiley; 1980.

Coppes MJ. Serum biological markers and paraneoplastic syndromes in Wilms' tumor. *Med Pediatr Oncol*. 1993;21:213-21.

Coppes MJ, De Kraker J, Van Dijken PJ, Perry HJM, Delemarre JFM; Tournade MF, et al. Bilateral Wilms' tumor: Long term survival and some epidemiological features. *J Clin Oncol*. 1989;7:310-5.

Coppes MJ, Haber DA, Grundy, PE. Genetic events in the development of Wilms' tumor. *Med Pediatr Oncol*. 1994;331:586-90.

Coppes MJ, Pritchard-Jones K. Principles of Wilms' tumor biology. *Urol Clin North Am*. 2000;27:426-33.

Coppes MJ, Zandvoort SWH, Sparling CR, Poon AO, Weitzman S, Blanchette VS. Acquired von Willebrand disease in Wilms' tumor patients. *J Clin Oncol*. 1992;10:422-7.

Coppes-Zantinga AR e Coppes MJ. The eponym "Wilms": A reminder of a surgeon's lifelong contributions to medicine. *Med Pediatr Oncol*. 1999;32:438-9.

Cornwell MM, Safa AR, Felsted RL, Gottewstman MM, Pastan I. Membrane vesicles from multidrug-resistant cancer cells contain a 150-170 kDa protein detected by photoaffinity labeling. *Natl Acad Sci USA*. 1986;83:3847-50.

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

D'Angio GJ, Breslow N, Beckwith B, Evans A, Baum E, Delorimier A, et al. The treatment of Wilms' tumor: results of the Third National Wilms' Tumor Study. *Cancer*. 1989;64:349-60.

D'Angio GJ, Evans A, Breslow N, Beckwith B, Bishop H, Feigl P, et al. The treatment of Wilms' tumor: results of the National Wilms' Tumor Study. *Cancer*. 1976;38:603-46.

D'Angio GJ, Evans A, Breslow N, Beckwith B, Bishop H, Feigl P, Goodwin W, Leape LL, Palmer N, Sinks L, Sutow W, Tefft M, Wolff J. The treatment of Wilms' tumor: results of the Second National Wilms' Tumor Study. *Cancer*. 1981;47:2302-11.

D' Angelo MF, Kausik SJ, Sebo TJ, Rathbun SR, Kramer A, Husmann DA. P53 immunopositivity in histologically favorable Wilms tumor is not related to stage at presentation or to biological aggression. *J Urol*. 2003;169:1815-7.

De Camargo B, Franco EL. A randomized clinical trial of single-dose versus fractionated-dose dactinomycin in the treatment of Wilms' tumor. *Cancer*. 1994;73:3081-6.

De Camargo B. *Fatores que influenciam o prognóstico clínico em pacientes com tumor de Wilms: um estudo nacional [tese]*. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1996.

De Kraker J, Graf N, van Tinteren H, Pein F, Sandstedt B, Godzinski J, et al. Reduction of postoperative chemotherapy in children with stage I intermediate-risk and anaplastic Wilms' tumor (SIOP 93-01 trial): a randomized controlled trial. *Lancet*. 2004;364:1229-35.

De Kraker J, Lemerle J, Voûte PA, Zucker JM, Tournade MF, Carli, M. Wilms' tumor with pulmonary metastasis at diagnosis: the significance of primary chemotherapy. *J Clin Oncol*. 1990;8:1187-90.

Defavery R, Lemos JAR, Kashima S, Bernardes JE, Scridelli CA, Covas D T, Tone LG. Analysis of the p53 gene by PCR-SSCP in ten cases of Wilms' tumor. *São Paulo Med J*. 2000;118:49-52.

Dittmer, D, Pati S, Zambeti G, Chu S, Teresky AK, Moore M, et al. Gain of function mutations in p53. *Nature Genet*. 1993;4:42-5.

