

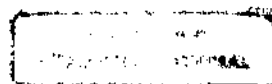
Lourenço Sbragia Neto

**TUMORES DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL NA INFÂNCIA:
AVALIAÇÃO CLÍNICA, CIRÚRGICA, HISTOPATOLÓGICA E
IMUNOHISTOQUÍMICA (p53, Ki-67, c-erb-B2 E bcl-2), E SUAS
CORRELAÇÕES COM O PROGNÓSTICO
E A SOBREVIVÊNCIA DE 33 PACIENTES**

Tese apresentada à Sub-Comissão de
Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade
de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do
título de Doutor em Cirurgia

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Murray Bustorff-Silva

UNICAMP
1998



9900114

CM-00119672-1

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
Ex.	
QUANTO BCI	36129
DEDC	395/98
DEDC	R\$ 11,00
DATA	05/01/98
N.º	

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

S61t Sbragia Neto, Lourenço

Tumores do córtex da supra-renal na infância: avaliação clínica, cirúrgica, histopatológica, imunohistoquímica (p53, Ki-67, c-erb-B2 e bcl-2) e suas correlações com o prognóstico e sobrevida de 33 pacientes / Lourenço Sbragia Neto. Campinas, SP : [s.n.], 1998.

Orientador: Joaquim Murray Bustorff Silva

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Córtex supra-renal. 2. Cirurgia. 3. Imunohistoquímica. 4. Pediatria. I. Joaquim Murray Bustorff Silva. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

BANCA EXAMINADORA DA TESE DE DOUTORADO

Aluno: LOURENÇO SBRAGIA NETO

Orientador: Prof. Dr. JOAQUIM MURRAY BUSTORFF-SILVA

Membros:

1. Prof. Dr. Joaquim Murray Bustorff Silva 
2. Prof. Dr. Sérgio Tavares 
3. Prof. Dr. Carlos Tavares 
4. Prof. Dr. Gil Guerra Junior 
5. Prof. Dr. José Lazzarini 

Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de
Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 18/9/98

Dedicatória

*Ao Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa
Pela crença acadêmica e universitária no meu trabalho*

*Ao Prof. Dr. Lutz Sérgio Leonardi
Pelo pioneirismo e exemplo de dedicação à cirurgia*

*A minha esposa Tânia, meus filhos Enzo e
Franco, e minha mãe Darcy
Pelo sempre começo de uma grande aventura*

Agradecimentos

Prof. Dr. Joaquim Murray Bustorff-Silva

Pelo empenho e espelho para o futuro em cirurgia pediátrica

Prof. Dr. Gil Guerra Júnior

Pela dedicação e espírito universitário

Prof. Dr. José Vassalo

Pelo amor à pesquisa e objetividade

Profa. Dra. Ana Maria Uthida Tanaka

Pelas verdades simples do dia a dia

Dr. Akio Tanaka e família

Pelo apoio de sempre

Dr. Antônio Gonçalves Oliveira Filho e Dr. Márcio Lopes Miranda, amigos de beira de leito e centro cirúrgico

Por compartilharem sonhos e frustrações que fazem parte desta longa jornada

Prof. Dr. Roberto Teixeira Mendes

Pelos bons momentos do cotidiano que nos tornam mais médicos

Prof. Dr. Marcelo Alvarenga e ao Instituto de Patologia de Campinas

Pela generosidade em oferecer parte dos blocos à pesquisa

Prof. Dr. Shogi Myiabara e Edison Rissato de Oliveira

Pelos ensinamentos de cirurgia pediátrica

Profa. Dra. Sílvia Brandalise e ao Centro Infantil Boldrini

Pelos pacientes com tumor do córtex da supra-renal que compartilhamos

Gláucia Aparecida Pinto e Tatiane Cristine Dunder, biólogas do LAPE - CAISM

Pelo preparo da imunohistoquímica

Dr. Sidney Epelman e Dr. Armando Antônio Marques, oncologistas pediátricos do Centro Infantil Boldrini

Pelos cuidados oncológicos destes frágeis pacientes

Dr. Carlos Renato Della Torres Sanches, Dr. Luís Henrique Pereira e Dra. Márcia Alessandra Cavalaro, médicos residentes de cirurgia pediátrica

Por compreenderem as possíveis falhas de assistência durante este trabalho

Dra. Tânia Bignardi V. da Motta, médica patologista

Por ceder um bloco para esta pesquisa

Prof. Dr. Juvenal Ricardo Góes, Prof. Dr. Cláudio Coy, Prof. Dr. João José Fagundes, Profa Dra. Ilka Boin, Profa. Dra. Ana Terezinha Guillaumon, Prof. Dr. Luís Roberto Lopes, Prof. Dr. Alfio José Tincani e Dr. Roberto Teixeira

Pelos exemplos de dedicação aos pacientes cirúrgicos a serem seguidos

A FAEP – UNICAMP

Pelo auxílio econômico para realização desta pesquisa

A comissão de estatística da FCM-UNICAMP

Pela análise estatística deste trabalho

A comissão de informática da FCM-UNICAMP na presença de Emerson Rossi, Leonardo Ramos, Reis Pinto Moreno e Alexandre Rebac

Pela disposição em orientar nossos erros

A Sueli Chaves e Fernanda Atibaia

Pela diagramação e arte final desta tese

*PELOS CAMINHOS QUE ANDO
UM DIA VAI SER
SÓ NÃO SEI QUANDO*

PAULO LEMINSKI

Sumário

SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

RESUMO

1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - OBJETIVOS	14
3 - CASUÍSTICA E MÉTODOS	15
3.1. Coleta dos dados de prontuários médicos	16
3.2. Estádio tumoral	18
3.3. Avaliação anatomopatológica	19
3.4. Classificações histopatológicas	19
3.5. Avaliação imunohistoquímica	23
4 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS	26
5 - RESULTADOS	27
5.1. Coleta de dos prontuários médicos	27
5.2. Estádio tumoral	34
5.3. Avaliação anatomopatológica	35
5.4. Classificações histopatológicas	36
5.5. Avaliação imunohistoquímica	42
5.6. Evolução e sobrevida	45
5.7. Análise dos fatores prognósticos	48
6 - DISCUSSÃO	54
7 - CONCLUSÕES	74
8 - SUMMARY	75
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77
10 - BIBLIOGRAFIA DE NORMATIZAÇÕES	99
11 - ANEXOS	100

Siglas, Símbolos e Abreviaturas

Siglas, Símbolos e Abreviaturas

ACTH	Hormônio Adrenocorticotrópico
CAISM	Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EFS (<i>Event Free Survival</i>)	Sobrevida livre de doença
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
H & E	Hematoxilina e Eosina
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HC	Hospital de Clínicas
HPF (<i>High Power Field</i>)	Campo microscópico de alta resolução (ocular X 40)
IHQ	Imunohistoquímica
LAPE	Laboratório de Patologia Experimental
mL	mililitro(s)
o-p'DDD	(1,1 dicloro-2-[O-clorofenil]-2-[p-clorofenil]-etano) ou Mitotane®
PA	Pressão arterial
PCR (<i>Polimerase Chain Reaction</i>)	Reação em cadeia da polimerase
RM	Ressonância magnética
SDHEA	Sulfato de Deidroepiandrosterona
SLF	Síndrome de Li-Fraumeni
TAC	Tomografia axial computadorizada
TCSR	Tumor do córtex da supra-renal
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
17-OH	17-Hidroxicorticosteróide
17-KS	17-Cetosteróide

Resumo

Resumo

Os tumores do córtex da supra-renal (TCSR) na infância são muito raros e de comportamento imprevisível. Os dados de 33 crianças com TCSR, diagnosticadas entre 1980 e 1996 no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas e no Centro Infantil "Dr. Domingos Boldrini" em Campinas, foram analisados com o objetivo de se verificar a relação de fatores clínicos, cirúrgicos, anatomopatológicos e imunohistoquímicos com o prognóstico e a sobrevida. A coleta de dados clínicos, laboratoriais, cirúrgicos e evolutivos foi feita por análise retrospectiva dos prontuários médicos. A avaliação histológica foi refeita pelo autor, e cada caso foi classificado de acordo com os critérios de HOUGH *et al.* (1979), WEISS *et al.* (1984), VAN SLOOTEN *et al.* (1985), CAGLE *et al.* (1986), WEISS *et al.* (1989) modificado e RIBEIRO *et al.* (1990), e estadiado pelos critérios de SULLIVAN *et al.* (1978). Os estudos imunohistoquímicos com p53, Ki67, c-erb-B2 e bcl-2 foram realizados de acordo com a técnica de HSU *et al.* (1981) modificada. Os testes estatísticos empregados foram o exato de Fisher, o Cochran, o Log Rank, o Wilcoxon, além das curvas de sobrevida de Kaplan-Meier aplicados no total dos pacientes e nos pacientes com sobrevida livre de doença (EFS). Os resultados mostraram que 64% dos pacientes eram do sexo feminino,

85% caucasóides, com idade ao diagnóstico entre dois e 96 meses (média de 31 e mediana de 27 meses), 85% da zona urbana, 27% com antecedente pessoal ou familiar de contato com agrotóxico e 30% das famílias com história de outros casos de neoplasias. A apresentação clínica predominante foi a virilização isolada (70%), seguida da associação de virilização e síndrome de Cushing (21%), sendo apenas dois pacientes assintomáticos e um com síndrome de Cushing isolada. Os exames laboratoriais endocrinológicos (17-OH e 17-KS urinários e o SDHEA sérico) mostraram-se alterados nos 31 pacientes que foram submetidos à coleta. Dois pacientes não colheram o SDHEA. A avaliação imagenológica apresentou 97% de positividade para o ultrassom de abdome e 100% para a tomografia axial computadorizada. Os lados foram igualmente acometidos. Foram encontrados 22 pacientes no estágio I, cinco no II, três no III e três no IV. As complicações perioperatórias ocorreram em 18% e as várias classificações histopatológicas não puderam prever o prognóstico. A contagem do número total de mitoses dos tumores foi relevante, quando nos primeiros dez campos havia pelo menos uma mitose. O volume tumoral maior que 200 mL foi estatisticamente significativo para malignidade ($p < 0,0017$). Os resultados do p53 e c-erb-B2 (negativo em 100%), Ki67 (positivo em um paciente), e bcl-2 (positivo em nove pacientes), não mostraram correlação prognóstica. O bcl-2 mostrou mais positividade que os demais imuno-marcadores ($p < 0,0001$). A sobrevida global foi de 88%. Os fatores estatisticamente significantes para o prognóstico bom foram o sexo feminino ($p = 0,025$), a ausência de massa abdominal palpável ($p = 0,012$), os estágios I e II de SULLIVAN *et al.* (1978) ($p = 0,014$), a ressecabilidade total do tumor na cirurgia

($p=0,043$), o peso tumoral menor que 100g ($p=0,0017$) e a classificação de RIBEIRO *et al.* (1990) ($p=0,004$). Em conclusão, os critérios clínicos e cirúrgicos do TCSR na infância são ainda os aspectos mais importantes do prognóstico destas neoplasias e os imuno-marcadores estudados (**p53, Ki-67, c-erb-B2 e bcl-2**) não foram úteis para predizer o prognóstico tumoral.

Introdução

1 - Introdução

A glândula supra-renal é raramente acometida por tumores sólidos na infância. O neuroblastoma é o tumor que ocorre com maior frequência neste órgão, representando mais de 90% dos casos, e compromete mais a medula glandular. Os tumores do córtex da supra-renal (TCSR) representam apenas 6% do total de tumores do órgão (STEWART, JONES, JOLLEYS, 1974).

Os TCSR correspondem a aproximadamente 0,2% do número total de tumores malignos na faixa etária pediátrica (MILLER, YOUNG, NOVAKOVIC, 1994); são mais comuns no sexo feminino e apresentam-se funcionais com maior frequência na infância que na vida adulta, acometendo em igual número a supra-renal direita e a esquerda (WOOTEN & KING, 1993). Dados epidemiológicos revelam que estes tumores apresentam um comprometimento etário bimodal, com picos na primeira e quinta décadas de vida.

Segundo estes mesmos autores, apesar de diagnosticados mais frequentemente nos estádios III e IV, apenas um terço dos pacientes que não são curados pela cirurgia respondem à quimioterapia com o-p'DDD (1,1 dicloro-2-[O-clorofenil]-2-[p-clorofenil]-etano ou Mitotane®).

O comportamento desses tumores é bastante imprevisível, sendo que tumores pequenos, com características benignas podem ser muito agressivos (GANDOUR & GRIZZLE, 1986) e, por outro lado, crianças portadoras de tumores de histologia maligna podem apresentar sobrevida longa (TANG & GRAY, 1975). Apesar deste comportamento, até o presente momento, prevalece a cirurgia como padrão-ouro para o tratamento do TCSR (MacFARLANE, 1958; WOOTEN & KING, 1993).

Esse tipo de tumor infantil é muito raro, com aproximadamente 400 casos publicados na literatura. No entanto, algumas regiões do mundo apresentam maiores incidências como, por exemplo, as regiões Sul e Sudeste do Brasil (MARIGO, MULLER, DAVIES, 1968) e a Índia (MUKHOPADHYAY *et al.*, 1996).

É fato conhecido que grande parte dos tumores na infância resultam de uma interação entre fatores ambientais e predisposição genética (STRONG, 1977).

Quanto ao fator ambiental, alguns dados epidemiológicos sugerem uma predisposição maior ao desenvolvimento de tumores em crianças potencialmente expostas à ação de agrotóxicos. CALDWELL *et al.* (1981) e HOAR, BLAIR, HOLMES (1986) identificaram aumento da incidência de tumores colo-retais, de linfomas e de sarcomas de partes moles em regiões onde o uso de pesticidas é maior. BIRCH & BLAIR (1988) e KRISTENSEN *et al.* (1996) encontraram, respectivamente, na região noroeste da Inglaterra e na Noruega, uma incidência de câncer duas vezes maior entre crianças de zero a quatro anos, cujos pais trabalhavam na lavoura. RIBEIRO *et al.* (1990) e SANDRINI *et al.* (1997)

demonstraram uma alta incidência de pacientes provenientes da zona rural que tiveram contato com agrotóxicos, dentre os pacientes portadores de TCSR na região Sul do Brasil.

A influência dos fatores genéticos é sugerida tanto pela associação do TCSR com quadros sindrômicos e defeitos congênitos, como pela sua aparente concentração familiar. Neste sentido, FRAUMENI & MILLER (1967) identificaram maior incidência de TCSR em pacientes que apresentavam hemi-hipertrofia corporal e tumores cerebrais, e TANK & KAY (1980) relataram a associação de hemi-hipertrofia corporal a TCSR.

LI & FRAUMENI (1969) relataram em pacientes jovens, o aparecimento de câncer de mama, sarcoma de partes moles, tumores cerebrais e carcinoma do córtex da supra-renal com manifestações em quatro famílias. A possível transmissão gênica da doença seria autossômica dominante e foi denominada de Síndrome de Li-Fraumeni (SLF). SRIVASTAVA, ZOU, PIRLLO (1990) encontraram índice aumentado de mutações do **p53**, gene responsável pela manutenção da integridade do DNA, em famílias com SLF, sugerindo uma maior possibilidade de se herdar o gene mutante e posteriormente desenvolver TCSR. Estes mesmos resultados foram confirmados por GARBER *et al.* (1991) e BIRCH *et al.* (1994).

Dentre as entidades clínicas reconhecidamente associadas com o aparecimento de TCSR, encontram-se a neurofibromatose de Von Recklinghausen (HARTLEY *et al.*, 1987) e a síndrome de Beckwith-Wiedemann (WIEDEMANN, 1983).

A manifestação clínica do TCSR na infância é normalmente muito exuberante, com 90% dos tumores sendo endocrinologicamente ativos e sintomáticos, e apenas 10% assintomáticos (LACK *et al.*, 1992).

A partir do colesterol, o córtex da supra-renal é capaz de sintetizar glicocorticóide, mineralocorticóide e hormônios sexuais, tanto androgênicos quanto estrogênicos. As manifestações clínicas do TCSR estão relacionadas ao hormônio produzido em excesso, podendo ser sob a forma de síndrome de Cushing, hipertensão e hipocalcemia, virilização ou feminilização e, não raramente, ocorrem associações das manifestações clínicas (TELANDER *et al.*, 1985).

Virilização e síndrome de Cushing são as manifestações clínicas tumorais predominantes (RIBEIRO *et al.*, 1990; TEINTEURIER *et al.*, 1996; SANDRINI *et al.*, 1997) e a feminilização ocorre em menos de 5% dos pacientes (CHUDLER & KAY, 1989). Hiperaldosteronismo primário é raríssimo na infância, principalmente quando decorrente da presença de um tumor (OBERFIELD *et al.*, 1984), porém há relatos desta manifestação em crianças com TCSR (GANGULY, BERGSTEIN, GRIM, 1980).

Nos meninos, a virilização manifesta-se pelo aumento do pênis (macrogenitossomia) e alterações da bolsa escrotal sem o correspondente aumento dos testículos. Estes dados clínicos são fundamentais no diagnóstico diferencial da puberdade precoce masculina, onde o aumento bilateral dos testículos é compatível com distúrbio do sistema nervoso central ou tumor produtor de gonadotrofina coriônica, enquanto que o aumento testicular unilateral corresponde a tumor do

testículo (LEE, WINTER, GREEN, 1985).

A virilização, no sexo feminino, manifesta-se pelo aumento do clitóris, podendo ser confundida com hiperplasia congênita das supra-renais (WHITE, NEW, DUPONT, 1987).

Em ambos os sexos, nos casos de virilização, observa-se crescimento de pêlos pubianos e corpóreos, acne, engrossamento da voz, hipertrofia da massa muscular, aumento da velocidade de crescimento, da estatura e da maturação esquelética. Nos casos de síndrome de Cushing, as manifestações clínicas principais são a obesidade, principalmente na face, na parte posterior do pescoço e tronco, a fraqueza muscular, a acne, a seborréia, o aumento da pilificação corpórea, a presença de estrias, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e freqüentemente o retardo de crescimento estatural.

O achado de massa abdominal palpável, ao exame físico, ocorre em apenas 50% dos pacientes com TCSR, podendo ser, no entanto, a única manifestação encontrada nas crianças com quadro assintomático.

Os métodos diagnósticos complementares para a investigação do TCSR incluem ultrassom (US), tomografia axial computadorizada (TAC) e ressonância magnética (RM) (GLAZER, WOOSLEY, BORELLO, 1986; FISHMAN *et al.*, 1987; HAMPER *et al.*, 1987). É importante avaliar não só o abdome, como também o tórax para estadiar adequadamente o tumor, já que os locais mais comuns de metástases são os gânglios locais, o pulmão, o fígado e o sistema nervoso central (SABAGGA, 1997).

As dosagens urinárias dos esteróides supra-renais e seus metabólitos, tais como o cortisol livre, os 17-OH (17-hidroxicorticosteróides), os 17-KS (17 cetosteróides), além das dosagens séricas de cortisol (ritmo e supressão), ACTH (hormônio adrenocorticotrópico) e principalmente o SDHEA (sulfato de deidroepiandrosterona), entre outros, são utilizadas freqüentemente com o intuito de confirmar o diagnóstico e também de estabelecer o diagnóstico diferencial entre TCSR, tumores cerebrais e hiperplasias congênitas das supra-renais (RICHIE & GITTES, 1980; HONOUR *et al.*, 1984; NEBLETT, FREXES-STEED, SCOTT, 1987). Além disso, comportam-se como marcadores tumorais, principalmente o SDHEA, nos casos de virilização, podendo ser utilizado no seguimento dos pacientes para diagnóstico precoce de recorrência tumoral.

A maior dificuldade em relação ao TCSR de adultos e crianças está em firmar o prognóstico baseado nos dados histopatológicos. Estabelecer a diferenciação dos tumores entre benignos e malignos com base exclusiva nos achados histopatológicos é, atualmente, muito difícil, senão impossível.

Por isso, há na literatura uma série de classificações histopatológicas, associadas ou não aos quadros clínicos. Dentre elas destacam-se as de HOUGH *et al.* (1978), WEISS (1984), VAN SLOOTEN *et al.* (1985), CAGLE *et al.* (1986), WEISS *et al.*, (1989) e RIBEIRO *et al.* (1990).

HOUGH *et al.* (1978) classificaram os TCSR utilizando dentre 12 critérios, sete histológicos e cinco não histológicos. Como critérios histológicos, foram utilizados o padrão de crescimento difuso, a invasão vascular, a necrose tumoral, as

bandas fibrosas amplas, o número de mitoses maior que um por 10 HPF (*High Power Field*), o pleomorfismo celular e a invasão capsular. Como critérios não histológicos foram utilizados o peso do tumor maior que 100g, a dosagem de 17-KS urinários maior que 10mg/g de creatinina/24 horas, a resposta ao ACTH intravenoso, a perda de peso corporal e a presença clínica com síndrome de Cushing, virilização ou assintomático. Valores de pontuação foram utilizados para identificar as características malignas ou benignas do tumor. Os valores maiores que 2,91 foram considerados tumores malignos, os valores menores que 0,17, tumores benignos, e os valores entre 0,17 e 2,91, tumores indeterminados (FIGURA 1).

WEISS (1984) classificou os TCSR utilizando nove critérios histológicos, entre eles o alto grau nuclear, a atividade mitótica maior que cinco em 50 HPF, as figuras mitóticas, a presença de citoplasma eosinofílico em 75% ou mais das células tumorais, a arquitetura difusa em 33% ou mais da área tumoral, a necrose, a invasão de musculatura lisa venosa, a invasão sinusoidal e a invasão capsular. Os tumores apresentando mais de três destes critérios foram considerados malignos (FIGURA 2).

VAN SLOOTEN *et al.* (1985) classificaram os TCSR utilizando valores de pontuação para sete critérios histológicos: extensas áreas de hemorragia, fibrose e calcificações, perda da estrutura normal, atipia nuclear moderada ou intensa, hipercromasia nuclear moderada ou intensa, anormalidades do nucléolo, atividade mitótica maior que dois por 10 HPF e invasão capsular ou vascular. Valores com a soma maior que oito indicavam malignidade (FIGURA 3).

CAGLE *et al.* (1986), baseados na comparação entre tumores de adultos e de crianças, classificaram o TCSR de acordo com o peso. Tumores maiores que 500g são considerados malignos e os menores que 500g, benignos.

WEISS *et al.* (1989) também avaliaram a malignidade tumoral contando o número de mitoses em 50 campos HPF. Os tumores podiam ser de alto ou baixo grau de malignidade, se apresentassem, respectivamente, mais ou menos que 20 mitoses em 50 campos de maior aumento.

RIBEIRO *et al.* (1990) classificaram os TCSR pediátricos de acordo com peso e volume tumorais. Os tumores com peso maior que 100g ou volume tumoral maior que 200mL indicam malignidade.

A melhora nas técnicas de imunohistoquímica (IHQ) em anatomopatologia e os avanços da biologia molecular no estudo genético do câncer, avaliando o papel dos proto-oncogenes e de genes supressores tumorais, têm trazido novas perspectivas para a busca de marcadores prognósticos em oncologia (BISHOP, 1987).

O gene p53, que codifica uma proteína de 53 kD (393 aminoácidos) identificada por LANE & CRAWFORD (1979), foi posteriormente clonado e mapeado no cromossomo 17p13 (McBRIDE, MERRY, GIVOL, 1986). O gene tem o comprimento de 20 Kb, possui 11 éxons, sendo o primeiro éxon separado do segundo por um íntron de aproximadamente 10 Kb, e possui também cinco áreas de domínio. A área inicial, começando por um N terminal do domínio I e ligada por um íntron ao domínio II, provavelmente é a responsável pelo início da transcrição. O

domínio central, II, III, IV e o V (finalizado com um C terminal), vai do aminoácido 101 ao 290 e corresponde à área da transcrição, sendo o local onde ocorrem os maiores pontos de mutações (BARGONETTI *et al.*, 1993), principalmente entre os éxons de 5 a 8 (OHGAKI, KLEIHUES, HEITZ, 1993; REINCKE *et al.*, 1994; LIN, LEE, TSAI, 1994 e McNICOL *et al.*, 1997).

As mutações que ocorrem nos tumores são de dois tipos, a *missense*, aquela onde ocorre uma troca na transcrição entre uma base nitrogenada e outra, produzindo uma proteína alterada, e a mutação *nonsense*, aquela na qual ocorre a troca de um códon completo, gerando uma proteína totalmente truncada, muitas vezes não detectável na IHQ pelo seu grau de alteração.

O **gene p53** está presente em todos os seres vivos (SOUSSE, CARON DE FROMENTAL, MAY, 1990) e é conhecido como guardião do genoma. Atua como supressor, sendo ativado quando há dano ao DNA, promovendo reparo a esta molécula ou, caso não seja possível, induzindo a célula à apoptose (LANE, 1994). Na IHQ, a proteína do **gene p53** é identificada no núcleo celular, apenas quando ocorre mutação, uma vez que a forma selvagem tem vida média muito curta e a mutante apresenta vida média suficientemente longa, para ser detectada.

Existem cerca de 2500 mutações do **gene p53** publicadas. Mutações do p53 são encontradas em tumores de cólon, pulmões, mama, cérebro, fígado, bexiga, próstata, esôfago, linfomas e algumas leucemias (NIGRO *et al.*, 1989 e SOUSSE *et al.*, 1994).

Estudos moleculares identificaram, além da perda do alelo 17p, a perda dos alelos 11p e 13q que induzem a formação de **p53** mutantes. A perda destes alelos indica malignidade do TCSR (YANO *et al.*, 1989).

OHGAKI *et al.* (1993) relataram mutações do **p53** em TCSR e verificaram ainda a baixa incidência da positividade do **p53** à detecção na IHQ. Acreditam, por isso, que o **p53** deva aparecer apenas como um evento tardio da oncogene.

