

**ROSANA MARQUES PEREIRA**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE PORTADORES DA  
MUTAÇÃO *TP53* R337H PARENTES DE PACIENTES PORTADORES DA  
MUTAÇÃO E COM TUMOR DO CÓRTEX ADRENAL NA INFÂNCIA**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, do Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Romolo Sandrini

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz de Lacerda Filho

**CURITIBA**

**2006**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

*Aos meus pais, Lindolfo e Izailda,  
pela dedicação em construir uma família cujos pilares são o  
amor, a união e o respeito. Seus ensinamentos e exemplo  
de vida sempre me orientam na busca dos meus ideais.*

*Ao Francisco, Rodrigo e Luiza, por  
fazerem parte da minha vida e representarem  
o que nela há de melhor.*

## AGRADECIMENTOS

Aos meus irmãos, Sérgio, Sandro e Sidnei, que sempre estiveram presentes, acompanhando o período da realização deste trabalho e em todos os outros momentos importantes da minha vida. Vocês, que agora junto com a Tatiana, Natália, Manuela, Kelly, Eduardo, Andréa e Luiz Felipe, estão ajudando a construir a nossa família, que sempre será o porto seguro para os momentos difíceis e o motivo para sempre querer buscar o melhor.

Ao Professor Romolo Sandrini, pelo incentivo, pela orientação e dedicação para a realização deste trabalho. Seus importantes ensinamentos de Endocrinologia Pediátrica e da prática da Medicina humana serão sempre a base do meu trabalho.

Ao Professor Luiz de Lacerda Filho, co-orientador desta tese, por seus ensinamentos e valiosas sugestões. Sua determinação em sempre buscar o conhecimento e ensiná-lo com entusiasmo e dedicação é um modelo que pretendo seguir por toda minha vida profissional.

À Professora Suzana Nesi França, pela amizade e pelo incentivo constantes.

À Professora Margaret Cristina Silva Boguszewski, pelo companheirismo e incentivo.

À Professora Mônica Nunes Lima Cat, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente do Departamento de Pediatria da UFPR, pela dedicação na realização da análise estatística dos dados e ao Curso de Pós-Graduação.

Ao Professor Bonald Cavalcanti Figueiredo, um dos idealizadores deste trabalho, pelas importantes sugestões.

À Elis Rosane Sade, grande responsável pelo contato direto com as famílias das crianças avaliadas, por sua dedicação.

À Anita Kochler, pelo auxílio na busca ativa das crianças para as consultas.

À psicóloga Jandira Maria Kondera Mengareli, pela disponibilidade para avaliação das crianças e das famílias e pelas palavras de incentivo sempre presentes.

À Assistente Social Francisca de Lara, pela orientação dos pacientes.

Ao Dr. Raul C. Ribeiro, pelo apoio para o início deste trabalho.

Aos Professores Izrail Cat e Mitsuru Miyaki, pelos ensinamentos em Pediatria.

Ao Professor Rubens Cat, Chefe do Departamento de Pediatria e aos demais Professores do Departamento de Pediatria, pela contribuição na formação profissional.

Aos médicos residentes, especializando e mestrando da Unidade de Endocrinologia Pediátrica, pelo auxílio na avaliação das crianças.

Aos demais funcionários da Unidade de Endocrinologia Pediátrica: Neuza, Vera, Marília, Marli, Dirce, Mariângela, Terezinha e Lourdes, pelo apoio para a realização deste trabalho.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, pela dedicação.

Aos Colegas do Curso de Pós-Graduação, pelo incentivo.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste estudo, e que infelizmente não pude citar.

Às famílias e às crianças que participaram (e continuarão a participar) deste estudo. A busca do conhecimento sempre terá como principal objetivo trazer benefícios a um maior número possível de pessoas.

A Deus, pela família e pela vida, que tem sido repleta de alegrias e grandes oportunidades.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS E QUADROS</b> .....	vii
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	viii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	x
<b>RESUMO</b> .....	xi
<b>ABSTRACT</b> .....	xii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 OBJETIVOS .....	3
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	4
2.1 TUMOR DO CÓRTEX ADRENAL NA INFÂNCIA .....	4
2.1.1 Características Clínicas .....	4
2.1.2 Estadiamento do TCA.....	5
2.1.3 Tratamento do TCA .....	6
2.1.4 TCA e Doenças Hereditárias .....	7
2.2 O GENE <i>TP53</i> E A PROTEÍNA P53 .....	9
2.3 SÍNDROME DE LI-FRAUMENI E SÍNDROME DE LI-FRAUMENI <i>LIKE</i> .....	11
2.3.1 Definição.....	11
2.3.2 Etiologia .....	13
2.3.3 Freqüência e Morfologia dos Cânceres na SLF .....	14
2.4 MUTAÇÕES GERMINATIVAS DO GENE <i>TP53</i> E O TCA .....	14
2.5 MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	15
2.5.1 Identificação da Mutação.....	15
2.5.2 Descrição da Mutação <i>TP53</i> R337H .....	16
2.5.3 Mutação <i>TP53</i> R337H e História de Câncer Familiar.....	18
2.5.4 Penetrância da Mutação R337H.....	19
<b>3 PACIENTES E MÉTODOS</b> .....	20
3.1 METODOLOGIA.....	20
3.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO .....	20
3.3 CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO .....	21
3.3.1 Freqüência das Consultas .....	21
3.3.2 Roteiro das Consultas .....	22

3.3.3	Avaliação Antropométrica.....	22
3.3.4	Detecção da Mutação.....	23
3.3.5	Dosagens Hormonais .....	23
3.3.6	Exames de Imagem.....	24
3.4	TRATAMENTO ESTATÍSTICO .....	24
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>25</b>
4.1	IDADE NA PRIMEIRA CONSULTA E SEXO .....	26
4.2	TEMPO DE ACOMPANHAMENTO .....	26
4.3	CONSULTAS .....	26
4.4	DOSAGENS HORMONAIS.....	27
4.4.1	DHEA-S .....	27
4.4.2	Testosterona.....	31
4.4.3	Cortisol.....	35
4.5	ULTRA-SONOGRAFIA DE LOJAS ADRENAIS.....	37
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>39</b>
5.1	A MUTAÇÃO GERMINATIVA <i>TP53</i> R337H E O TCA.....	39
5.2	A POPULAÇÃO ESTUDADA .....	41
5.2.1	Sexo e Idade na Primeira Consulta .....	41
5.2.2	Intervalo entre as Consultas .....	42
5.2.3	Tempo de Acompanhamento .....	42
5.2.4	Avaliação Clínica .....	43
5.2.5	Dosagens Hormonais .....	43
5.2.6	Avaliação por Exame de Imagem.....	44
5.3	ACONSELHAMENTO GENÉTICO PARA INDIVÍDUOS ASSINTOMÁTICOS E PORTADORES DE MUTAÇÕES GERMINATIVAS DO GENE <i>TP53</i> .....	45
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>50</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>51</b>
	<b>APÊNDICE 1 - PROTOCOLO DE ATENDIMENTO</b> .....	<b>58</b>
	<b>APÊNDICE 2 - DADOS GERAIS DAS CRIANÇAS</b> .....	<b>59</b>
	<b>ANEXO 1 - TERMO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM SERES HUMANOS DO HOSPITAL DE CLÍNICAS/UFPR</b> .....	<b>61</b>
	<b>ANEXO 2 - PUBLICAÇÕES</b> .....	<b>63</b>

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

TABELA 1	DISTRIBUIÇÃO DAS 57 CRIANÇAS SEM TUMOR PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H DE ACORDO COM O ANO DE INÍCIO DO ACOMPANHAMENTO NA UEP.....	25
TABELA 2	DISTRIBUIÇÃO DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA E O SEXO.....	26
TABELA 3	MÉDIA, DESVIO-PADRÃO (DP), MEDIANA, TEMPO MÍNIMO E MÁXIMO DE ACOMPANHAMENTO (EM ANOS) DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	26
TABELA 4	MÉDIA, DESVIO-PADRÃO (DP), MEDIANA, NÚMERO MÍNIMO E MÁXIMO DE CONSULTAS REALIZADAS PARA CADA CRIANÇA PORTADORA DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	26
TABELA 5	MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE DHEA-S ( $\mu\text{g/dl}$ ) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA ENTRE > 4 E 8 ANOS, DOS MENINOS E MENINAS PORTADORES DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	27
TABELA 6	MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE DHEA-S ( $\mu\text{g/dl}$ ) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA ENTRE > 8 E 15 ANOS, DOS MENINOS E MENINAS PORTADORES DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	27
TABELA 7	MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/ml) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA $\leq$ 4 ANOS, DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	31
TABELA 8	MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/dL) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA ENTRE > 4 E 8 ANOS, DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	32
TABELA 9	MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/mL) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA ENTRE > 8 E 15 ANOS, DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	32
TABELA 10	MEDIANA, MÍNIMO, MÁXIMO DOS VALORES CORTISOL ( $\mu\text{g/dL}$ ) E NÚMERO DE DOSAGENS, DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	36
QUADRO 1-	ESTADIAMENTO DO TCA EM CRIANÇAS.....	6
QUADRO 2 -	RESUMO DAS DOENÇAS GENÉTICAS RELACIONADAS AO TCA.....	8
QUADRO 3 -	VALORES DE REFERÊNCIA DOS EXAMES LABORATORIAIS.....	24



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	FIGURA ESQUEMÁTICA DOS PRINCIPAIS PROCESSOS SINALIZADORES E GENES REGULADOS PELA P53 .....	10
FIGURA 2	HEREDOGRAMA DE 1 DAS 4 FAMÍLIAS DESCRITAS POR LI E FRAUMENI .....	12
FIGURA 3	HEREDOGRAMA DE 1 DAS 9 FAMÍLIAS COM SLFL DESCRITAS POR BIRCH ET AL.....	13
FIGURA 4	FIGURA ESQUEMÁTICA DAS ALTERAÇÕES SOFRIDAS PELA PROTEÍNA MUTANTE p53tet-R337H DE ACORDO COM A VARIAÇÃO DO pH .....	17
GRÁFICO 1	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S ( $\mu\text{g/dL}$ ), SEGUNDO A IDADE CRONOLÓGICA, DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	28
GRÁFICO 2	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S ( $\mu\text{g/dL}$ ), SEGUNDO A IDADE CRONOLÓGICA, DAS MENINAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	28
GRÁFICO 3	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S DAS CRIANÇAS DE AMBOS OS SEXOS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A IDADE E A FREQUÊNCIA DAS DOSAGENS.....	29
GRÁFICO 4	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES CORRESPONDENTES AO 50. <sup>o</sup> P DE DHEA-S DAS CRIANÇAS DE AMBOS OS SEXOS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A IDADE .....	30
GRÁFICO 5	VARIAÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S DOS MENINOS, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA .....	30
GRÁFICO 6	VARIAÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S DAS MENINAS, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA .....	31
GRÁFICO 7	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/mL) DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	32
GRÁFICO 8	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/mL) DAS MENINAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H.....	33
GRÁFICO 9	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/mL) DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A IDADE E A FREQUÊNCIA DAS DOSAGENS .....	33
GRÁFICO 10	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES CORRESPONDENTES AO 50. <sup>o</sup> P DE TESTOSTERONA DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A IDADE .....	34
GRÁFICO 11	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES CORRESPONDENTES AO 50. <sup>o</sup> P DE TESTOSTERONA DAS MENINAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A IDADE .....	34
GRÁFICO 12	VARIAÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/dL) DOS MENINOS, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA.....	35

GRÁFICO 13	VARIAÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/dL) DAS MENINAS, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA.....	35
GRÁFICO 14	DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE CORTISOL ( $\mu$ g/dL) DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A IDADE.....	36
GRÁFICO 15	VARIAÇÃO DOS VALORES DE CORTISOL ( $\mu$ g/dL) DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA .....	37
GRÁFICO 16	VARIAÇÃO DOS VALORES DE CORTISOL ( $\mu$ g/dL) DAS MENINAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA .....	37

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACT	- <i>Adrenocortical tumor</i>
ACTH	- Hormônio adrenocorticotrófico
ASCO	- <i>American Society of Clinical Oncology</i> (Associação Americana de Oncologia Clínica)
aUS	- <i>Adrenal ultrasound</i>
CAC	- adenina
CEGEMPAC	- Centro de Genética Molecular e Pesquisa do Câncer Infantil
CETAC	- Centro de Tomografia Computadorizada S/C
CGC	- guanina
DDT	- Dicloro- difenil-etano
DHEA-S	- Sulfato de de-hidroepiandrosterona
DNA	- <i>Desoxirribonucleic acid</i> (ácido desoxirribonucléico)
DNPPA	- Doença nodular primária pigmentada da adrenal
DP	- Desvio(s)-padrão
GH	- Hormônio de crescimento
HAMIA	- Hiperplasia adrenal macronodular independente de ACTH
IC	- Intervalo de confiança
IGF-II	- Fator de crescimento insulina-símile II
LOH	- Perda de heterozigosidade
MRI	- <i>Magnetic resonance imaging</i>
p53tet-R337H	- Proteína p53 resultante da mutação R337H do gene <i>TP53</i>
PCR	- <i>Polymerase chain reaction</i>
PRL	- Prolactina
RNM	- Ressonância nuclear magnética
SD	- <i>Standard deviation</i>
SLF	- Síndrome de Li-Fraumeni
SLFL	- Síndrome de Li-Fraumeni <i>like</i>
SMA	- Síndrome de McCune-Albright
SNC	- Sistema Nervoso Central
TAC	- Tomografia axial computadorizada
TCA	- Tumor do córtex adrenal
UEP	- Unidade de Endocrinologia Pediátrica
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
USa	- Ultra-sonografia das lojas adrenais
UV	- Ultravioleta

## RESUMO

Mais de 90% das crianças com tumor do córtex adrenal (TCA) no Estado do Paraná têm a mutação germinativa *TP53* R337H. A penetrância desta mutação para o TCA na infância foi calculada em 9,9%. Este estudo tem como objetivo seguir parentes de crianças portadoras de TCA e que apresentam esta mutação, para confirmar tal penetrância e diagnosticar precocemente um possível TCA. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Os pais foram informados sobre o protocolo do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Informado. Sessenta e seis crianças (33 meninas), de 0,2 a 15 anos, portadoras da mutação *TP53* R337H, foram incluídas neste estudo. Nove (3 meninas) foram perdidas para seguimento, apesar de reconvocações repetidas. Cinquenta e sete (31 meninas) prosseguem com controle clínico e laboratorial. O ano de início do acompanhamento e o número de crianças incluídas foram: 1999: 1; 2000: 0; 2001: 25; 2002: 16; 2003: 11; 2004: 2; 2005: 2. De acordo com a idade cronológica, elas foram distribuídas em três grupos: G1 (0 - 4 anos, 13 F e 11 M), G2 (>4 – 8 anos, 8 F e 7 M) e G3 (>8 – 15 anos, 10 F e 8 M). O intervalo das consultas das crianças do grupo G1 foi de três meses, do grupo G2 de quatro meses e do grupo G3 de seis meses. Se uma criança perdia a consulta, a família era imediatamente contatada e uma nova consulta era agendada. Em cada consulta procedeu-se a: avaliação clínica, coleta de sangue (8h) para dosagens de DHEA-S, testosterona (T) e cortisol e realização de ultrasonografia de lojas adrenais (USa). O tempo mínimo e máximo de seguimento até maio de 2006 foram 0,8 e 6,9 anos, média  $\pm$  desvio-padrão (DP) de  $3,9 \pm 1,3$  e mediana de 3,9. A média  $\pm$  DP do número de consultas por paciente foi de  $9,9 \pm 4,5$ , com uma mediana de 10, mínimo de 3 e máximo de 19 consultas. Nenhuma criança apresentou sinais clínicos de TCA. Os valores de DHEA-S foram  $< 15 \mu\text{g/dL}$  e passaram a aumentar após os 84 meses em todas as crianças, exceto em 1 menina, que iniciou o acompanhamento aos 3,9 anos de idade e apresentou todos os valores de DHEA-S elevados (31,0, 64,0, 49,0 e  $80 \mu\text{g/dL}$ ); sua irmã apresentou adenoma adrenocortical diagnosticado aos 5,5 anos. As USa repetidas e a tomografia computadorizada foram normais. As médias  $\pm$  DP dos valores de T (ng/mL) foram iguais nos meninos e meninas nos grupos G1 e G2; no grupo G3 foram de  $32,25 \pm 19$  e  $135,63 \pm 165,9$  ( $p < 0,001$ ) nas meninas e meninos, respectivamente. Os valores de cortisol foram normais. Foram realizadas 236 USa e 3 consideradas anormais; entretanto, RNM (1 caso) e tomografia computadorizada (2) foram normais. Em conclusão, o tempo médio de quatro anos de seguimento não foi suficiente para confirmar o risco estimado de 10% de ocorrência de TCA na infância. Entretanto, esta coorte será acompanhada por vários anos, para verificar se o risco de 10% é correto.

**Palavras-chave:** Tumor do córtex adrenal, mutação germinativa *TP53* R337H, penetrância.

## ABSTRACT

More than 90% of children with adrenocortical tumor (ACT) in the state of Parana have the *TP53* R337H germline mutation. ACT penetrance related to this mutation is calculated to be 9.9%. This study aimed to follow siblings of children with ACT, with this mutation, in order to confirm this percentage of risk and to diagnose the ACT as early as possible. This study was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Parana School Hospital. Parents were informed about the study protocol and signed a written consent. Sixty-six children (33 girls), aged 0.2 to 15 y, with the *TP53* R337H, were enrolled in this study. Nine (2 girls) were lost for follow-up, despite repeated recall. Fifty-seven children (31 girls) have been under close clinical and laboratory evaluation. Year of beginning and number of children included in the study were: 1999, 1; 2000, 0; 2001: 25; 2002, 16; 2003: 11; 2004: 2 and 2005:2. They were distributed according to chronological age in three groups: G1 (0-4 y, 13 F and 11 M), G2 (>4-8 y, 8 F and 7 M) and G3 (>8-15 y, 10 F and 8 M). Children of G1 have been seen every 3 months, of G2 every 4 months and of G3 every 6 months. If a child missed a visit, the family was immediately contacted and a new visit scheduled. Clinical examination, 8:00 A.M. DHEA-S, testosterone and cortisol and high-resolution adrenal ultrasound (aUS) were performed in each visit. Minimum and maximum time of follow-up until May 2006 were 0.8 and 6.9 y, with a mean  $\pm$  SD of  $3.9 \pm 1.3$  and a median of 3.9. The mean  $\pm$  SD number of visits was  $9.9 \pm 4.5$ , with a median of 10, minimum 3 and maximum 19. By the time being, any child has shown clinical signs of ACT. DHEA-S values were below 15  $\mu\text{g/dL}$  and started to rise after 84 months in all but 1 girl, who always had high values (31.0, 64.0, 49.0 and 80.0  $\mu\text{g/dL}$ ); she entered the study at age 3.9 and her sister had an adrenal adenoma diagnosed at age 5.5. aUS and computerized tomography evaluations are normal. Mean  $\pm$  SD testosterone values (ng/dL) were similar for boys and girls in G1 and G2; in G3 were  $135.63 \pm 165.9$  and  $32.25 \pm 19$  ( $p < 0.001$ ) for boys and girls, respectively. All cortisol values were in the normal range. A total of 236 aUS were performed and considered abnormal in 3 children; however MRI in one and computerized tomography in two were normal. In conclusion, the time of 4 y of follow-up was not sufficient to confirm the risk of 10%, even if the child who has had high levels of DHEA-S might have ACT. Nevertheless, this cohort will be followed for many years in order to ascertain that the 10% risk to develop ACT is correct.