Döderlein A, Birch-Hirschfeld FV. Embryonale drüsengeschwulst der Nierengegend in Kindersalter. *Centralblatt für die Harn- und Geschlechtsorgane*. 1894;5:329.

Dome JS, Chung S, Bergemann T, Umbricht CB, Saji M, Carey LA, et al. High telomerase reverse transcriptase (hTERT) messenger RNA level correlates with

tumor recurrence in patients with favorable histology Wilms tumor. *Cancer Res.* 1999;59:4301-7.

Donehower LA, Bradley A. The tumor suppressor p53. *Biochem Biophys Acta.* 1993;155:181-205.

Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ; Montgomery JR; Butel, CA. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumors. *Nature.* 1992;356:215-21.

Douglass EC, Look T, Webber, B, Parham D, Wilimas JA, Green AA, et al. Hyperdiploidy and chromosomal rearrangements define the anaplastic variant of Wilms' tumor. *J Clin Oncol.* 1986;4:975-81.

Efferth T, Schulten HG, Thelen P, Bode ME, Beniers AJ, Granzen B, et al. Differential expression of the heat shock protein 70 in the histological compartments of nephroblastomas. *Anticancer Res.* 2001a;21:2915-20.

Efferth T, Thelen P, Schulten HG, Bode ME, Granzen B, Beniers AJ, et al. Differential expression of the heat multidrug resistance-related protein MRP1 in the histological compartments of nephroblastomas. *Int J Oncol.* 2001b;19:689-96.

Eggert A, Grotzer MA, Ikegati N, Zhao H, Cnaan A, Brodeur GM, et al. Expression of the neurotrophin receptor TrkB is associated with unfavorable outcome in Wilms' tumor. *J Clin Oncol.* 2001;19:689-96.

El Bahtimi R, Hazen-Martin DJ, Re GG, Willingham MC, Garvim AG. Immunophenotype, mRNA expression, and gene structure of p53 in Wilms' tumor. *Mod Pathol.* 1996;9:238-44.

Ernest S, Rajaraman S, Megyesi J. Expression of MDR1 gene and its protein in normal human kidney. *Nephron.* 1997;77:284-9.

Farber S. Chemotherapy in the treatment of leukemia and Wilms tumor. *JAMA.* 1966;198:826-36.

Faria P, Beckwith JB. A new definition of focal anaplasia (FA) in Wilms' Tumor (WT) identifies cases with good outcome. A report from the National Wilms' Tumor Study. *Mod Pathol.* 1993;6:3[abstract].

Faria P, Beckwith JB, Mishra K, Zuppan C, Weeks DA, Breslow, N, Green DM. Focal versus diffuse anaplasia in Wilms' tumor— New definitions with prognostic significance. A report from the National Wilms' Tumor Study Group. *Am J Surg Pathol.* 1996;20:909-20.



Fear NT, Roman E, Reeves G, Pannet B. Childhood cancer and paternal employment in agriculture: the role of pesticides. *Br J Cancer*. 1998;77:825-9.

Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell*. 1989;57:1083-93.

Fojo AAT, Ueda K, Slamon DJ, Poplack DG, Gottesman MM, Pastan I. Expression of multidrug-resistance gene in human tumors and tissues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987;84:265-9.

Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. *Oncogene*. 2003;22:9030-40.

Friedlander A: Sarcoma of the kidney treated by the Roentgen ray. *Am J Dis Child*. 1916;12:328.

Garcia M, Douglass C, Schlosser JV. Classification and prognosis in Wilms' tumor. *Radiology*. 1963;80:574-80.

Ghanem MA, Van Streenbrugge GJ, Nijman RJ, Van der Kwst TH. Prognostic markers in nephroblastoma (Wilms' tumor). *Urology*. 2005;65:1047-54.

Ghanem MA, Van-der-Kwast TH, Den Hollander JC, Sudaryo MK, Oomen MHA, Noordzij MA, et al. Expression and prognostic value of Wilms' tumor 1 and early growth response 1 proteins in Nephroblastoma. *Clin Cancer Res*. 2000;6:4265-71.

