

MARCOS FRANCISCO DALL'OGLIO

Estudo de genes diferencialmente expressos no carcinoma de células claras do rim pela técnica de microarray *microarray*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Professor Livre-Docente junto ao Departamento de Cirurgia (Disciplina de Urologia)

São Paulo

2008

AGRADECIMENTOS

A Deus, por eu estar aqui e me levar em frente.

Ao Professor Dr. Miguel Srougi, por ajudar meus sonhos se tornarem realidade.

A Dra. Kátia R M Leite, pela intensa participação, apoio e desprendimento na elaboração deste trabalho. Graças a sua postura ética e profissional tornou o LIM 55, uma célula viva de produção científica e intelectual, proporcionando ao Setor de Uro-Oncologia uma possibilidade de crescimento profissional.

A Fabiola Villanova, pelo estímulo e colaboração ativa na análise de microarray *microarray* que este estudo exigiu, bem como aos ensinamentos nesta área. Aos demais colegas do LIM 55, que de uma maneira anônima, proporcionam uma união da biologia molecular com a cirurgia urológica.

Ao Márcio Augusto Afonso de Almeida do Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular InCor – FMUSP, pelas sugestões e correções finais.

A Equipe do Setor de Uro-Oncologia e demais urologistas da Disciplina de Urologia pelo companheirismo.

A Rita de Cássia Ortega Borges, pelo auxílio, dedicação e qualificação técnica insubstituíveis, na elaboração deste trabalho científico.

Ao Professor Dr Miguel Srougi, por ajudar meus sonhos tornarem realidade.

A Deus, por eu estar aqui e me levar em frente.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	
Lista de Figuras	
Lista de Gráficos	
Resumo	
Summary	
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo primário.....	11
2.2 Objetivos secundários.....	11
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	12
3.1 Desenho	12
3.2 Local e Época	12
3.3 Participantes	12
3.4 Critérios de Inclusão	13
3.5 Critérios de Exclusão	13
3.6 Critérios de Avaliação	13
3.7 Intervenção	17
3.7.1 Estudo Anatomopatológico	17
3.7.2 Extração de RNA total.....	18
3.7.3 Ensaios de <i>microarray</i>	18
3.7.4 Protocolo de amplificação de RNAm e hibridização.....	19
3.7.5 Pós-hibridização e Captura de Imagens	21
3.8 Metodologia estatística utilizada para tratamento dos dados de <i>microarray</i>	21
4 RESULTADOS	24
1 INTRODUÇÃO	
2 OBJETIVOS	
2.1 Objetivo primário	
2.2 Objetivos secundários	
3 PACIENTES E MÉTODOS	

3.1	Desenho	
3.2	Local e Época	
3.3	Participantes	
3.4	Critérios de Inclusão	
3.5	Critérios de Exclusão	
3.6	Critérios de Avaliação	
3.7	Intervenção	
3.7.1	Estudo Anatomopatológico	
3.7.2	Extração de RNA total	
3.7.3	Ensaio de microarray	
3.7.4	Protocolo de amplificação de RNAm e hibridização	
3.7.5	Pós-hibridização e Captura de Imagens	
3.8	Metodologia estatística utilizada para tratamento dos dados de <i>Microarray</i>	
3.9	Seguimento	
4	RESULTADOS	
5	DISCUSSÃO	32
6	CONCLUSÃO.....	42
7	ANEXOS.....	43
8	REFERÊNCIAS	67
5	DISCUSSÃO	
6	CONCLUSÃO	
7	ANEXOS	
8	REFERÊNCIAS	

Lista de Tabelas

Tabela 1: POOL metastático.....	15
Tabela 2: Dados demográficos e características anátomo-patológicas	16

Tabela 3: Genes com diminuição progressiva de expressão desde o estado favorável até metastático 27

Tabela 4: Genes com aumento progressiva de expressão desde o estado favorável até metastático 28

Tabela 3 – Genes superexpressos nos casos metastáticos

Tabela 4: Genes subexpressos na metástase em relação aos favoráveis e desfavoráveis

Lista de Figuras

Figura 1: Esquematização dos processos envolvidos na reação de <i>microarray</i>	20
---	----

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Representa a dispersão dos genes estudados normal versus favorável (Plot MA).....	25
Gráfico 2: Representa a dispersão dos genes estudados normal versus desfavorável (Plot MA).....	26
Gráfico 3: Representa a dispersão dos genes estudados normal versus metastático (Plot MA).....	26
Gráfico 4: Demonstração das vias relacionadas aos genes subexpressos nos tumores desfavoráveis em relação aos favoráveis	29
Gráfico 5: Demonstração das vias relacionadas aos genes superexpressos nos tumores desfavoráveis em relação aos favoráveis.....	30
Gráfico 6: Demonstração das vias relacionadas aos genes subexpressos nos tumores metastáticos em relação aos desfavoráveis	31
Gráfico 7: Demonstração das vias relacionadas aos genes superexpressos nos tumores metastáticos em relação aos desfavoráveis	32
Gráfico 1: Representa a dispersão dos genes estudados (Plot MA)	
Gráfico 2: Representa a dispersão dos genes estudados (Plot MA)	
Gráfico 3: Representa a dispersão dos genes estudados (Plot MA)	
Gráfico 4: Representa a dispersão dos genes estudados (Plot MA)	
Gráfico 5: Representa a dispersão dos genes estudados (Plot MA)	

Resumo

Dall'Oglio MF. *Estudo de genes diferencialmente expressos no carcinoma de células claras do rim pela técnica de microarray*. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2008. xxxp.

INTRODUÇÃO: A determinação do prognóstico dos pacientes portadores de carcinoma de células renais (CCR) após o diagnóstico e o tratamento tem se apoiado na análise dos fatores anatomopatológicos clássicos, com estudos incipientes recentes sobre o papel das alterações genômicas nesse sentido. Um dos obstáculos em relação ao emprego destes últimos parâmetros como fator de prognóstico relacionava-se com a dificuldade de se caracterizar ao mesmo tempo o conjunto de genes, dezenas ou centenas, envolvidos com a oncogênese e agressividade de cada tipo de neoplasia. A introdução e possibilidade de se avaliar concomitantemente milhares de genes através da técnica de microarray *microarray* contornou esse obstáculo e serviu de estímulo para o desenvolvimento do presente estudo. Nosso objetivo é avaliar a expressão de 55.000 genes, utilizando a plataforma CodeLink (GE) em pacientes com carcinoma de células renais do tipo células claras, tentando identificar determinantes genéticos relacionados ao processo de carcinogênese e metastatização desta neoplasia. **MÉTODO:** O RNA isolado a partir do tumor de 19 pacientes portadores de CCR do tipo células claras foi obtido dos espécimes cirúrgicos e hibridizado em plataforma de microarray *microarray* contendo 55.000 probes de seqüências humanas (CodeLink – GE). Os diferentes perfis gênicos foram categorizados em três grupos funcionais, de acordo com características anatomopatológicas das doenças: casos favoráveis, casos desfavoráveis, casos metastáticos e comparados com um conjunto de tecido renal normal. Todas as condições tumorais foram comparadas com os dados de expressão dos indivíduos normais e todas as condições tumorais foram comparadas entre si, gerando os seguintes pareamentos 1) Normal vs favorável; 2) Normal vs desfavorável; 3) Normal

vs metastático; 4) Favorável vs Desfavorável; 5) Favorável vs metastático; 6) Desfavorável vs metastático. RESULTADOS: Para análise, selecionamos em cada grupo de comparação os 50 genes com maior nível de superexpressão e subexpressão. Tentando compreender o mecanismo de progressão até o processo de metastatização selecionamos 11 genes que apresentaram incremento de expressão e 9 nove que demonstraram diminuição de expressão partindo do favorável até o grupo de tumores metastáticos. Entre os genes superexpressos estão os genes codificadores de heat shock 70kDa protein 1A, heat shock 70kDa protein 1B e Interleucina 8, proteínas envolvidas na estabilização do fator induzido pela hipóxia 1 (HIF-1), indução da angiogênese e proliferação celular. CONCLUSÕES: Nosso estudo descreve genes diferencialmente expressos no carcinoma de células claras do rim, com ênfase naqueles relacionados ao processo de metastatização. Demonstramos um incremento da expressão de genes desde os tumores considerados favoráveis até os desfavoráveis, sendo os mais importantes a *heat shock 70kDa protein 1A*, *heat shock 70kDa protein 1B* e *Interleucina 8*, proteínas intimamente relacionadas ao processo de carcinogênese dos carcinoma de células claras do rim. Podemos assim sugerir que essas proteínas sejam consideradas quando do desenvolvimento de novas terapias alvo destas neoplasias.

Descritores: Carcinoma de células renais, rim, prognóstico, microarray analysisanálise de microsséries, biologia molecular, expressão gênica, carcinogênese, metástase neoplásica

Summary

Dall'Oglio MF. *Study of gene expression profiles in patients with renal cell carcinoma through the microarray microarray technique* (thesis). São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2008. XXX.

INTRODUCTION: The determination of prognosis in patients with renal cell carcinoma (RCC) after diagnosis and treatment is based on analysis of the classic pathological factors, with only initial studies analyzing the genomic alterations in these patients. One of the drawbacks related to the use of molecular markers as prognostic factors was related to the difficulty in analyzing at the same time a group of genes involved with oncogenesis and aggressiveness of each type of tumor. The *microarray* technique brought the possibility to analyze simultaneously thousands of genes, thus overcoming this obstacle and encouraging the present study. We analyzed the expression of 55.000 genes in the tissue of patients with clear cell RCC and tried to define genes involved with the process of carcinogenesis and metastasization of the disease.

METHODS: The RNA extracted from the tumors of 19 patients with clear cell RCC was obtained from surgical specimens and hybridized in a *microarray* platform with 55.000 human sequences probes (CodeLink – GE). The different gene profiles were categorized into three functional groups according to the pathological characteristics of the disease: favorable cases, unfavorable cases and metastatic cases. These groups were compared to a group of normal renal tissue. All tumoral conditions were compared to the gene expression data of normal subjects and they were also compared to each other, resulting in the following pairs: 1) normal vs. favorable cases; 2) normal vs. unfavorable cases; 3) normal vs. metastatic cases; 4) favorable cases vs. unfavorable cases; 5) favorable cases vs. metastatic cases; 6) unfavorable vs. metastatic cases. **RESULTS:** For analysis we selected the 50 genes with the greatest level of over-expression and under-expression. Trying to understand the progression mechanism until metastasization we selected 11 genes that presented an increased expression and 9 genes that

presented a decreased expression starting from the favorable to the metastática group. Among the over-expressed genes we found the gene that encodes for the heat shock 70kDa protein 1A, heat shock 70kDa protein 1B and interleukin 8, proteins involved in the stabilization of the hypoxic induced factor 1 (HIF-1), angiogenesis induction and cellular proliferation. CONCLUSIONS: The present study describes genes that are differently expressed in clear cell RCC, with emphasis on the genes related to the metastasization process. We demonstrated an increase of gene expression from favorable tumors toward the unfavorable cases, with the heat shock 70kDa protein 1A, heat shock 70kDa protein 1B and interleukin 8 being the most important genes. These proteins are closely related to the carcinogenesis process of clear cell RCC. Thus we suggest that these proteins should be considered in the studies aiming the development of new target cell therapies for clear cell RCC.

Keywords: renal cell carcinoma, *microarray* analysis, prognosis, survival, gene expression, molecular biology, neoplasm metastasis

INTRODUCTION: The determination of prognosis in patients with renal cell carcinoma (RCC) after diagnosis and treatment is based on analysis of the classic pathological factors, with only initial studies analyzing the genomic alterations in these patients. One of the drawbacks related to the use of molecular markers as prognostic factors was related to the difficulty in analyzing at the same time a group of genes involved with oncogenesis and aggressiveness of each type of tumor. The microarray technique brought the possibility to analyze simultaneously thousands of genes, thus overcoming this obstacle and encouraging the present study. We analyzed the expression of 55.000 genes in the tissue of patients with diagnosis of RCC and tried to define genes involved with the prognosis of these patients. METHODS: The RNA extracted from the tumors of 21 patients with RCC was hybridized through the microarray technique. The different gene expression profiles were categorized into four functional groups according to the

pathological characteristics of the disease: favorable cases, unfavorable cases, metastatic cases and normal kidney. The genetic expression of each group was analyzed and classified according to its individual value. The transcription of each reaction chain confirmed the expression of genes related to RCC. RESULTS: The comparison of expression profiles from the RCC samples and cellular lines showed significant differences between the tumors and its behavior characteristics (XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX). CONCLUSIONS: The study of gene expression profile in the tissue of RCC patients through the cDNA microarray technique can help to better characterize the carcinogenesis process and prediction of tumoral progression. We identified distinct genomic profiles in RCC tissue that could discriminate favorable, unfavorable, and metastatic cases. These profiles can be used to construct a model of carcinogenesis and tumoral progression.

Keywords: renal cell carcinoma, microarray analysis, prognosis, survival, gene expression, molecular biology, neoplasm metastasis

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que o carcinoma de células renais (CCR) será responsável por 54.390 novos casos de câncer e 13.010 mortes no ano de 2008 nos EUA (Jemal et al., 2008). No Brasil, infelizmente não dispomos de números específicos sobre o CCR, todavia, se fizermos uma projeção de 3%, baseada nos dados estatísticos do Instituto Nacional do Câncer, a estimativa é de 14.091 novos casos de CCR em 2008 (Brasil, 2008).

Os indivíduos cujo CCR encontra-se localizado e localmente avançado apresentam, respectivamente, expectativa de vida de 95% e 65% em cinco anos, já dentre aqueles com doença metastática, somente 18% sobreviverão por dois anos (Linehan et al., 2005). Os resultados da quimioterapia e radioterapia na doença avançada são insatisfatórios (Linehan e Zbar, 2004; Mancuso e Sternberg, 2005), sendo a imunoterapia o tratamento padrão nos últimos anos (falta Sternberg, 2003), com taxas de respostas alentadoras quando se utilizam interferon alfa, interleucina 2, sunitinib, sorafenib, e bevacizumab (Costa e Drabkin, 2007). Por este motivo torna-se de crucial importância conhecer todos os mecanismos carcinogênicos e os fatores de previsão prognóstica nos casos de CCR para tratá-los de modo mais eficiente.

O CCR não é uma doença única, ele compreende diferentes tipos de câncer que ocorrem no rim, cada um com diferente histologia, curso clínico peculiar, com resposta diversa às diferentes terapias e relacionados com alterações genéticas inespecíficas (Linehan et al., 2003). O fato dos

pacientes portadores de CCR estarem sujeitos a diferentes formas de evolução, motiva permanentes discussões e gera controvérsias quanto a abordagem de tais casos.

Reconhecem-se vários fatores prognósticos clínicos e anatomopatológicos que interferem com o comportamento da doença. Dentre os mais importantes e classicamente conhecidos destacam-se o estágio clínico e anátomo-patológicoanatomopatológicos (Flocks e Kadesky, 1958), o tamanho do tumor (Bell, 1938) o grau nuclear (Fuhrman et al., 1982), a presença de invasão microvascular intratumoral (Van Poppel et al., 1997), o subtipo histológico (Storkel et al., 1997), a presença de áreas de necrose no tumor (Frank et al., 2002) e o estado de *performance* do paciente (Tsui et al., 2000).

O estágio do CCR reflete a extensão anatômica da doença e é reconhecido como o fator prognóstico mais importante da sua evolução. (Leibovich et al., 2003). Todavia, após o estadiamento proposto por Robson et al. (1969) várias modificações foram introduzidas com o intuito de adequar melhor o estágio ao comportamento da doença. Atualmente, estamos na quinta revisão do sistema TNM para o CCR (Sobin e Wittekind, 2002), cuja principal modificação foi subdividir o estágio T1 em T1a e T1b (Hafez et al., 1999; Dall'Oglio et al., 2003b2003a). Atualmente, segundo o estágio TNM (Sobin e Wittekind, 2002) sobrevida de cinco anos para o estágio I varia de 91% a 100%, para o estágio II de 69% a 95%, para o estágio III de 59% a 76% e para o estágio IV de 16% a 32%. (Guinan et al., 1994; Tsui et al., 2000; Javidan et al., 1999; Kinouchi et al., 1999).

O tamanho do tumor se consolidou como um fator prognóstico independente muito importante nos casos de CCR, merecendo freqüentes publicações a respeito (Kontack e Campbell, 2003; Dall'Oglio et al., 2003). Vale ressaltar que o tamanho dos tumores renais no momento do diagnóstico tem diminuído nos últimos anos, com uma redução no diâmetro médio dos tumores ressecados de 7,8 cm para 5,3 cm e um aumento na porcentagem de tumores órgão-confinados de 47% para 78%, comparando-se os anos de 1989 e 1998 (Lee et al., 2000). As perspectivas de cura para tumores renais com menos de 7 cm submetidos a nefrectomia são muito boas, com possibilidades de recidiva da doença variando de 2,6% a 9% para os tumores nos estágios T1a e T1b respectivamente (Patard et al., 2004).

O grau nuclear é outro importante parâmetro prognóstico (Méjean et al., 2003; Kontack e Campbell, 2003) e, nesse sentido, o estudo original de Fuhrman (1982) demonstrou sobrevida de cinco anos para os graus I a IV de 64%, 34%, 31% e 10%, respectivamente. Quando avaliada a expectativa de vida de cinco anos, observou-se 86% e 35% para tumores de baixo (I e II) e alto grau (III e IV) de Fuhrman, respectivamente (Dall'Oglio et al., 2007a).

Apesar dos inúmeros fatores anatomopatológicos clássicos que objetivam avaliar o prognóstico do CCR nós destacamos três que se mostraram como independentes em análise multivariada. Com isto nova tríade patológica prognóstica foi proposta para o CCR (Dall'Oglio et al., 2007b), que é caracterizada pela presença de êmbolos neoplásicos na microvasculatura tumoral, grau nuclear de Fuhrman e tamanho da lesão. As variáveis resultam em três grupos de risco: baixo, intermediário e alto.

Tumores de baixo risco são aqueles tumores sem invasão microvascular, baixo grau de Fuhrman e tamanho menor que 7 cm (expectativa de vida de 95%). O risco intermediário é aquele em que um dos três fatores desfavoráveis está presente (expectativa de vida 57%),. O o terceiro grupo, de alto risco, é aquele com invasão tumoral microvascular grau nuclear de Fuhrman 3 ou 4 e tamanho do tumor maior que 7 cm (expectativa de vida 13%).

A presença de invasão microvascular intratumoral é fator prognóstico anatomopatológico de alta relevância (van Poppel et al., 1997), constatando-se que mesmo nos casos de CCR em estágio inicial ocorre recorrência da doença em 50% dos pacientes quando esse fator é positivo (Gonçalves et al. 2004). Mais recentemente, foi destacada a relevância desse parâmetro, ao identificarmos uma sobrevida de cinco anos de 88% na ausência de invasão microvascular intratumoral. Já a sobrevida câncer específica e livre de doença foram, respectivamente, de 40% e 27% nos tumores que apresentavam essa característica (Dall'Oglio et al., 2007c).

Os diversos subtipos histológicos do CCR têm sido amplamente estudados como fatores adicionais de prognóstico independente. A classificação histológica dos CCR atualmente aceita é aquela proposta pela Organização Mundial da Saúde (Eble et al., 2004). Todavia a agressividade biológica de cada padrão histológico ainda é assunto controverso na literatura. Os subtipos mais comuns do CCR são os de células claras (75%), papilares (15%), células renais cromóforas (5%) e carcinoma de ductos

coletores ou de Bellini (2%) (Curti, 2004). A expectativa de vida nos tumores do tipo células claras é de 68%, cromófobos de 82%, papilar ou cromófilos de 80% e sarcomatosos de 39% (Dall'Oglio et al., 2007ac). A degeneração sarcomatóide pode somar-se a qualquer um dos quatro subtipos (Storkel et al., 1997) e caracteriza maior agressividade da doença. Foi observado que os tumores com áreas de padrão sarcomatoso apresentam-se em estágio avançado e sintomáticos em 87% dos casos (Dall'Oglio et al., 2005).

Ao estado de *performance* é atribuído papel importante na evolução dos casos de CCR, particularmente, quanto à possibilidade de resposta aos regimes de imunoterapia nos tumores metastáticos (Fallick et al., 1997) ou em qualquer estágio do CCR (Zisman et al., 2001). De uma maneira geral, a presença de alterações clínicas no momento do diagnóstico revela perfil mais agressivo da doença (Pantuck et al., 2001). A expectativa de vida de cinco anos em pacientes com CCR e diagnóstico incidental variou de 83 a 85% e nos tumores sintomáticos foi de 57 a 62%. (Dall'Oglio et al., 2007a; Pantuck et al., 2001).

A alteração genética mais característica no CCR do tipo células claras (CCC) é representada pela perda do cromossomo 3p, onde se localiza o gene von Hippel-Lindau (VHL) (Seizinger et al., 1988). O gene VHL é um gene supressor de tumor, cuja proteína se liga a duas outras denominadas elonguinas C e B, que são críticas para o controle transcricional. O complexo VHL-elonguina C/B se liga a Cul-2, que leva a

degradação da proteína HIF-1 (fator induzido pela hipóxia 1) via ubiquitina. O HIF-1 regula positivamente a transcrição de uma série de genes relacionados à angiogênese, entre eles o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador alfa (TGF- α) e eritropoietina. A perda da repressão do HIF-1 pela proteína VHL libera a ação desses fatores, aumentando a atividade de genes pró-angiogênicos e estimuladores da proliferação celular (Linehan et al., 2003). A forma familiar se caracteriza pela herança germinativa da mutação de VHL. As mutações envolvidas são específicas e distintas e envolvem a perda da função supressora, como na síndrome de VHL. (Latif et al., 1993). Estudos recentes mostraram mutações do gene VHL em aproximadamente 75% dos casos de CCR esporádico (Foster et al., 1994). Outras alterações genéticas encontradas no CCR células claras incluem alterações nos cromossomos 8p, 14q e 9p (Hatano et al., 2001).

O CCR do tipo papilífero é o segundo mais comum e manifesta-se sob dois tipos, o tipo I com células menores de citoplasma basofílico e o tipo II com células de citoplasma mais amplo e eosinofílico. Geneticamente são descritos ganhos dos cromossomos 7, 17 e 20 e perda do Y em homens (Hatano et al., 2001; Van den Berg et al., 1997; Lopez-Beltran et al., 2006). A forma familiar está relacionada com a mutação do gene c-met, localizado no cromossomo 7q31-1-34, que promove a ativação constitutiva da proteína met, que atua na ligação intracelular mediada pela tirosina kinase. Clinicamente, a doença caracteriza-se por carcinomas múltiplos e bilaterais,

de aparecimento nas 4^a, 5^a ou 6^a décadas. Á semelhança dos carcinomas de células claras familiares são tumores agressivos e, metastatizantes (Linehan et al., 2003). Outra doença maligna do rim com herança genética é o CCR papilar hereditário, nos quais os portadores desenvolvem tumores múltiplos e bilaterais, tem caráter autossômico dominante, é transmitida pelo cromossomo 7q e o gene envolvido é o proto oncogene met (Schmidt et al., 1997). No CCR cromófobas, são observadas perdas múltiplas de cromossomos 1, 2, 6, 10, 17 e 21 (Kovacs et al., 1992; Speicher et al., 1994; Lopez-Beltran et al., 2006). A forma hereditária é representada pela síndrome de Birt-Hogg-Dubé, doença autossômica dominante rara que se caracteriza por hamartomas de folículos pilosos na face e região cervical com aparecimento do CCR cromóforo em 15% dos indivíduos. Nesses casos, os tumores são múltiplos, freqüentemente associados a oncocitomas. O gene BHD, localizado no cromossomo 17p, codifica uma proteína, a foliculina, provável supressora tumoral (Pavlovich et al., 2002; Cohen e McGovern, 2005).

O CCR de ductos coletores ou de Bellini é um tumor raro e extremamente agressivo, apresenta monossomias dos cromossomos 1, 6, 14, 15 e 22 (Fuzesi et al., 1992; Steiner et al., 1996).

Com os recentes avanços nos conhecimentos sobre a genômica e um conhecimento aperfeiçoado das anormalidades genéticas relacionadas com o CCR, foi possível estabelecer a origem desses tumores a partir do epitélio tubular renal. Ademais, como consequência desses avanços, começou-se a identificar o perfil genético dessa doença a partir de outros parâmetros como

ploidia celular. Os estudos iniciais com a quantificação de DNA pela citometria de fluxo, não trouxeram resultados promissores inicialmente (Ljunberg et al., 1986; Ljunberg et al., 1996). Posteriormente, novos dados sobre análises de ploidia no CCR demonstraram uma expectativa de vida de dez anos em tumores de rim localizados de, respectivamente 94% e 8% nas lesões diplóides e aneuplóides (Abou-Rebyeh et al., 2001). Contudo, esses estudos receberam críticas em função da grande heterogeneidade desses tumores e da dificuldade em se efetuar análises individuais do DNA. Mais recentemente, outro estudo avaliando o CCR localizado demonstrou risco de progressão da doença de 4% nos pacientes portadores de tumores com menos de três centímetros de diâmetro, e de 32% e nos tumores com mais de 10 cm, ademais, risco de 43% versus 99% para tumores diplóides e aneuplóides, respectivamente (Di Silvério et al., 2000).

Estudos com morfometria nuclear (Carducci et al., 1999) também demonstraram importante significado desse parâmetro na análise de comportamento do CCR, principalmente nos tumores em estágio inicial. A análise nuclear morfométrica de padrão elíptico, junto com o estágio e o grau da lesão, discriminou grupos independentes de modelo prognóstico (Pound et al., 1993). Antígenos nucleares de proliferação celular, como o Ki -67, permitem prever a agressividade biológica da doença e correlacionam-se com os riscos de recorrência da mesma (Onda et al., 1999). Outros marcadores moleculares relacionados com apoptose, incluindo o p53, o bcl-2 e o p21, também revestem-se de valor clínico para definir prognóstico mas

a inúmeros marcadores biomoleculares e sua real importância dos mesmos está sob investigação (Shishikura e Suzuki, 1996; Bonsib, 1999).

Com os novos conhecimentos em genética e o surgimento de novas tecnologias como o microarray *microarray*, desponta no horizonte a possibilidade de se utilizar a expressão gênica como fator de prognóstico em diferentes neoplasias incluindo o CCR. Vale lembrar que os fatores de prognóstico atualmente utilizados, como a avaliação anatomopatológica, não são perfeitos. Nesse aspecto, os avanços no conhecimento da oncogênese e da biologia do CCR são essenciais para definir novas formas de tratamento e ferramentas para prever o prognóstico desses casos. O surgimento da tecnologia do microarray *microarray* permite investigar a expressão de milhares de genes simultaneamente (DeRisi et al., 1996; Lockhart et al., 1996; Schena et al., 1996; Golub et al., 1999; Ross et al., 2000). Com isto, as análises da expressão gênica em larga escala criam a possibilidade de se identificar marcadores específicos que poderão ser usados, não apenas para permitir o diagnóstico e definir o prognóstico, mas também para a identificação de drogas mais específicas e compatíveis com as características individuais de cada tumor. Particularmente no CCR, marcadores moleculares utilizando microarray *microarray* já foram relatados (Bøer et al., 2001; Takahashi et al., 2001; Young et al., 2001). Ao utilizar “chips” de 31.500 genes, Bøer et al. (2001) identificou 1738 genes diferencialmente expressos CCR. Takahashi (2001), após identificar 109 alterações genéticas distintas em 29 casos de CCR, selecionou 40 genes para prever a evolução clínica, e essa foi mais importante que a avaliação

dada pelo estágio. Mais recentemente Higgins et al. (2003) comparou a expressão genética dos diferentes tipos histológicos do CCR incluindo células claras, papilíferos e cromóforos, mostrando características distintas quanto a expressão de cada subtipo histológico do CCR, justificando a teoria que deverá ser individualizada a terapia biológica para obter-mos melhores resultados.

Com o entendimento dessas vias, bem como das mutações genômicas responsáveis, desde a codificação anômala até a cascata dos acontecimentos dentro da maquinaria celular, duas consequências práticas serão produzidas: poder-se-á definir fatores de prognóstico que ajudarão a conduzir melhor cada caso de CCR e, ademais, será possível desenvolver “drogas alvo”, com capacidade de agir especificamente em proteínas anômalas, inativando-as e interrompendo o ciclo da oncogênese. Como exemplo, vale enfatizar a síntese de bevacizumab (Yang et al., 2003), sorafenib (Escudier et al., 2007), temsirolimus (Hudes et al., 2007) e o sunitinib (Motzer et al., 2007); todos envolvidos com a cascata molecular anormal que gera os CCR.

Acreditamos que a definição do perfil genômico dos diferentes tipos e estágios de desenvolvimento dos CCR, servirá para prever, de forma bastante específica a evolução de de cada caso, permitindo que tratamentos mais ou menos agressivos e mais específicos sejam adotados na prática.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

Identificação de genes diferencialmente expressos no carcinoma de células renais do tipo células claras pela técnica de *microarray* *microarray*.

2.2 Objetivos secundários

- Identificar a expressão diferenciada de genes entre os carcinomas de células claras (CCC) de baixo risco, alto risco e metastático e comparar ao tecido renal normal.
- Caracterizar um perfil de expressão gênica que possa identificar os tumores de alto risco, possibilitando a introdução de terapia adjuvante.
- Identificar novos biomarcadores de agressividade e prognóstico

3 PACIENTES E MÉTODOS

3.1 Desenho

Estudo retrospectivo envolvendo 19 amostras de tecido tumoral de pacientes que foram submetidos a tratamento cirúrgico do CCR e cinco tecidos renais normais.

3.2 Local e Época

O estudo foi desenvolvido na divisão de Urologia, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo e Laboratório de Investigação Médica – LIM 55, juntamente com o Laboratório de Patologia Cirúrgica e Molecular do Hospital Sírio Libanês. Os pacientes foram operados no Hospital Sírio Libanês no período entre janeiro de 2001 e maio de 2006 e a análise através de *microarray* realizada no período de 01/06/07 à 20/07/07.