**Key words:** adrenocortical tumor, *TP53* R337H germline mutation, penetrance.

## 1 INTRODUÇÃO

O tumor do córtex adrenal (TCA) é raro na infância. A maioria dos registros baseados em dados populacionais relata uma incidência anual de 0,2 a 0,5 casos por milhão de habitantes, em indivíduos com idade inferior a 15 anos (PARKIN et al., 1988; BIRCH e BLAIR, 1988; DESANDES et al., 2004; BERNSTEIN e GURNEY, 2006). Entretanto, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, em especial no Estado do Paraná, a incidência do TCA é de 10 a 15 vezes maior que a mundial (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997). Dados recentes, baseados na taxa de mortalidade por TCA em Curitiba e região metropolitana, confirmam os dados de Sandrini et al., sendo a incidência anual deste tumor de aproximadamente 3,4 casos/1.000.000 no Estado do Paraná (PIANOVSKI et al., 2006a).

Essa diferença regional na ocorrência de TCA na infância foi relatada pela primeira vez no final da década de 1960 por Marigo, Muller e Davies (1969), ao avaliarem os casos de câncer em crianças admitidas na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, no período de 15 anos. Estes autores encontraram 12 casos de TCA na infância neste período, que correspondiam a 2,9% dos tumores sólidos, enquanto no *Hospital for Sick Children* em Londres, 16 casos (0,8% dos tumores sólidos) foram detectados em um período de 40 anos.

Na Unidade de Endocrinologia Pediátrica do Departamento de Pediatria do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UEP), 137 crianças com TCA foram avaliadas no período de 41 anos (dados não publicados), e descrições detalhadas das características clínicas, laboratoriais e de tratamento de 125 destas crianças foram recentemente publicadas (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2005; MARQUES-PEREIRA et al., 2006). Neste grupo, algumas das crianças pertenciam a uma mesma família, totalizando oito famílias com dois ou mais casos de TCA na infância (FIGUEIREDO et al., 2000; MARQUES-PEREIRA et al., 2004).

Em 1999 foi identificada a mutação germinativa *TP53* R337H em 29 pacientes portadores de TCA atendidos na UEP (SANDRINI, 1999). Posteriormente, com uma ampliação do número de crianças avaliadas, observou-se que esta mutação ocorre com uma alta prevalência nos pacientes atendidos neste serviço, pois foi detectada em 35 das 36 crianças portadoras de TCA avaliadas (RIBEIRO et al., 2001). Esta mutação, fortemente relacionada com os casos de TCA no Estado do Paraná, também está presente em crianças e adultos portadores de TCA atendidos em serviços do Estado de São Paulo (LATRONICO et al., 2001; SANDRINI et al., 2005).

Mutações germinativas no gene supressor tumoral *TP53* estão, em geral, relacionadas à Síndrome de Li-Fraumeni (SLF), uma síndrome de câncer familiar, de transmissão autossômica dominante, caracterizada pela ocorrência de vários tipos de câncer nas famílias afetadas (LI e FRAUMENI, 1969; HELMAN e MALKIN, 2005). As crianças portadoras de TCA atendidas no Paraná e em São Paulo não apresentam uma história familiar de câncer compatível com o diagnóstico da SLF clássica (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997; SANDRINI, 1999; LATRONICO et al., 2001; SANDRINI et al., 2005). Entretanto, em oito famílias observou-se a ocorrência de dois ou mais casos de TCA na infância (FIGUEIREDO et al., 2006).

A penetrância da mutação *TP53* R337H para o desenvolvimento do TCA foi calculada em 9,9%, com variação entre 8,7% e 11,1% (IC de 95%). Este cálculo indica a possibilidade de que 1 em cada 10 indivíduos portadores da mutação irá desenvolver TCA até os 10 anos de idade (FIGUEIREDO et al., 2006; RIBEIRO et al., 2006).

A ocorrência de mais de 1 caso de TCA em algumas famílias e o fato de a maioria dos casos de TCA estar relacionada à presença da mutação germinativa *TP53* R337H, cuja presença pode indicar a ocorrência de TCA em 10% dos portadores, motivaram a realização deste trabalho.

## 1.1 OBJETIVOS

- 1) Constituir uma coorte de indivíduos menores de 15 anos, portadores da mutação *TP53* R337H e parentes de pacientes com TCA com a referida mutação;
- 2) Fazer acompanhamento clínico e laboratorial destes indivíduos, a fim de investigar a ocorrência de TCA;
- 3) Verificar se a taxa de penetrância de 10% para TCA em portadores da mutação *TP53* R337H se confirma num estudo prospectivo de longo prazo.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 TUMOR DO CÓRTEX ADRENAL NA INFÂNCIA

#### 2.1.1 Características Clínicas

O TCA apresenta uma distribuição bimodal, ocorrendo um pico antes dos cinco anos de idade e um segundo pico entre a quarta e quinta décadas de vida (WOOTEN e KING, 1993).

Apesar de diferenças geográficas quanto à incidência do TCA na infância, as características clínicas do tumor, nas casuísticas brasileiras, americanas e européias, são semelhantes àquelas dos pacientes avaliados em Curitiba (LACK et al., 1992; LEFEVRE et al., 1984; WAJCHENBERG et al., 2000; MICHALKIEWICZ et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2004).

Dos 125 pacientes atendidos na UEP, no período de 1966 a 2002, a média de idade ao diagnóstico foi de 4,3 anos e a mediana de 3,2 anos; 66,4% dos pacientes tinham entre 0 e 4 anos de idade (3 casos de tumores congênitos); 28,7% entre 4 e 12 anos e 4,9% tinham mais do que 13 anos (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2006).

Noventa crianças (72%) eram meninas e 35 (28%) meninos com uma relação de 2,6:1. Entretanto, a relação entre os sexos mostrou um padrão diferente quando avaliada por faixa etária: nas crianças com menos de quatro anos de idade a relação feminino: masculino foi de 5,3: 1 e após os 4 anos 1,3:1 (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2006).

A média do intervalo de tempo entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi de 11,13 meses, com uma mediana de 6 meses (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2006).

As manifestações clínicas mais freqüentes do TCA estão relacionadas ao aumento da secreção de hormônios pelo tumor. Raramente estes tumores são não-funcionantes. As formas de apresentação são: virilização, síndrome de Cushing e hipertensão mineralocorticóide, isoladas ou combinadas. Em 51,2% dos pacientes o quadro clínico foi de virilização isolada; em 42% a virilização estava associada a sinais e sintomas da síndrome de Cushing (síndrome mista). Em dois pacientes (1,6%) ocorreu a síndrome de Cushing isolada e um paciente (0,8%) apresentou apenas hipertensão arterial mineralocorticóide. Os tumores não-funcionantes corresponderam a 4,8% dos casos (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2006).

São sinais comuns: pubarca (91%), hipertrofia do clitóris (62%) ou aumento no tamanho do pênis (22%), acne (72%), alteração do timbre da voz (55%), hipertensão arterial (55%), ganho de peso (38%), hirsutismo (38%), aumento da velocidade de crescimento (29%), convulsões (12%), entre outros. Estrias estiveram presentes em apenas dois pacientes (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997; MARQUES-PEREIRA et al., 2004).

Hipertensão arterial foi observada, por ocasião do diagnóstico, em 56% dos pacientes e esteve presente em todas as formas clínicas do TCA. Em nove pacientes a hipertensão foi severa a ponto de causar encefalopatia hipertensiva, com crise convulsiva (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2006).

### 2.1.2 Estadiamento do TCA

Em uma primeira avaliação de 40 pacientes da UEP observou-se que, nos pacientes sem metástase ao diagnóstico, as características clínicas relacionadas a um pior prognóstico foram: idade  $\geq 3,5$  anos, intervalo entre o início dos sintomas e o diagnóstico  $> 6$  meses, volume do tumor  $\geq 200\text{cm}^3$ , peso do tumor  $\geq 80$  g e excreção urinária de 17-OH CS  $\geq 4,0\text{mg/m}^2$ . Entretanto, na análise multivariada, somente o tamanho do tumor estava associado à sobrevida. Com base nestes resultados

propôs-se um estadiamento para TCA em crianças (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997) (Quadro 1).

O estadiamento do TCA na infância mostrou correlação significativa com a sobrevida (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MICHALKIEWICZ et al., 2004).

QUADRO 1- ESTADIAMENTO DO TCA EM CRIANÇAS

ESTÁDIO	DESCRIÇÃO
I	Tumor totalmente ressecado; peso do tumor $\leq$ 200 g; ausência de metástase.
II	Tumor totalmente ressecado com margens cirúrgicas negativas; peso do tumor $>$ 200 g; ausência de metástase.
III	Tumor residual (micro ou macroscópico) ou inoperável, sem metástase.
IV	Metástase à distância no diagnóstico.

FONTE: Sandrini, Ribeiro e DeLacerda (1997) e Michalkiewicz et al. (2004)

### 2.1.3 Tratamento do TCA

A terapêutica com maior índice de cura para o TCA na infância é a ressecção completa do tumor, sem ruptura da cápsula tumoral, especialmente em tumores nos estádios I e II. A laparotomia transperitoneal é a via de acesso mais adequada para ressecção completa do tumor, dos linfonodos retroperitoneais regionais e inventário da cavidade abdominal. A ruptura da cápsula do tumor, com extravasamento de células neoplásicas no leito cirúrgico ou na cavidade abdominal (*spillage*), pode ocorrer antes ou durante a cirurgia e aumenta consideravelmente o risco de recidiva local e diminui significativamente a sobrevida (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2006).

A quimioterapia tem acrescentado pouco impacto à chance de cura. Contudo, nos casos em que a ressecção completa do tumor não é possível e nos tumores metastáticos, embora controverso, o tratamento quimioterápico adjuvante tem sido utilizado. Pacientes que apresentam doença nos estádios I e II são apenas submetidos à cirurgia; já aqueles com doença no estágio III e IV são submetidos à cirurgia e quimioterapia (MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2006).

#### 2.1.4 TCA e Doenças Hereditárias

O TCA na infância pode ocorrer na forma esporádica ou associada a doenças hereditárias raras (LIBÉ e BERTHERAT, 2005). A grande maioria dos pacientes dos Estados do Paraná e São Paulo apresenta a forma esporádica da doença (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997; LATRONICO et al., 2001; SANDRINI et al., 2005). São exemplos de doenças hereditárias associadas ao TCA: Síndrome de Neoplasia Endócrina Múltipla tipo 1, Complexo de Carney, Síndrome de Beckwith-Wiedemann, Síndrome de McCune-Albright, Hemi-hipertrofia, Hiperplasia Congênita da Adrenal, Hiperaldosteronismo Responsivo ao Glicocorticóide, Deficiência Isolada de Glicocorticóides Hereditária e Síndrome de Li-Fraumeni (SLF). O quadro 2 apresenta um resumo destas doenças, com descrição das principais neoplasias e manifestações não-tumorais associadas a elas, das alterações moleculares relacionadas a estas doenças e aos tumores esporádicos (MARSH e ZORI, 2002; STRATAKIS, 2003; LIBÉ e BERTHERAT, 2005).

QUADRO 2 - RESUMO DAS DOENÇAS GENÉTICAS RELACIONADAS AO TCA

DOENÇA GENÉTICA	GENE E LOCALIZAÇÃO CROMOSSÔMICA	NEOPLASIAS E MANIFESTAÇÕES ASSOCIADAS	TUMORES ESPORÁDICOS E ALTERAÇÕES GENÉTICAS
Síndrome de Li-Fraumeni	<i>TP53</i> (17q13) <i>hCHK2</i> (22 q12.2)	Sarcomas de partes moles, tumor de mama, tumores do sistema nervoso central, leucemia e TCA	Mutações germinativas do gene <i>TP53</i> nos TCA esporádicos Mutações somáticas do gene <i>TP53</i> no TCA esporádico LOH 17p13 nos TCA esporádicos
Neoplasia endócrina múltipla tipo 1	<i>Menin</i> (11q13)	Tumores das paratireóides, hipófise e pâncreas; hiperplasia adrenal macronodular e TCA (adenomas e raramente carcinomas)	Raramente mutações no gene <i>Menin</i> nos TCA esporádicos; LOH na região 11q13 em carcinomas do córtex adrenal
Complexo de Carney	<i>PRKARIA</i> (17q 22-24) Outro locus? (2p16)	DNPPA, lentiginose, tumores secretores de GH e PRL, tumores da tireóide, tumor das células de Sertoli, cistos ovarianos, mixomas cardíacos	DNPPA esporádica, mutações germinativas <i>de novo</i> do gene <i>PRKARIA</i> Adenomas do córtex adrenal: mutações somáticas do gene <i>PRKARIA</i>
Síndrome de Beckwith-Wiedemann	<i>P57kip2 (CDKN1C)</i> <i>KCNQ10T</i> <i>H19</i> Alterações no locus 11p15 Aumento na expressão do gene <i>IGF-II</i>	Onfalocele, macroglossia, macrossomia, hemi-hipertrofia, tumor de Wilm's, TCA	LOH 11p15; Aumento na expressão do gene <i>IGF-II</i>
Síndrome de McCune-Albright	<i>GNAS 1</i> (20q13)	Displasia fibrosa poliostótica, manchas café-com-leite, puberdade precoce, hiperfunção glandular (tireóide, adrenais, hipófise)	Poucas descrições de mutações somáticas do gene <i>GNAS 1</i> em TCA esporádicos Mutações no gene <i>GNAS 1</i> na HAMIA sem SMA
Hiperplasia Congênita da Adrenal	<i>CYP21</i> (6p)	Forma clássica: início precoce, com virilização da genitália externa nas meninas, hipocortisolismo, puberdade precoce. Forma não clássica: início tardio.	Mutações no gene <i>CYP21</i> em adenomas adrenais
Aldosteronismo Responsivo ao Glicocorticóide	<i>CYP11B1</i> (8q21) <i>CYP11B2</i> (8q21)	Adenoma adrenal, hiperplasia micronodular.	
Síndrome da Deficiência Hereditária Isolada de Glicocorticóide	<i>MC2-R</i> (18p11)	Deficiência de glicocorticóide (nas mutações inativadoras do gene <i>MC2-R</i> )	Mutações ativadoras do gene <i>MC2-R</i> na HAMIA; LOH 18p11

FONTE: Libé e Bertherat (2005)

NOTA: TCA: tumor do córtex adrenal; LOH: perda da heterozigotidade; DNPPA: doença nodular primária pigmentada da adrenal; GH: hormônio de crescimento; PRL: prolactina; IGF-II: fator de crescimento insulina-símile II; HAMIA: hiperplasia adrenal macronodular independente de ACTH; ACTH: hormônio adrenocorticotrófico; SMA: Síndrome de McCune-Albright.

## 2.2 O GENE *TP53* E A PROTEÍNA P53

O termo p53 refere-se a uma fosfoproteína com 53-kilodaltons, codificada de um gene com 20-kilobases, localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1), o gene *TP53* (*tumor protein 53*) (LINZER e LEVINE, 1979).

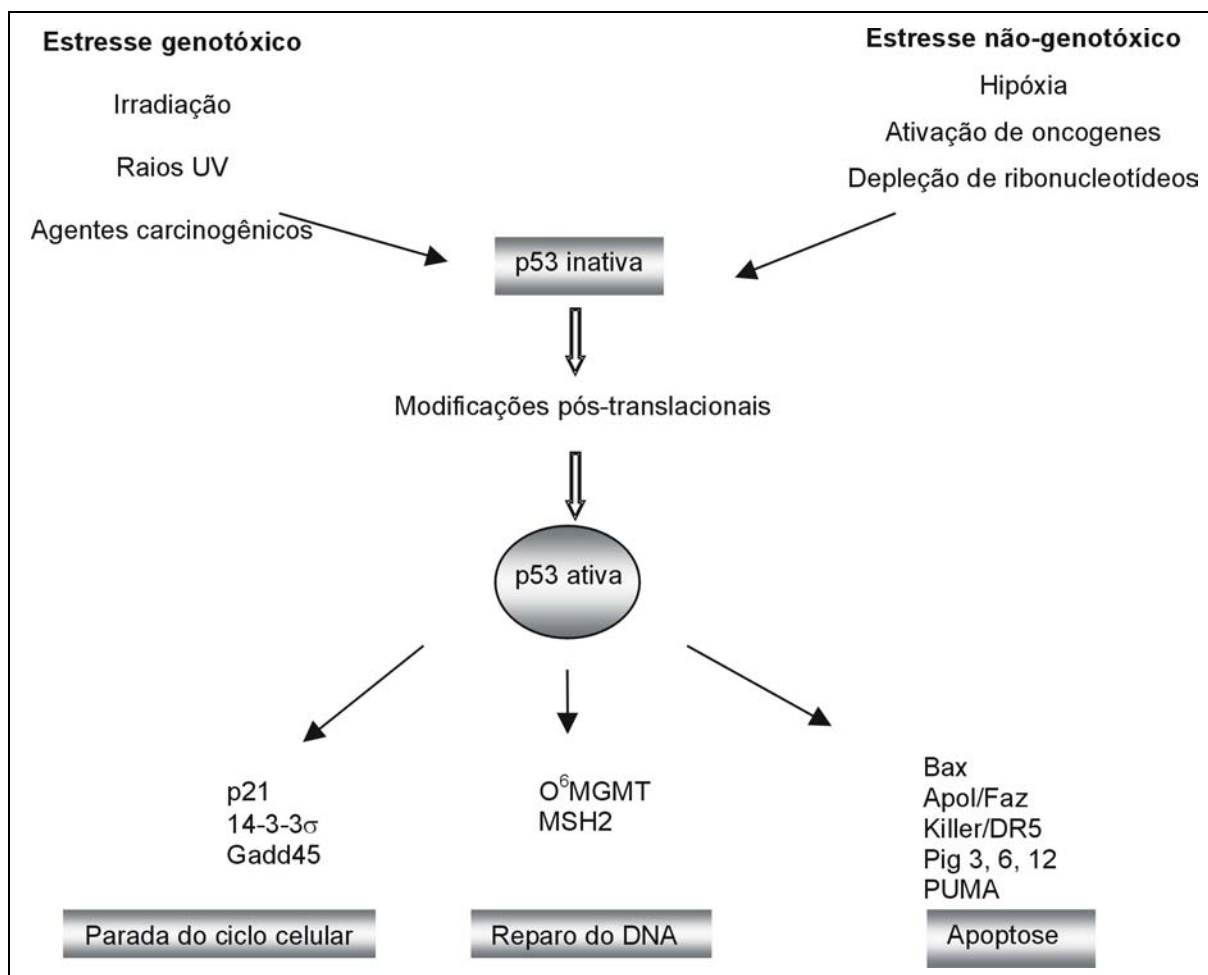
A proteína p53 é um fator de transcrição e sua ação está relacionada ao processo de supressão tumoral (KINZLER e VOGELSTEIN, 1995; LEVINE, 1997; MATEU e FERSHT, 1998).

