



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA

LUCIANA MOREIRA BORGES

**VALOR PREDITIVO DA MUTAÇÃO R337H DO GENE *TP53* COMO
UM MARCADOR CLÍNICO EM PACIENTES COM CÂNCER**

Dissertação de Mestrado

Goiânia
2014

LUCIANA MOREIRA BORGES

**VALOR PREDITIVO DA MUTAÇÃO R337H DO GENE *TP53* COMO
UM MARCADOR CLÍNICO EM PACIENTES COM CÂNCER**

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Genética da Pontifícia Universidade
Católica de Goiás como requisito parcial para a
obtenção de título de Mestre em Genética.

Orientador: Prof. Flávio Monteiro Ayres, *Ph.D.*

Goiânia
2014

Dados Internacionais de Catalogação da Publicação (CIP)
(Sistema de Bibliotecas PUC Goiás)

Borges, Luciana Moreira.

B732v Valor preditivo da mutação R337H do gene *TP53* como um marcador clínico em pacientes com câncer [manuscrito] / Luciana Moreira Borges. – Goiânia, 2014.

101 f. : il. ; tabs.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Mestrado em Genética, 2014.

“Orientador: Prof. *Ph.D.* Flávio Monteiro Ayres”.

Bibliografia.

1. Câncer – aspectos genéticos. 2. Mutagênese. I. Título.

CDU 575(043)

Dedico este trabalho...

A todos os meus familiares e pessoas intimamente ligadas à minha vida, em especial aos meus pais Marcos Antônio Borges e Maria Iraci Moreira Borges, e minha irmã Márcia Moreira Borges, pelo apoio incondicional e por tornarem possível a realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me permitido a vida e me concedido saúde e perseverança necessária para que pudesse me orgulhar diante de cada queda e luta em buscas dos meus ideais.

Aos meus pais e a minha irmã, não só pelo apoio e incentivo que sempre me deram durante minha trajetória, mas principalmente pelo companheirismo, carinho e compreensão. Obrigada por todos os esforços e sacrifícios durante toda minha formação acadêmica e por estarem me apoiando em todos os momentos da minha vida.

Aos meus amigos e familiares por compreenderem a razão da minha ausência nos últimos dois anos e pelo apoio no decorrer dessa trajetória árdua, vocês são essenciais em minha vida.

Ao prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres por ter não somente me proporcionado a honra de ser sua orientada, mas também pela paciência e por ter sido uma fonte de inspiração para que eu conseguisse superar obstáculos. Obrigada por todos os momentos de aprendizagem.

Aos professores do Programa de Mestrado em Genética, pelas trocas de informações, conhecimentos e experiências no decorrer do curso.

Aos colegas de turma que compartilharam as dificuldades e alegrias enfrentadas nesses anos.

Enfim, a todos aqueles que de uma forma direta ou indireta colaboraram na realização e conclusão deste trabalho, minha eterna gratidão e reconhecimento.

A todos, muito obrigada.



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1021 • Fax: (62) 3946.1397
www.pucgoias.edu.br • prograd@pucgoias.edu.br

**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA**

**ATA DA SESSÃO DE APRESENTAÇÃO E DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE
CONCLUSÃO DE CURSO DE MESTRADO**

1 No dia 07 de abril de 2014, reuniu-se a 88ª Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado, composta
2 pelos membros: Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres / PUC Goiás (Presidente), Profa. Dra. Flávia Melo
3 Rodrigues / PUC Goiás, Profa. Dra. Tânia Cristina Dias da Silva / UEG, para avaliação da dissertação
4 da aluna: Banca Examinadora da defesa de dissertação de Mestrado em Genética, da candidata **Luciana**
5 **Moreira Borges**, intitulada “Valor preditivo da mutação R337H do gene TP53 correlacionado com
6 potenciais marcadores clínicos de prognóstico”, do Mestrado em Genética (MGene) da Pontifícia
7 Universidade Católica de Goiás. A sessão iniciou-se às 08h30 min., na Sala de Defesa de Teses, da
8 área IV, sob a presidência do Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres, que concedeu 30 minutos à candidata
9 para expor sinteticamente o estudo. A seguir, a argüição procedeu-se de forma interativa. Ao final da
10 defesa, a sessão foi suspensa e a Comissão se reuniu em separado para avaliação e atribuição de nota.
11 Discutido o trabalho e o desempenho da mestranda, a Banca Examinadora considerou-a
12 APROVADA com a nota 10,0 (DEZ) equivalente ao
13 conceito “.....”. Portanto, a discente foi declarada **Mestre em Genética pela Pontifícia Universidade**
14 **Católica de Goiás**, pelo Presidente da Banca Examinadora, que encerrou a sessão às 11h00 min.
15 Não havendo nada mais a tratar, a presente ata foi lavrada e assinada pelos membros da Banca
16 Examinadora.

17 Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres Flavio
18 Profª Drª Flávia Melo Rodrigues Flavias
19 Profa. Dra. Tânia Cristina Dias da Silva TCDS

20 Esta ata contém 20 linhas contínuas, sem rasuras, emendas ou retificação.



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1021 • Fax: (62) 3946.1397
www.pucgoias.edu.br • prograd@pucgoias.edu.br

ATA COMPLEMENTAR Nº 88/2014

MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

DISCENTE: LUCIANA MOREIRA BORGES

DEFENDIDA EM 07 DE ABRIL DE 2014 E APROVADA COM CONCEITO...A

O título foi alterado () não (✓)sim VALOR PREDITIVO DA MUTAÇÃO
R337H DO GENE TP53 COMO UM MARCADOR CLÍNICO
EM PACIENTES COM CÂNCER.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres
(Presidente-orientador)

Profa. Dra. Flávia Melo Rodrigues
(Membro interno)

Profa. Dra. Tânia Cristina Dias da Silva / UEG
(Membro externo)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	Vi
LISTA DE QUADROS E TABELAS	Vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	Viii
RESUMO	X
ABSTRACT	Xi
1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	14
2.2 Objetivo específico	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Estrutura e função da proteína p53	15
3.2 O gene supressor de tumor <i>TP53</i>	19
3.2.1 Estrutura, função e regulação da expressão	19
3.2.2 Polimorfismos e mutações	21
3.3 Mutação R337H do gene <i>TP53</i>	24
3.3.1 Descrição da mutação	24
3.3.2 Origem da R337H: hipótese histórica e efeito fundador	25
3.3.3 Frequência da mutação R337H	26
3.3.4 História de câncer familiar relacionado à mutação R337H	26
3.3.5 Penetrância da mutação R337H	27
3.3.6 Associação da mutação R337H com o risco de câncer	28
4 REFERENCIAL TEÓRICO METODOLÓGICO	30
5 PERCURSO METODOLÓGICO	36
5.1 Questão norteadora	36
5.2 Descritores	36
5.3 Critérios de inclusão e exclusão	37
5.4 Busca eletrônica	37
5.5 Seleção dos estudos	40
5.6 Cálculos de medidas de prevalência da doença e frequência da mutação...	42
5.7 Cálculo de validade de teste diagnóstico	44
6 RESULTADOS	47
6.1 Resultados da seleção dos estudos incluídos	47
6.2 Características dos estudos incluídos na revisão sistemática	50
6.3 Resultados dos estudos incluídos na revisão sistemática	55
7 DISCUSSÃO	67
8 CONCLUSÕES	74
9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
REFERÊNCIAS	77
ANEXOS	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Níveis de organização estrutural das proteínas	16
Figura 2	Distribuição de éxons do gene <i>TP53</i> ilustrados acima com os correspondentes domínios da proteína p53	17
Figura 3	Localização do gene <i>TP53</i>	20
Figura 4	Organização do gene <i>TP53</i>	21
Figura 5	Fluxograma para a condução de uma Revisão Sistemática e Metanálise	30
Figura 6	Validade de um teste diagnóstico	45
Figura 7	Estudos identificados nas bases de dados, exclusão por repetição e artigos identificados	48
Figura 8	Processo de busca e seleção de artigos	49
Figura 9	Tipos de câncer relatados nos estudos incluídos nesta pesquisa de RS.	56
Figura 10	Grupo de estudo composto por indivíduos considerados saudáveis	56
Figura 11	Tipos de câncer encontrados em familiares de portadores da mutação R337H (%)	59