3.3 Participantes

As amostras de tecido tumoral foram obtidas de 12 pacientes submetidos a nefrectomia parcial ou radical com diagnóstico clínico de neoplasia sólida do rim (n= 12) ou coletadas de pacientes com CCR metastático que fizeram parte do protocolo de vacina de células híbridas tumorais-dendríticas (n= 7). O grupo controle foi composto por amostras de tecido renal normal provenientes de 5 cinco pacientes. A análise foi realizada no Laboratório de Patologia Cirúrgica e Molecular do Hospital Sírio Libanês e

no Laboratório de Investigação Médica – LIM 55, Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina da USP.

3.4 Critérios de Inclusão

Indivíduos diagnosticados com CCR e confirmados através de exame anatomopatológico do espécime cirúrgico. Os pacientes foram incluídos no estudo após serem informados do mesmo e terem assinado o termo de consentimento livre e esclarecido.

3.5 Critérios de Exclusão

Pacientes com CCR de outros subtipos histológicos que não os de células claras (cromóforo, papilar, ductos coletores, sarcomatoso, não classificados) confirmados pelo exame anatomopatológico do espécime cirúrgico.

3.6 Critérios de Avaliação

Foram hibridizadas quatro lâminas com quatro pools compreendendo os seguintes grupos:

1. Sete CCR metastático que fizeram parte do protocolo de vacina de células híbridas, tumorais-dendríticas no Laboratório de Patologia Cirúrgica e Molecular do Hospital Sírio Libanês.
 - a) Um paciente do sexo feminino, seis do sexo masculino. Idade média de 55,7 anos (Tabela 1).

2. Cinco CCR com características histológicas desfavoráveis. Tamanho médio dos tumores de 9,2 cm, todos com grau nuclear de Fuhrman 3 ou 4, todos com êmbolos neoplásicos intravasculares, todos no estágio patológico T3.

a) Um paciente do sexo feminino, quatro do sexo masculino, idade média 62,4 anos (Tabela 2).

3. Sete CCR com características histológicas favoráveis. Tamanho médio dos tumores de 2,9 cm, todos com grau nuclear de Fuhrman 1 ou 2, ausência de êmbolos neoplásicos intravasculares, todos no estágio patológico T1.

a) Dois pacientes do sexo feminino, cinco do sexo masculino, idade média 63 anos (Tabela 2).

4. Cinco amostras de tecidos renais normais.

Tabela 1: POOL metastático

Espécimes	Nome	Idade	Sexo	Diagnóstico	Metástase
1	HG	69	M	Claras	ND
2	IBR	-	M	Claras	pulmão
3	ALCT	50	M	Claras	pulmão
4	JBSG	63	M	Claras	pulmão
5	FJPL	39	M	Claras	ND
6	MMB	57	F	Claras	ND
7	CSS	68	M	Claras	ND

Tabela 2: Dados demográficos e características anátomo-patológicas

Espécime	Identificação	Idade anos	Sexo	Diagnóstico	Tamanho (cm)	Fuhrman	Necrose	Inv vasc	Estádio
Grupo favorável									
1	FALG	56	M	claras cístico	2	1	Ausente	Ausente	pT1
2	PCSF	53	M	claras	6,5	2	Ausente	Ausente	pT1
3	HFR	55	M	claras	3	2	Ausente	Ausente	pT1
4	VMATF	56	F	claras	3	2	Ausente	Ausente	pT1
5	JSM	52	F	claras	4	2	Ausente	Ausente	pT1
6	PCACF	48	M	claras	1,8	1	Ausente	Ausente	pT1
7	AW	53	M	claras	5,4	1	ausente	ausente	pT1
Grupo desfavorável									
1	ZVCC	73	F	claras	9	3	Presente	Presente	pT3
2	RAMM	58	M	claras	11	3	Presente	Presente	pT3
3	JBF	65	M	claras	8	4	Presente	Presente	pT3
4	ASM	39	M	claras	9,2	3	Presente	Presente	pT3
5	IGC	65	M	claras	3,9	3	Presente	Presente	pT3

3.7 Intervenção

Estudo Anatomopatológico

Os tumores ressecados foram enviados imediatamente ao laboratório, e um fragmento de 1 cm² representativo da lesão congelado em nitrogênio líquido a – 170°C, dentro de um período inferior a trinta minutos.

O exame macro e microscópico da peça cirúrgica seguiram as recomendações do manual de padronização de exames anatomopatológicos da Sociedade Brasileira de Patologia (Leite KRM, 2006).

Efetuu-se o exame macroscópico habitual com a representação sistemática do tumor, tecido adjacente à lesão tumoral, cápsula e gordura perirenal, seio renal, vasos do hilo, ureter, dissecação de linfonodos e representação de adrenal. FSó foram objeto deste estudo os carcinomas do tipo células claras, sendo avaliados histologicamente o grau nuclear de Fuhrman, a arquitetura, a porcentagem de células claras e eosinofílicas, a presença ou não de êmbolos neoplásicos intravasculares, infiltração da gordura do seio renal, cápsula e gordura perirenal, infiltração do sistema coletor, comprometimento dos vasos hilares, metástases linfonodais e infiltração ou metástase em adrenal. Os tumores foram estagiados de acordo com a classificação TNM (Greene et al., 2002).

3.83.7.1 Extração de RNA total

Para extração do RNA total utilizou-se TRIZOL® (Invitrogen, CA, USA; solução monofásica de fenol e isotiocianato de guanidina), segundo as instruções do fabricante. O RNA foi posteriormente purificado em colunas de sílica da Qiagen (Qiagen, Hilgen, Alemanha) e diluído em H₂O tratada com DEPC. A concentração e a pureza das amostras foram determinadas pela leitura da absorbância a 260 e 280nm em espectrofotômetro “Nanodrop ND - 1000” (Thermo Fisher Scientific, USA). Para avaliar a integridade do RNA extraído, todas as amostras foram analisadas por eletroforese em gel de agarose/formaldeído sob condições desnaturantes, observando-se a presença das bandas correspondentes aos RNA ribossomais 18 e 28S.

3.87.12 Ensaios de microarray *microarray*

Nesse estudo, utilizamos quatro lâminas de vidro do kit CodeLink UniSet Human I Bioarrays (General Electric) contendo 55.000 genes humanos com aproximadamente 45.000 transcritos bem caracterizados. A relação de todos os genes presentes nas lâminas encontra-se disponível para consulta no site http://www.amershammedia.com/codelink_files/300007.txt.

A plataforma CodeLink é capaz de detectar mínimas diferenças na expressão gênica, com, no mínimo, 95% de confiança (Ramakrishnan et al., 2002). A matriz aquosa na qual as sondas, sob a forma de oligonucleotídeos de 30 bp, são fixadas a partir das extremidades 5', permite interação tridimensional entre os oligonucleotídeos e o RNA proveniente das amostras em estudo. Isso reduz significativamente as eventuais interferências de

fundo (“background” inespecífico), aumentando a sensibilidade e permitindo a detecção e a quantificação de genes expressos diferencialmente.

3.8.27.3 Protocolo de amplificação do mRNA e hibridização

O protocolo de amplificação do mRNA baseia-se naquele preconizado por Wang et al.(2000), com algumas modificações. RNA de cada uma das amostras (3 µg) foram misturados de forma a se obter um pool de RNA representativo dos CCR favoráveis, desfavoráveis, metastáticos e do tecido renal normal. O processo está demonstrado na figura 1..... A primeira fita de cDNA foi gerada usando transcriptase reversa (Superscript II, Invitrogen, CA, USA) na presença de oligo-dT primer (o qual tem acoplada à sua extremidade uma seqüência promotora T7 para RNA polimerase). Em seguida, a segunda fita de cDNA foi sintetizada a partir da enzima DNA polimerase I. O cDNA dupla fita (cDNAds), produto dessas reações foi submetido à purificação na coluna QIAquick (QIAGEN, Hilden, Alemanha). A síntese de RNA complementar cRNA foi gerada a partir do cDNAds pela transcrição “in vitro”, usando T7 RNA polimerase na presença da biotina-11-UTP (Perkin Elmer, Boston, MA):. O cRNA foi purificado em uma coluna RNeasy (QIAGEN, Hilden, Alemanha), quantificado por espectrofotometria UV, e posteriormente submetido à fragmentação por 20 minutos, a 94°C, na presença do magnésio. Esperavam-se transcritos com tamanhos variáveis entre 400 e 700 pb. O cRNA assim obtido foi hibridizado por 18 horas, a 37°C, em tampão específico, na lâmina Codelink UniSet Human I Bioarrays

General Electric, em incubadora Innova 4080 (New Brunswick, Edison, NJ), a 300 rpm.

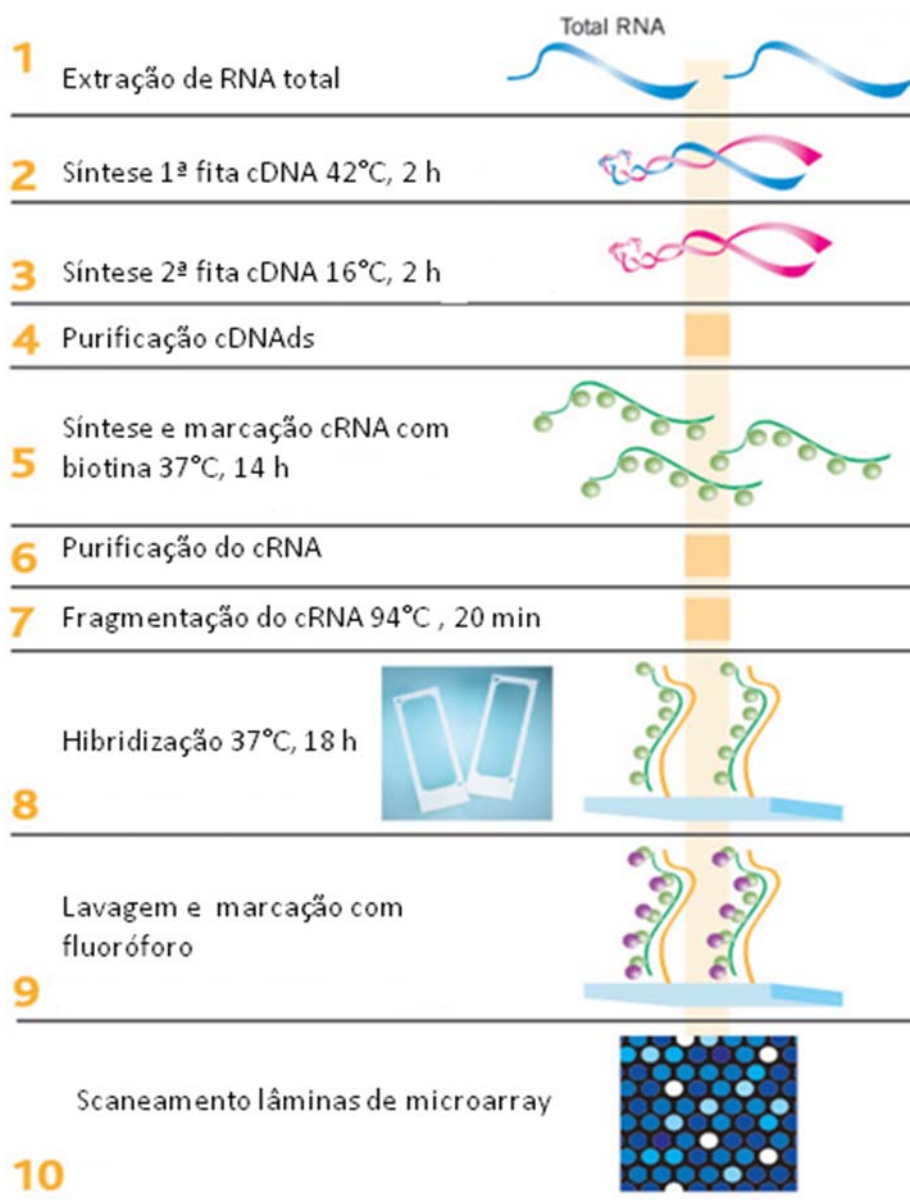


Figura 1: Esquematização dos processos envolvidos na reação de microarray *microarray*

3.8.37.4 Pós-hibridização e Captura de Imagens

Após a reação de hibridização, as lâminas foram lavadas em 0,75x de tampão TNT [1x TNT: 0,1 mol/L Tris-HCl (pH 7,6), 0,15 mol/L NaCl, e 0,05% Tween 20], a 46°C, por uma hora, seguida por incubação com streptavidina-Alexa 647 (Molecular Probes, Eugene, OR), à temperatura ambiente, por 30 minutos no escuro. Depois, foram lavadas em 1x TNT, duas vezes, por cinco minutos cada, e por último em 0,05% Tween 20. Por fim, as lâminas foram secas por centrifugação e mantidas no escuro até a leitura das imagens. As imagens foram capturadas e digitalizadas pelo Scanner Axon GenePix (Arlington, TX), utilizando-se o Software CodeLink Expression Scanning. As imagens foram analisadas pelo Software CodeLink Expression Analysis.

3.8.4 Metodologia estatística utilizada para tratamento dos dados de *Microarray microarray*

Foram analisados experimentos de expressão em quatro condições: indivíduos normais (NL), carcinoma renal com evolução favorável (FAV), carcinoma renal com evolução desfavorável (DESF) e carcinoma renal com produção de metástase (MET). A análise estatística das lâminas de *microarray microarray* CodeLink foi conduzida utilizando o software estatístico R (<http://www.r-project.org/>) no sistema operacional Linux. Inicialmente foram retirados genes que apresentavam valores ausentes em pelo menos uma das condições. Para tal, foram selecionados todos os “spots” relacionados aos controles negativos, que tiveram média e desvio-

padrão calculados. Na seqüência, os “spots” que apresentaram valores de expressão menores que a média mais o desvio padrão da intensidade, observados nos controles negativos, foram excluídos. Um programa em Perl (<http://www.perl.org/>) foi desenvolvido para melhorar a significância da análise, selecionando genes que apresentaram valores válidos de intensidade em todas as condições observadas.

Todas as condições tumorais foram comparadas com os dados de expressão dos indivíduos normais, gerando três parâmetros: normal x vs favorável, normal x vs desfavorável, normal x vs metastático. Além disso, foram comparados os experimentos dos pacientes com evolução favorável àqueles com evolução desfavorável (favorável x vs desfavorável). Foi comparado os experimentos dos pacientes com metástase versus evolução favorável (MET x vs FAV) (Anexo x) e também foram comparados os pacientes com metástase versus evolução desfavorável (MET x vs DESF) (Anexo y). Finalmente, foram identificados genes comuns que exibiram aumento ou diminuição de expressão no grupo metastático quando comparado aos grupos favorável e desfavorável (MET x vs FAV + DESF). Os dados pareados foram normalizados para retirar desvios dos valores de expressão oriundos de diferenças experimentais, utilizando-se o método de normalização LOESS, implementado no pacote LIMMA (Linear Models for Microarray *microarray* Analysis) (Smyth, 2005).

Foram realizadas 100 interações com parâmetro de suavização de ajuste em 1.0. Os dados normalizados foram exportados para o shell linux e um programa desenvolvido em Perl foi utilizado para ordenar o grupo de

genes em uma lista. Os 50 genes mais e menos expressos foram selecionados e anotados.

4 RESULTADOS

As características demográficas e anatomo-patológicas referentes aos grupos de pacientes submetidos ao estudo estão demonstradas nas tabelas 1 e 2.

abela 1:

Espécime	Identificação	Idade anos	Sexo	Diagnóstico	Tamanho (cm)	Fuhrm
Grupo favorável						
1	FALG	56	M	claras cístico	2	1
2	PCSF	53	M	claras	6,5	2
3	HFR	55	M	claras	3	2
4	VMATF	56	F	claras	3	2
5	JSM	52	F	claras	4	2
6	PCACF	48	M	claras	1,8	1
7	AW	53	M	claras	5,4	1
Grupo desfavorável						
1	ZVCC	73	F	claras	9	3
2	RAMM	58	M	claras	11	3
3	JBF	65	M	claras	8	4
4	ASM	39	M	claras	9,2	3
5	IGC	65	M	claras	3,9	3

ARRUME ESTA
ORIENTAÇÃO PARA
PAISAGEM. EU NÃO

CONSEGUI

Tabela 5: POOL metastático

Espécimes	Nome	Idade	Sexo	Diagnóstico	Metástase
1	HG	69	M	claras	ND
2	IBR	-	M	claras	pulmão
3	ALCT	50	M	claras	pulmão
4	JBSG	63	M	claras	pulmão
5	FJPL	39	M	claras	ND
6	MMB	57	F	claras	ND
7	CSS	68	M	claras	ND

Várias análises foram feitas para identificação dos genes diferencialmente expressos entre os 3 grupos de pacientes e o grupo controle. Globalmente identificamos uma variedade de genes diferentemente expressos sendo a distribuição dos mesmos quanto a super ou subexpressão demonstradas nos gráficos de dispersão 1, 2, 3 [U1]. Nota-se que em relação aos tumores favoráveis existe pouca dispersão dos pontos referentes às diferenças de expressão dos genes, que tendem a se distribuir em linha reta, junto ao zero. Interpreta-se assim que os tumores favoráveis exibem poucas alterações significativas na expressão dos genes quando comparadas com os tecidos normais. Já os aspectos de distribuição dos gráficos 2 2 e 33, representativos dos tumores desfavoráveis e metastáticos demonstram maior semelhança com uma distribuição mais randômica dos pontos representativos das expressões genéticas. Esses gráficos permitem ainda um controle quanto a qualidade dos ensaios de microarray *microarray*, já que se sabe que as variações tendem a ser sutis, não havendo grandes aberrações na maquinaria genética, desde que isso inviabilizaria a sobrevivência da célula tumoral.

Tentando identificar os genes mais importantes na progressão dos CCR do tipo células claras, após análise supervisionada selecionamos os 50 genes mais diferencialmente expressos em cada grupo comparativo. As tabelas mostram os 50 genes que foram identificados com diferença de expressão (superexpressos: valores positivos ou subexpressos: valores negativos), após análise estatística dos dados gerados nos microarray *microarrays*.

Nos anexos (1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a, 5b, 6a e 6b) estão listados os genes diferencialmente expressos após a comparação dos grupos:.

- Normal x Favorável (Anexo 1)
- Normal x Desfavorável (Anexo 2)
- Normal x Metastático (Anexo 3)
- Favorável x Desfavorável (Anexo 4)
- Metastático x Favorável (Anexo 5)
- Metastático x Desfavorável (Anexo 6)

Após a comparação entre os grupos de genes diferencialmente expressão dos grupo favorável, desfavorável e metastático, identificamos um grupo de genes comuns que apresentaram aumento ou diminuição progressiva desde o estado favorável até o metastático. Esses genes estão expostos nas tabelas 1 3 e 24. Existem nove genes superexpressos selecionados no grupo metastático quando comparados aos grupos favorável e desfavorável onze genes subexpressos (Tabela 2).

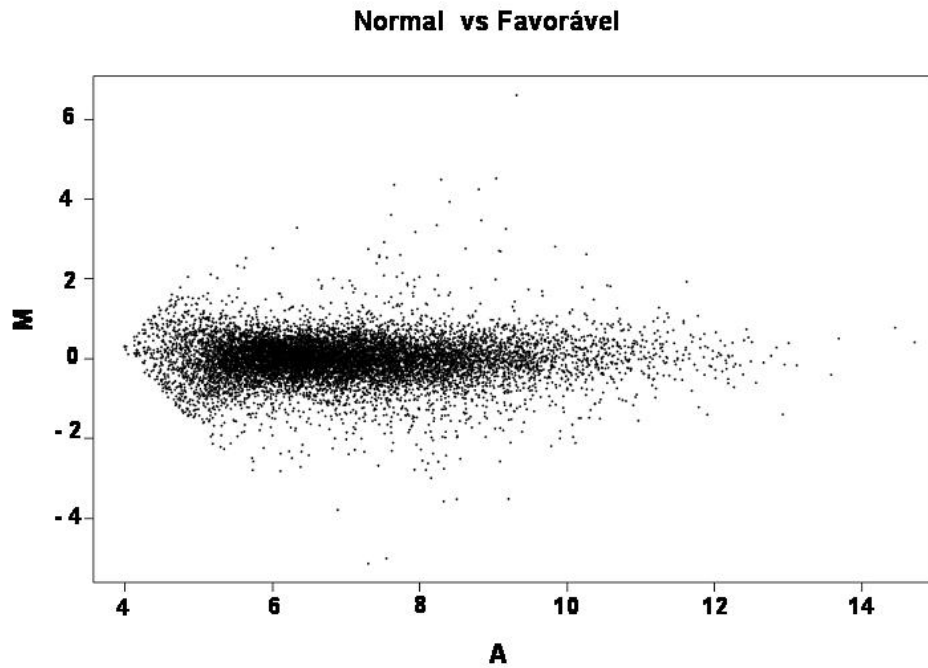


Gráfico 1: Representa a dispersão dos genes estudados normal versus favorável (Plot MA)

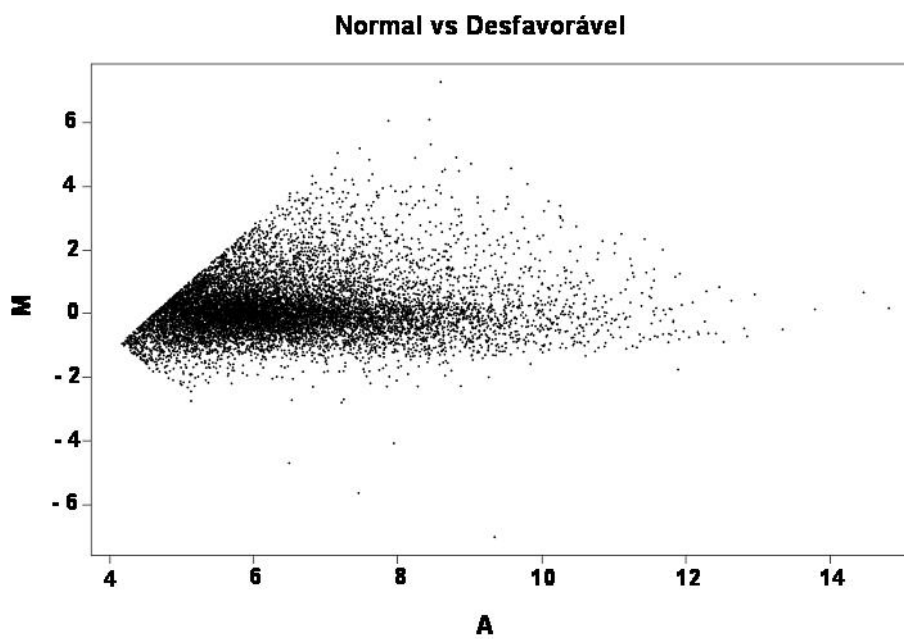


Gráfico 2: Representa a dispersão dos genes estudados normal versus desfavorável (Plot MA)

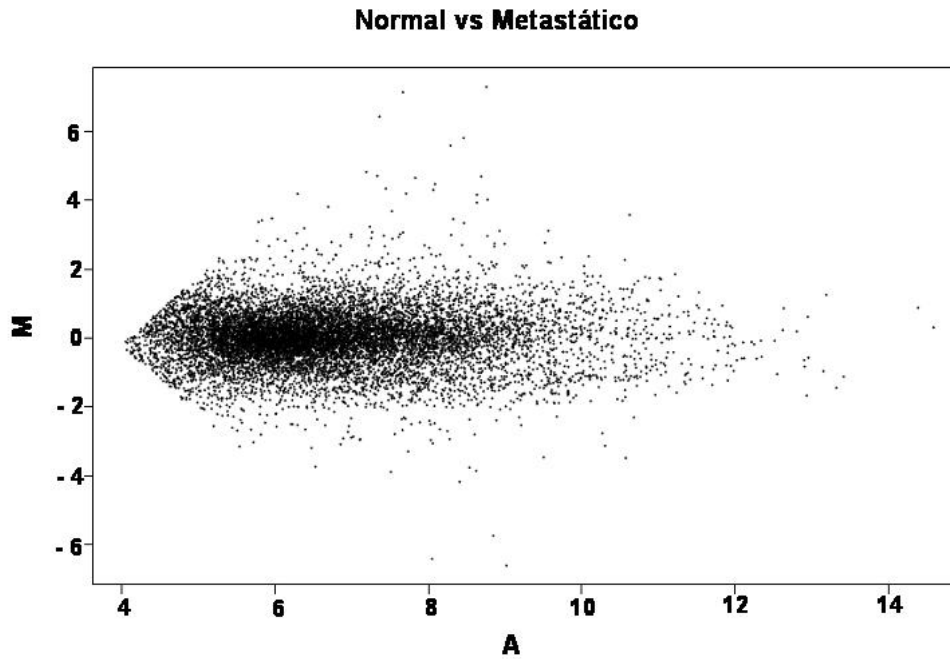


Gráfico 3: Representa a dispersão dos genes estudados normal versus metastático (Plot MA)