Estudos biofísicos demonstram que a proteína p53 é um tetrâmero e esta conformação é fundamental para determinar suas propriedades bioquímicas (KINZLER e VOGELSTEIN, 1995; LEVINE, 1997; MATEU e FERSHT, 1998). Cada monômero da proteína p53 possui 393 aminoácidos, com uma estrutura típica dos fatores de transcrição: um domínio N-terminal, que contém o domínio da ativação da transcrição; um domínio regulador rico em prolina; uma seqüência central específica e altamente conservada, o domínio de ligação ao DNA; um sinal de localização nuclear; um domínio de oligomerização ou tetramerização; e um domínio C-terminal, que contém múltiplos sinais reguladores (MATEU e FERSHT, 1998).

A ação da proteína p53 no processo de supressão tumoral se faz promovendo uma resposta celular a várias formas de estresses aos quais estas células são expostas. Entre estes, os agentes que lesam o DNA (estresse genotóxico), a ativação da cascata de sinais de crescimento (estresse oncogênico), a depleção em ribonucleotídeos e a hipóxia (LJUNGMAN, 2000; VOGELSTEIN, LANE e LEVINE, 2000). Sua função em células normais se faz por meio da indução da parada de crescimento, da apoptose, da senescência e da estimulação do reparo da perda de nucleotídeos, em resposta a um dano celular (MARSH e ZORI, 2002; LJUNGMAN, 2000). Uma vez ativada, a p53 regula a expressão de algumas classes de genes por dois mecanismos: ligação a seqüências específicas do DNA ou interação proteína-proteína. Os genes regulados pela p53 são aqueles envolvidos na parada do ciclo celular (*cell cycle arrest*), na apoptose, no reparo do DNA e na angiogênese (Figura 1) (LEVINE, 1997; LJUNGMAN,

2000; VOGELSTEIN, LANE e LEVINE, 2000). A ativação destes genes, regulados pela p53, resulta em efeitos antiproliferativos, com a morte da célula ou a parada da divisão, o que permite a preservação da integridade do genoma (CADWELL e ZAMBETTI, 2001).

FIGURA 1 - FIGURA ESQUEMÁTICA DOS PRINCIPAIS PROCESSOS SINALIZADORES E GENES REGULADOS PELA P53



FONTE: Gallo et al. (2005)

A proteína p53 não exerce sua função de maneira adequada na maioria dos cânceres humanos. Em aproximadamente 50% destes, a p53 é inativa devido à existência de mutações no seu gene codificador, o *TP53* (LEVINE, 1997). Em outros, a perda da sua função ocorre de maneira indireta, em função da ligação a proteínas virais, ou como resultado de alterações em genes cujos produtos interagem com a p53 (VOGELSTEIN, LANE e LEVINE, 2000).

## 2.3 SÍNDROME DE LI-FRAUMENI E SÍNDROME DE LI-FRAUMENI *LIKE*

### 2.3.1 Definição

A agregação familiar de casos de sarcomas, tumores cerebrais, tumores de mama, leucemia e carcinoma adrenocortical foi relatada pela primeira vez por Bottomley, Condit e Chaney (1967) e Bottomley e Condit (1968). Posteriormente, Li e Fraumeni (1969, 1975) estudaram famílias com histórico semelhante de cânceres familiares e definiram esta condição como uma síndrome. Esses autores revisaram registros médicos e atestados de óbito de 649 crianças portadoras de rhabdomyosarcoma, e observaram vários membros com história de outras neoplasias. O estudo prospectivo dessas famílias, durante 12 anos, forneceu mais evidências da forte predisposição ao câncer: 16 novos casos surgiram, quando o esperado seria somente um caso (LI e FRAUMENI, 1982).

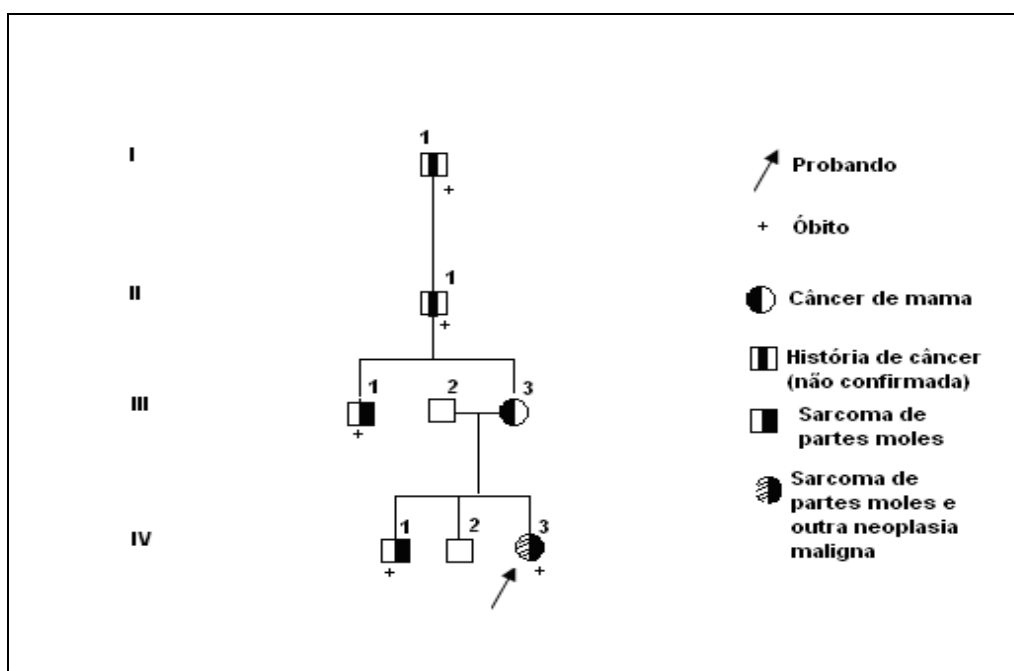
A SLF é uma síndrome de câncer familiar rara, com herança autossômica dominante e caracterizada pela presença de vários tipos de cânceres nos membros de uma mesma linhagem da família e que, em geral, acometem crianças ou adultos jovens (LI e FRAUMENI, 1969; LI et al., 1988; BIRCH et al., 1990). Enquanto muitas síndromes de predisposição ao câncer são caracterizadas predominantemente pela ocorrência do câncer em locais específicos, como o câncer de mama, carcinoma colorretal ou o melanoma, a SLF é associada a uma variedade de diferentes tipos de tumores, que ocorrem em diversas idades, incluindo a infância (VARLEY, 2003).

Os tumores mais frequentes na SLF são os sarcomas de partes moles, osteossarcoma, câncer de mama, tumores do sistema nervoso central (SNC), leucemia e TCA (LI e FRAUMENI, 1969; BOTTOMLEY, TRAINER e CONDIT, 1971; LI e FRAUMENI, 1975; LYNCH et al., 1978; LI e FRAUMENI, 1982; LI et al., 1988; BIRCH et al., 1990).

São critérios utilizados para caracterizar a SLF, propostos por Li et al. (1988): um probando com um sarcoma em idade inferior a 45 anos, com um parente em primeiro grau com qualquer tipo de câncer antes dos 45 anos de idade mais 1 parente em primeiro ou segundo grau, da mesma linhagem, com câncer antes dos 45 anos ou com um sarcoma em qualquer idade (Figura 2).



FIGURA 2 - HEREDOGRAMA DE 1 DAS 4 FAMÍLIAS DESCRITAS POR LI E FRAUMENI



FONTE: Li e Fraumeni (1969)

Em pacientes com a SLF, o TCA corresponde a 3% dos tumores que ocorrem em qualquer idade e a 10% dos tumores da infância (SAMESHIMA et al., 1992).

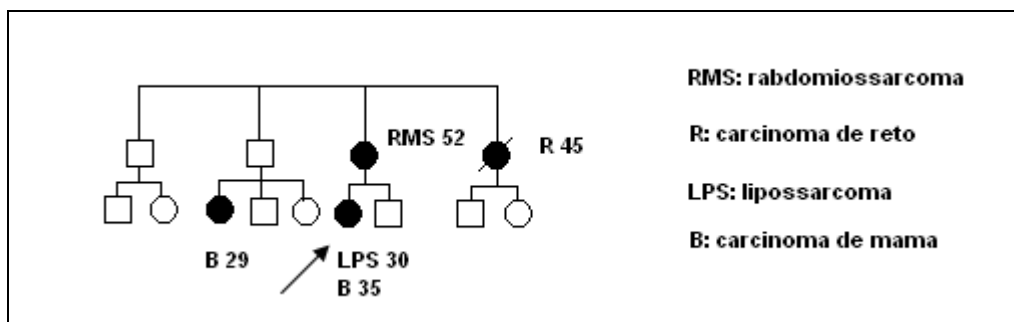
Ao avaliar famílias com a SLF e utilizar o modelo de análise de segregação, Young et al. calcularam que a probabilidade de desenvolver um câncer (exceto carcinoma de pele), para indivíduos de famílias com SLF, é de aproximadamente 50% aos 30 anos, enquanto apenas 1% da população geral desenvolveu câncer até esta idade (YOUNG et al.<sup>1</sup>, citado por MALKIN et al., 1990).

Birch et al. (1994) posteriormente formularam a definição da Síndrome de Li-Fraumeni-like (SLFL), baseados em uma avaliação mais detalhada dos tipos de tumores e idade de aparecimento dos mesmos nas famílias afetadas. A SLFL é definida por um probando com qualquer tipo de tumor na infância ou um indivíduo com menos de 45 anos com sarcoma, tumor cerebral ou TCA, mais um parente, em primeiro ou segundo grau, com um tumor típico da SLF em qualquer idade e outro parente em

<sup>1</sup>YOUNG, J. L.; PERRY, C. L.; ASURE, A. J. (Eds.). **Natl Cancer Inst Monogr** 57, KY72 (1981) (NIH publication n. 81-2330).

primeiro ou segundo grau, na mesma linhagem, com qualquer câncer antes dos 60 anos de idade (Figura 3).

FIGURA 3 - HEREDOGRAMA DE 1 DAS 9 FAMÍLIAS COM SLFL DESCRITAS POR BIRCH ET AL.



FONTE: Birch et al. (1994)

São descritas ainda variantes da SLFL, que incluem famílias cujo histórico mostra a presença de uma síndrome de câncer familiar, mas que não preenchem os critérios diagnósticos da SLF ou da SLFL (BRUGIÈRES et al., 1993; EELES et al., 1993).

### 2.3.2 Etiologia

Malkin et al. (1990) descreveram mutações germinativas no gene *TP53* em cinco famílias portadoras da SLF. A escolha do gene *TP53* para a investigação de mutações germinativas ocorreu devido a descrições de mutações inativadoras neste gene relacionadas a osteossarcomas esporádicos, sarcomas de partes moles, leucemias, carcinoma de mama e de pulmão, tumores que, em conjunto, correspondem a mais de 50% dos cânceres observados na SLF.

Todas as famílias avaliadas por Malkin et al. (1990) apresentaram mutações no gene *TP53*. As casuísticas com um número maior de famílias com SLF demonstram que em 50 a 77% são encontradas mutações germinativas do gene *TP53*, as quais se distribuem ao longo de todo o gene (BRUGIERES et al., 1993; BIRCH et al. 1994; VARLEY et al., 1997; BIRCH et al., 2001; OLIVIER et al., 2003; VARLEY, 2003).

Embora as mutações no gene *TP53* sejam as mais freqüentes da SLF, mutações em outros genes foram identificadas nos casos de SLF sem alterações no gene

*TP53*. Mutações no gene *hCHEK2*, localizado no cromossomo 22q12.2 (BELL et al., 1999), e o mapeamento de um novo *locus* de predisposição à SLF no cromossomo 1q23 ocorreram em famílias com a SLF e a SLFL (BACHINSKI et al., 2005).

### 2.3.3 Freqüência e Morfologia dos Cânceres na SLF

A distribuição dos cânceres em portadores de mutações germinativas do gene *TP53* é diferente da esperada para a população geral (VARLEY, 2003).

Ao avaliar o espectro e a freqüência de cânceres associados a mutações no gene *TP53*, Birch et al. (2001) observaram que os tumores fortemente associados à SLF são: carcinoma de mama, sarcoma de partes moles, osteossarcoma, tumores cerebrais, TCA, tumor de Wilm's e tumor filodes da mama. O carcinoma de pâncreas está moderadamente associado à SLF, enquanto a leucemia e o neuroblastoma estão fracamente associados. Nessa mesma avaliação, apesar de o carcinoma de mama e os sarcomas serem os tumores mais freqüentes na SLF, os tumores que apresentaram a maior diferença de incidência, em relação à população geral, foram o TCA e o tumor filodes da mama.

## 2.4 MUTAÇÕES GERMINATIVAS DO GENE *TP53* E O TCA

Nos Estados Unidos e na Europa, 50 a 80% das crianças com TCA considerados esporádicos apresentam mutações germinativas do *TP53* (VARLEY et al., 1999; WAGNER et al., 1994).

Olivier et al. (2003) avaliaram o espectro de cânceres e mutações do gene *TP53* em famílias portadoras da SLF e da Síndrome SLFL; em ambas as situações, os casos de TCA na infância ocorreram somente nas famílias que apresentavam mutações no gene *TP53*. Resultado semelhante foi observado por Varley et al. (1999), ao avaliarem 12 famílias com a SLF ou SLFL nas quais havia um caso de TCA: mutações germinativas do gene *TP53* estavam presentes em todas as famílias. O mesmo grupo, ao avaliar 14 crianças portadoras de TCA e sem história de câncer familiar, descreveu a presença de mutações germinativas do gene *TP53* em 82% dos casos.

Essa frequência de associação entre mutações germinativas do gene *TP53* e o TCA, mesmo quando este é esporádico, não é observada nos outros tipos de câncer que fazem parte da SLF, quando estes se manifestam na forma não associada à síndrome. Mutações germinativas do gene *TP53* são incomuns no câncer de mama, embora sejam mais frequentes nos casos que surgem em mulheres antes da menopausa; tais mutações são encontradas em apenas 3% das crianças com osteossarcoma (VARLEY, 2003).

## 2.5 MUTAÇÃO *TP53* R337H

### 2.5.1 Identificação da Mutação

Em 1999, Sandrini (1999) descreveu, em sua dissertação de mestrado, a presença da mutação germinativa tipo *missense*, R337H, no gene supressor tumoral *TP53*, em 29 pacientes portadores de TCA atendidos na Unidade de Endocrinologia Pediátrica do Departamento de Pediatria do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

Em 2001, Ribeiro et al. incluíram novos pacientes para a avaliação do gene *TP53* e realizaram o estudo funcional da mutação; de 36 crianças portadoras de TCA atendidas na UEP, em 35 (97%) foi identificada a mesma mutação *TP53* R337H descrita por Sandrini. Perda da heterozigiosidade, ou seja, a perda do alelo normal e manutenção somente do alelo mutado do gene *TP53*, foi observada nas células tumorais de cinco dos seis pacientes avaliados, e o acúmulo da proteína p53 no núcleo das células tumorais em oito tumores. A análise funcional da mutação *TP53* R337H evidenciou que a proteína mutante (p53tet-R337H) mantém sua atividade normal, quando expressa em maior quantidade. Tanto a proteína p53 quanto a p53tet-R337H foram capazes de suprimir o crescimento das colônias de células humanas de osteossarcoma SaOs-2 como de induzir a apoptose em células de carcinoma de pulmão H1299, as quais não possuem p53 endógena (RIBEIRO et al., 2001).

Posteriormente, em 2001 e 2005, esta mesma mutação foi descrita em dois estudos que avaliaram pacientes com TCA de regiões diferentes do Estado de São Paulo, com uma frequência de 77,7% e 75% das crianças avaliadas. Nestas duas casuísticas pacientes adultos com TCA também foram testados: um dos cinco adultos avaliados por Sandrini et al. (2005) e cinco dos 37 avaliados no estudo de Latrônico et al. (2001) apresentaram a mutação; os seis pacientes eram indivíduos adultos jovens (19 a 36 anos).

### 2.5.2 Descrição da Mutação *TP53* R337H

A mutação encontrada nos pacientes brasileiros está localizada no exon 10 do gene *TP53*, códon 337, e consiste na troca de uma guanina (CGC) por uma adenina (CAC), que resulta na substituição do aminoácido arginina por uma histidina (RIBEIRO et al., 2001). O códon 337 está localizado no domínio de tetramerização do gene *TP53*. Este domínio possui uma estrutura compacta, formada por dímero de dímeros. Cada monômero é formado por uma lâmina  $\beta$  (codons 326-333) e uma  $\alpha$  hélice (codons 335-353). Cada dímero é formado por uma lâmina  $\beta$  e duas  $\alpha$  hélices. A interface dímero-dímero é estabilizada por ligações hidrofóbicas, enquanto cada dímero é estabilizado por ligações iônicas e hidrofóbicas entre as hélices e ligações de hidrogênio entre as bandas  $\beta$  (LEVINE, 1997; MATEU e FERSHT, 1998).

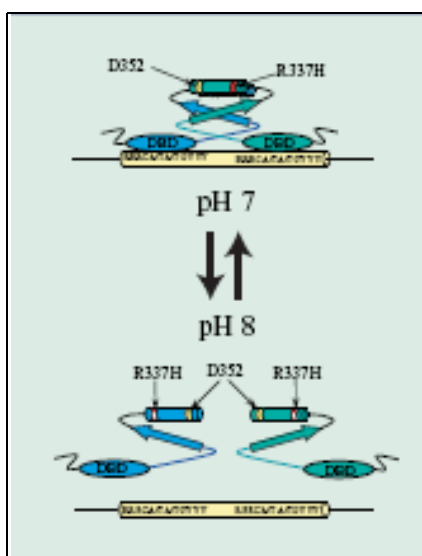
A proteína nativa p53 é um tetrâmero, e os aminoácidos 324-355 são necessários para esta oligomerização da proteína (KINZLER e VOGELSTEIN, 1995; LEVINE, 1997; MATEU e FERSHT, 1998). Devido à simetria estrutural deste domínio, mutações de ponto podem reduzir sua estabilidade (DiGIAMMARINO et al., 2002).