Giaccone G, Gazdor AF, Beck H, Zunino F, Capranica C. Multidrug sensitivity phenotype of human lung-cancer cells associated with topoisomerase-II expression. *Cancer Res*. 1992;52:1666-74.

Goske MJ, Mitchell C, Reslan WA. Imaging of patients with Wilms' tumor. *Semin Urol Oncol*. 1999;17:11-20.

Govender D, Harilal P, Hadley GP, Chetty R. P53 protein expression in nephroblastomas: a predictor of poor prognosis. *J Cancer*. 1998;77:314-8.

Graf N, Tournade M, DE Kraker J. The role of preoperative chemotherapy in the management of Wilms' tumor. The SIOP studies. *Urol Clin North Am*. 2000;27:443-54.

Grant CE, Valdimarsson G, Hipfner DR, Almquist KC, Cole SPC, Deeley RG. Over expression of multi-drug resistance-associated protein (MRP) increases resistance to natural product drugs. *Cancer Res.* 1994;54:357-61.

Green DM. The treatment of stages I-IV favorable histology Wilms' tumor. *J Clin Oncol.* 2004;22:1366-72.

Green DM. Wilms' tumor. *Eur J Cancer.* 1997;33:409-18.

Green, DM, Beckwith JB, Weeks DA, Moksness J, Breslow NB, D'Angio GJ. The relationship between microstaging variables, Age, at diagnosis, and Tumor Weight of children with Stage I/Favorable Histology: A report from the National Wilms' Tumor Study. *Cancer.* 1994;74:1817-20.

Green DM, D'Angio GJ, Beckwith JB, Breslow NE, Grundy PE, Ritchey, ML, Thomas PRN. Wilms tumor. *CA Cancer J Clin.* 1996;46:46-63.

Green DM, Thomas PR, Schochats S. The treatment of Wilms' tumor. Results of the National Wilms' Tumor Studies. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1995;9:1267-74.

Gros P, Croop J, Housman D. Mammalian multidrug resistance gene: complete cDNA sequence indicates strong homology to bacterial transport proteins. *Cell.* 1986;47:371-80.

Gross RE, Neuhauser B. Treatment of mixed tumors of the Kidney in childhood. *Pediatrics.* 1950;6:843.

Grundy PE, Breslow N, Green, DM, Sharples K, Evans A, D'Angio GJ. Prognostic factors for children with recurrent Wilms' tumor: Results from the Second and Third National Wilms' Tumor Study. *J Clin Oncol.* 1989;7:638-47.

Grundy PE, Breslow NE, Li, S, Perlman E; Beckwith JB, Ritchey, ML, et al. Loss of Heterozygosity for chromosomes 1p and 16q is an adverse prognostic factor in favorable histology Wilms tumor. A Report from the National Wilms Tumor Study Group. *J Clin Oncol.* In press 2005.

Grundy PE, Green DM, Coopes, MJ, Breslow N E; Ritchey ML, Pearman EJ, Macklis, RM. Renal tumors. In: Pizzo, P. A. And Poplack, D. Principles and Practices of Pediatric Oncology. 4th ed. Philadelphia: JB Lippincott; 2002. p.865-93.

Grundy PE, Telzerow PE, Breslow N. Loss of heterozygosity for chromosomes 16q and 1p in Wilms' tumor predicts an adverse outcome. *Cancer Res.* 1994;54:2331-3.

Grundy R, Pritchard J, Scambler P, Cowell JK. Loss of heterozygosity on chromosome 16 in sporadic Wilms' tumour. *Br J Cancer*. 1998;78:1181-7.

Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robison LL. Incidence of cancer in children in the United States: sex, race, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer*. 1995;75:2186-95.

Harris CC, Holstein M. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med*. 1993;326:1318-27.

Heuch JM, Heuch I, Kvale G. Birth characteristics and risk in Wilms tumor: a national wide prospective study in Norway. *Br J Cancer*. 1996;74:1148-51.