Gráfico Plot MA 1: Representa a dispersão dos genes estudados

Metastático vs Desfavorável

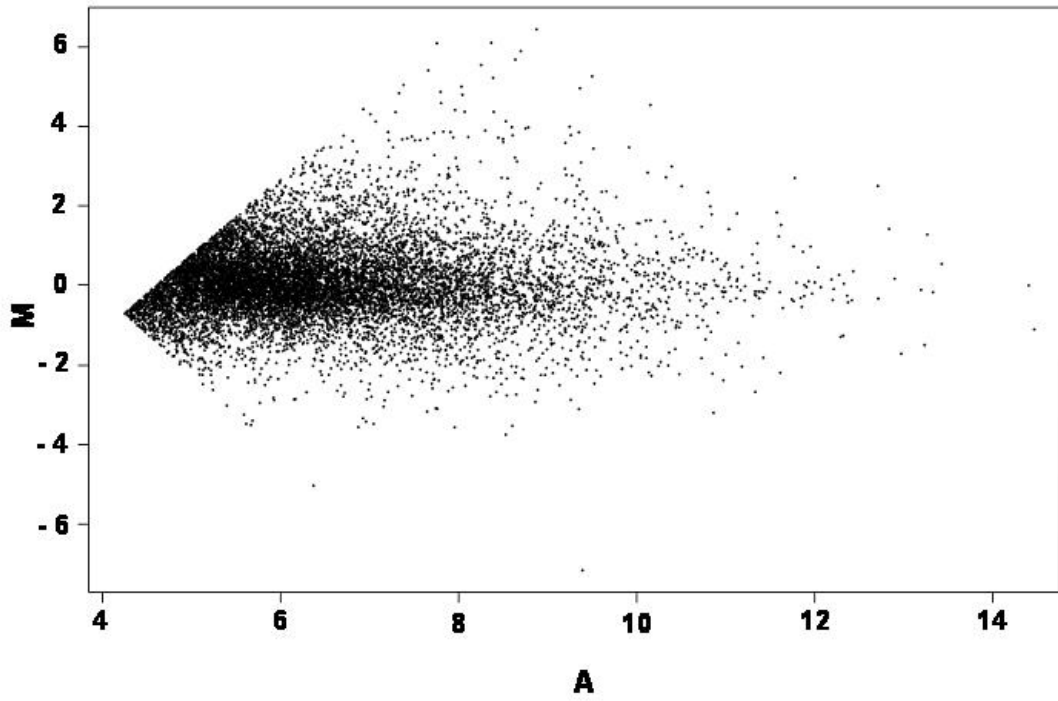


Gráfico Plot MA 2: Representa a dispersão dos genes estudados

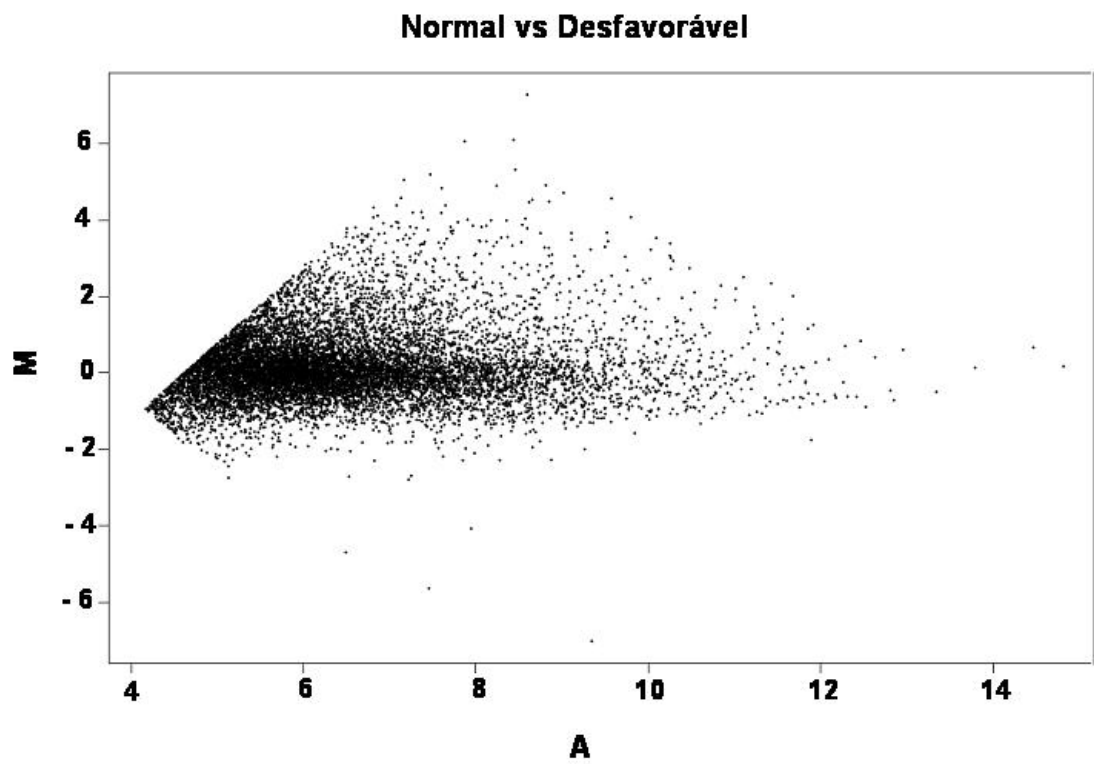


Gráfico Plot MA 3: Representa a dispersão dos genes estudados

Normal vs Favorável

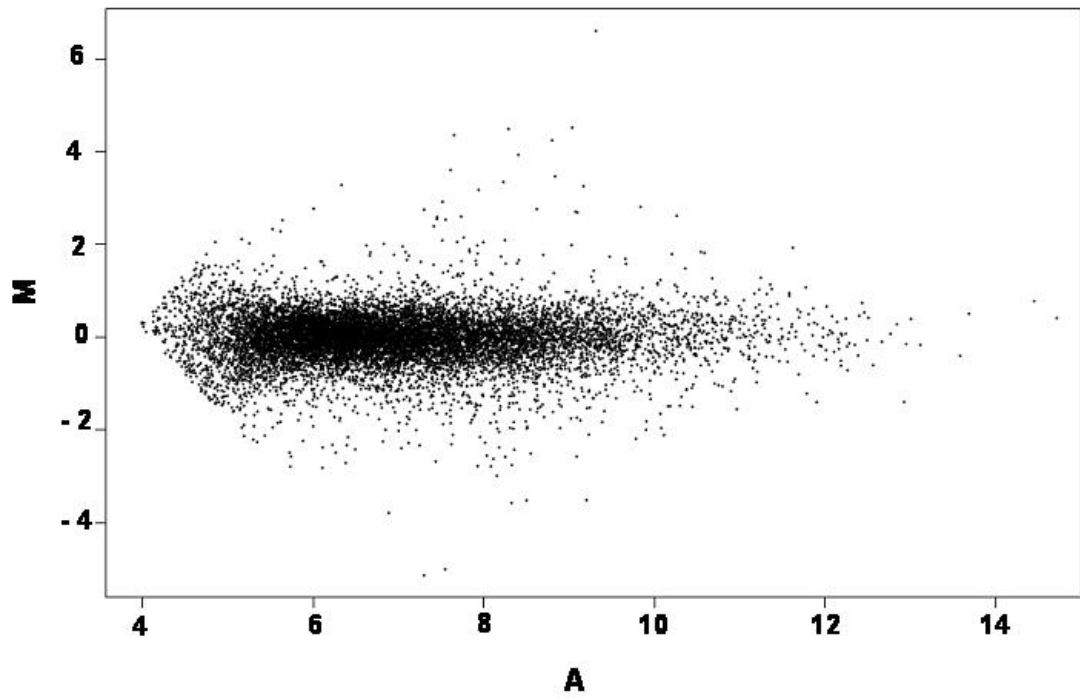


Gráfico Plot MA 4: Representa a dispersão dos genes estudados

Normal vs Metastático

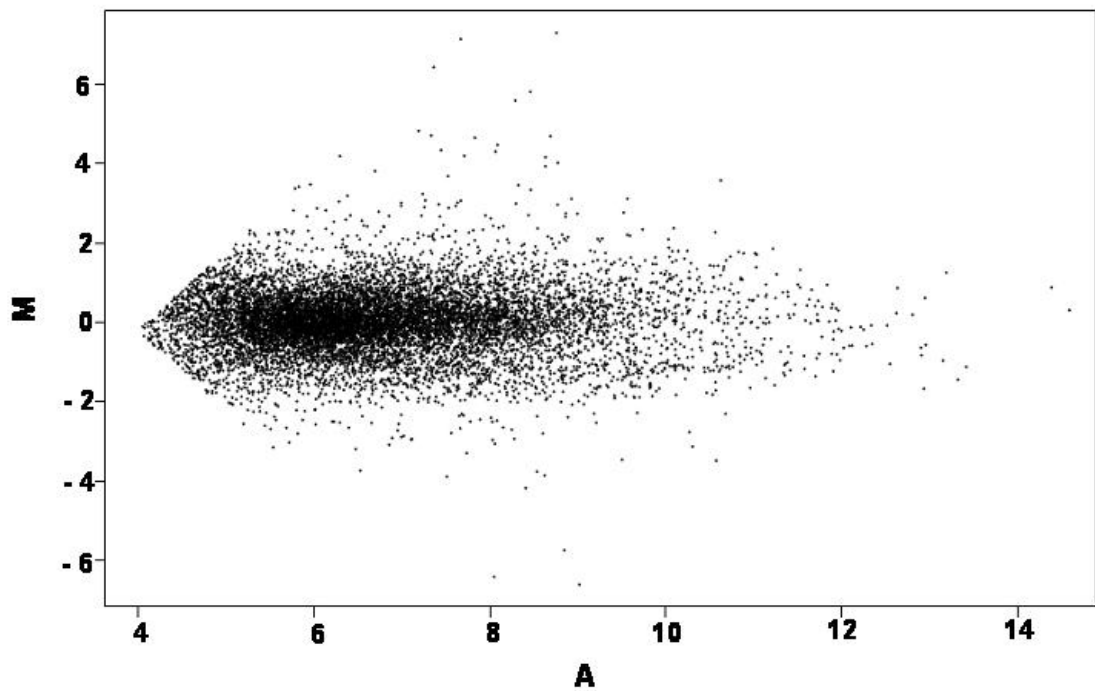


Gráfico Plot MA 6: Representa a dispersão dos genes estudados

Tabela 1 – Genes com diminuição progressiva de expressão desde o estado favorável até metastático

Tabela 1 –

Genes com
diminuição
progressiva
de
expressão
desde o
estado
favorável
até
metastático

Abreviatura	Identificação	Nome do gene
Official/GI*	CodeLink	
gi40578461		EST- atypical PKC isotype-specific interacting protein long vari
	12878	mRNA
C7	16412	complement component 7 (C7)
FCGBP	16152	Fc fragment of IgG binding protein
PRAP1	46920	proline-rich acidic protein 1
PCP4	19612	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
gi52793583		
	Identificação	Nome do gene
	24985 CodeLink	EST-QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cD

gi3870266	38798	EST-qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:20286 similar to gb:X02747 FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLAS
WFDCD2	20765	WAP four-disulfide core domain 2 transcript variant 1
gi1401452	23196	EST-zh66h10s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA IMAGE:417091 3'

* GI: identificação genômica de acordo com o banco de dados do National Institutes of Health, disponível no endereço eletrônico <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Abreviatura

oficial

CK416879		atypical PKC isotype-specific interacting protein
	12878	long variant mRNA
DN995913	16412	complement component 7 (C7)
FCGBP	16152	Fc fragment of IgG binding protein (FCGBP)
PRAP1	46920	proline-rich acidic protein 1 (PRAP1), mRNA
PCP4	19612	Purkinje cell protein 4 (PCP4)

BE003001		QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cDNA
	24985	
gi3870266		qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone
	38798	IMAGE:2028680 3' similar to gb:X02747 FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLASE B (HUMAN);
DR006158		WAP four-disulfide core domain 2 (WFDC2),
	20765	transcript variant 1
W87398		zh66h10s1
	23196	Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:417091 3'

Tabela 3: Genes com diminuição progressiva de expressão desde o estado favorável até metastático

Abreviatura	Identificação	Nome do gene
Official/GI*	CodeLink	
gi40578461	12878	EST- atypical PKC isotype-specific interacting protein long variant mRNA
C7	16412	complement component 7 (C7)
FCGBP	16152	Fc fragment of IgG binding protein
PRAP1	46920	proline-rich acidic protein 1
PCP4	19612	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
gi52793583	24985	EST-QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cDNA
gi3870266	38798	EST-qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone

		IMAGE:2028680 3' similar to gb:X02747
		FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLASE B
WFDCD2	20765	WAP four-disulfide core domain 2 transcript variant 1
		EST-zh66h10s1
gi1401452	23196	Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone
		IMAGE:417091 3'

* GI: identificação genômica de acordo com o banco de dados do National Institutes of Health (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

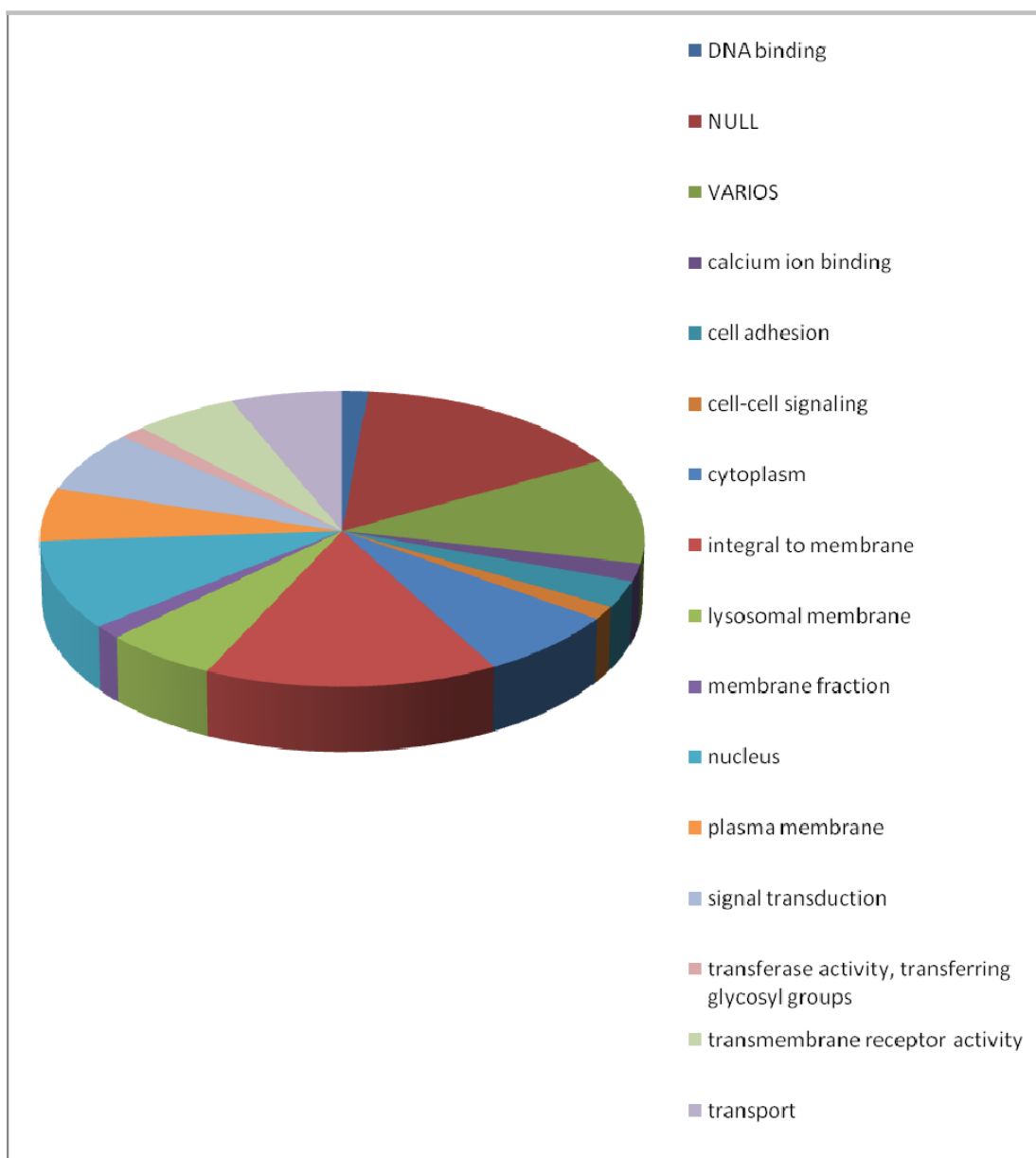
Tabela 24: Genes com aumento progressiva de expressão desde o estado favorável até metastático

Abreviação oficial	Identificação CodeLink	Nome do gene
BU171446		AGENCOURT_7932449 NIH_MGC_72 cDNA
	34169	clone IMAGE:6156942 5'
R39367	11050	clone 24734 mRNA sequence
DN998797	16648	dual specificity phosphatase 2 (DUSP2)
DN993256	39816	heat shock 70kDa protein 1A (HSPA1A)
BC063507	50162	heat shock 70kDa protein 1B, mRNA (cDNA clone MGC:74463 IMAGE:4153196)
DN995798	49424	hypothetical protein LOC90637 (LOC90637)
DN996007	24261	interleukin 8 (IL8)
	36561	mRNA; cDNA DKFZp667A182 (from clone DKFZp667A182)
UBC	6469	ubiquitin C (UBC)
	45082	UI-H-BI0-aai-f-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub1 cDNA clone IMAGE:2709644 3'
AA417271	29444	zu07b03.r1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:731117 5' similar to contains MER30.t2 MER30 repetitive element
Abreviação oficial/GI*	Identificação CodeLink	Nome do gene
gi22685430	34169	AGENCOURT_7932449 NIH_MGC_72 cDNA clone

IMAGE:6156942 5'		
R39367	11050	clone 24734 mRNA sequence
DUSP2	16648	dual specificity phosphatase 2
HSPA1A	39816	heat shock 70kDa protein 1A
HSPA1B	50162	heat shock 70kDa protein 1B
gi66255625	49424	EST-hypothetical protein LOC90637
IL8	24261	interleukin 8
-	36561	EST-mRNA; cDNA DKFZp667A182 (from clone DKFZp667A182)
UBC	6469	ubiquitin C
gi5863270	45082	EST-UI-H-BI0-aai-f-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub1 cDNA clone IMAGE:2709644 3'
gi2077388	29444	EST-zu07b03.r1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:731117 5' similar to contains MER30.t2 MER30 repetitive element

* GI: identificação genômica de acordo com o banco de dados do National Institutes of Health (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

Para análise das vias envolvidas na carcinogênese do CCR do tipo células claras, distribuimos os genes diferencialmente expressos em termos funcionais, e as características dessas distribuições estão expostas nos gráficos 4, 5, 6, e 7.



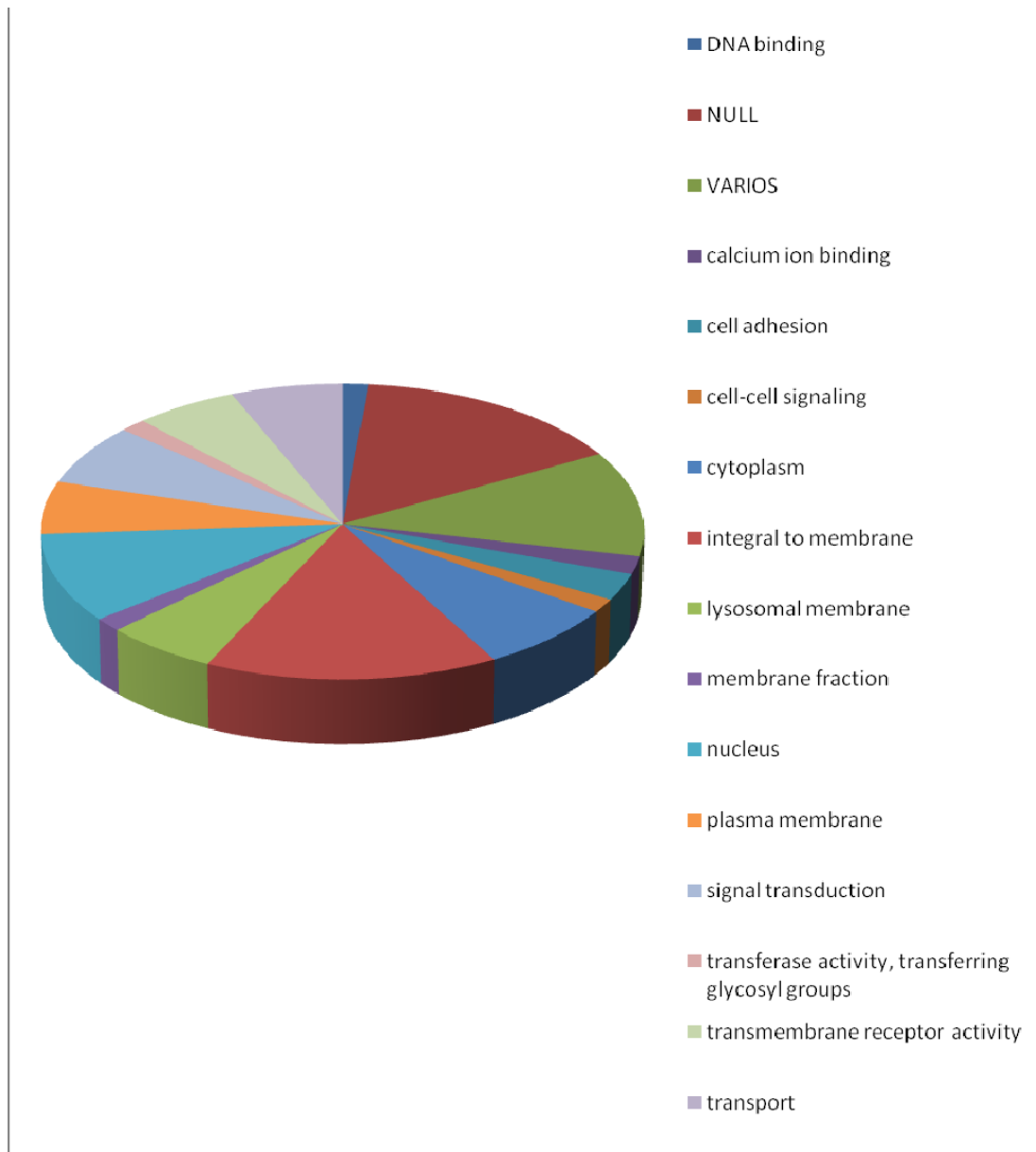


Gráfico- 4: Demonstração das vias relacionadas aos genes subexpressos nos tumores desfavoráveis em relação aos favoráveis

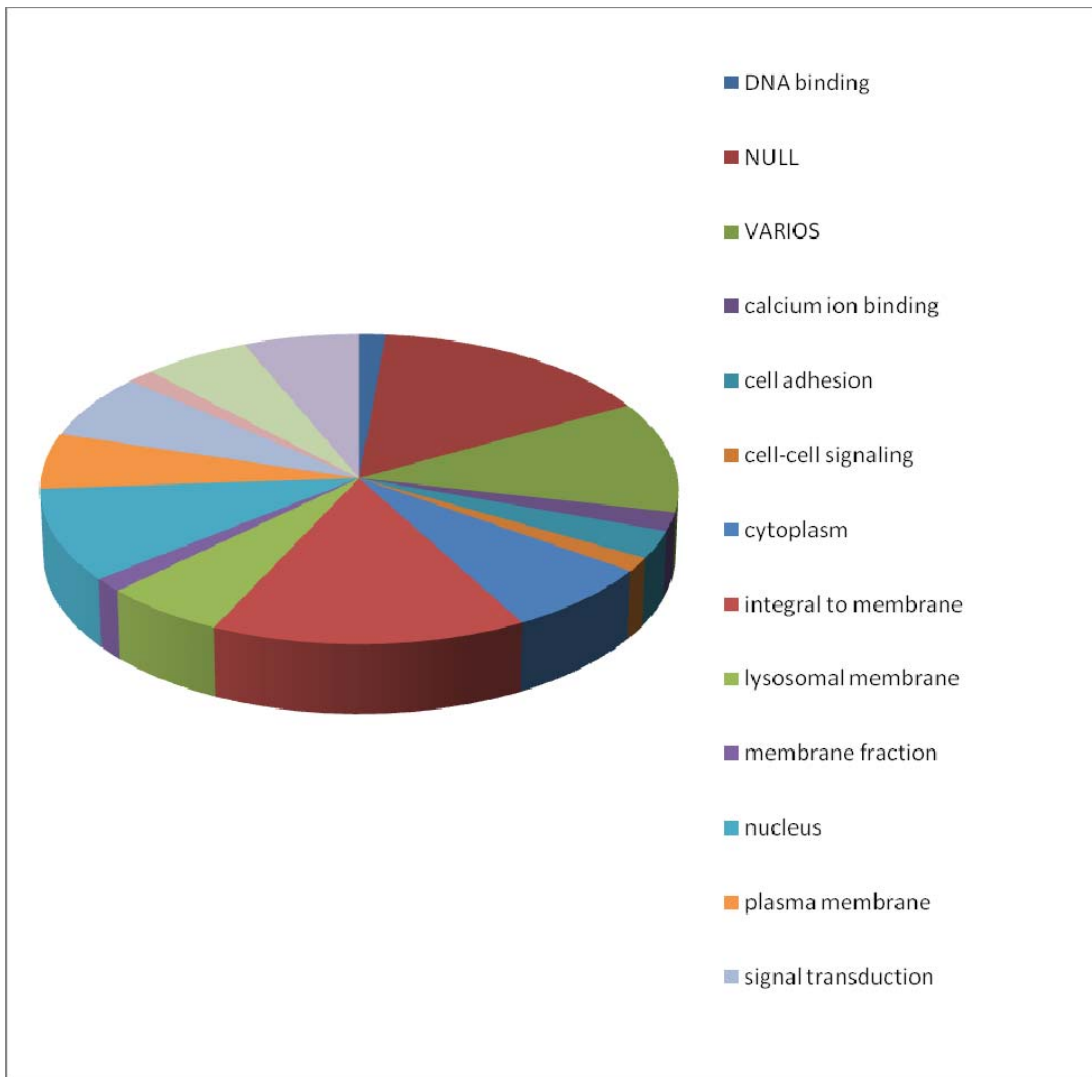


Gráfico- 5: Demonstração das vias relacionadas aos genes superexpressos nos tumores desfavoráveis em relação aos favoráveis

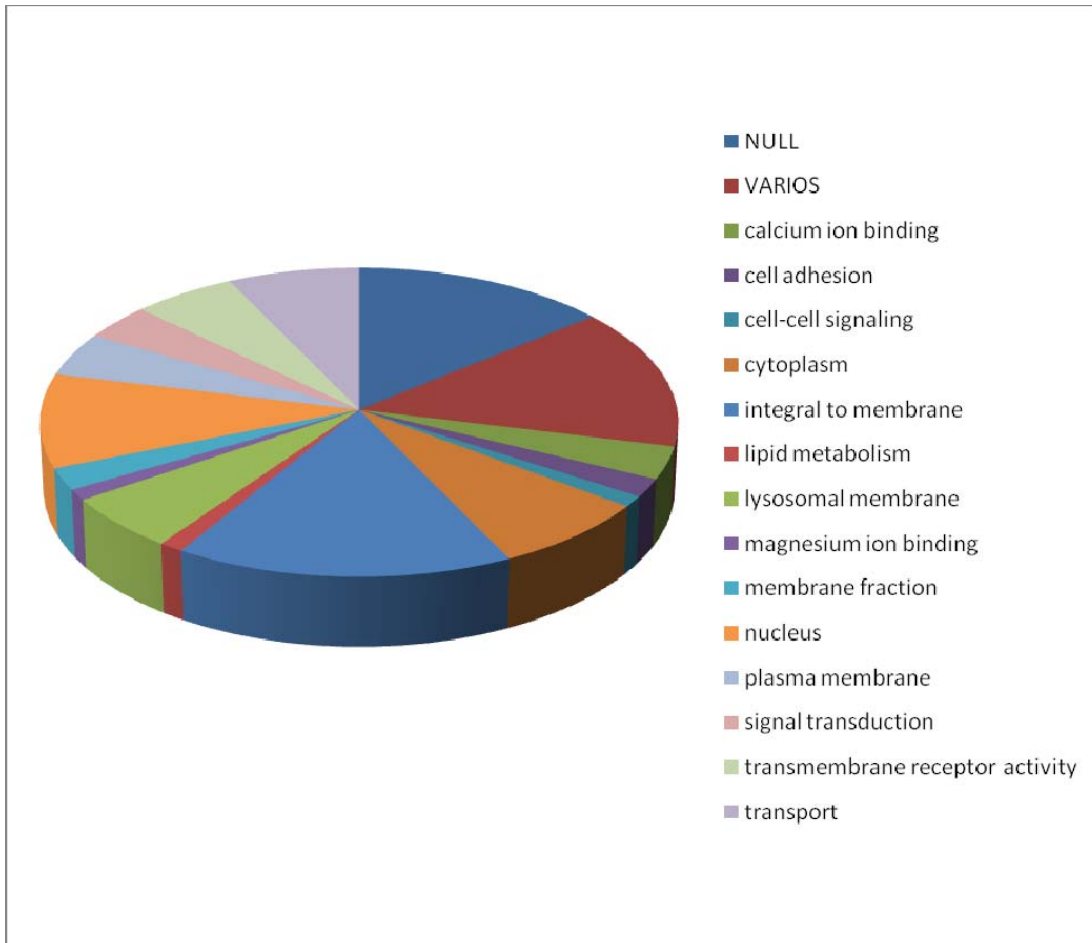


Gráfico- 6: Demonstração das vias relacionadas aos genes subexpressos nos tumores metastáticos em relação aos desfavoráveis

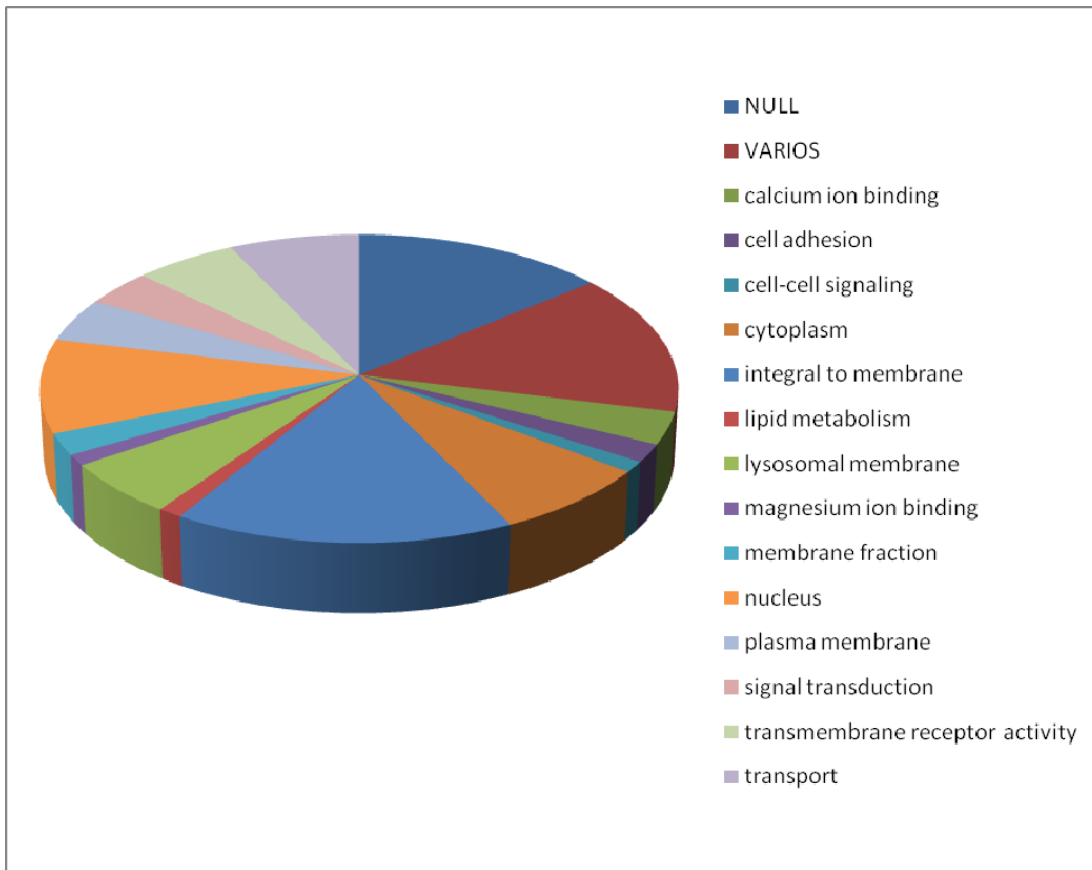


Gráfico- 7: Demonstração das vias relacionadas aos genes superexpressos nos tumores metastáticos em relação aos desfavoráveis

5 DISCUSSÃO

A descrição e o registro de milhares de seqüências genômicas em conjunto com o desenvolvimento de tecnologia de identificação do perfil de expressão de genes em larga escala tem proporcionado um aumento espetacular no conhecimento dos genes envolvidos com o processo de carcinogênese. E este conhecimento tem impacto nos avanços recentes em relação a subclassificação de neoplasias, identificação de novos marcadores diagnósticos e prognósticos e descoberta de possíveis alvos terapêuticos.

Até recentemente, os estudos que avaliaram a expressão genética por *microarray* no CCR eram focados especialmente na descrição dos genes envolvidos com essa neoplasia, utilizando os dados para classificação molecular diagnóstica (Higgins et al., 2003; Yang et al., 2006). O nosso estudo teve como propósito a identificação de perfis de expressão gênica relacionados aos parâmetros anatomopatológicos conhecidos, com a expectativa de descrever uma via compreensível de anormalidades genéticas relacionadas ao processo de progressão e metastatização. Para isso utilizamos a maior plataforma de *microarray*, a plataforma CodeLink com 55.000 oligonucleotídeos identificando quase 45.000 transcritos. Os grupos submetidos são representativos de carcinomas de prognóstico favorável, com remotas chances de recidiva ou metastatização, tumores desfavoráveis com grande possibilidade de recidiva e progressão e um grupo de tumores já em estágio metastático. De modo interessante, identificou-se um grupo de genes que exibiram incremento progressivo de expressão desde aqueles favoráveis até o

metastático. Entre esses os mais interessantes são o gene da Interleucina 8, e as *Heat-shock* 70kDa proteins, que estão intimamente relacionadas a conhecida via de carcinogênese do carcinoma de células claras.

Foi demonstrado, através dos gráficos de dispersão de pontos, que existe um incremento das anormalidades na expressão de genes que é discreta nos tumores de prognóstico favorável, e se torna progressivamente mais desequilibrada no caminho para a doença metastática. Porém os perfis da doença desfavorável e da doença metastática se aproximam, fato este descrito por Jones et al. (2005) que estudando o CCR do tipo células claras identificaram perfil semelhante de expressão de genes entre os tumores localmente avançados e aqueles metastáticos, o que nomeou como assinatura metastática. Kosari et al (2005) em estudo bastante semelhante ao nosso também identificou genes comuns entre tumores com características agressivas e carcinomas metastático, conseguindo diferenciá-los de tumores de bom comportamento. Utilizando a plataforma Affymetrix com 22.283 genes, Kosari et al. (2005) mostraram que os tumores localizados com características agressivas se assemelham no perfil de expressão gênica àqueles metastáticos, o que poderia resultar na identificação dos indivíduos propensos à progressão da doença pós nefrectomia, possibilitando a introdução de tratamento adjuvante. Contudo, através de uma análise ampla como o *microarray*, conseguir isolar apenas um gene, poderá indicar um caminho mais curto nas terapias futuras contra o CCR (Zigeuner et al., 2006).