A avaliação do **p53** por IHQ e *Polimerase Chain Reaction* (PCR) em TCSR de adultos (LIN *et al.*, 1994; REINCKE *et al.*, 1994; McNICOL *et al.*, 1997; EDGREN *et al.*, 1997; VARGAS *et al.*, 1997) indica que este gene faz parte da oncogene da supra-renal. Os resultados encontrados são variados, tendendo para **p53** positivo, ou seja, presente nos casos malignos, com exceção de VARGAS *et al.* (1997) que obtiveram 88% de negatividade. Em TCSR de crianças, DICHTCHEKENIAN (1996) encontrou o predomínio de positividade para o **p53** em adenomas. Não há outros dados na literatura a respeito do **p53** em crianças.

O **Ki67** (MiB-1) é um antígeno protéico nuclear presente em todo o ciclo da proliferação celular, G₁, S, G₂ e mitose ausente na fase de quiescência celular, fase G₀. É codificado por um gene localizado no cromossomo 10q25 (SCHONK *et al.*, 1989), com peso molecular entre 345 e 395 kD (GERDES *et al.*, 1991) e, por meio da sua identificação em IHQ, é possível determinar a fração de crescimento celular de uma população de células humanas (GERDES *et al.*, 1984).

O alto poder de correlação com os fatores de crescimento celular e o grau de malignidade tumoral pode fazer com que o **Ki67** (MiB-1) sirva como

marcador de prognóstico tumoral, como nos linfomas não-Hodgkin (GERDES *et al.*, 1987; HALL *et al.*, 1988).

O **Ki67** já foi encontrado nos tumores de mama (JENSEN *et al.*, 1997), cólon e reto (KIKUCHI, DINJENS, BOSMAN, 1997), linfomas (GROGAN *et al.*, 1988), seminomas (DUEE, DIECKMANN, LOY, 1988), sarcoma de partes moles, carcinoma de endométrio e ovário, e melanomas (SEIGNEURIN & GUILLAUD, 1991).

TCSR de adultos e a expressão da proteína **Ki67** foram investigados por GOLDBLUM, SHANNON, KALDJIAN (1993), VARGAS *et al.* (1997) e EDGREN *et al.* (1997) que verificaram correlação entre a positividade do **Ki67** e a malignidade tumoral. Tal relação não foi encontrada em TCSR de crianças (DICHTCHEKENIAN, 1996). Até o presente momento, não há mais dados disponíveis na literatura a respeito da expressão do **Ki67** e TCSR na infância, nem da correlação com o prognóstico tumoral.

O **c-erb-B2** é um proto-oncogene, localizado no cromossomo 17q21, que codifica uma proteína de 185 kD com sequência semelhante ao gene que codifica o fator receptor do crescimento epidérmico (EGFR- *epidermal growth factor receptor*) (COUSSENS *et al.*, 1985; KING, KRAUS, AARONSON, 1985; SEMBA *et al.*, 1985). Sua ação é a de codificar receptores na membrana celular e promover o crescimento da célula (SCHECHTER *et al.*, 1984). A IHQ detecta a proteína do gene **c-erb-B2** na membrana celular.

A presença do **c-erb-B2** em tumores de mama (SOOMRO *et al.*, 1991; ANDERSEN *et al.*, 1995) e estômago (MIZUTANI *et al.*, 1993) tem sido descrita como marcador de prognóstico tumoral. Até o momento, não há relatos na literatura sobre a expressão do **c-erb-B2** em TCSR.

Descoberto há mais de 10 anos, o proto-oncogene **bcl-2** foi o primeiro relacionado com malignidade tumoral. Está localizado no cromossomo translocado t(14;18) (TSUJIMOTO *et al.*, 1985), atuando como inibidor da apoptose celular e programando a morte das células em modelos transgênicos (REED, 1994; VAUX, WEISSMAN, KIM, 1992). Codifica uma proteína de 239 aminoácidos de 25 kD, com um largo íntron de 225 Kb separando dois éxons (KORSMEYER, 1992) e tem localização intracelular, especificamente na membrana celular das mitocôndrias. Encontra-se distribuído em vários tecidos normais adultos, incluindo tecidos linfóides, hematopoiéticos, epiteliais e neuronais. Entretanto a sua expressão é limitada às áreas topográficas e a tipos celulares com pequenas quantidades, consideradas normais para a vida celular (HOCKENBERY *et al.*, 1991; MERRY *et al.*, 1994; HOCKENBERY, 1995). Na IHQ, a proteína expressa pelo **bcl-2** encontra-se no citoplasma celular.

Uma série de tumores tem relação prognóstica com a presença do **bcl-2**, entre eles, os hematopoiéticos (ZUTTER *et al.*, 1991), principalmente os linfomas foliculares, que expressam até 85% de positividade para **bcl-2** (NGAN *et al.*, 1988; PEZZELLA *et al.*, 1990), o câncer de próstata (COLOMBEL *et al.*, 1993), o câncer de pulmão (FONTANINI *et al.*, 1995), os tumores do trato gastrointestinal

(BRONNER *et al.*, 1995) e os tumores de ovário (HEROD *et al.*, 1996). Até o momento, não há descrição na literatura a respeito da expressão do **bcl-2** em TCSR.

Após estas considerações relativas ao TCSR, verifica-se que permanecem as dificuldades para distinguir os adenomas dos carcinomas (FAVARA, GALLIANI, WAKELY-JR, 1986). Os avanços nas técnicas de citometria de fluxo, análise de DNA (TAYLOR, ROEDERER, MURPHY, 1987; CAMUTO *et al.*, 1991; MEDEIROS & WEISS, 1992), citopatologia (SASANO, SHIZAWA, NAGURA, 1995), imunohistoquímica e PCR, até o momento, não conseguiram elucidar definitivamente os parâmetros da malignidade e do prognóstico tumoral.

Objetivos

Casulística E Métodos

3 - Casuística e Métodos

A casuística constou da análise retrospectiva de 33 pacientes com diagnóstico anatomopatológico de TCSR acompanhados no Ambulatório de Endocrinologia Pediátrica do Departamento de Pediatria e na Disciplina de Cirurgia Pediátrica do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) e do Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e também no Centro de Investigações Hematológicas “Dr. Domingos Boldrini” em Campinas, no período de janeiro de 1980 a dezembro de 1996.

A coleta de dados foi realizada pelo autor, com o preenchimento de uma ficha padronizada, utilizando os prontuários médicos dos arquivos do HC e do Centro Infantil Boldrini. Do ponto de vista ético, foram seguidas as normas da DECLARACIÓN DE HELSINKI (1986), e portanto cada paciente foi identificado por um número e não por seu nome, respeitando a sua individualidade.

3.1. COLETA DE DADOS DE PRONTUÁRIOS MÉDICOS

O estudo retrospectivo dos prontuários médicos dos arquivos do HC e do Centro Infantil Boldrini compreendeu a coleta de dados referentes à identificação, história clínica e antecedentes, exame físico, exames laboratoriais e por imagem, procedimentos cirúrgicos e evolução.

3.1.1. IDENTIFICAÇÃO

Idade ao diagnóstico (em meses), sexo (se masculino ou feminino), raça (caucasóide, negróide, mongolóide ou outras), naturalidade (cidade e estado de nascimento), procedência (cidade e estado de moradia da primeira consulta) e local de moradia (zona urbana ou rural), foram os dados utilizados na identificação.

3.1.2. HISTÓRIA CLÍNICA E ANTECEDENTES

Como história clínica e antecedentes foram coletados os dados a respeito das manifestações clínicas, do tempo de aparecimento da doença (em meses), dos antecedentes familiares de outras neoplasias e do contato prévio com agrotóxicos.

3.1.3. EXAME FÍSICO

O exame físico constou da verificação do peso, da estatura, da pressão arterial e dos dados de exame físico geral e específico, principalmente relacionados à pele e anexos, e às características sexuais secundárias.

Com os dados de história e achados ao exame físico, os casos foram classificados em síndromes clínicas como virilizante ou feminilizante, cushingóide, hipertensiva, mista, ou assintomática.

3.1.4. EXAMES LABORATORIAIS E POR IMAGEM

Os exames laboratoriais endocrinológicos realizados com maior frequência, nesse grupo de pacientes, foram as dosagens urinárias de 17-OH e 17-KS, e a dosagem sérica de SDHEA. Os valores obtidos foram expressos em termos de normal ou alterado (aumentado), devido à variedade de técnicas bioquímicas utilizadas pelos diferentes laboratórios, onde tais exames foram realizados.

A avaliação imagenológica constou de radiografia simples de tórax em posição anteroposterior e perfil, US e TAC de abdome.

3.1.5. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS E EVOLUÇÃO

Os dados de procedimentos cirúrgicos e evolução foram analisados quanto à avaliação medicamentosa pré, intra e pós-operatória, em especial o uso de corticosteróide e o tratamento da HAS, o tipo de cirurgia realizada, o tipo de incisão, as complicações intra e pós-operatórias e a evolução clínica e cirúrgica com tempo de sobrevida (em meses).

3.2. ESTÁDIO TUMORAL

O método utilizado foi o de MacFARLANE (1958) modificado por SULLIVAN *et al.* (1978), cujos parâmetros verificados foram o tamanho do tumor, a invasão de linfonodos, a presença de metástases ao diagnóstico e a conseqüente definição de TNM (Tamanho, Nódulo Linfático e Metástase).

A TABELA 1 representa o estágio tumoral de SULLIVAN *et al.* (1978).

TABELA 1

ESTÁDIO TUMORAL

Estádio	Tamanho	Invasão de linfonodos	Metástase	TNM
I	5 cm	ausente	ausente	T1N0M0
II	5 cm	ausente	ausente	T2N0M0
III	qualquer tamanho	presente ou invasão local	ausente	T3N0M0 T1N1M0 T2N1M0
IV	qualquer tamanho	presente ou invasão local	presente	T4N2 ou M1

SULLIVAN *et al.*, 1978

T = tamanho, N = nódulo linfático, M = metástase

3.3. AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA

O material anatomopatológico, fixado em formalina 10% e incluído em blocos de parafina, foi obtido, após a identificação dos pacientes e da época da cirurgia, dos arquivos do Departamento de Anatomia Patológica da FCM-UNICAMP (19 blocos) e do Instituto de Patologia de Campinas (14 blocos). O ANEXO 1 apresenta os registros dos pacientes e as instituições a que estão ligados.

Todo o material enviado a esses serviços foi identificado, fixado em solução de formalina a 10%, e posteriormente submetido aos procedimentos histológicos habituais para inclusão em parafina. Dos blocos foram realizados cortes da espessura de 5 μ m e submetidos à coloração rotineira de Hematoxilina & Eosina (H&E).

As lâminas coradas com H&E foram reexaminadas para obtenção dos dados prognósticos, segundo todos os critérios anatomopatológicos da literatura atualizada, sendo o número de mitoses contadas em 10 e 50 campos de HPF. Foram levantados ainda, retrospectivamente os dados de peso e volume tumoral (mL).

3.4. CLASSIFICAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS

Foram verificadas as cinco classificações histopatológicas e o grau de malignidade tumoral.

3.4.1. CLASSIFICAÇÃO DE HOUGH *et al.* (1978)

HOUGH *et al.* (1978) realizaram análises matemáticas com TCSR aplicando o teorema de Bayer para verificar a probabilidade de um teste refletir a presença de metástase. Foram analisados os parâmetros histológicos e não histológicos do tumor e colocados em uma tabela com valores de pontuação (*score*). Os valores maiores que 2,91 são indicativos de tumores malignos, os menores que 0,17 de tumores benignos e os valores entre 0,17 e 2,91 de tumores indeterminados. A FIGURA 1 representa a classificação tumoral com os critérios de HOUGH *et al.* (1978).

HISTOLÓGICOS		SCORE
1. Padrão de crescimento difuso		0,92
2. Invasão vascular		0,92
3. Necrose tumoral		0,69
4. Bandas fibrosas amplas		1,00
5. Mitoses maior que 1 por 10 HPF		0,60
6. Pleomorfismo		0,39
7. Invasão capsular		0,37
NÃO-HISTOLÓGICOS		SCORE
1. Peso do tumor maior que 100g		0,60
2. 17-KS urinário > 10mg/g de creatinina / 24 horas		0,50
3. Resposta ao ACTH intravenoso		0,42
4. Clínica com sínd. de Cushing, virilização ou assintomático		0,42
5. Perda de peso corporal		2,00

FIGURA 1 - Critérios de HOUGH *et al.* (1978) de malignidade tumoral

3.4.2. CLASSIFICAÇÃO DE WEISS (1984)

A presença de mais de três critérios é considerada indicativa de tumor maligno. A FIGURA 2 representa a classificação tumoral com os critérios de WEISS (1984) de malignidade.

1. Alto grau nuclear
2. Atividade mitótica > 5 em 50 HPF
3. Figuras mitóticas
4. Presença de citoplasma eosinofílico em 75% ou mais das células tumorais
5. Arquitetura difusa em 33% ou mais da área tumoral
6. Necrose
7. Invasão de musculatura lisa venosa
8. Invasão sinusoidal
9. Invasão capsular

FIGURA 2 - Critérios de WEISS (1984) de malignidade tumoral

3.4.3. CLASSIFICAÇÃO DE VAN SLOOTEN *et al.* (1985)

VAN SLOOTEN *et al.* (1985) realizaram estudo comparativo entre dois grupos de pacientes adultos. O grupo I que não desenvolveu metástase e o grupo II que desenvolveu metástase. A utilização de critérios exclusivamente histológicos, criando um índice histológico baseado na frequência de ter ou não desenvolvido metástase, levou ao desenvolvimento de *score*, onde os valores maiores que oito são considerados tumores malignos. A FIGURA 3 representa a classificação tumoral com os critérios histológicos de VAN SLOOTEN *et al.* (1985).

HISTOLÓGICOS	SCORE
1. Extensas áreas de hemorragia, fibrose e calcificações	5,7
2. Perda da estrutura normal	1,6
3. Atipia nuclear moderada ou intensa	2,1
4. Hiperchromasia nuclear moderada ou intensa	2,6
5. Anormalidades do nucléolo	4,1
6. Atividade mitótica maior que 2 por 10 HPF	9,0
7. Invasão capsular ou vascular	3,3

FIGURA 3 - Critérios de VAN SLOOTEN *et al.* (1985) de malignidade tumoral

3.4.4. CLASSIFICAÇÃO DE CAGLE *et al.* (1986)

CAGLE *et al.* (1986) avaliaram a malignidade tumoral apenas pelo peso do tumor. Os tumores maiores que 500g são considerados malignos, e os menores que 500g, benignos.

3.4.5. CLASSIFICAÇÃO DE WEISS *et al.* (1989)

WEISS *et al.* (1989) avaliaram o grau de malignidade tumoral, contando o número de mitoses. Quando o número de mitoses é maior que 20 em 50 campos HPF, o tumor é considerado de alto grau de malignidade.

3.4.6. CLASSIFICAÇÃO DE RIBEIRO *et al.* (1990)

RIBEIRO *et al.* (1990) avaliaram a malignidade tumoral apenas pelo peso e volume do tumor. Os tumores com peso maior que 100g ou volume tumoral maior que 200 mL são considerados malignos.

3.5. AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA

A avaliação imunohistoquímica foi realizada pelo autor no Laboratório de Patologia Experimental (LAPE) do Departamento de Anatomia Patológica do Centro de Atenção Integral à Saúde da Mulher (CAISM) - UNICAMP.

Os blocos de parafina foram recuperados dos arquivos e os que apresentavam material mais representativo foram submetidos a estudo imunohistoquímico, por meio da técnica da estreptavidina-biotina-peroxidase (HSU *et al.*, 1981, modificada).

Resumidamente, os cortes parafinados de 5 µm de espessura foram colocados em lâminas de vidro previamente silanizadas. Após a desparafinação em xilol e a hidratação em gradiente decrescente de álcool, as lâminas foram lavadas em água destilada e submetidas à inibição da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 3% em tampão PBS pH 7,6. A recuperação antigênica do **p53** e **c-erb-B2** foi feita pela imersão das lâminas em tampão citrato 0,01M, pH 6,0, e ebulição em microondas caseiro, potência máxima, por três vezes, sete minutos cada; a recuperação antigênica do **bcl-2** e do **Ki67** foi feita em água destilada no

autoclave, após atingir 120°C por cinco minutos e deixado esfriar por uma hora. Em seguida, realizou-se a incubação dos cortes com anticorpos primários (vide abaixo) por toda a noite, em geladeira a 4°C, em câmara úmida. Na manhã seguinte, os cortes foram cuidadosamente lavados em tampão PBS pH 7,6 e incubados com anticorpo anti-imunoglobulinas de camundongo, coelho e cabra biotinilado (Multilink, DAKOPATS-USA, código E435) diluição 1:80, por 30 minutos, à temperatura ambiente. Após lavagem dos cortes, estes foram incubados com o complexo estreptavidina-biotina-peroxidase (DAKOPATS-USA, código K377). A visualização dos complexos foi feita pela coloração da peroxidase com diaminobenzidina (3,3" tetra-hidrocloreto de diaminobenzidina, SIGMA, código D5637), 40 mg em 100 mL de PBS pH 7,6, com 40 µL de peróxido de hidrogênio a 30%. Nesta solução corante, os cortes foram deixados por três a cinco minutos à temperatura ambiente. A contracoloração foi feita com a hematoxilina de Meyer e os preparados montados permanentemente com Entellan (MERCK, código 7961).

Os anticorpos primários utilizados foram:

- proteína **p53** (clone D07, DAKOPATS-USA, código M701, diluição 1:100);
- proteína **bcl-2** (clone 124, DAKOPATS-USA, código M0887, diluição 1:40);
- proteína **c-erb-B-2** (DAKOPATS-USA, código AO485, diluição 1:300);
- Ki-67 (clone MIB-1, IMMUNOTECH-USA, código 0505, diluição 1:200).

Os preparados imunohistoquímicos foram analisados em microscópio óptico comum e as células reativas foram semi-quantificadas em relação às demais áreas da neoplasia, com o seguinte critério:

- = nenhuma célula reativa;
- + = menos de 10% das células com reatividade;
- ++ = de 10 a 50% das células com reatividade;
- +++ = acima de 50% das células com reatividade.

Análises Estatísticas

4 - Análises Estatísticas

A análise estatística foi realizada com a colaboração da Comissão de Pesquisa (Serviço de Estatística) da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

O teste exato de Fisher foi utilizado para verificar associações entre as variáveis, quando a frequência esperada foi de pelo menos 25% das caselas das tabelas que eram menores que 5.

O teste Q de Cochran foi aplicado na comparação dos resultados das classificações histológicas e dos marcadores imunohistoquímicos, no intuito de verificar a diferença entre as proporções de respostas (1 = maligno, 0 = outra resposta; 1 = positivo, 0 = negativo).

O teste de Wilcoxon para amostras correlacionadas foi utilizado na comparação do número total de células mitóticas contadas nas classificações de WEISS *et al.* (1989) e VAN SLOOTEN *et al.* (1985).

Os pacientes com recidiva da doença, irresssecabilidade tumoral ou óbito foram submetidos à análise de sobrevida livre de doença, EFS (*Event Free Survival*), pelo teste de Log-Rank.

As curvas de sobrevida foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier (KAPLAN & MEIER, 1958) e comparadas suas distribuições, quando possível, pelo teste de Log-Rank.

Resultados

5 – Resultados

5.1. COLETA DE DADOS DOS PRONTUÁRIOS MÉDICOS

O ANEXO 2 apresenta os resultados de idade, sexo, raça, tempo de manifestação clínica, naturalidade e procedência dos pacientes portadores de TCSR na infância.

A idade ao diagnóstico variou entre dois e 96 meses (média de 31 e mediana de 27 meses), não havendo diferença estatisticamente significativa na evolução do TCSR para as crianças abaixo de 24 meses ($p=0,066$ Log-Rank).

Vinte e um pacientes (64%) eram do sexo feminino (F) e 12 (36%) do sexo masculino (M) com uma relação de 2F : 1M. A raça predominante em 28 pacientes foi a caucasóide (85%), seguida de 5 negróides (15%), não havendo nenhum mongolóide. A proporção quanto à raça foi de seis caucasóides para um negróide (6:1).

Todos os 33 pacientes eram brasileiros, sendo que 26 nasceram no estado de São Paulo e 25 destes, a menos de 150 Km da cidade de Campinas (SP); um nasceu na região de Presidente Prudente (SP), distando aproximadamente 500 Km; os demais seis pacientes eram naturais do sul do estado de Minas Gerais. Os

dados de procedência individualizados encontram-se no ANEXO 2 e não diferem significativamente da naturalidade.

Os antecedentes habitacionais revelaram que 28 pacientes eram provenientes da zona urbana (85%) e cinco eram da zona rural (15%).

O contato prévio com agrotóxico esteve ausente em 24 famílias (73%) e presente em nove (27%). Sete pacientes entraram em contato direto com o agrotóxico antes do desenvolvimento da neoplasia, em quatro famílias (pacientes 1, 3, 5 e 7) todos os membros foram expostos ao agrotóxico, em três famílias (pacientes 19, 30 e 32) dois membros foram expostos, sendo o paciente e a mãe, e em duas famílias (pacientes 15 e 31) apenas a mãe ou o pai foi exposto, antes do nascimento do filho.

A presença de neoplasia em membros da família esteve ausente em 23 famílias (70%) e presente em 10 (30%). Não foi identificada nenhuma com síndrome de Li-Fraumeni, mesmo existindo cinco famílias que apresentaram mais de um membro com neoplasia. Os dados individuais dos pacientes expostos ao agrotóxico e antecedentes familiares de neoplasia encontram-se no ANEXO 3.

O tempo de duração do quadro clínico até o diagnóstico variou de um a 24 meses (média de quatro e mediana de seis meses). Não foi encontrada diferença estatística significativa ($p=0,1002$ Log-Rank) na sobrevida para o tempo de manifestação clínica menor que sete meses.

A TABELA 2 representa os quadros clínicos sindrômicos em relação ao sexo, e a TABELA 3, as frequências das manifestações clínicas das 33 crianças portadoras de TCSR.

Os quadros clínicos sindrômicos, em ordem decrescente de incidência, foram: virilização isolada (23 casos – 69%), virilização e síndrome de Cushing associadas (7 casos – 21%) e síndrome de Cushing isolada (1 caso – 3%). Dois pacientes (7%) eram assintomáticos.

TABELA 2

REPRESENTA OS QUADROS CLÍNICOS SINDRÔMICOS ENTRE OS SEXOS DAS 33 CRIANÇAS PORTADORAS DE TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Síndrome clínica	Masculino (%)	Feminino (%)
Virilização isolada	8 (66%)	15 (72%)
Virilização e síndrome de Cushing	1 (8,5%)	6 (28%)
Assintomático	2 (17%)	0
Síndrome de Cushing isolada	1 (8,5%)	0
Feminilização	0	0
Total	12 (100%)	21 (100%)

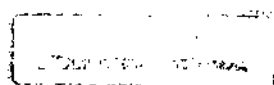
TABELA 3

**REPRESENTA AS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DAS 33 CRIANÇAS PORTADORAS
DE TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL**

Apresentação clínica	Nº de pacientes	Porcentagem (%)
Clitoromegalia	21 / 21*	100
Pubarca	30 / 33	91
Macrogenitossomia	9 / 12*	75
Hirsutismo/ Hipertricose	20 / 33	60
Acne	20 / 33	60
Alteração do comportamento	18 / 33	54
Hipertensão arterial sistêmica	15 / 33	45
Alteração da voz	14 / 33	42
Massa abdominal palpável	10 / 33	30
Fácies em lua cheia	8 / 33	24
Pletora facial	8 / 33	24
Alterações da pele	7 / 33	21
Obesidade	5 / 33	15
Perda de peso	1 / 33	3
Retardo do crescimento	1 / 33	3

* Representa apenas as pacientes do sexo feminino e # representa apenas os pacientes do sexo masculino

As manifestações clínicas em ordem decrescente de aparecimento de cada paciente estão resumidas no ANEXO 4, e as FIGURAS 4, 5.



Os valores urinários de 17-OH e 17-KS estavam aumentados em 31 pacientes (100% dos que foram colhidos), dois pacientes (18 e 20) não realizaram colheita pré-operatória. O SDHEA sérico estava aumentado em 29 pacientes (93% dos que foram colhidos), dois pacientes estavam normais (pacientes 18 e 26, colhidos 1 semana de pós-operatório), em dois pacientes a colheita não foi realizada (pacientes 8 e 20). Os resultados dos exames endócrino-laboratoriais encontram-se no ANEXO 5.

O US de abdome foi realizado para o diagnóstico em 30 pacientes (91%) e diagnosticou tumor em 29, com uma sensibilidade de 97%. A TAC de abdome foi realizada em 27 pacientes e diagnosticou tumor em todos (sensibilidade de 100%). Ao diagnóstico, foi realizado RX de tórax nas incidências anteroposterior e perfil em 31 pacientes. Em dois pacientes (18 e 20) revelou metástases pulmonares, e nos demais foi normal. Outros dois pacientes realizaram RX de tórax duas semanas após o diagnóstico e não apresentavam anormalidades. Os resultados de todos os exames de imagem diagnóstica e suas medidas estão no ANEXO 6.

Todos os pacientes submetidos à cirurgia foram previamente tratados com hidrocortisona no pré, intra e pós-operatório, via intravenosa, iniciando uma hora antes do ato cirúrgico e mantido no pós-operatório como profilaxia da insuficiência supra-renal aguda, com exceção dos dois pacientes (18 e 26) assintomáticos.