Hill DA, Shear TD, Liu Tiebin, Billups CA, Singh PK, Dome JD. Clinical and biologic significance of nuclear unrest in Wilms tumor. *Cancer*. 2003;97:2318-26.

Hinds P, Finlay C, Levine AJ. Mutation is required to activate the p53 gene for cooperation with the ras oncogene and transformation. *J Virol*. 1989;63:739-46.

Hing S, Lu Y, Summersgill B, King-Underwood L, Nicholson J, Grundy P, et al. Gain of 1q is associated with adverse outcome in favorable histology Wilms' tumor. *Am J Pathol*. 2001;158:393-8.

Huang J, Soffer SZ, Kim ES, Yoiko A, Moore JT, McCrudden KW, et al. P53 accumulation in favorable-histology Wilms tumor is associated with angiogenesis and clinically aggressive disease. *J Pediatr Surg*. 2002;37:523-7.

Huff V. Wilms Tumor genetics. *Am J Med Genet*. 1998;79:260-7.

Iniss MD. Nephroblastoma: possible index cancer childhood. *Med J Aust*. 1972;1:18-20.

Innis MD. Nephroblastoma: possible index cancer childhood. *Med J Aust*. 1973;2:322-3.

International Society of Paediatric Oncology. Nephroblastoma clinical trial and study. SIOP 2001, Protocol. Amsterdam, the Netherlands: SIOP; 2001.

Iyer V, Kapila K, Agarwala S, Dinda Ak, Verm K. Wilms' tumor: Role of fine needle aspiration and DNA ploidy by image analysis in prognostication. *Anal Quant Cytol Histol*. 1999;21:505-11.

Jereb B, Burgers JMV, Tournade MF, Lemerle J, Bey P, Delemarre J, et al. Radiotherapy in the SIOP (International Society of Pediatric Oncology) Nephroblastoma studies: a review. *Med Pediatr Oncol.* 1994;22:221-7.

Jereb B, Tournade MF, Lemerle J, Voûte PA, Delemarre JF, Ahstrom L, et al. Lymph node invasion and prognosis in nephroblastoma. *Cancer.* 1980;45:1632-6.

Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochem Biophys Acta.* 1976;455:152-7.

Juranka PF, Zastawny RL, Ling V. P-glycoprotein multidrug-resistance and a super-family of membrane associated transport proteins. *FASEB J.* 1989;35:83-9.

Kalapurakal JA, Dome JS, Pearlman EJ, Malogolowkin M, Haase GM, Grundy P, Coppes MJ. Management of Wilms' tumour: current practice and future goals. *Lancet.* 2004;5:37-46.

Kaplan E.L, Meier P. Non parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc.* 1958;53:457-81.

Kessel D, Botteril V, Wodinsky I. Uptake and retention of daunomycin by mouse leukemic cells as a factor in drug response. *Cancer Res.* 1968;28:938-41.

Knudson AG, Strong LC. Mutation and cancer: A model of Wilms' tumor of kidney. *J Natl Cancer Inst.* 1972;48:213-24.

Koufos A, Grundy P, Morgan, K. Familial Wiedmann-Beckwith syndrome and a second Wilms' tumor locus both map to 11p15.5. *Am J Human Genet.* 1989;44:711-19.

Kumar R, Fitzgerald R, Breatnach F. Conservative surgical management of bilateral Wilms tumor: Results of the United Kingdom Children's Cancer Study Group. *J Urol.* 1998;160:1450-3.

Kumar S, Marsden HB, Cowan RA, Barnes JM. Prognostic relevance of DNA content in childhood renal tumors. *Br J Cancer.* 1989;59:291-95.

Kusafuka T, Fukuzawa M, Oue T, Komoto Y, Yoneda A, Okada A. Mutation analysis of p53 gene in childhood malignant solid tumors. *J Pediatr. Surg.* 1997;32:1175-80. Ladd WE, White RR. Embryoma of the kidney (Wilms tumor). *JAMA.* 1941;117:1858.