O silenciamento dos genes através da hipermetilação das ilhas CpG é uma característica comum nas linhagens cancerígenas em humanos (Bastian

et al., 2005) e está freqüentemente associada ao bloqueio transcricional parcial ou completo. Enquanto que os dinucleotídeos estão geralmente metilados por toda a vida do genoma das células somáticas normais, as ilhas de CpG, ou seja, grupos de dinucleotídeos nas regiões regulatórias dos genes, são usualmente não-metilados (Lee et al., 1997; Yegnasubramanian et al., 2006). Esta alteração epigenética fornece um caminho alternativo para silenciar o gene em adição com a mutação ou deleção gênica. As GST (Glutathione S Transferase) são enzimas envolvidas no metabolismo dos carcinógenos e na defesa contra as espécies reativas do oxigênio. Polimorfismos genéticos têm sido detectados nas GST e alguns destes polimorfismos têm sido associados a um risco aumentado para câncer (Autrup et al., 1999). Quando analisamos a distribuição dos genes em relação a funcionalidade, mostramos que na progressão da neoplasia existe perda de função de genes relacionados a adesão celular, e aqueles relacionados a manutenção da integridade do DNA. Como exemplo citamos a perda de expressão de genes codificadores de Glutathione S-Transferase M3 (GSTM) nos tumores metastáticos em relação aos tumores favoráveis. A sua perda está relacionada a numerosas neoplasias como bexiga, carcinoma de cabeça e pescoço e tireóide (Gonçalves et al, 2007). O gene GSTP1, localizado no cromossomo 11q13, expressa uma função de “gene vigia” que, quando inativado, conduz a alterações genéticas que promovem o crescimento tumoral. O GSTP alfa foi superexpresso em 90% dos CCR (Takahashi et al., 2005). Nesse estudo o GSTP foi superexpresso nos casos desfavoráveis e metastáticos, confirmando-se como um marcador de pior prognóstico. É contraditório um gene com atividade protetora sobre o DNA

apresentar-se superexpresso na progressão de neoplasias. O mecanismo possível é que este tenha uma ação sobre a manutenção de células com alterações importantes na composição dos genes que em condições não protetoras poderiam ser eliminadas devido a grande instabilidade genética.

Nos anos recentes, a análise do perfil de expressão de genes em larga escala tem sido utilizada amplamente para a definição de características de expressão genética que se relacione à agressividade de neoplasias (Yin-Goen, 2006). Estudos atuais sobre o CCR têm buscado a identificação de marcadores prognósticos. Yang et al., 2006 estudando 16 CCR em plataforma contendo 21.632 genes identificaram uma correlação entre as classificações histológica e genética de 14 entre 16 tumores renais. Jones et al., (2005) ao estudar 65 CCR, sendo 23 CCC, 13 papilíferos, 7 cromófbos, 12 oncocitomas e 24 tecidos renais normais, definiu um perfil genético relacionado ao desenvolvimento de metástases, a partir de uma plataforma de 22.283 genes (Affymetrix). Liou et al., (2004) estudaram seis CCC e comparou a expressão diferenciada de genes com seis tecidos renais normais, utilizando uma plataforma de 7.129 genes (Affymetrix) identificou 25% de genes diferencialmente expressos entre eles superexpressão de moléculas de adesão (laminina A, fibronectina), que atuam no desenvolvimento da neoplasia.

Os receptores de membrana celular, como o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), foi fracamente expresso nos CCR iniciais como os pT1a, todavia sua hiperexpressão foi correlacionada com aumento do estágio tumoral (Langner et al., 2005). Estas glicoproteínas transmembrana interagem com receptores da tirosina kinase e promovem invasão, metástase e

outras atividades celulares (Langner et al., 2005). Muitas drogas alvo têm sido estudadas na tentativa de inibir eventos celulares agindo diretamente nestes receptores. Atualmente as drogas inibidoras da tirosina kinase apresentam resultados promissores no CCR metastático, proporcionando expectativa de controle da doença mais razoável do que a imunoterapia isolada. (Motzer et al., 2007).

O gene VHL é responsável pela codificação de uma proteína que faz parte do complexo constituído principalmente pela elonguina B e C, cuja função é degradação do fator induzido pela hipóxia (HIF-1). Este por sua vez é um regulador positivo de receptores do tipo tirosina quinase dos tipos VEGFR (receptor de fator de crescimento do endotélio vascular), que está superexpresso nos CCR. VEGFR é um bem conhecido fator angiogênico, regulando a característica hipervasculatura do CCR, (Hirota et al., 2006; Staehler et al., 2005) que tem sido alvo de desenvolvimento de moléculas inibidoras e anticorpos de uso terapêutico já na prática oncológica. Tanto os CCR familiares como os esporádicos estão relacionados à mutação e/ou perda do VHL, resultando em não formação do complexo e conseqüente acúmulo de HIF-1. O HIF-1 induz a tradução de genes relacionados à angiogênese, favorecendo esta via de carcinogênese.

A proteína de choque térmico (hsp) é exposta pelas células mediante condições patológicas e fisiológicas; suas funções mais importantes incluem a homeostase e apoptose com relevante papel na antigenicidade mediada pelas células T (Seliger et al., 2003). A superexpressão da hsp27 e 72 tem relevância clínica (Santarosa et al, 1997), particularmente a superexpressão do hsp27 no

CCR quando comparada a células de rim normais (Lichtenfels et al., 2002). Destacamos que neste estudo, a hsp 70 1A e 1B foram subexpressas nos casos metastáticos em relação aos favoráveis e desfavoráveis. Já a hsp 47 foi superexpressa nos casos favoráveis/desfavoráveis. Ao que parece diferentes isoformas podem ser detectadas conforme a avaliação genética. A hsp70 é considerada uma das mais potentes estimuladoras à resposta imune humana (Floto et al., 2006) e a estrutura e função destas proteínas e sua relação com a imunidade está sendo muito investigada (Javid et al., 2007). A hsp constitui um componente integral do HIF e esta ligação provoca superexpressão da hsp (Zhou et., 2004). Ações dirigidas de drogas que inibem o complexo HIF-hsp exerceriam um potencial inibitório sobre esta importante via da carcinogênese, todavia, ainda é necessário distinguir os efeitos dos membros da família das hsp (Javid et al., 2007) para concentrarmos nossas ações e atingirmos o êxito mais precocemente.

As mutações do gene supressor VHL são responsáveis pela Síndrome de VHL. Esse gene encontra-se mutado em 75% dos casos de CCR esporádico (Foster et al., 1994). Acredita-se que o fator de necrose tumoral alfa contribua para a função supressiva do gene VHL (Caldwell et al., 2002); em nosso estudo, ele foi superexpresso nos casos favoráveis em relação aos normais, confirmando a teoria de Caldwell.

Uma das características mais freqüentes nas células do câncer é a perda do contato normal célula-célula e célula-matriz permitindo a invasão dos tecidos, migração pela corrente sanguínea e assentamento no sítio metastático. As E-caderinas pertencem a uma família de moléculas de adesão,

codificadas por um gene localizado no cromossomo 16q23. Em nosso estudo, demonstramos subexpressão de caderina 18 nos tumores desfavoráveis em relação aos favoráveis, o que se assemelha a descrição de progressão de outras neoplasias. Langner et al (2005) demonstraram a mesma anormalidade em CCR, mesmo em tumores pT_{1a}. A expressão de E-caderinas está reduzida numa significativa porcentagem de casos de câncer de próstata. (Umbas et al., 1992). Redução de expressão de E-caderina/beta, catenina, fibronectina, laminina foi demonstrada em indivíduos expostos ao césio137 no acidente de Chernobyl, sugerindo que estas modificações na membrana extracelular podem ocorrer após exposição ambiental às radiações ionizantes (Romanenko et al., 2006). A E-caderina foi superexpressa no CCR, mesmo em tumores pT_{1a}, conforme Langner et al. (2005). Em nosso estudo, genes da caderina 18 foram subexpressos nos casos desfavoráveis em relação aos favoráveis, com isto, facilitaria a evolução da doença.

Com a progressão dos tumores em grau e estágio, geralmente eles tornam-se aneuplóides (Yang et al., 2000) e muitos estudos têm mostrado que os Loci cromossômicos, habitualmente perdidos nestes CCR avançados, incluem 8p e 9p (Presti et al., 2002; Schullerus et al., 1997). A perda do cromossomo 3p, relacionada a perda de genes supressores e ganho do 5q, relacionado ao ganho de oncogenes, são achados comuns nos estudos relacionados a tumorigênese do CCR (Presti et al., 1998). As proteínas envolvidas na regulação do ciclo celular apresentaram uma significativa diferença na sua expressão durante a gênese do tumor. Os CCR pT_{1a} demonstram forte expressão do p27, bcl-2, MUC1, IGF-I, CD10 (Takahashi et

al., 2005) e fraca expressão do p53, E-Caderina e SKp2 (Langner et al., 2005). Em nosso estudo a caderina 6 foi superexpressa nos tumores metastáticos e subexpressa nos tecidos renais normais.

O gene p27 é um gene supressor, localizado no cromossomo 12p12. Estudos realizados por Kibel et al. demonstraram alterações no cromossomo 12p12 em 50 % dos pacientes com câncer de próstata metastático (Kibel et al., 1998). Baixos níveis de p27 têm risco três vezes maior de falha da terapia cirúrgica, quando comparados aos homens com expressão normal (Yang et al., 1998). Neste estudo, o p27 foi fracamente expresso apenas nos tecidos renais normais, não tendo nenhuma alteração no CCR propriamente dito.

A família de genes das proteínas de dedos de zinco (ZFP: Zinc Finger Proteins) está implicada na proliferação e diferenciação de células normais. Donti et al. (1990) mapeou o gene HF 10 a 3p22-p21, região freqüentemente envolvida com mudanças cromossômicas associadas ao CCR. Lanfrancone et al. (1992) também relatou essas alterações em que ocorre deleção dos genes 3p22-p21 nos casos de CCR. Em nosso estudo, este gene ZFP foi superexpresso nos casos de doença metastática indicando, provavelmente, um marcador de pior prognóstico.

Críticas pertinentes aos estudos com esse desenho originam-se pelo fato de o CCC ocorrer em aproximadamente 80% dos CCR e muitos estudos demonstram grupos de genes diferentes sub ou superexpressos, sem grandes intersecções entre as diversas pesquisas. Estas discrepâncias ocorrem provavelmente devido a diferentes critérios de seleção para genes alterados, e ademais, não existe uma plataforma única de *microarray*. Outro dado criticável

para qualquer análise de *microarray* é a restrição na coleta, com exame de fragmentos muito pequenos de tecido neoplásico e a perda de linhagens celulares em tumores que, na maioria das vezes, são heterogêneos (Seliger et al., 2003). Contudo, esta variação de dados publicados sobre *microarray* no CCR até o momento, nos obriga a dar uma pequena parcela de contribuição neste imenso oceano de conhecimento.

Podemos destacar como pontos positivos deste estudo, termos procurado pesquisar os parâmetros anatomopatológicos conhecidos e acrescentado os dados clínicos do CCR em doença localizada de baixo e alto risco e metastática. Esta plataforma (codelink TM) avaliou 55.000 genes, outras plataformas habitualmente estudam aproximadamente 20 mil genes (Yin-Goen et al., 2006). Uma análise homogênea exclusiva do CCC, o mais comum subtipo do CCR, e a possibilidade de fornecermos novos genes para análise por outros centros também pode ser importante, como reforça o estudo de Tao Shi. (Shi et al, 2005). Provavelmente em um futuro próximo serão avaliadas *microarrays* com casos individuais, inclusive, uma seqüência natural deste estudo, é sua validação por PCR (Lovisol et al., 2006).

O mais relevante na análise da expressão genética global dos materiais biológicos tumorais é desenvolvermos estratégias terapêuticas de intervenção. Os conhecimentos obtidos a partir dos experimentos e mapas genéticos comportam-se apenas como mais um passo para entendermos e desvendarmos os mecanismos fisiológicos e patofisiológicos envolvidos no processo de desenvolvimento do CCR. Com o aumento de estudos dos

tumores renais por *microarray*, a assinatura molecular do CCR tem sido gradualmente desvendada.

Baseando-nos em eventos moleculares cuidadosamente esmiuçados no CCR, os benefícios das terapias individualizadas serão percebidos em um futuro próximo. Contudo, como as alterações genéticas no câncer são complexas e com frequência envolvem múltiplos caminhos, será necessária a combinação de novas drogas alvo para os genes particularmente envolvidos em cada subtipo histológico do CCR.

Até recentemente, os estudos que avaliaram a expressão genética do CCR por *microarray* eram focados em identificar apenas os genes envolvidos com essa neoplasia maligna. Procuramos avançar nessa análise e, junto aos parâmetros anatomopatológicos conhecidos, acrescentamos os dados clínicos do CCC em doença localizada e metastática. Analisamos as características expressas por 55000 genes em 19 CCC comparados por análise do *microarray* em tumores incidentais de bom prognóstico, em tumores de alto risco, em tumores metastáticos e em tecidos renais normais. Os genes relacionados ao prognóstico do CCC que se destacaram (superexpressos) nos casos favoráveis foram o GSTP. Foram superexpressos nos CCC metastáticos os genes Interleucina 8, as proteínas de choque térmico (hsp), ZNF e ubiquitin C (UBC). (Kátia)

Nos anos recentes, a análise do perfil de expressão de genes em larga escala tem sido utilizada amplamente para a definição de características de expressão genética que se relacione à agressividade de neoplasias (Yin-Goen, 2006). Estudos atuais sobre o CCR têm buscado a identificação de marcadores

prognósticos. Yang et al., 2006 estudando 16 CCR em plataforma contendo 21.632 genes identificaram uma correlação entre as classificações histológica e genética de 14 entre 16 tumores renais. Jones et al., (2005) ao estudar 65 CCR, sendo 23 CCC, 13 papilíferos, 7 cromóforos, 12 oncocitomas e 24 tecidos renais normais, definiu um perfil genético relacionado ao desenvolvimento de metástases, a partir de uma plataforma de 22.283 genes (Affymetrix). Liou et al., (2004) estudou seis CCC e comparou a expressão diferenciada de genes com seis tecidos renais normais, utilizando uma plataforma de 7.129 genes (Affymetrix) identificou 25% de genes diferencialmente expressos entre eles superexpressão de moléculas de adesão (laminina A, fibronectina), que atuam no desenvolvimento da neoplasia. Estudo publicado previamente, que se assemelha a esse, foi realizado por Kosari et al (2005), onde foram estudados nove CCC com características agressivas, dez CCC sem padrão de agressividade, nove metástases e 12 rins normais. Utilizando a plataforma Affymetrix com 22.283 genes, Kosari et al., (2005), mostraram que os tumores localizados com características agressivas se assemelham no perfil de expressão gênica àqueles metastáticos, o que poderia resultar na identificação dos indivíduos propensos à progressão da doença pós nefrectomia, possibilitando a introdução de tratamento adjuvante. Contudo, através de uma análise ampla como o microarray, conseguir isolar apenas um gene, poderá indicar um caminho mais curto nas terapias futuras contra o CCR (Zigeuner et al., 2006)

Os receptores de membrana celular, como o fator epidérmico de crescimento (EGFR), foi fracamente expresso nos CCR iniciais como os pT1a,

todavia sua hiperexpressão foi correlacionada com aumento da categoria do estágio tumoral (Langner et al., 2005). Estas glicoproteínas transmembrana interagem com receptores da tirosina kinase e promovem invasão, metástase e outras atividades celulares (Langner et al., 2005). Muitas drogas alvo têm sido estudadas na tentativa de inibir eventos celulares agindo diretamente nestes receptores. Atualmente as drogas inibidoras da tirosina kinase apresentam resultados promissores no CCR metastático, proporcionando expectativa de controle da doença mais razoável do que a imunoterapia isolada. (Motzer et al., 2007). Em nosso estudo, genes ligados à via da kinase, foram identificados nos casos normais e favoráveis (Kátia)

A maioria dos tumores apresenta superexpressão do VEGF (fator de crescimento endotelial) um bem conhecido fator angiogênico, regulando a característica hipervasculatura do CCR, esta via relacionada à tumorigênese tem sido amplamente estudada (Hirota et al., 2006; Staehler et al., 2005).

A proteína de choque térmico (hsp) é exposta pelas células mediante condições patológicas e fisiológicas; suas funções mais importantes incluem a homeostase e apoptose com relevante papel na antigenicidade mediada pelas células T (Seliger et al., 2003). A superexpressão da hsp27 e 72 tem relevância clínica (Santarosa et al, 1997), particularmente a superexpressão do hsp27 no CCR quando comparada a células de rim normais (Lichtenfels et al., 2002). Destacamos que neste estudo, a hsp 1A e 1B foram subexpressas nos casos metastáticos em relação aos favoráveis e desfavoráveis. Já a hsp 47 foi superexpressa nos casos favoráveis/desfavoráveis. Ao que parece diferentes isoformas podem ser detectadas conforme a avaliação genética. A hsp70 é

considerada uma das mais potentes estimuladoras à resposta imune humana (Floto et al., 2006) e a estrutura e função destas proteínas e sua relação com a imunidade está sendo muito investigada (Javid et al., 2007).

As mutações do gene supressor VHL são responsáveis pela Síndrome de VHL. Esse gene encontra-se mutado em 75% dos casos de CCR esporádico (Foster et al., 1994). Acredita-se que o fator de necrose tumoral alfa contribua para a função supressiva do gene VHL (Caldwell et al., 2002); em nosso estudo, ele foi superexpresso nos casos favoráveis em relação aos normais, confirmando a teoria proposta por Caldwell em 2002.

Ao avaliar a expressão do CD31 no CCR não foi obtida informação prognóstica importante (Sandlund et al., 2007). Nesta série o CD10 foi subexpresso nos casos favoráveis com relação aos normais.

As células do câncer também são caracterizadas pela perda do contato normal célula-célula. As E-caderinas pertencem a uma família de proteínas de adesão, localizadas no cromossomo 16q23. A expressão de E-caderinas está reduzida numa significativa porcentagem de casos de câncer de próstata. (Umbas et al., 1992).

Avaliações da E-caderina/beta, catenina, fibronectina, laminina demonstraram que ocorreu uma redução em indivíduos expostos ao céscio137 no acidente de Chernobyl, sugerindo que estas modificações ocorridas na membrana extracelular surgiram após exposição ambiental às radiações ionizantes (Romanenko et al., 2006). A E-caderina também foi subexpressa no CCR, mesmo em tumores pT1a conforme Langner et al. (2005). Em nosso estudo, moléculas de caderina 18 foram subexpressas nos casos

desfavoráveis em relação aos favoráveis, com isto, facilitaria a evolução da doença.

A perda do cromossomo 3p, pela presença de genes supressores e ganho do 5q, pela presença de oncogenes, apresentam nítida correlação com a tumorigênese do CCR (Presti et al., 1998). As proteínas envolvidas na regulação do ciclo celular apresentaram uma significativa diferença na sua expressão durante a gênese do tumor. Os CCR pT1a demonstraram forte expressão do p27, bcl-2, MUC1, IGF-I, CD10 e fraca expressão do p53, E-Caderina e SKp2. (Langner et al., 2005). Em nosso estudo a caderina 6 foi superexpressa nos tumores metastáticos e subexpressa nos tecidos renais normais. O IGF foi superexpresso no CCR em 100% dos casos (Takahashi et al., 2005).

Com a progressão dos tumores em grau e estágio, geralmente eles tornam-se aneuplóides (Yang et al., 2000) e muitos estudos têm mostrado que os Loci cromossômicos, habitualmente perdidos nestes CCR avançados, incluem 8p e 9p (Presti et al., 2002; Schullerus et al., 1997).

A família de genes das proteínas de dedos de zinco (ZFP: Zinc Finger Proteins) está implicada na proliferação e diferenciação de células normais. Donti et al. (1990) mapeou o gene HF 10 a 3p22-p21, região freqüentemente envolvida com mudanças cromossômicas associadas ao CCR. Lanfrancone et al. (1992) também relatou essas alterações em que ocorre deleção dos genes 3p22-p21 nos casos de CCR. Em nosso estudo, este gene ZFP foi superexpresso nos casos de doença metastática, indicando provavelmente um marcador de pior prognóstico.

O gene p27 é um gene supressor, localizado no cromossomo 12p12. Estudos realizados por Kibel et al. demonstraram alterações no cromossomo 12p12 em 50 % dos pacientes com câncer de próstata metastático (Kibel et al., 1998). Baixos níveis de p27 têm risco três vezes maior de falha da terapia cirúrgica, quando comparados aos homens com expressão normal (Yang et al., 1998). Neste estudo, o p27 foi fracamente expresso apenas nos tecidos renais normais, não tendo nenhuma alteração no CCR propriamente dito.

O silenciamento dos genes através da hipermetilação das ilhas CpG (citosina precedendo uma guanosina) é uma característica comum nas linhagens cancerígenas em humanos (Bastian et al., 2005) e está freqüentemente associada ao bloqueio transcricional parcial ou completo. Enquanto que os dinucleotídeos estão geralmente metilados por toda a vida do genoma das células somáticas normais, as ilhas de CpG, ou seja, grupos de dinucleotídeos nas regiões regulatórias dos genes, são usualmente não-metilados (Lee et al., 1997; Yegnasubramanian et al., 2006). Esta alteração epigenética fornece um caminho alternativo para silenciar o gene em adição com a mutação ou deleção gênica. As GST (Glutathione S Transferase) são enzimas envolvidas no metabolismo dos carcinógenos e na defesa contra as espécies reativas do oxigênio. Polimorfismos genéticos têm sido detectados nas GST e alguns destes polimorfismos têm sido associados a um risco aumentado para câncer (Autrup et al., 1999)

O grupo das Glutathione S Transferase representa várias proteínas diméricas, que conjugam substratos eletrofílicos com glutathione tripeptídeo (GSH), formando produtos menos tóxicos e mais solúveis para serem

eliminados, evitando, assim, danos no DNA. O gene GSTP1, localizado no cromossomo 11q13, expressa uma função de “gene vigia” que, quando inativado, conduz a alterações genéticas que promovem o crescimento tumoral. O GSTP alfa foi superexpresso em 90% dos CCR. (Takahashi et al., 2005), nesse estudo o GSTP foi superexpresso nos casos metastáticos, confirmando-se como um marcador de pior prognóstico.

Críticas pertinentes aos estudos com esse desenho originam-se pelo fato de o CCC ocorrer em aproximadamente 80% dos CCR e muitos estudos demonstram genes sub ou superexpressos. Estas discrepâncias ocorrem provavelmente devido a diferentes critérios de seleção para genes alterados, e ademais, não existe uma plataforma única de microarray. Outro dado criticável para qualquer análise de microarray é a restrição na coleta, com exame de fragmentos muito pequenos de tecido neoplásico e a perda de linhagens celulares em tumores que, na maioria das vezes, são heterogêneos (Seliger et al., 2003). Contudo, esta variação de dados publicados sobre microarray no CCR até o momento, nos obriga a dar uma pequena parcela de contribuição neste imenso oceano de conhecimento.

Podemos destacar como pontos positivos deste estudo, termos procurado pesquisar os parâmetros anatomopatológicos conhecidos e acrescentado os dados clínicos do CCR em doença localizada de baixo e alto risco e metastática. Esta plataforma (codelink TM) avaliou 55.000 genes, outras plataformas habitualmente estudam aproximadamente 20 mil genes (Yin-Goen et al., 2006). Uma análise homogênea com 19 CCC, o mais comum subtipo do CCR, e a possibilidade de fornecermos novos genes para análise por outros

centros também pode ser importante, como reforça o estudo de Tao Shi. (Shi et al, 2005). Provavelmente em um futuro próximo serão avaliadas microarrays com casos individuais, inclusive, uma seqüência natural deste estudo, é sua validação por PCR (Lovisol et al., 2006).

O mais relevante na análise da expressão genética global dos materiais biológicos tumorais é desenvolvermos estratégias terapêuticas de intervenção. Os conhecimentos obtidos a partir dos experimentos e mapas genéticos comportam-se apenas como mais um passo para entendermos e desvendarmos os mecanismos fisiológicos e patofisiológicos envolvidos no processo de desenvolvimento do CCR. Com o aumento de estudos dos tumores renais por microarray, a assinatura molecular do CCR tem sido gradualmente desvendada. No entanto, ao que parece, as alterações genéticas encontradas não são uniformes. Por exemplo, quando dividimos os subtipos células claras, papilíferos e cromóforos, identificamos subclassificações moleculares que podem relacionar-se a diferentes prognósticos dentro de determinada expressão gênica (Takahashi et al., 2006; Tang et al., 2006. Ademais, existe uma distinção de genes conforme o tipo de doença analisada (inicial ou avançada), suportando também as diferenças biológicas de cada CCR (Jones et al., 2005).

Baseando-nos em eventos moleculares cuidadosamente esmiuçados no CCR, os benefícios das terapias individualizadas serão percebidos em um futuro próximo. Contudo, como as alterações genéticas no câncer são complexas e com freqüência envolvem múltiplos caminhos, além da terapia sistêmica com imunoterapia, será necessária a combinação de novas drogas

alvo para os genes particularmente envolvidos em cada subtipo histológico do CCR.

7 CONCLUSÃO

Foi demonstrado perfis genéticos distintos entre carcinomas de células claras do rim favoráveis, desfavoráveis e metastáticos, destacando um incremento progressivo de expressão daqueles codificadores de HSP 70, e IL-8 que podem ser parcialmente responsáveis pela progressão desta neoplasia.

A partir dos nossos resultados podemos validar marcadores prognósticos ou sugerir intervenções direcionadas que objetivem uma terapia alvo específica.

Os caracteres individuais relacionados com a expressão gênica mostram que no futuro precisaremos conhecer cada vez mais esses caminhos para definirmos estratégias específicas no tratamento do CCR. Estes conhecimentos poderão servir talvez para bloquear genes que seriam potenciais precursores de doença agressiva e fatal e identificar novos genes como marcadores moleculares.