Apesar de raras, mutações no domínio de tetramerização do gene *TP53* já foram encontradas em pacientes portadores da SLF e SLFL. Varley et al. (1996) descreveram a primeira mutação identificada neste domínio do gene *TP53*, em uma família com SLF e mutação no códon 344, com substituição de uma leucina por uma prolina (L334P *TP53*). Lomax et al. (1997) identificaram uma mutação no códon 337 deste gene, com substituição de uma arginina por uma cisteína, também em uma

família com SLF (R337C TP53). Davison et al. (1998) e Lomax et al. (1998) realizaram estudos para caracterização biofísica e funcional destas duas mutações e demonstraram que elas se correlacionam com defeitos na oligomerização da proteína p53. No caso da mutação L334P TP53, o mutante é monomérico e completamente inativo. A mutação R337C TP53 determina que, em temperaturas fisiológicas, apenas metade da proteína seja oligomérica, com redução parcial da atividade.

DiGiammarino et al. (2002) demonstraram defeitos na p53tet-R337H ao avaliarem seu comportamento, *in vitro*, sob variações de pH e temperatura. Estes autores observaram que a p53tet-R337H torna-se menos estável com o aumento do pH entre 7 e 8. Com o pH igual a 8 e a temperatura igual a 37°C, aproximadamente 70% das moléculas mutantes p53tet-R337H apresentam o domínio de tetramerização não-ligado, enquanto a p53 nativa está completamente ligada nas mesmas condições. A figura 4 representa o desenho esquemático das alterações sofridas pela proteína mutante p53tet-R337H de acordo com a variação do pH. Com pH de 7, a proteína mutante está ligada ao DNA; entretanto, ao se elevar o pH para 8, o dímero R337H torna-se não-ligado, com perda da afinidade de ligação ao DNA (HAINAUT, 2002).

FIGURA 4 - FIGURA ESQUEMÁTICA DAS ALTERAÇÕES SOFRIDAS PELA PROTEÍNA MUTANTE p53tet-R337H DE ACORDO COM A VARIAÇÃO DO pH



FONTE: Hainaut (2002)

A mutação germinativa *TP53* R337H já havia sido descrita anteriormente por Varley et al. (1999), ao pesquisarem a presença de mutações no gene *TP53* em 14 crianças com TCA esporádico; 80% dos pacientes apresentavam mutações, sendo que em um1 destes a mutação *TP53* R337H estava presente no tumor; entretanto, os autores não determinaram se esta mutação foi herdada ou adquirida. Chompret et al. (2000) descreveram a mesma mutação germinativa em uma menina com 4 anos de idade com TCA esporádico.

### 2.5.3 Mutação *TP53* R337H e História de Câncer Familiar

Os pacientes portadores de TCA avaliados na UEP não apresentam uma história familiar de câncer que preencham os critérios clássicos da SLF (SANDRINI; RIBEIRO; DeLACERDA, 1997; SANDRINI, 1999). Em 2001, 25 famílias foram submetidas à investigação da historia de câncer em três ou mais gerações e, em uma destas, a história familiar era compatível com a SLFL (RIBEIRO et al., 2001). Entretanto, dados mais recentes, baseados no estudo de 30 famílias, indicam que em sete destas houve a ocorrência de cânceres que preenchem os critérios diagnósticos da SLFL (FIGUEIREDO et al., 2006). Nas famílias descritas no Estado de São Paulo não foi observada história familiar de câncer (LATRONICO et al., 2001; SANDRINI et al., 2005).

Esses dados demonstram que os pacientes portadores da mutação *TP53* R337H dos Estados do Paraná e São Paulo apresentam TCA não-relacionado à SLF. Um estudo recente, realizado com pacientes brasileiros, mostrou a associação entre a SLFL e esta mutação. Neste estudo, 45 famílias portadoras da SLF e SLFL foram avaliadas para pesquisa de mutações germinativas do gene *TP53*. Todos os membros das famílias eram provenientes da Região Sul do Brasil e foram identificados em serviços dos seguintes estados: São Paulo (32 famílias), Rio Grande do Sul (10 famílias) e Rio de Janeiro (três famílias). Treze dos 45 probandos avaliados apresentaram mutação do gene *TP53*. Das 13 mutações observadas, 12 eram do tipo *missense*, sendo em seis destas a mutação *TP53* R337H. No entanto, nenhuma das seis famílias apresentou a SLF clássica (ACHATZ et al., 2006a).

#### 2.5.4 Penetrância da Mutação R337H

Penetrância é definida como a porcentagem de indivíduos que apresentam o fenótipo associado a determinado genótipo. Refere-se ao risco de desenvolver determinada doença associada a uma mutação genética. Quando há penetrância incompleta ou baixa penetrância, apenas alguns indivíduos portadores de mutação em um gene relacionado a uma doença vão desenvolvê-la (LAIRMORE e MOLEY, 2005).

A penetrância da mutação *TP53* R337H para o desenvolvimento do TCA foi calculada em 9,9%, com variação entre 8,7% e 11,1% (IC de 95%). Esta é maior nas famílias nas quais ocorrem mais de um caso de TCA (12,5%, IC de 95% 10,2 – 14,6%) do que naquelas com apenas um caso de TCA (8,5%, IC de 95% 7,3 – 9,7%) e é considerada uma mutação de baixa penetrância (FIGUEIREDO et al., 2006). Varley et al. (1999), ao descreverem as mutações do gene *TP53* em nove de 14 casos de TCA esporádicos avaliados, também concluíram que algumas mutações do gene *TP53* apresentam baixa penetrância para o desenvolvimento do câncer.



### 3 PACIENTES E MÉTODOS

#### 3.1 METODOLOGIA

Trabalho prospectivo e longitudinal.

#### 3.2 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Esta tese é uma continuidade do trabalho desenvolvido para determinar a penetrância do TCA associado à mutação germinativa *TP53* R337H (FIGUEIREDO et al., 2006). No trabalho de Figueiredo et al. foram recrutadas aleatoriamente 41 crianças portadoras de TCA e da mutação *TP53* R337H e investigada a presença desta mutação nos familiares. Novecentos e vinte e sete indivíduos foram testados: 232 do lado não carreador e 695 (incluindo 40 probandos) do lado carreador da mutação. A mutação *TP53* R337H foi encontrada em 240 indivíduos testados do lado carreador da família (incluindo os 40 probandos).

Foram contatados os pais das crianças com idade < 15 anos, portadoras da mutação *TP53* R337H e parentes até 3.<sup>o</sup> grau de crianças tratadas por TCA e que apresentavam a mesma mutação, e solicitou-se admissão delas no estudo para avaliar o possível surgimento de TCA e confirmar os dados descritos sobre a penetrância do tumor nesta população.

A admissão das crianças no estudo foi aleatória e independente do sexo. Para o presente estudo, foram incluídas apenas crianças e adolescentes com até 15 anos de idade. Porém, atualmente os portadores continuam a ser acompanhados independentemente da idade.

Das 27 famílias que aderiram ao estudo, 23 apresentaram somente um caso de TCA e quatro apresentaram 2 ou mais casos.

O projeto do presente estudo foi concebido no ano de 2000 e todas as crianças foram incluídas a partir do ano de 2001, exceto uma que estava em acompanhamento desde 1999.

Os pais foram informados sobre os objetivos do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e informado. Quando indicado, as crianças também foram informadas do motivo das consultas e dos exames, na primeira consulta ou ao longo do acompanhamento. Dessa forma, foram admitidas 66 crianças, de 27 famílias.

Para as crianças cujos pais concordaram com o acompanhamento, foram agendados retornos, conforme protocolo estabelecido (Apêndice 1). Acompanhamento psicológico foi previsto naqueles casos em que a informação da possível relação da presença da mutação com TCA pudesse causar impacto emocional.

As crianças foram distribuídas, de acordo com a faixa etária, em três grupos:

- G1: idade cronológica entre 0 e 4 anos;
- G2: idade cronológica entre > 4 e 8 anos;
- G3: idade cronológica entre > 8 e < 15 anos.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Anexo 1).

### 3.3 CARACTERÍSTICAS DO ESTUDO

#### 3.3.1 Freqüência das Consultas

O intervalo entre as consultas, para avaliação clínica e realização dos exames de imagem e dosagens hormonais, foi estabelecido conforme a faixa etária na qual a criança se encontrava. Crianças com idade  $\leq 4$  anos foram avaliadas a cada três meses, por ser esta a faixa etária de maior ocorrência do TCA. Para as crianças com idades entre > 4 e 8 anos, as consultas foram agendadas a cada quatro meses e para as crianças com idades entre > 8 e 15 anos as consultas foram semestrais. Entretanto, quando a criança não comparecia na data agendada, a família era contatada e a consulta remarcada. O intervalo estabelecido no protocolo não foi rigorosamente observado por todas as crianças, porém nenhuma ultrapassou seis meses entre uma consulta e a seguinte.

### 3.3.2 Roteiro das Consultas

Em todas as consultas foram feitos anamnese e exame físico minuciosos, com especial atenção a possíveis sinais e (ou) sintomas decorrentes do aumento da produção de hormônios do córtex adrenal. Peso e estatura foram aferidos por enfermeira treinada.

Amostras de sangue, para dosagens de DHEA-S, cortisol e testosterona foram obtidas antes de cada consulta. A escolha destes três hormônios deveu-se à observação de que o TCA na infância está associado ao aumento da produção de esteróides do córtex adrenal e, dentre estes, o DHEA-S está elevado em cerca de 90% dos pacientes (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997). A associação de níveis elevados de DHEA-S e cortisol é altamente sugestiva da presença de TCA (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997).

Em todas as consultas os pacientes eram encaminhados ao Centro de Tomografia Computadorizada S/C (CETAC) para a realização de ultra-sonografia de lojas adrenais (USa). Nos casos de USa duvidosos, obtinha-se ou tomografia axial computadorizada (TAC) ou ressonância nuclear magnética (RNM) das adrenais.

Hemograma, parasitológico de fezes, parcial de urina, creatinina, entre outros exames, foram solicitados em algumas crianças, quando a avaliação clínica os justificasse.

### 3.3.3 Avaliação Antropométrica

Para obtenção do peso corporal utilizou-se balança da marca Filizola<sup>®</sup> (São Paulo, SP). Para mensurar o comprimento das crianças até 2 anos de idade, utilizou-se estadiômetro de mesa (Estadiômetro de Bebê, Tonelli Equipamentos Médicos<sup>®</sup>, Criciúma, SC), com a criança em decúbito dorsal. Para as crianças maiores de 2 anos, utilizou-se estadiômetro fixo em parede (Stadiometer Mode S100, Ayrton Corporation<sup>®</sup>, Prior Lake, Minesota) com precisão de 0,1cm.

O peso e estatura foram acompanhados de acordo com os gráficos de Tanner, Withehouse (1976); o estágio puberal foi avaliado de acordo com Tanner (TANNER<sup>2</sup>, 1962, citado por MARSHALL e TANNER, 1970).

### 3.3.4 Detecção da Mutação

A detecção da mutação *TP53* R337H foi realizada no Centro de Genética Molecular e Pesquisa do Câncer Infantil (CEGEMPAC), conforme protocolo que era utilizado pelo serviço e foi descrito por Figueiredo et al. (2006). O DNA genômico de linfócitos do sangue periférico e das células tumorais é isolado e amplificado por PCR conforme protocolos padronizados. O produto do PCR correspondendo a um segmento de 447-bp do exon 10 é gerado utilizando-se os seguintes *primers*: 5'-GTC AGG CAC AAG AAT CAC-3' e 5' TCC TAT GGC TTT CCA ACC-3'. O produto amplificado é digerido com *HhaI*, com o surgimento de 2 fragmentos com 293 bp e 154 bp somente se a mutação R337H não estiver presente (FIGUEIREDO et al., 2006).

### 3.3.5 Dosagens Hormonais

A coleta de sangue para as dosagens hormonais foi realizada em torno das 8h, em jejum.

Todas as dosagens hormonais foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas – Seção de Hormônios, do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

DHEA-S, cortisol e testosterona total foram dosados no analisador Immulite 2000<sup>®</sup> (kit DPC<sup>®</sup>), por imunoensaio competitivo de quimiluminescência. A sensibilidade analítica dos métodos foi: testosterona total 15ng/dL; DHEA-S 2µg/dL e cortisol 0,2µg/dL. O valor mínimo da curva de calibração de DHEA-S é 15µg/dL.

---

<sup>2</sup>TANNER, J. M. **Growth and adolescence**. 2<sup>nd</sup> ed. Blackwell: Oxford, 1962.

Os valores de referência para os métodos utilizados estão apresentados no quadro 3.

QUADRO 3 - VALORES DE REFERÊNCIA DOS EXAMES LABORATORIAIS

EXAME	VALOR DE REFERÊNCIA		
Cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ )	Manhã: 5 – 25		
DHEA-S ( $\mu\text{g/dL}$ ).	Idade cronológica	Meninas	Meninos
	1-5 meses	5-55	$\leq 41$
	6-11 meses	5-30	5-20
	1-5 anos	$\leq 20$	$\leq 40$
	6-9 anos	$\leq 140$	$\leq 145$
	10-11 anos	15-260	15-155
	12-14 anos	20-535	20-500
Testosterona total (ng/dL)	15-17 anos	35-535	30-535
	Meninos e meninas pré-púberes: <15 Menino em puberdade e adultos: 250-1350 Meninas em puberdade e adultas: 15-70		

FONTE: Fisher (2000)

### 3.3.6 Exames de Imagem

Os exames de ultra-som foram realizados no CETAC, em aparelho VOLUSON 730 EXPERT<sup>®</sup>, GE, Tietenbach, Áustria.

RNM foi realizada no CETAC e TAC no Serviço de Radiologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

## 3.4 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os dados obtidos dos prontuários foram digitados em planilha eletrônica (Microsoft Excel<sup>®</sup>), conferidos e exportados para o programa Statistica<sup>®</sup>.

Para avaliar as possíveis diferenças entre os valores de DHEA-S, testosterona e cortisol de acordo com a faixa etária, a saber,  $\leq 4$  anos, entre  $> 4$  e 8 anos e entre  $> 8$  e 15 anos, foi aplicada a análise da variância de *Kruskal-Wallis*, considerando a natureza assimétrica das medidas, número e caráter independente dos grupos estudados.

## 4 RESULTADOS

Sessenta e seis crianças, com idade < 15 anos, parentes até 3.º grau de crianças tratadas por TCA, foram encaminhadas para avaliação e seguimento no ambulatório da UEP. Tanto as crianças com TCA como as do presente estudo são portadoras da mutação germinativa *TP53* R337H. Das 66 crianças, 57 mantiveram acompanhamento clínico regular e realizaram os exames estabelecidos no protocolo de avaliação e seguimento. As famílias das nove crianças que interromperam o acompanhamento foram contatadas, mas não retornaram, e as razões que motivaram a interrupção do acompanhamento não puderam ser determinadas. Na tabela 1 é mostrada a distribuição das 57 crianças de acordo com o ano de início do acompanhamento.

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DAS 57 CRIANÇAS SEM TUMOR PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H DE ACORDO COM O ANO DE INÍCIO DO ACOMPANHAMENTO NA UEP

ANO DE INÍCIO DO ACOMPANHAMENTO	n
1999	1
2000	0
2001	25
2002	16
2003	11
2004	02
2005	02

Os dados de identificação das crianças, com as iniciais do nome, registro no Hospital de Clínicas, data de nascimento e data da primeira consulta encontram-se nos apêndices (Apêndice 2).

Durante o acompanhamento ambulatorial nenhuma criança apresentou evidência clínica de disfunção do córtex adrenal. Anemia hipocrômica e microcítica e enteroparasitose foram diagnosticadas em sete pacientes. Um paciente está em tratamento para doença celíaca, cujo diagnóstico é anterior ao início do presente estudo.

Embora o acompanhamento psicológico para as crianças e os pais esteja previsto no protocolo, em apenas um caso, na visão da equipe médica, houve necessidade de encaminhamento da mãe ao serviço de psicologia. Entretanto, ela recusou, embora mantenha freqüência regular ao atendimento programado.

#### 4.1 IDADE NA PRIMEIRA CONSULTA E SEXO

A média de idade das 57 crianças na primeira consulta foi de  $6,3 \pm 4,1$  anos, com uma mediana de 6,1 anos. A distribuição das crianças de acordo com a faixa etária na primeira consulta e o sexo constam da tabela 2.

TABELA 2 - DISTRIBUIÇÃO DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO TP53 R337H, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA E O SEXO

FAIXA ETÁRIA NA 1. <sup>a</sup> CONSULTA	MENINAS	MENINOS	TOTAL	%
0 - 4 anos	13	11	24	42,1
> 4 - 8 anos	8	7	15	26,3
> 8 - 15 anos	10	8	18	31,6
TOTAL	31	26	57	100,0

#### 4.2 TEMPO DE ACOMPANHAMENTO

Média, mediana, desvio padrão, tempo mínimo e máximo de acompanhamento, em anos, das crianças são mostrados na tabela 3.

TABELA 3 - MÉDIA, DESVIO-PADRÃO (DP), MEDIANA, TEMPO MÍNIMO E MÁXIMO DE ACOMPANHAMENTO (EM ANOS) DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO TP53 R337H

Média $\pm$ DP (anos)	3,9 $\pm$ 1,3
Mediana (anos)	3,9
Tempo mínimo (anos)	0,8
Tempo máximo (anos)	6,9

#### 4.3 CONSULTAS

A frequência das consultas, estabelecida pelo protocolo, não foi rigorosamente observada em todos os pacientes. A média, o desvio-padrão, a mediana e os números mínimo e máximo de consultas realizadas para cada criança encontram-se na tabela 4.

TABELA 4 - MÉDIA, DESVIO-PADRÃO (DP), MEDIANA, NÚMERO MÍNIMO E MÁXIMO DE CONSULTAS REALIZADAS PARA CADA CRIANÇA PORTADORA DA MUTAÇÃO TP53 R337H

Média $\pm$ DP	9,9 $\pm$ 4,5
Mediana	10
Mínimo	3
Máximo	19

#### 4.4 DOSAGENS HORMONAIS

No total foram realizadas 867 dosagens hormonais.

##### 4.4.1 DHEA-S

Todos os valores de DHEA-S, na faixa etária  $\leq 4$  anos, foram  $< 15\mu\text{g/dL}$ , exceto uma dosagem de uma menina ( $40\mu\text{g/dL}$ ) e uma dosagem de um menino ( $50\mu\text{g/dL}$ ).

A tabela 5 mostra os valores de mediana, mínimo, máximo e número de dosagens do DHEA-S ( $\mu\text{g/dL}$ ) para as crianças entre  $> 4$  e 8 anos.