HAS ocorreu em 15 dos 33 pacientes (45%) da manifestação clínica pré-operatória. Em apenas três, os valores de pressão arterial (PA) normalizaram com

dieta hipossódica antes do ato cirúrgico; enquanto que em 12 pacientes houve a necessidade do uso de medicamentos anti-hipertensivos isolados ou associados, entre eles a alfa-metil-dopa, a hidralazina, o prazosin e o captopril. Em três destes pacientes a PA não apresentou queda, havendo a necessidade da utilização do cetoconazol, com normalização dos níveis pressóricos.

Todos os pacientes foram submetidos à exploração cirúrgica com o intuito da retirada do tumor. A incisão preferencial para o procedimento cirúrgico foi a transversa (23 pacientes), seguida da incisão de Chevron (9 pacientes) e em apenas um paciente foi a mediana (paciente 18, operado de urgência).

Em dois pacientes (7 e 18) foi realizada apenas a biópsia devido à impossibilidade de ressecção tumoral. A exérese total do tumor foi tentada em 31 pacientes (93%), porém em quatro (10, 18, 21 e 28) ocorreu rotura tumoral intra-operatória, sendo esses casos considerados como ressecção incompleta. Além dessas complicações intra-operatórias, também ocorreu sangramento (26 e 30), sendo que um deles (26) apresentou lesão de veia cava inferior.

As complicações pós-operatórias ocorreram em sete pacientes (21%), sendo três infecções de ferida cirúrgica (1, 21 e 32), um caso de infecção do trato urinário (25), um caso de choque hipovolêmico (18) e um de obstrução intestinal no quinto dia pós-operatório (26). Um paciente (15) faleceu no terceiro dia de pós-operatório, devido a complicações associadas à uma cardiopatia prévia e choque séptico.

Em 17 pacientes a glândula supra-renal acometida foi a do lado direito (51%) e em 16, a do lado esquerdo (49%). A proporção entre os lados acometidos é igual (1:1); não houve acometimento tumoral bilateral ao diagnóstico.

Os resultados da evolução cirúrgica das 33 crianças com tumor do córtex da supra-renal encontram-se no ANEXO 7.

5.2. ESTÁDIO TUMORAL

Dezoito pacientes (55%) encontravam-se no estágio I, nove (27%) no estágio II, três (9%) no estágio III e três (9%) no estágio IV. Os três pacientes no estágio IV correspondem aos pacientes 7 com metástase hepática, e pacientes 18 e 20 com metástases pulmonares.

A TABELA 4 representa o estágio tumoral de acordo com os critérios de SULLIVAN *et al.* (1978) das 33 crianças portadoras de TCSR.

TABELA 4

**REPRESENTA O ESTÁDIO DE ACORDO COM OS CRITÉRIOS DE SULLIVAN *et al.* (1978)
IDENTIFICANDO OS PACIENTES COM METÁSTASES AO DIAGNÓSTICO ENTRE AS 33
CRIANÇAS PORTADORAS DE TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL**

Estádio	Nº de pacientes (%)	Metástase ao diagnóstico
I	18 (55%)	
II	9 (27%)	
III	3 (9%)	
IV	3 (9%)	Paciente 7 - fígado Paciente 18 - pulmão Paciente 20 - pulmão

5.3. AVALIAÇÃO ANATOMOPATOLÓGICA

O peso do tumor variou de 7g a 3700g (média de 264g e mediana de 70g), sendo que apenas nove pacientes apresentaram peso tumoral maior que 100g.

O volume tumoral variou de 6 mL a 2300 mL (média de 229 mL e mediana de 72 mL), sendo que apenas sete pacientes apresentaram volume tumoral maior que 200 mL. Verificou-se que houve diferença estatisticamente significativa na sobrevida quando o tumor apresentou um volume maior que 200 mL (GRÁFICO 1).

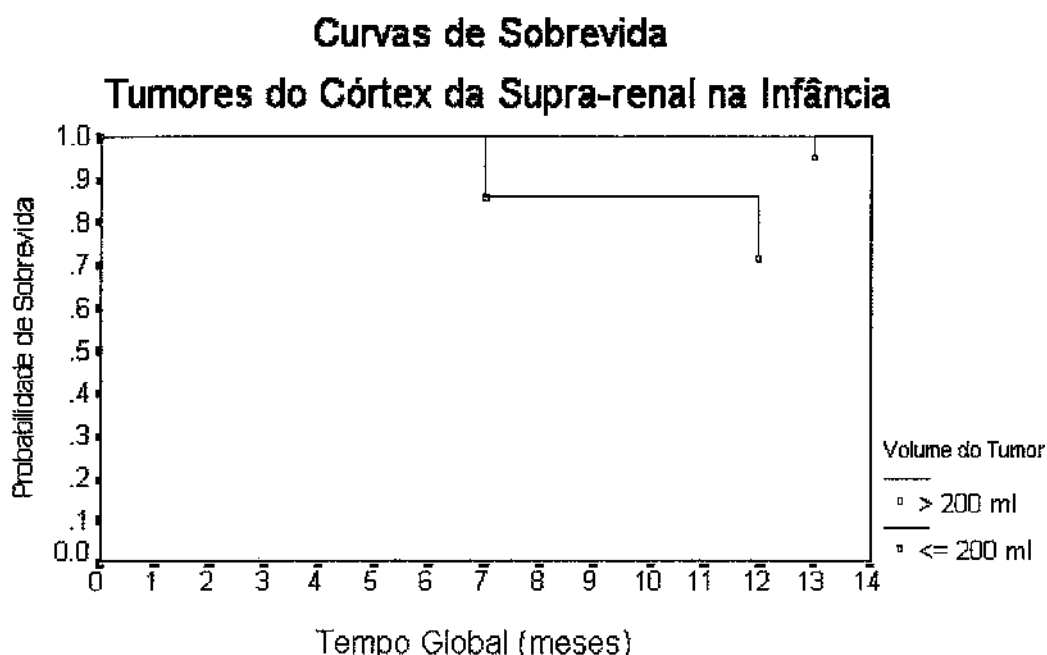


GRÁFICO 1 – Curvas de Sobrevida para o volume do tumor em mL em 33 crianças com tumor do córtex da supra-renal

O teste de Log-Rank foi utilizado para verificar a igualdade das distribuições significativas ($p= 0,039$).

5.4. CLASSIFICAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS

O número total de mitoses contadas em 10 campos, proposto por HOUGH *et al.* (1978) e VAN SLOOTEN *et al.* (1985), e, em 50 campos de HPF, segundo WEISS *et al.* (1989), revelaram quatro tumores malignos para 10 campos e cinco tumores malignos para 50 campos.

Observou-se a ausência de diferença estatística em relação ao número total de mitoses contadas em 10 e 50 campos HPF, quando não há mitose em 10 campos ($p=0,6173$). Porém, quando se encontra pelo menos uma mitose em 10 campos HPF, há diferença estatisticamente significativa com 50 campos HPF ($p<0,0001$), ou seja a contagem do número de mitoses totais deve ser realizada em 50 campos caso seja encontrado pelo menos uma mitose nos primeiros 10 campos.

O grau de malignidade tumoral indicado pela presença de mais de 20 mitoses por campo HPF (WEISS *et al.*, 1989), foi considerado alto em cinco pacientes (15%), e baixo nos demais 28 (85%).

Os resultados individuais do peso, do volume, do estágio, da contagem do número de mitoses em 10 e 50 campos e do grau de malignidade tumoral encontram-se no ANEXO 8.

A utilização dos critérios de HOUGH *et al.* (1978) resultou em 21 tumores classificados como sendo adenocarcinomas (64%). Em 12 pacientes (36%) não foi possível a classificação definitiva dos tumores, que ficaram classificados como indeterminados.

Segundo os critérios de WEISS (1984), 31 tumores foram classificados como adenocarcinomas (94%) e dois como adenomas (6%).

De acordo com os critérios de VAN SLOOTEN *et al.* (1985), 33 tumores foram definidos como adenocarcinomas (100%).

O critério de CAGLE *et al.* (1986) diagnosticou 29 tumores como adenomas (88%) e apenas quatro, como adenocarcinomas (12%).

Com a utilização dos critérios de RIBEIRO *et al.* (1990), 18 tumores foram classificados como adenomas (55%) e 15 como adenocarcinomas (45%).

Nenhuma das classificações pôde prever o prognóstico tumoral e as classificações de WEISS (1984) e de VAN SLOOTEN *et al.* (1985) são semelhantes quando comparadas com as propostas por HOUGH *et al.* (1979), de CAGLE *et al.* (1986) e de RIBEIRO *et al.* (1990) ($p < 0,0001$).

Os resultados das classificações utilizadas encontram-se no ANEXO 9, e as FIGURAS 6, 7, 8, 9, 10 e 11 representam cortes histológicos de tumores do córtex da supra-renal com características de malignidade.



FIGURA 4 – Representação fotográfica da genitália virilizada de uma criança do sexo feminino



FIGURA 5 – Representação fotográfica da genitália virilizada de uma criança do sexo masculino

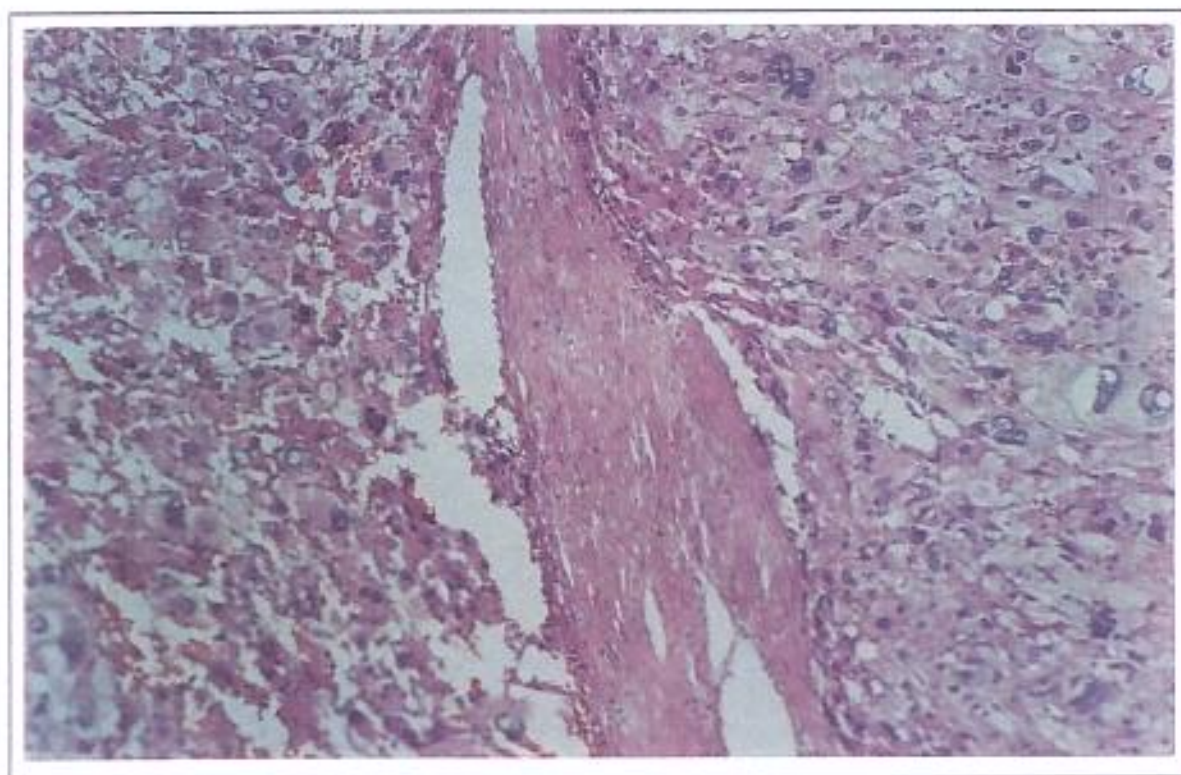
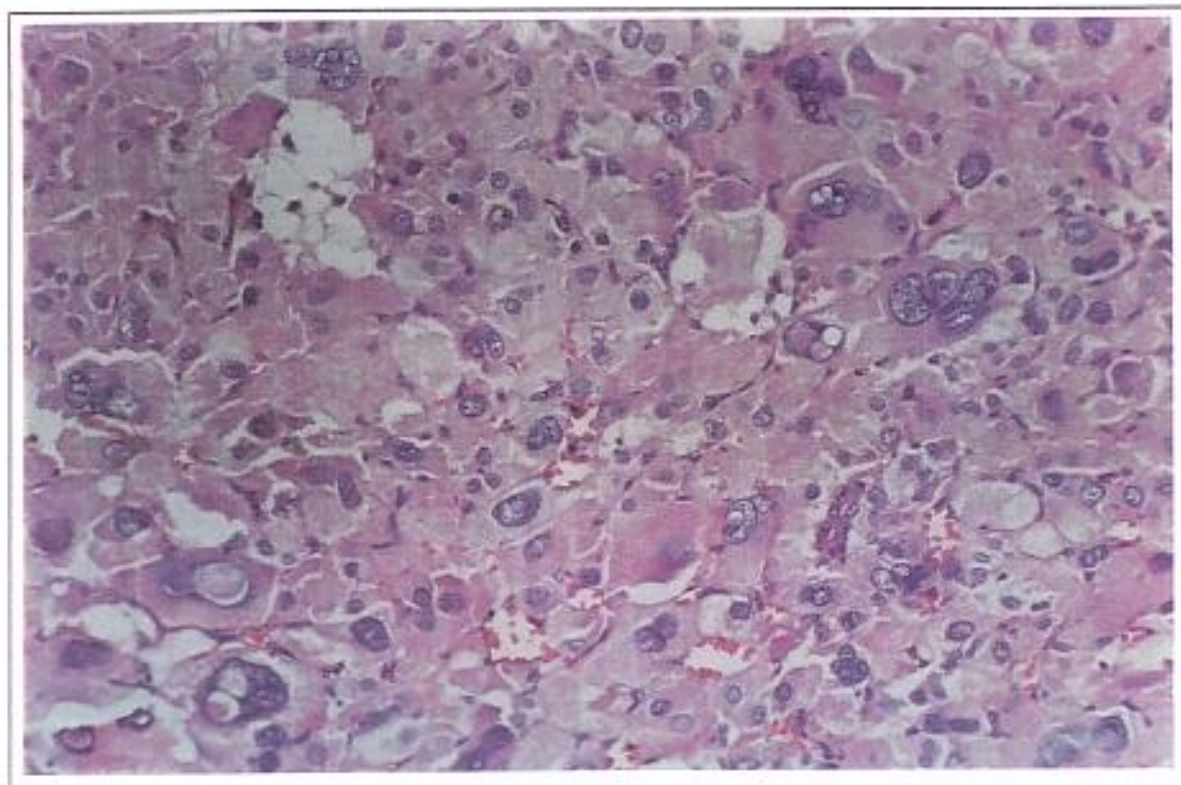


FIGURA 6 e 7 – Representação fotográfica de corte histológico de tumor do córtex da supra-renal com pleomorfismo celular e banda fibrosa (H & E X 40)

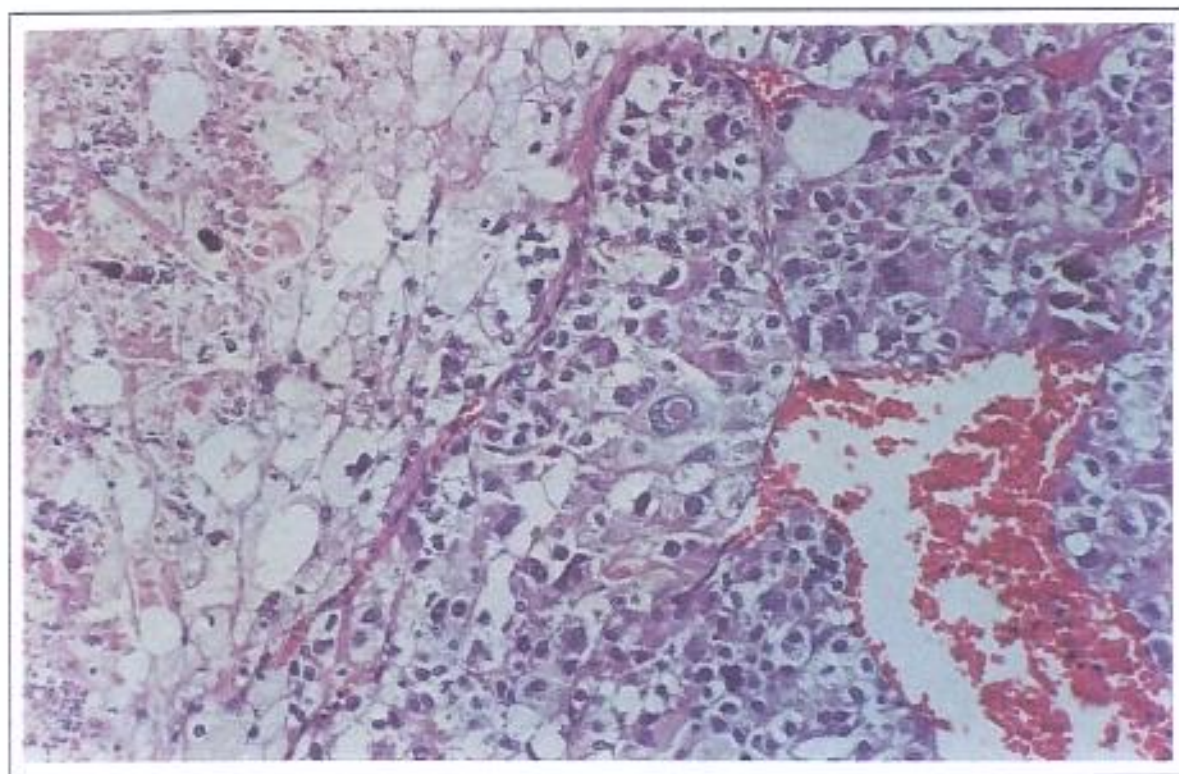
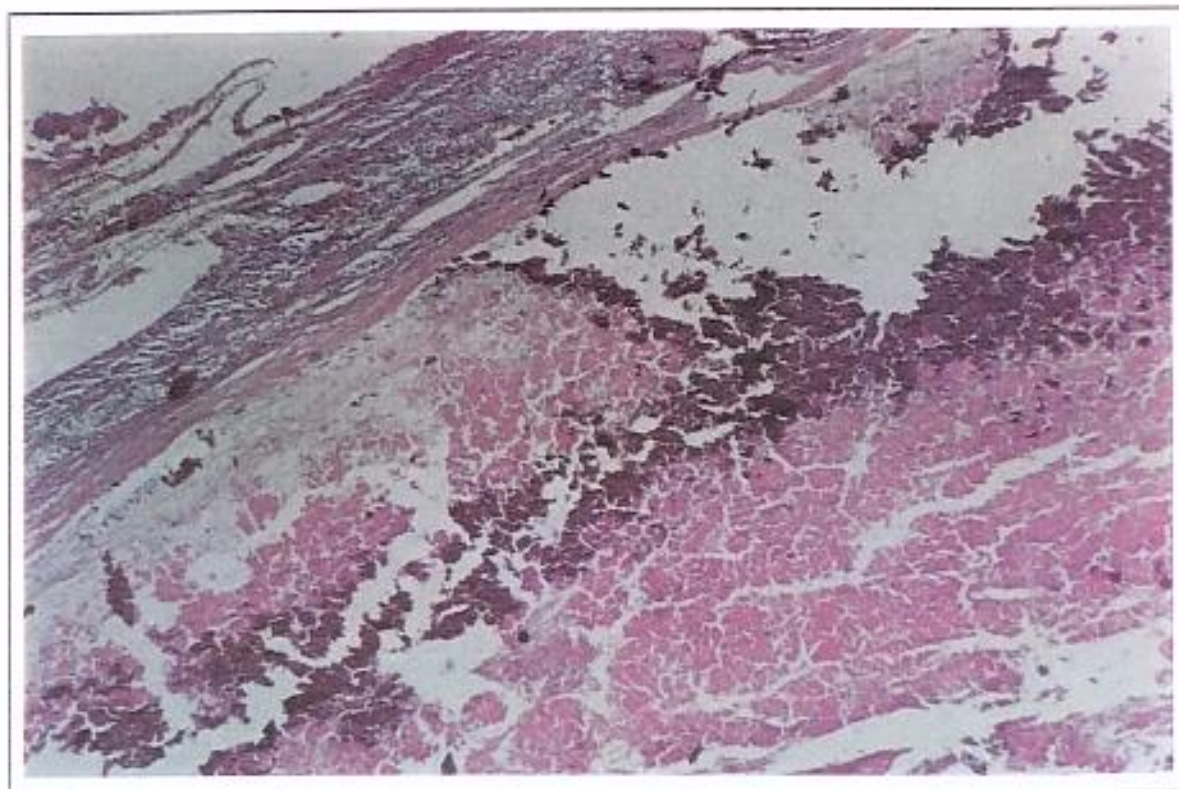


FIGURA 8 e 9 – Representação fotográfica de corte histológico de tumor do córtex da supra-renal com calcificação e necrose (H & E X 40)

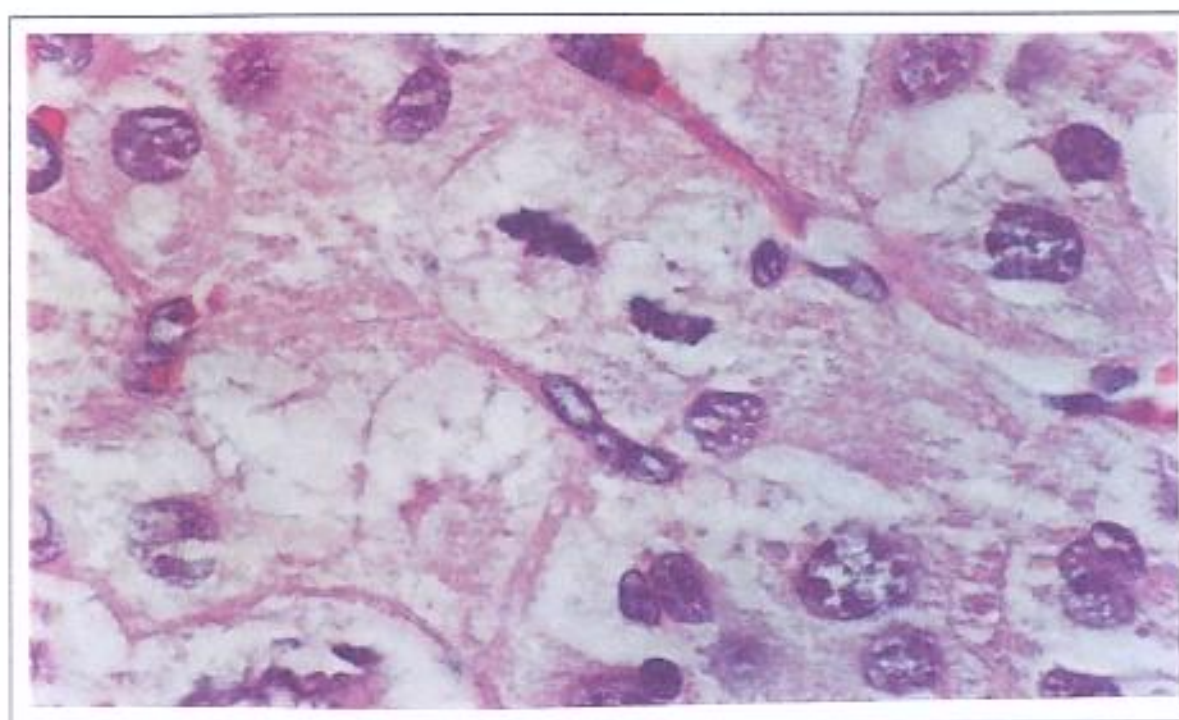
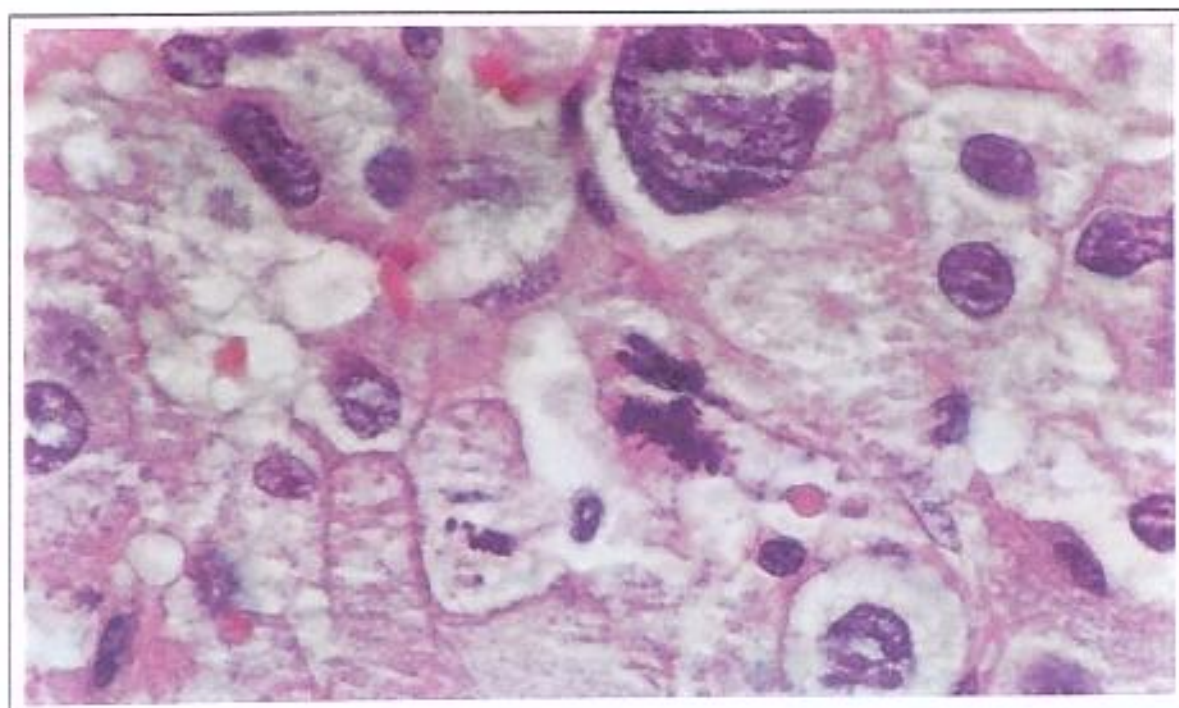


FIGURA 10 e 11 – Representação fotográfica de corte histológico de tumor do córtex da supra-renal com mitoses (H & E X 100)

5.5. AVALIAÇÃO IMUNOHISTOQUÍMICA

Todos os 33 pacientes apresentaram resultados negativos à avaliação imunohistoquímica para os antígenos **p53** e **c-erb-B2**.