Os genes superexpressos foram:

Os genes relacionados aos CCC de baixo risco, alto risco e metastático foram:

Anexo 1: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo favorável em relação ao grupo metastático favorável (MET-FAV-UP)

11050	6,87	clone 24734 mRNA sequence
29444	5,7	zu07b03.r1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:731117 5' similar to contains MER30.t2 MER30 repetitive element
50162	4,46	heat shock 70kDa protein 1B, mRNA (cDNA clone MGC:74463 IMAGE:4153196)
45082	4,61	UI-H-BI0-aai-f-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub1 cDNA clone IMAGE:2709644 3'
39816	4,36	heat shock 70kDa protein 1A (HSPA1A)
24261	4,17	interleukin 8 (IL8)
16648	4,07	dual specificity phosphatase 2 (DUSP2)
51964	3,01	FETAL LIVER cDNA clone CS0DM005YF09 5-PRIME
49424	3,4	hypothetical protein LOC90637 (LOC90637)
48174	3,09	UI-H-BI3-akw-d-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub5 cDNA clone IMAGE:2735684 3'
39545	3,29	hypothetical LOC145741 (LOC145741)
36561	3,4	mRNA cDNA DKFZp667A182 (from clone DKFZp667A182)
35646	3,81	zinc finger protein 331 (ZNF331)
34638	3,19	R00814 ye75c04.s1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:123558 3' similar to contains Alu repetitive element
34169	3,09	AGENCOURT_7932449 NIH_MGC_72 cDNA clone IMAGE:6156942 5'
33575	3,08	cDNA FLJ12399 fis, clone MAMMA1002780
32347	3,14	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998E05123
31728	3,99	M41 mRNA, complete sequence alternatively spliced
31091	3,58	PLACENTA cDNA clone CL0BA003ZG11 3-PRIME, mRNA sequence
26598	3,08	xm71a04x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2689614 3'
22763	3,97	chemokine (C-X-C motif) ligand 2 (CXCL2)
17062	3,13	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade E (nexin, plasminogen activator inhibitor type 1), member 1 (SERPINE1)
16988	3,19	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B (FOSB)

11584	3,66	immediate early response 5 [Homo sapiens]
1071	3,03	wq57b08.x1 NCI_CGAP_GC6 cDNA clone IMAGE:2475351 3'
6469	2,13	ubiquitin C (UBC)
5985	2,9	cDNA FLJ37957 fis, clone CTONG2009529
5937	2,08	naf46c09x1 NCI_CGAP_Brn65 cDNA clone IMAGE:4147192 3' similar to contains Alu repetitive element
5280	2,01	cDNA FLJ42002 fis, clone SPLEN2030250
52740	2,15	id95g02x1 Human insulinoma cDNA clone IMAGE:5023659 3' similar to TR:Q9Y649 Q9Y649 GW128.
52676	2,82	xw85c06x1 NCI_CGAP_Pan1 cDNA clone IMAGE:2834794 3' similar to SW:RS29_HUMAN P30054 40S RIBOSOMAL PROTEIN S29. [1]
51885	2,37	AGENCOURT_6566742 NIH_MGC_88 cDNA clone IMAGE:5736799 5'
51587	2,12	601649840F1 NIH_MGC_74 cDNA clone IMAGE:3933920 5'
50596	2,08	synaptophysin (SYP)
49628	2,81	hypothetical protein FLJ23231 (FLJ23231)
49376	2,8	cDNA clone IMAGE:4303615
48907	2,19	UI-1-BB1p-aub-a-04-0-UI.s1 NCI_CGAP_PI6 cDNA clone UI-1-BB1p-aub-a-04-0-UI 3'
48613	2,5	cDNA FLJ25967 fis, clone CBR01929
48426	2,05	602384282F1 NIH_MGC_93 cDNA clone IMAGE:4513125 5'
48309	2,28	UI-H-DF0-arp-f-13-0-UIs1 NCI_CGAP_DF0 cDNA clone IMAGE:3107699 3'
47950	2,2	UI-H-DT0-atx-c-08-0-UI.s1 NCI_CGAP_DT0 cDNA clone IMAGE:5865535 3'
47581	2,31	UI-H-BW0-aih-c-02-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub6 cDNA clone IMAGE:2729091 3'
46991	2,25	Soares_placenta_8to9weeks_2NbHP8to9W cDNA clone IMAGp998O16547
46429	2,02	UI-H-DF0-ben-i-18-0-UIs1 NCI_CGAP_DF0 cDNA clone UI-H-DF0-ben-i-18-0-UI 3'
46209	2,42	seq3198 1-NIB cDNA clone Hy18-Ch13-Charon40-cDNA-152 3'
45952	2,33	UI-H-BI2-aga-c-02-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub4 cDNA clone IMAGE:2723690 3'
45744	2,12	UI-H-EI1-azd-c-14-0-UI.s1 NCI_CGAP_EI1 cDNA clone IMAGE:5847109 3'
45507	2,4	yl63f10s1 Soares breast 3NbHBst cDNA clone IMAGE:162955 3' similar to contains MER22 repetitive element

45365	2,15	KIAA1922 protein
4525	2,46	UI-CF-EN1-adi-e-14-0-UIs1 UI-CF-EN1 cDNA clone UI-CF-EN1-adi-e-14-0-UI 3'

Anexo 2: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo metastático favorável (MET-FAV-DOWN)

24789	-2,62	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 9 (SLC7A9)
24681	-2,13	FLJ41603 protein (FLJ41603)
24406	-2,57	retinol binding protein 5, cellular (RBP5)
24024	-2,24	empty spiracles homolog 2 (Drosophila) (EMX2)
23580	-2,79	PTD012 protein (PTD012)
2322	-2,2	cDNA FLJ41480 fis, clone BRTHA2002493
23202	-2,02	Nedd4 family interacting protein 1 (NDFIP1)
23196	-2,59	zh66h10s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:417091 3'
21792	-2,62	aldehyde oxidase 1 (AOX1)
21591	-2,51	matrix metalloproteinase 7 (matrilysin, uterine) (MMP7)
21390	-2,11	protein tyrosine phosphatase, receptor type, F (PTPRF), transcript variant 1
20765	-2,36	WAP four-disulfide core domain 2 (WFDC2), transcript variant 1
19650	-2,7	Hsapiens mRNA for mammary-derived growth inhibitor (MDGI)
18575	-2,2	transmembrane 4 superfamily member 11 (plasmolipin) (TM4SF11)
18461	-2,69	wh56c02x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2384738 3'
18458	-2,22	inositol(myo)-1(or 4)-monophosphatase 2 (IMPA2)
17104	-2,02	nuclear receptor subfamily 3, group C, member 2 (NR3C2)
1700	-2,18	tp90h02x1 NCI_CGAP_Ut3 cDNA clone IMAGE:2206611 3'
16733	-2,7	cDNA FLJ26856 fis, clone PRS08123
16586	-2,72	aminoacylase 1 (ACY1)
16412	-2,02	complement component 7 (C7)
16152	-2,02	Fc fragment of IgG binding protein (FCGBP)
15805	-2,02	cadherin 6, type 2, K-cadherin (fetal kidney) (CDH6)
15091	-2,45	matrilin 2 (MATN2), transcript variant 2
13437	-2,27	hypothetical protein FLJ10847 (FLJ10847)
12878	-2,18	atypical PKC isotype-specific interacting protein long variant mRNA

12145	-2,05	fibulin 5 (FBLN5)
11862	-2,16	wa17f03x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2298365 3'
11181	-2,52	butyrobetaine (gamma), 2-oxoglutarate dioxygenase (gamma-butyrobetaine hydroxylase) 1 (BBOX1)
11054	-2	clone 24405 mRNA sequence
10510	-2,06	glutathione S-transferase M3 (brain) (GSTM3)
10151	-2,77	glycine-N-acyltransferase (GLYAT), nuclear gene encoding mitochondrial protein, transcript variant 2
51921	-3,65	chromosome 9 open reading frame 58 (C9orf58), transcript variant 1, mRNA
51433	-3,37	UI-E-EJ1-ajm-g-01-0-UIr1 UI-E-EJ1 cDNA clone UI-E-EJ1-ajm-g-01-0-UI 5'
51409	-3,09	cDNA FLJ32283 fis, clone PROST2000212
46920	-3,99	proline-rich acidic protein 1 (PRAP1), mRNA
42854	-3,06	FKSG87 protein (FKSG87)
36749	-3,32	voltage-dependent calcium channel gamma subunit-like protein, mRNA (cDNA clone MGC:50757 IMAGE:5221396)
35985	-3,22	esophageal cancer related gene 4 protein (ECRG4)
29751	-3,06	GLC cDNA clone GLCAIA06 3'
24985	-3,77	QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cDNA
23653	-3,12	hypothetical protein FLJ22655 (FLJ22655)
21250	-3,04	defensin, beta 1 (DEFB1)
20998	-3,38	mal, T-cell differentiation protein (MAL), transcript variant d
19612	-3,17	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
17748	-3,12	HUM084D02B Clontech human fetal brain polyA+ mRNA (#6535) cDNA clone GEN-084D02 5'
8452	-4,17	N-acetyltransferase 8 (camello like) (NAT8)
39448	-4,65	uromodulin (uromucoid, Tamm-Horsfall glycoprotein) (UMOD)
25042	-5	EST389377 MAGE resequences, MAGO Homo sapiens cDNA
38798	-6,27	qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2028680 3' similar to gb:X02747 FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLASE B (HUMAN);

Anexo 3: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo metastático desfavorável (MET-DESF-UP)

24261	6,1	interleukin 8 (IL8)
20740	6,08	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) (SERPINH1)
11050	6,43	clone 24734 mRNA sequence
50162	5,25	heat shock 70kDa protein 1B, mRNA (cDNA clone MGC:74463 IMAGE:4153196)
47315	5,4	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27) (IFITM1)
39816	5,89	heat shock 70kDa protein 1A (HSPA1A)
39198	5,04	major histocompatibility complex, class II, DP beta 1 (HLA-DPB1)
36190	5,53	tumor protein, translationally-controlled 1 (TPT1)
36034	5,21	interleukin 1, beta (IL1B)
29444	5,68	zu07b03.r1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:731117 5' similar to contains MER30.t2 MER30 repetitive element ;
49424	4,41	hypothetical protein LOC90637 (LOC90637)
42580	4,58	regulator of G-protein signalling 5 (RGS5)
41630	4,99	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U) (IFITM3)
41571	4,86	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha (NFKBIA)
39563	4,83	ribosomal protein L14 (RPL14)
37696	4,79	tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (erythroid potentiating activity, collagenase inhibitor) (TIMP1)
37489	4,36	B-cell translocation gene 1, anti-proliferative (BTG1)
36444	4,36	ribosomal protein S24 (RPS24), transcript variant 1
36054	4,53	heat shock 70kDa protein 8 (HSPA8), transcript variant 1
35732	4,12	ribosomal protein L19 (RPL19)
22873	4,3	tropomyosin 4 (TPM4)
20547	4,11	collagen, type VI, alpha 3 (COL6A3), transcript variant 1
19056	4,43	GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle (GEM), transcript variant 1
17697	4,95	zinc finger protein 36, C3H type, homolog (mouse) (ZFP36)

16648	4,36	dual specificity phosphatase 2 (DUSP2)
9553	3,36	headcase homolog (Drosophila) (HECA)
8683	3,44	UI-H-ED0-axk-k-10-0-UIs1 NCI_CGAP_ED0 cDNA clone IMAGE:5830017 3'
6469	3,72	ubiquitin C (UBC)
50472	3,14	fs17e11y1 Human Lens cDNA (Normalized): fs cDNA clone fs17e11 5'
50365	3,63	chromosome 19 open reading frame 27 (C19orf27)
48725	3,69	HUM065B03B Clontech human fetal brain polyA+ mRNA (#6535) cDNA clone GEN-065B03 5'
4657	3,58	major histocompatibility complex, class I, E (HLA-E)
46443	3,68	UI-H-DH0-aui-h-17-0-UIs1 NCI_CGAP_DH0 cDNA clone IMAGE:5871040 3'
45082	3,89	UI-H-BI0-aai-f-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub1 cDNA clone IMAGE:2709644 3'
43452	3,11	major histocompatibility complex, class II, DP alpha 1 (HLA-DPA1)
41448	3,97	major histocompatibility complex, class II, DR alpha (HLA-DRA)
40674	3,14	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta (GADD45B)
39986	3,01	nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (NFE2L2)
39957	3,12	chaperonin containing TCP1, subunit 3 (gamma) (CCT3)
39362	3,08	ribophorin II (RPN2)
39332	3,21	proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta) (PSME2)
39154	3,23	early growth response 1 (EGR1)
39085	3,02	activating transcription factor 4 (tax-responsive enhancer element B67) (ATF4), transcript variant 1
39006	3,27	core promoter element binding protein (COPEB)
38955	3,09	ribosomal protein S25 (RPS25)
38952	3,85	ribosomal protein L21 (RPL21)
38809	3,99	collagen, type I, alpha 1 (COL1A1)
37965	3,97	ribosomal protein L28 (RPL28)
37212	3,6	hemoglobin, alpha 1 (HBA1)
36561	3,69	mRNA; cDNA DKFZp667A182 (from clone DKFZp667A182)

Anexo 4: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo metastático desfavorável (MET-DESF-DOWN)

18362	-2,39	chromosome 21 open reading frame 66 (C21orf66), transcript variant 2
18068	-2,63	guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 5 (GNG5)
17466	-2,65	cDNA FLJ34460 fis, clone HLUNG2002942
17008	-2,01	zh48d01s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:415297 3'
1681	-2,82	FIS (FIS)
16720	-2,35	cDNA FLJ45332 fis, clone BRHIP3007239
16688	-2,27	ADP-ribosylation factor-like 2 (ARL2)
16412	-2,8	complement component 7 (C7)
15687	-2,35	general transcription factor IIA, 1, 19/37kDa (GTF2A1), transcript variant 1
15389	-2,68	mRNA from cd34+ stem cells cDNA clone CBNAZD12
14785	-2,47	dispatched homolog 1 (Drosophila) (DISP1)
14423	-2,14	xj83g06x1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:2663866 3'
14278	-2	UI-H-ED0-ays-e-14-0-UIs1 NCI_CGAP_ED0 cDNA clone UI-H-ED0-ays-e-14-0-UI 3'
13661	-2	solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 3 (SLC29A3)
13606	-2,14	cDNA FLJ33081 fis, clone TRACH2000321
13585	-2,11	hypothetical protein FLJ11036 (FLJ11036)
13258	-2,47	talin 2 (TLN2)
13159	-2,1	Rho GTPase activating protein 8 (ARHGAP8), transcript variant 1
12963	-2,08	putative G-protein coupled receptor GPCR42 (FLJ10060)
12878	-2,1	atypical PKC isotype-specific interacting protein long variant mRNA
12641	-2,13	yr32a08s1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:206966 3'
12618	-2,68	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 5 (SLC16A5)
1260	-2,19	hypothetical protein FLJ35976 (FLJ35976)
12190	-2,13	clone IMAGE:4830882

12164	-2,1	mitochondrial glutaminase pseudogene, nuclear pseudogene, complete sequence
10605	-2,01	sodium channel, voltage-gated, type II, beta (SCN2B)
10581	-2,05	ah71e06.s1 Soares_testis_NHT cDNA clone 1321090 3' similar to contains LTR8.t2 LTR8 repetitive element ;
10179	-2,5	zw69d04r1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:781447 5'
10157	-2,89	wg21a01x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:2365704 3' similar to contains Alu repetitive element;
10129	-2,09	hypothetical protein MGC45840 (MGC45840)
48980	-3,05	UI-H-BI4-apa-a-07-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub8 cDNA clone IMAGE:3086508 3'
4825	-3,42	hypothetical protein MGC45438 (MGC45438)
46920	-3,34	proline-rich acidic protein 1 (PRAP1), mRNA
43269	-3,09	atonal homolog 8 (Drosophila) (ATOH8)
3849	-3,53	cDNA FLJ14343 fis, clone THYRO1000916
32624	-3,02	prominin 2 (PROM2)
29384	-3,11	xf23a03x1 NCI_CGAP_Kid8 cDNA clone IMAGE:2618860 3' similar to gb:X58295_rna1 PLASMA GLUTATHIONE PEROXIDASE PRECURSOR (HUMAN);
2818	-3,1	ze75f08.r1 Soares_fetal_heart_NbHH19W cDNA clone IMAGE:364839 5' similar to SW:HMG1_CRIGR P07156 HIGH MOBILITY GROUP PROTEIN HMG1 ;contains element LTR4 repetitive element ;
25016	-3,17	potassium channel tetramerisation domain containing 14 (KCTD14)
24985	-3,4	QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cDNA
24366	-3,56	Rhesus blood group, C glycoprotein (RHCG)
20765	-3,2	WAP four-disulfide core domain 2 (WFDC2), transcript variant 1
19612	-3,51	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
16152	-3,57	Fc fragment of IgG binding protein (FCGBP)
15806	-3,48	aquaporin 2 (collecting duct) (AQP2)
11963	-3,25	receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (RAMP1)
10957	-3,48	p8 protein (candidate of metastasis 1) (P8)
1046	-3,75	cDNA FLJ38449 fis, clone FEBRA2019389

38798	-5,03	qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2028680 3' similar to gb:X02747 FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLASE B (HUMAN);
9753	-7,16	megakaryoblastic leukemia (translocation) 1 (MKL1)

Anexo 5: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo favorável versus desfavorável (FAV-DESF-DOWN)

42321	-2,20	hypothetical protein FLJ13265 (FLJ13265)
41900	-2,29	602351269F1 NIH_MGC_90 cDNA clone IMAGE:4446065 5'
39377	-2,22	surfactant, pulmonary-associated protein C (SFTPC)
38744	-2,00	clone IMAGE:4800236, mRNA
38183	-2,20	UI-HF-BL0-ach-c-11-0-Ulr1 NIH_MGC_37 cDNA clone IMAGE:3058964 5'
36621	-2,50	CD2-associated protein (CD2AP)
35421	-2,12	MR0-HT0405-170300-203-h10 HT0405 Homo sapiens cDNA
35333	-2,00	wi48e10x1 NCI_CGAP_Co16 cDNA clone IMAGE:2393514 3'
35226	-2,07	BM cDNA clone BMFASG08 5'
34579	-2,03	QV1-HB0031-141200-578-b04 HB0031 Homo sapiens cDNA
34176	-2,16	rheumatoid arthritis fibroblast-like synovial cells cDNA clone RB16
33697	-2,25	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998N03411 ; IMAGE:210626
33470	-2,19	df121d10w1 Morton Fetal Cochlea cDNA clone IMAGE:2540202 3'
32606	-2,41	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998B19362 ; IMAGE:191538
30916	-2,12	xp61c03.x1 NCI_CGAP_Ov39 cDNA clone IMAGE:2744836 3' similar to contains Alu repetitive element;
30883	-2,18	ni59d11s1 NCI_CGAP_Ov2 cDNA clone IMAGE:981141
30831	-2,02	hn08g12x1 NCI_CGAP_Thy6 cDNA clone IMAGE:3021574 3'
3070	-2,33	ah65f09s1 Soares_testis_NHT cDNA clone 1320521 3'
30514	-2,18	ok54d08.s1 NCI_CGAP_Lei2 cDNA clone IMAGE:1517775 3' similar to gb:L27670 Human Landsteiner-Wiener blood group glycoprotein (HUMAN);contains element MER2 repetitive element ;
30489	-2,58	DKFZp566C1346_r1 566 (synonym: hfkd2) cDNA clone DKFZp566C1346 5'

30437	-2,10	qm48f05.x1 Soares_placenta_8to9weeks_2NbHP8to9W cDNA clone IMAGE:1892001 3'
29353	-2,09	clone IMAGE:4551281
29274	-2,02	oa59c04s1 NCI_CGAP_GCB1 cDNA clone IMAGE:1309254 3' similar to gb:Z13009_rna1 EPITHELIAL-CADHERIN PRECURSOR (HUMAN);
28552	-2,12	hc79f03x1 NCI_CGAP_Gas4 cDNA clone IMAGE:2898941 3' similar to contains Alu repetitive element;
28454	-2,11	wm06f09.x1 NCI_CGAP_Ut4 cDNA clone IMAGE:2435177 3' similar to contains Alu repetitive element;contains element MER32 repetitive element ;
28395	-2,20	H05593 yl69a12.s1 Soares infant brain 1NIB cDNA clone IMAGE:43183 3' similar to gb:X01057_rna1 INTERLEUKIN-2 RECEPTOR ALPHA CHAIN PRECURSOR (HUMAN);contains Alu repetitive element;
2818	-2,17	ze75f08.r1 Soares_fetal_heart_NbHH19W cDNA clone IMAGE:364839 5' similar to SW:HMG1_CRIGR P07156 HIGH MOBILITY GROUP PROTEIN HMG1 ;contains element LTR4 repetitive element ;
27767	-2,03	DKFZp547N166_r1 547 (synonym: hfbr1) cDNA clone DKFZp547N166 5'
26075	-2,08	UI-E-CR0-ach-e-12-0-UIs1 UI-E-CR0 cDNA clone UI-E-CR0-ach-e-12-0-UI 3'
24366	-2,90	Rhesus blood group, C glycoprotein (RHCG)
23169	-2,19	ti17a07x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2130708 3' similar to contains Alu repetitive element;
22597	-2,21	clone L49 HERV-K-T47-like long terminal repeat sequence
21140	-2,04	GKC cDNA clone GKCADE05 5'
20431	-2,20	7i40f03x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:3524092 3' similar to contains Alu repetitive element;
20316	-2,20	qg58h07.x1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:1839421 3' similar to gb:L31860 GLYCOPHORIN A PRECURSOR (HUMAN);
19671	-2,46	cadherin 18, type 2 (CDH18)
1928	-2,28	hypothetical protein FLJ37464 (FLJ37464)
17466	-2,25	cDNA FLJ34460 fis, clone HLUNG2002942
15644	-2,01	Soares infant brain 1NIB cDNA clone IMAGp998F23152
14785	-2,13	dispatched homolog 1 (Drosophila) (DISP1)
13585	-2,15	hypothetical protein FLJ11036 (FLJ11036)
1330	-2,01	xs60e06x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2774050 3'
11359	-2,10	cDNA FLJ39997 fis, clone STOMA2002367
1046	-2,28	cDNA FLJ38449 fis, clone FEBRA2019389
10157	-2,15	wg21a01x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:2365704 3' similar to contains Alu repetitive element;
48980	-3,30	UI-H-BI4-apa-a-07-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub8 cDNA clone IMAGE:3086508 3'
25754	-3,31	cDNA FLJ11563 fis, clone HEMBA1003202

46209	-4,56	seq3198 1-NIB cDNA clone Hy18-Ch13-Charon40-cDNA-152 3'
36090	-4,83	ras homolog gene family, member B (RHOB)
9753	-7,00	megakaryoblastic leukemia (translocation) 1 (MKL1)

Anexo 6: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo favorável versus desfavorável (FAV-DESF-UP)

17009	8,80	phosphomevalonate kinase (PMVK)
36190	6,20	tumor protein, translationally-controlled 1 (TPT1)
39563	5,54	ribosomal protein L14 (RPL14)
39198	5,30	major histocompatibility complex, class II, DP beta 1 (HLA-DPB1)
36444	5,02	ribosomal protein S24 (RPS24), transcript variant 1
35732	5,10	ribosomal protein L19 (RPL19)
20327	5,26	lactate dehydrogenase A (LDHA)
8452	4,78	N-acetyltransferase 8 (camello like) (NAT8)
50472	4,37	fs17e11y1 Human Lens cDNA (Normalized): fs cDNA clone fs17e11 5'
48725	4,07	HUM065B03B Clontech human fetal brain polyA+ mRNA (#6535) cDNA clone GEN-065B03 5'
47315	4,70	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27) (IFITM1)
42580	4,98	regulator of G-protein signalling 5 (RGS5)
41630	4,93	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U) (IFITM3)
41448	4,45	major histocompatibility complex, class II, DR alpha (HLA-DRA)
39362	4,53	ribophorin II (RPN2)
38952	4,65	ribosomal protein L21 (RPL21)
38079	4,43	integral membrane protein 2B (ITM2B)
37965	4,08	ribosomal protein L28 (RPL28)
37696	4,35	tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (erythroid potentiating activity, collagenase inhibitor) (TIMP1)
37442	4,28	microsomal glutathione S-transferase 1 (MGST1), transcript variant 1a
37212	4,17	hemoglobin, alpha 1 (HBA1)
36042	4,31	ribosomal protein S9 (RPS9)
35763	4,48	ribosomal protein S3A (RPS3A)
25141	4,07	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 (ENPP3)
25042	4,73	EST389377 MAGE resequences, MAGO Homo sapiens cDNA
24853	4,05	cytochrome P450, family 2, subfamily J, polypeptide 2 (CYP2J2)
24467	4,78	plasmalemma vesicle associated protein (PLVAP)
23812	4,22	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade G (C1 inhibitor), member 1, (angioedema, hereditary) (SERPING1)
22834	4,15	glutathione S-transferase pi (GSTP1)

21726	4,15	signal sequence receptor, delta (translocon-associated protein delta) (SSR4)
20740	4,16	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) (SERPINH1)
20716	4,83	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit b, isoform 1 (ATP5F1)
15577	4,13	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, beta polypeptide (ATP5B), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA
9553	3,01	headcase homolog (Drosophila) (HECA)
8684	3,37	matrin 3 (MATR3)
7172	3,32	ATPase, H+ transporting, lysosomal 16kDa, V0 subunit c (ATP6V0C)
52526	3,32	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1 (HLA-DQA1)
52151	3,00	GPP34-related protein (GPP34R)
51060	3,83	ankyrin repeat domain 13 (ANKRD13)
50365	3,68	chromosome 19 open reading frame 27 (C19orf27)
50253	3,84	high mobility group nucleosomal binding domain 3 (HMGN3), transcript variant 1
50168	3,34	qh74e03x1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:1850428 3'
50015	3,58	FXFD domain containing ion transport regulator 2 (FXFD2), transcript variant a
49232	3,51	likely ortholog of mouse limb-bud and heart gene (LBH)
48583	3,20	chromosome 6 open reading frame 83 (C6orf83)
48484	3,38	yr39f03r1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:207677 5'
48043	3,23	yy69d07s1 Soares_multiple_sclerosis_2NbHMSP cDNA clone IMAGE:278797 3'
47580	3,59	cDNA: FLJ23313 fis, clone HEP11919
47254	3,46	hepatoma-derived growth factor (high-mobility group protein 1-like) (HDGF)
46990	3,08	solute carrier family 5 (sodium/glucose cotransporter), member 10 (SLC5A10)

Anexo 7: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo normal desfavorável (NORM-DESF-DOWN)

11585	-1,15	cdNA FLJ30572 fis, clone BRAWH2006083
11425	-1,21	DAP-1 alpha [Homo sapiens]
11302	-1,11	bone morphogenetic protein 10 (BMP10)
11042	-1,69	7b51f01x1 NCI_CGAP_Lu24 cDNA clone IMAGE:3231769 3'
10963	-1,26	TAF6-like RNA polymerase II, p300/CBP-associated factor (PCAF)-associated factor, 65kDa (TAF6L)
10957	-1,08	p8 protein (candidate of metastasis 1) (P8)
10930	-1,17	qi53d02x5 NCI_CGAP_Brn25 cDNA clone IMAGE:1860195 3'
10798	-1,47	kynurenine 3-monoxygenase (kynurenine 3-hydroxylase) (KMO)
10751	-1,27	aldolase C, fructose-bisphosphate (ALDOC)
10713	-1,05	gap junction protein, beta 3, 31kDa (connexin 31) (GJB3)
10581	-1,71	ah71e06.s1 Soares_testis_NHT cDNA clone 1321090 3' similar to contains LTR8.t2 LTR8 repetitive element ;
10505	-1,39	filamin B, beta (actin binding protein 278) (FLNB)
1046	-2,00	cdNA FLJ38449 fis, clone FEBRA2019389
10355	-1,22	kinesin family member 3C (KIF3C)
10256	-1,12	solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 18 (SLC22A18), transcript variant 2
10157	-1,13	wg21a01x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:2365704 3' similar to contains Alu repetitive element;
10134	-1,10	FLJ37183 protein (FLJ37183)
10099	-1,25	Mediterranean fever (MEFV)
9910	-2,09	olfactory-like receptor (OR5E1P) pseudogene
9102	-2,74	cdNA FLJ39602 fis, clone SKNSH2005061
53160	-2,02	xa10f07x1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:2567941 3'
50528	-2,32	G protein-coupled receptor 54 (GPR54)
5012	-2,16	7g16e11x1 NCI_CGAP_Brn23 cDNA clone IMAGE:3306668 3'
48980	-2,79	UI-H-BI4-apa-a-07-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub8 cDNA clone IMAGE:3086508 3'
47368	-2,28	UI-H-BW1-anv-h-05-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub7 cDNA clone IMAGE:3083768 3'
46428	-2,20	UI-CF-FN0-afi-g-02-0-UIs1 UI-CF-FN0 cDNA clone UI-CF-FN0-afi-g-02-0-UI 3'
45736	-2,30	ring finger protein 29 (RNF29), transcript variant 4
45231	-2,10	UI-H-BW1-anq-d-02-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub7 cDNA clone IMAGE:3083163 3'

42617	-2,24	THAP domain containing 7 (THAP7)
42321	-2,71	hypothetical protein FLJ13265 (FLJ13265)
39377	-2,19	surfactant, pulmonary-associated protein C (SFTPC)
37655	-2,17	iroquois homeobox protein 3 (IRX3)
34118	-2,44	EST156 human nasopharynx Homo sapiens cDNA
3039	-2,13	cDNA FLJ41747 fis, clone HSYRA2006873
30086	-2,09	xv19g10x1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:2813634 3' similar to contains Alu repetitive element;contains element MER18 repetitive element
25845	-2,02	transmembrane 4 superfamily member 5 (TM4SF5)
25754	-2,69	cDNA FLJ11563 fis, clone HEMBA1003202
1928	-2,28	hypothetical protein FLJ37464 (FLJ37464)
16307	-2,27	G protein-coupled receptor 103 (GPR103)
15806	-2,19	aquaporin 2 (collecting duct) (AQP2)
15334	-2,05	FLJ22794 protein (FLJ22794), transcript variant 1
15008	0,00	cDNA: FLJ22765 fis, clone KAIA1180
12101	-2,04	FLJ90680 protein (FLJ90680)
11899	-2,29	wg10b09x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:2364665 3'
10739	-2,14	NCI_CGAP_Brn52 cDNA clone IMAGp998K145594 ; IMAGE:2259973
28457	0,00	17000531890761 GRN_ES Homo sapiens cDNA 5'
46209	-4,07	seq3198 1-NIB cDNA clone Hy18-Ch13-Charon40-cDNA-152 3'
36090	-4,69	ras homolog gene family, member B (RHOB)
51892	-5,63	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5 (HLA-DRB5)
9753	-7,02	megakaryoblastic leukemia (translocation) 1 (MKL1)

Anexo 8: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo normal desfavorável (NORM-DESF-UP)

36719	7,28	silver homolog (mouse) (SILV)
39563	6,06	ribosomal protein L14 (RPL14)
36190	6,10	tumor protein, translationally-controlled 1 (TPT1)
22530	5,32	decorin (DCN), transcript variant B
20716	5,20	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit b, isoform 1 (ATP5F1)
15577	5,05	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, beta polypeptide (ATP5B), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA
48725	4,19	HUM065B03B Clontech human fetal brain polyA+ mRNA (#6535) cDNA clone GEN-065B03 5'
48119	4,21	aa30a10r1 NCI_CGAP_GCB1 cDNA clone IMAGE:814746 5'
47315	4,39	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27) (IFITM1)
46443	4,04	UI-H-DH0-aul-h-17-0-UIs1 NCI_CGAP_DH0 cDNA clone IMAGE:5871040 3'
41630	4,38	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U) (IFITM3)
39362	4,07	ribophorin II (RPN2)
39198	4,12	major histocompatibility complex, class II, DP beta 1 (HLA-DPB1)
39140	4,53	desmin (DES)
38952	4,57	ribosomal protein L21 (RPL21)
37442	4,47	microsomal glutathione S-transferase 1 (MGST1), transcript variant 1a
36444	4,90	ribosomal protein S24 (RPS24), transcript variant 1
36054	4,08	heat shock 70kDa protein 8 (HSPA8), transcript variant 1
36042	4,01	ribosomal protein S9 (RPS9)
35763	4,72	ribosomal protein S3A (RPS3A)
35732	4,91	ribosomal protein L19 (RPL19)
24478	4,07	peroxiredoxin 6 (PRDX6)
23793	4,84	aquaporin 3 (AQP3)
22822	4,48	GNAS complex locus (GNAS), transcript variant 4
20740	4,33	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) (SERPINH1)
19112	4,20	general transcription factor IIA, 2 (12kD subunit) (GTF2A2)
18074	4,58	small proline-rich protein 3 (SPRR3)
8684	3,18	matrin 3 (MATR3)

53109	3,63	chromosome 10 open reading frame 87 (C10orf87), mRNA
51060	3,01	ankyrin repeat domain 13 (ANKRD13)
50472	3,95	fs17e11y1 Human Lens cDNA (Normalized): fs cDNA clone fs17e11 5'
50365	3,30	chromosome 19 open reading frame 27 (C19orf27)
50253	3,17	high mobility group nucleosomal binding domain 3 (HMGN3), transcript variant 1
50168	3,19	qh74e03x1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:1850428 3'
49652	3,27	endothelial differentiation, sphingolipid G-protein-coupled receptor, 3 (EDG3)
48583	3,11	chromosome 6 open reading frame 83 (C6orf83)
47254	3,08	hepatoma-derived growth factor (high-mobility group protein 1-like) (HDGF)
46334	3,42	implantation-associated protein (DKFZp564K142)
4559	3,01	ribosomal protein, large, P1 (RPLP1), transcript variant 1
43491	3,30	pro-oncosis receptor inducing membrane injury gene (PORIMIN)
41859	3,05	hypothetical protein FLJ11730 (FLJ11730)
41501	3,63	chromosome 15 hypothetical ATG/GTP binding protein (LOC56851)
41448	3,55	major histocompatibility complex, class II, DR alpha (HLA-DRA)
41059	3,39	KIAA1169 protein
40854	3,25	poly(A) binding protein interacting protein 2 (PAIP2)
40682	3,37	methyl-CpG binding domain protein 2 (MBD2), transcript variant 1
40376	3,39	signal peptidase 12kDa (SPC12)
40297	3,44	ribosomal protein L13a (RPL13A)
39986	3,56	nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (NFE2L2)
39957	3,84	chaperonin containing TCP1, subunit 3 (gamma) (CCT3)