Lahoti, C, Thorner P, Malkin D, Herman Y. Immunohistochemical detection of p53 in Wilms' tumors correlates with unfavorable outcome. *Am J Pathol.* 1996;148:1577-89.

Larsen E, Perez-Atayde A, Green DM, Retnik A, Clavell LA, Salan SE. Surgery only for the treatment of patients with stage I (Cassady) Wilms' tumor. *Cancer.* 1990;66:264-6.

Layfield LJ, Ritchie AWS, Ehrlich R. The relationship of deoxyribonucleic acid content to conventional prognostic factor in Wilms' tumor. *J Urol.* 1989;142:1040-3.

Ledlie EM, Mynors LS, Draper GJ, Gorbach PD. Natural history and treatment of Wilms' tumor: an analysis of 335 cases occurring in England and Wales 1962-6. *Br Med J.* 1970;4:195-200.

Lemerle J, Tournade MF, Gerard-Marchant R, Flamant R, Sarrazin D, Flamant F, et al. Wilms' tumor: natural history and prognostic factors: a retrospective study of 248 cases treated at the Institut Gustave-Roussy 1952-1967. *Cancer.* 1976;37:2557-66.

Lemerle J, Tournade, MF, Voûte, PA. Effectiveness of preoperative radiotherapy (POXRT) and/or chemotherapy (POC) in Wilms' tumor (WT). *Proc Am Soc Clin Oncol.* 1981;17:407[abstract].

Leung RS, Liesner RI, Brock P. Coagulopathy as a presenting feature of Wilms tumor. *Eur J Pediatr.* 2004;163:369-73.

Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature.* 1991;351:453-6.

Licht T, Pastani I, Gottesman MM, Hermann F. The multidrug-resistance gene in gene therapy of cancer and hematopoietic disorders. *Ann Hematol.* 1996;72:184-93.

Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, Housman DE. p53 – dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anti-cancer agents. *Cell.* 1993;74:957-67.

Maheswaran S, Englert C, Bennett P, Heinrich H, Haber DA. The TW1 gene product stabilizes p53 and inhibits p53-mediated apoptosis. *Genes Dev.* 1995;9:2143-56.

Malkin D, Sexmith E, Hermann Y, Williams BRG, Coppes MJ. Mutations of the p53 tumor suppressor gene occur infrequently in Wilms' tumor. *Cancer Res.* 1994;54:2077-9.

Mantel N. Evaluation of survival data on two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep.* 1966;50:163-70.

Martins AG. Staging designation for bilateral Wilms' tumours. [Letter] *Med Pediatr Oncol.* 1991;19:87.

Mastroti, R.A. Tumores do trato urinário. In: Toporovski J, De Mello VR; Perrone Ch C, Filho DM. Nefrologia pediátrica. São Paulo: Sarvier; 1991. p.417-26.

Matsunaga E. Genetics of Wilms' tumor. *Human Genet.* 1981;57:231-46.

Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res (Suppl.)*. 1994;54:1969-75.

Mirra AP, Latorre MRDO, Veneziano DB. Incidência, mortalidade e sobrevida do câncer no município de São Paulo. São Paulo: ministério da saúde; Instituto Nacional do Câncer; CONPREV; 2004.

Miser JS, Tournade MF. The management of relapsed Wilms'tumor. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1995;9:1287-301.

Neville HL, Ritchey ML. Overview of National Wilms' Tumor Study Group Results. *Urol Clin North Am.* 2000;27:435-42.

Oda Y, Röse I, Radig K, Wagemann W, Mittler U, Roessner A. Expression of MDR1/p-glycoprotein and multidrug resistance-associated protein in childhood solid tumors. *Virchows Arch.*1997;430:99-105.