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	Comparativo das determinações para realização de revisão sistemática nas publicações complementares <i>Cochrane Handbook</i> e <i>CDR Report</i>	33
Quadro 2	Passos recomendados pela Colaboração <i>Cochrane</i> para realização de revisão sistemática.....	34
Quadro 3	Bases de dados utilizadas nos estudos que estão incluídas na BVS..	38
Quadro 4	Estratégia de Busca em bases de dados selecionadas e número de artigos identificados.....	39
Quadro 5	Teste de relevância I aplicado às referencias e resumos dos artigos selecionados.....	40
Quadro 6	Teste de relevância II aplicado na integra aos artigos selecionados no Teste de relevância I.....	41
Quadro 7	Roteiro para extração de dados dos artigos incluídos na revisão sistemática.....	42
Quadro 8	Fórmula para cálculo de prevalência (P).....	43
Quadro 9	Descrição das proporções/indicadores utilizadas no estudo.....	46
Quadro 10	Características dos estudos inclusos na revisão sistemática	52
Quadro 11	Resultados obtidos por aplicação do roteiro para extração de dados de artigos inclusos.....	53
Quadro 12	Características dos indivíduos inclusos na revisão sistemática.....	57
Quadro 13	Frequência da mutação R337H.....	60
Quadro 14	Cálculo do teste do qui-quadrado da revisão sistemática	61
Quadro 15	Valores críticos da distribuição do χ^2	63
Quadro 16	Cálculo das proporções/indicadores utilizados na revisão sistemática	64
Tabela 1	Cálculos de comparação dos resultados	46
Tabela 2	Classificação da força de evidência	50
Tabela 3	Números observados e esperados de genótipos inclusos na revisão sistemática	61
Tabela 4	Associação da mutação R337H com o prognóstico em pacientes portadores da mutação que apresentaram algum tipo de câncer.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Adenina
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
BIREME	Biblioteca Regional de Medicina
BVS	Biblioteca virtual em saúde
C	Citosina
CAC	Códon codificante de Histidina
CGC	Códon codificante de Arginina
CPC	Carcinoma do plexo coroide
CNVs	Variação de números de cópias
DBD	DNA <i>binding domain</i>
DeCS	Descritores em Ciência da Saúde
DF	Graus de liberdade (do inglês <i>degrees freedom</i>)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EHW	Equilíbrio de Hard-Weinberg
FI	Fator de impacto
FOX	Fosforilação oxidativa
G	Guanina
H	Histidina
HH	Genótipo homozigoto mutante
IARC	<i>International Agency for Reserach in Cancer</i>
IBECS	Índice bibliográfico espanhol em ciências da saúde
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IPTSP	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (Universidade Federal de Goiás)
kDa	Kilo Daltons
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciência da Saúde
LFL	Síndrome Li-Fraumeni- <i>like</i>
MA	Metanálise
MDM2	Proteína (do inglês, <i>murine doble minute 2</i>)
MEDLINE	Literatura internacional em ciências da saúde e biomédica
MeSH	<i>Medical SubjectHeadings</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NLM	<i>National Library of Medicine</i>
OD	<i>Oligomerization domain</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
P	Probabilidade
PBE	Prática baseada em evidência
PRR	<i>Proline Rich Region</i>
P53	Proteína citoplasmática
RD	<i>Regulatory Domain</i>
R	Arginina
RH	Genótipo heterozigoto mutante
RR	Genótipo homozigoto selvagem
RS	Revisão sistemática

R337H	Mutação germinativa
SCIELO	<i>Scientific Eletronic Library Online</i>
SLF	Síndrome de Li-Fraumeni
SNC	Sistema nervoso central
SNP	Polimorfismos de nucleotídeo único
SPM	Sarcoma de partes moles
SSP	Sarcoma sinovial de perna
T	Timina
TCA	Tumor do córtex adrenal
TDA1	<i>Transactivation Domain 1</i>
TDA2	<i>Transactivation Domain 2</i>
TP53	Gene supressor tumoral situado no cromossomo 17
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo
VP	Valor preditivo
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

RESUMO

Introdução: a mutação R337H do gene *TP53* foi originada na população brasileira por efeito fundador e é considerada um defeito molecular de baixa penetrância. Em combinação com alguns polimorfismos, a mutação R337H, pode aumentar a susceptibilidade ao desenvolvimento do tumor. A frequência da mutação R337H em famílias brasileiras é considerada elevada, quando comparada com as frequências observadas em outros países. A inequívoca associação entre a mutação, o surgimento de diferentes tipos tumorais e o alto número de indivíduos portadores da mutação fazem da R337H um relevante fator de saúde pública, em especial na predição do câncer. **Objetivos:** este estudo objetiva de investiga o valor preditivo da mutação R337H do gene *TP53* como um marcador clínico em pacientes com câncer. **Método:** revisão bibliográfica sistemática (RBS) criteriosa foi realizada, através de busca eletrônica de artigos científicos nas bases de dados LILACS, IBECs, MEDLINE, Scielo e Pubmed. Doze artigos selecionados foram publicados em língua inglesa entre os anos de 2006 à 2013, foram selecionados para aplicação dos testes de relevância I e II. Extração de dados detalhada foi realizada de forma independente por dois investigadores seguindo o protocolo para extração de dados. **Resultados:** a mutação R337H foi encontrada em 287 dos 1.548 portadores de câncer, duas das 750 mulheres consideradas saudáveis, 200 dos 887 familiares de pacientes portadores de tumor do córtex adrenal (TCA) com a mutação R337H, doze dos 647 controles e 442 dos 171.630 recém-nascidos. Oito das doze referências selecionadas associaram a mutação R337H com histórico familiar de 411 pacientes com a mutação. Quatro estudos associaram a mutação R337H com o prognóstico. **Conclusão:** a frequência da mutação R337H do gene *TP53* é consideravelmente mais elevada no sul e sudeste do Brasil quando comparada com os demais países do mundo. A mutação foi associada com: histórico familiar de câncer, aumento do valor preditivo positivo e diminuição do valor preditivo negativo no diagnóstico e mal prognóstico em pacientes com ACT e CPC com a mutação.

Palavras-chave: carcinoma adrenocortical, efeito fundador, mutação de sentido incorreto, saúde pública.

ABSTRACT

Introduction: the R337H mutation of the *TP53* gene was originated in the Brazilian population through a founder effect and is considered a molecular defect of low penetrance. In combination with some polymorphisms, the R337H mutation can increase the susceptibility of tumor. The frequency of the R337H mutation in Brazilian families is considered high when compared to the observed frequencies in other countries. The unambiguous association between the mutation, the emergence of different tumoral types and the high number of individual that carry the mutation makes the R337H a relevant factor in public health, particularly in the prediction of cancer. **Objective:** this study aimed to investigate the predictive value of the R337H mutation of the *TP53* gene as a clinical marker in cancer patients. **Method:** a systematic literature review (SLR) was carefully performed, by searching electronic scientific literature in LILACS, IBECS, MEDLINE, PubMed and SciELO. Twelve articles, published in English between the years 2006 to 2013, were selected by performing the relevance tests I and II. Extraction of detailed data was independently performed by two investigators, following on extracting data protocol. **Results:** the R337H mutation was found in 287 of 1,548 patients with cancer, two of 750 women considered healthy, 200 of 887 family members of patients with adrenocortical tumor (ACT) carrying the R337H mutation, 12 of 647 health controls and in 442 of 171 630 newborns. Eight of the twelve selected references associated the R337H mutation with family history of 411 patients with the mutation. Four studies associated the R337H mutation with prognosis. **Conclusion:** the frequency of the R337H mutation of the *TP53* gene is considerably higher in the south and southeast regions of Brazil compared to other countries. The mutation was associated with family history of cancer, the increase of the positive predictive value and the decrease of negative predictive value at diagnosis, and poor prognosis in ACT and CPC patients with the mutation.