Anexo 8: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo normal favorável (NORM-FAV-DOWN)

8707	-2,16	KIAA0746 protein (KIAA0746)
8603	-2,13	KIAA0709 protein, complete cds
8452	-2,58	N-acetyltransferase 8 (camello like) (NAT8)
5729	-2,13	Soares pineal gland 3NbHPG cDNA clone IMAGp998F10922
51433	-2,42	UI-E-EJ1-ajm-g-01-0-UIr1 UI-E-EJ1 cDNA clone UI-E-EJ1-ajm-g-01-0-UI 5'
51409	-2,05	cDNA FLJ32283 fis, clone PROST2000212
50528	-2,79	G protein-coupled receptor 54 (GPR54)
48737	-2,56	nv34h01r1 NCI_CGAP_Br4 cDNA clone IMAGE:1222129 similar to gb:X57809 IG LAMBDA CHAIN C REGIONS (HUMAN);
46990	-2,68	solute carrier family 5 (sodium/glucose cotransporter), member 10 (SLC5A10)
44366	-2,24	UI-E-CR0-adi-e-05-0-UIs1 UI-E-CR0 cDNA clone UI-E-CR0-adi-e-05-0-UI 3'
43502	-2,58	heart alpha-kinase (HAK)
42580	-2,20	regulator of G-protein signalling 5 (RGS5)
4242	-2,16	tf22a05x5 NCI_CGAP_Brn23 cDNA clone IMAGE:2096912 3'
41535	-2,11	phospholipid scramblase 4 (PLSCR4)
40512	-2,28	cell death-inducing DFFA-like effector b (CIDEB)
40183	-2,51	HERV-H LTR-associating 2 (HHLA2)
37755	-2,40	CLST 11240 protein (CLST11240)
37655	-2,82	iroquois homeobox protein 3 (IRX3)
37508	-2,33	UI-E-EJ0-ahq-l-06-0-UIr1 UI-E-EJ0 cDNA clone UI-E-EJ0-ahq-l-06-0-UI 5'
35897	-2,11	annexin A4 (ANXA4)
35830	-2,79	CD24 antigen (small cell lung carcinoma cluster 4 antigen) (CD24)
3514	0,00	wb47f04x1 NCI_CGAP_GC6 cDNA clone IMAGE:2308831 3'
33408	-2,78	NISC_gf08f03x1 NCI_CGAP_Kid12 cDNA clone IMAGE:3253013 3'
30274	-2,38	UI-CF-DU1-aaz-f-04-0-UIs1 UI-CF-DU1 cDNA clone UI-CF-DU1-aaz-f-04-0-UI 3'
25433	-2,01	transmembrane protein 27 (TMEM27)
25302	-2,76	yr28c08r1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:206606 5' similar to gb:X01683 ALPHA-1-ANTITRYPSIN PRECURSOR (HUMAN);
24827	-2,02	ribokinase (RBKS)
24467	-2,00	plasmalemma vesicle associated protein (PLVAP)

2322	-2,38	cDNA FLJ41480 fis, clone BRTHA2002493
22469	-2,12	natural killer cell transcript 4 (NK4)
2041	-2,72	cDNA FLJ12301 fis, clone MAMMA1001858
19075	-2,49	amiloride binding protein 1 (amine oxidase (copper-containing)) (ABP1)
18461	-2,99	wh56c02x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2384738 3'
17365	-2,00	solute carrier family 2 (facilitated glucose/fructose transporter), member 5 (SLC2A5)
17253	-2,34	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6 (TNFAIP6)
1700	-2,31	tp90h02x1 NCI_CGAP_Ut3 cDNA clone IMAGE:2206611 3'
16307	-2,58	G protein-coupled receptor 103 (GPR103)
15397	-2,63	egl nine homolog 3 (C elegans) (EGLN3)
13807	-2,22	yv69d05s1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:247977 3'
12155	-2,25	immunoglobulin superfamily, member 6 (IGSF6)
11895	-2,27	UI-CF-EN1-acz-f-03-0-UIs1 UI-CF-EN1 cDNA clone UI-CF-EN1-acz-f-03-0-UI 3'
11416	-2,49	MR4-MT0255-300301-209-f03 MT0255 Homo sapiens cDNA
10234	-2,29	protocadherin 17 (PCDH17)
25141	-3,52	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 (ENPP3)
24853	-3,53	cytochrome P450, family 2, subfamily J, polypeptide 2 (CYP2J2)
21530	-3,58	chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated) (CCL18)
15805	-3,79	cadherin 6, type 2, K-cadherin (fetal kidney) (CDH6)
51892	-5,01	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5 (HLA-DRB5)
25042	-5,14	EST389377 MAGE resequences, MAGO Homo sapiens cDNA
5703	-7,96	mRNA; cDNA DKFZp686G09165 (from clone DKFZp686G09165)

Anexo 9: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo normal favorável (NORM-FAV-UP)

36719	6,60	silver homolog (mouse) (SILV)
35586	5,13	op74a08s1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:1582550 3'
39401	4,24	serine protease inhibitor, Kazal type 1 (SPINK1)
39140	4,51	desmin (DES)
21826	4,48	actin, alpha, cardiac muscle (ACTC)
18074	4,35	small proline-rich protein 3 (SPRR3)
4825	3,93	hypothetical protein MGC45438 (MGC45438)
38686	3,60	follistatin (FST), transcript variant FST317
24131	3,28	cytoplasmic polyadenylation element binding protein 1 (CPEB1)
23965	3,17	NDRG family member 4 (NDRG4)
21405	3,34	S100 calcium binding protein A2 (S100A2)
19612	3,25	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
17194	3,46	serum amyloid A2 (SAA2)
53109	2,92	chromosome 10 open reading frame 87 (C10orf87), mRNA
50379	2,74	cell death activator CIDE-3 (CIDE-3)
45300	2,33	mRNA, chromosome 1 specific transcript KIAA0496
4442	2,80	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
44300	2,54	17000600174148 GRN_PREHEP Homo sapiens cDNA 5'
39951	2,08	cDNA FLJ45529 fis, clone BRTHA2027546
36723	2,52	7i07d12x1 NCI_CGAP_Co16 cDNA clone IMAGE:3324791 3'
34786	2,02	mRNA; cDNA DKFZp667I047 (from clone DKFZp667I047)
34077	2,11	cDNA FLJ40312 fis, clone TESTI2029880
31468	2,28	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998G08379
24488	2,76	cDNA FLJ45529 fis, clone BRTHA2027546
23793	2,70	aquaporin 3 (AQP3)
23653	2,61	hypothetical protein FLJ22655 (FLJ22655)
22906	2,08	diacylglycerol O-acyltransferase homolog 2 (mouse) (DGAT2)
22728	2,01	decay accelerating factor for complement (CD55, Cromer blood group system) (DAF)

22540	2,60	low density lipoprotein receptor (familial hypercholesterolemia) (LDLR)
21529	2,59	uroplakin 2 (UPK2)
21204	2,69	peroxisome proliferative activated receptor, gamma (PPARG), transcript variant 4
20316	2,05	qg58h07.x1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:1839421 3' similar to gb:L31860 GLYCOPHORIN A PRECURSOR (HUMAN);
16603	2,05	carboxylesterase 1 (monocyte/macrophage serine esterase 1) (CES1)
15066	2,14	chromosome 1 open reading frame 24 (C1orf24)
13982	2,04	mRNA; cDNA DKFZp564H203 (from clone DKFZp564H203)
13089	2,53	cartilage acidic protein 1 (CRTAC1), mRNA
11963	2,39	receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (RAMP1)
10952	2,77	calbindin 1, 28kDa (CALB1)
9748	1,35	prostaglandin F2 receptor negative regulator (PTGFRN)
9235	1,20	KIAA1053 protein
8881	1,04	myosin phosphatase-Rho interacting protein (M-RIP)
8739	1,57	ie87a02y1 Melton Normalized Human Islet 4 N4-HIS 1 cDNA clone IMAGE:5673866 5'
8636	1,05	glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 2 (GFPT2)
8179	1,03	601194047F1 NIH_MGC_7 cDNA clone IMAGE:3537995 5'
7827	1,08	claudin 4 (CLDN4)
7492	1,17	xl73h09x1 NCI_CGAP_Pan1 cDNA clone IMAGE:2680385 3' similar to contains Alu repetitive element;
7099	1,51	hypothetical protein FLJ33718 (FLJ33718)
5791	1,66	dual oxidase 2 (DUOX2)
54235	1,39	Soares_multiple_sclerosis_2NbHMSP cDNA clone IMAGp998D03616
53482	1,03	zi89d04s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:447943 3'

Anexo 10: Lista dos genes com diferença de expressão no grupo normal metastático (NORM-MET-DOWN)

28155	-2,01	ne61d11s1 NCI_CGAP_Co3 cDNA clone IMAGE:901845 3' similar to contains Alu repetitive elementcontains element PTR7 repetitive element
27557	-2,00	qe36f12.s1 Soares_fetal_lung_NbHL19W cDNA clone IMAGE:1741103 3' similar to contains Alu repetitive element
26578	-2,37	hypothetical protein FLJ22635 (FLJ22635)
25343	-2,02	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 5 (DNAJB5)
24261	-2,77	interleukin 8 (IL8)
23982	-2,31	regulator of G-protein signalling 1 (RGS1)
23517	-2,06	nc65d07r1 NCI_CGAP_Pr1 cDNA clone IMAGE:771469 similar to contains element MER19 repetitive element
23358	-2,05	olfactory receptor, family 11, subfamily A, member 1 (OR11A1)
23214	-2,12	zi76d12s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:436727 3'
23066	-2,36	xr64g03x2 NCI_CGAP_Ov26 cDNA clone IMAGE:2764948 3'
21530	-2,68	chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated) (CCL18)
21340	-2,50	7p64g10x1 NCI_CGAP_Pr28 cDNA clone IMAGE:3650874 3'
21192	-2,25	ae62a02s1 Stratagene lung carcinoma 937218 cDNA clone IMAGE:951434 3'
20473	-2,33	heat shock 90kDa protein 1, alpha (HSPCA)
20315	-2,65	MR4-UM0021-170800-011-g03 UM0021 Homo sapiens cDNA
20247	-2,38	cDNA FLJ38583 fis, clone HCHON2008871
19973	-2,79	HSPD03663 HM1 cDNA clone NOTAVAIL03663
19851	-2,03	wf63a03x2 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:2360236 3'
19749	-2,73	programmed cell death 1 (PDCD1)
19583	-2,31	Lysosomal-associated multispinning membrane protein-5 (LAPTM5)
19391	-2,00	SP140 nuclear body protein (SP140)
19218	-2,00	chromosome 21 open reading frame 96 [Homo sapiens]
19213	-2,54	polymerase (DNA directed), delta 2, regulatory subunit 50kDa (POLD2)
18091	-2,01	TNF receptor-associated factor 1 (TRAF1)
17018	-2,56	qg98a02x1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:1843178 3'
16988	-2,53	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B (FOSB)
16960	-2,96	clone IMAGE:5172739

16648	-2,28	dual specificity phosphatase 2 (DUSP2)
16118	-2,70	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) (SERPINH1)
13885	-2,48	chemokine (C motif) ligand 1 (XCL1)
13688	-2,61	chromosome 20 open reading frame 46 (C20orf46)
11494	-2,02	EST40322 Epididymus Homo sapiens cDNA 5' end similar to similar to small nuclear ribonucleoprotein, polypeptide B & B'
1071	-2,40	wq57b08.x1 NCI_CGAP_GC6 cDNA clone IMAGE:2475351 3'
9102	-3,15	cDNA FLJ39602 fis, clone SKNSH2005061
50162	-3,49	heat shock 70kDa protein 1B, mRNA (cDNA clone MGC:74463 IMAGE:4153196)
49424	-3,77	hypothetical protein LOC90637 (LOC90637)
48174	-3,74	UI-H-BI3-akw-d-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub5 cDNA clone IMAGE:2735684 3'
39816	-3,13	heat shock 70kDa protein 1A (HSPA1A)
36034	-3,47	interleukin 1, beta (IL1B)
32347	-3,30	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998E05123
31728	-3,86	M41 mRNA, complete sequence alternatively spliced
26598	-3,03	xm71a04x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2689614 3'
22763	-3,89	chemokine (C-X-C motif) ligand 2 (CXCL2)
18846	-3,06	natural killer cell group 7 sequence (NKG7), mRNA
11584	-3,19	immediate early response 5 [Homo sapiens]
10133	-3,09	vascular endothelial growth factor, mRNA (cDNA clone IMAGE:5313912), containing frame-shift errors
45082	-4,18	UI-H-BI0-aai-f-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub1 cDNA clone IMAGE:2709644 3'
29444	-5,75	zu07b03.r1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:731117 5' similar to contains MER30.t2 MER30 repetitive element
51892	-6,42	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5 (HLA-DRB5)
11050	-6,62	clone 24734 mRNA sequence

Anexo 11: Lista dos genes com superexpressão do carcinoma metastático em relação ao conjunto de rins normais (NORM-MET-UP)

38798	7,15	qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2028680 3' similar to gb:X02747 FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLASE B (HUMAN)
36719	7,30	silver homolog (mouse) (SILV)
19612	6,44	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
39140	5,59	desmin (DES)
23653	5,81	hypothetical protein FLJ22655 (FLJ22655)
4825	4,66	hypothetical protein MGC45438 (MGC45438)
4442	4,69	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
39448	4,83	uromodulin (uromucoid, Tamm-Horsfall glycoprotein) (UMOD)
39401	4,17	serine protease inhibitor, Kazal type 1 (SPINK1)
36000	4,20	prostaglandin D2 synthase 21kDa (brain) (PTGDS)
23793	4,31	aquaporin 3 (AQP3)
21826	4,48	actin, alpha, cardiac muscle (ACTC)
21405	4,71	S100 calcium binding protein A2 (S100A2)
21250	4,02	defensin, beta 1 (DEFB1)
18074	4,35	small proline-rich protein 3 (SPRR3)
11963	4,19	receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (RAMP1)
51473	3,24	Ly-6 neurotoxin-like protein 1, mRNA (cDNA clone IMAGE:4053310)
41928	3,05	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 12 (CYP4F12)
39272	3,58	myosin, heavy polypeptide 11, smooth muscle (MYH11), transcript variant SM1
38686	3,07	follistatin (FST), transcript variant FST317
37626	3,69	metallothionein 1H (MT1H)
32624	3,42	prominin 2 (PROM2)
29384	3,12	xf23a03x1 NCI_CGAP_Kid8 cDNA clone IMAGE:2618860 3' similar to gb:X58295_rna1 PLASMA GLUTATHIONE PEROXIDASE PRECURSOR (HUMAN)
24985	3,48	QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cDNA

20942	3,11	propionyl Coenzyme A carboxylase, beta polypeptide (PCCB)
19650	3,94	Hsapiens mRNA for mammary-derived growth inhibitor (MDGI)
17464	3,34	phospholamban (PLN)
16603	3,02	carboxylesterase 1 (monocyte/macrophage serine esterase 1) (CES1)
15123	3,19	mRNA cDNA DKFZp434C1915 (from clone DKFZp434C1915) partial cds
15091	3,45	matrilin 2 (MATN2), transcript variant 2
13982	3,08	mRNA cDNA DKFZp564H203 (from clone DKFZp564H203)
13089	3,82	cartilage acidic protein 1 (CRTAC1), mRNA
12618	3,02	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 5 (SLC16A5)
11054	3,37	clone 24405 mRNA sequence
6535	2,36	hypothetical protein MGC45474 (MGC45474)
53109	2,67	chromosome 10 open reading frame 87 (C10orf87), mRNA
52913	2,25	qj95a10x1 NCI_CGAP_Kid3 cDNA clone IMAGE:1867194 3'
52533	2,09	cDNA FLJ11481 fis, clone HEMBA1001803
51921	2,82	chromosome 9 open reading frame 58 (C9orf58), transcript variant 1, mRNA
51244	2,01	cDNA clone IMAGE:5184198
50379	2,94	cell death activator CIDE-3 (CIDE-3)
50228	2,37	HTC cDNA clone HTCAKB11 5'
49739	2,34	cDNA FLJ46603 fis, clone THYMU3047513
49502	2,97	proprotein convertase subtilisin/kexin type 1 inhibitor (PCSK1N)
49204	2,42	yg37a01s1 Soares infant brain 1NIB cDNA clone IMAGE:34639 3' similar to contains MER35 repetitive element
48298	2,09	ubiquinol-cytochrome c reductase (64kD) subunit (UQCR)
47141	2,11	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 6, 14kDa (NDUFA6)
46920	2,68	proline-rich acidic protein 1 (PRAP1), mRNA
46778	2,02	aquaporin 10 (AQP10)
46044	2,23	UI-E-CK1-afm-d-11-0-UIs2 UI-E-CK1 cDNA clone UI-E-CK1-afm-d-11-0-UI 3'

Anexo 1a: Lista dos genes exibindo subexpressão nos tumores favoráveis em relação ao tecido renal normal

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
-----------------	---------------------	--------------

8707	-2,16	KIAA0746 protein (KIAA0746)
8603	-2,13	KIAA0709 protein, complete cds
8452	-2,58	N-acetyltransferase 8 (camello like) (NAT8)
5729	-2,13	Soares pineal gland 3NbHPG cDNA clone IMAGp998F10922
51433	-2,42	UI-E-EJ1-ajm-g-01-0-UIr1 UI-E-EJ1 cDNA clone UI-E-EJ1-ajm-g-01-0-UI 5'
51409	-2,05	cDNA FLJ32283 fis, clone PROST2000212
50528	-2,79	G protein-coupled receptor 54 (GPR54)
48737	-2,56	nv34h01r1 NCI_CGAP_Br4 cDNA clone IMAGE:1222129 similar to gb:X57809 IG LAMBDA CHAIN C REGIONS (HUMAN);
46990	-2,68	solute carrier family 5 (sodium/glucose cotransporter), member 10 (SLC5A10)
44366	-2,24	UI-E-CR0-adi-e-05-0-UIs1 UI-E-CR0 cDNA clone UI-E-CR0-adi-e-05-0-UI 3'
43502	-2,58	heart alpha-kinase (HAK)
42580	-2,20	regulator of G-protein signalling 5 (RGS5)
4242	-2,16	tf22a05x5 NCI_CGAP_Brn23 cDNA clone IMAGE:2096912 3'
41535	-2,11	phospholipid scramblase 4 (PLSCR4)
40512	-2,28	cell death-inducing DFFA-like effector b (CIDEB)
40183	-2,51	HERV-H LTR-associating 2 (HHLA2)
37755	-2,40	CLST 11240 protein (CLST11240)
37655	-2,82	iroquois homeobox protein 3 (IRX3)
37508	-2,33	UI-E-EJ0-ahq-l-06-0-UIr1 UI-E-EJ0 cDNA clone UI-E-EJ0-ahq-l-06-0-UI 5'
35897	-2,11	annexin A4 (ANXA4)
35830	-2,79	CD24 antigen (small cell lung carcinoma cluster 4 antigen) (CD24)
3514	0,00	wb47f04x1 NCI_CGAP_GC6 cDNA clone IMAGE:2308831 3'
33408	-2,78	NISC_gf08f03x1 NCI_CGAP_Kid12 cDNA clone IMAGE:3253013 3'

30274	-2,38	UI-CF-DU1-aaz-f-04-0-UIs1 UI-CF-DU1 cDNA clone UI-CF-DU1-aaz-f-04-0-UI 3'
25433	-2,01	transmembrane protein 27 (TMEM27)
25302	-2,76	yr28c08r1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:206606 5' similar to gb:X01683 ALPHA-1-ANTITRYPSIN PRECURSOR (HUMAN);
24827	-2,02	ribokinase (RBKS)
24467	-2,00	plasmalemma vesicle associated protein (PLVAP)

2322	-2,38	cDNA FLJ41480 fis, clone BRTHA2002493
22469	-2,12	natural killer cell transcript 4 (NK4)
2041	-2,72	cDNA FLJ12301 fis, clone MAMMA1001858
19075	-2,49	amiloride binding protein 1 (amine oxidase (copper-containing)) (ABP1)
18461	-2,99	wh56c02x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2384738 3'
17365	-2,00	solute carrier family 2 (facilitated glucose/fructose transporter), member 5 (SLC2A5)
17253	-2,34	tumor necrosis factor, alpha-induced protein 6 (TNFAIP6)
1700	-2,31	tp90h02x1 NCI_CGAP_Ut3 cDNA clone IMAGE:2206611 3'
16307	-2,58	G protein-coupled receptor 103 (GPR103)
15397	-2,63	egl nine homolog 3 (C elegans) (EGLN3)
13807	-2,22	yv69d05s1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:247977 3'
12155	-2,25	immunoglobulin superfamily, member 6 (IGSF6)
11895	-2,27	UI-CF-EN1-acz-f-03-0-UIs1 UI-CF-EN1 cDNA clone UI-CF-EN1-acz-f-03-0-UI 3'
11416	-2,49	MR4-MT0255-300301-209-f03 MT0255 Homo sapiens cDNA
10234	-2,29	protocadherin 17 (PCDH17)
25141	-3,52	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 (ENPP3)
24853	-3,53	cytochrome P450, family 2, subfamily J, polypeptide 2 (CYP2J2)
21530	-3,58	chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated) (CCL18)
15805	-3,79	cadherin 6, type 2, K-cadherin (fetal kidney) (CDH6)
51892	-5,01	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5 (HLA-DRB5)
25042	-5,14	EST389377 MAGE resequences, MAGO Homo sapiens cDNA
5703	-7,96	mRNA; cDNA DKFZp686G09165 (from clone DKFZp686G09165)

Anexo 1b: Lista dos genes exibindo superexpressão nos tumores favoráveis em relação ao tecido renal normal.

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
36719	6,60	silver homolog (mouse) (SILV)
35586	5,13	op74a08s1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:1582550 3'
39401	4,24	serine protease inhibitor, Kazal type 1 (SPINK1)
39140	4,51	desmin (DES)
21826	4,48	actin, alpha, cardiac muscle (ACTC)
18074	4,35	small proline-rich protein 3 (SPRR3)
4825	3,93	hypothetical protein MGC45438 (MGC45438)
38686	3,60	follistatin (FST), transcript variant FST317
24131	3,28	cytoplasmic polyadenylation element binding protein 1 (CPEB1)
23965	3,17	NDRG family member 4 (NDRG4)
21405	3,34	S100 calcium binding protein A2 (S100A2)
19612	3,25	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
17194	3,46	serum amyloid A2 (SAA2)
53109	2,92	chromosome 10 open reading frame 87 (C10orf87), mRNA
50379	2,74	cell death activator CIDE-3 (CIDE-3)
45300	2,33	mRNA, chromosome 1 specific transcript KIAA0496
4442	2,80	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
44300	2,54	17000600174148 GRN_PREHEP Homo sapiens cDNA 5'
39951	2,08	cDNA FLJ45529 fis, clone BRTHA2027546
36723	2,52	7i07d12x1 NCI_CGAP_Co16 cDNA clone IMAGE:3324791 3'
34786	2,02	mRNA; cDNA DKFZp667I047 (from clone DKFZp667I047)
34077	2,11	cDNA FLJ40312 fis, clone TESTI2029880
31468	2,28	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998G08379
24488	2,76	cDNA FLJ45529 fis, clone BRTHA2027546
23793	2,70	aquaporin 3 (AQP3)
23653	2,61	hypothetical protein FLJ22655 (FLJ22655)
22906	2,08	diacylglycerol O-acyltransferase homolog 2 (mouse) (DGAT2)

22728	2,01	decay accelerating factor for complement (CD55, Cromer blood group system) (DAF)
22540	2,60	low density lipoprotein receptor (familial hypercholesterolemia) (LDLR)
21529	2,59	uroplakin 2 (UPK2)
21204	2,69	peroxisome proliferative activated receptor, gamma (PPARG), transcript variant 4
20316	2,05	qq58h07.x1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:1839421 3' similar to gb:L31860 GLYCOPHORIN A PRECURSOR (HUMAN);
16603	2,05	carboxylesterase 1 (monocyte/macrophage serine esterase 1) (CES1)
15066	2,14	chromosome 1 open reading frame 24 (C1orf24)
13982	2,04	mRNA; cDNA DKFZp564H203 (from clone DKFZp564H203)
13089	2,53	cartilage acidic protein 1 (CRTAC1), mRNA
11963	2,39	receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (RAMP1)
10952	2,77	calbindin 1, 28kDa (CALB1)
9748	1,35	prostaglandin F2 receptor negative regulator (PTGFRN)
9235	1,20	KIAA1053 protein
8881	1,04	myosin phosphatase-Rho interacting protein (M-RIP)
8739	1,57	ie87a02y1 Melton Normalized Human Islet 4 N4-HIS 1 cDNA clone IMAGE:5673866 5'
8636	1,05	glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 2 (GFPT2)
8179	1,03	601194047F1 NIH_MGC_7 cDNA clone IMAGE:3537995 5'
7827	1,08	claudin 4 (CLDN4)
7492	1,17	xl73h09x1 NCI_CGAP_Pan1 cDNA clone IMAGE:2680385 3' similar to contains Alu repetitive element;
7099	1,51	hypothetical protein FLJ33718 (FLJ33718)
5791	1,66	dual oxidase 2 (DUOX2)
54235	1,39	Soares_multiple_sclerosis_2NbHMSP cDNA clone IMAGp998D03616
53482	1,03	zi89d04s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:447943 3'

Anexo 2a: Lista dos genes exibindo subexpressão nos tumores desfavoráveis, em relação ao tecido renal normal.

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
11585	-1,15	cDNA FLJ30572 fis, clone BRAWH2006083
11425	-1,21	DAP-1 alpha [Homo sapiens]
11302	-1,11	bone morphogenetic protein 10 (BMP10)
11042	-1,69	7b51f01x1 NCI_CGAP_Lu24 cDNA clone IMAGE:3231769 3'
10963	-1,26	TAF6-like RNA polymerase II, p300/CBP-associated factor (PCAF)-associated factor, 65kDa (TAF6L)
10957	-1,08	p8 protein (candidate of metastasis 1) (P8)
10930	-1,17	qi53d02x5 NCI_CGAP_Brn25 cDNA clone IMAGE:1860195 3'
10798	-1,47	kynurenine 3-monooxygenase (kynurenine 3-hydroxylase) (KMO)
10751	-1,27	aldolase C, fructose-bisphosphate (ALDOC)
10713	-1,05	gap junction protein, beta 3, 31kDa (connexin 31) (GJB3)
10581	-1,71	ah71e06.s1 Soares_testis_NHT cDNA clone 1321090 3' similar to contains LTR8.t2 LTR8 repetitive element ;
10505	-1,39	filamin B, beta (actin binding protein 278) (FLNB)
1046	-2,00	cDNA FLJ38449 fis, clone FEBRA2019389
10355	-1,22	kinesin family member 3C (KIF3C)
10256	-1,12	solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 18 (SLC22A18), transcript variant 2
10157	-1,13	wg21a01x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:2365704 3' similar to contains Alu repetitive element;
10134	-1,10	FLJ37183 protein (FLJ37183)
10099	-1,25	Mediterranean fever (MEFV)
9910	-2,09	olfactory-like receptor (OR5E1P) pseudogene
9102	-2,74	cDNA FLJ39602 fis, clone SKNSH2005061
53160	-2,02	xa10f07x1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:2567941 3'
50528	-2,32	G protein-coupled receptor 54 (GPR54)
5012	-2,16	7g16e11x1 NCI_CGAP_Brn23 cDNA clone IMAGE:3306668 3'
48980	-2,79	UI-H-BI4-apa-a-07-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub8 cDNA clone IMAGE:3086508 3'
47368	-2,28	UI-H-BW1-anv-h-05-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub7 cDNA clone IMAGE:3083768 3'
46428	-2,20	UI-CF-FN0-afi-g-02-0-UIs1 UI-CF-FN0 cDNA clone UI-CF-FN0-afi-g-02-0-UI 3'
45736	-2,30	ring finger protein 29 (RNF29), transcript variant 4

45231	-2,10	UI-H-BW1-anq-d-02-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub7 cDNA clone IMAGE:3083163 3'
42617	-2,24	THAP domain containing 7 (THAP7)
42321	-2,71	hypothetical protein FLJ13265 (FLJ13265)
39377	-2,19	surfactant, pulmonary-associated protein C (SFTPC)
37655	-2,17	iroquois homeobox protein 3 (IRX3)
34118	-2,44	EST156 human nasopharynx Homo sapiens cDNA
3039	-2,13	cDNA FLJ41747 fis, clone HSYRA2006873
30086	-2,09	xv19g10x1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:2813634 3' similar to contains Alu repetitive element;contains element MER18 repetitive element
25845	-2,02	transmembrane 4 superfamily member 5 (TM4SF5)
25754	-2,69	cDNA FLJ11563 fis, clone HEMBA1003202
1928	-2,28	hypothetical protein FLJ37464 (FLJ37464)
16307	-2,27	G protein-coupled receptor 103 (GPR103)
15806	-2,19	aquaporin 2 (collecting duct) (AQP2)
15334	-2,05	FLJ22794 protein (FLJ22794), transcript variant 1
15008	0,00	cDNA: FLJ22765 fis, clone KAIA1180
12101	-2,04	FLJ90680 protein (FLJ90680)
11899	-2,29	wg10b09x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:2364665 3'
10739	-2,14	NCI_CGAP_Brn52 cDNA clone IMAGp998K145594 ; IMAGE:2259973
28457	0,00	17000531890761 GRN_ES Homo sapiens cDNA 5'
46209	-4,07	seq3198 1-NIB cDNA clone Hy18-Ch13-Charon40-cDNA-152 3'
36090	-4,69	ras homolog gene family, member B (RHOB)
51892	-5,63	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5 (HLA-DRB5)
9753	-7,02	megakaryoblastic leukemia (translocation) 1 (MKL1)

Anexo 2b: Lista dos genes exibindo superexpressão no grupo desfavorável, em relação ao tecido renal normal

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
36719	7,28	silver homolog (mouse) (SILV)
39563	6,06	ribosomal protein L14 (RPL14)
36190	6,10	tumor protein, translationally-controlled 1 (TPT1)
22530	5,32	decorin (DCN), transcript variant B
20716	5,20	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit b, isoform 1 (ATP5F1)
15577	5,05	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, beta polypeptide (ATP5B), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA
48725	4,19	HUM065B03B Clontech human fetal brain polyA+ mRNA (#6535) cDNA clone GEN-065B03 5'
48119	4,21	aa30a10r1 NCI_CGAP_GCB1 cDNA clone IMAGE:814746 5'
47315	4,39	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27) (IFITM1)
46443	4,04	UI-H-DH0-aui-h-17-0-UIs1 NCI_CGAP_DH0 cDNA clone IMAGE:5871040 3'
41630	4,38	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U) (IFITM3)
39362	4,07	ribophorin II (RPN2)
39198	4,12	major histocompatibility complex, class II, DP beta 1 (HLA-DPB1)
39140	4,53	desmin (DES)
38952	4,57	ribosomal protein L21 (RPL21)
37442	4,47	microsomal glutathione S-transferase 1 (MGST1), transcript variant 1a
36444	4,90	ribosomal protein S24 (RPS24), transcript variant 1
36054	4,08	heat shock 70kDa protein 8 (HSPA8), transcript variant 1
36042	4,01	ribosomal protein S9 (RPS9)
35763	4,72	ribosomal protein S3A (RPS3A)
35732	4,91	ribosomal protein L19 (RPL19)
24478	4,07	peroxiredoxin 6 (PRDX6)
23793	4,84	aquaporin 3 (AQP3)
22822	4,48	GNAS complex locus (GNAS), transcript variant 4
20740	4,33	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) (SERPINH1)
19112	4,20	general transcription factor IIA, 2 (12kD subunit) (GTF2A2)

18074	4,58	small proline-rich protein 3 (SPRR3)
8684	3,18	matrin 3 (MATR3)
53109	3,63	chromosome 10 open reading frame 87 (C10orf87), mRNA
51060	3,01	ankyrin repeat domain 13 (ANKRD13)
50472	3,95	fs17e11y1 Human Lens cDNA (Normalized): fs cDNA clone fs17e11 5'
50365	3,30	chromosome 19 open reading frame 27 (C19orf27)
50253	3,17	high mobility group nucleosomal binding domain 3 (HMG3), transcript variant 1
50168	3,19	qh74e03x1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:1850428 3'
49652	3,27	endothelial differentiation, sphingolipid G-protein-coupled receptor, 3 (EDG3)
48583	3,11	chromosome 6 open reading frame 83 (C6orf83)
47254	3,08	hepatoma-derived growth factor (high-mobility group protein 1-like) (HDGF)
46334	3,42	implantation-associated protein (DKFZp564K142)
4559	3,01	ribosomal protein, large, P1 (RPLP1), transcript variant 1
43491	3,30	pro-oncosis receptor inducing membrane injury gene (PORIMIN)
41859	3,05	hypothetical protein FLJ11730 (FLJ11730)
41501	3,63	chromosome 15 hypothetical ATG/GTP binding protein (LOC56851)
41448	3,55	major histocompatibility complex, class II, DR alpha (HLA-DRA)
41059	3,39	KIAA1169 protein
40854	3,25	poly(A) binding protein interacting protein 2 (PAIP2)
40682	3,37	methyl-CpG binding domain protein 2 (MBD2), transcript variant 1
40376	3,39	signal peptidase 12kDa (SPC12)
40297	3,44	ribosomal protein L13a (RPL13A)
39986	3,56	nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (NFE2L2)
39957	3,84	chaperonin containing TCP1, subunit 3 (gamma) (CCT3)

Anexo 3a: Lista dos genes exibindo subexpressão nos tumores metastáticos em relação ao tecido renal normal.