Odone Filho V, Maluf Junior PT, Sanna MC, Eustáquio MS. Dois tumores sólidos frequentes na infância. Neuroblastoma e tumor de Wilms. *Pediatria (São Paulo)*. 1983;5:155-61.

Osler W. Two cases of striated myo-sarcoma of the kidney. *J Anat Physiol.* 1879;14:229-33.

Othersen HB, Delorimer A, Hrabovsky E, Kelalis P, Breslow, N., D'Angio GJ. Surgical evaluation of lymph node metastasis in Wilms' tumor. *J Pediatr Surg.* 1990;25:330-1.

Owens CM, Veys PA, Pritchard J, Levitt G, Imeson J, Dicks-Mireaux C. Role of chest computed tomography at diagnosis in the management of Wilms' tumor: a study by the United Kingdom Children's Study Group. *J Clin Oncol.* 2002;20:2768-73.

Pastore G, Carli M, Lemerle J, Tournade MF, Voûte PA, Rey A, et al. Epidemiological features of Wilms' tumor: Results of studies by the International Society of Paediatric Oncology (SIOP). *Med Pediatr Oncol.* 1988;16:7-11.

Peres EM, Süreyya S, Cushing B, Abella S, Mohamed AN. Chromosome analyses of 16 cases of Wilms' tumor: different pattern in unfavorable histology. *Cancer Genet Cytogenet.* 2004;148:66-70.

Perez CA, Kaiman HA, Keith J, Mill WB, Vietti TJ, Powers WE. Treatment of Wilms' tumor and factors affecting the prognosis. *Cancer.* 1973;32:609-17.

Perry, ME, Levine AJ. Tumor-suppressor p53 and the cell cycle. *Curr Opin Genet Dev.* 1993;3:50-4.

Petruzzi MJ, Green DM. Wilms' tumor. *Pediatr Clin North Am.* 1997;44:939-52.

Picksley SM, Lane DP. P53 AND Rb: Their cellular roles. *Curr Opin Genet Dev.* 1994;6:853-8.

Pinkerton CR, Groot-Loonen JJ, Morris-Jones PH, Pritchard J. Response rates in relapsed Wilms' tumor: a need for new effective agents. *Cancer.* 1991;67:567-71.

Pritchard J, Imeson J, Barnes J, Cotteril S, Gough D, Marsden HB, Morris-Jones P, Pearson D. Results of the United Kingdom Children's Cancer Study Group First Wilms' Tumor Study. *J Clin Oncol.* 1995;13:124-33.

Pritchard J, Kelsey A, Vujanic J, Imeson J, Hutton C, Mitchell C. Older Age is an adverse prognostic factor in Stage I favorable histology Wilms' tumor treated with vincristine monochemotherapy: A study by the United Kingdom Children's Cancer Study Group, Wilms' Working Group. *J Clin Oncol.* 2003;21:3269-75.

Pritchard J, Ransley PG. Staging designation for bilateral Wilms' tumours [Letter]. *Med Pediatr Oncol.* 1991;19:61.

Pritchard-Jones K, Grundy EP, Coppes MJ. Recent Advances in the genetics of childhood renal cancers. A report of the 3<sup>rd</sup> International Conference of the molecular and clinical genetics of childhood renal tumors, together with the Mitchell Ross Symposium on anaplastic and other high risk embryonal tumors of childhood 8-10<sup>th</sup> April, 1999, Wistar Institute, Philadelphia, PA. *Med Pediatr Oncol.* 2000;35:126-30.

Rainwater LM, Hosaka Y, Farrow GM, Kramer SA, Kelalis PP, Lieber M M. Wilms tumors: relationship of nuclear deoxyribonucleic acid ploidy to patient survival. *J Urol.* 1987;138:974-7.

Rance TF. Case of fungus haematodes of the kidneys. *Med Phys J.* 1814;32:19-25.

Re GG, Hazen-Martin DJ, El-Bahtimi R, Brownlee NA, Willingham MC, Garvin AJ. Prognostic significance of Bcl-2 in Wilms tumor and oncogenic potential of Bcl-X(L) in rare tumors cases. *Int J Cancer.* 1999;84:192-200.