TABELA 5 - MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE DHEA-S ( $\mu\text{g/dl}$ ) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA ENTRE  $> 4$  E 8 ANOS, DOS MENINOS E MENINAS PORTADORES DA MUTAÇÃO *TP53 R337H*

	MENINAS	MENINOS
Mediana	17,8	31,2
Mínimo	15,0	15,0
Máximo	79,8	72,0
Número de dosagens	63	56

A tabela 6 mostra os valores de mediana, mínimo, máximo e número de dosagens do DHEA-S ( $\mu\text{g/dL}$ ) para as crianças entre  $> 8$  e 15 anos.

TABELA 6 - MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE DHEA-S ( $\mu\text{g/dl}$ ) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA ENTRE  $> 8$  E 15 ANOS, DOS MENINOS E MENINAS PORTADORES DA MUTAÇÃO *TP53 R337H*

	MENINAS	MENINOS
Mediana	76,5	59,7
Mínimo	15	15
Máximo	224	154
Número de dosagens	60	49



Nos gráficos 1 e 2 encontram-se as distribuições dos valores de DHEA-S, de acordo com a idade cronológica (em meses), das crianças do sexo masculino (Gráfico 1) e feminino (Gráfico 2) portadoras da mutação *TP53* R337H.

GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S ( $\mu\text{g/dL}$ ), SEGUNDO A IDADE CRONOLÓGICA, DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO *TP53* R337H

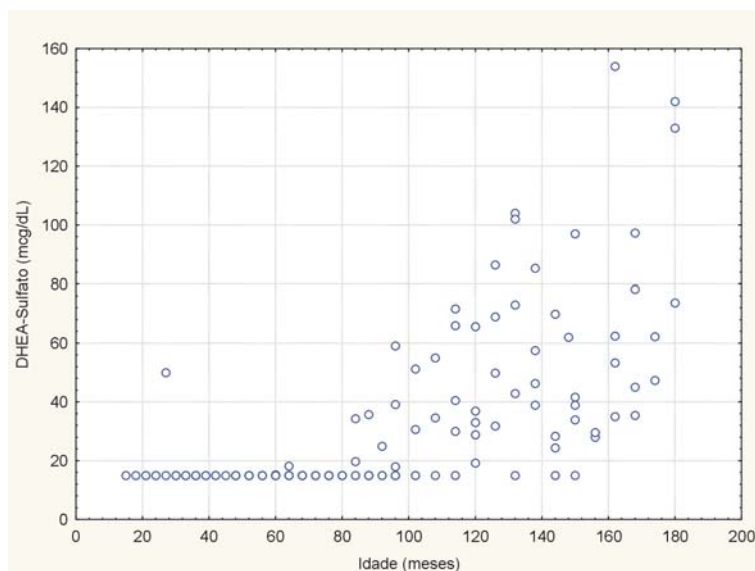
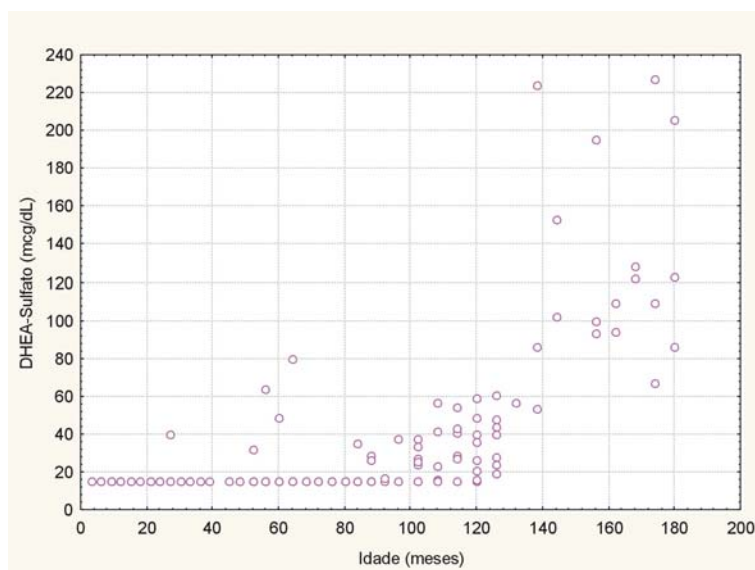


GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S ( $\mu\text{g/dL}$ ), SEGUNDO A IDADE CRONOLÓGICA, DAS MENINAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H

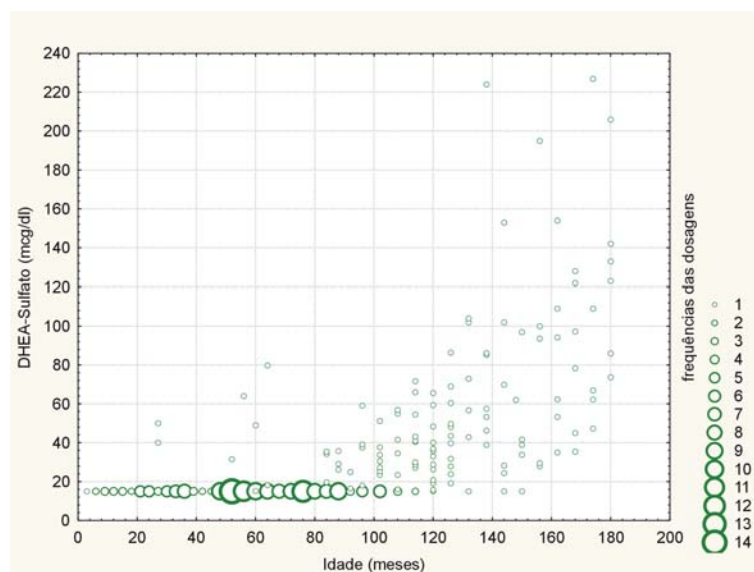


A análise dos gráficos 1 e 2 mostra uma elevação gradual, consistente, dos valores de DHEA-S a partir dos 84 meses (7 anos) de idade cronológica.

Uma menina (paciente 44), que iniciou acompanhamento com 4 anos e 11 meses de idade, apresentou valores de DHEA-S de 31,3 $\mu$ g/dL na primeira consulta, de 64,0 $\mu$ g/dL na segunda, de 49,0 $\mu$ g/dL na terceira e de 79,8 $\mu$ g/dL na última consulta, todos acima dos valores de referência para a idade ( $\leq 20\mu$ g/dL). As USA e a TAC de adrenais desta criança foram normais.

O gráfico 3 mostra a distribuição dos valores de DHEA-S, das crianças de ambos os sexos portadoras da mutação *TP53* R337H, de acordo com a idade e a frequência das dosagens realizadas.

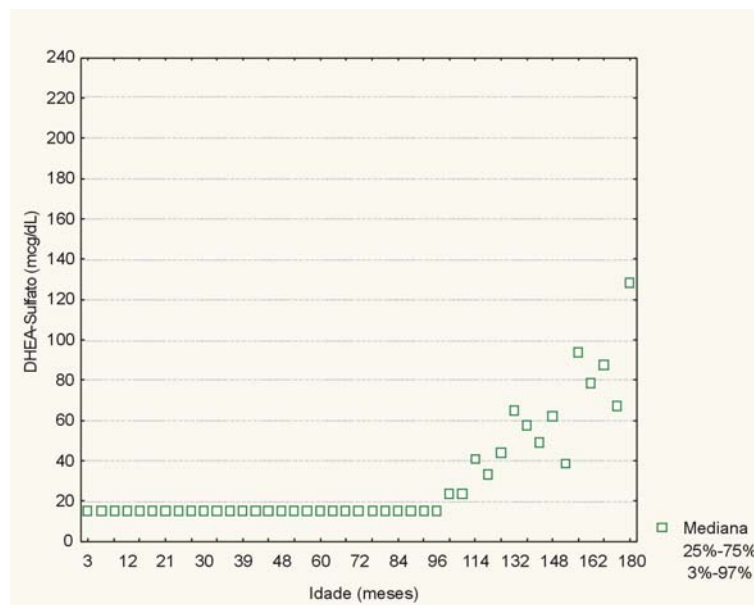
GRÁFICO 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S DAS CRIANÇAS DE AMBOS OS SEXOS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H, SEGUNDO A IDADE E A FREQUÊNCIA DAS DOSAGENS



Os símbolos na coluna à direita do gráfico representam o número de dosagens de DHEA-S por idade cronológica. O círculo maior representa 14 dosagens naquela idade cronológica. Como se pode observar, a faixa etária entre 46 e 88 meses corresponde ao período com maior número de dosagens.

O gráfico 4 ilustra a distribuição dos valores correspondentes ao 50.<sup>o</sup> P de DHEA-S ( $\mu$ g/dL), de acordo com a idade cronológica (meses), de todas as crianças. Observa-se uma elevação gradual dos valores de DHEA-S a partir dos 96 meses.

GRÁFICO 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES CORRESPONDENTES AO 50.º P DE DHEA-S DAS CRIANÇAS DE AMBOS OS SEXOS PORTADORAS DA MUTAÇÃO TP53 R337H, SEGUNDO A IDADE



A variação dos valores de DHEA-S, de acordo com a faixa etária, dos meninos e meninas é representada nos gráficos 5 e 6, respectivamente. Os valores de DHEA-S são significativamente maiores na faixa etária entre > 4 e 8 anos e entre > 8 e 15 anos (ANOVA de *Kruskal Wallis*  $p < 0,001$ ).

GRÁFICO 5 - VARIAÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S DOS MENINOS, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA

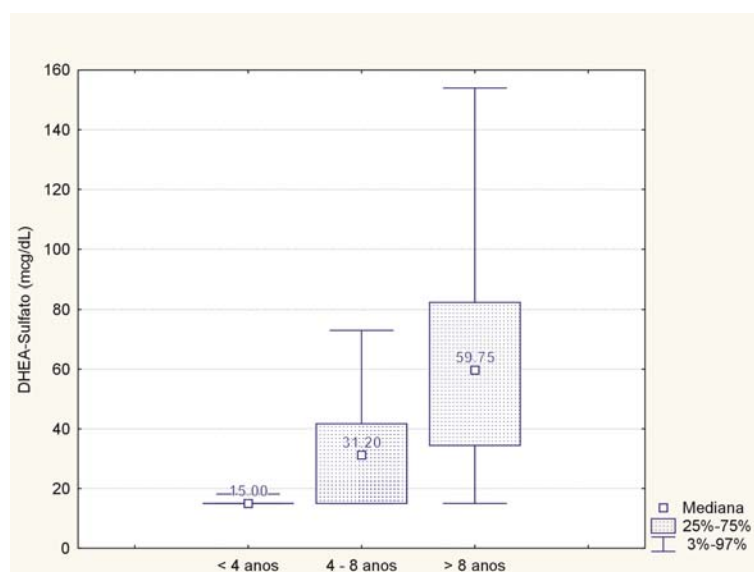
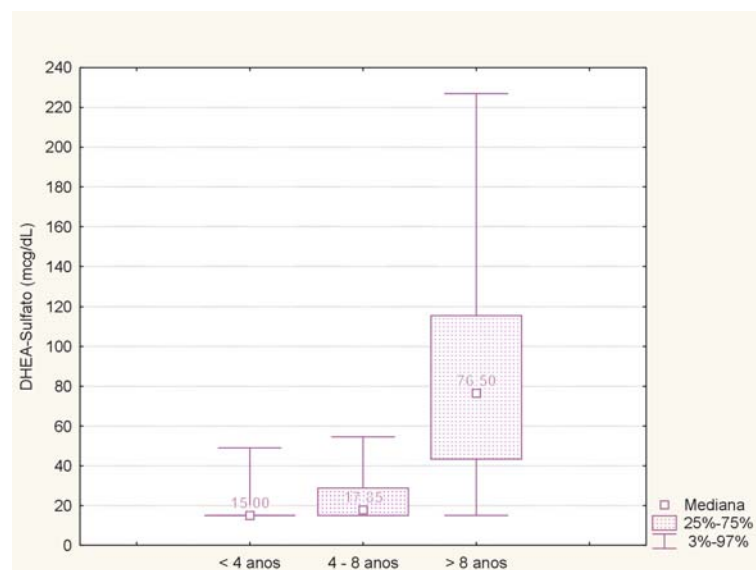


GRÁFICO 6 - VARIAÇÃO DOS VALORES DE DHEA-S DAS MENINAS, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA



#### 4.4.2 Testosterona

A tabela 7 mostra os valores da mediana, mínimo, máximo e número de dosagens de testosterona (ng/mL), dos meninos na faixa etária  $\leq 4$  anos. Todas as meninas nesta faixa etária apresentaram valores de testosterona  $< 20$ ng/mL, o que corresponde ao valor mínimo de detecção para o método empregado.

TABELA 7 - MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/ml) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA  $\leq 4$  ANOS, DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO *TP53 R337H*

	MENINOS
Mediana	20
Mínimo	20
Máximo	47,1
Número de dosagens	29

A tabela 8 mostra os valores da mediana, mínimo, máximo e número de dosagens de testosterona (ng/mL), das crianças na faixa etária entre  $> 4$  e 8 anos.

TABELA 8 - MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/dL) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA ENTRE > 4 E 8 ANOS, DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53 R337H*

	MENINAS	MENINOS
Mediana	20	20
Mínimo	20	20
Máximo	24,5	20,3
Número de dosagens	62	55

A tabela 9 mostra os valores da mediana, mínimo, máximo e número de dosagens de testosterona (ng/mL) para as crianças na faixa etária entre > 8 e 15 anos.

TABELA 9 - MEDIANA, MÍNIMO E MÁXIMO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/mL) E NÚMERO DE DOSAGENS, NA FAIXA ETÁRIA ENTRE > 8 E 15 ANOS, DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53 R337H*

	MENINOS	MENINAS
Mediana	92,0	27,5
Mínimo	20,00	20,00
Máximo	548,00	88,00
Número de dosagens	46	58

Os gráficos 7 e 8 mostram a distribuição dos valores de testosterona, de acordo com a idade cronológica (em meses), dos meninos (Gráfico 7) e das meninas (Gráfico 8) portadoras da mutação *TP53 R337H*.

GRÁFICO 7 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/mL) DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO *TP53 R337H*

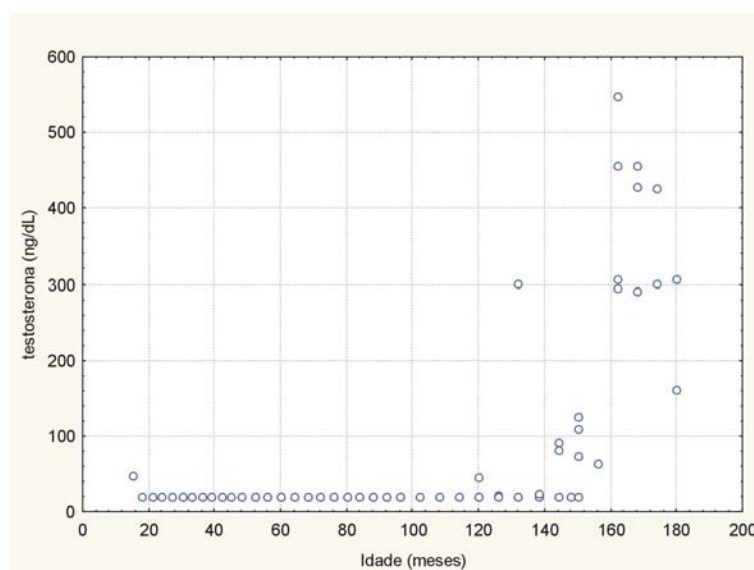
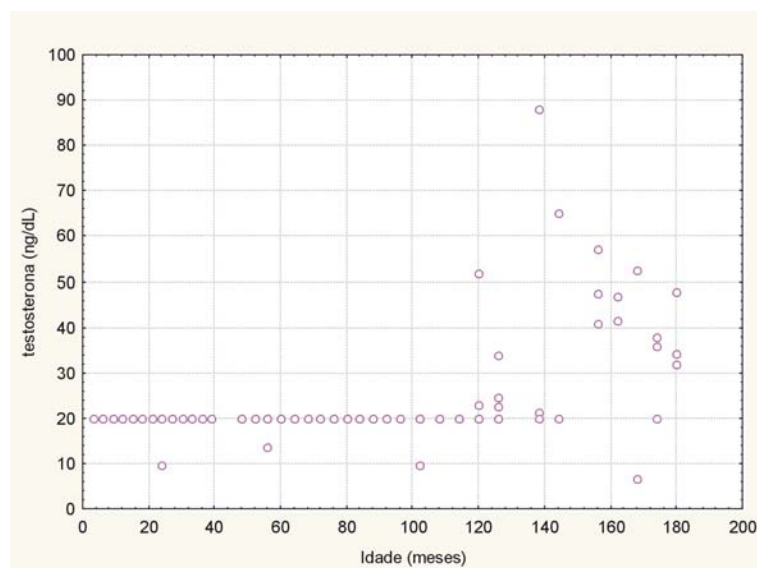
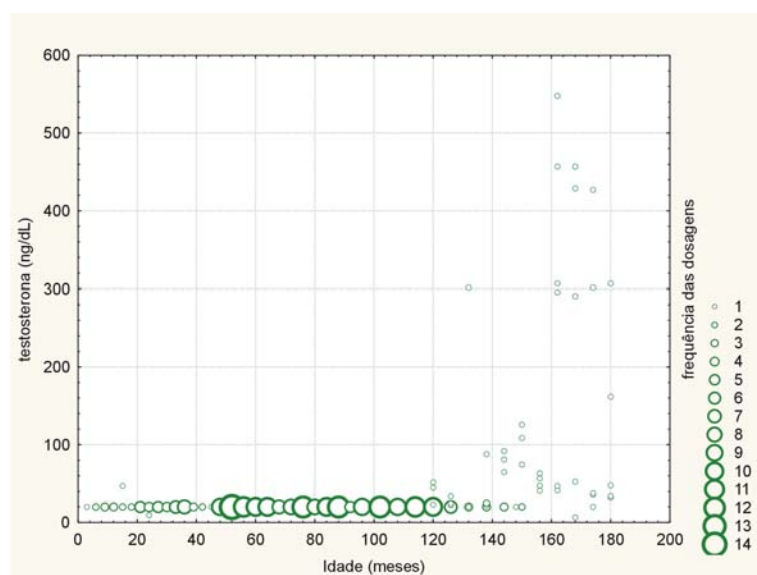


GRÁFICO 8 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/mL) DAS MENINAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H



O gráfico 9 mostra a distribuição dos valores de testosterona, de todas as crianças portadoras da mutação *TP53* R337H, de acordo com a idade e a frequência das dosagens realizadas. A partir dos 120 meses inicia-se um aumento progressivo dos valores de testosterona.

GRÁFICO 9 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/mL) DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H, SEGUNDO A IDADE E A FREQUÊNCIA DAS DOSAGENS



Os símbolos na coluna à direita do gráfico representam o número de dosagens de testosterona por idade cronológica. O círculo maior representa 14 dosagens naquela

idade cronológica. Como se pode observar, a faixa etária entre 46 e 88 meses corresponde ao período com maior número de dosagens. Os gráficos 10 e 11 mostram a distribuição dos valores correspondentes ao 50.º P de testosterona, de acordo com a idade cronológica (meses), dos meninos (Gráfico 10) e meninas (Gráfico 11).