28155	-2,01	ne61d11s1 NCI_CGAP_Co3 cDNA clone IMAGE:901845 3' similar to contains Alu repetitive elementcontains element PTR7 repetitive element
27557	-2,00	qe36f12.s1 Soares_fetal_lung_NbHL19W cDNA clone IMAGE:1741103 3' similar to contains Alu repetitive element
26578	-2,37	hypothetical protein FLJ22635 (FLJ22635)
25343	-2,02	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 5 (DNAJB5)
24261	-2,77	interleukin 8 (IL8)
23982	-2,31	regulator of G-protein signalling 1 (RGS1)
23517	-2,06	nc65d07r1 NCI_CGAP_Pr1 cDNA clone IMAGE:771469 similar to contains element MER19 repetitive element
23358	-2,05	olfactory receptor, family 11, subfamily A, member 1 (OR11A1)
23214	-2,12	zi76d12s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:436727 3'
23066	-2,36	xr64g03x2 NCI_CGAP_Ov26 cDNA clone IMAGE:2764948 3'
21530	-2,68	chemokine (C-C motif) ligand 18 (pulmonary and activation-regulated) (CCL18)
21340	-2,50	7p64g10x1 NCI_CGAP_Pr28 cDNA clone IMAGE:3650874 3'
21192	-2,25	ae62a02s1 Stratagene lung carcinoma 937218 cDNA clone IMAGE:951434 3'
20473	-2,33	heat shock 90kDa protein 1, alpha (HSPCA)
20315	-2,65	MR4-UM0021-170800-011-g03 UM0021 Homo sapiens cDNA
20247	-2,38	cDNA FLJ38583 fis, clone HCHON2008871
19973	-2,79	HSPD03663 HM1 cDNA clone NOTAVAIL03663
19851	-2,03	wf63a03x2 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:2360236 3'
19749	-2,73	programmed cell death 1 (PDCD1)
19583	-2,31	Lysosomal-associated multispinning membrane protein-5 (LAPTM5)
19391	-2,00	SP140 nuclear body protein (SP140)
19218	-2,00	chromosome 21 open reading frame 96 [Homo sapiens]
19213	-2,54	polymerase (DNA directed), delta 2, regulatory subunit 50kDa (POLD2)
18091	-2,01	TNF receptor-associated factor 1 (TRAF1)
17018	-2,56	qg98a02x1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:1843178 3'
16988	-2,53	FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B (FOSB)
16960	-2,96	clone IMAGE:5172739

16648	-2,28	dual specificity phosphatase 2 (DUSP2)
16118	-2,70	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) (SERPINH1)
13885	-2,48	chemokine (C motif) ligand 1 (XCL1)
13688	-2,61	chromosome 20 open reading frame 46 (C20orf46)
11494	-2,02	EST40322 Epididymus Homo sapiens cDNA 5' end similar to similar to small nuclear ribonucleoprotein, polypeptide B & B'
1071	-2,40	wq57b08.x1 NCI_CGAP_GC6 cDNA clone IMAGE:2475351 3'
9102	-3,15	cDNA FLJ39602 fis, clone SKNSH2005061
50162	-3,49	heat shock 70kDa protein 1B, mRNA (cDNA clone MGC:74463 IMAGE:4153196)
49424	-3,77	hypothetical protein LOC90637 (LOC90637)
48174	-3,74	UI-H-BI3-akw-d-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub5 cDNA clone IMAGE:2735684 3'
39816	-3,13	heat shock 70kDa protein 1A (HSPA1A)
36034	-3,47	interleukin 1, beta (IL1B)
32347	-3,30	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998E05123
31728	-3,86	M41 mRNA, complete sequence alternatively spliced
26598	-3,03	xm71a04x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2689614 3'
22763	-3,89	chemokine (C-X-C motif) ligand 2 (CXCL2)
18846	-3,06	natural killer cell group 7 sequence (NKG7), mRNA
11584	-3,19	immediate early response 5 [Homo sapiens]
10133	-3,09	vascular endothelial growth factor, mRNA (cDNA clone IMAGE:5313912), containing frame-shift errors
45082	-4,18	UI-H-BI0-aai-f-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub1 cDNA clone IMAGE:2709644 3'
29444	-5,75	zu07b03.r1 Soares testis_NHT cDNA clone IMAGE:731117 5' similar to contains MER30.t2 MER30 repetitive element
51892	-6,42	major histocompatibility complex, class II, DR beta 5 (HLA-DRB5)
11050	-6,62	clone 24734 mRNA sequence

Anexo 3b: Lista dos genes exibindo superexpressão nos tumores metastáticos em relação ao tecido renal normal

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
38798	7,15	qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2028680 3' similar to gb:X02747 FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLASE B (HUMAN)
36719	7,30	silver homolog (mouse) (SILV)
19612	6,44	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
39140	5,59	desmin (DES)
23653	5,81	hypothetical protein FLJ22655 (FLJ22655)
4825	4,66	hypothetical protein MGC45438 (MGC45438)
4442	4,69	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
39448	4,83	uromodulin (uromucoid, Tamm-Horsfall glycoprotein) (UMOD)
39401	4,17	serine protease inhibitor, Kazal type 1 (SPINK1)
36000	4,20	prostaglandin D2 synthase 21kDa (brain) (PTGDS)
23793	4,31	aquaporin 3 (AQP3)
21826	4,48	actin, alpha, cardiac muscle (ACTC)
21405	4,71	S100 calcium binding protein A2 (S100A2)
21250	4,02	defensin, beta 1 (DEFB1)
18074	4,35	small proline-rich protein 3 (SPRR3)
11963	4,19	receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (RAMP1)
51473	3,24	Ly-6 neurotoxin-like protein 1, mRNA (cDNA clone IMAGE:4053310)
41928	3,05	cytochrome P450, family 4, subfamily F, polypeptide 12 (CYP4F12)
39272	3,58	myosin, heavy polypeptide 11, smooth muscle (MYH11), transcript variant SM1
38686	3,07	follistatin (FST), transcript variant FST317
37626	3,69	metallothionein 1H (MT1H)
32624	3,42	prominin 2 (PROM2)
29384	3,12	xf23a03x1 NCI_CGAP_Kid8 cDNA clone IMAGE:2618860 3' similar to gb:X58295_rna1 PLASMA GLUTATHIONE PEROXIDASE PRECURSOR (HUMAN)
24985	3,48	QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cDNA
20942	3,11	propionyl Coenzyme A carboxylase, beta polypeptide (PCCB)

19650	3,94	Hsapiens mRNA for mammary-derived growth inhibitor (MDGI)
17464	3,34	phospholamban (PLN)
16603	3,02	carboxylesterase 1 (monocyte/macrophage serine esterase 1) (CES1)
15123	3,19	mRNA cDNA DKFZp434C1915 (from clone DKFZp434C1915) partial cds
15091	3,45	matrilin 2 (MATN2), transcript variant 2
13982	3,08	mRNA cDNA DKFZp564H203 (from clone DKFZp564H203)
13089	3,82	cartilage acidic protein 1 (CRTAC1), mRNA
12618	3,02	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 5 (SLC16A5)
11054	3,37	clone 24405 mRNA sequence
6535	2,36	hypothetical protein MGC45474 (MGC45474)
53109	2,67	chromosome 10 open reading frame 87 (C10orf87), mRNA
52913	2,25	qj95a10x1 NCI_CGAP_Kid3 cDNA clone IMAGE:1867194 3'
52533	2,09	cDNA FLJ11481 fis, clone HEMBA1001803
51921	2,82	chromosome 9 open reading frame 58 (C9orf58), transcript variant 1, mRNA
51244	2,01	cDNA clone IMAGE:5184198
50379	2,94	cell death activator CIDE-3 (CIDE-3)
50228	2,37	HTC cDNA clone HTCAKB11 5'
49739	2,34	cDNA FLJ46603 fis, clone THYMU3047513
49502	2,97	proprotein convertase subtilisin/kexin type 1 inhibitor (PCSK1N)
49204	2,42	yg37a01s1 Soares infant brain 1NIB cDNA clone IMAGE:34639 3' similar to contains MER35 repetitive element
48298	2,09	ubiquinol-cytochrome c reductase (64kD) subunit (UQCR)
47141	2,11	NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 alpha subcomplex, 6, 14kDa (NDUFA6)
46920	2,68	proline-rich acidic protein 1 (PRAP1), mRNA
46778	2,02	aquaporin 10 (AQP10)
46044	2,23	UI-E-CK1-afm-d-11-0-UIs2 UI-E-CK1 cDNA clone UI-E-CK1-afm-d-11-0-UI 3'

Anexo 4a: Lista dos genes subexpressos no grupo desfavorável em relação ao grupo de tumores favoráveis.

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
42321	-2,20	hypothetical protein FLJ13265 (FLJ13265)
41900	-2,29	602351269F1 NIH_MGC_90 cDNA clone IMAGE:4446065 5'
39377	-2,22	surfactant, pulmonary-associated protein C (SFTPC)
38744	-2,00	clone IMAGE:4800236, mRNA
38183	-2,20	UI-HF-BL0-ach-c-11-0-UIr1 NIH_MGC_37 cDNA clone IMAGE:3058964 5'
36621	-2,50	CD2-associated protein (CD2AP)
35421	-2,12	MR0-HT0405-170300-203-h10 HT0405 Homo sapiens cDNA
35333	-2,00	wi48e10x1 NCI_CGAP_Co16 cDNA clone IMAGE:2393514 3'
35226	-2,07	BM cDNA clone BMFASG08 5'
34579	-2,03	QV1-HB0031-141200-578-b04 HB0031 Homo sapiens cDNA
34176	-2,16	rheumatoid arthritis fibroblast-like synovial cells cDNA clone RB16
33697	-2,25	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998N03411 ; IMAGE:210626
33470	-2,19	df121d10w1 Morton Fetal Cochlea cDNA clone IMAGE:2540202 3'
32606	-2,41	Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGp998B19362 ; IMAGE:191538
30916	-2,12	xp61c03.x1 NCI_CGAP_Ov39 cDNA clone IMAGE:2744836 3' similar to contains Alu repetitive element;
30883	-2,18	ni59d11s1 NCI_CGAP_Ov2 cDNA clone IMAGE:981141
30831	-2,02	hn08g12x1 NCI_CGAP_Thy6 cDNA clone IMAGE:3021574 3'
3070	-2,33	ah65f09s1 Soares_testis_NHT cDNA clone 1320521 3'
30514	-2,18	ok54d08.s1 NCI_CGAP_Lei2 cDNA clone IMAGE:1517775 3' similar to gb:L27670 Human Landsteiner-Wiener blood group glycoprotein (HUMAN);contains element MER2 repetitive element ;
30489	-2,58	DKFZp566C1346_r1 566 (synonym: hfkd2) cDNA clone DKFZp566C1346 5'
30437	-2,10	qm48f05.x1 Soares_placenta_8to9weeks_2NbHP8to9W cDNA clone IMAGE:1892001 3'
29353	-2,09	clone IMAGE:4551281
29274	-2,02	oa59c04s1 NCI_CGAP_GCB1 cDNA clone IMAGE:1309254 3' similar to gb:Z13009_rna1 EPITHELIAL-CADHERIN PRECURSOR (HUMAN);
28552	-2,12	hc79f03x1 NCI_CGAP_Gas4 cDNA clone IMAGE:2898941 3' similar to contains Alu repetitive element;

28454	-2,11	wm06f09.x1 NCI_CGAP_Ut4 cDNA clone IMAGE:2435177 3' similar to contains Alu repetitive element;contains element MER32 repetitive element ;
28395	-2,20	H05593 yl69a12.s1 Soares infant brain 1NIB cDNA clone IMAGE:43183 3' similar to gb:X01057_rna1 INTERLEUKIN-2 RECEPTOR ALPHA CHAIN PRECURSOR (HUMAN);contains Alu repetitive element;
2818	-2,17	ze75f08.r1 Soares_fetal_heart_NbHH19W cDNA clone IMAGE:364839 5' similar to SW:HMG1_CRIGR P07156 HIGH MOBILITY GROUP PROTEIN HMG1 ;contains element LTR4 repetitive element ;
27767	-2,03	DKFZp547N166_r1 547 (synonym: hfbr1) cDNA clone DKFZp547N166 5'
26075	-2,08	UI-E-CR0-ach-e-12-0-UIs1 UI-E-CR0 cDNA clone UI-E-CR0-ach-e-12-0-UI 3'
24366	-2,90	Rhesus blood group, C glycoprotein (RHCG)
23169	-2,19	ti17a07x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2130708 3' similar to contains Alu repetitive element;
22597	-2,21	clone L49 HERV-K-T47-like long terminal repeat sequence
21140	-2,04	GKC cDNA clone GKCADE05 5'
20431	-2,20	7140f03x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:3524092 3' similar to contains Alu repetitive element;
20316	-2,20	qg58h07.x1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:1839421 3' similar to gb:L31860 GLYCOPHORIN A PRECURSOR (HUMAN);
19671	-2,46	cadherin 18, type 2 (CDH18)
1928	-2,28	hypothetical protein FLJ37464 (FLJ37464)
17466	-2,25	cDNA FLJ34460 fis, clone HLUNG2002942
15644	-2,01	Soares infant brain 1NIB cDNA clone IMAGp998F23152
14785	-2,13	dispatched homolog 1 (Drosophila) (DISP1)
13585	-2,15	hypothetical protein FLJ11036 (FLJ11036)
1330	-2,01	xs60e06x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2774050 3'
11359	-2,10	cDNA FLJ39997 fis, clone STOMA2002367
1046	-2,28	cDNA FLJ38449 fis, clone FEBRA2019389
10157	-2,15	wg21a01x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:2365704 3' similar to contains Alu repetitive element;
48980	-3,30	UI-H-BI4-apa-a-07-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub8 cDNA clone IMAGE:3086508 3'
25754	-3,31	cDNA FLJ11563 fis, clone HEMBA1003202
46209	-4,56	seq3198 1-NIB cDNA clone Hy18-Ch13-Charon40-cDNA-152 3'
36090	-4,83	ras homolog gene family, member B (RHOB)
9753	-7,00	megakaryoblastic leukemia (translocation) 1 (MKL1)

Anexo 4b: Lista dos genes exibindo superexpressão nos tumores desfavoráveis em relação aos tumores favoráveis.

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
17009	8,80	phosphomevalonate kinase (PMVK)
36190	6,20	tumor protein, translationally-controlled 1 (TPT1)
39563	5,54	ribosomal protein L14 (RPL14)
39198	5,30	major histocompatibility complex, class II, DP beta 1 (HLA-DPB1)
36444	5,02	ribosomal protein S24 (RPS24), transcript variant 1
35732	5,10	ribosomal protein L19 (RPL19)
20327	5,26	lactate dehydrogenase A (LDHA)
8452	4,78	N-acetyltransferase 8 (camello like) (NAT8)
50472	4,37	fs17e11y1 Human Lens cDNA (Normalized): fs cDNA clone fs17e11 5'
48725	4,07	HUM065B03B Clontech human fetal brain polyA+ mRNA (#6535) cDNA clone GEN-065B03 5'
47315	4,70	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27) (IFITM1)
42580	4,98	regulator of G-protein signalling 5 (RGS5)
41630	4,93	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U) (IFITM3)
41448	4,45	major histocompatibility complex, class II, DR alpha (HLA-DRA)
39362	4,53	ribophorin II (RPN2)
38952	4,65	ribosomal protein L21 (RPL21)
38079	4,43	integral membrane protein 2B (ITM2B)
37965	4,08	ribosomal protein L28 (RPL28)
37696	4,35	tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (erythroid potentiating activity, collagenase inhibitor) (TIMP1)
37442	4,28	microsomal glutathione S-transferase 1 (MGST1), transcript variant 1a
37212	4,17	hemoglobin, alpha 1 (HBA1)
36042	4,31	ribosomal protein S9 (RPS9)
35763	4,48	ribosomal protein S3A (RPS3A)
25141	4,07	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 (ENPP3)
25042	4,73	EST389377 MAGE resequences, MAGO Homo sapiens cDNA
24853	4,05	cytochrome P450, family 2, subfamily J, polypeptide 2 (CYP2J2)
24467	4,78	plasmalemma vesicle associated protein (PLVAP)

23812	4,22	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade G (C1 inhibitor), member 1, (angioedema, hereditary) (SERPING1)
22834	4,15	glutathione S-transferase pi (GSTP1)
21726	4,15	signal sequence receptor, delta (translocon-associated protein delta) (SSR4)
20740	4,16	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) (SERPINH1)
20716	4,83	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit b, isoform 1 (ATP5F1)
15577	4,13	ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F1 complex, beta polypeptide (ATP5B), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA
9553	3,01	headcase homolog (Drosophila) (HECA)
8684	3,37	matrin 3 (MATR3)
7172	3,32	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 16kDa, V0 subunit c (ATP6V0C)
52526	3,32	major histocompatibility complex, class II, DQ alpha 1 (HLA-DQA1)
52151	3,00	GPP34-related protein (GPP34R)
51060	3,83	ankyrin repeat domain 13 (ANKRD13)
50365	3,68	chromosome 19 open reading frame 27 (C19orf27)
50253	3,84	high mobility group nucleosomal binding domain 3 (HMGN3), transcript variant 1
50168	3,34	qh74e03x1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:1850428 3'
50015	3,58	FXVD domain containing ion transport regulator 2 (FXVD2), transcript variant a
49232	3,51	likely ortholog of mouse limb-bud and heart gene (LBH)
48583	3,20	chromosome 6 open reading frame 83 (C6orf83)
48484	3,38	yr39f03r1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:207677 5'
48043	3,23	yy69d07s1 Soares_multiple_sclerosis_2NbHMSP cDNA clone IMAGE:278797 3'
47580	3,59	cDNA: FLJ23313 fis, clone HEP11919
47254	3,46	hepatoma-derived growth factor (high-mobility group protein 1-like) (HDGF)
46990	3,08	solute carrier family 5 (sodium/glucose cotransporter), member 10 (SLC5A10)

Anexo 5a: Lista dos genes exibindo subexpressão nos tumores metastáticos em relação aos tumores favoráveis.

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
24789	-2,62	solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 9 (SLC7A9)
24681	-2,13	FLJ41603 protein (FLJ41603)
24406	-2,57	retinol binding protein 5, cellular (RBP5)
24024	-2,24	empty spiracles homolog 2 (Drosophila) (EMX2)
23580	-2,79	PTD012 protein (PTD012)
2322	-2,2	cDNA FLJ41480 fis, clone BRTHA2002493
23202	-2,02	Nedd4 family interacting protein 1 (NDFIP1)
23196	-2,59	zh66h10s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:417091 3'
21792	-2,62	aldehyde oxidase 1 (AOX1)
21591	-2,51	matrix metalloproteinase 7 (matrilysin, uterine) (MMP7)
21390	-2,11	protein tyrosine phosphatase, receptor type, F (PTPRF), transcript variant 1
20765	-2,36	WAP four-disulfide core domain 2 (WFDC2), transcript variant 1
19650	-2,7	Hsapiens mRNA for mammary-derived growth inhibitor (MDGI)
18575	-2,2	transmembrane 4 superfamily member 11 (plasmolipin) (TM4SF11)
18461	-2,69	wh56c02x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2384738 3'
18458	-2,22	inositol(myo)-1(or 4)-monophosphatase 2 (IMPA2)
17104	-2,02	nuclear receptor subfamily 3, group C, member 2 (NR3C2)
1700	-2,18	tp90h02x1 NCI_CGAP_Ut3 cDNA clone IMAGE:2206611 3'
16733	-2,7	cDNA FLJ26856 fis, clone PRS08123
16586	-2,72	aminoacylase 1 (ACY1)
16412	-2,02	complement component 7 (C7)
16152	-2,02	Fc fragment of IgG binding protein (FCGBP)
15805	-2,02	cadherin 6, type 2, K-cadherin (fetal kidney) (CDH6)
15091	-2,45	matrilin 2 (MATN2), transcript variant 2

13437	-2,27	hypothetical protein FLJ10847 (FLJ10847)
12878	-2,18	atypical PKC isotype-specific interacting protein long variant mRNA
12145	-2,05	fibulin 5 (FBLN5)
11862	-2,16	wa17f03x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2298365 3'
11181	-2,52	butyrobetaine (gamma), 2-oxoglutarate dioxygenase (gamma-butyrobetaine hydroxylase) 1 (BBOX1)
11054	-2	clone 24405 mRNA sequence
10510	-2,06	glutathione S-transferase M3 (brain) (GSTM3)
10151	-2,77	glycine-N-acyltransferase (GLYAT), nuclear gene encoding mitochondrial protein, transcript variant 2
51921	-3,65	chromosome 9 open reading frame 58 (C9orf58), transcript variant 1, mRNA
51433	-3,37	UI-E-EJ1-ajm-g-01-0-UIr1 UI-E-EJ1 cDNA clone UI-E-EJ1-ajm-g-01-0-UI 5'
51409	-3,09	cDNA FLJ32283 fis, clone PROST2000212
46920	-3,99	proline-rich acidic protein 1 (PRAP1), mRNA
42854	-3,06	FKSG87 protein (FKSG87)
36749	-3,32	voltage-dependent calcium channel gamma subunit-like protein, mRNA (cDNA clone MGC:50757 IMAGE:5221396)
35985	-3,22	esophageal cancer related gene 4 protein (ECRG4)
29751	-3,06	GLC cDNA clone GLCAIA06 3'
24985	-3,77	QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cDNA
23653	-3,12	hypothetical protein FLJ22655 (FLJ22655)
21250	-3,04	defensin, beta 1 (DEFB1)
20998	-3,38	mal, T-cell differentiation protein (MAL), transcript variant d
19612	-3,17	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
17748	-3,12	HUM084D02B Clontech human fetal brain polyA+ mRNA (#6535) cDNA clone GEN-084D02 5'
8452	-4,17	N-acetyltransferase 8 (camello like) (NAT8)
39448	-4,65	uromodulin (uromucoid, Tamm-Horsfall glycoprotein) (UMOD)
25042	-5	EST389377 MAGE resequences, MAGO Homo sapiens cDNA
38798	-6,27	qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2028680 3' similar to gb:X02747 FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLASE B (HUMAN);

Anexo 6a: Lista dos genes exibindo subexpressão no grupo metastático em relação aos tumores desfavoráveis.

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
18362	-2,39	chromosome 21 open reading frame 66 (C21orf66), transcript variant 2
18068	-2,63	guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 5 (GNG5)
17466	-2,65	cDNA FLJ34460 fis, clone HLUNG2002942
17008	-2,01	zh48d01s1 Soares_fetal_liver_spleen_1NFLS_S1 cDNA clone IMAGE:415297 3'
1681	-2,82	FIS (FIS)
16720	-2,35	cDNA FLJ45332 fis, clone BRHIP3007239
16688	-2,27	ADP-ribosylation factor-like 2 (ARL2)
16412	-2,8	complement component 7 (C7)
15687	-2,35	general transcription factor IIA, 1, 19/37kDa (GTF2A1), transcript variant 1
15389	-2,68	mRNA from cd34+ stem cells cDNA clone CBNAZD12
14785	-2,47	dispatched homolog 1 (Drosophila) (DISP1)
14423	-2,14	xj83g06x1 Soares_NFL_T_GBC_S1 cDNA clone IMAGE:2663866 3'
14278	-2	UI-H-ED0-ays-e-14-0-UIs1 NCI_CGAP_ED0 cDNA clone UI-H-ED0-ays-e-14-0-UI 3'
13661	-2	solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 3 (SLC29A3)
13606	-2,14	cDNA FLJ33081 fis, clone TRACH2000321
13585	-2,11	hypothetical protein FLJ11036 (FLJ11036)
13258	-2,47	talin 2 (TLN2)
13159	-2,1	Rho GTPase activating protein 8 (ARHGAP8), transcript variant 1
12963	-2,08	putative G-protein coupled receptor GPCR42 (FLJ10060)
12878	-2,1	atypical PKC isotype-specific interacting protein long variant mRNA
12641	-2,13	yr32a08s1 Soares fetal liver spleen 1NFLS cDNA clone IMAGE:206966 3'
12618	-2,68	solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 5 (SLC16A5)

1260	-2,19	hypothetical protein FLJ35976 (FLJ35976)
12190	-2,13	clone IMAGE:4830882
12164	-2,1	mitochondrial glutaminase pseudogene, nuclear pseudogene, complete sequence
10605	-2,01	sodium channel, voltage-gated, type II, beta (SCN2B)
10581	-2,05	ah71e06.s1 Soares_testis_NHT cDNA clone 1321090 3' similar to contains LTR8.t2 LTR8 repetitive element ;
10179	-2,5	zw69d04r1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:781447 5'
10157	-2,89	wg21a01x1 Soares_NSF_F8_9W_OT_PA_P_S1 cDNA clone IMAGE:2365704 3' similar to contains Alu repetitive element;
10129	-2,09	hypothetical protein MGC45840 (MGC45840)
48980	-3,05	UI-H-BI4-apa-a-07-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub8 cDNA clone IMAGE:3086508 3'
4825	-3,42	hypothetical protein MGC45438 (MGC45438)
46920	-3,34	proline-rich acidic protein 1 (PRAP1), mRNA
43269	-3,09	atonal homolog 8 (Drosophila) (ATOH8)
3849	-3,53	cDNA FLJ14343 fis, clone THYRO1000916
32624	-3,02	prominin 2 (PROM2)
29384	-3,11	xf23a03x1 NCI_CGAP_Kid8 cDNA clone IMAGE:2618860 3' similar to gb:X58295_rna1 PLASMA GLUTATHIONE PEROXIDASE PRECURSOR (HUMAN);
2818	-3,1	ze75f08.r1 Soares_fetal_heart_NbHH19W cDNA clone IMAGE:364839 5' similar to SW:HMG1_CRIGR P07156 HIGH MOBILITY GROUP PROTEIN HMG1 ;contains element LTR4 repetitive element ;
25016	-3,17	potassium channel tetramerisation domain containing 14 (KCTD14)
24985	-3,4	QV4-BN0090-210400-182-h09 BN0090 Homo sapiens cDNA
24366	-3,56	Rhesus blood group, C glycoprotein (RHCG)
20765	-3,2	WAP four-disulfide core domain 2 (WFDC2), transcript variant 1
19612	-3,51	Purkinje cell protein 4 (PCP4)
16152	-3,57	Fc fragment of IgG binding protein (FCGBP)
15806	-3,48	aquaporin 2 (collecting duct) (AQP2)

11963	-3,25	receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (RAMP1)
10957	-3,48	p8 protein (candidate of metastasis 1) (P8)
1046	-3,75	cDNA FLJ38449 fis, clone FEBRA2019389
38798	-5,03	qz33c05x1 NCI_CGAP_Kid11 cDNA clone IMAGE:2028680 3' similar to gb:X02747 FRUCTOSE-BISPHOSPHATE ALDOLASE B (HUMAN);
9753	-7,16	megakaryoblastic leukemia (translocation) 1 (MKL1)