O **Ki67** (MiB-1) encontrou-se positivo ++ (de 10 a 50% células com reatividade) no paciente 28. Nos demais 32 pacientes, o resultado foi negativo.

O **bcl-2** encontrou-se positivo + em três pacientes (1, 27 e 29), ++ em quatro pacientes (23, 26, 31 e 33) e +++ em dois pacientes (21 e 25). Nos demais 24 pacientes, o resultado foi negativo.

A análise estatística não mostrou correlação da presença do **bcl-2** com as classificações de HOUGH *et al.* (1979) ($p=1,00$), WEISS (1984) ($p=0,068$), CAGLE *et al.* (1986) ($p=0,0555$) e RIBEIRO *et al.* (1990) ($p=0,07$).

Os resultados da avaliação imunohistoquímica são apresentados no ANEXO 10, e as FIGURAS 12, 13, 14 e 15 representam os aspectos histológicos dos TCSR em crianças com **p53**, **Ki67** (MiB-1), **c-erb-B2** e **bcl-2** positivos e negativos.

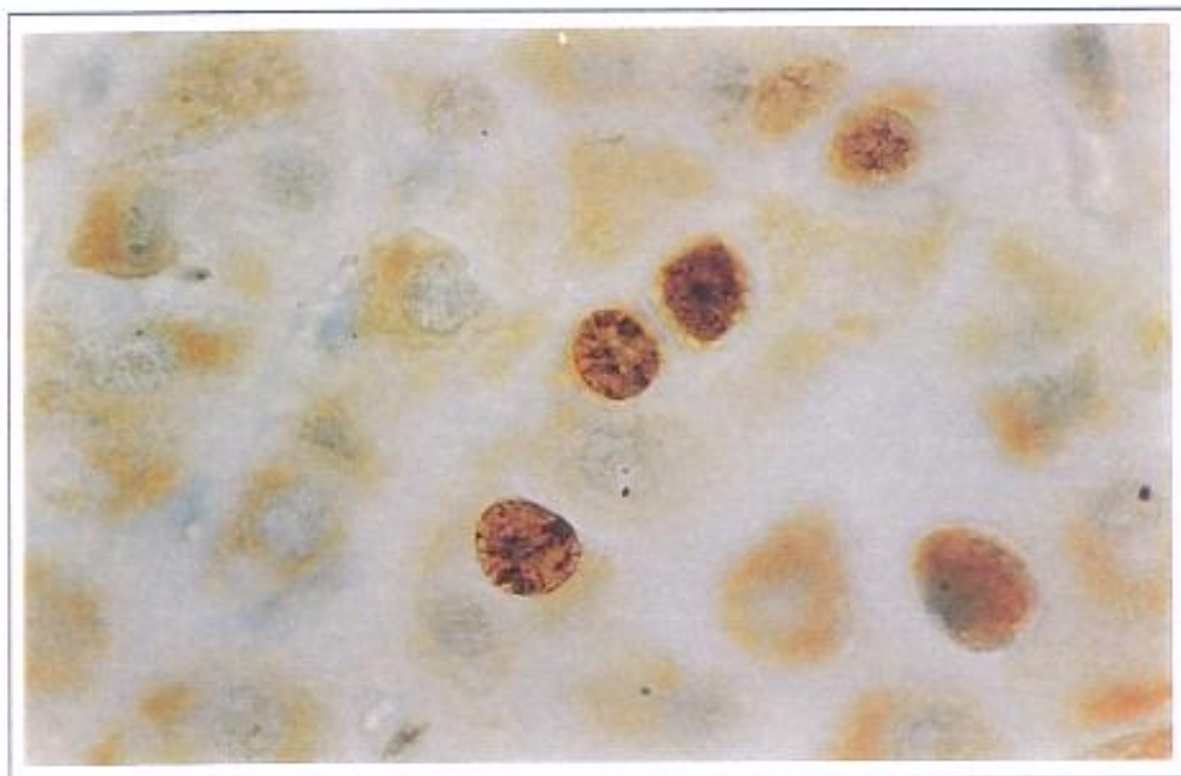
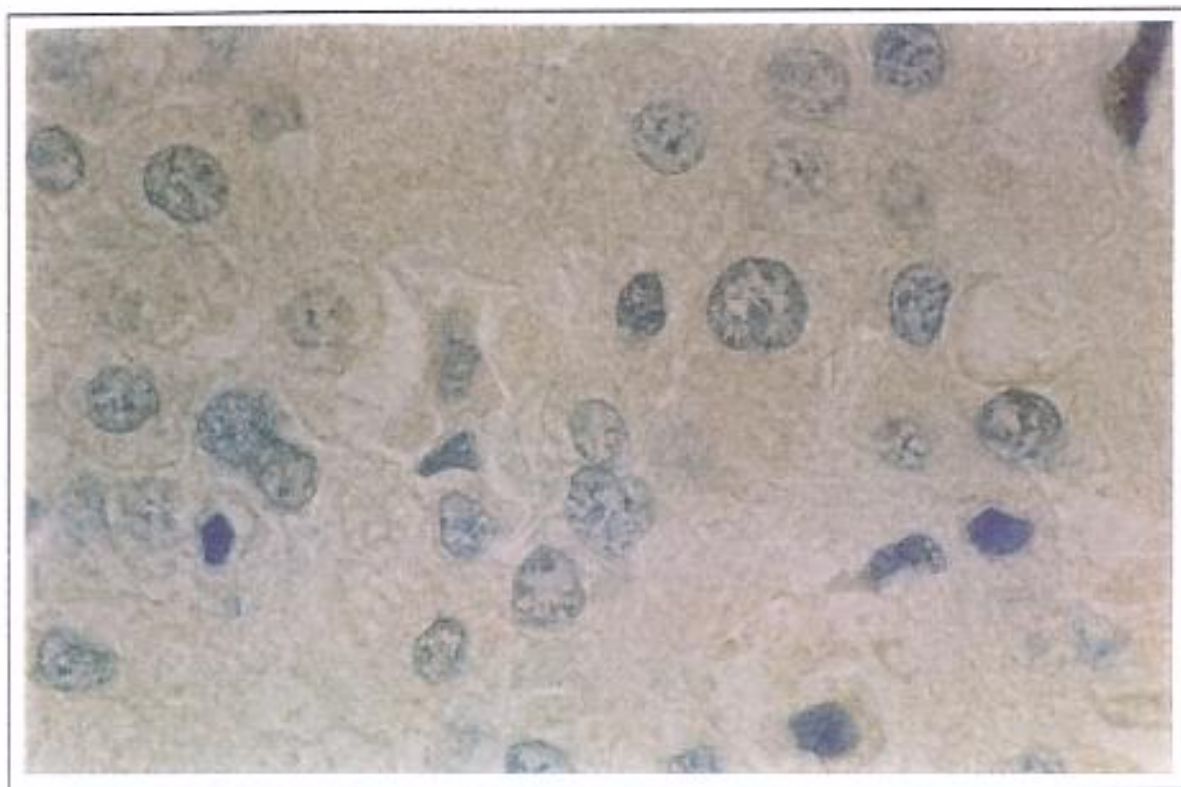


FIGURA 12 e 13 – Representação fotográfica de corte histológico de tumor do córtex na supra-renal com p53 negativo e ki67 positivo + corado pela IHQ (X 100)

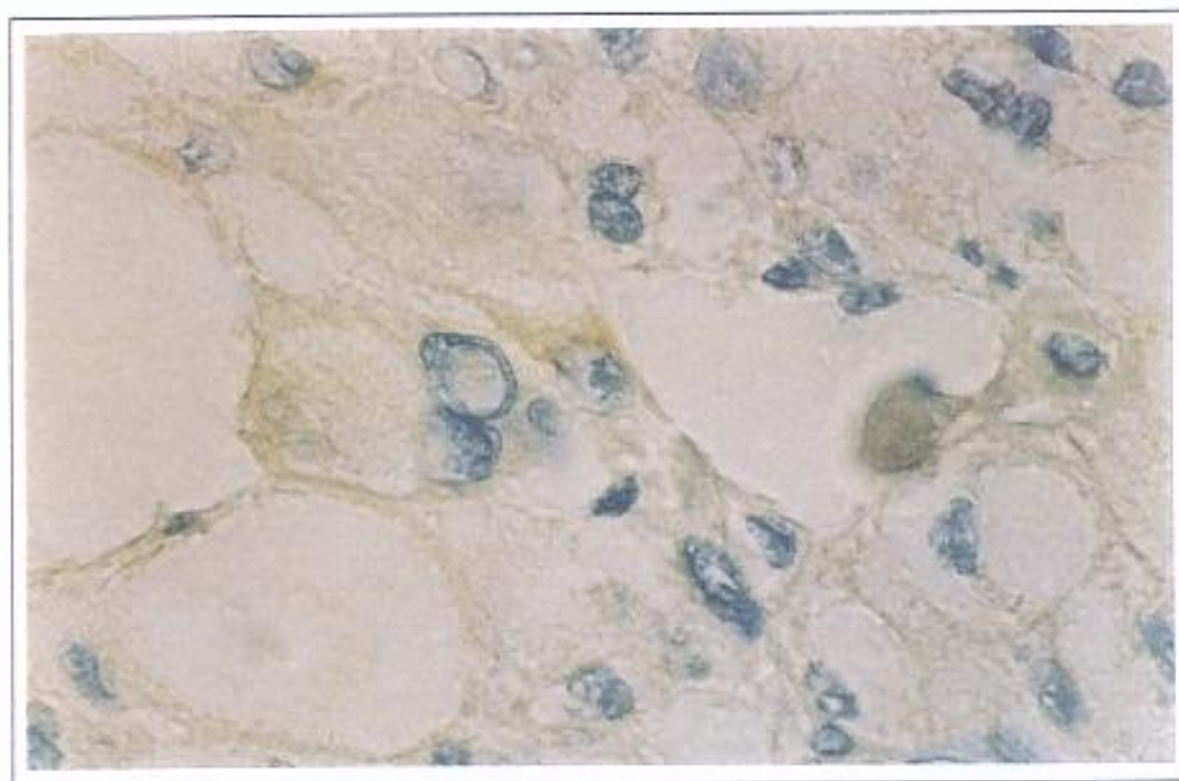
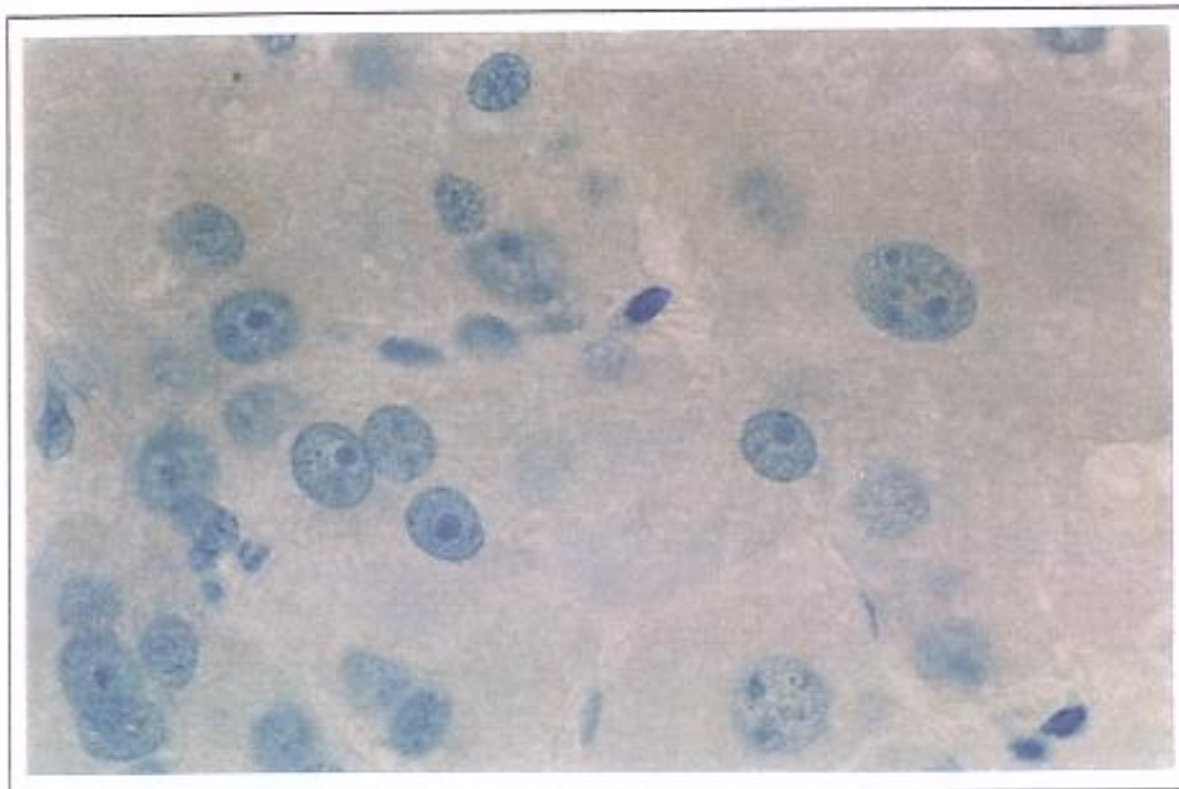


FIGURA 14 e 15 – Representação fotográfica de corte histológico de tumor do córtex na supra-renal com **c-erb-B2** negativo e **bcl-2** positivo + corado pela IHQ (X100)

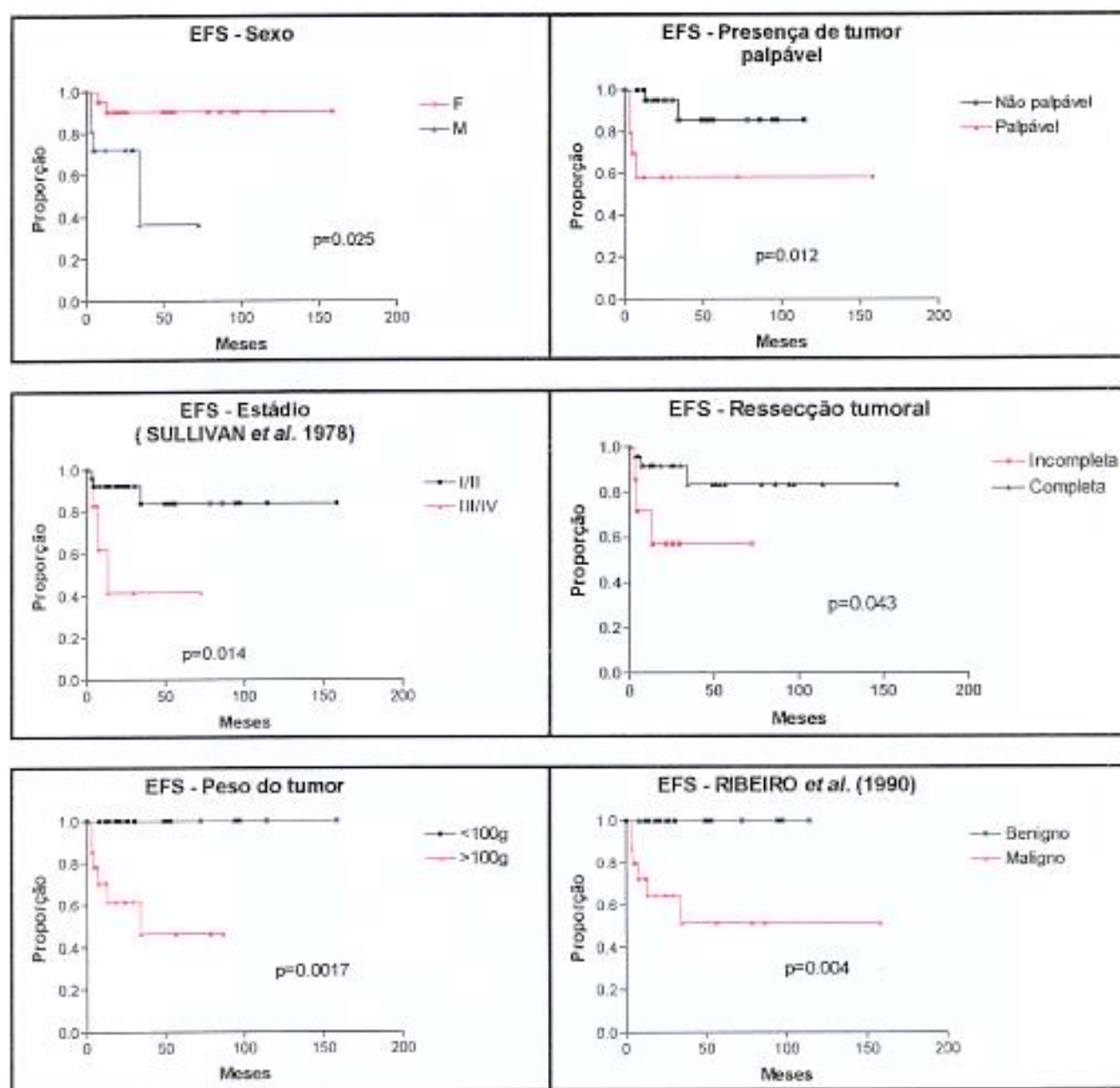


FIGURA 16 – Representa o EFS (*Event Free Survival*) para os fatores de bom prognóstico nas 32 crianças com tumor do córtex da supra-renal

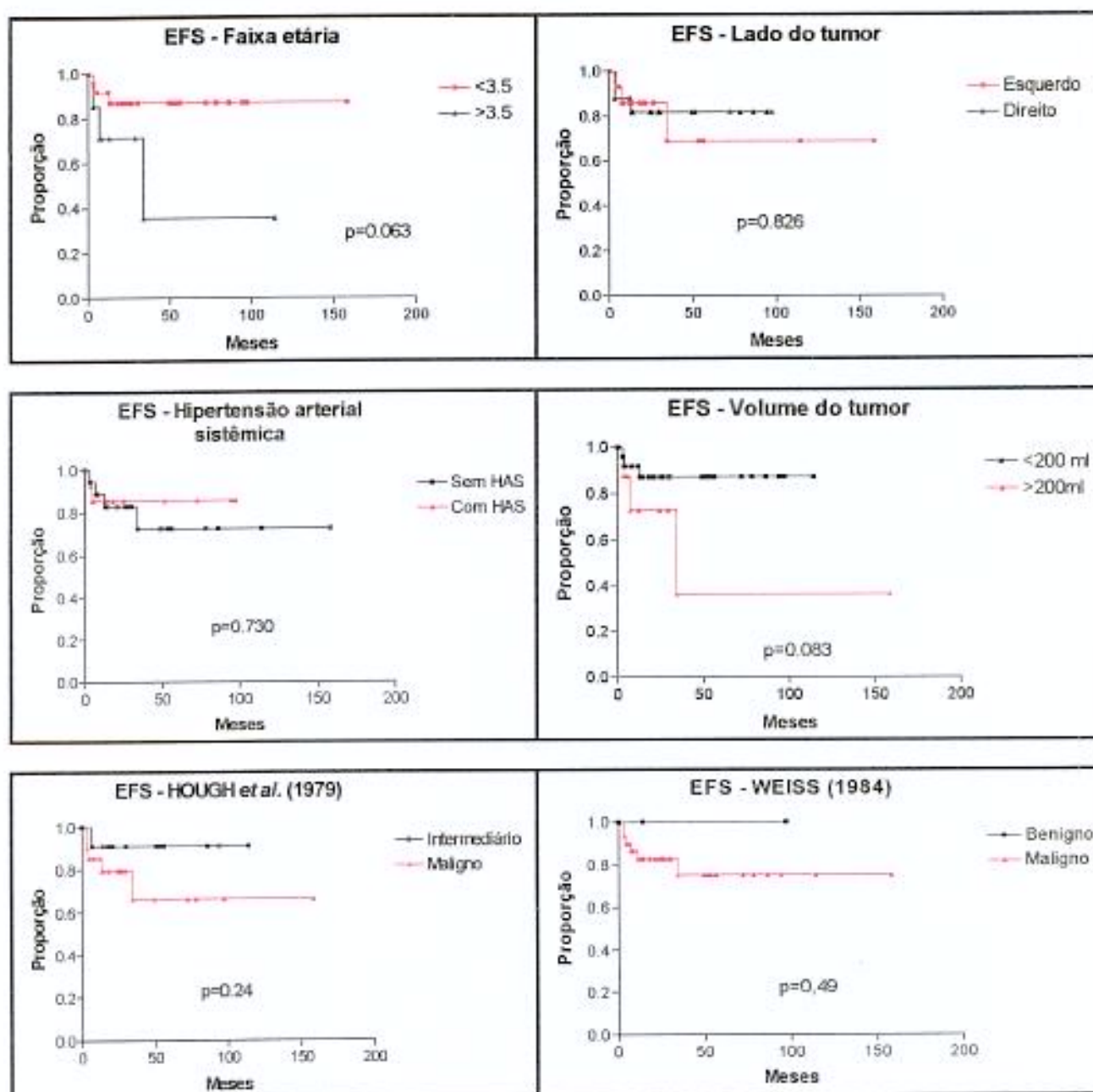


FIGURA 17A - Representa o EFS (*Event Free Survival*) para os fatores clínicos que não apresentaram correlação com o prognóstico nas 32 crianças com tumor do córtex da supra-renal

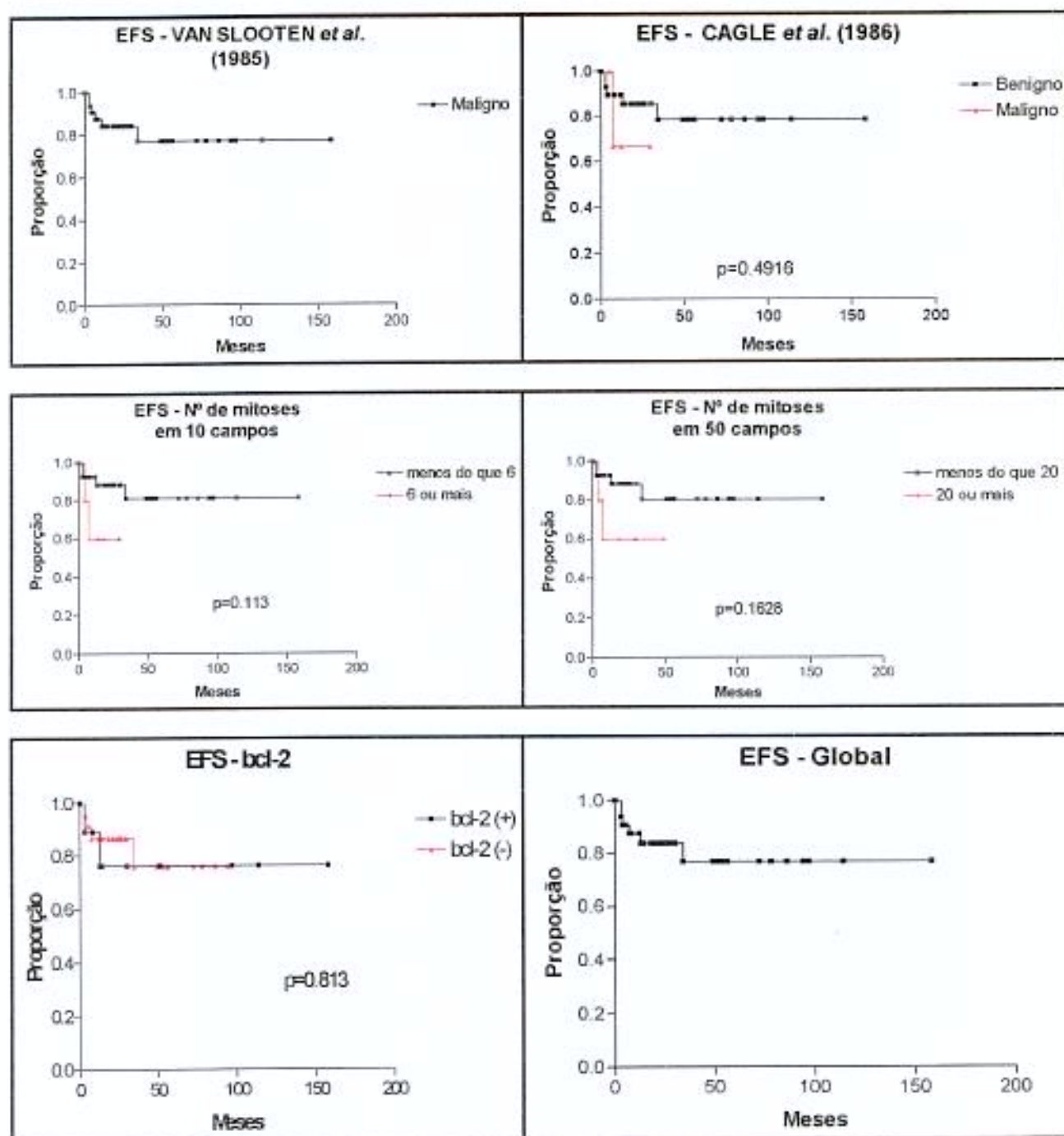


FIGURA 17B - Representa o EFS (*Event Free Survival*) para os fatores clínicos que não apresentaram correlação com o prognóstico, o imunomarcador **bcl-2** e a curva de sobrevida global das 32 crianças com tumor do córtex da supra-renal

5.6. EVOLUÇÃO E SOBREVIVÊNCIA

Três pacientes (10%) apresentavam metástases ao diagnóstico. O paciente 7 apresentava metástase hepática cujo tratamento inicial foi quimioterapia com cisplatina associada ao etoposídeo, posteriormente complementado com trissegmentectomia hepática direita. Os pacientes 18 e 20 apresentavam metástases pulmonares, sendo tratados com adrenalectomia, seguida de quimioterapia com o-p'DDD.