Ritchey MI, Coppes MJ. The management of synchronous bilateral Wilms tumor. *Hemat Oncol Clin North Am.* 1995;9:1303-15.

Ritchey ML, Kelalis PP, Breslow N, Offord KP, Schocat SJ, D'Angio GJ. Intracaval and atrial involvement with nephroblastoma: review of National Wilms' tumor-3. *J Urol.* 1988;140:113.

Rohrschneider WK, Weirich AR, Riden K, et al. US, CT and MR imaging characteristics of nephroblastomatosis. *Pediatr Radiol.* 1998;28:435-43.

Schettini ST. Avaliação do papel do cirurgião no tratamento do Tumor de Wilms: análise de um estudo cooperativo. *Rev Ass Med Brasil.* 1999;45:342-6.

Schmidt D, Beckwith JM. Histopathology of childhood renal tumors. *Hemat Oncol Clin North Am.* 1995;9:1179-99.

Serra M, Scotlandi K, Reverter-Branchat G, Ferrari S, Manara MC, Benini S, Incaprera M, Bertoni F, Mercuri M, Briccoli A, Bacci G, Picci P. Value of P-glicoprotein and clinicopathologic factors as the basis for new treatment strategies in high-grade osteosarcoma of the extremities. *J Clin Oncol.* 2003;21:536-42.

Shamberger RC, Guthrie KA, Ritchey ML, Haase GM, Takashima J, Beckwith JB, et al. Surgery-related factors and local recurrence of Wilms tumor in National Wilms Tumor Study 4. *Ann Surg.* 1999;229:292-7.

Sharpe CR, Franco EL, De Camargo B, Lopes LF, Barreto JH, Johnsson RR, et al. Parenteral exposures to pesticides and the risk of Wilms' tumor in Brazil. *Am J Epidemiol.* 1995;141:210-7.

Shen DW, Fojo AT, Chin JE. Human multidrug-resistant cell lines: Increased mdr1 expression can precede gene amplification. *Science.* 1986;232:643-5.

Skotnicka-Klonowicz G, Kobos J, Lost E, Trejster E, Szymik-Kantorowicz S, Daszkiewicz P. Prognostic value of the proliferating cell nuclear antigen in Wilms' tumor in children. *Eur J Surg Oncol.* 2002;28:61-71.



Sola JE, Wojno, KJ, Dooley W, Colombani PM. P-glycoprotein status of favorable-histology Wilms' tumor predicts treatment outcome. *J Pediatr Surg.* 1994;29:1080-4.

Space SL, Albano EA. Wilms tumor. In: Wood, ME. Hematology/oncology secrets. 2nd ed. Philadelphia: Hanley Belfus Inc; 1999. p.350-6.

Sredni TS, de Camargo B, Lopes LF, Teixeira RAP. Immunohistochemical detection of p53 protein expression as a prognostic indicator in Wilms tumor. *Med Pediatr Oncol.* 2001;37:455-8.

Stiller, Parkin DM. International variations in the incidence of childhood renal tumours. *Br J Cancer.* 1990;62:1026-30.

Sutow WW. Chemotherapy in Wilms' tumor: an appraisal. *Cancer.* 1973;32:1150-3.

Sutow WW, Thurman WG, Windmiller J. Vincristine (leucocristine) sulfate in the treatment of children with metastatic Wilms' tumor. *Pediatrics.* 1963;32:880-7.

Takamizawa S, Scott D, Wen J, Grundy P, Bishop W, Kimura K, et al. The survivin:fas ratio in pediatric renal tumors. *J Pediatr Surg.* 2001;36:37-42.

Teixeira RAP. *Tumor de Wilms: avaliação clínica, histológica, imunohistoquímica(p53) e prognóstico* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo; 2000.