GRÁFICO 10 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES CORRESPONDENTES AO 50.º P DE TESTOSTERONA DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO *TP53* R337H, SEGUNDO A IDADE

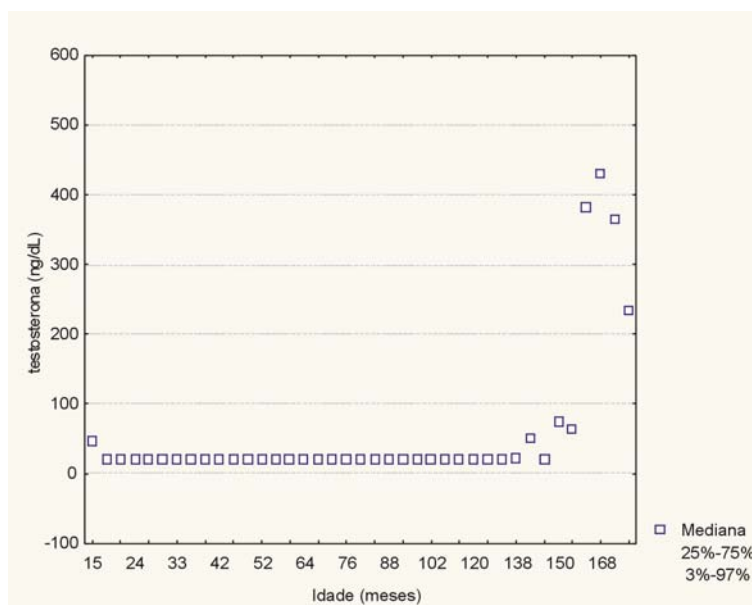
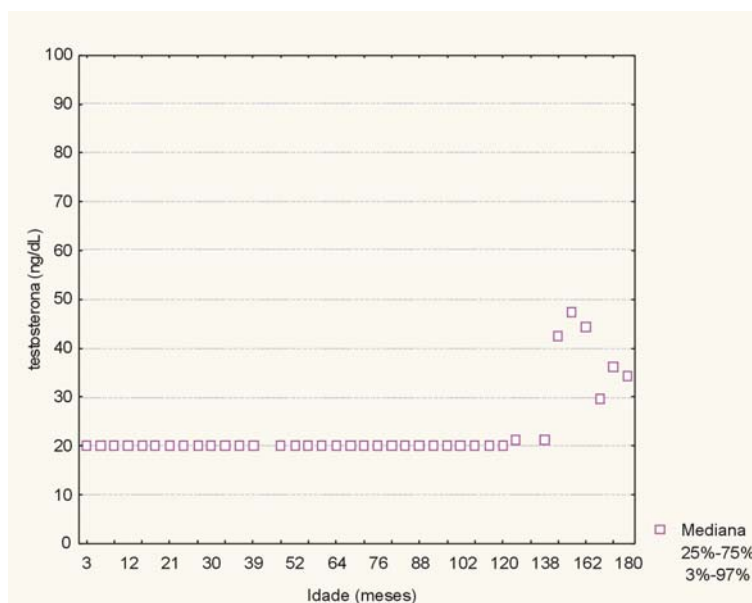


GRÁFICO 11 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES CORRESPONDENTES AO 50.º P DE TESTOSTERONA DAS MENINAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H, SEGUNDO A IDADE



A variação dos valores de testosterona, de acordo com a faixa etária, dos meninos e meninas está representada nos gráficos 12 e 13, respectivamente. Os valores de testosterona são significativamente maiores na faixa etária entre > 8 e 15 anos (ANOVA de *Kruskal Wallis*  $p < 0,001$ ), em correspondência com a fase puberal.

GRÁFICO 12 - VARIAÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/dL) DOS MENINOS, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA

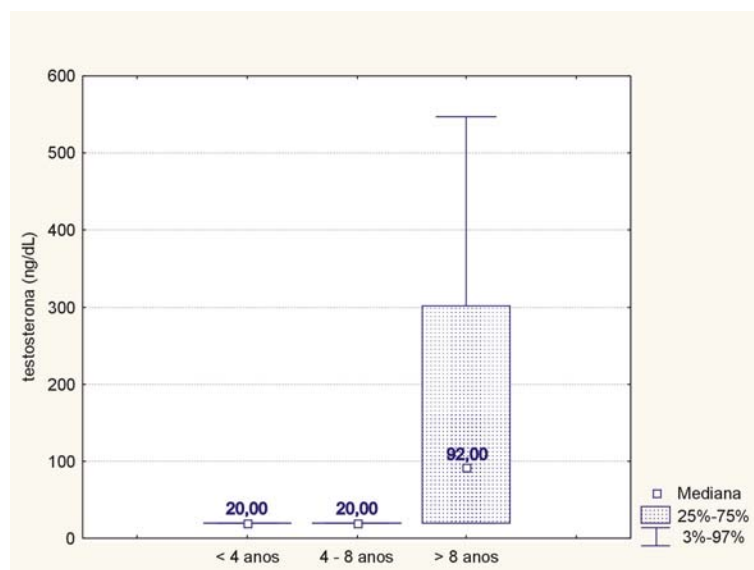
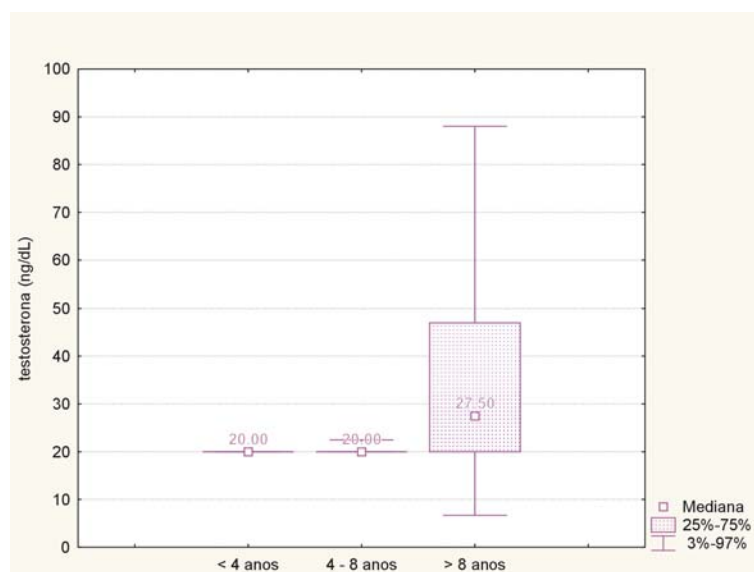


GRÁFICO 13 - VARIAÇÃO DOS VALORES DE TESTOSTERONA (ng/dL) DAS MENINAS, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA





#### 4.4.3 Cortisol

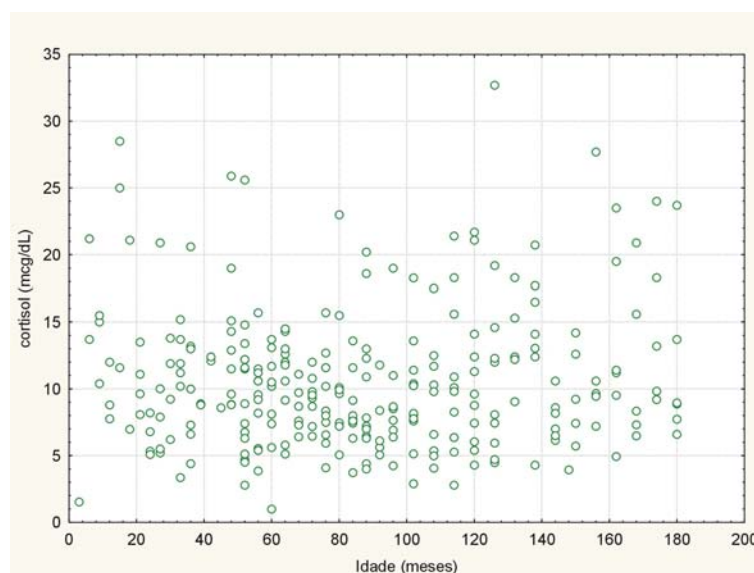
A tabela 10 apresenta a mediana, o mínimo e máximo dos valores de cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ ), e o número de dosagens, das crianças portadoras da mutação *TP53* R337H.

TABELA 10 - MEDIANA, MÍNIMO, MÁXIMO DOS VALORES CORTISOL ( $\mu\text{g/dL}$ ) E NÚMERO DE DOSAGENS, DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H

Mediana	9,8
Mínimo	1,5
Máximo	33,7
Número de dosagens	273

O gráfico 14 ilustra a distribuição dos valores de cortisol, de acordo com a idade cronológica (em meses), das crianças portadoras da mutação germinativa *TP53* R337H.

GRÁFICO 14 - DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES DE CORTISOL ( $\mu\text{g/dL}$ ) DAS CRIANÇAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H, SEGUNDO A IDADE



A variação dos valores de cortisol ( $\mu\text{g/dL}$ ), de acordo com a faixa etária, dos meninos e meninas, é representada nos gráficos 15 e 16, respectivamente. Não houve diferença estatisticamente significativa dos valores de cortisol nas diferentes

faixas etárias avaliadas dos meninos (ANOVA de *Kruskal - Wallis*  $p = 0,65$ ). Nas meninas este valor foi menor na faixa etária entre > 4 e 8 anos (ANOVA de *Kruskal - Wallis*,  $p = 0,006$ ).

GRÁFICO 15 - VARIAÇÃO DOS VALORES DE CORTISOL ( $\mu\text{g/dL}$ ) DOS MENINOS PORTADORES DA MUTAÇÃO *TP53* R337H, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA

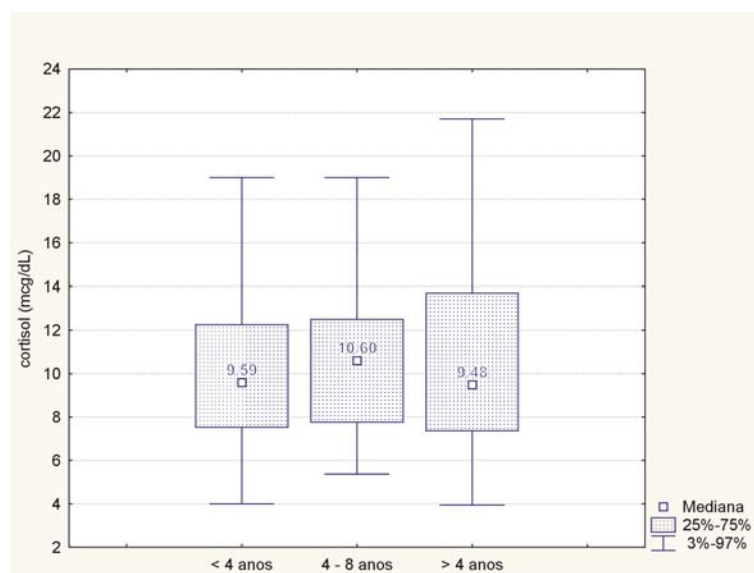
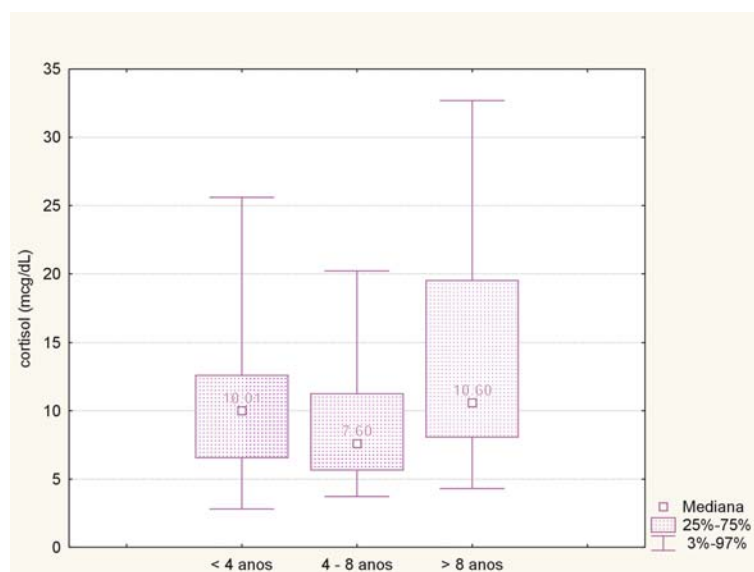


GRÁFICO 16 - VARIAÇÃO DOS VALORES DE CORTISOL ( $\mu\text{g/dL}$ ) DAS MENINAS PORTADORAS DA MUTAÇÃO *TP53* R337H, SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA



#### 4.5 ULTRA-SONOGRAFIA DE LOJAS ADRENAIS

Duzentas e vinte e seis ultra-sonografias foram realizadas. Três destes exames identificaram alterações na topografia da adrenal esquerda, cujos laudos são descritos a seguir (os números referentes a cada criança podem ser identificados no Apêndice 2):

- Criança 6: lesão expansiva na topografia da adrenal esquerda, medindo 3,2 x 2,2 cm, bem delimitada;
- Criança 33: imagem nodular, na topografia da glândula adrenal esquerda, de contornos regulares e ecogenicidade homogênea, com localização junto ao pólo inferior do baço;
- Criança 39: discreto aumento de volume da glândula adrenal esquerda.

A primeira e a terceira crianças acima citadas foram submetidas a exame de tomografia axial computadorizada (TAC) de abdome, e a segunda à ressonância nuclear magnética (RNM) do abdome, exames que não confirmaram a existência de alterações nas glândulas adrenais.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 A MUTAÇÃO GERMINATIVA *TP53* R337H E O TCA

O porquê da maior incidência de TCA na infância nas Regiões Sul e Sudeste do Brasil tem sido investigado desde a década de 1990. Naquele momento questionava-se a possibilidade de fatores ambientais estarem envolvidos na etiologia do TCA na infância (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997). A identificação da mutação germinativa R337H no gene supressor tumoral *TP53* (SANDRINI, 1999; RIBEIRO et al., 2001), presente em uma porcentagem elevada dos pacientes com TCA nos Estados do Paraná e São Paulo, e a demonstração de que esta mutação determina a perda da função da proteína p53 em determinadas condições de pH e temperatura (DiGIAMMARINO et al., 2002), resultaram em novas estratégias de avaliação, tanto dos pacientes e seus familiares quanto das linhas de pesquisa desenvolvidas para o TCA na infância (LONGUI et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al. 2004; PINTO et al., 2005; FIGUEIREDO et al., 2005; PIANOVSKI et al., 2006b; ACHATZ et al., 2006a).

Mutações germinativas do gene *TP53* estão, em geral, associadas à Síndrome de Li-Fraumeni (SLF). Estas mutações apresentam alta penetrância e determinam o aparecimento de vários tipos de câncer nas famílias portadoras da mutação. Contudo, são descritas mutações germinativas do gene *TP53* de baixa penetrância, relacionadas ao TCA na infância (VARLEY et al., 1999).

As evidências de que a mutação *TP53* R337H está relacionada ao processo de tumorigênese do córtex adrenal são: esta mutação não é um polimorfismo comum na população brasileira; perda da heterozigosidade, com retenção do alelo mutado no núcleo das células tumorais; e o aumento da expressão da proteína p53 mutada nos TCAs (RIBEIRO et al., 2001).

Qual a origem da mutação germinativa *TP53* R337H e o porquê de sua ocorrência em uma região específica do Brasil são dados para os quais ainda não se encontrou uma explicação. Dez casos de TCA da infância da Região Nordeste do

Brasil foram estudados e em nenhum se encontrou a mutação germinativa *TP53* R337H (FIGUEIREDO et al., 2006). Acredita-se que algum fator ambiental, como exposição a pesticidas, pode estar relacionado ao surgimento da mutação (VARLEY, 2003; FIGUEIREDO et al., 2006). Esta possível associação entre TCA e uso de pesticidas foi relatada também na Inglaterra (BIRCH e BLAIR, 1988). Pesticidas são amplamente utilizados no Paraná, e muitas vezes sem que sejam adotadas medidas de segurança adequadas. Entretanto, o uso amplo e indiscriminado destas substâncias, em especial o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), ocorreu a partir da década de 1950 (D'AMATO, TORRES e MALM, 2002), e um indivíduo com 86 anos de idade, portador da mutação, foi identificado no estudo de Figueiredo et al. (2006), o que demonstra que a mutação surgiu antes do uso destas substâncias.

Ribeiro et al. (2001), ao avaliar 17 pacientes com TCA, não encontrou evidências de que a mutação *TP53* R337H tenha origem em um ancestral comum, mas este achado não coincide com aqueles da avaliação de Pinto et al. (2004) e de Achatz et al. (2006a). Nesses dois últimos trabalhos, o estudo de marcadores polimórficos intragênicos demonstra que a origem da mutação, nas populações estudadas, foi de um mesmo ancestral. Uma avaliação conjunta de todos estes pacientes brasileiros, com a mesma metodologia, esclareceria estes dados conflitantes.

O que se tem discutido no momento é o papel da mutação *TP53* R337H no processo de tumorigênese de outros órgãos e sua associação com a SLF ou a Síndrome de Li-Fraumeni *like* (SLFL). Das 30 famílias avaliadas na UEP, em sete (23%) havia história familiar de câncer compatível com a SLFL, mas nenhuma com a SLF (FIGUEIREDO et al., 2006). Portanto, nas famílias avaliadas na UEP, assim como nas famílias das crianças com TCA e com a mesma mutação, descritas por Latronico et al. (2001) e por Sandrini et al. (2005), provenientes de outros lugares do Brasil, não há evidências de aumento da predisposição a outras formas de câncer.

Estudo recente com pacientes brasileiros de serviços do Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul, no qual foram avaliadas 45 famílias com SLF ou SLFL, em 13 pacientes detectou-se uma mutação no gene *TP53*, das quais seis são

a mutação germinativa *TP53* R337H. Estas seis famílias preenchiam os critérios de diagnóstico da SLFL, como os pacientes detectados na UEP; entretanto, em apenas duas famílias foram relatados casos de TCA na infância (ACHATZ et al., 2006a). Ribeiro et al. ressaltam, em carta ao editor do periódico no qual foi publicado o artigo de Achatz et al. que, apesar dos dados publicados sobre a mutação *TP53* R337H sugerirem que câncer de mama, cérebro e estômago ocorrem com frequência nas famílias portadoras desta mutação, investigação epidemiológica extensiva é necessária para determinar se a penetrância destes e de outros cânceres é maior nesta população (RIBEIRO et al., 2006).