Cinco pacientes evoluíram com recidivas tumorais. Dois pacientes (10 e 26) apresentaram recidiva regional, com acometimento de gânglios locais. Ambos foram previamente tratados com o-p'DDD, seguido de cirurgia (tumorectomia) com sucesso, outros dois pacientes (3 e 8) apresentaram metástases pulmonares, e o paciente 20, metástase cerebral. No paciente 3 foi realizada quimioterapia prévia com o-p'DDD, seguida de exérese das metástases pulmonares (lobectomia inferior esquerda) com sucesso. Nos pacientes 8 e 20 foi apenas realizada quimioterapia com a mesma droga, não sendo submetidos à cirurgia e evoluindo, por progressão da doença, para o óbito.

A TABELA 5 apresenta resumidamente a situação evolutiva das crianças com tumor do córtex da supra-renal com metástase.

TABELA 5

**REPRESENTA AS CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL
COM METÁSTASE AO DIAGNÓSTICO, METÁSTASE TARDIA E O TIPO
DE TRATAMENTO REALIZADO**

Paciente	Metástase ao diagnóstico	Metástase tardia	Tratamento	Tipo de cirurgia	Evolução
3.	A	Pulmão	Cirurgia	Tumorectomia	V
7.	Fígado	A	Cisplatina+Etoposide	Hepatectomia	V
8.	A	Pulmão	o-p'DDD	A	O/Progressão
10.	A	Local	o-p'DDD	Tumorectomia	V
15.	A	A	A	A	O/Infecção
18.	Pulmão	A	o-p'DDD	A	V
20.	Pulmão	Cérebro	o-p'DDD	A	O/Progressão
21.	A	A	A	A	O/Causa indet.
26.	A	Local	Cirurgia	Tumorectomia	V

Mx = metástase, A = ausente, V = vivo, O/ = óbito/causa, QT = quimioterapia, Causa indet. = causa indeterminada

Enquanto mantiveram acompanhamento, 29 pacientes (88%) permaneceram vivos e livres de doença. O tempo de acompanhamento dos pacientes variou de cinco a 158 meses (média de 43 e mediana de 27 meses). Vinte e cinco apresentaram acompanhamento superior a 12 meses.

Quatro pacientes evoluíram para óbito, sendo dois (8 e 20) pela progressão da doença. O paciente 15 era portador de hipertrofia do septo ventricular direito, desenvolveu choque séptico por *Pseudomonas aeruginosa* e morreu no terceiro dia pós-operatório. O paciente 21, após um ano de acompanhamento apresentou morte súbita em sua residência, não tendo sido identificada a causa.

O ANEXO 11 apresenta o resumo da evolução e sobrevida das 33 crianças com tumor do córtex da supra-renal.

O GRÁFICO 2 representa a curva de sobrevida global das 33 crianças com tumor do córtex da supra-renal.

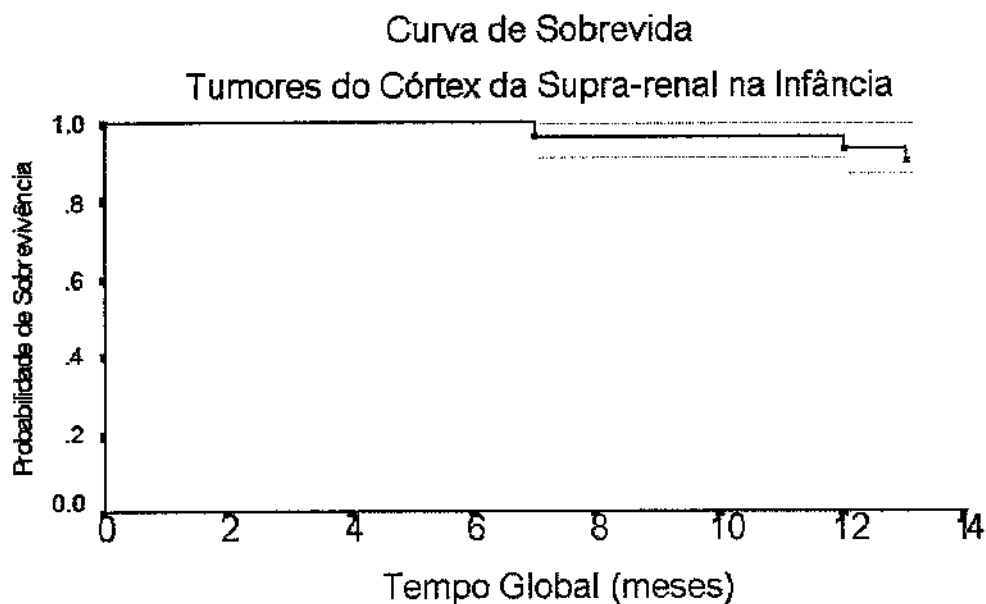


GRÁFICO 2 - Curva de Sobrevida global de 33 crianças com tumor do córtex da supra-renal (intervalo de confiança de 95%)

5.7. ANÁLISE DOS FATORES PROGNÓSTICOS

Dependendo da evolução da doença após o tratamento inicial, 26 pacientes foram classificados como de bom prognóstico e seis pacientes apresentaram recidiva regional ou desenvolvimento de metástase tardia, sendo portanto classificados como de mau prognóstico. O paciente 15 foi excluído da casuística por ter evoluído para óbito no pós-operatório, restando o total de 32

pacientes. Um paciente (21) foi a óbito por causa indeterminada 11 meses após a cirurgia e foi incluído entre os de mau prognóstico (TABELA 6).

TABELA 6

**DADOS DE SEIS CRIANÇAS QUE APRESENTARAM MAU PROGNÓSTICO
PELA EVOLUÇÃO DA RECIDIVA TUMORAL OU METÁSTASE TARDIA COM
TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL**

Paciente	Met. tardia	Trat. da Met.	Tempo de aparecimento da Met. após diagnóstico	Tempo de QT	Complica- ção intra- operatória	Tempo de sobrevida após diagnóstico	Status	Causa
3.	Pulmão	Cirurgia	34 meses				Vivo	
8.	Pulmão	QT	3 meses	6 meses		7 meses	Óbito	Prog. doença
10.	Gânglio	Cirurgia	4 meses		RT		Vivo	
20.	Cérebro	QT	3 meses	7 meses		7 meses	Óbito	Prog. Doença
21.				11 meses	RT	11 meses	Óbito	Morte súbita
26.	Gânglio	Cirurgia	3 meses		L. Cava		Vivo	

QT = quimioterapia, Met.= metástase, RT = Rotura Tumoral, L. Cava = Lesão de Cava

As FIGURAS 16, 17A e 17B mostram os parâmetros que apresentaram associação com bom prognóstico entre eles o sexo feminino (Log-Rank test $p=0,025$), a ausência de tumor palpável ($p=0,012$), os estádios I e II de SULLIVAN *et al.* (1978) ($p=0,014$), a ressecção completa do tumor ($p=0,043$), o peso tumoral inferior a 100g ($p=0,0017$) e a classificação como benigno pelos critérios de RIBEIRO *et al.* (1990) ($p=0,004$).

Crianças com idade inferior a 42 meses apresentaram menor incidência de progressão da doença, embora a diferença não tenha atingido significância estatística ($p=0,064$).

Os demais parâmetros estudados, como lateralidade tumoral, presença de HAS ao diagnóstico, volume tumoral, classificação do tumor de acordo com os critérios de HOUGH *et al.* (1979), WEISS (1984), VAN SLOOTEN *et al.* (1985), CAGLE *et al.* (1986) e o número de mitoses em 10 ou 50 HPF, não apresentaram correlação com o prognóstico.

Em relação aos marcadores tumorais imunohistoquímicos, a positividade dos mesmos na presente casuística foi muito baixa para permitir análises estatísticas. O único que apresentou maior positividade, o **bcl-2**, não apresentou correlação com o prognóstico da doença.

Dos cinco pacientes com recidiva comprovada da doença, dois foram a óbito e três sobreviveram por um período entre 45 e 92 meses.

Discussão

6 – Discussão

Os tumores do córtex da supra-renal são muito raros na espécie humana. A incidência na faixa etária adulta é de 0,2% do total dos tumores (HENLEY *et al.*, 1983), e na faixa etária pediátrica corresponde a 0,1% a 0,3% do total dos tumores da infância (YOUNG & MILLER; 1975 e PRATT *et al.*, 1988), ocorrendo na população em aproximadamente dois pacientes para cada um milhão de habitantes (McWHIRTER , STILLER, LENNOX., 1989). No entanto, em qualquer processo patológico, especialmente as neoplasias raras, é fundamental o conhecimento dos fatores ligados ao prognóstico da doença.

Entre os TCSR na infância, pouco se conhece a respeito da evolução da doença e dos fatores prognósticos, além das dificuldades na definição de malignidade pelos critérios anatomopatológicos.

A idade ao diagnóstico na presente casuística variou entre dois e 96 meses (média de 31 e mediana de 27 meses). Todos os pacientes desta casuística tinham idade inferior a oito anos (96 meses) ao diagnóstico.

HUMPHREY, PYSHER, HOLCOMBE (1983) consideraram a idade da manifestação diagnóstica do TCSR como fator prognóstico. As crianças com idade

inferior a sete anos têm 54% de sobrevida (75% delas abaixo de dois anos) enquanto que as crianças entre nove e 16 anos , apenas 17%.

SABBAGA *et al.* (1993), em 55 pacientes pediátricos portadores do TCSR, identificaram a idade abaixo de 24 meses como fator prognóstico. Para as crianças abaixo de 24 meses a taxa de sobrevida foi de 83%, contra 46%, para aquelas com idade acima de 24 meses.

Os resultados do presente trabalho não estão de acordo com os encontrados por estes autores. Ao se analisar a variável idade ao diagnóstico na influência da sobrevida para a manifestação clínica menor que 42 e 24 meses, não foi encontrada diferença estatística significativa ($p=0,66$ e $p=0,064$ Log-Rank, respectivamente).

Em relação à idade, os resultados estão apenas de acordo com os dados epidemiológicos encontrados por WOOTEN & KING (1993), com distribuição bimodal do TCSR (primeira e quinta década de vida). Como propõem HUMPHREY *et al.* (1983), foi possível verificar que os resultados encontram-se na faixa etária proposta pelos autores como tumores do grupo infantil, ou seja, aqueles que incidem na primeira década de vida e acometem crianças menores que sete anos de idade, têm comportamento mais benigno, diferentemente daqueles que acometem crianças acima de nove anos e na adolescência, e que têm comportamento mais maligno, definidos como grupo adolescente. Para os autores, o TCSR na infância tem um comportamento bimodal também na primeira década de vida.

Pelo que se observa na literatura, o TCSR ou deve ter particularidades influenciadas por fatores ambientais e, com isso, uma incidência maior em regiões específicas, ou ter características moleculares que ainda não puderam ser identificadas completamente.

Por que há uma alta incidência de TCSR no sul do Brasil e por que os resultados cirúrgicos são melhores que outras casuísticas mundiais, são perguntas que ainda não têm resposta.

O predomínio da doença no sexo feminino e na raça caucasóide nesta casuística está de acordo com os resultados de HAYLES *et al.* (1966); STEWART *et al.* (1974); MAKSOUD *et al.* (1982); MORALES *et al.* (1989); RIBEIRO *et al.* (1990); MILLER *et al.* (1994); DICHTCHEKENIAN (1996).

Não foi encontrada correlação na sobrevida global em relação ao sexo, mas verificou-se que o sexo feminino apresentou influência no EFS, ou seja, as meninas tiveram melhor prognóstico em relação aos meninos ($p= 0.025$). Talvez, o fato da manifestação clínica predominante de virilização ser mais valorizado pelos familiares nas meninas, seria uma das explicações para a procura ao médico mais rápida com maior precocidade do diagnóstico como observou DICHTCHEKENIAN (1996).

Os dados referentes à idade média (31 meses) e o tempo médio de duração da doença (4 meses) no presente trabalho, foram menores que todos os outros dados encontrados na literatura. Em pacientes adultos com TCSR, DIDOLKAR *et al.* (1981) encontraram o tempo médio de duração da doença clínica

de seis meses, enquanto ICARD, LOUVEL, CHAPUIS (1992) de 10 meses. Na população infantil, RIBEIRO *et al.* (1990) encontraram o tempo médio de duração da doença de seis meses; LACK *et al.* (1992), nove meses; SABAGGA *et al.* (1993), seis meses; DICHTCHEKENIAN (1996), sete meses; SANDRINI *et al.* (1997), 10 meses; MAYER *et al.* (1997), oito meses e MICHALKIEWICZ *et al.* (1997), 5,5 meses.

DICHTCHEKENIAN (1996), ao analisar a evolução tumoral, verificou que tumores com menos de sete meses de história têm comportamento maligno e tumores com mais de sete meses tem comportamento benigno. SABAGGA *et al.* (1993) verificaram a relação do tempo de manifestação clínica e sobrevida, e constataram que crianças com menos de seis meses de história têm 70% de sobrevida e as com mais de seis meses, 9%.

Ao se analisar a variável tempo de doença na influência da sobrevida para o tempo de manifestação clínica menor que sete meses na presente casuística, não foi encontrada diferença estatística ($p=0,1002$ Log-Rank).

É provável que, a precocidade da idade dos pacientes, além da manifestação clínica, aliada à alta incidência regional do tumor (média de dois casos novos por ano), tenham originado um rápido encaminhamento ao especialista, por parte dos pediatras.

O contato com agrotóxico esteve presente em nove famílias (27%), sendo cinco famílias provenientes da zona rural. Este fator ambiental e a manifestação tumoral estão de acordo com os relatos da associação de outras neoplasias ao uso

de agrotóxicos (CALDWELL *et al.*, 1981; HOAR *et al.*, 1986; BIRCH & BLAIR, 1988; KRISTENSEN *et al.*, 1996). RIBEIRO *et al.* (1990); SANDRINI *et al.* (1997), no Brasil, confirmaram estes achados específicos para o TCSR na infância.

Para a confirmação diagnóstica da correlação TCSR-agrotóxico seriam necessários estudos caso-controle específicos para o mesmo tumor e isso implicaria em vários anos de acompanhamento para se obter o mesmo número de casos. No entanto, não se pode desprezar a possibilidade de transformação tumoral em contato com agrotóxicos, tratando-se, *a priori*, de uma correlação causa-efeito inespecífica.

O estudo da sensibilidade genética de determinadas populações e a exposição aos agrotóxicos como causa do aumento da incidência tumoral já foi relatado (KIM, PIATYSZEK, PROWSE, 1994), mas para este tipo de tumor, até o presente momento, não há uma correlação descrita na literatura.

O aumento da incidência de TCSR tem relação com o aparecimento concomitante de defeitos congênitos, de hemi-hipertrofia corporal e de tumores do sistema nervoso central, principalmente astrocitoma (FRAUMENI & MILLER, 1967; TANK & KAY, 1980). TEINTEURIER *et al.* (1996) identificaram três pacientes de hemi-hipertrofia numa casuística de 54 pacientes pediátricos com TCSR.

Na casuística desta pesquisa não foram encontrados tais achados, assim como também não ocorreram casos de síndrome de Li-Fraumeni e síndrome de Beckwith-Wiedemann. A ausência destes achados está de acordo com os resultados de HAYLES *et al.* (1966); STEWART *et al.* (1974); MAKSOUD *et al.*

(1982); MORALES *et al.* (1989); RIBEIRO *et al.* (1990); SANDRINI *et al.* (1997). No entanto, MAYER *et al.* (1997) encontraram numa casuística de 24 pacientes pediátricos com TCSR, um paciente sugestivo, mas não confirmado, de síndrome de Li-Fraumeni e LACK *et al.* (1992) identificaram dois quadros sindrômicos numa casuística de 30 pacientes com TCSR.

Os resultados da apresentação clínica e o predomínio do quadro de virilização, associados ou não à síndrome de Cushing, estão de acordo com as cinco maiores casuísticas pediátricas da literatura internacional, como os de LEFREVE, GERARD-MARCHAND, GUBLER (1983), LACK *et al.* (1992); TEINTEURIER *et al.* (1996); MUKHOPADHYAY *et al.* (1996); SANDRINI *et al.* (1997), e de acordo com os da literatura nacional como MAKSOUD *et al.* (1982) e FAUZA *et al.* (1990).

A apresentação da forma clínica tumoral não funcional esteve presente em 6% da presente casuística, sem nenhuma manifestação sindrômica de feminilização, estando de acordo com outros dados da literatura.

Na maioria das casuísticas, os TCSR não funcionais representam menos de 5% do total das manifestações clínicas e a feminilização é extremamente rara. A proporção de tumores funcionais em relação aos não funcionais, na faixa etária pediátrica, é de aproximadamente 8,5:1 (MACFARLANE, 1958). TEINTEURIER *et al.* (1996) encontraram 6% de tumores não funcionais e um paciente com síndrome de feminilização em 54 pacientes com TCSR. MUKHOPADHYAY *et al.* (1996) encontraram um paciente com síndrome de feminilização em 25 pacientes na infância.

O SDHEA tem sido usado como marcador de atividade tumoral para diagnóstico e controle nas recidivas (BERTAGNA & ORTH, 1981). Na década de 60 e início dos anos 70 acreditava-se na correlação entre os níveis produzidos de 17-OH e 17-KS e a histologia tumoral. Os carcinomas seriam altamente produtores hormonais e os adenomas, tumores não funcionais (BIRKE et al., 1959; KNIGHT, TRICHEL, MATTHEWS, 1959; SCOTT, FOSTER, RHAMY *et al.*, 1971). No entanto, no final dos anos 70, TANG & GRAY (1975) e CAHEN *et al.* (1978) descartaram o potencial de malignidade e o alto grau de virilização tumoral com os níveis bioquímicos hormonais. Os resultados hormonais da presente série estão de acordo com os encontrados nas maiores casuísticas, previamente citadas.

Os resultados de 90% e 100% de sensibilidade para o US e a TAC, respectivamente, estão de acordo com os dados de KOROBIN & FRANCIS (1997) para o diagnóstico do TCSR, e apesar do US ser o exame ideal para triagem diagnóstica e para confirmação da recorrência tumoral (DANEMAN, CHAN, MARTIN 1983), a acurácia diagnóstica da TAC é superior (ABRAMS, SIEGELMAN, ADAMS, 1982).

EGHARI, McHOUGHLIN, ROSE, (1980) preconizam o uso rotineiro da TAC de tórax e abdome para o diagnóstico e a avaliação da recorrência tumoral, pois pode-se diagnosticar lesões menores que 0,5 cm. No entanto, deve-se enfatizar a dificuldade para diagnosticar lesões pulmonares menores que 1,0 cm, pois quando a criança é pequena e necessita ser submetida à anestesia para realização da TAC, pode-se confundir metástases com micro-atelectasias, principalmente nas bases pulmonares. O uso do RX de tórax para estadiamento revelou 100% de sensibilidade no diagnóstico das metástases.

O tumor, na presente casuística, incidiu igualmente em ambos os lados. A incidência de lateralidade na literatura é variável. MACFARLANE (1958); SULLIVAN *et al.* (1978); DILDOLKAR *et al.* (1981); ICARD *et al.* (1992); DICHTCHEKENIAN (1996) encontraram maior incidência à esquerda, enquanto que STEWART *et al.* (1974); SABBAGA *et al.* (1993); ZOGRAFOS *et al.* (1994); MUKHOPADHYAY *et al.* (1996) encontraram maior incidência à direita. Apesar da possibilidade dos tumores à direita terem maior tendência à malignidade, pela sua maior aderência à veia cava inferior (BRENNAN, 1987), não foi verificada tal característica, nem globalmente, nem na influência do EFS (lateralidade $p=0.826$); os dados estão de acordo com LACK *et al.* (1992); MAYER *et al.* (1997) que encontraram igual incidência da lateralidade tumoral. A possibilidade de comprometimento de ambas as glândulas na literatura pode variar de 2 a 10% (NEBLETT *et al.*, 1987). Não houve paciente onde o tumor ocorreu bilateralmente na presente casuística.

A correlação entre a ressecabilidade tumoral e o estágio com o prognóstico revela que há má evolução, quando o tumor permanece ou quando se encontra em estádios avançados. A ressecabilidade tumoral ocorreu em 93% dos pacientes, com apenas dois pacientes tendo sido submetidos à biópsia. Não houve possibilidade de aplicação de teste estatístico para avaliar a ressecabilidade tumoral no global dos pacientes, uma vez que os resultados cirúrgicos foram bons. Apenas dois pacientes foram submetidos à biópsia, sendo que um deles evoluiu para o óbito por progressão da doença. Porém, a ressecabilidade tumoral teve influência no EFS ($p=0,043$), ou seja, tumores ressecáveis tiveram bom prognóstico.

Os estádios I e II predominaram (82%), com apenas três pacientes no estágio III (9%) e três no IV (9%). Ao se verificar o EFS para o estágio tumoral, observou-se a relevância do mesmo nos pacientes que apresentaram má evolução ($p < 0,001$). Portanto, os pacientes do estágio I e II têm melhor prognóstico que os do III e IV ($p = 0,014$). Estes dados estão de acordo com NAKANO (1988) que, no estudo de 91 autópsias de pacientes adultos, verificou a correlação do estágio do TCSR e o prognóstico evolutivo, pois os pacientes com estádios I, II e III de SULLIVAN *et al.* (1978) apresentaram melhor prognóstico que aqueles com estágio IV.

Os presentes resultados estão ainda de acordo com os de MacFARLANE (1958); SULLIVAN *et al.* (1978); DIDOLKAR *et al.* (1981); ICARD *et al.* (1992); ZOGRAFOS *et al.* (1994) em pacientes adultos, e com SABBAGA *et al.* (1993), SANDRINI, LACERDA, SAMPAIO (1993), TEINTEURIER *et al.* (1996) e MICHALKIEWICZ *et al.* (1997) em pacientes pediátricos, no que se refere à ressecabilidade e ao estágio.

A cirurgia tem o papel mais importante na sobrevida dos pacientes com TCSR, como observado desde o clássico trabalho de MacFARLANE (1958) ao de SABBAGA *et al.* (1993), com a maior casuística de crianças operadas na literatura. Portanto, a retirada total do tumor é a melhor terapêutica e o estágio tem implicações no prognóstico do TCSR, quer na infância, quer na fase adulta.

Grandes tumores do lado esquerdo são de fácil abordagem cirúrgica. No lado direito, tendo-se o cuidado com a dissecação da veia supra-renal direita,

geralmente curta e aderida à veia cava inferior, o tumor tem boa ressecabilidade. Nos pacientes portadores de metástases e grandes massas tumorais, a quimioterapia prévia facilita o ato cirúrgico, reduzindo o tamanho tumoral (LUTON *et al.*, 1990).

As complicações intra e pós-operatórias são muito pouco citadas na literatura. HENLEY *et al.* (1983), obtiveram 18% de morbidade peri-operatória em pacientes adultos, principalmente hemorragia da veia supra-renal direita e infecção da ferida cirúrgica. SCOTT; ABUMRAD; ORTH (1985) apresentaram 4,5% de mortalidade operatória, tendo infecção da ferida cirúrgica e infecção urinária como as complicações mais freqüentes. SEMER *et al.* (1994) obtiveram 29% de morbidade peri-operatória com três óbitos. MAYER *et al.* (1997), em pacientes pediátricos, obtiveram 10% de casos de rotura tumoral, e SANDRINI *et al.* (1997) relataram 20% de rotura tumoral. Na presente casuística, observou-se 18% de complicações intra-operatórias e 21% no pós-operatório, estando de acordo com os autores citados.

O risco de rotura tumoral e a consistência friável do tumor devem aumentar a atenção do cirurgião durante a manipulação tumoral no intra-operatório. Outras complicações menores, como as infecções, podem ser esperadas e podem estar relacionadas à utilização de corticosteróides no peri-operatório.

A importância do peso e volume tumoral como fator prognóstico evolutivo nos TCSR tem sido amplamente divulgada (MacFARLANE, 1958; HAYLES *et al.*, 1966; TANG & GRAY, 1975; HOUGH *et al.*, 1978; LEFEVRE *et al.*, 1983; VAN

SLOOTEN *et al.*, 1985; CAGLE *et al.*, 1986; RIBEIRO *et al.*, 1990; BUGG *et al.*, 1994; DICHTCHEKENIAN, 1996). A dificuldade é saber em qual valor de peso o tumor terá comportamento maligno. Peso tumoral maior que 100g (HOUGH *et al.*, 1978 e RIBEIRO *et al.*, 1990), maior que 150g (VAN SLOOTEN *et al.*, 1985), maior que 250g (DICHTCHEKENIAN, 1996) ou maior que 500g (CAGLE *et al.*, 1986) são considerados como fatores de mau prognóstico e comportamento maligno nos TCSR.

O peso tumoral dos 33 pacientes variou de 7g a 3700g (média de 264g e mediana de 70g), sendo que apenas nove pacientes apresentaram peso tumoral maior que 100g.

À análise do EFS para o peso, verificou-se diferença estatística significativa ($p= 0,0017$) para tumores pesando menos que 100g, indicando que tumores mais leves que este valor têm bom prognóstico.