Anexo 6b: Lista dos genes exibindo superexpressão nos tumores metastáticos em relação aos tumores desfavoráveis

Número Codelink	Índice de expressão	Nome do gene
24261	6,1	interleukin 8 (IL8)
20740	6,08	serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade H (heat shock protein 47), member 1, (collagen binding protein 1) (SERPINH1)
11050	6,43	clone 24734 mRNA sequence
50162	5,25	heat shock 70kDa protein 1B, mRNA (cDNA clone MGC:74463 IMAGE:4153196)
47315	5,4	interferon induced transmembrane protein 1 (9-27) (IFITM1)
39816	5,89	heat shock 70kDa protein 1A (HSPA1A)
39198	5,04	major histocompatibility complex, class II, DP beta 1 (HLA-DPB1)
36190	5,53	tumor protein, translationally-controlled 1 (TPT1)
36034	5,21	interleukin 1, beta (IL1B)
29444	5,68	zu07b03.r1 Soares_testis_NHT cDNA clone IMAGE:731117 5' similar to contains MER30.t2 MER30 repetitive element ;
49424	4,41	hypothetical protein LOC90637 (LOC90637)
42580	4,58	regulator of G-protein signalling 5 (RGS5)
41630	4,99	interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U) (IFITM3)
41571	4,86	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha (NFKBIA)
39563	4,83	ribosomal protein L14 (RPL14)
37696	4,79	tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (erythroid potentiating activity, collagenase inhibitor) (TIMP1)
37489	4,36	B-cell translocation gene 1, anti-proliferative (BTG1)
36444	4,36	ribosomal protein S24 (RPS24), transcript variant 1
36054	4,53	heat shock 70kDa protein 8 (HSPA8), transcript variant 1
35732	4,12	ribosomal protein L19 (RPL19)
22873	4,3	tropomyosin 4 (TPM4)
20547	4,11	collagen, type VI, alpha 3 (COL6A3), transcript variant 1
19056	4,43	GTP binding protein overexpressed in skeletal muscle (GEM), transcript variant 1

17697	4,95	zinc finger protein 36, C3H type, homolog (mouse) (ZFP36)
16648	4,36	dual specificity phosphatase 2 (DUSP2)
9553	3,36	headcase homolog (Drosophila) (HECA)
8683	3,44	UI-H-ED0-axk-k-10-0-UIs1 NCI_CGAP_ED0 cDNA clone IMAGE:5830017 3'
6469	3,72	ubiquitin C (UBC)
50472	3,14	fs17e11y1 Human Lens cDNA (Normalized): fs cDNA clone fs17e11 5'
50365	3,63	chromosome 19 open reading frame 27 (C19orf27)
48725	3,69	HUM065B03B Clontech human fetal brain polyA+ mRNA (#6535) cDNA clone GEN-065B03 5'
4657	3,58	major histocompatibility complex, class I, E (HLA-E)
46443	3,68	UI-H-DH0-aui-h-17-0-UIs1 NCI_CGAP_DH0 cDNA clone IMAGE:5871040 3'
45082	3,89	UI-H-BI0-aai-f-11-0-UIs1 NCI_CGAP_Sub1 cDNA clone IMAGE:2709644 3'
43452	3,11	major histocompatibility complex, class II, DP alpha 1 (HLA-DPA1)
41448	3,97	major histocompatibility complex, class II, DR alpha (HLA-DRA)
40674	3,14	growth arrest and DNA-damage-inducible, beta (GADD45B)
39986	3,01	nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (NFE2L2)
39957	3,12	chaperonin containing TCP1, subunit 3 (gamma) (CCT3)
39362	3,08	ribophorin II (RPN2)
39332	3,21	proteasome (prosome, macropain) activator subunit 2 (PA28 beta) (PSME2)
39154	3,23	early growth response 1 (EGR1)
39085	3,02	activating transcription factor 4 (tax-responsive enhancer element B67) (ATF4), transcript variant 1
39006	3,27	core promoter element binding protein (COPEB)
38955	3,09	ribosomal protein S25 (RPS25)
38952	3,85	ribosomal protein L21 (RPL21)
38809	3,99	collagen, type I, alpha 1 (COL1A1)
37965	3,97	ribosomal protein L28 (RPL28)
37212	3,6	hemoglobin, alpha 1 (HBA1)
36561	3,69	mRNA; cDNA DKFZp667A182 (from clone DKFZp667A182)

8 REFERÊNCIAS

Abou-Rebyeh H, Borgmann V, Nagel R, Al-Abadi H. DNA ploidy is a valuable predictor for prognosis of patients with resected renal cell carcinoma. *Cancer*. 2001;92(9):2280-5.

Autrup JL, Thomassen LH, Olsen JH, Wolf H, Autrup H. Glutathione S-transferases as risk factors in prostate cancer. *Eur J Cancer Prev*. 1999;8(6):525-32.

Bastian PJ, Ellinger J, Wellmann A, Wernert N, Heukamp LC, Muller SC, von Ruecker A. Diagnostic and prognostic information in prostate cancer with the help of a small set of hypermethylated gene loci. *Clin Cancer Res*. 2005;11(11):4097-106.

Bell ET. A classification of renal tumours with observation on the frequency of various types. *J Urol*. 1938;39:238-43.

Boer JM, Huber WK, Sultmann H, Wilmer F, von Heydebreck A, Haas S, Korn B, Gunawan B, Vente A, Fuzesi L, Vingron M, Poustka A. Identification and classification of differentially expressed genes in renal cell carcinoma by expression profiling on a global human 31,500-element cDNA array. *Genome Res*. 2001;11(11):1861-70.

Bonsib SM. Risk and prognosis in renal neoplasms. A pathologist's prospective. *Urol Clin North Am*. 1999;26(3):643-60.

Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2008: incidência de câncer no Brasil. [acesso 12 mar 2008]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2008/versaofinal.pdf>

Caldwell MC, Hough C, Furer S, Linehan WM, Morin PJ, Gorospe M. Serial analysis of gene expression in renal carcinoma cells reveals VHL-dependent sensitivity to TNFalpha cytotoxicity. *Oncogene*. 2002;21(6):929-36.

Carducci MA, Piantadosi S, Pound CR, Epstein JI, Simons JW, Marshall FF, Partin AW. Nuclear morphometry adds significant prognostic information to stage and grade for renal cell carcinoma. *Urology*. 1999;53(1):44-9.

Cohen HT, McGovern FJ. Renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2005; 353(23):2477-90.

Costa LJ, Drabkin HA. Renal cell carcinoma: new developments in molecular biology and potential for target therapies. *Oncologist*. 2007; 12(12):1404-15.

Curti BD. Renal cell carcinoma. *JAMA*. 2004;292(1):97-100.

Dall'Oglio MF, Srougi M, Nesrallah L, Leite KM, Hering F, Bomfim Ade C, Sanudo A. Must the TNM staging of the renal cell carcinoma be modified again? *Rev Assoc Med Bras.* 2003a;49(1):86-90.

Dall'Oglio M, Srougi M, Mangini M, Ribeiro E, Ferraz M, Sanudo A, Leite K, Nesrallah L. Assessment of stage T1 (TNM 1997) for renal cell carcinoma: is recommended the subdivision in T1a and T1b? *Int Braz J Urol.* 2003b;29(2):106-12.

Dall'Oglio MF, Lieberknecht M, Gouveia V, Sant'Anna AC, Leite KR, Srougi M. Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma: prognostic implications. *Int Braz J Urol.* 2005;31(1):10-6.

Dall'oglio MF, Antunes AA, Sarkis AS, Crippa A, Leite KR, Lucon AM, Srougi M. Microvascular tumour invasion in renal cell carcinoma: the most important prognostic factor. *BJU Int.* 2007a;100(3):552-5.

Dall'Oglio MF, Ribeiro-Filho LA, Antunes AA, Crippa A, Nesrallah L, Gonçalves PD, Leite KR, Srougi M. Microvascular tumor invasion, tumor size and Fuhrman grade: a pathological triad for prognostic evaluation of renal cell carcinoma. *J Urol.* 2007b;178(2):425-8.

Dall'Oglio MF, Arap MA, Antunes AA, Cury J, Leite KR, Srougi M. Impact of clinicopathological parameters in patients treated for renal cell carcinoma. *J Urol.* 2007c;177(5):1687-91.

DeRisi J, Penland L, Brown PO, Bittner ML, Meltzer PS, Ray M, Chen Y, Su YA, Trent JM. Use of a cDNA microarray *microarray* to analyse gene expression patterns in human cancer. *Nat Genet.* 1996;14(4):457-60.

Di Silverio F, Casale P, Colella D, Andrea L, Seccareccia F, Sciarra A. Independent value of tumor size and DNA ploidy for the prediction of disease progression in patients with organ-confined renal cell carcinoma. *Cancer.* 2000;88(4):835-43.

Donti E, Lanfrancone L, Huebner K, Pascucci A, Venti G, Pengue G, Grignani F, Croce CM, Lania L, Pelicci PG. Localization of the human HF.10 finger gene on a chromosome region (3p21-22) frequently deleted in human cancers. *Hum Genet.* 1990;84(5):391-5.

Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, editores. *Pathology and Genetics: tumours of the urinary system and male genital organs.* Lyon: WHO; IARC Press; 2004)

Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, Negrier S, Chevreau C, Solska E, Desai AA, Rolland F, Demkow T, Hutson TE, Gore M, Freeman S, Schwartz B, Shan M, Simantov R, Bukowski RM; TARGET Study

Group. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007;356(2):125-34.

Fallick ML, McDermott DF, LaRock D, Long JP, Atkins MB. Nephrectomy before interleukin-2 therapy for patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol*. 1997;158(5):1691-5.

Flocks RH, Kadesky MC. Malignant neoplasms of the kidney; an analysis of 353 patients followed five years or more. *J Urol*. 1958;79(2):196-201.

Floto RA, MacAry PA, Boname JM, Mien TS, Kampmann B, Hair JR, Huey OS, Houben EN, Pieters J, Day C, Oehlmann W, Singh M, Smith KG, Lehner PJ. Dendritic cell stimulation by mycobacterial Hsp70 is mediated through CCR5. *Science*. 2006;314(5798):454-8.

Foster K, Prowse A, van den Berg A, Fleming S, Hulsbeek MM, Crossey PA, Richards FM, Cairns P, Affara NA, Ferguson-Smith MA, et al. Somatic mutations of the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene in non-familial clear cell renal carcinoma. *Hum Mol Genet*. 1994;3(12):2169-73.

Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. *J Urol*. 2002;168(6):2395-400.

Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1982;6(7):655-63.

Fuzesi L, Cober M, Mittermayer C. Collecting duct carcinoma: cytogenetic characterization. *Histopathology*. 1992;21(2):155-60.

Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov JP, Coller H, Loh ML, Downing JR, Caligiuri MA, Bloomfield CD, Lander ES. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science*. 1999;286(5439):531-7.

Gonçalves PD, Srougi M, Dall'lio MF, Leite KR, Ortiz V, Hering F. Low clinical stage renal cell carcinoma: relevance of microvascular tumor invasion as a prognostic parameter. *J Urol*. 2004;172(2):470-4.

Gonçalves AJ, de Carvalho LH, Serdeira K, Nakai MY, Malavasi TR. Comparative analysis of the prevalence of the glutathione S-transferase (GST) system in malignant and benign thyroid tumor cells. *Sao Paulo Med J*. 2007;125(5):289-91.

Greene FL, Fritz AG, Balch CM, Haller DG, Page DL, Fleming ID, Morrow M, editores. *AJCC Cancer Staging Manual*. 6^a ed. New York: Springer-Verlag; 2002

Guinan P, Frank W, Saffrin R, Rubenstein M. Staging and survival of patients with renal cell carcinoma. *Semin Surg Oncol.* 1994;10(1):47-50.

Hafez KS, Fergany AF, Novick AC. Nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: impact of tumor size on patient survival, tumor recurrence and TNM staging. *J Urol.* 1999;162(6):1930-3.

Hatano N, Nishikawa NS, McElgunn C, Sarkar S, Ozawa K, Shibana Y, Nakajima M, Gohji K, Kiyama R. A comprehensive analysis of loss of heterozygosity caused by hemizygous deletions in renal cell carcinoma using a subtraction library. *Mol Carcinog.* 2001;31(3):161-70.

Higgins JP, Shinghal R, Gill H, Reese JH, Terris M, Cohen RJ, Fero M, Pollack JR, van de Rijn M, Brooks JD. Gene expression patterns in renal cell carcinoma assessed by complementary DNA microarray *microarray.* *Am J Pathol.* 2003;162(3):925-32.

Hirota E, Yan L, Tsunoda T, Ashida S, Fujime M, Shuin T, Miki T, Nakamura Y, Katagiri T. Genome-wide gene expression profiles of clear cell renal cell carcinoma: identification of molecular targets for treatment of renal cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2006;29(4):799-827.

Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, Staroslawska E, Sosman J, McDermott D, Bodrogi I, Kovacevic Z, Lesovoy V, Schmidt-Wolf IG, Barbarash O, Gokmen E, O'Toole T, Lustgarten S, Moore L, Motzer RJ; Global ARCC Trial. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med.* 2007;356(22):2271-81.

Javid B, MacAry PA, Lehner PJ. Structure and function: heat shock proteins and adaptive immunity. *J Immunol.* 2007;179(4):2035-40.

Javidan J, Stricker HJ, Tamboli P, Amin MB, Peabody JO, Deshpande A, Menon M, Amin MB. Prognostic significance of the 1997 TNM classification of renal cell carcinoma. *J Urol.* 1999;162(4):1277-81.

Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008;58(2):71-96.

Jones J, Otu H, Spentzos D, Kolia S, Inan M, Beecken WD, Fellbaum C, Gu X, Joseph M, Pantuck AJ, Jonas D, Libermann TA. Gene signatures of progression and metastasis in renal cell cancer. *Clin Cancer Res.* 2005;11(16):5730-9.

Kibel AS, Schutte M, Kern SE, Isaacs WB, Bova GS. Identification of 12p as a region of frequent deletion in advanced prostate cancer. *Cancer Res.* 1998;58(24):5652-5.

Kinouchi T, Saiki S, Meguro N, Maeda O, Kuroda M, Usami M, Kotake T. Impact of tumor size on the clinical outcomes of patients with Robson State I renal cell carcinoma. *Cancer*. 1999;85(3):689-95.

Kontak JA, Campbell SC. Prognostic factors in renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*. 2003;30(3):467-80.

Kosari F, Parker AS, Kube DM, Lohse CM, Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, Vasmatazis G. Clear cell renal cell carcinoma: gene expression analyses identify a potential signature for tumor aggressiveness. *Clin Cancer Res*. 2005;11(14):5128-39.

Kovacs A, Storkel S, Thoenes W, Kovacs G. Mitochondrial and chromosomal DNA alterations in human chromophobe renal cell carcinomas. *J Pathol*. 1992;167(3):273-7.

Lanfrancone L, Pengue G, Pandolfi PP, Salcini AE, Giacomucci A, Longo L, Donti E, De Luca P, La Mantia G, Pelicci PG, et al. Structural and functional organization of the HF.10 human zinc finger gene (ZNF35) located on chromosome 3p21-p22. *Genomics*. 1992;12(4):720-8.

Langner C, Ratschek M, Rehak P, Tsybrovskyy O, Zigeuner R. The pT1a and pT1b category subdivision in renal cell carcinoma: is it reflected by differences in tumour biology? *BJU Int.* 2005;95(3):310-4.

Latif F, Tory K, Gnarr J, Yao M, Duh FM, Orcutt ML, Stackhouse T, Kuzmin I, Modi W, Geil L, et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science.* 1993;260(5112):1317-20.

Lee CT, Katz J, Shi W, Thaler HT, Reuter VE, Russo P. Surgical management of renal tumors 4 cm. or less in a contemporary cohort. *J Urol.* 2000;163(3):730-6.

Lee WH, Isaacs WB, Bova GS, Nelson WG. CG island methylation changes near the GSTP1 gene in prostatic carcinoma cells detected using the polymerase chain reaction: a new prostate cancer biomarker. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1997;6(6):443-50.

Leibovich BC, Pantuck AJ, Bui MH, Ryu-Han K, Zisman A, Figlin R, Beldegrun A. Current staging of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am.* 2003;30(3):481-97.

Leite KRM. Neoplasias do rim. In: Bacchi CE, Almeida PC, Franco MF, organizadores. *Manual de padronização de laudos histopatológicos da*

Sociedade Brasileira de Patologia. 3ª ed. São Paulo: Reichmann & Autores; 2006. p.143-51.

Lichtenfels R, Kellner R, Bukur J, Beck J, Brenner W, Ackermann A, Seliger B. Heat shock protein expression and anti-heat shock protein reactivity in renal cell carcinoma. *Proteomics*. 2002;2(5):561-70.

Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J Urol*. 2003;170(6 Pt 1):2163-72.

Linehan WM, Zbar B. Focus on kidney cancer. *Cancer Cell*. 2004;6(3):223-8.

Linehan WM, Bates SE, Yang JC. Cancers of the genitourinary system: cancer of the kidney. In: DeVita, Jr. VT, Hellman S, Rosenberg SA, editores. *Cancer principles e practice of oncology*. 7ª ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. Cap.30, p.1139-68.

Liou LS, Shi T, Duan ZH, Sadhukhan P, Der SD, Novick AA, Hissong J, Skacel M, Almasan A, DiDonato JA. Microarray *microarray* gene expression profiling and analysis in renal cell carcinoma. *BMC Urol*. 2004;4:9.

Ljungberg B, Mehle C, Stenling R, Roos G. Heterogeneity in renal cell carcinoma and its impact no prognosis: a flow cytometric study. *Br J Cancer*. 1996;74(1):123-7.

Ljungberg B, Stenling R, Roos G. DNA content and prognosis in renal cell carcinoma. A comparison between primary tumors and metastases. *Cancer*. 1986;57(12):2346-50.

Lockhart DJ, Dong H, Byrne MC, Follettie MT, Gallo MV, Chee MS, Mittmann M, Wang C, Kobayashi M, Horton H, Brown EL. Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nat Biotechnol*. 1996;14(13):1675-80.

Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, Kirkali Z. 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults. *Eur Urol*. 2006;49(5):798-805.

Lovisol JA, Casati B, Clerici L, Marafante E, Bono AV, Celato N, Salvatore M. Gene expression profiling of renal cell carcinoma: a DNA macroarray analysis. *BJU Int*. 2006;98(1):205-16.

Mancuso A, Sternberg CN. What's new in the treatment of metastatic kidney cancer? *BJU Int*. 2005;95(9):1171-80.

Méjean A, Oudard S, Thiounn N. Prognostic factors of renal cell carcinoma. *J Urol*. 2003;169(3):821-7.

Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Kim ST, Chen I, Bycott PW, Baum CM, Figlin RA. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007;356(2):115-24.

Onda H, Yasuda M, Serizawa A, Osamura RY, Kawamura N. Clinical outcome in localized renal cell carcinomas related to immunoexpression of proliferating cell nuclear antigen, Ki-67 antigen, and tumor size. *Oncol Rep*. 1999;6(5):1039-43.

Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun AS. The changing natural history of renal cell carcinoma. *J Urol*. 2001;166(5):1611-23.

Patard JJ, Shvarts O, Lam JS, Pantuck AJ, Kim HL, Ficarra V, Cindolo L, Han KR, De La Taille A, Tostain J, Artibani W, Abbou CC, Lobel B, Chopin DK, Figlin RA, Mulders PF, Belldegrun AS. Safety and efficacy of partial nephrectomy for all T1 tumors based on an international multicenter experience. *J Urol*. 2004;171(6 Pt 1):2181-5.

Pavlovich CP, Walther MM, Eyler RA, Hewitt SM, Zbar B, Linehan WM, Merino MJ. Renal tumors in the Birt-Hogg-Dube syndrome. *Am J Surg Pathol*. 2002;26(12):1542-52.

Pound CR, Partin AW, Epstein JI, Simons JW, Marshall FF. Nuclear morphometry accurately predicts recurrence in clinically localized renal cell carcinoma. *Urology*. 1993;42(3):243-8.

Presti JC Jr, Moch H, Gelb AB, Huynh D, Waldman FM. Initiating genetic events in small renal neoplasms detected by comparative genomic hybridization. *J Urol*. 1998;160(4):1557-61.

Presti JC Jr, Wilhelm M, Reuter V, Russo P, Motzer R, Waldman F. Allelic loss on chromosomes 8 and 9 correlates with clinical outcome in locally advanced clear cell carcinoma of the kidney. *J Urol*. 2002;167(3):1464-8.

Ramakrishnan R, Dorris D, Lublinsky A, Nguyen A, Domanus M, Prokhorova A, Gieser L, Touma E, Lockner R, Tata M, Zhu X, Patterson M, Shippy R, Sendera TJ, Mazumder A. An assessment of Motorola CodeLink microarray *microarray* performance for gene expression profiling applications. *Nucleic Acids Res*. 2002;30(7):e30.

Robson CJ, Churchill BM, Anderson W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol*. 1969;101(3):297-301.

Romanenko A, Morell-Quadreny L, Ramos D, Nepomnyaschiy V, Vozianov A, Llobart-Bosch A. Extracellular matrix alterations in conventional renal cell carcinomas by tissue microarray *microarray* profiling influenced by the

persistent, long-term, low-dose ionizing radiation exposure in humans. *Virchows Arch.* 2006;448(5):584-90.

Ross DT, Scherf U, Eisen MB, Perou CM, Rees C, Spellman P, Iyer V, Jeffrey SS, Van de Rijn M, Waltham M, Pergamenschikov A, Lee JC, Lashkari D, Shalon D, Myers TG, Weinstein JN, Botstein D, Brown PO. Systematic variation in gene expression patterns in human cancer cell lines. *Nat Genet.* 2000;24(3):227-35.

Sandlund J, Hedberg Y, Bergh A, Grankvist K, Ljungberg B, Rasmuson T. Evaluation of CD31 (PECAM-1) expression using tissue microarray *microarray* in patients with renal cell carcinoma. *Tumour Biol.* 2007;28(3):158-64.

Santarosa M, Favaro D, Quaia M, Galligioni E. Expression of heat shock protein 72 in renal cell carcinoma: possible role and prognostic implications in cancer patients. *Eur J Cancer.* 1997;33(6):873-7.

Schena M, Shalon D, Heller R, Chai A, Brown PO, Davis RW. Parallel human genome analysis: microarray *microarray*-based expression monitoring of 1000 genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(20):10614-9.

Schmidt L, Duh FM, Chen F, Kishida T, Glenn G, Choyke P, Scherer SW, Zhuang Z, Lubensky I, Dean M, Allikmets R, Chidambaram A, Bergerheim UR, Feltis JT, Casadevall C, Zamarron A, Bernues M, Richard S, Lips CJ, Walther

MM, Tsui LC, Geil L, Orcutt ML, Stackhouse T, Lipan J, Slife L, Brauch H, Decker J, Niehans G, Hughson MD, Moch H, Storkel S, Lerman MI, Linehan WM, Zbar B. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat Genet.* 1997;16(1):68-73.

Schullerus D, Herbers J, Chudek J, Kanamaru H, Kovacs G. Loss of heterozygosity at chromosomes 8p, 9p, and 14q is associated with stage and grade of non-papillary renal cell carcinomas. *J Pathol.* 1997;183(2):151-5.

Seizinger BR, Rouleau GA, Ozelius LJ, Lane AH, Farmer GE, Lamiell JM, Haines J, Yuen JW, Collins D, Majoor-Krakauer D, et al. Von Hippel-Lindau disease maps to the region of chromosome 3 associated with renal cell carcinoma. *Nature.* 1988;332(6161):268-9.

Seliger B, Lichtenfels R, Kellner R. Detection of renal cell carcinoma-associated markers via proteome- and other 'ome'-based analyses. *Brief Funct Genomic Proteomic.* 2003;2(3):194-212.

Shi T, Seligson D, Belldegrun AS, Palotie A, Horvath S. Tumor classification by tissue microarray *microarray* profiling: random forest clustering applied to renal cell carcinoma. *Mod Pathol.* 2005;18(4):547-57.

Shishikura Y, Suzuki M. Clinicopathologic study of 97 cases of small renal cell carcinomas using DNA flow cytometric analyses. *Pathol Int.* 1996;46(12):947-52.

Sobin LH, Wittekind Ch, editores. *TNM classification of malignant tumours.* 6^a ed. New York: Wiley-Liss; 2002.

Speicher MR, Schoell B, du Manoir S, Schröck E, Ride T, Cremer T, Störkel S, Kovacs A, Kovacs G. Specific loss of chromosomes 1, 2, 6, 10, 13, 17, and 21 in chromophobe renal cell carcinomas revealed by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol.* 1994; 145(2):56-64.

Stahler M, Rohrman K, Haseke N, Stief CG, Siebels M. Targeted agents for the treatment of advanced renal cell carcinoma. *Curr Drug Targets.* 2005;6(7):835-46.

Steiner G, Cairns P, Polascik TJ, Marshall FF, Epstein JI, Sidransky D, Schoenberg M. High-density mapping of chromosomal arm 1q in renal collecting duct carcinoma: region of minimal deletion at 1q32.1-32.2. *Cancer Res.* 1996;56(21):5044-6.

Sternberg CN. Metastatic renal cell cancer treatments. *Drugs Today (Barc).* 2003;39 Suppl C:39-59.

Storkel S, Eble JN, Adlakha K, Amin M, Blute ML, Bostwick DG, Darson M, Delahunt B, Iczkowski K. Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer*. 1997;80(5):987-9.

Takahashi M, Rhodes DR, Furge KA, Kanayama H, Kagawa S, Haab BB, Teh BT. Gene expression profiling of clear cell renal cell carcinoma: gene identification and prognostic classification. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(17):9754-9.

Takahashi M, Papavero V, Yuhas J, Kort E, Kanayama HO, Kagawa S, Baxter RC, Yang XJ, Gray SG, Teh BT. Altered expression of members of the IGF-axis in clear cell renal cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2005;26(4):923-31.

Takahashi M, Teh BT, Kanayama HO. Elucidation of the molecular signatures of renal cell carcinoma by gene expression profiling. *J Med Invest*. 2006;53(1-2):9-19.

Tang SW, Chang WH, Chao YW, Lin CY, Chen HF, Lai YH, Zhan BW, Su YC, Jane SW, Chen YC, Hsu CI, Lin WC, Wang KC, Lai MK, Lin JY. Identification of differentially expressed genes in clear cell renal cell carcinoma by analysis of full-length enriched cDNA library. *J Biomed Sci*. 2006;13(2):233-40.

Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin RA, deKernion JB, Beldegrun A. Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. *J Urol.* 2000;163(4):1090-5.

Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, Carter BS, Karthaus HF, Schaafsma HE, Debruyne FM, Isaacs WB. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Cancer Res.* 1992;52(18):5104-9.

Van den Berg E, Dijkhuizen T, Oosterhuis JW, Geurts van Kessel A, de Jong B, Storkel S. Cytogenetic classification of renal cell cancer. *Cancer Genet Cytogenet.* 1997;95(1):103-7.

Van Poppel H, Vandendriessche H, Boel K, Mertens V, Goethuys H, Haustermans K, Van Damme B, Baert L. Microscopic vascular invasion is the most relevant prognosticator after radical nephrectomy for clinically nonmetastatic renal cell carcinoma. *J Urol.* 1997;158(1):45-9.

Wang E, Miller LD, Ohnmacht GA, Liu ET, Marincola FM. High-fidelity mRNA amplification for gene profiling. *Nat Biotechnol.* 2000;18(4):457-9.

Yang RM, Naitoh J, Murphy M, Wang HJ, Phillipson J, deKernion JB, Loda M, Reiter RE. Low p27 expression predicts poor disease-free survival in patients with prostate cancer. *J Urol.* 1998;159(3):941-5.

Yang ZQ, Yoshida MA, Fukuda Y, Kurihara N, Nakamura Y, Inazawa J. Molecular cytogenetic analysis of 17 renal cancer cell lines: increased copy number at 5q31-33 in cell lines from nonpapillary carcinomas. *Jpn J Cancer Res.* 2000;91(2):156-63.

Yang JC, Haworth L, Sherry RM, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, Steinberg SM, Chen HX, Rosenberg SA. A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med.* 2003;349(5):427-34.

Yang XJ, Sugimura J, Schafernak KT, Tretiakova MS, Han M, Vogelzang NJ, Furge K, Teh BT. Classification of renal neoplasms based on molecular signatures. *J Urol.* 2006;175(6):2302-6.

Yao M, Shuin T, Misaki H, Kubota Y. Enhanced expression of c-myc and epidermal growth factor receptor (C-erbB-1) genes in primary human renal cancer. *Cancer Res.* 1988;48(23):6753-7.

Yegnasubramanian S, Lin X, Haffner MC, DeMarzo AM, Nelson WG. Combination of methylated-DNA precipitation and methylation-sensitive

restriction enzymes (COMPARE-MS) for the rapid, sensitive and quantitative detection of DNA methylation. *Nucleic Acids Res.* 2006;34(3):e19.

Yin-Goen Q, Dale J, Yang WL, Phan J, Moffitt R, Petros JA, Datta MW, Amin MB, Wang MD, Young AN. Advances in molecular classification of renal neoplasms. *Histol Histopathol.* 2006;21(3):325-39.

Young AN, Amin MB, Moreno CS, Lim SD, Cohen C, Petros JA, Marshall FF, Neish AS. Expression profiling of renal epithelial neoplasms: a method for tumor classification and discovery of diagnostic molecular markers. *Am J Pathol.* 2001;158(5):1639-51.

Zhou J, Schmid T, Frank R, Brüne B. PI3K/Akt is required for heat shock proteins to protect hypoxia-inducible factor 1alpha from pVHL-independent degradation. *J Biol Chem.* 2004;279(14):13506-13.

Zigeuner R, Droschl N, Tauber V, Rehak P, Langner C. Biologic significance of fascin expression in clear cell renal cell carcinoma: systematic analysis of primary and metastatic tumor tissues using a tissue microarray *microarray* technique. *Urology.* 2006;68(3):518-22.

Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F, Said JW, Shvarts O, Quintana D, Gitlitz BJ, deKernion JB, Figlin RA, Belldegrun AS. Improved prognostication of renal cell

carcinoma using an integrated staging system. *J Clin Oncol.* 2001;19(6):1649-57.