Terenzini M, Spreafico F, Collini P, PL, Perotti D, Podda M, Gandola L, et al. Adult Wilms' tumor: a monoinstitutional experience and a review of the literature. *Cancer.* 2004;101:289-93.

Tournade MF, Com-Nougue N, Voûte PA, Lemerle J, De Kraker J, Delemarre J.FM, et al. Results of the Sixth International Society of Pediatric Oncology Wilms' Tumor Trial and Study; a risk-adapted therapeutic approach in Wilms' tumor. *J Clin Oncol.* 1993;11:1014-23.

Ueda K, Cornwell M, Gottesman MM. The *mdr-1* gene responsible for multidrug resistense codes for p-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun.* 1986;141:956-62.

Van Der Byl F. Cancerous growth of the kidney, weighing thirty-one pounds. *Lancet.* 1856;2:309.

Velasco S, D'Amico D, Scheneider NR, Timmons C, Chappell E, Lee D, et al. Molecular and cellular heterogeneity of Wilms' tumor. *Int J Cancer*. 1993;53:672-9.

Volm M, Mattern J, Stammler G, Royer-Pokora B, Schneider S, Weirich A, et al. Expression of resistance-related proteins in nephroblastoma after chemotherapy. *Int J Cancer*. 1995;63:193-7.

Von-Eberth, CJ. Myoma sarcomatodes renum. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol*.1872;55:518-20.

Voûte PA, Lemerle J. Trial of therapy and prospective study of nephroblastoma. *Pediatrics*. 1972;49:638-9.

Vujanic GM, Harms D, Sandstedt B, Weirich A, De Kraker J, Delemarre JFM. New definitions of focal and diffuse anaplasia in Wilms tumor: The International Society of Paediatric Oncology (SIOP) experience. *Med Pediatr Oncol*. 1999;32:317-23.

Vujanic GM, Sandstedt B, Harms D, Kelsey A, Leuschner I, De Kraker J. Revised International Society of Paediatric Working Classification of Renal Tumors of Childhood. *Med Pediatr Oncol* 2002;38:79-82.

Weeks DA, Beckwith B, Luckey, DW. Relapse-associated variables in stage I favorable Histology Wilms' tumor. A report of the National Wilms Tumor Study. *Cancer*. 1987;60:1204-12.

Weirich A, Ludwig R, Graf N, Abel U, Leuschner GM, Vujanic M, et al. Survival in nephroblastoma treated according to the trial and study SIOP-9/GPOH with respect to relapse and morbidity. *Ann Oncol*. 2004;15:808:20.

Wiener JS, Coppes MJ, Ritchey ML. Current concepts in the biology and management of Wilms tumor. *J Urol*. 1998;159:1316-25.

Wilimas JA, Douglass EC, Magrill HL, Ficht S, Hustu HO. Significance of pulmonary computed tomography at diagnosis in Wilms' tumor. *J Clin Oncol*.1988;6:1144-6.

Williams RD, Hing SN, Greer BT, Whiteford CC, Wei JS, Natrajan R, Kelsey A, Rogers S, Campbell C, Pritchard-Jones K, Khan J. Prognostic classification of relapsing favorable histology Wilms tumor using cDNA microarray expression profiling and support vector machines. *Genes Chromosomes Cancer*. 2004;41:65-79.

Wilms M. *Die mischgeschwulste der Niere*. Leipzig: Verlag von Arthur George; 1899.

Wonnacott TH, Wonnacott RJ. *Introductory Statistics*. 5th Ed. New York: John Wiley and Sons; 1990.

Yeazel MW, Ross JA, Buckley JD, Woods WG, Ruccione K, Robison LL. High Birth weigh and risk of specific childhood cancers:A report from the Children's Cancer Group. *J Pediatr*. 1997;131:71-7.

Yong-Jie L, Hing S, Williams R, Pikerton R, Shipley J, Pritchard-Jones K, et al. Chromosome 1q expression profiling and relapse in Wilms' tumour. *Lancet*. 2002;360:385-6.