O volume tumoral variou de 6mL a 2300mL (média de 229mL e mediana de 72mL), e apenas sete pacientes apresentaram o volume tumoral maior que 200mL.

Os resultados globais deste estudo demonstraram que o volume tumoral apresentou diferença estatisticamente significante ($p=0,039$) na sobrevida dos pacientes com TCSR, isto é, tumores com volume maior que 200 mL tiveram pior prognóstico, apesar do volume não ter tido influência no EFS ($p=0,083$). Este resultado pode parecer controverso, mas existe uma correlação direta entre peso e volume tumoral como propõe RIBEIRO *et al.* (1990), devendo-se considerar fatores

intrínsecos da histologia do tumor como áreas hipervasculares, áreas hemorrágicas e necrose que podem alterar o volume tumoral.

O estudo do valor da histopatologia do TCSR iniciou-se com as publicações de BIRKE *et al.* em 1959, valorizando a invasão capsular e a atividade mitótica. HUVOS *et al.* (1970) valorizaram o pleomorfismo celular, a hipercromasia nuclear e as figuras mitóticas como indicativos de malignidade tumoral e, a partir de então, vários outros trabalhos foram realizados levando-se em consideração os achados histológicos (HOUGH *et al.*, 1978; WEISS, 1984; VAN SLOOTEN *et al.*, 1985; WEISS *et al.*, 1989; BUGG *et al.*, 1994).

Ao se avaliar qual classificação pode prever melhor a malignidade e o prognóstico tumoral, verificou-se uma grande variedade de resultados. A classificação de HOUGH *et al.* (1978) diagnosticou 21 pacientes (64%) com adenocarcinoma de supra-renal e 12 pacientes (36%) indeterminados quanto ao diagnóstico de adenoma ou carcinoma de supra-renal; a de WEISS (1984) diagnosticou 31 pacientes (94%) com adenocarcinoma de supra-renal e dois com adenoma; a de VAN SLOOTEN *et al.* (1985) diagnosticou todos os 33 pacientes com adenocarcinoma de supra-renal; a de CAGLE *et al.* (1986), diagnosticou 29 pacientes (88%) com adenoma e quatro pacientes com adenocarcinoma; e a de RIBEIRO *et al.* (1990) diagnosticou 18 pacientes (55%) com adenoma e 15 pacientes com adenocarcinoma.

A avaliação histopatológica dos TCSR, pelas cinco classificações utilizadas, revelou que as de WEISS (1984) e de VAN SLOOTEN *et al.* (1985) são

estatisticamente semelhantes, quando comparadas com as de HOUGH *et al.* (1978), de CAGLE *et al.* (1986) e de RIBEIRO *et al.* (1990) ($p < 0,0001$).

Ao se analisar quais das classificações puderam ter influência no prognóstico e a sobrevida, encontrou-se diferença estatisticamente significativa somente para a classificação de RIBEIRO *et al.* (1990). Verificou-se que os critérios de RIBEIRO *et al.* (1990) tiveram influência no EFS ($p = 0,004$), ou seja, tumores pequenos e não palpáveis ($p=0,012$) têm melhor prognóstico. O fato desta classificação ter sido toda baseada na experiência clínica exclusiva de pacientes pediátricos, torna-a mais fidedigna para a utilização prognóstica, estando os presentes dados de acordo esse autor.

As classificações de WEISS (1984) e VAN SLOOTEN *et al.* (1985) são semelhantes às do presente trabalho para a classificação tumoral, porém diferem entre si basicamente na contagem do número de mitoses em 10 ou 50 campos de HPF. A importância da contagem do número de mitoses reflete o grau de malignidade tumoral, podendo, por sua vez, refletir o prognóstico tumoral. No entanto, estes resultados, quando se analisa o EFS para contagem de mitoses em 10 e 50 campos HPF, não apresentaram poder prognóstico ($p = 0,113$ e $p = 0,1628$, respectivamente). Porém, ao se verificar o total de pacientes estudados, a quantidade de campos histológicos a serem vistos para se contar o número de mitoses (10 ou 50 campos), notou-se que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) nos critérios de malignidade tumoral quando encontramos pelo menos uma mitose nos primeiros 10 campos, devendo-se contar a seguir, 50

campos, pois nesta situação, o caso revela maior possibilidade de ser categorizado como histologia de alto grau de malignidade. A contagem de 10 campos pode servir como triagem para verificar o número de mitoses tumoral. Estes resultados vem acrescentar dados à literatura de que variáveis únicas não estabelecem o diagnóstico entre malignidade e benignidade, nem o prognóstico tumoral.

Não foi encontrada positividade na imunohistoquímica para a proteína **p53**, dado que não está em acordo com a maioria dos da literatura. GREENBLATT *et al.* (1994), pesquisando a prevalência do **p53** em 2567 tumores de diferentes órgãos, identificaram 37% de positividade para o **p53**, tendo encontrado numa casuística de 31 glândulas supra-renais, 23% de **p53** positivo.

REINCKE *et al.* (1994) estudando 18 pacientes adultos, cinco com adenomas, 11 com carcinomas e dois com tumores da linhagem das células adrenocorticais, identificaram 27% de positividade do **p53** para carcinomas e nenhuma para adenomas. Os autores discutem a possibilidade de haver evolução de adenomas para carcinomas. A baixa presença do **p53** nos carcinomas poderia representar duas possibilidades: a primeira, a baixa meia vida ou a baixa concentração das proteínas com mutações que não puderam ser detectadas na avaliação imunohistoquímica; a segunda, as alterações muito graves no material nuclear que levariam a um truncamento da transcrição gênica e não detecção da proteína.

LIN *et al.* (1994) pesquisando mutações do **p53** em TCSR em adultos, identificaram, por IHQ, **p53** positivo em cinco dos 16 pacientes estudados (31%);

nos 11 demais, o **p53** foi negativo. Em seis pacientes, nos quais o **p53** foi negativo, foram identificadas mutações do **p53** pela análise da PCR e a explicação da não detecção da proteína na IHQ pelos autores é a mesma dada por REINCKE *et al.* (1994).

DICHTCHEKENIAN (1996) analisou 33 pacientes pediátricos com carcinoma do córtex da supra-renal, identificando positividade do **p53** em 54,5%. Os casos malignos não expressaram a proteína **p53**, enquanto a maioria dos benignos apresentou **p53** positivo.

McNICOL *et al.* (1997) avaliando TCSR em pacientes adultos por meio de IHQ e PCR, encontraram positividade do **p53** em quatro de 34 adenomas e em 22 de 42 carcinomas. Os autores também aventam a possibilidade do oncogene do TCSR evoluir de adenoma para carcinoma e que o **p53** não apresenta qualquer significado prognóstico evolutivo.

VARGAS *et al.* (1997), avaliando o papel prognóstico do **p53** em 10 adenomas e 20 carcinomas de pacientes adultos, não encontraram positividade nos adenomas e identificaram positividade em 9 dos 20 carcinomas. Os autores correlacionaram a presença do **p53** com a malignidade dos TCSR.

EDGREN *et al.* (1997), avaliando **p53** e outros imuno-marcadores em 17 pacientes com TCSR, encontraram 88% de negatividade, acreditando que o **p53** não expressa a malignidade tumoral.

A não expressão da proteína do **p53** na casuística do presente trabalho está de acordo com os achados de VARGAS *et al.* (1997) e não revela qualquer relação com o prognóstico tumoral.

Uma das explicações para a ausência do **p53** nesta casuística seria a de que o TCSR em pacientes pediátricos tem comportamento benigno, apesar de, na maioria das vezes, a avaliação histológica indicar malignidade. Outras explicações estariam relacionadas, talvez, ao alto número de mitoses e ao alto grau de proliferação nuclear e à não expressão da proteína, ou ainda, onde todas as mutações da proteína expressa seriam *nonsense* e neste caso, mesmo utilizando o PCR como metodologia, seria difícil a comprovação desta hipótese, pela baixa detecção das proteínas truncadas. Finalmente, a negatividade do **p53** à IHQ, apesar da correta utilização de anticorpos monoclonais, poderia ser justificada por ser a expressão dessa proteína de meia vida muito curta.

O antígeno **Ki67** (MiB-1), utilizado para medir a atividade proliferativa nuclear, apresentou-se negativo em todos os pacientes, exceto em um. Estes resultados estão de acordo com os de DICHTCHEKENIAN (1996); EDGREN *et al.* (1997).

Os nossos resultados com o **Ki67** (MiB-1) não estão de acordo com os dados de GOLDBLUM *et al.* (1993) e VARGAS *et al.* (1997), que em estudos de TCSR em adultos, encontraram correlação direta do aumento do MiB-1 com a malignidade tumoral. Não há dados da literatura do TCSR em crianças que apoiem a possibilidade do MiB-1 representar fator prognóstico.

O gene da proteína **c-erb-B2**, que aumenta os receptores de fator de crescimento celular localizados na membrana celular, é altamente prevalente em adenocarcinomas de mama, ovário, pulmão, estômago e glândulas salivares (HYNES, 1993) e, mais recentemente, foi identificado em tumores de bexiga (LEE *et al.*, 1994), onde seu significado ainda não é bem compreendido.

Não há relatos na literatura da expressão do **c-erb-B-2** em TCSR nem em adultos, nem em crianças. Não foi encontrado **c-erb-B-2** em TCSR na infância e, portanto, ou este tumor não produziu proteína receptora como fator de crescimento tumoral ou, se o fez, a IHQ não foi capaz de detectá-la.

O **bcl-2**, marcador de apoptose celular, está relacionado com prognóstico nos linfomas foliculares de células B e regula a programação da morte celular. Apesar do **bcl-2** já ter sido identificado em neuroblastomas (IKEDA *et al.*, 1995), carcinoma colo-retal (OFNER *et al.*, 1995), carcinoma de ovário (HEROD *et al.*, 1996), adenoacarcinoma de endométrio (KUWAKASHIMA *et al.*, 1996), câncer de esôfago (PARENTI *et al.*, 1997), câncer de próstata (MATSUSHIMA *et al.*, 1997) e carcinoma de mama (PAPADIMITRIOU *et al.*, 1997), ainda não foi verificado em TCSR.

Na avaliação da influência do **bcl-2** no EFS não foi verificada diferença estatística significativa ($p= 0,813$). Não há relato na literatura sobre a expressão do **bcl-2** e TCSR. A positividade encontrada na presente série deve apenas refletir a alta incidência de apoptose tumoral, mas não há relação com o prognóstico.

A ação do **p53** como oncogene supressor tumoral, reparando o DNA quando lesado ou induzindo a célula à apoptose, poder ter interação com o **bcl-2** (VAUX, CORY, ADAMS, 1988), porém não foi verificada esta possível interação neste estudo.

Os resultados deste trabalho quanto à sobrevida global de TCSR na infância foram ao redor de 88% em dois anos e, descontadas duas mortes devidas ao tratamento e não à progressão da doença, a sobrevida aumentou para 94%, enquanto que para pacientes com EFS foi de 75%. Estes dados representam uma das maiores casuísticas da literatura e um dos melhores resultados comparativos. A TABELA 7 representa as maiores casuísticas e sobrevida em TCSR na infância, da literatura internacional, e a TABELA 8 da literatura nacional.

TABELA 7

APRESENTAÇÃO DAS MAIORES CASUÍSTICAS E DA SOBREVIVÊNCIA DE TUMORES DO
CÓRTEX DA SUPRA-RENAL NA INFÂNCIA, DA LITERATURA INTERNACIONAL

Autores	Casuística	Sobrevivência
SANDRINI <i>et al.</i> (1997)*	58	30 (56%)
SABBAGA <i>et al.</i> (1993)*	55	25 (46%)
BUGG, M.F. <i>et al.</i> (1994)	54	24 (44%)
TEINTEURIER <i>et al.</i> (1996)	54	25 (46%)
RIBEIRO <i>et al.</i> (1990)*	40	11 (32%)
LEFREVE <i>et al.</i> (1983)	40	20 (50%)
LACK <i>et al.</i> (1992)	30	13 (43%)
MUKHOPADHYAY <i>et al.</i> (1996)	25	13 (52%)
CAGLE <i>et al.</i> (1986)	23	17 (74%)
MICHALKIEWICZ <i>et al.</i> (1997)**	20	18 (90%)
HAYLES <i>et al.</i> (1966)	12	11 (92%)
FEDERICI, GALLI, CECARELLI (1994)	12	10 (83%)
MAYER <i>et al.</i> (1997)	11	10 (91%)
CACCIARI <i>et al.</i> (1985)	9	8 (89%)
UNICAMP/BOLDRINI	33	29 (88%)

* casuística do mesmo grupo, ** casuística para tumores $\leq 100\text{g}$ ou $\leq 200\text{mL}$.

TABELA 8

**APRESENTAÇÃO DAS MAIORES CASUÍSTICAS E DA SOBREVIDA DE TUMORES DO
CÓRTEX DA SUPRA-RENAL NA INFÂNCIA, DA LITERATURA NACIONAL**

Autores	Casuística	Sobrevida
SILVA <i>et al.</i> (1990)	21	18(88%)
SEMER <i>et al.</i> (1994)*	12	6 (50%)
FAUZA <i>et al.</i> (1990)**	19	17 (90%)
MAKSOUUD <i>et al.</i> (1982)**	15	14 (93%)

* casuística de 24 pacientes incluindo 12 crianças ** casuística do mesmo grupo

Avaliações mais recentes, valorizando a associação da IHQ e PCR, têm evidenciado mais detalhes a respeito das mutações do p53 nos TCSR (LIN *et al.*, 1994; REINCKE *et al.*, 1994; McNICOL *et al.*, 1997). Estudos promissores de CICQUEL *et al.* (1997) no mapeamento da expressão gênica do 11p15, região que expressa o fator de crescimento semelhante à insulina II (*insulin growth factor II-IGF-II*), parece trazer subsídios mais fiéis, pois quando presente, indica malignidade tumoral e mau prognóstico.

Finalmente, o fato de não se ter encontrado correlação dos achados da IHQ com o prognóstico do TCSR na infância reforça a valorização dos dados clínicos como principalmente a virilização dos pacientes, o peso e o volume tumoral, seguidos do ato cirúrgico precoce com ressecção completa do tumor, como sendo, ainda, os parâmetros de maior valor para este raro tipo de neoplasia na infância.

Conclusões

7 – Conclusões

Após o estudo podemos concluir que:

1. Os pacientes femininos ($p=0,025$), sem massa abdominal palpável ($p=0,012$), em estádios I e II de SULLIVAN *et al.* (1978) ($p=0,014$), completamente ressecados ($p=0,043$), com peso tumoral menor que 100g ($p=0,0017$) e classificados pelos critérios de RIBEIRO *et al.* (1990) ($p=0,004$) apresentaram prognóstico favorável. Tumores com volume superior a 200mL apresentaram o prognóstico desfavorável quanto à sobrevida ($p=0,0039$).
2. Não houve uma classificação histopatológica precisa que definisse se os TCSR eram malignos ou benignos, nem que indicasse o prognóstico.
3. A utilização da IHQ para avaliação da expressão da proteína do **gene p53**, **Ki67** (MiB-1), **c-erb-B2** e **bcl-2** não mostrou valor prognóstico na evolução dos TCSR. O **bcl-2** teve maior correlação de positividade (27%) com a malignidade que os demais imuno-marcadores, mas sem significância estatística. Este achado, até o momento, não tem explicação.

Summary

8 - Summary

This study was performed to investigate the prognostic significance of clinical, pathological and immunohistochemical findings in a series of children with adrenocortical tumors. A retrospective chart review was conducted on the charts of 33 children with adrenocortical tumors, seen at the Hospital de Clínicas of the Universidade Estadual de Campinas and at the Centro Infantil "Dr. Domingos Boldrini" in Campinas, SP. The histological sections were reviewed and each tumor classified according to the following criteria: HOUGH *et al.* (1979), WEISS *et al.* (1984), VAN SLOOTEN *et al.* (1985), CAGLE *et al.* (1986), WEISS *et al.* (1989), and RIBEIRO *et al.* (1990). Staging was done according to SULLIVAN, *et al.* (1978). The histochemical analysis of **p53**, **Ki67**, **c-erb-B2** and **bcl-2** was done according to the technique described by HSU *et al.* (1981). The statistical analysis included Fisher exact tests to compare proportions, Kaplan–Meier (KAPLAN & MEIER, 1958) actuarial survival curves with Log Rank test for group comparisons, and the Wilcoxon and the Cochran tests for comparing histological findings. Sixty-four percent of the patients were female and 85% were Caucasian, with ages ranging from 2 to 96 months. Eighty-five percent were from urban areas, 27% reported contact with agricultural chemicals, and 30% of the patients had at least one relative with cancer.

Virilization was the most common presentation affecting 70% of patients, followed by the association of virilization and Cushing's syndrome in 21%. In two patients there were no signs of adrenocortical hyperfunctioning and one presented with signs of Cushing's syndrome alone. Endocrinological tests (urinary 17-OH e 17-KS and serum SDHEA) were abnormal in all patients tested. The tumor was detected by ultrasound in 97% of the cases and by CAT scan in 100% of the patients. Both sides were equally affected. Twenty-two patients were classified as stage I, five as stage II, three as stage III and another three as stage IV. None of the different histopathological criteria evaluated were able to correctly predict the outcome. Tumors weighing more than 200g had a significantly greater chance of being malignant ($p=0.0017$). The imunohistochemical tests for expression of **p53**, **c-erb-B2**, **Ki67** and **bcl-2** were inconclusive as to their prognostic significance, due to the small number of tumors expressing these genes. The following parameters were statistically associated with a good outcome: female gender, absence of palpable tumor, stages I or II of SULLIVAN *et al.* (1978), tumor weight below 100g ($P=0.0017$) and meeting the benign criteria of RIBEIRO *et al.* (1990). It is concluded that clinical and surgical parameters are still the most important prognostic factors for pediatric ACT and that, the imunohistochemical markers evaluated in this study had no role in predicting the outcome.

Referências Bibliográficas

9 – Referências Bibliográficas

ABRAMS, H.L.; SIEGELMAN, S.S.; ADAMS, P.F. - Computed tomography versus ultrasound of the adrenal gland: a prospective study. **Radiology**, **1143**:121-8, 1982.

ANDERSEN, T.I.; PAUS, E.; NESLAND, J.M.; McKENZIE, S.J.; BORRESEN, A.L. - Detection of c-erb-B2 related protein in sera from breast cancer patients. **Acta Oncol.**, **34**:499-504, 1995.

BARGONETTI, J.; MANFREDI, J.J.; CHEN, X.; MARSHAK, D.; PRIVES, C. – A proteolytic fragment from the central region of p53 has marked sequence specific DNA binding activity when generated from wilde type but not from oncogenic mutant p53 protein. **Genes Dev.**, **7**:2565-74, 1993.

BERTAGNA, C. & ORTH, D.N. - Clinical and laboratorial findings and results of therapy in 58 patients with adrenocortical tumors admitted to a single medical center (1951-1978). **Am. J. Med.**, **71**:855-75, 1981.

BISHOP, J.M. - The molecular genetics of cancer. **Science**, **235**:305-11, 1987.

BIRCH, J.M. & BLAIR, V. - Increase in childhood carcinomas in Northwest England. **Lancet**, **1**:833, 1988. [Letter]

- BIRCH, J.M.; HARTLEY, A.L.; TRICKER, K.J.; PROSSER, J.; CONDIE, A.; KELSEY, A.M.; HARRIS, M.; JONES, P.H.M.; BINCHY, A.; CROWTER, D.; CRAFT, A.W.; OSBORNE, B.E.; EVANS, D.G.R.; THOMPSON, E., MANN, J.R.; MARTIN, J.; SANTIBÁÑEZ-KOREF, M.F. – Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. **Cancer Res.**, **54**:1298-304, 1994.
- BIRKE, G.; FRANFSSON, C.; GEMZELL, C.A; MOBERGER, G.; PLANTIN, L.O. – Adrenal cortical tumors. **Acta Chir. Scand.**, **177**:233-46, 1959.
- BRENNAN, M.F. – Adrenocortical carcinoma. **CA-A Cancer J. Clin.**, **37**:349-65, 1987.
- BRONNER, M.P.; CULIN, REED, J.C.; FURTH, E.E. – The bcl-2 proto-oncogene and the gastrointestinal epithelial tumor progression model. **Am. J. Pathol.**, **146**:20-6, 1995.
- BUGG, M.F.; RIBEIRO, R.C.; ROBERSON, P.K.; LLOYD, R.V.; SANDRINI, R.; SILVA, J.B.; EPELMAN, S.; SHAPIRO, D.N.; PARHAM, D.M. – Correlation of pathologic features with clinical outcome in pediatric adrenal neoplasia- a study of a Brazilian population. **Am. J. Clin. Pathol.**, **101**:625-9, 1994.
- CACCIARI, E.; CICOGNANI, A; PIRAZZOLI, P.; PAOLUCCI, G.; MANCINI, A.; TASSINARI, D.; PAUSCUCCI, M.G.; TACCONI, M. – Adrenocortical tumours in children: our experience with nine cases. **Acta Endocrinol.** **279(suppl)**:264-74, 1986.

- CADWELL, G.G.; CANNON, S.B.; PRATT, C.B.; ARTHUR, R.D. - Serum pesticide level in patients with childhood colorectal carcinoma. **Cancer**, **48**:774-8, 1981.
- CAGLE, P.T.; HOUGH, A.J.; PYSHER, J.; PAGE, D.L.; JOHNSON, E.H.; KIRKLAND, R.T.; HOLCOMB, J.H.; HAWKINS, E.P. - Comparison of adrenal cortical tumors in children and adults. **Cancer**, **57**:2235-7, 1986.
- CAHEN, L.A.; VILLEE, D.B.; POWERS, M.L.; CRIGLER, J.F.JR. - A virilizing adrenocortical tumor in a female infant: *in vivo* and *in vitro* biochemical characteristics. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **47**:300-6, 1978.
- CAMUTO, P.; SCHINELLA, R.; GILCHRIST, K.; CITRIN, D.; FREDRICKSON, G. - Adrenal cortical carcinoma: flow cytometric study of 22 cases, an ecog study. **Urology**, **37**:380-4, 1991.
- CIQUEL, C.; RAFFIN-SANSON, M.L.; GASTON, V.; BERTAGNA, X.; PLOUIN, P.F.; SCHUMBERGER, M.; LOUVEL, A.; LUTON, J.P.; LE BOUC, Y. - Structural and functional abnormalities at 11p15 are associated with the malignant phenotype in sporadic adrenocortical tumors: study on a series of 82 tumors. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **82**:2559-65, 1997.
- CHUDLER, R.M. & KAY, R. - Adrenocortical carcinoma in children. **Urol. Clin. North Am.**, **16**:469-79, 1989.
- COLOMBEL, M.; SYMMANS, F.; GIL, S.; O'TOOLE, K.M.; CHOPIN, D.; BENSON, M.; OLSSON, C.A.; KORSMEYER, S.; BUTTYAN, R. - Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein bcl-2 in hormone refractory human prostate cancers. **Am. J. Pathol.**, **143**:390-400, 1993.

- COUSSENS, L.; YANG-FENG, T.L.; LIAO, Y.C.; CHEN, E.; GRAY, A.; McGRATH, J.; SEEBURG, P.H.; LIBERMANN, T.A.; SCHLESSINGER, J.; FRANCKE, U.; LEVINSON, A.; ULLRICH, A. – Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with new oncogene. **Science**, **230**:1132-9, 1985.
- DANEMAN, A.; CHAN, S.L.H.; MARTIN, J. – Adrenal carcinoma and adenoma in children: a review of 17 patients. **Pediatr Radiol.**, **13**:11-18, 1983.
- DECLARACIÓN DE HELSINKI: Recomendaciones para guiar a los médicos en la investigación biomédica em seres humanos. In: **Colégio Médico de Chile (A.G.)**. Ética médica, Graphos, 1986.
- DICHTCHEKENIAN, V. - Neoplasia do córtex supra renal: **Expressão imunohistoquímica do gene p53 e do antígeno nuclear Ki67**. São Paulo, 1996. (Tese – Doutorado – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).
- DIDOLKAR, M.S.; BESCHER, R.A.; ELIAS, E.G.; MOORE, R.H. - Natural history of adrenal cortical carcinoma. **Cancer**, **47**:2153-61, 1981.
- DUEE, W.; DIECKMANN, K.P.; LOY, V. – Immunohistological determination of proliferative activity in seminomas. **J. Clin. Pathol.**, **41**:304-07, 1988.
- EDGREN, M; ERIKSSON, B; WILANDER, E; WESTLIN, J.E.; NILSSON, S; OBERG, K. - Biological characteristics of adrenocortical carcinoma: a study of p53, IGF, EGF-r, Ki-67 and PCNA in 17 adrenocortical carcinomas. **Anticancer Res.**, **17**(2B):1303-9, 1997.