Key-words: adrenocortical carcinoma, founder effect, mutation missense, public health.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a temática do câncer ganhou uma grande dimensão, sendo este um evidente problema de saúde pública mundial. O problema do câncer no Brasil ganhou relevância pelo perfil epidemiológico que essa doença apresenta e, com isso, o tema tem conquistado espaço nas agendas políticas e técnicas de todas as esferas de governo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que, no ano 2030, podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivas, anualmente, com câncer. O maior efeito desse aumento vai incidir em países de baixa e média renda. No Brasil, as estimativas para o ano de 2012 foram válidas também para o ano de 2013 e apontaram a ocorrência de aproximadamente 518.510 casos novos de câncer, deste montante, 18.400 ocorreram no estado de Goiás, com estimativa de 4.980 para a capital, Goiânia (INCA, 2011).

Mutações e desregulação da via do gene *TP53* são importantes na patogênese de muitos cânceres humanos. A supressão tumoral por p53 correlaciona-se com vias dependentes de transcrição no qual a p53 regula a transcrição de genes envolvidos no ciclo celular, reparação do DNA, apoptose, sinalização, transcrição, metabolismo. Adicionalmente, a p53 atua em vias independentes de transcrição que induzem a apoptose, e a autofagia citoplasmática. Disfunção de *TP53* com a sequência do tipo selvagem pode resultar de expressão desregulada do gene, bem como alteração na estabilidade e na atividade de p53 (XU-MONETTE *et al.*, 2012). Mutações germinativas em *TP53* são associadas com a síndrome de Li-Fraumeni (SLF), uma doença herdada caracterizada por um agrupamento familiar de sarcomas, cânceres de mama, tumores cerebrais e carcinomas adrenocorticais (BERTOLONHA, 2012). No Brasil, uma mutação germinativa específica caracterizada pela troca de arginina por histidina no códon 337 (R337H) têm sido relacionada à tumorigênese (OLIVIER *et al.* 2010), embora o espectro de tumores associados ainda não esteja bem estabelecido (SEIDINGER *et al.* 2011).

No caso do alelo *TP53* R337H, que não tem alterações no domínio de ligação ao DNA, codifica-se uma proteína normal que pode perder sua função de proteção em uma condição patológica adicional para célula que já perdeu o segundo alelo normal. Esta condição patológica é um meio alcalinizado com temperatura febril (uma situação possível durante uma infecção, que é relativamente comum na vida intra-uterina). O pH alcalino e

estado febril levam a um distúrbio no grau de protonação da histidina da proteína R337H que ocupa o lugar original da arginina (CAC no lugar de CGC no códon 337), consequentemente afetando a ponte de sal com o aminoácido 352, promovendo uma instabilidade na formação de dímeros e tetrâmeros de p53 e, finalmente, perda de função (PIOVEZAN, 2006).

A frequência da mutação R337H em famílias brasileiras é considerada elevada, quando comparada com as frequências observadas em outros países (PINTO *et al.*, 2004; ACHATZ, 2008). Inicialmente, a mutação foi considerada tumor específica (RIBEIRO *et al.*, 2001), sendo posteriormente fortemente associada com o efeito fundador (PINTO *et al.*, 2004) inclusive por haplotipagem de 29 SNPs no *TP53* (ACHATZ, 2008; GARRITANO *et al.*, 2010). A inequívoca associação entre a mutação, o surgimento de diferentes tipos tumorais e o alto número de indivíduos portadores da mutação fazem da R337H um relevante fator de saúde pública, em especial na predição do câncer (ACHATZ, 2008; ACHATZ *et al.*, 2009; PALMERO *et al.*, 2008). A ocorrência de câncer em idade precoce devido a R337H pode representar 5 a 10% de todos os cânceres em crianças e jovens adultos na população, e até 1 a 5% de todos os cânceres antes dos 70 anos. Os portadores da mutação apresentam risco significativo de cânceres múltiplos (ACHATZ, 2008).

Relatos das regiões sul e sudeste, descrevem que indivíduos saudáveis portadores da mutação R337H foram também associados com história familiar de desenvolvimento de câncer ou os próprios sujeitos foram posteriormente diagnosticados com câncer (GARRITANO *et al.*, 2010). Portanto, é importante levantar a real frequência da mutação R337H do gene *TP53* na população, distribuição populacional da mutação, caracterização dos grupos em que ela aparece mais frequentemente e se há uma possível associação com outros tipos de câncer, uma vez que as consequências dessa mutação são considerados fatores agravantes para a saúde pública.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Investigar o valor preditivo da mutação R337H do gene *TP53* como um marcador clínico em pacientes com câncer.

2.2 Objetivos específicos

1. Levantar as frequências da mutação R337H do gene *TP53* no mundo.
2. Levantar as frequências da mutação R337H do gene *TP53* no Brasil.
3. Comparar as frequências da mutação R337H do gene *TP53* no Brasil com as frequências no resto do mundo.
4. Verificar as possíveis associações entre a mutação R337H do gene *TP53* com:
 - a história familiar dos pacientes com a mutação;
 - valor preditivo diagnóstico em pacientes portadores da mutação que apresentam algum tipo de câncer;
 - valor preditivo prognóstico em pacientes portadores da mutação que apresentam algum tipo de câncer.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Estrutura e função da proteína p53

A estrutura da proteína pode ser organizada em quatro níveis hierárquicos, conforme ilustrado na figura 1:

- estrutura primária de uma proteína consiste na sequência dos aminoácidos que a compõem. O início da estrutura primária de uma proteína corresponde a sua região N-terminal e o final é determinado pela região C-terminal. A estrutura primária determina a estrutura tridimensional da proteína e conseqüentemente suas propriedades (STELLE, 2011);
- estrutura secundária é o resultado do arranjo espacial local dos aminoácidos, formando padrões denominados α -hélice, folha β , *turn* e *coil* (LODISH *et al.*, 2005). As α -hélices são constituídas por uma cadeia polipeptídica fortemente retorcida em torno de um eixo que passa pelo centro da hélice. Na folha β , uma cadeia peptídica estende-se em uma estrutura em ziguezague, formando uma estrutura que se assemelha a uma série de pregas (LEHNINGER *et al.*, 2002). *Turns* são os elementos de estrutura secundária mais simples, responsáveis por fazer a união entre as estruturas secundárias regulares (α -hélice e folha β). Outro tipo de estrutura secundária caracterizada por não possuir uma forma bem definida, frequentemente encontrada na superfície das proteínas é denominada de *coil*.
- estrutura terciária refere-se a todos os aspectos do enovelamento tridimensional. As interações covalentes, ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, interações hidrofílicas, interações eletrostáticas, forças de van der Waals, dentre outras, são responsáveis pela formação da estrutura terciária de uma proteína (STELLE, 2011). A estrutura terciária de uma proteína determina a sua função e é importante para a ligação específica de substratos ou outros ligantes (CASE *et al.*, 2005).
- estrutura quaternária é formada a partir de proteínas que possuem mais de uma cadeia de resíduos, com arranjo no espaço de suas estruturas terciárias. Essa

estrutura pode ser formada por duas ou mais de duas cadeias de resíduos idênticas ou diferentes (STELLE, 2011), denominadas de subunidade. A estrutura quaternária é mantida por ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e interações hidrofílicas (LEHNINGER *et al.*, 2002).