A estimativa da penetrância de 9,9% para o TCA, em indivíduos portadores da mutação R337H *TP53*, sugere que 1 a cada 10 destes indivíduos desenvolverá o TCA até a idade de 10 anos (FIGUEIREDO et al., 2006; RIBEIRO et al., 2006). Como este cálculo da penetrância foi baseado em famílias nas quais pelo menos uma criança apresentou TCA, este dado deve ser interpretado com cautela. A identificação de famílias portadoras desta mutação e sem casos de TCA na infância, como no trabalho de Achatz et al. (2006a), reforça a necessidade de mais estudos epidemiológicos sobre esta mutação, que permitirão a reavaliação da penetrância tanto de TCA como de outros tumores nos portadores. Nas 57 crianças deste estudo, nenhuma desenvolveu a doença durante quatro anos de observação. Contudo, os indivíduos portadores da mutação deverão ser seguidos por tempo mais prolongado, não somente no período da infância, na busca de respostas a estas questões ainda não esclarecidas.

## 5.2 A POPULAÇÃO ESTUDADA

### 5.2.1 Sexo e Idade na Primeira Consulta

A amostra do presente estudo foi selecionada de forma aleatória e as crianças eram encaminhadas ao ambulatório da UEP à medida que a mutação era identificada. Os pacientes foram agrupados, de acordo com a faixa etária, para se definir a

freqüência das consultas e realização de exames, visando a uma avaliação mais freqüente daquelas crianças na faixa etária de maior risco para o surgimento de TCA. Vinte e quatro (42%) crianças encontravam-se, na primeira consulta, na faixa etária entre 0 e 4 anos, na qual a freqüência o TCA é maior (MARQUES-PEREIRA et al., 2004).

Não houve diferença significativa na ocorrência da mutação entre meninos e meninas. Entretanto, sabe-se que o TCA na infância apresenta uma maior incidência entre as meninas, 2,6:1 no grupo geral e 5,3:1 nos menores de 4 anos (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997; MARQUES-PEREIRA et al., 2004; MARQUES-PEREIRA et al., 2006). Este fato sugere que, além da presença da mutação, outros fatores influenciam o processo de tumorigênese, determinando esta diferença entre os sexos na ocorrência do TCA na infância.

### 5.2.2 Intervalo entre as Consultas

De 125 pacientes com TCA atendidos na UEP, a média de idade ao diagnóstico foi de 4,3 anos e mediana de 3,2 anos; 66,4% dos pacientes tinham entre 0 e 4 anos de idade (três casos de tumores congênitos); 28,7% entre 4 e 12 anos e 4,9% tinham mais que 13 anos (MARQUES-PEREIRA et al., 2004). Em virtude destes dados epidemiológicos, estabeleceu-se no protocolo de acompanhamento que as crianças entre 0 e 4 anos seriam avaliadas a cada três meses; aquelas entre > 4 e 8 anos a cada quatro meses e entre > 8 e 15 anos a cada seis meses. Portanto, a faixa etária com maior risco para o surgimento de TCA foi avaliada com maior freqüência.

### 5.2.3 Tempo de Acompanhamento

A média do tempo de acompanhamento foi de quatro anos; duas crianças iniciaram seu acompanhamento há menos de um ano. Entretanto, estes prazos foram determinados somente para esta conclusão parcial do acompanhamento. Este grupo deverá ser acompanhado por um período indeterminado, mesmo acima de 15 anos, para que mais informações que auxiliem na avaliação epidemiológica sejam obtidas.

A média e a mediana do número de consultas foram 10, com variação entre três e 19 consultas. Este número é inferior àquele esperado, de acordo com o protocolo estabelecido, porque os pacientes não compareceram a todas as consultas agendadas. A reconvocação em muitos casos foi necessária, para que o seguimento não sofresse solução de continuidade. Este dado reflete as dificuldades encontradas para manter-se um programa de seguimento de crianças saudáveis nas quais detectou-se uma mutação, especialmente quando existem muitas incertezas em relação ao significado da alteração genética encontrada.

#### 5.2.4 Avaliação Clínica

Nenhuma criança, durante o período de acompanhamento, apresentou sinais clínicos sugestivos da presença de TCA. As manifestações clínicas mais frequentes do TCA estão relacionadas ao aumento da secreção dos hormônios do córtex adrenal. Raramente estes tumores são não-funcionantes (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997; MARQUES-PEREIRA et al., 2004). Por este motivo, a cada consulta, tanto a anamnese quanto o exame físico minuciosos objetivavam avaliar sinais e sintomas de excesso de androgênios, glicocorticóides e (ou) mineralocorticóides. Parâmetros como a velocidade de crescimento e ganho de peso, medida da pressão arterial, presença de acne, oleosidade de pele e cabelos, presença de pilificação pubiana ou aumento da pilificação corporal, mudança do timbre da voz, aumento do pênis ou do clitóris, entre outros, foram sempre pesquisados.

#### 5.2.5 Dosagens Hormonais

Os valores de DHEA-S obtidos encontram-se dentro daqueles esperados para cada faixa etária, exceto em 1 criança. O gráfico da distribuição dos valores deste esteróide demonstra uma elevação constante a partir dos 84 meses (7 anos) de idade cronológica e o gráfico da distribuição dos valores correspondentes ao 50.<sup>o</sup> P demonstra a elevação mais significativa a partir dos 100 meses (8,3 anos).



A adrenarca, evento que precede em dois anos o início da puberdade, caracteriza-se pela elevação dos níveis de DHEA-S, em geral entre os 7 e 8 anos, que mantém-se em elevação durante a puberdade, atingindo valores máximos nos adultos jovens (MILLER, 2002).

Uma menina que iniciou acompanhamento aos 4 anos e 11 meses (criança n.º 44, Apêndice 2) apresentou níveis crescentes de DHEA-S, acima dos valores de referência. As determinações de testosterona e cortisol, bem como as ultrasonografias de adrenais e a TAC de abdome recente desta criança, foram normais. Após avaliação mais detalhada para afastar a possibilidade de ocorrência do TCA, o diagnóstico estabelecido foi de adrenarca precoce idiopática.

Os valores de testosterona e cortisol plasmático foram normais.

#### 5.2.6 Avaliação por Exame de Imagem

Os métodos de imagem utilizados para a confirmação e localização do TCA são, preferencialmente, a ressonância nuclear magnética (RNM) e a tomografia axial computadorizada (TAC). A sensibilidade da ultra-sonografia para detectar um tumor pequeno está relacionada ao poder de resolução do aparelho utilizado e à experiência do examinador. Em uma avaliação anterior, no serviço da UEP, a ultra-sonografia não detectou a presença do TCA em três de 28 pacientes; em todos, o tumor foi detectado pela TAC (SANDRINI, RIBEIRO e DeLACERDA, 1997; MARQUES-PEREIRA et al., 2004). Entretanto, apesar das possíveis limitações relacionadas à ultra-sonografia na detecção de tumores pequenos, optou-se por este método de investigação por ser não-invasivo, de baixo custo e não apresentar riscos relacionados à radioatividade ou necessidade de anestesia ou sedação para sua realização, como a TAC.

### 5.3 ACONSELHAMENTO GENÉTICO PARA INDIVÍDUOS ASSINTOMÁTICOS E PORTADORES DE MUTAÇÕES GERMINATIVAS DO GENE *TP53*

A análise de genes envolvidos na predisposição ao câncer, além de fazer parte de estudos que objetivam o melhor conhecimento dos mecanismos de tumorigênese e da etiologia do câncer, tem sido incorporada na prática da oncologia clínica e da medicina preventiva. A Sociedade Americana de Oncologia Clínica [*American Society of Clinical Oncology* (ASCO)] tem compromisso com este objetivo, buscando ampliar, de maneira rápida, o acesso a esta metodologia de investigação para os pacientes e as famílias portadoras de síndrome de câncer familiar (AMERICAN SOCIETY..., 2003).

A maioria das pessoas que desenvolve algum tipo de câncer o apresenta de forma esporádica. Entretanto, a possibilidade da presença de uma síndrome de câncer familiar deve ser investigada com base na história pessoal e (ou) familiar da presença de câncer (SIFRI, GANGADHARAPPA e ACHESON, 2004).

A síndrome de câncer familiar é caracterizada por:

- famílias nas quais múltiplas gerações, do mesmo ramo da família, apresentam um padrão constante de neoplasias malignas, e (ou);
- surgimento de mais de um câncer primário ou tumores bilaterais em um mesmo indivíduo, e (ou);
- câncer em indivíduo jovem (antes dos 50 anos), e (ou);
- apresentação atípica do câncer, como, por exemplo, câncer de mama em homem (SIFRI, GANGADHARAPPA e ACHESON, 2004; LAIRMORE e MOLEY, 2005).

Alguns aspectos relacionados à análise de genes em famílias de indivíduos portadores de mutações germinativas merecem atenção especial, sobretudo a pesquisa e o aconselhamento genético feito aos portadores da mutação e, principalmente, a pesquisa de mutação na população pediátrica.

A ASCO recomenda que o teste genético deve ser oferecido quando:

- o indivíduo possui uma história pessoal ou familiar sugestiva de suscetibilidade genética ao câncer, sendo
- o teste facilmente interpretável e
- o resultado auxiliará no diagnóstico ou influenciará a conduta médica para o paciente ou para os membros da família com risco de câncer hereditário (AMERICAN SOCIETY..., 2003).

Nenhum dos testes de suscetibilidade ao câncer, disponíveis atualmente, é apropriado para a triagem de indivíduos assintomáticos na população geral. Quando a história pessoal ou familiar de câncer sugere a presença de uma síndrome de câncer familiar, a identificação de uma mutação no indivíduo afetado pode influenciar a conduta médica e ser usada como indicação para testar outros membros da família. Em outras palavras, a avaliação de genes deve partir do indivíduo suscetível, e não da população geral, em busca de indivíduos suscetíveis. A ASCO enfatiza que as situações consideradas como indicação para a realização da pesquisa de mutações genéticas são a história familiar de câncer, a ocorrência de câncer em indivíduos jovens ou a presença de tumores raros, situações que sugerem a predisposição genética (AMERICAN SOCIETY..., 2003).

A ASCO e a Academia Americana de Pediatria recomendam ainda que o teste para identificar mutações genéticas seja realizado para crianças, com base em um probando, apenas quando a mutação leva ao risco de desenvolver o câncer durante a infância e existam medidas capazes de reduzi-lo (AMERICAN ACADEMY..., 2001; AMERICAN SOCIETY..., 2003). Estes aspectos também são enfatizados por outros autores, que citam, como exemplo, a tireoidectomia profilática realizada até os 5 anos em crianças portadoras de mutações do gene *MEN2*, para prevenir o desenvolvimento do carcinoma medular da tireóide (MÜLLER et al., 2000; SIFRI, GANGADHARAPPA e ACHESON, 2004). Entretanto, alguns pacientes podem estar sob risco de desenvolver câncer durante a infância, sem que existam estratégias capazes de reduzir o risco da ocorrência do câncer; neste grupo se encontram os indivíduos

portadores de mutação germinativa do gene *TP53* (AMERICAN SOCIETY..., 2003). Especificamente para este grupo de portadores da mutação, não há consenso quanto à indicação de realização de pesquisa de mutações em crianças. Na Inglaterra não existem normas para a realização de testes genéticos para mutações germinativas do gene *TP53* ou para a triagem de indivíduos assintomáticos (VARLEY, 2003). Na França, há a recomendação de que o teste para pesquisa de mutações, em familiares de indivíduos portadores de câncer e diagnóstico da SLF, seja realizado somente nos adultos (FREBOURG et al., 2001).

Há consenso de que a realização do teste para análise de genes em familiares de probandos deve sempre ser precedida de aconselhamento genético, com orientações claras aos indivíduos das razões para realizar o teste. Estas devem incluir a discussão dos possíveis riscos e benefícios da detecção precoce do câncer e modalidades de prevenção disponíveis. Deve haver um intervalo entre as sessões, para que o indivíduo possa refletir sobre o que lhe foi informado (MÜLLER et al., 2000; AMERICAN SOCIETY..., 2003; SIFRI, GANGADHARAPPA e ACHESON, 2004). Ele orienta, no fórum que debate a realização de teste genético para avaliar a predisposição ao câncer, que crianças maiores de 7 anos devem ser envolvidas no processo do aconselhamento, com a ajuda de um psicólogo treinado especificamente em aconselhamento pediátrico (MÜLLER et al., 2000).

O teste genético, para investigação de mutações germinativas do gene *TP53* em indivíduos de famílias diagnosticadas com SLF, deve ser oferecido levando em consideração as implicações clínicas, sociais, psicológicas e éticas associadas a este teste, mesmo em situações nas quais as probabilidades de encontrar-se uma mutação sejam altas (VARLEY, 2003).

Varley et al. (1999) e Chompret et al. (2001) consideram que a pesquisa de mutação no gene *TP53* deve ser considerada nos pacientes com TCA esporádico; se houver mutação no gene *TP53*, seria apropriado oferecer a estes pacientes triagem para tumores de mama e SNC, utilizando protocolos que minimizem a exposição à radiação iônica. Olivier et al. consideram que a realização de ultra-sonografia de

abdome anual está recomendada para crianças portadoras de mutação do gene *TP53* (OLIVIER et al., 2003). Entretanto, não há consenso quanto à conduta para pacientes portadores de mutações germinativas do gene *TP53*. O espectro de tipos de cânceres, os diferentes locais de ocorrência e a variabilidade na idade de surgimento dos tumores associados à SLF tornam a triagem difícil. Varley (2003) recomenda avaliação clínica anual e inclusive a RNM em mulheres com risco para desenvolver câncer de mama e a ultra-sonografia abdominal para crianças. Segundo Hisada et al. (1998), nenhuma recomendação pode ser feita para realização de testes de triagem invasivos ou de alto custo para os vários tumores sólidos para indivíduos de familiares com SLF e portadores de mutação. É prudente sugerir aos membros das famílias um estilo de vida saudável, evitar agentes cancerígenos ambientais, e seus médicos devem ser alertados para sinais precoces de câncer.

Nesta tese que, entre outros objetivos, tenta confirmar a taxa de penetrância do TCA em familiares de pacientes portadores da mutação do *TP53*, não se encontrou a penetrância descrita de 9,9% até os 10 anos de idade. Dever-se-á manter a avaliação por tempo maior, para que se confirmem estes índices. A partir da confirmação da penetrância real, que envolverá a pesquisa desta mutação em outras formas de câncer familiar, associados ou não ao TCA na infância, poder-se-ão estabelecer normas para a necessidade de identificação da mutação em familiares de pacientes com TCA e para o seguimento dos portadores de mutação. Ao lado disso, estudos epidemiológicos das famílias deste grupo de crianças devem ser feitos a fim de verificar a relação da mutação com outras formas de câncer.

Vale ressaltar que nenhuma sociedade médica de prestígio e nem autores importantes que analisam alterações do gene *TP53* recomendam a busca de alterações na população em geral. Essa contra-indicação baseia-se em duas razões: o teste não oferece nem esclarecimentos precisos, nem tratamento para o problema.

Na busca de entender a patogênese do TCA, muitas questões permanecem sem explicação: 1) por que a unilateralidade do TCA? 2) poderia o "milieu" hormonal (estriol durante o crescimento fetal e estradiol durante os primeiros 2 anos de vida)

explicar a maior ocorrência de TCA no sexo feminino no grupo etário menor que 4 anos de idade? 3) células da zona fetal do córtex adrenal escapariam do processo apoptótico pela ação combinada de genes e produtos gênicos, tornando-as mais suscetíveis ao processo de tumorigênese? São perguntas para as quais este Serviço continuará, em futuras pesquisas, a buscar respostas.

## 6 CONCLUSÕES

- 1) Nenhuma criança desenvolveu TCA no período médio de quatro anos de seguimento clínico e laboratorial de 57 crianças portadoras da mutação *TP53* R337H, parentes de pacientes com TCA e portadores da mesma mutação.
- 2) Estes dados não permitem, até o momento, confirmar que crianças portadoras da mutação *TP53* R337H têm risco cumulativo de 9,9% de desenvolver TCA na infância.

## REFERÊNCIAS

ACHATZ, M. I. W. et al. The *TP53* mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. **Cancer Lett**, fev 20 [Epub ahead of print], 2006(a).

ACHATZ, M. I. W. et al. Response to "Germline *TP53* R337H mutation is not sufficient to establish Li-Fraumeni or Li-Fraumeni-like syndrome", by Ribeiro et al. **Cancer Lett**, jun 7 [Epub ahead of print], 2006(b).

AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS – COMMITTEE ON BIOETHICS. Ethical Issues with genetic testing in pediatrics. **Pediatrics**, v.107, n.6, p.1451-1455, 2001.

AMERICAN SOCIETY OF CLINICAL ONCOLOGY. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic testing for cancer susceptibility. **J Clin Oncol**, v.21, n.12, p.2397-2406, 2003.

BACHINSKI, L. L. et al. Genetic mapping of a third Li-Fraumeni syndrome predisposition locus to human chromosome 1q23. **Cancer Res**, v.65, n.2, p.427-431, 2005.

BELL, D. W. et al. Heterozygous germ line *hCHK2* mutations in Li-Fraumeni syndrome. **Science**, v.286, n.5449, p.2528-2531, 1999.

BERNSTEIN, L.; GURNEY, J. G. Carcinomas and other malignant neoplasms – Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER program 1975-1995. Disponível em: <<http://seer.cancer.gov/publications/childhood/carcinomas.pdf>>. Acesso em: 28 abr. 2006.

BIRCH, J. M.; BLAIR, V. Increase in childhood carcinomas in north-west England. **Lancet**, v.1, n.8589, p.833, 1988.

BIRCH, J. M. et al. Cancer in the families of children with soft tissue sarcoma. **Cancer**, v.15, p.2239-2248, 1990.

BIRCH, J. M. et al. Prevalence and diversity of constitutional mutations in the *p53* gene among 21 Li-Fraumeni families. **Cancer Res**, v.54, p.1298-1304, 1994.

BIRCH, J. M. et al. Relative frequency and morphology of cancers in carriers of germline *TP53* mutations. **Oncogene**, v.20, p.4621-4628, 2001.

BOTTOMLEY, R. H.; CONDIT, P. T.; CHANES, R. E. Cytogenetic studies in familial malignancy. **Clin Res**, v.15, p.334, 1967.

BOTTOMLEY, R. H.; CONDIT, P. T. Cancer families. **Cancer Bull**, v.20, p.22-24, 1968.

BOTTOMLEY, R. H.; TRAINER, A. I.; CONDIT, P. T. Chromosome studies in a "cancer family". **Cancer**, v.28, p.519-528, 1971.

BRUGIÈRES, L. et al. Screening for germ line *p53* mutations in children with malignant tumors and a family history of cancer. **Cancer Res**, v.53, p.452-455, 1993.