- EGHARI, M.; McLOUGHLIN, M.J.; ROSE, I.E. - The role of computed tomography in assessment of tumoral pathology of the adrenal glands. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, **4**:71-7, 1980.
- FAUZA, D. O.; DIGHTCHEKENIAN, V.; DAMIANI, D.; SETIAN, N; MAKSOUD, J.G. - Carcinoma de supra-renal da infância - Análise de 19 casos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA PEDIÁTRICA, 13; CONGRESSO PAULISTA DE CIRURGIA PEDIÁTRICA, 1, São Paulo, 1990. Tema Livre. São Paulo, Sociedade Brasileira de Cirurgia Pediátrica, 1990. p.56. (Resumo, 108).
- FAVARA, B.E.; GALLIANI, C.A.; WAKELY-Jr, P.E. - Advances in care of the children with cancer - the importance of histologic subclassification of tumors. *Cancer*, **58**:426-41, 1986.
- FEDERICI, S.; GALLI, G.; CECCARELLI, P.L. - Adrenocortical tumors in children: a report of 12 cases. *Eur. J. Pediatr. Surg.*, **4**:21-5, 1994.
- FISHMAN, E.K.; DEUTCH, B.M.; HARTMAN, D.S.; GOLDMAN, S.M., ZERHOUNI, E.A.; SIEGELMAN, S.S. - Primary adrenocortical carcinoma: CT evaluation with clinical correlation. *A. J. R.*, **148**:531-5, 1987.
- FONTANINI, G.; VIGNATI, S.; BIGINI, D.; MUSSI, A.; LUCCI, M.; ANGELETTI, C.A.; BASOLO, F. BEVILACQUA, G. - Bcl-2 protein: a prognostic factor inversely correlated to p53 in non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer*, **71**:1003-7, 1995.
- FRAUMENI, J.F. & MILLER, R.W. - Adrenocortical neoplasms with hemihypertrophy, brain tumors and other disorders. *J. Pediatr.*, **70**:129-38, 1967.

- GANDOUR, J.M. & GRIZZLE, M.E. – A small adrenocortical carcinoma with aggressive behavior – An evolution of criteria for malignancy. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **110**:1076-9, 1986.
- GANGULY, A.; BERGSTEIN, J.; GRIM, C.E.; YUM, M.N.; WEINBERGER, M.H. – Childhood primary aldosteronism due to an adrenal adenoma: Preoperative localization by adrenal vein catheterization. *Pediatrics*, **65**:605, 1980.
- GARBER, J.E.; GOLDSTEIN, A.M.; KANTOR, A.F.; DREYFUS, M.G.; FRAUMENI-JR; J.F.; LI, F.P. – Follow-up study of twenty four families with Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Research*, **52**:6094-7, 1991.
- GERDES, J.; LEMKE, H.; BAISCH, H.; WACKER, H.H.; SCHWAB, U.; STEIN, H. – Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody ki67. *J. Immunol.*, **133**:1710-5, 1984.
- GERDES, J.; STEIN, H.; PILERI, S.; RIVANO, M.T.; GOBBI, M.; RALFKIAER, E.; NIELSEN, K.M.; PALLESEN, G.; BARTELS, H.; PALESTRO, G.; DELSOL, G. – Prognostic relevance of tumour-cell growth fraction in malignant non-Hodgkin's Lymphomas. *Lancet*, **II**:448-9, 1987.
- GERDES, J.; LI, L.; SCHLUETER, C.; DUCHROW, M.; WOHLLENBERG, C.; GERLACH, C.; STAHRMER, KLOTH, S.; BRANDT, E.; FLAD, H.D. – Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki67. *Am. J. Pathol.*, **138**:867-73, 1991.

- GLAZER, G.M.; WOOSLEY, E.J.; BORELLO, J. – Adrenal tissue characterization using MRI imaging. *Radiology*, **158**:73-9, 1986.
- GOLDBLUM, J.R.; SHANNON, R.; KALDJIAN, E.P. – Immunohistochemical assessment of proliferative activity in adrenocortical neoplasms. *Mod. Pathol.*, **6**:663-8, 1993.
- GREENBLATT, M.S.; BENNETT, W.P.; HOLLSTEIN, M.; HARRIS, C.C. – Mutations in p53 tumor supressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res.*, **54**:4855-78, 1994.
- GROGAN, T.M.; LIPPMAN, S.M.; SPIER, C.M.; SLYMEN, D.J.; RYBSKI, J.A.; RANGEL, C.S.; RICHTER, L.C.; MILLER, T.P. – Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in difuse large cell lymphomas as determinated by the monoclonal antibody Ki67. *Blood*, **71**:1157-60, 1988.
- HALL, P.A.; RICHARDS, M.A.; GREGORY, W.M., d'ARDENNE, A.J.; LISTER, T.A.; STANSFELD, G.A. – The prognostic value of Ki67 immuno-staining in Non-Hodgkin's Limphoma. *J. Pathol.*, **154**:223-35, 1988.
- HAMPER, U.M.; FISHMAN, E.K.; HARTMAN, D.S.; ROBERTS, J.L.; SANDERS, R.C. – Primary adrenocortical carcinoma: sonographic evaluation with clinical and pathologic correlation in 26 patients. *A. J. R.*, **148**:915-9, 1987.
- HARTLEY, A.L.; BIRCH, J.M.; MARSDEN, H.B.; REID, H.; HARRIS, M.; BLAIR, V. – Adrenal Cortical tumours: epidemiological and familial aspects. *Arch. Dis. Child.*, **62**:683-9, 1987.

- HAYLES, A.B.; HAHN, H.B.-JR.; SPRAGUE, R.G.; BAHN, R.C.; PRIESTLEY, J.T. - Hormone-secreting tumors of adrenal cortex in children. *Pediatrics*, **37**:19-25, 1966.
- HENLEY, D.J.; VAN HEERDEN, J.A.; GRANT, C.S.; CARNEY, J.A.; CARPENTER, P.C. - Adrenal cortical carcinoma – a continuing challenge. *Surgery*, **94**:926-31, 1983.
- HEROD, J.J.; ELIOPOULOS, A.G.; WARWICK, J.; NIEDOBITEK, G.; YOUNG, L.S.; KERR, D.J. - The prognostic significance of Bcl-2 and p53 expression in ovarian carcinoma. *Cancer Res.*, **56**:2178-84, 1996.
- HOAR, S.K.; BLAIR, A.; HOLMES, F.F.; BOYSEN, C.D.; ROBEL, R.J.; HOOVER, R.; FRAUMENI, J.F. - Agricultural herbicide test and risk of limphoma and soft tissue sarcoma. *JAMA*, **256**:1141-7, 1986.
- HOCKENBERY, D.M.; ZUTTER, M.; HICKEY, W.; NAHM, M.; KORSMEYER, S.J. – Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**:6961-5, 1991.
- HOCKENBERY, D.M. – Bcl-2, a novel regulator of cell death. *Bioessays*, **17**:631-8, 1995.
- HONOUR, J.W.; PRICE, D.A.; TAYLOR, N.F.; MARSDEN, H.B.; GRANT, D.B. – Steroid biochemistry of virilizing adrenal tumors in childhood. *Eur. J. Pediatr.*, **142**:165-9, 1984.

HOUGH, A.J.; HOLLIFIELD, J.W.; PAGE, D.L.; HARTMANN, W.H. - Prognostic factors in adrenal cortical tumors - a mathematical analysis of clinical morphologic data. **Am. J. Clin. Path.**, 72:390-9, 1978.

HSU, S.M.; RAINE, L.; FANGER, H.A. - A comparative study of the peroxidase-antiperoxidase method and an avidin-biotin complex method for studying polypeptide hormones with radioimmuno-sassay anti bodies. **Am. J. Clin. Pathol.**, 75:734-8, 1981.

HUMPHREY, G.B.; PYSHER, T.; HOLCOMBE, J.H. - Overview on the management of the adrenocortical carcinoma (ACC). **Cancer Treat. Res.**, 17:348-58, 1983.

HUVOS, G.A.; HADJU, S.I.; BRASFIELD, R.D.; FOOTE, F.W. - Adrenal cortical carcinoma - clinicopathologic study of 34 cases. **Cancer**, 25:354-61, 1970.

HYNES, N.E. - Amplification and overexpression of erb-B-2 gene in human tumors: its involvement in tumor development, significance as a prognostic factor, and potential as a target for cancer therapy. **Semin. Cancer Biol.**, 4:19,1993.

ICARD, M.D.; LOUVEL, A.; CHAPUIS, Y. - Survival rates and prognostic factors in adrenocortical carcinoma. **World J. Surg.**, 16:753-8, 1992.

IKEDA, H.; HIRATO, J.; AKAMI, M.; MATSUYAMA, S.; SUZUKI, N.; TAKAHASHI, A.; KUROIWA, M. - Bcl-2 oncoprotein expression and apoptosis in neuroblastoma. **J. Pediatr. Surg.**, 30:805-8, 1995.

- JENSEN, V.; JENSEN, M.L.; KIAER, H.; ANDERSEN, J.; MELSEN, F. - MIB-1 expression in breast carcinomas with medullary features. An immunohistological study including correlations with p53 and bcl-2. **Virchows Arch.**, **431**:125-30, 1997.
- KAPLAN, L.E. & MEIER, P. - Nonparametric estimation from incomplete observations. **J. Am. Stat. Assoc.**, **53**:457-81, 1958.
- KIKUCHI, Y.; DINJENS, W.N.; BOSMAN, F.T. - Proliferation and apoptosis in proliferative lesions of the colon and rectum. **Virchows Arch.**, **431**:111-7, 1997.
- KIM, N.W.; PIATYSZEK, M.A.; PROWSE, K.R. - Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. **Science**, **266**:2011-4, 1994.
- KING, C.R.; KRAUS, M.H.; AARONSON, S.A. - Amplification of a novel v-erbB-related gene in a human mammary carcinoma. **Science**, **229**:974-8, 1985.
- KNIGHT, C.D.; TRICHEL, B.E.; MATTHEWS, W.R. - Non-functioning carcinoma of the adrenal cortex. **Ann. Surg.**, **151**:349-55, 1959.
- KOROBIN, M. & FRANCIS, I.R. - Imaging of adrenal mass. **Urol. Clin. North Am.**, **24**:603-22, 1997.
- KORSMEYER, S.J. - Bcl-2 initiates a new category of oncogenes regulators of cell death. **Blood**, **80**:879-86, 1992.

- KRISTENSEN, P.; ANDERSEN, A.; IRGENS, L.M.; BYE, A.S.; SUNDHEIM, L. - Cancer in the offspring of parents engaged in agricultural activities in Norway: incidence and risk factors in the farm environment. *Int. J.Cancer*, **65**:39-50, 1996.
- KUWASHIMA, Y.; KOBAYASHI, Y.; KUROSUMI, M.; TANUMA, J.; SHIROMIZU, K.; KISHI, K. - Inverse correlation between bcl-2 expression and cell growth fraction in human endometrial adenocarcinoma tissue. *Anticancer-Res.*, **17**(5B): 3773-6, 1996.
- LACK, E.E.; MULVIHILL, J.J.; TRAVIS, W.D.; KOZAKEWICH, H.P.W. - Adrenal cortical neoplasms in the pediatric and adolescent age group - clinicopathologic study of 30 cases with emphasis on epidemiological and prognostic factors. *Pathol. Ann.*, **27**:1-53, 1992.
- LANE, D.P. & CRAWFORD, L.V. - T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature*, **278**:261-3, 1979.
- LANE, D.P. - p53 and human cancers. *Br. Med. Bull.*, **50**:582-99, 1994.
- LEE, P.D.K.; WINTER, R.J.; GREEN, O.C. - Virilizing adrenocortical tumors in childhood: Eight cases and review of the literature. *Pediatrics*, **76**:437-44, 1985.
- LEE, S.E.; CHOW, N.H.; CHI, Y.C.; TZAI, T.S.; YANG, W.H.; LIN, S.N. - Expression of c-erbB-2 protein in normal and neoplastic urothelium: lack of adverse prognostic effect in human urinary bladder cancer. *Anticancer-Res.*, **14**(3B):1317-24, 1994.

- LEFREVE, M.; GERARD-MARCHAND, R.; GUBLER, J.P. - Adrenal cortical carcinoma in children: 42 patients treated from 1958 to 1980. In: HUMPHREY, G.B. (ed.) - **Adrenal and Endocrine Tumors in Children**, Boston, MA, Martinus Nijhoff Publishers, 1983. p.265-76.
- LI, F.P. & FRAUMENI, J.F. - Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms:a familial syndrome ? **Ann. Int. Med.**, **71**:747-52, 1969.
- LIN, S.R.; LEE, Y.J.; TSAI, J.H. - Mutations of the p53 gene in functional adrenal neoplasms. **J. Clin. Endocrinol. Met.**, **78**:483-91, 1994.
- LUTON, J.P.; CERDAS, S.; BILLAUD, L.; THOMAS, G.; GUILHAUME, B.; BERTAGNA, X.; LAUDAT, M.H.; LOUVEL, A.; CHAPUIS, Y.; BLOUDEAU, P.; BONNIN, A.; BRICAIRE, H. - Clinical features of adrenocortical carcinoma, prognostic factors, and the effect of mitotane therapy. **N. Engl. J. Med.**, **322**:1195-201, 1990.
- MacFARLANE, D.A. - Cancer of the adrenal cortex. **Ann. R. Coll. Surg. Engl.**, **23**:155-65, 1958.
- MAKSOUD, J.G.; SANTOS, R.C.O.; SETIAN, N.; DICHTCHEKENIAN, V.; DAMIANI, D., CARVALHO-PINTO, V.A. - Carcinoma de supra-renal na infância: análise de 15 casos. **Pediat.(São Paulo)**, **4**:298-6, 1982.
- MARIGO, C.; MULLER, H.; DAVIES, J.P.N. - Survey of cancer in children admitted to a Brazilian charity hospital. **J. Natl. Cancer Inst.**, **43**:1231-40, 1968.

- MATSUSHIMA, H.; KITAMURA, T.; GOTO, T.; HOSAKA, Y.; HOMMA, Y.; KAWABE, K. - Combined analysis with Bcl-2 and P53 immunostaining predicts poorer prognosis in prostatic carcinoma. *J. Urol.*, **158**:2278-83, 1997.
- MAYER, S.K.; OLIGNY, L.L.; DEAL, C.; YASBECK, S.; GAGNÉ, N.; BLANCHARD, H. - Childhood adrenocortical tumors: case series and reevaluation of prognosis - a 24-year experience. *J. Pediatr. Surg.*, **32**:911-5, 1997.
- McBRIDE, O.W.; MERRY, D.; GIVOL, D. - The gene for p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm (17p13). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**:130-34, 1986.
- McNICOL, A.M.; NOLAN, C.E.; STRUTHERS, A.J.; FARQUHARSON, M.A.; HERMANS, J.; HAAK, H.R. - Expression of p53 in adrenocortical tumours: clinicopathological correlations. *J. Pathol.*, **181**:146-51, 1997.
- McWHIRTER, W.R.; STILLER, C.A.; LENNOX, E.L. - Carcinomas in childhood - a registry-based study of incidence and survival. *Cancer*, **63**:2242-6, 1989.
- MEDEIROS, L.J. & WEISS, L.M. - New developments in the pathologic diagnosis of adrenal cortical neoplasms. A review. *Am. J. Clin. Pathol.*, **97**:73-83, 1992.
- MERRY, D.E.; VEIS, D.J.; HICKEY, W.F.; KORSMEYER, S.J. - Bcl-2 protein expression is widespread in the developing nervous system and retained in the adult PNS. *Development*, **120**:301-11, 1994.

- MICHALKIEWICZ, E.L.; SANDRINI, R.; BUGG, M.F.; CRISTOFANI, L.; ELIANE, C.; CARDOSO, A.M.S.; LACERDA, L.; RIBEIRO, R.C. - Clinical characteristics of small functioning adrenocortical tumors in children. *Med. Pediatr. Oncol.*, **28**:175-8, 1997.
- MILLER, R.W.; YOUNG, J.L.; NOVAKOVIC, B. - Childhood Cancer. *Cancer*, **75**:395-405, 1994.
- MIZUTANI, T.; ONDA, M.; TOKUNAGA, A.; YAMANAKA, N.; SUGISAKI, Y. - Relationship of c-erb-B2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer*, **72**:2083-8, 1993.
- MORALES, L.; ROVIRA, J.; ROTTERMANN, M.; JULIÁ, V. - Adrenocortical tumors in childhood: a report of four cases. *J. Pediatr. Surg.*, **23**(3):276-81, 1989.
- MUKHOPADHYAY, B.; GANGULY, D.; CHOWDHURY, S.; MAJI, D.; SARKAR, AK.; MUKHOPADHYAY, M.; SARKAR, R.; MISHRA, P.K. - Paediatric adrenocortical neoplasia - a study of 25 cases. *Pediatr. Surg. Int.*, **11**:550-3, 1996.
- NAKANO, M. - Adrenal cortical carcinoma - a clinico pathological and imunohistochemical study of 91 autopsy cases. *Acta Pathol JPN.*, **38**:163-80, 1988.
- NEBLETT, W.W.; FREXES-STEED, M.; SCOTT, H.W. - Experience with adrenocortical neoplasms in childhood. *Am. Surg.*, **53**:117-25, 1987.

- NGAN, B.Y.; CHEN-LEVY, Z.; WEISS, L.M.; WARNKE, R.A.; CLEARY, M.L. – Expression in non-Hodgkin's lymphoma of the bcl-2 protein associated with the t (14;18) chromosomal translocation. **N. Engl. J. Med.**, **318**:1638-44, 1988.
- NIGRO, J.M.; BAKER, S.J.; PREISINGER, A.C.; JESSUP, J.M.; HOSTETTER, R.; CLEARY, K.; BIGNER, S.H.; DAVIDSON, N.; BAYLIN, S.; DEVILEE, P.; GLOVER, T.; COLLINS, F.S.; WESTON, A.; MODALI, R.; HARRIS, C.C.; VOGELSTEIN, B. – Mutations in p53 gene occur in diverse human tumour types. **Nature**, **342**:705-8, 1989.
- OBERFIELD, S.E.; LEVINE, L.S.; FIRPO, A.; LAWRENCE, D.; STONER, E.; LEVY, D.J.; SEM, S.; NEW, M.I. – Primary hiperaldosteronism in childhood due to unilateral macromolecular hyperplasia. Case report. **Hipertension**, **6**:75-84, 1984.
- OFNER, D.; RIEHEMANN, K.; MAIER, H.; RIEDMANN, B.; NEHODA, H.; TOTSCH, M.; BOCKER, W.; JASANI, B.; SCHMID, K.W. - Immunohistochemically detectable bcl-2 expression in colorectal carcinoma: correlation with tumour stage and patient survival. **Br. J. Cancer**, **72**(4): 981-5, 1995.
- OHGAKI, H. KLEIHUES, P.; HEITZ, P.U. – p53 mutations in sporadic adrenocortical tumors. **Int. J. Cancer**, **54**:408-10, 1993.

- PAPADIMITRIOU, C.S.; COSTOPOULOS, J.S.; CHRISTOFORIDOU, B.P.; KOTSIANTI, A.J.; KARKAVELAS, G.S.; HYTIROGLOU, P.M.; KOUFOGIANNIS, D.J.; NENOPOULOU, H.E. - Expression of Bcl-2 protein in human primary breast carcinomas and its correlation with multifocality, histopathological types and prognosis. *Eur. J. Cancer*, **33**:1275-80, 1997.
- PARENTI, A.R.; RUGGE, M.; SHIAO, Y.H.; RUOL, A.; ANCONA, E.; BOZZOLA, L.; NINFO, V. - bcl-2 and p53 immunophenotypes in pre-invasive, early and advanced oesophageal squamous cancer. *Histopathology*, **31**:430-5, 1997.
- PRATT, C.B.; GEORGE, S.L.; GREEN, AA.; FIELDS, L.A.; DODGE, R.K. - Carcinomas in children - clinical and demographic characteristics. *Cancer*, **61**:1046-50, 1988.
- PEZZELLA, F.; TSE, A.G.D.; CORDELL, J.L.; PULFORD, K.A.F.; GATTER, K.C.; MASON, D.Y. - Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am. J. Pathol.*, **137**:225-32, 1990.
- REED, J.C. - Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J. Cell. Biol.*, **124**:1-6, 1994.
- REINCKE, M.; KARL, M.; TRAVIS, W.H.; MASTORASKOS, G.; ALLOLIO, B.; LINEHAN, M.; CHOUSOS, G.P. - p53 mutations in human adrenocortical neoplasms: immunohistochemical and molecular studies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **78**:790-4, 1994.

- RIBEIRO, R.C.; SANDRINI-NETO, R.; SCHELL, M.J.; LACERDA, L.; SAMPAIO, G.A.; CAT, I. - Adrenocortical carcinoma in children: a study of 40 cases. **J. Clin. Oncol.**, 8:67-74, 1990.
- RICHIE, J.P. & GITTES, R.F. - Carcinoma of the adrenal cortex. **Cancer**, 45:11957-64, 1980.
- SABBAGA, C.C.; ÁVILLA, S.G., SCHULZ, C.; GARBERS, J.C.; BLUCHER, D. - Adrenocortical carcinoma in children : clinical aspects and prognosis. **J. Pediatr. Surg.**, 28:841-3, 1993.
- SABBAGA, C.C - Tumores de córtex da supra-renal. In: MACKSOUD, J.G. - **Cirurgia Pediátrica**. Rio de Janeiro, R.J., Revinter, 1997, p.1035-42.
- SANDRINI, R.; De LACERDA, L.; SAMPAIO, G. - Adrenal tumors in children : relationship between disease stage and outcome. **Ped. Research**, 33(suppl. 5):S22, 1993.
- SANDRINI, R.; RIBEIRO, R.C.; DeLACERDA, L. - Extensive personal experience - childhood adrenocortical tumors. **J. Clin.Endoc.Metab.**, 82:2027-31, 1997.
- SASANO, H.; SHIZAWA, S.; NAGURA, H. - Adrenocortical cytopathology. **Am. J. Clin. Pathol.**, 104:161-6, 1995.
- SCHECHTER, A.L.; STERN, D.F.; VAIDYANATHAN, L.; WEINBERG, R.A. - The new oncogene: na erb-B-related gene encoding a 185,000-M, tumour antigen. **Nature**, 312:513-6, 1984.

- SCHONK, D.M.; KUIJPERS, H.J.H.; VAN DRUNEN, E.; VAN DALEN, C.H.;
VAN KESSEL, A.H.M.G.; VERHEIJEN, R.; RAMAEKERS, F.C.S. –
Assignment of the gene (s) involved in the expression of the proliferation
related Ki67 antigen to human chromosome 10. *Human Genet.*, **83**:297-9,
1989.
- SCOTT, H.W.; FOSTER, J.H.; RHAMY, R.K. – Surgical management of
adrenocortical tumors with Cushing syndrome. *Ann. Surg.*, **173**:892,
1971.
- SCOTT, H.S.; ABUMRAD, N.N.; ORTH, D.N. – Tumors of the adrenal cortex
and Cushing's Syndrome. *Ann. Surg.*, **201**:586-94, 1985.
- SEIGNEURIN, D. & GUILLAUD, PH. – L'antigène Ki67, marqueur du cycle
cellulaire et la prolifération tumorale. *Pathol. Biol.*, **39**:1020-8, 1991.
- SEMBA, K.; KAMATA, N.; TOYOSHIMA, K.; YAMAMOTO, T. – A v-erb-B-
related protooncogene, ERBB2, is distinct from the c-erb-B1 / epidermal
growth factor-receptor gene and is amplified in a human salivary gland
adenocarcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**:6497-501, 1985.
- SEMER, M.; MALERBI, D.A.; CASTRO, A.B.M.F.; SALGADO, L.R.; NERY, M.;
FORJAZ-JR.; N.G.M.; LIBERMAN, B. – Carcinoma de córtex adrenal
produtor de esteróides: diagnóstico e terapêutica. *Arq. Bras. Endocrinol.*
Metab., **38**:16-22, 1994.

- SILVA, J.M.B.; MIYABARA, S.; GUERRA-JR.; G.; ARANEGA, V.L.; OLIVEIRA, E.R. - Carcinoma de supra-renal da infância - análise de 21 casos atendidos na FCM-UNICAMP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIRURGIA PEDIÁTRICA, 13; CONGRESSO PAULISTA DE CIRURGIA PEDIÁTRICA, 1; São Paulo, 1990. **Tema Livre**. São Paulo, Sociedade Brasileira de Cirurgia Pediátrica, 1990. p56. (Resumo, 107).
- SOOMRO, S.; SHOUSHA, S.; TAYLOR, P.; SHEPARD, H.M.; FELDMANN, M. - C-erb-B2 expression in different histological types of invasive breast carcinoma. *J. Clin. Pathol.*, **44**:211-4, 1991.
- SOUSSI, T.; CARON DE FROMENTAL, C.; MAY, P. - Structural aspects of the p53 protein in relation to gene evolution. *Oncogene*, **5**:945-52, 1990.
- SOUSSI, T.; LEGROS, Y.; LUBIN, R.; ORY, K.; SCHLICHTHOLZ, B. - Multifactorial analysis of p53 alteration in human cancer: a review. *Int. J. Cancer*, **57**:1-9, 1994.
- SRIVASTAVA, S.; ZOU, Z.; PIRLLO K. - Germ-line transmission of a mutated p53 gene in cancer-prone family with Li-Fraumeni syndrome. *Nature*, **348**:747-9, 1990.
- STEWART, D.R.; JONES, P.H.M.; JOLLEYS, A. - Carcinoma of the adrenal gland in children. *J. Pediatr. Surg.*, **9**:59-67, 1974.
- STRONG, L.C. - Genetic and environmental interactions. *Cancer*, **40**(Suppl.):1861-6, 1977.

- SULLIVAN, M.; BOILEAU, M.; HODGES, C.V. - Adrenal cortical carcinoma. *J. Urol.*, **120**: 660-5, 1978.
- TANG, C.K. & GRAY, G.F. - Adrenocortical neoplasms – prognosis and morphology. *Urology*, **5**:691-5, 1975.
- TANK, E.S. & KAY, R. - Neoplasms associated with hemihypertrophy, Beckwith-Wiedemann syndrome and aniridia. *J.Urol.*, **124**:266-8, 1980.
- TAYLOR, S.R.; ROEDERER, M.; MURPHY, R.F. – Flow cytometric DNA analysis of adrenocortical tumors in children. *Cancer*, **59**:2059-63, 1987.
- TEINTURIER, C.; BRUGIÈRES, L.; LEMERLE, J.; CHAUSSAIN, J.L., BOUGNÈRES, P.F. - Corticosurrénales de l'enfant: analyse rétrospective de 54 cas. *Arch. Pédiatr.*, **3**:235-40, 1996.
- TELANDER, R.L.; ZIMMERMAN, D.; KAUFMAN, B.H.; VAN HEERDEN, J.A. – Pediatric Endocrine Surgery. *Surg. Clin. North Am.*, **65**:1551-1587, 1985.
- TSUJIMOTO, Y.; COSSMAN, J.; JAFFE, E.; CROCE, C.M. – Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science*, **228**:1440-3, 1985.
- VAN SLOOTEN, H.; SCHABERG, A.; SMEENK, D.; MOOLENAAR, A.J. - Morphologic characteristics of benign and malignant adrenocortical tumors. *Cancer*, **55**:766-73, 1985.