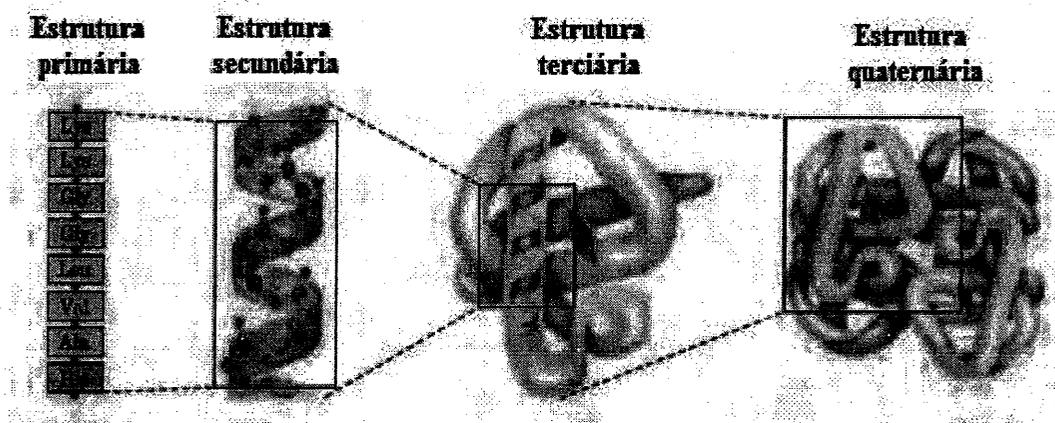


Figura 1 – Níveis de organização estrutural das proteínas. Fonte: Lehninger *et al.*, 2002.

A proteína p53, descrita pela primeira vez em 1979 (LANE; LEVINE, 2010), continua a fascinar pesquisadores em razão das inúmeras funções que exerce no ciclo celular, sendo chamada de “Guardiã do Genoma” (THUROW *et al.*, 2010). As funções da proteína incluem a proteção da integridade e o monitoramento da linha germinativa em desenvolvimento (BELYI *et al.*, 2010).

O gene supressor tumoral *TP53* possui onze éxons, sendo o primeiro não codificante, 19.198 nucleotídeos e codifica a fosfoproteína nuclear p53 com 393 aminoácidos (LINZER *et al.*, 1979). A proteína p53 apresenta seis domínios e tem a expressão controlada por modificadores transcricionais, pós-transcricionais, traducionais e pós-traducionais (HOLLSTEIN *et al.*, 2010). A região N terminal da proteína possui dois domínios iniciais de transativação (*Transactivation Domain 1*, TDA1 e *Transactivation Domain 2*, TDA2), que serve como um ativador transcricional (WASSERMAN *et al.*, 2012), no qual se encontra o sítio preferencial de ligação da fosfoproteína MDM2 entre os aminoácidos 18 e 26, e um domínio rico em prolina (*Proline Rich Region*, PRR) envolvido

na interação proteína-proteína e na função pró-apoptótica de p53. A região alvo de 84% das mutações somáticas no gene *TP53*, entre os éxons 5 ao 8, é chamada de domínio de ligação ao DNA (*DNA binding domain*, DBD), sendo responsável pela ligação da proteína p53 aos genes alvos. A região C terminal é formada pelo domínio de oligomerização (*Oligomerization Domain*, OD) que possui papel na conformação quaternária da proteína e por fim um domínio de regulação (*Regulatory Domain*, RD) importante local de fosforilação de p53 (figura 3) (HOLLSTEIN *et al.*, 2010).

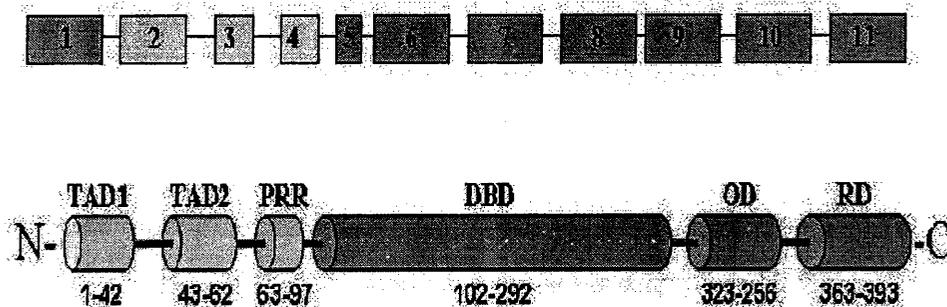


Figura 2 – Distribuição de éxons do gene *TP53* ilustrados acima com os correspondentes domínios da proteína p53. Fonte: PASKLIN, 2013.

As funções da p53 requerem modulação da integridade estrutural terciária e quaternária dos vários domínios (PAVLETICH *et al.*, 1993) que envolvem principalmente a preservação da integridade genômica ao longo do ciclo celular (MAGNONI *et al.*, 2009).

Em células normais, a p53 é sintetizada continuamente, mas não se acumula em níveis significativos, sendo degradada pela célula em 2 a 15 minutos. No entanto, quando as células são expostas a agentes que danificam o DNA, a proteína se torna estável e passa a controlar diversos genes alvos que impedem a progressão do ciclo celular. Esse intervalo permite reparar os danos nas células ou disparar o processo de morte celular por apoptose (MOURA-GALLO *et al.*, 2004). Recentemente, outras funções da p53 foram descobertas

na supressão tumoral, incluindo efeitos diretos na meia vida de proteínas mitocondriais, regulação do processamento de microRNAs e o envolvimento direto nas vias de reparo do DNA (THUROW *et al.*, 2010).

A família de proteína p53 desempenha um papel fundamental em diferentes funções biológicas que abrangem aspectos da saúde e da doença (LANE; LEVINE, 2010). Nas fases G1 e G2, a p53 bloqueia a progressão do ciclo celular e, portanto, previne a replicação de lesões no DNA potencialmente promotoras de tumor e a divisão de células anormais (POLANÍA *et al.*, 2011). Talvez, o desenvolvimento mais significativo da crescente complexidade das funções p53 é o reconhecimento da capacidade de agir como um "guardião do genoma". Por prevenir o câncer, a p53 evoluiu relativamente tarde, cujas funções iniciais foram a proteção da integridade linha germinal e acompanhamento do desenvolvimento (PAGANO, 2013). A capacidade da família de proteínas p53 para provocar a parada do ciclo celular e apoptose é claramente uma das mais dinâmicas de suas funções, pois tem uma ligação direta para a supressão do tumor e biologia do câncer (SCHLERETH *et al.*, 2010). A p53 desempenha um papel importante no metabolismo em células cancerosas, sugerindo uma nova função de p53 na regulação do metabolismo celular (ZHANG; QIN; WANG, 2010).

A p53 desempenha um papel crítico no controle bioenergético celular e, especificamente, no metabolismo mitocondrial (GIACOMAZZI *et al.*, 2013). A proteína p53 regula o metabolismo de energia, o stress oxidativo, e o metabolismo de aminoácidos através do balanceamento de glicólise e fosforilação oxidativa (FOX), bem como a via de autofagia (ZHANG; QIN; WANG, 2010), que é um processo de tráfico de membrana que medeia a entrega dos constituintes citoplasmáticos para o lisossoma para degradação (XIE; KLIONSKY, 2007). A p53 é ativada pelo estresse metabólico através da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e vias de sinalização da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR do inglês *mammalian target of rapamycin*) (ZHANG; QIN; WANG, 2010).