- CADWELL, C.; ZAMBETTI, G. P. The effects of wild-type p53 tumor suppressor activity and mutant p53 gain-of-function on cell growth. **Gene**, v. 277, p.15-30, 2001.
- CHERNAUSEK, S. D. Pheochromocytoma and the multiple endocrine neoplasia syndromes. In: SPERLING, M. A. **Pediatric Endocrinology**. Philadelphia: Saunders, 2002. p.439-454.
- CHOMPRET, A. et al. P53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carriers individuals. **Br J Cancer**, v. 82, n.12, p.1932-1937, 2000.
- CHOMPRET, A. et al. Sensitivity and predictive value of criteria for p53 germline mutation screening. **J Med Genet**, v.38, p.43-47, 2001.
- DAVISON, T. S. et al. Characterization of the oligomerization defects of two p53 mutants found in families with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni like syndrome. **Oncogene**, v.17, p.651-656, 1998.
- DESANDES, E. et al. Cancer incidence among children in France, 1990-1999. **Pediatr Blood Cancer**, v.43, p.749-757, 2004.
- DiGIAMMARINO, E. L. et al. A novel mechanism of tumorigenesis involving pH-dependent destabilization of a mutant p53 tetramer. **Nat Struct Biol**, v.9, n.1, p.12-16, 2002.
- D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (diclorofenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental – uma revisão. **Quim Nova**, v.25, n.6, p.995-1002, 2002.
- EELES, R. A. et al. The role of *TP53* in breast cancer development. **Cancer Surv**, v.18, p.57-75, 1993.
- FIGUEIREDO, B. C. et al. Multiple childhood adrenocortical tumors in six families from Southern Brazil without Li-Fraumeni syndrome. **Horm Res**, v.53 (suppl. 2), p.15, 2000.
- FIGUEIREDO, B. C. et al. Amplification of the steroidogenic factor 1 gene in childhood adrenocortical tumors. **J Clin Endocrinol Metab**, v.90, n.2, p.615-619, 2005.
- FIGUEIREDO, B. C. et al. Penetrance of adrenocortical tumors associated with the germline *TP53* R337H mutation. **J Med Genet**, v.43, p.91-96, 2006.
- FISHER, D. A. **The Quest Diagnostics Manual. Pediatric Endocrinology**. San Juan Capistrano, CA, Quest Diagnostic Incorporated, 2000, p.40.
- FREBOURG, T. et al. Le syndrome de Li-Fraumeni: mise au point, données nouvelles et recommandations pour la prise en charge. **Bull Cancer**, v.88, n.6, p.581-587, 2001.
- GALLO, C. V. M. et al. *TP53* mutations as biomarkers for cancer epidemiology in Latin America: current knowledge and perspectives. **Mutat Res**, v.589, n.3, p.192-207, 2005.
- HAINAUT, P. Tumor-specific mutations in p53: the acid test. **Nat Med**, v.8, p.21-23, 2002.
- HELMAN, L. J.; MALKIN, D. Molecular biology for childhood cancers. In: DEVITA JR., V. T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. (Ed.). **Cancer: principles & practice of oncology**. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2005. p.1889-1897.

HEPPNER, C. et al. *MEN 1* gene analysis in sporadic adrenocortical neoplasms. **J Clin Endocrinol Metab**, v.84, n.1, p.216-219, 1999.

HISADA, M. et al. Multiple primary cancers in families with Li-Fraumeni syndrome. **J Natl Cancer Inst**, v.90, n.8, p.606-611, 1998.

KINZLER, K. W.; VOGELSTEIN, B. Colorectal tumors. In: SCRIVER, C. R.; BEAUDET, A. L.; SLY, W. S. e VALLE, D. (Ed.). **The metabolic and molecular bases of inherited disease**. New York: McGraw-Hill, 1995. p.643-663.

LACK, E. E. et al. Adrenocortical neoplasm in the pediatric and adolescent age group: clinicopathologic study of 30 cases with emphasis on epidemiological and prognostic factors. **Pathol Ann**, v.27, p.1-53, 1992.

LAIRMORE, T. C.; MOLEY, J. F. Molecular biology of endocrine tumors. In: DEVITA JR., V. T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. (Ed.). **Cancer: principles & practice of oncology**. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2005. p.1489-1503

LATRONICO, A. C. et al. An inherited mutation outside the highly conserved DNA-binding domain of the p53 tumor suppressor protein in children and adults with sporadic adrenocortical tumors. **J Clin Endocrinol Metab**, v.86, p.4970-4973, 2001.

LEFEVRE, M. et al. Adrenal cortical carcinoma in 42 patients treated from 1958 to 1980 at Villejuif. In: HUMPHREY, G. B.; GRINDEY, G. B.; DEHNER, L. B. et al. (Ed.). **Adrenal and endocrine tumors in children**. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, 1984. p.256-276.

LEVINE, A. J. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. **Cell**, v.88, p.323-331, 1997.

LI, F. P.; FRAUMENI JR., J. F. Soft – tissue sarcomas, breast cancer and other neoplasms. A familial syndrome? **Ann Int Med**, v.71, n.4, p.747-752, 1969.

LI, F. P.; FRAUMENI JR., J. F. Familial breast cancer, soft tissue sarcomas, and other neoplasms. **Ann Int Med**, v.83, n.6, p.833-834, 1975.

LI, F. P.; FRAUMENI JR., J. F. Prospective study of a cancer familial syndrome. **JAMA**, v.247, p.2292-2294, 1982.

LI, F. P. et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. **Cancer Res**, v.48, p.5358-5362, 1988.

LIBÉ, R.; BERTHERAT, J. Molecular genetics of adrenocortical tumors, from familial to sporadic diseases. **Eur J Endocrinol**, v.153, p.477-487, 2005.

LINZER, D. I.; LEVINE, A. J. Characterization of a 54-Kdalton cellular SV40 transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. **Cell**, v.17, p.43-52, 1979.

LJUNGMAN, M. Dial 9-1-1 for p53: mechanisms of p53 activation by cellular stress. **Neoplasia**, v.2, n.3, p.208-225, 2000.

LOMAX, M. E. et al. Two functional assays employed to detect an unusual mutation in the oligomerization domain of p53 in a Li-Fraumeni like family. **Oncogene**, v.14, n.15, p.1869-1874, 1997.

LOMAX, M. E. et al. Characterization of p53 oligomerization domain mutations isolated from Li-Fraumeni and Li-Fraumeni like family members. **Oncogene**, v.17, p.643-649, 1998.

LONGUI, C. A. et al. Inhibin  $\alpha$ -subunit (*INHHA*) gene and locus changes in paediatric adrenocortical tumors from *TP53* R337H mutation heterozygote carriers. **J Med Genet**, v.41, p.354-359, 2004.

LYNCH, H. T. et al. Genetic and pathologic findings in a kindred with hereditary sarcoma breast cancer, brain tumors, leukemia, lung, laryngeal, and adrenal cortical carcinoma. **Cancer**, v.41, p.2055-2064, 1978.

MALKIN, D. et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. **Science**, v.250, p.1233-1238, nov. 1990.

MALKIN, D. et al. Germline mutations of the p53 tumor-suppressor gene in children and young adults with second malignant neoplasms. **N Engl J Med**, v.326, n.20, p.1309-1314, 1992.

MARIGO, C.; MULLER, H.; DAVIES, J. N. P. Survey of cancer in children admitted to a Brazilian charity hospital. **J Natl Cancer Inst**, v.43, n.6, p.1231-1240, dez. 1969.

MARSH, D. J.; ZORI, R. T. Genetic insights into familial cancers – update and recent discoveries. **Cancer Lett**, v.181, p.125-164, 2002.

MARSHALL, W. A.; TANNER, J. M. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. **Arch Dis Child**, v.45, p.13-23, 1970.

MARQUES-PEREIRA, R. et al. Tumores do Córtex Adrenal na Infância. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.48, p.651-658, 2004.

MARQUES-PEREIRA, R. et al. Tratamento do tumor do córtex adrenal na infância. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.49, n.5, p.747-752, 2005.

MARQUES-PEREIRA, R. et al. Childhood adrenocortical tumors: a review. **Hered Cancer Clin Practice**, v.4, n.2, p.81-89, 2006.

MATEU, M. G.; FERSHT, A. R. Nine hydrophobic side chains are key determinants of the thermodynamic stability and oligomerization status of tumor suppressor p53 tetramerization domain. **EMBO J**, v.17, n.10, p.2748-2758, 1998.

MATLOFF, E. T. Genetic counseling. In: DEVITA JR., V. T.; HELLMAN, S. e ROSENBERG, S. A. (Ed.). **Cancer: principles & practice of oncology**. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2005. p.2676-2683.

MICHALKIEWICZ, E. et al. Clinical and outcome characteristics of children with adrenocortical tumors: a report from the International Pediatric Adrenocortical Tumor Registry. **J Clin Oncol**, v.5, p.838-845, 2004

MILLER, W. L. The adrenal cortex. In: SPERLING, M. A. (Ed.). **Pediatric Endocrinology**. Philadelphia: Saunders, 2002. p.385-438.

MÜLLER, H. et al. Genetic testing for cancer predisposition – an ongoing debate. **Lancet Oncol**, v.1, p.118-124, 2000.

NELSON, R. M. et al. Ethical issues with genetic testing in pediatrics. **Pediatrics**, v.107, n.6, p.1451-1455, 2001.

OLIVIER, M. et al. Li-Fraumeni and related syndromes: correlation between tumor type, family structure, and *TP53* genotype. **Cancer Res**, v.63, p.6643-6650, 2003.

PARKIN, D. M. et al. The international incidence of childhood cancer. **Int J Cancer**, v.42, p.511-520, 1988.

PIANOVSKI, M. A. D. et al. Mortality rate of adrenocortical tumors in children under 15 years of age in Curitiba, Brazil. **Pediatr Blood Cancer**, v.47, n.1, p.56-60, 2006(a).

PIANOVSKI, M. A. D. et al. SF-1 overexpression in childhood adrenocortical tumors. **Eur J Cancer**, v. 42, n.8, p.1040-1043, 2006(b).

PINTO, E. M. et al. Founder effect for the highly prevalent R337H mutation of tumor suppressor p53 in Brazilian patients with adrenocortical tumors. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v.48, n.5, 2004.

PINTO, E. M. et al. Deletion mapping of chromosome 17 in benign and malignant adrenocortical tumors associated with the arg227His mutation of the p53 tumor suppressor protein. **J Clin Endocrinol Metab**, v.90, n.5, p.2976-2981, 2005.

RIBEIRO, R. C. et al. An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. **Proc Nat Acad Sci USA**, v.98, p.9330-9335, 2001.

RIBEIRO, R. C. et al. Germline *TP53* R337H mutation is not sufficient to establish Li-Fraumeni or Li-Fraumeni-like syndrome. **Cancer Lett**, jun 1 [Epub ahead of print], 2006.

SAMESHIMA, Y. et al. Detection of novel germ-line p53 mutations in diverse cancer-prone families identified by selecting patients with adrenocortical carcinoma. **J Natl Cancer Inst**, v.84, n.9, p.703-711, mai. 1992.

SANDRINI, F. **Tumor adrenocortical em crianças**: avaliação da relação com câncer em familiares e com alterações no gene *TP53*. Curitiba, 1999. 58f. Dissertação (Mestrado em Pediatria) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

SANDRINI, F. et al. Inheritance of R337H p53 gene mutation in children with sporadic adrenocortical tumor. **Horm Metab Res**, v.37, p.231-235, 2005.

SANDRINI, R.; RIBEIRO, R. C.; DeLACERDA, L. Childhood adrenocortical tumors. **J Clin Endocrinol Metab**, v.82, p.2027-31, 1997.

SCHULTE, K. M. et al. Complete sequencing and messenger ribonucleic acid expression analysis of the *MEN 1* gene in adrenal cancer. **J Clin Endocrinol Metab**, v.85, n.1, p.441-448, 2000.

SIFRI, R.; GANGADHARAPPA, S.; ACHESON, L. S. Identifying and testing for hereditary susceptibility to common cancers. **CA Cancer J Clin**, v.54, p.309-326, 2004.

STRATAKIS, C. A. Genetics of adrenocortical tumors: gatekeepers, landscapers and conductors in symphony. **Trends Endocrinol Metab**, v.14, n.9, p.404-410, 2003.

TANNER, J.; WITHEHOUSE, R. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity and weight velocity and stages of puberty. **Arch Dis Child**, v.51, p.170-179, 1976.

VARLEY, J. M. Germline *TP53* mutations and Li-Fraumeni syndrome. **Hum Mut**, v.21, p.313-320, 2003.

VARLEY, J. M. et al. A previously undescribed mutation within the tetramerization domain of *TP53* in a family with Li-Fraumeni syndrome. **Oncogene**, v.12, p.2437-2442, 1996.

VARLEY, J. M. et al. Germ-line mutations of *TP53* in Li-Fraumeni families: an extended study of 39 families. **Cancer Res**, v.57, p.3245-3252, 1997.

VARLEY, J. M. et al. Are there low-penetrance *TP53* Alleles? Evidence from childhood adrenocortical tumors. **Am J Hum Genet**, v.65, n.4, p.995-1006, 1999.

VOGELSTEIN, B.; LANE, D.; LEVINE, A. J. Surfing the p53 network. **Nature**, v.408, p.307-310, 2000.

WAGNER, J. et al. High frequency of germline p53 mutations in childhood adrenocortical cancer. **J Natl Cancer Inst**, v. 86, n. 22, p. 1707-1710, 1994.

WAJCHENBERG, B. L. et al. Adrenocortical carcinoma. Clinical and laboratory observations. **Câncer**, v.88, p.711-736, 2000.

WOOTEN, M. D.; KING, D. K. Adrenal cortical carcinoma. Epidemiology and treatment with mitotane and a review of the literature. **Cancer**, v.72, n.11, 1993.

## APÊNDICES

## APÊNDICE 1

### PROTOCOLO DE ATENDIMENTO

#### 1. Frequência das consultas

Crianças com idade  $\leq 4$  anos: consultas a cada 3 meses

Crianças com idade  $> 4$  anos e  $\leq 8$  anos: consultas a cada 4 meses

Crianças com idade  $> 8$  anos e  $\leq 15$  anos: consultas a cada 6 meses.

#### 2. Roteiro de consulta

##### 2.1 Anamnese

Queixa principal

Anamnese dirigida:

- Padrão de crescimento e ganho de peso, presença de pelos pubianos e/ou axilares, acne, odor no suor, alteração no comportamento.
- Preocupação sobre a informação da presença da mutação.

##### 2.2 Exame Físico

Peso\* \_\_\_\_\_ Estatura\* \_\_\_\_\_

Pressão Arterial \_\_\_\_\_ FC \_\_\_\_\_ FR \_\_\_\_\_

Cabeça e pescoço \_\_\_\_\_

Tórax \_\_\_\_\_

Abdome \_\_\_\_\_

Membros superiores e inferiores \_\_\_\_\_

Estadiamento puberal (Tanner) \_\_\_\_\_

\*Plotados no Gráfico de Tanner e Whitehouse (Anexo 3)

##### 2.3 Exames complementares

Dosagens hormonais

DHEA-S

Cortisol

Testosterona

Ultra-sonografia de retroperitônio

## APÊNDICE 2

### DADOS GERAIS DAS CRIANÇAS

NOME	NÚMERO PACIENTE	SEXO	DATA NASCIMENTO	DATA 1. <sup>a</sup> CONSULTA	IDADE 1. <sup>a</sup> CONSULTA (meses)
ALC	1	M	1/5/1995	6/12/2002	91
AGF	2	F	7/2/1989	18/1/2002	155
AFR	3	F	14/11/2000	28/9/2001	10
ARAF	4	F	10/4/1999	13/5/2005	73
ACPJ	5	M	12/9/1996	6/7/2001	57
AMN	6	F	8/8/1999	18/1/2002	137
CNA	7	F	28/7/1995	26/1/2002	79
CBS	8	M	26/9/1994	12/12/2003	111
CFS	9	M	8/2/2001	19/1/2002	11
DI	10	F	30/7/1991	12/4/2002	128
DCC	11	F	22/11/2002	23/5/2003	6
DCP	12	M	31/7/1992	12/4/2002	129
DPS	13	F	28/9/1987	21/12/2001	171
ESGG	14	F	11/4/1995	14/12/2001	80
ELC	15	F	11/7/1999	14/12/2001	29
EGGP	16	F	15/4/1998	14/12/2001	44
EGP	17	M	27/9/1988	14/12/2001	158
FFS	18	F	10/11/1993	13/3/2003	115
FVM	19	M	3/1/1999	25/10/2002	46
FCP	20	F	21/2/1991	28/3/2003	145
GKGM	21	F	2/10/1997	1/4/1999	20
GPF	22	M	19/10/2000	8/8/2003	34
JFS	23	F	30/5/1993	10/1/2003	116
JMLA	24	M	29/4/1996	13/6/2003	85
JGSP	25	F	12/5/2003	29/8/2003	3
KFHP	26	F	9/9/1992	15/2/2002	113
KCSG	27	F	8/11/1995	11/5/2001	66
KCR	28	F	9/10/1990	5/9/2003	155
KTO	29	F	27/4/1995	30/11/2001	79
KKFA	30	F	30/7/1995	23/11/2001	76
LSS	31	F	17/7/2003	5/12/2003	4
LFB	32	F	3/4/1998	30/11/2001	43
LGSP	33	M	29/3/1994	21/12/2001	92
LL	34	M	23/6/1996	9/11/2001	65
LMBM	35	M	23/2/2001	26/4/2002	14
MGSP	36	M	17/2/1998	21/12/2001	46
MGNL	37	F	2/10/2003	14/6/2005	20
MPS	38	M	26/9/2001	23/8/2002	11
MM	39	M	16/1/1999	18/1/2002	36
MBP	40	M	8/2/1995	23/11/2001	81
MWTA	41	M	8/12/1999	14/12/2001	24
MPS	42	M	13/10/1991	23/8/2002	130
MVM	43	F	8/7/1996	25/10/2002	75
NLFM	44	F	9/12/2000	5/11/2004	46
PHBP	45	M	13/6/2001	22/11/2002	17
RSM	46	M	14/6/1998	21/12/2001	41
RSM	47	M	26/2/1991	21/12/2001	130
RKJ	48	M	30/8/1995	8/6/2001	69
RCB	49	M	30/4/1988	6/12/2002	175
ROR	50	M	2/2/1990	30/11/2001	142
ROR	51	M	1/5/1991	30/11/2001	127
SBS	52	F	18/9/1995	12/12/2003	98
SSA	53	F	29/12/1996	21/5/2004	89
TSB	54	F	19/1/1999	8/6/2001	29
TRO	55	F	1/6/1998	30/11/2001	41
TFA	56	F	8/11/1997	28/9/2001	46
VMSP	57	M	17/2/1998	21/12/2001	46



## **ANEXOS**

**ANEXO 1**

**TERMO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
EM SERES HUMANOS DO HOSPITAL DE CLÍNICAS/UFPR**

termo

**ANEXO 2**  
**PUBLICAÇÕES**

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)