- VARGAS, M.P.; VARGAS, H.I.; KLEINER, D.E.; MERINO, M.J. – Adrenocortical neoplasms: Role prognostic markers MIB-1, p53, and RB. **Am. J. Surg. Pathol.**, **21**:556-62, 1997.
- VAUX, D.L.; CORY, S.; ADAMS, J.M. – Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and co-operates with c-mic to immortalise pre-B cells. **Nature**, **335**:440-2, 1988.
- VAUX, D.L.; WEISSMAN, I.L.; KIM, S.K. – Prevention of programmed cell death in *Caenorhabditis elegans* by human Bcl-2. **Science**, **258**:1955-7, 1992.
- YANO, T.; LINEHAN, M.; ANGLARD, P.; LERMAN, M. I.; DANIEL, L.N.; STEIN, C.A.; ROBERTSON, C.N.; LAROCCA, R.; ZBAR, B. – Genetics changes in human adrenocortical carcinomas. **J. Natl. Cancer Inst.**, **81**:518-23, 1989.
- YOUNG, J.L. & MILLER, R.W. - Incidence of malignant tumors in U.S. children. **J. Pediatr.**, **86**:254-8, 1975.
- WEISS, L.M. - Comparative histologic study of 43 metastasing and non metastasizing adrenal cortical tumors. **Am. J. Surg. Pathol.**, **8**:163-9, 1984.
- WEISS, L.M.; MEDEIROS, J.; VICKERY, A.L. - Pathologic features of prognostic significance in adrenocortical carcinoma. **Am. J. Surg. Pathol.**, **13**:202-6, 1989.
- WHITE, P.C.; NEW, M.I.; DUPONT, B. – Congenital adrenal hiperplasia. **N. Engl. J. Med.**, **316**:1519-23 , 1987.

- WIEDEMANN, H.R. - Tumours and hemihypertrophy associated with Wiedemann-Beckwith syndrome. *Eur. J. Pediatr.*, **141**:129-32, 1983.
- WOOTEN, M.D. & KING, K.K. - Adrenal cortical carcinoma - epidemiology and treatment with mitotane and review of the literature. *Cancer*, **72**:3145-55, 1993.
- ZOGRAFOS, G.C.; DRISCOLL, D.; KARAKOUSIS, C.; RAO, U.; HUBEN, R. - Staging and grading in survival of adrenal carcinomas. *Eur. J. Surg. Oncol.*, **20**:449-53, 1994.
- ZUTTER, M.; HOCKENBERY, D.; SILVERMAN, G.A.; KORSMEYER, S.J. - Immunolocalization of the bcl-2 protein within hematopoietic neoplasms. *Blood*, **78**:1062-8, 1991.

Bibliografia de Normatizações

10 - Bibliografia de Normatizações

1. HERANI, M.L.G. - Normas para apresentação de dissertação e teses.
BIREME, São Paulo, 1991. 45p.

2. Normas e procedimentos para publicação de dissertações e teses.
Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP. Ed. SAD - OF.
CIR/PRPG/06/95 - Normas ABNT. 1995. 8p.

Anexos

11 - Anexos

ANEXO 1

TABELA REPRESENTANDO O REGISTRO DOS PACIENTES E SEUS ANATOMOPATOLÓGICOS NO HC-UNICAMP, NO DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA DA UNICAMP, NO CENTRO INFANTIL DR. BOLDRINI, E NO INSTITUTO DE PATOLOGIA DE CAMPINAS, DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Paciente	HC-UNICAMP	Patologia-UNICAMP	Boldrini	Instituto de Patologia de Campinas
1	257022.5	32549	316/89	
2	265155.0	35113		
3	269433.0	36877	489/89	
4	286871.1	42531	174/90	
5	299689.0	47291/90		
6	308773.0	50871		
7	323592.7	57741	290/91	
8	157334.0	3618/82	1706	
9	379867.2	77927/92	729/92	
10	379078.3	77821/92	722/92	
11	392432.0	3050/93	208/93	

12	401157.2	5456/93	362/93	
13	526031.2	12715/959	91/96	
14	526327.9	12716/95		
15	546211.0	5874/96		
16	444857.7	4323/94		
17	561962.2	8988/96	498/96	
18	563706.0	9559/96	135/96	
19		10512(SP)	59/95	
20	134192.0		134/92	76356
21	93968.0		1940	107469
22			2216/85	115922
23	209159.8			119969
24	137344.6			121668
25	410037.7		335/93	231857/93
26			703/93	241456/93
27			1919/94	257447/94
28			690/94	260859/94
29			78/95	268102
30	CONS.		168/96	290444/96
31	CONS.		273/96	291645/96
32	551509.8		388/96	296474/96
33	CONS.		715/96	302618/96
TOTAL	27	19	25	14

CONS. = paciente proveniente de consultório de membros da disciplina

ANEXO 2

**TABELA REPRESENTANDO A IDADE, O SEXO, A RAÇA , O TEMPO DE MANIFESTAÇÃO CLÍNICA, A
NATURALIDADE E A PROCEDÊNCIA ATUAL DE 33 CRIANÇAS COM
TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL**

Paciente	Idade (meses)	Sexo	Raça	Tempo de história (meses)	Naturalidade	Procedência
1	38	F	C	12	Caldas - MG	Caldas - MG
2	23	F	C	4	Rio Claro - SP	Rio Claro - SP
3	46	M	C	3	Casa Branca - SP	Mococa - SP
4	36	F	C	10	Leme - SP	Leme - SP
5	19	M	N	4	Machado - MG	Machado - MG
6	23	F	C	22	Campinas - SP	Campinas - SP
7	13	M	N	6	Rafard - SP	Capivari - SP
8	64	M	C	3	Mogi-Mirim - SP	Mogi-Mirim-SP
9	38	F	C	9	Campinas - SP	Campinas - SP
10	36	M	C	3	Campinas - SP	Sumaré - SP
11	26	F	C	3	Americana - SP	Americana-SP
12	23	F	C	5	Itu - SP	Araras - SP
13	28	F	C	6	Cariaçu - MG	Cariaçu - MG
14	12	F	C	3	Passos - MG	Passos - MG
15	2	M	C	1	Andradas - MG	Andradas - MG
16	64	F	C	4	Americana - SP	Americana -SP
17	29	M	C	6	Pirassununga - SP	Pirassununga-SP
18	64	M	N	3	Amparo - SP	Amparo - SP

19	17	F	C	4	Jundiaí - SP	Jundiaí - SP
20	96	F	C	24	Itatiba-SP	Itatiba - SP
21	24	F	C	7	Maristela - SP	Maristela - SP
22	7	M	C	3	Mogi-Guaçu - SP	M. Guaçu - SP
23	56	F	N	19	S. J B. Vista - SP	Aguaí - SP
24	12	F	C	2	Itatiba - SP	Itatiba - SP
25	46	F	C	6	Monte Al. Sul - SP	Monte Al. Sul-SP
26	6	M	C	1	Andradas - MG	Andradas - MG
27	17	F	C	4	Jundiaí - SP	Jundiaí - SP
28	13	F	C	2	Campinas - SP	Campinas - SP
29	29	M	C	6	Birigui - SP	Birigui - SP
30	8	F	C	3	Campinas - SP	Campinas - SP
31	27	F	C	6	Sumaré - SP	Sumaré - SP
32	41	M	N	12	Socorro - SP	Socorro - SP
33	58	F	C	7	Campinas - SP	Campinas - SP
TOTAL	Media = 31	21 F	5N	Média = 4	6 - MG	6 - MG
	Mediana = 27	12 M	28C	Mediana = 6,4	27 - SP	27 - SP

F = feminino, M = masculino, C = caucasóide, N = negróide, SP = São Paulo, MG = Minas Gerais

ANEXO 3

TABELA REPRESENTANDO O CONTATO DO PACIENTES, DO PAI OU DA MÃE COM AGROTÓXICO ANTES DO NASCIMENTO DO FILHO, O LOCAL DE MORADIA, OS MEMBROS DA FAMÍLIA COM ALGUM TIPO DE NEOPLASIA E O GRAU DE PARENTESCO DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Paciente	Paciente + agro	Mãe + agro	Pai + agro	Zona	Neoplasia na família	Grau de parentesco
1	P	P	P	R	P	Tios paternos
2	A	A	A	U	A	A
3	P	P	P	U	A	A
4	A	A	A	U	A	A
5	P	P	P	R	A	A
6	A	A	A	U	A	A
7	P	P	P	R	P	Avô paterno
8	A	A	A	U	A	A
9	A	A	A	U	A	A
10	A	A	A	U	A	A
11	A	A	A	U	A	A
12	A	A	A	U	P	Avô materno
13	A	A	A	R	P	Avô paterno
14	A	A	A	U	A	A
15	A	P	A	U	A	A
16	A	A	A	U	A	A
17	A	A	A	U	P	Avô e tio paterno

18	A	A	A	U	P	Avó materno e avô paterno
19	P	P	A	U	P	Tio materno
20	A	A	A	U	A	A
21	A	A	A	U	A	A
22	A	A	A	U	A	A
23	A	A	A	U	A	A
24	A	A	A	U	A	A
25	A	A	A	U	A	A
26	A	A	A	R	A	A
27	A	A	A	U	P	Avó paterna
28	A	A	A	U	P	Tios paternos
29	A	A	A	U	A	A
30	P	P	A	U	P	Avós paternos
31	A	A	P	U	A	A
32	P	P	A	U	A	A
33	A	A	A	U	A	A
TOTAL*	7P	8P	5P	5R	10P	10P
	26A	25A	28A	28U	23A	23A

A = ausente, P = presente, * 9 famílias acometidas com agrotóxico, R = rural, U = urbana, agro = agrotóxico

ANEXO 4

REPRESENTANDO AS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Pac	Macrog	Clitomeg	Pubarca	Hirsut/ Hipertr	Acne	Alt. Comp	HAS	Voz grave	Massa palpável	Facies cush	Pletora	Alt. da Pele	Obes	Assint	Alt. Crec.
1	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
2	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
3	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-
4	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
6	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
7	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
8	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-
9	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
11	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
12	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
14	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
16	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-
17	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
19	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
20	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
21	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

22	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-
23	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
24	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-
25	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
27	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
28	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
29	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
30	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-
31	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
33	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
T	9	21	30	20	20	18	15	14	10	8	8	7	5	2	1

Macrogn = macrognatossomia, Clitomeg = clitoromegalia, HAS = hipertensão arterial sistêmica, Alt. = alteração + = presença da manifestação clínica, - = ausência de manifestação clínica, pac = paciente, comp = comportamento, cush = cushingóide, obes = obesidade, assint = assintomática, cresc = crescimento

ANEXO 5

**TABELA COM OS RESULTADOS DOS VALORES LABORATORIAIS DE 17-OH URINÁRIO,
17 KS URINÁRIO E SDHEA SÉRICO NO DIAGNÓSTICO DE 33 CRIANÇAS
COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL**

Paciente	17-OH urinário	17-KS urinário	SDHEA sérico
1	aumentado	aumentado	aumentado
2	aumentado	aumentado	aumentado
3	aumentado	aumentado	aumentado
4	aumentado	aumentado	aumentado
5	aumentado	aumentado	aumentado
6	aumentado	aumentado	aumentado
7	aumentado	aumentado	aumentado
8	aumentado	aumentado	NR
9	aumentado	aumentado	aumentado
10	aumentado	aumentado	aumentado
11	aumentado	aumentado	aumentado
12	aumentado	aumentado	aumentado
13	aumentado	aumentado	aumentado
14	aumentado	aumentado	aumentado
15	aumentado	aumentado	aumentado
16	aumentado	aumentado	aumentado
17	aumentado	aumentado	aumentado
18	NR	NR	normal *
19	aumentado	aumentado	aumentado

20	NR	NR	NR
21	aumentado	aumentado	aumentado
22	aumentado	aumentado	aumentado
23	aumentado	aumentado	aumentado
24	aumentado	aumentado	aumentado
25	aumentado	aumentado	aumentado
26	aumentado	aumentado	normal*
27	aumentado	aumentado	aumentado
28	aumentado	aumentado	aumentado
29	aumentado	aumentado	aumentado
30	aumentado	aumentado	aumentado
31	aumentado	aumentado	aumentado
32	aumentado	aumentado	aumentado
33	aumentado	aumentado	aumentado
TOTAL			2 normais
	2 NR	2 NR	2 NR
	31 aumentados	31 aumentados	29 aumentados

NR = não realizado, 17-OH = 17-hidroxicorticosteróides, 17-KS = 17-cetoesteróides, SDHEA = sulfato de deidroepiandrosterona

* Exames colhidos 1 semana do pós-operatório

ANEXO 6

TABELA REPRESENTANDO OS RESULTADOS DIAGNÓSTICOS DE EXAMES RADIOLÓGICOS DO TÓRAX, ULTRASSOM (US) E TOMOGRAFIA AXIAL COMPUTADORIZADA (TAC) DE ABDOME COM AS RESPECTIVAS MEDIDAS EM MM, DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Paciente	RX de tórax	Ultrassom de abdome (tamanho do tumor em mm)	Tomografia de abdome (tamanho do tumor em mm)
1	Sem alterações	Alterado	Alterado (40x30x24)
2	Sem alterações	Alterado (50x30x30)	Alterado (45x30x30)
3	Sem alterações	Alterado (80x50x50)	Alterado (80x55x50)
4	NR	NR	Alterado (63x51x49)
5	Sem alterações	Alterado (106x78x81)	Alterado (100x80x80)
6	Sem alterações	Alterado (56x44x38)	Alterado (55x45x40)
7	Sem alterações	Alterado	Alterado
8	Sem alterações	NR	Alterado
9	Sem alterações	Alterado (65x57x32)	Alterado (66x58x30)
10	Sem alterações	Alterado	Alterado
11	Sem alterações	Alterado (40x40x31)	Alterado (40x40x30)
12	Sem alterações	Alterado	Alterado
13	Sem alterações	Normal	Alterado (30x30x20)
14	Sem alterações	Alterado (60x30x30)	Alterado (50x60x60)
15	Sem alterações	Alterado (30x30x30)	Alterado (30x30x30)
16	Sem alterações	Alterado (30x20x20)	Alterado (30x20x20)
17	Sem alterações	Alterado (45x43x38)	Alterado (45x45x40)

18	Alterado	NR	NR
19	Sem alterações	Alterado (33x33x30)	Alterado (30x35x30)
20	Alterado	Alterado	NR
21	Sem alterações	Alterado	NR
22	Sem alterações	Alterado (50x40x30)	NR
23	Sem alterações	Alterado	NR
24	NR	Alterado (80x60x50)	Alterado (80x60x50)
25	Sem alterações	Alterado (20x25x20)	Alterado (23x25x20)
26	Sem alterações	Alterado (80x82x75)	Alterado (80x75x80)
27	Sem alterações	Alterado (80x60x50)	NR
28	Sem alterações	Alterado (42x38x27)	Alterado
29	Sem alterações	Alterado (37x30x30)	Alterado
30	Sem alterações	Alterado (32x20x35)	Alterado (30x30x30)
31	Sem alterações	Alterado (33x34x33)	Alterado (35x30x35)
32	Sem alterações	Alterado (110x110x105)	Alterado (120x110x95)
33	Sem alterações	Alterado (52x52x46)	Alterado (55x50x45)
TOTAL	2 NR	3 NR	6 NR
	2 Alterados	1 Normal	
	29 Sem alterações	29 Alterados	27Alterados

NR = exame não realizado

ANEXO 7

TABELA REPRESENTANDO O LADO DA GLÂNDULA SUPRA-RENAL ACOMETIDA, O TIPO DE INCISÃO CIRÚRGICA, OS PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS REALIZADOS E AS COMPLICAÇÕES INTRA-OPERATÓRIAS E PÓS-OPERATÓRIAS IMEDIATAS DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Paciente	Lado acometido	Incisão	Procedimentos Cirúrgicos	Complicações intra-operatórias	Complicações pós-operatórias
1	Direito	transversa	exérese total	ausente	infecção de parede
2	Direito	transversa	exérese total	ausente	ausente
3	Esquerdo	transversa	exérese total	ausente	ausente
4	Direito	transversa	exérese total	ausente	ausente
5	Esquerdo	transversa	exérese total	ausente	ausente
6	Direito	transversa	exérese total	ausente	ausente
7	Direito	transversa	biópsia	ausente	ausente
8	Direito	transversa	exérese total	ausente	ausente
9	Esquerdo	transversa	exérese total	ausente	ausente
10	Esquerdo	transversa	exérese total	rotura tumoral	ausente
11	Esquerdo	transversa	exérese total	ausente	ausente
12	Direito	Chevron	exérese total	ausente	ausente
13	Esquerdo	Chevron	exérese total	ausente	ausente
14	Esquerdo	Chevron	exérese total	ausente	ausente
15	Esquerdo	Chevron	exérese total	ausente	óbito
16	Esquerdo	Chevron	exérese total	ausente	ausente
17	Direito	Chevron	exérese total	ausente	ausente

18	Direito	mediana	biópsia	rotura tumoral	choque hipovolêmico
19	Esquerdo	transversa	exérese total	ausente	ausente
20	Esquerdo	transversa	exérese total	ausente	ausente
21	Direito	transversa	exérese total	rotura tumoral	infecção de parede
22	Direito	transversa	exérese total	ausente	ausente
23	Esquerdo	transversa	exérese total	ausente	ausente
24	Direito	transversa	exérese total	ausente	ausente
25	Direito	transversa	exérese total	ausente	infecção urinária
26	Direito	transversa	exérese total	lesão de V. Cava	obstrução intestinal
27	Esquerdo	transversa	exérese total	ausente	ausente
28	Esquerdo	transversa	exérese total	rotura tumoral	ausente
29	Direito	transversa	exérese total	ausente	ausente
30	Direito	transversa	exérese total	sangramento	ausente
31	Direito	Chevron	exérese total	ausente	ausente
32	Esquerdo	Chevron	exérese total	ausente	infecção de parede
33	Esquerdo	Chevron	exérese total	ausente	ausente
TOTAL	17 Direito	1 mediana	2 biópsias	6 presentes	7 presentes
	16 Esquerdo	9 Chevron	31 exérese totais	27 ausentes	26 ausentes
		23 transversas			

ANEXO 8

TABELA REPRESENTANDO O PESO TUMORAL (G), O VOLUME TUMORAL (mL), O ESTADIAMENTO TUMORAL DE ACORDO COM SULLIVAN et al. (1978) E O GRAU DE MALIGNIDADE TUMORAL (CONTAGEM DO NÚMERO TOTAL DE MITOSES EM 10 E 50 CAMPOS EM HPF) DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Paciente	Peso (g)	Volume (mL)	Estad. de Sullivan et al. (1978)	Nº total de mitoses em 10 HPF	Nº total de mitoses em 50 HPF	Grau de malignidade
1	90	70	I	2	4	B
2	16	25	I	1	1	B
3	160	220	II	2	9	B
4	160	160	II	0	0	B
5	507	640	III	1	4	B
6	201	154	II	0	1	B
7	7	6	IV	0	3	B
8	201	448	III	0	6	B
9	128	110	II	3	5	B
10	250	195	II	10	25	B
11	30	27	I	0	2	B
12	40	40	I	1	25	A
13	16	25	I	1	8	B
14	100	180	II	13	75	A
15	20	20	I	2	12	B
16	27	15	I	0	2	B

17	48	50	I	2	12	B
18	1300	1040	IV	19	62	A
19	12	27	I	1	4	B
20	3700	2300	IV	11	67	A
21	100	120	III	1	3	B
22	88	68	I	0	5	B
23	68	96	I	0	6	B
24	164	240	II	4	12	B
25	10	8	I	0	5	B
26	180	153	II	0	10	B
27	66	240	II	1	3	B
28	35	64	I	3	19	B
29	40	48	I	1	10	B
30	22	50	I	6	16	B
31	20	40	I	1	4	B
32	840	600	II	1	5	B
33	70	75	I	3	6	B

TOTAL	264g média	229cm ³ média	18= estágio I	4 > 10 mit/10 HPF	5 > 20 mit/20 HPF	5 = A
	70g mediana	72cm ³ mediana	9= estágio II	29 < 10 mit/10 HPF	28 < 20 mit/20 HPF	28 = B
			3= estágio III			
			3= estágio IV			

HPF = High Power Field (campo de ocular X 40), B = baixo, A = alto

ANEXO 9

TABELA REPRESENTANDO OS DIAGNÓSTICOS DE MALIGNIDADE TUMORAL PELOS CRITÉRIOS DE HOUGH *et al.* (1979), WEISS *et al.* (1984), VAN SLOOTEN *et al.* (1985), CAGE *et al.* (1986) E RIBEIRO *et al.* (1990), DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Paciente	HOUGH <i>et al.</i> (1979)	WEISS <i>et al.</i> (1984)	VAN SLOOTEN <i>et al.</i> (1985)	CAGLE <i>et al.</i> (1986)	RIBEIRO <i>et al.</i> (1990)
1	M	B	M	B	B
2	I	M	M	B	B
3	M	M	M	B	M
4	I	M	M	B	M
5	M	M	M	M	M
6	M	M	M	B	M
7	M	M	M	B	B
8	M	M	M	B	M
9	I	M	M	B	M
10	M	M	M	B	M
11	I	M	M	B	B
12	M	M	M	B	B
13	M	M	M	B	B
14	I	M	M	B	M
15	I	M	M	B	B
16	M	M	M	B	B
17	M	M	M	B	B

18	M	M	M	M	M
19	M	M	M	B	B
20	I	M	M	M	M
21	M	M	M	B	M
22	M	M	M	B	B
23	I	M	M	B	B
24	M	M	M	B	M
25	I	M	M	B	B
26	M	M	M	B	M
27	M	M	M	B	M
28	I	M	M	B	B
29	I	M	M	B	B
30	M	M	M	B	B
31	I	B	M	B	B
32	M	M	M	M	M
33	M	M	M	B	B
TOTAL(%)	21 M (64%)	31 M (94%)	33 M (100%)	4 M (12%)	15 M (45%)
	12 I (36 %)	2 B (6%)		29 B (88%)	18 B (55%)

B = Tumor benigno (adenoma), M = tumor maligno (adenocarcinoma) e I = tumor indeterminado

ANEXO 10

**TABELA REPRESENTANDO OS RESULTADOS IMUNOHISTOQUÍMICOS DOS
ANTÍGENOS P53, BCL-2, C-ERB-B2 E MIB-1 DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR
DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL**

Paciente	p53	MiB-1	c-erb-B2	bcl-2
1	-	-	-	+
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	-	-	-	-
15	-	-	-	-
16	-	-	-	-
17	-	-	-	-
18	-	-	-	-
19	-	-	-	-

20	-	-	-	-
21	-	-	-	+++
22	-	-	-	-
23	-	-	-	++
24	-	-	-	-
25	-	-	-	+++
26	-	-	-	++
27	-	-	-	+
28	-	++	-	-
29	-	-	-	+
30	-	-	-	-
31	-	-	-	++
32	-	-	-	-
33	-	-	-	++
TOTAL		1P		9P
	33N	32N	33N	24N

- = nenhuma célula reativa
 + = menos de 10% das células com reatividade
 ++ = de 10 a 50% das células com reatividade
 +++ = acima de 50% das células com reatividade
 P = positivo e N = negativo

ANEXO 11

TABELA REPRESENTANDO A EVOLUÇÃO POR MEIO DA SITUAÇÃO ATUAL ENQUANTO MANTIVERAM ACOMPANHAMENTO NO SERVIÇO, DA CAUSA ÓBITO, DO TEMPO DE SOBREVIDA (MESES) E DO TEMPO DE PERDA DE SEGUIMENTO (EM MESES), DE 33 CRIANÇAS COM TUMOR DO CÓRTEX DA SUPRA-RENAL

Nome	Situação	Causa óbito	Sobrevida (meses)	Perda de seguimento (meses)
1	vivo e sem doença		97	
2	vivo e sem doença		94	
3	vivo e sem doença		92	
4	vivo e sem doença		86	
5	vivo e sem doença		5	12
6	vivo e sem doença		78	
7	vivo e sem doença		72	
8	óbito	progressão da doença	12	
9	vivo e sem doença		56	
10	vivo e sem doença		56	
11	vivo e sem doença		53	

12	vivo e sem doença		49	
13	vivo e sem doença		18	
14	vivo e sem doença		18	
15	óbito	septicemia no P.O.	óbito no 3º P.O.	
16	vivo e sem doença		13	18
17	vivo e sem doença		12	
18	vivo e sem doença		29	
19	vivo e sem doença		26	
20	óbito	progressão da doença	7	
21	óbito	septicemia	11	
22	vivo e sem doença		25	36
23	vivo e sem doença		114	
24	vivo e sem doença		24	24
25	vivo e sem doença		51	
26	vivo e sem doença		45	
27	vivo e sem doença		158	

28	vivo e sem doença	21		
29	vivo e sem doença	30		
30	vivo e sem doença	14		
31	vivo e sem doença	14		
32	vivo e sem doença	12		
33	vivo e sem doença	8		
Total	29 livres de doença	2 tumorais	média = 43	4 pacientes
	4 óbitos	2 infecciosas	mediana = 27	