A p53 tem um papel central na mediação da resposta celular ao estresse genotóxico (como radiação ionizante, radicais livres, hipóxia e desafios metabólicos) e inativação de oncogenes, cumprindo esses papéis ativando vias envolvidas no controle do ciclo celular e reparo do dano ao DNA. Estas respostas ao estresse celular fornecem à célula a oportunidade de responder ao estresse e reparar danos acumulados no DNA. Caso

contrário, e em circunstâncias de comprometimento genômico catastrófico, no entanto, p53 induz vias apoptóticas para prevenir a propagação de um genoma corrompido. Adicionalmente, a p53 é conhecida por mediar a angiogênese, a senescência celular e, mais recentemente, por participar da resposta inflamatória e da invasividade supressora (WASSERMAN *et al.*, 2012).

Torna-se claro, portanto, que a p53 desempenha um papel importante nos processos metabólicos, longevidade, fertilidade e germinal. A descoberta de cada uma destas funções foi uma surpresa para o campo da ciência, carecendo de elucidações mais amplas, confirmações por metodologias diversas e consequente conhecimento sobre a aplicação clínica. Os últimos 30 anos tiveram voltas e reviravoltas que redefiniram o que o produto do gene p53 faz e como ele faz isso. A única coisa que é certa sobre os próximos 30 anos desse contexto de pesquisa é que não somos capazes de prever alcance das suas indicações e o impacto sobre diversas áreas da biologia e da medicina (LANE; LEVINE, 2010).

3.2 O gene supressor de tumor *TP53*

3.2.1 Estrutura, função e regulação da expressão

O gene supressor tumoral *TP53* (*tumor protein 53*) encontra-se situado na sub-banda 1 banda 3 região 1 no braço curto do cromossomo 17 (17p13.1), conforme ilustrado na figura 3, e tem peso molecular de 20 Kb. O gene codifica uma fosfoproteína nuclear de 53 KiloDaltons (kDa), denominada p53 em consequência do seu peso molecular (OSÓRIO, 2011). A proteína p53 atua diretamente em diversos efetores como fator de transcrição sequência-específico (MOLL *et al.*, 2005).

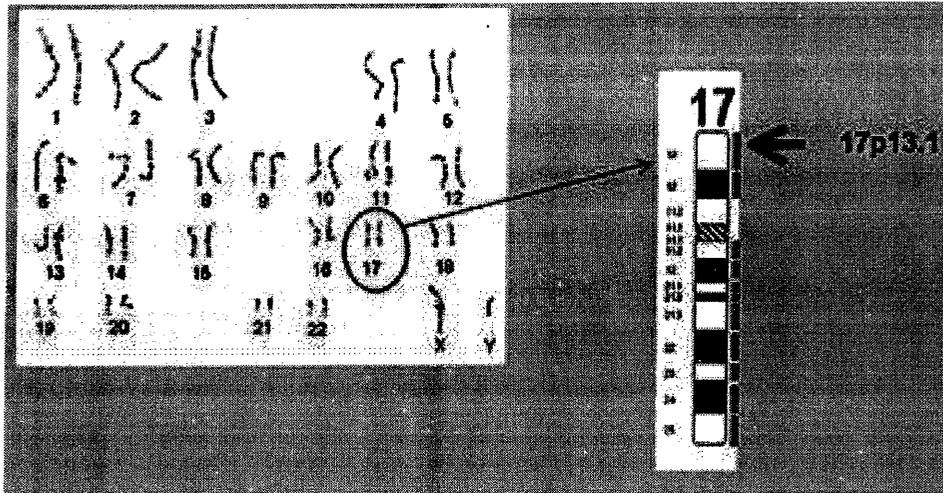


Figura 3 - Localização do Gene *TP53*. Fonte: The *TP53* Web Site.

A família de genes *TP53* encontra-se sob constante pressão seletiva, com papel importante na manutenção fidedigna da linhagem germinativa e na prescrição de espécies. A família de produtos de genes p53 tem influenciado as taxas de mudança evolutiva, assim como mudanças evolutivas têm alterado a família p53 e suas funções (LANE; LEVINE, 2010). O gene supressor de tumor *TP53* foi evidenciado como mediadores de alterações metabólicas em células em condições fisiológicas e patológicas. Além disso, o gene *TP53* é crucial para manter a estabilidade do genoma pela regulação da morte celular. O gene incorpora vários aspectos e diversidade de funções associadas com a família de proteínas p53 (PAGANO, 2013).

Ao contrário dos outros genes supressores de tumor, que são inativados por perda alélica, o gene *TP53* distingue-se pela alta frequência de mutações. A maioria dessas mutações é de sentido trocado e altera a função normal da proteína p53 (KLUMB *et al.*, 2002). A figura 4 ilustra a organização do gene *TP53* humano, com 22 000 pb; 11 éxons que codificam um mRNA de 2,2 Kb. A tradução inicia-se no éxon 2.

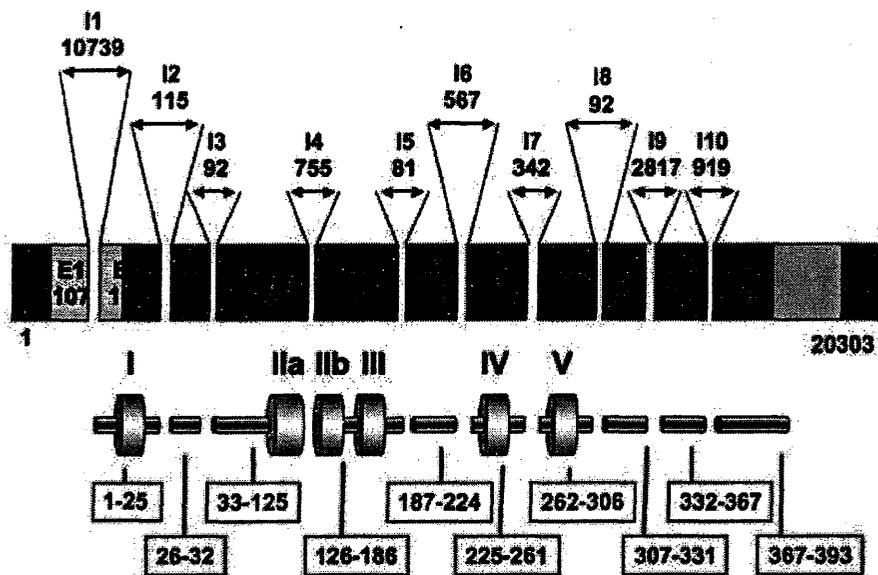


Figura 4 - Organização do gene TP53. Fonte: The TP53 Web Site.

O gene TP53 codifica fator de transcrição, regulando a expressão de genes que controlam a progressão do ciclo celular, angiogênese e apoptose. Casos de mutações germinativas estão associadas à uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer denominada Li-Fraumeni (SLF) (PASKULIN, 2013).

3.2.2 Polimorfismos e mutações em TP53

Polimorfismos e mutações são variantes genéticas, sendo o polimorfismo já fixado na população, ou seja, é encontrado em frequências alélicas superiores a 1 a 2%. Ambos os casos podem ocorrer por substituição de bases, alterações na organização ou no tamanho das sequências, criação ou destruição de sítios de reconhecimento de enzimas de restrição. As mutações envolvem ainda a incorporação do DNA extracromossômico e alterações anafásicas ou da citocinese (LIMA *et al.*, 2006). As mutações podem ocorrer tanto em células de linhagem germinativas, como observadas nas síndromes de câncer hereditário, quanto em células somáticas, nos casos de câncer esporádico (SOUZA *et al.* 2012).

Quando há variação de um único par de bases, o polimorfismo é de nucleotídeo único (SNP, do inglês *single nucleotide polymorphism*). As variantes genéticas mutantes e as polimórficas podem aumentar a suscetibilidade ao câncer, variando amplamente conforme a rota bioquímica envolvida (LIMA *et al.*, 2006).

O gene *TP53* é altamente polimórfico em regiões codificadoras e não-codificadoras. Esses polimorfismos são associados a modificação na susceptibilidade ao câncer e no fenótipo tumoral de pacientes portadores de mutações germinativas tanto do próprio *TP53*, quanto em outros genes (WHINBLEY *et al.*, 2009). As respostas ao estresse podem conduzir às vias de parada do ciclo celular, de apoptose, de senescência e todas essas três vias podem eliminar ou reverter a presença de células cancerosas progenitoras no corpo. Mutações hereditárias na via de p53 e variações no número de cópias na via continuarão a ser descobertos e, em casos raros, serão importantes o suficiente para ser adicionada a informação clínica útil (LANE; LEVINE, 2010). A maioria das alterações somáticas (82%) de *TP53* são SNP e 18% são inserções ou deleções que resultam em uma verdadeira perda de função do alelo mutado. As alterações mais frequentes (90%) são mutações de sentido trocado, onde a mudança de um par de nucleotídeos acarreta na modificação do aminoácido, sendo a maioria localizada na região do domínio de ligação ao DNA e associada à mudança da atividade transcricional do gene (PETITJEAN *et al.*, 2007). Aproximadamente 30% das mutações de sentido trocado somáticas ou germinativas ocorrem nos *hotspots* mutacionais de *TP53*, que são as regiões do genoma que apresentam taxas elevadas de recombinação. Outras alterações incluem mutações sem sentido (6%) e mutações silenciosas (4%) (OLIVER *et al.*, 2002).

Tanto mutações somáticas e germinativas de genes distintos, como polimorfismos, podem ser importantes reguladores da via da p53. Devido ao grande número de genes envolvidos nessa via de regulação, há um amplo espectro de polimorfismos e mutações ocorridos nestes genes que podem modificar a penetrância do gene *TP53* mutado, levando a variações individuais dos fenótipos tumorais (ACHATZ, 2008).

O câncer surge como resultado de alterações genéticas que impactam sob a proliferação celular, promovendo a divisão ou inibindo a morte celular. Conseqüentemente, o resultado final desses erros genéticos acumulados são células capazes de multiplicarem-se sem restrição, invadindo o tecido e estabelecendo metástases (MARAFON, 2007). Mutações pontuais de *TP53* são as mais frequentemente encontradas em diversos tumores malignos e estão majoritariamente localizadas na região da molécula

altamente conservada, que corresponde ao domínio de ligação da proteína com o DNA (MOURA-GALO *et al.*, 2004).

O gene *TP53* é frequentemente inativado por mutações de ponto do tipo *missense*, ou troca de sentido, que promovem alterações de aminoácidos de p53 (PETITJEAN *et al.*, 2007). Das mais de 25 mil mutações descritas no gene *TP53*, aproximadamente 75% são substituições de um par de bases e a maior parte ocorre em regiões exônicas localizadas no domínio de ligação ao DNA. Aproximadamente 30% das mutações de troca de sentido ocorrem em seis códons preferenciais (175, 245, 248, 249, 273 e 282) ou “*hot-spots*”. Outras mutações foram descritas em mais de 200 diferentes códons (ACHATZ, 2008).

O *TP53* é um gene autossômico recessivo que codifica um fator de supressão tumoral, ou seja, somente com a perda somática subsequente do segundo alelo normal poderá haver a perda da proteção antitumoral na célula afetada (VARLEY *et al.*, 1999). Apesar de ser recessivo, o alelo mutante de *TP53* em heterozigose interage de forma dominante negativa com o alelo selvagem, pois todo o complexo protéico torna-se inativado pelo monômero mutado da proteína. Por outro lado, a atividade de dominância negativa depende, em parte, do nível de expressão haplossuficiente ou haploinsuficiente do alelo mutado (WOITECHUMAS, 2010).

A síndrome de Li-Fraumeni está ligada a mutações do gene *TP53*, que normalmente ajuda no controle do ciclo celular. Em famílias com a síndrome de Li-Fraumeni (VARLEY *et al.*, 1999), grande parte dos indivíduos afetados morre de câncer antes de completar 80 anos de idade (PIOVEZAN, 2006). Os genes supressores de tumor e as respectivas proteínas agem por diversos mecanismos para bloquear o desenvolvimento de câncer. Alguns deles funcionam para suprimir diretamente a proliferação de células em resposta a uma variedade de sinais inibidores de crescimento e indutores de diferenciação. Outros são componentes do circuito de controle celular que inibem proliferação em resposta a desequilíbrio metabólico e dano genômico (ROLOFF *et al.*, 2011).

As mutações do gene *TP53* têm sido encontradas em quase todos os tipos de câncer, em várias frequências e diferentes em natureza (THUROW *et al.*, 2010). O IARC (*International Agency for Research in Cancer*) aponta o gene *TP53* como o mais frequentemente mutado em câncer independentemente do tipo tumoral, localização, histologia ou história natural do tumor (PETITJEAN *et al.*, 2007). O gene *TP53* e sua via de sinalização complexa têm sido importantes alvos de pesquisa em câncer por terem ampla gama de funções em diferentes processos celulares (LANE *et al.*, 2010). Os padrões

de alterações genéticas detectadas ao longo de todo o genoma confirmam que *TP53* é o gene mais frequentemente alterado no câncer em humanos (PFEIFER *et al.*, 2011). Mais de 50% dos tumores humanos foram diagnosticados em portadores de mutações somáticas de *TP53* (WASSERMAN *et al.*, 2012), tornando este gene o alvo mais comum de alterações genéticas no processo neoplásico.

3.3 Mutação R337H do gene *TP53*

3.3.1 Descrição da mutação

A mutação R337H do gene *TP53* ocorre em um domínio estrutural bem definido, composto por uma alfa-hélice que é determinante na oligomerização da proteína (MCLURE; LEE, 1998). A mutação foi inicialmente identificada em crianças com tumores adrenocorticais, em famílias sem algum tipo de histórico de câncer familiar (LATRONICO *et al.*, 2001). R337H está localizada no éxon 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). Este domínio possui uma estrutura compacta, formada por dímero de dímeros. Cada monômero é formado por uma lâmina beta (códon 326-333) e uma alfa hélice (códon 335-353). 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 (PEREIRA *et al.*, 2006).

3.3.2 Origem da R337H: hipótese histórica e efeito do fundador

A hipótese histórica de disseminação do R337H no sul e sudeste do país envolve abertura da Estrada dos Tropeiros entre São Paulo e o sul do país, bem como a formação de cidades e vilarejos do século XVII ao XIX. O número estimado de indivíduos com a mutação R337H chega a 300.000 no sul e sudeste brasileiros (ACHATZ, 2008), cuja uma frequência alélica é estimada em 0,0015 (GARRITANO *et al.*, 2010). A distribuição da mutação R337H concentra-se nas regiões sul e sudeste brasileiras, tais regiões são consideradas as mais populosas do país, com aproximadamente 108 milhões de habitantes (IBGE, 2010).

No Brasil, a mutação R337H foi detectada em indivíduos inicialmente considerados não-aparentados. A ancestralidade em comum desses indivíduos foi posteriormente confirmada pela identificação de um mesmo haplótipo de 29 SNPs em 12 portadores independentes. A probabilidade de que este haplótipo ocorresse independentemente em todos os casos índice foi de 3.1×10^{-9} , demonstrando um efeito do fundador (GARRITANO *et al.*, 2010), que ocorre devido ao estabelecimento de uma população por um pequeno número de indivíduos (PIERCE, 2011). Acredita-se que o antepassado fundador possivelmente seja de origem portuguesa, uma vez que as famílias R337H no Brasil se distribuem principalmente ao longo do eixo da rodovia entre as cidades de São Paulo e Porto Alegre. Sendo esta rodovia historicamente conhecida como a principal rota usada pelos mercadores de origem portuguesa nos séculos XVIII e XIX (ACHATZ, 2008).

Até o presente momento não há relatos da existência da mutação nas demais regiões do país. Indivíduos com a mutação foram descritos na Alemanha, onde o haplótipo não é o mesmo encontrado em indivíduos brasileiros (HERRMANN *et al.*, 2012); na França, descrita em 1998, onde o portador possuía descendência brasileira (COMPRET, 2000); e em Portugal (OSÓRIO, 2011).

3.3.3 Frequência da mutação R337H

Em genes como *TP53*, que apresentam frequência de mutação elevada na população, não há problemas em se avaliar a frequência utilizando pequeno número de amostra. O contrário acontece com a mutação R337H do gene *TP53* que, apesar de ser encontrada em quase 100% dos casos de tumor do córtex adrenal (TCA) (RIBEIRO *et al.*, 2001), a frequência na população geral fora do sul e sudeste do Brasil é muito baixa (PIANOVSKI *et al.*, 2006) a sua penetrância é baixa (FIGUEIREDO *et al.*, 2006).

Assim, a frequência de *TP53* R337H em determinada população é mais trabalhosa para ser estimada por ser preciso avaliar um número maior de pessoas por região ou município. Anteriormente, a frequência da R337H foi estimada com base na frequência do fenótipo, ou seja, com base na frequência de casos de TCA já avaliados e na penetrância do gene associado ao tumor. Mais recentemente, frequência da mutação foi levantada população geral e não apenas entre os casos de TCA, mas também em recém-nascidos e seus familiares (PIOVEZAN, 2006).

3.3.4 História de câncer familiar relacionado à mutação R337H

Relatos das regiões sul e sudeste, descrevem que indivíduos saudáveis portadores da mutação R337H foram também associados com história familiar de desenvolvimento de câncer ou os próprios sujeitos foram posteriormente diagnosticados com câncer (GARRITANO *et al.*, 2010). A investigação de situações familiares ocorreu pela avaliação de trios compostos por criança portadora, mãe e pai assintomáticos, além dos avós em alguns casos. Em todos os casos, a existência da mutação foi confirmada em pelo menos um dos pais e avós. Esse achado excluiu a possibilidade de mutação R337H *de novo*, ou seja, que tivesse ocorrido pela primeira vez na família (ACHATZ, 2008).

Uma variedade de tipos de câncer foi relatada em 605 indivíduos com a mutação R337H do gene *TP53*. Entre esses indivíduos, aproximadamente 31% não tinham história

familiar de câncer, 27% tiveram três ou mais casos de pacientes e preencheram os critérios para a síndrome de Li-Fraumeni-like (LFS), e 42% não se encaixam nos critérios clínicos estabelecidos para a síndrome de câncer (CUSTÓDIO *et al.*, 2013). Pais e mães de RN com R337H foram submetidos a exames de detecção da mutação, onde pelo menos um dos pais possuía a mesma mutação encontrada nos RNs (PIOVEZAN, 2006).

A atividade de condicional da mutação R337H pode fornecer a base para a compreensão da tendência apresentada por este mutante de aumentar o risco para alguns tumores característicos da LFS. A atividade variável da mutação R337H do gene *TP53* seria possível de ser compreendida se o risco para todos os outros cânceres do espectro LFS fosse diminuído, como ocorre quando há mutações na região de “hotspot” (ACHATZ *et al.*, 2007). Além disso, há uma maior incidência de câncer de tireóide e renal nas famílias brasileiras portadoras da mutação R337H, demonstrando que em certos tecidos este mutante possa ter um efeito mais pronunciado do que as mutações no “hotspot” de *TP53* (ACHATZ, 2008).

3.3.5 Penetrância da mutação R337H

Penetrância é a percentagem de indivíduos tendo determinado genótipo que expressa o fenótipo esperado (PIERCE, 2011). A mutação R337H tem penetrância estimada em aproximadamente 10% (WASSERMAN *et al.*, 2012). A mutação R337H afeta a capacidade da p53 para formar oligômeros, com elevada capacidade de ligação ao DNA de um modo dependente de pH (DIGIAMMARINO, 2002). Em pH 7, a R337H mantém a capacidade de formar oligômeros, apresentando estrutura e atividade que são semelhantes à p53 de tipo selvagem. O pH ligeiramente elevado (pH 8,0), faz com que R337H perca a sua capacidade de formação de oligômeros (HU *et al.*, 2010). A perda desta propriedade com pH 8,0 é devido à incapacidade de histidina de doar uma ligação de hidrogênio intermolecular, o que é necessário para dimerização de p53 (MACEDO *et al.*, 2012). Esta propriedade define a bioquímica de R337H como sendo uma mutação de sentido trocado conservativa de p53 pH-dependente (HU *et al.*, 2010). Esta dependência do pH pode explicar a penetrância incompleta e as amplas variações fenotípicas observadas em muitas famílias de portadores da mutação R337H (SILVA, 2011). Em pH ligeiramente

maior do que os valores fisiológicos, a formação de tetrâmeros é interrompida e a atividade de transcrição de *TP53* é diminuída. O contexto fisiológico preciso em que esta perturbação funcional afeta a formação do tumor ainda não está claro, embora elevações de pH em células em apoptose pode ser um fator contribuinte (WASSERMAN *et al.*, 2012).

O R337H representa uma situação única na qual a mutação fundadora persistiu em uma população grande e heterogênea graças às características moleculares e penetrância condicional, e não em decorrência da segregação cultural ou geográfica. A penetrância condicional é assim denominada, pois uma série de fatores “condicionais” é necessária para que o mutante R337H exerça sua função deletéria aumentando efetivamente o risco para o câncer. O termo penetrância parcial é bastante conhecido e comumente utilizado para definir mutações que podem não resultar no mesmo fenótipo apesar de terem o mesmo genótipo. Além disso, na penetrância parcial pode-se verificar um fenótipo leve devido à inativação muitas vezes parcial da proteína. A mutação condicional vai reter certo grau de atividade que irá diferir conforme os fatores condicionais e não de acordo com a própria mutação (ACHATZ, 2008). Acredita-se que a mutação R337H do gene *TP53*, a mais comum mutação de *TP53* já descrito em qualquer população, seja um mutante condicional (GIACOMAZZI *et al.*, 2013), que se expressam apenas sob determinadas condições (PIERCE, 2011).

3.3.6 Associação da mutação R337H com o risco de câncer

A mutação R337H, em combinação com alguns polimorfismos e outras alterações genéticas, pode criar um estado de p53 insuficiente que aumenta a susceptibilidade do tumor. A mutação ou perda de um único alelo de um gene supressor tumoral recessivo pode ser um passo no processo causal do câncer. Nesse caso, o surgimento de um fenótipo intermediário em heterozigose para a característica recessiva, é chamado de haploinsuficiência. Esse fenômeno se deve ao efeito de dosagem, pois o heterozigoto produz apenas metade do produto codificado pelo gene supressor tumoral. Normalmente,

essa quantidade é suficiente para os processos celulares que impedem a formação do tumor, mas é menor do que a quantidade ótima, e outros fatores às vezes podem combinar-se com o produto diminuído de supressor tumoral para causar câncer (PIERCE, 2011). O grau da função de p53 retida por um determinado mutante é influenciado por modificadores genéticos de uma via de regulação. O risco de tumorigenese relacionado com a p53 remanescente em uma via de regulação é referido como efeito de gradiente *TP53* (ZAMBETTI, 2007). O fenótipo do câncer associado com R337H inclui múltiplos cânceres, embora muitas famílias com a mutação R337H não atendem aos rigorosos critérios de definição da síndrome de Li-Fraumeni (GARRITANO *et al.*, 2010).

A princípio, observações durante um longo período de acompanhamento clínico sugerem que homozigotos para a mutação R337H não têm um fenótipo de doença mais grave que em heterozigotos. Entretanto, pacientes com o genótipo homozigoto R337H exigem cuidado de vigilância para o risco de câncer e sobre os efeitos na capacidade metabólica mais tarde na vida (GIACOMAZZI *et al.*, 2013). Crianças com a mutação R337H do gene *TP53* e com tumores pequenos completamente ressecados têm um excelente prognóstico, já os pacientes com doença residual ou metastática tem prognóstico pior (SEIDNGER *et al.*, 2011), o que sugere uma associação direta do mal prognóstico com indivíduos homozigotos para a mutação R337H, uma vez que a doença progressiva e óbito foram relatados posteriormente nesse grupo.

De acordo com o *IARC*, a mutação R337H do gene *TP53* foi observada na França, em Portugal e no Brasil. Na França, foi descrita em câncer cerebral e adrenal (COMPRET, 2000); em Portugal, em câncer supra-renal; no Brasil, tanto em câncer adrenal e de mama (OSÓRIO, 2011). A mutação R337H pode contribuir significativamente com a epidemiologia do câncer no sul do Brasil, pois a região apresenta prevalência relativamente elevada para o alelo mutante e risco aumentado de vários tipos de câncer associados com a mutação (MACEDO *et al.*, 2012).

4 REFERENCIAL TEÓRICO METODOLÓGICO

A Revisão Sistemática (RS) e a Metanálise (MA) apresentam mudanças no perfil da revisão bibliográfica tradicional, constituindo-se em importantes instrumentos metodológicos de pesquisas. A realização de uma RS ou MA caracteriza-se pela participação de um determinado grupo de pesquisadores. Os autores definem um tema específico, geralmente com a finalidade de estabelecer a relação de causalidade existente entre dois fatores, obedecendo uma sequência de passos a serem percorridos (MUÑOZ *et al.*, 2002). Os passos para a condução de uma revisão sistemática e metanálise é exposto na figura 5.

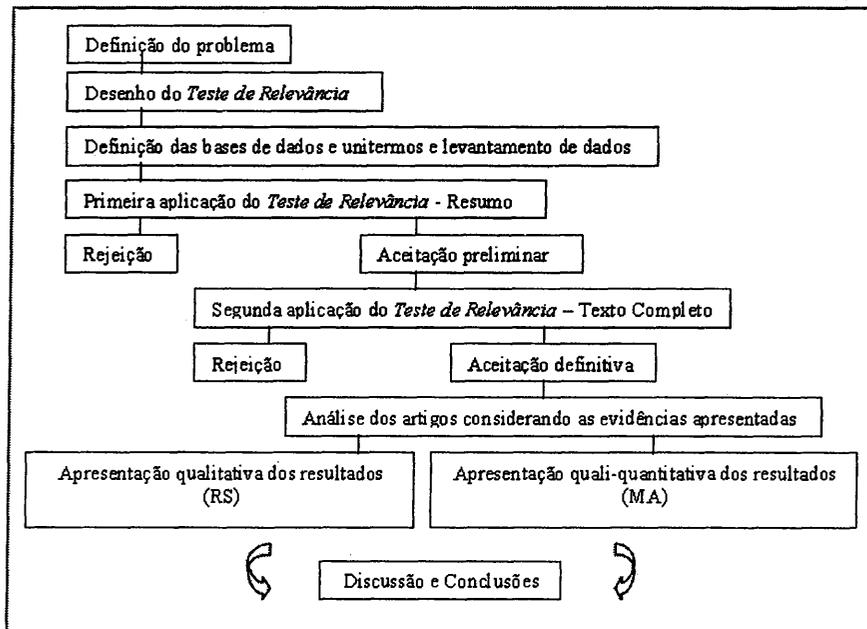


Figura 5 - Fluxograma para a condução de uma revisão sistemática e metanálise. Fonte: MUÑOZ *et al.*, 2002.

Os estudos individuais que constituem as “entradas” para uma revisão sistemática são intitulados “estudos primários” e a revisão sistemática constitui uma forma de “estudo secundário” (CONFORTO; AMARAL; SILVA, 2011). Atualmente, o estudo secundário é considerado a forma de evidência mais confiável para a tomada de decisões em saúde (ATALLAH; CASTRO, 1997), pois este tipo de estudo resume e sintetiza evidências sobre a eficácia e os efeitos de intervenções (SAMPAIO; MANCINI, 2006). Embora a revisão sistemática possa ser aplicada em várias áreas da Medicina ou Biologia, ela é mais frequentemente utilizada para se obter provas científicas de intervenções na saúde (ATALLAH; CASTRO, 1997).

A revisão sistemática é o processo de coletar, conhecer, compreender, analisar, sintetizar e avaliar um conjunto de artigos científicos com o propósito de criar um embasamento teórico-científico (estado da arte) sobre um determinado tópico ou assunto pesquisado (CONFORTO; AMARAL; SILVA, 2011). Esse tipo de estudo deve ser executado de forma planejada para responder a uma pergunta específica utilizando métodos explícitos e sistemáticos (CASTRO, 2001), para evitar viés, possibilitar uma análise mais objetiva dos resultados e facilitar a síntese conclusiva sobre determinada intervenção (SAMPAIO; MANCINI, 2006).

Assim, uma revisão bibliográfica sistemática é útil para (LEVY; ELLIS, 2006 *apud* CONFORTO; AMARAL; SILVA, 2011):

- ajudar o pesquisador no dimensionamento e compreensão do corpo de conhecimento referente a um determinado assunto, incluindo identificar pesquisas que já foram realizadas, o que falta pesquisar e quais são as lacunas;
- prover um embasamento teórico sólido para o estudo proposto, como complemento ao item anterior;
- prover evidência e o devido embasamento para o problema de pesquisa que guiará a investigação;
- apresentar as devidas justificativas para a condução do estudo e qual a contribuição original o corpo de conhecimento e/ou teoria;
- contribuir para melhor definir e estruturar o método de pesquisa, objetivos e questões para o estudo proposto.

A era da informação tem causado grande impacto na vida dos cidadãos. Esse fato acarreta consequências no sistema de saúde, pois o fluxo contínuo de informações transforma o processo de tomada de decisões dos profissionais de saúde (GALVÃO *et al.*, 2004). A Prática Baseada em Evidência (PBE) é definida como o uso consciente, explícito e criterioso da melhor e mais atual evidência de pesquisa na tomada de decisões clínicas sobre o cuidado de pacientes (SAMPAIO; MANCINI, 2007). A revisão sistemática da literatura é uma atividade fundamental para a PBE, uma vez que condensa uma grande quantidade de informações em um único estudo, isso facilita o acesso à informação, refinando os estudos e separando os de menor rigor acadêmico dos fortemente confiáveis. Além de servir de base científica para a formulação de guias de condutas (PEREIRA; BACHION, 2006).

Em termos gerais, a revisão sistemática inicia-se com a delimitação da questão ou problema. Essa fase é aparentemente simples, mas crucial, pois o processo de resolução do problema somente terá sucesso se a questão for apropriadamente definida (PEREIRA; BACHION, 2006).

Os passos para a realização de uma revisão sistemática são determinados em duas publicações complementares: 1) *Cochrane Handbook*, produzida pela Colaboração Cochrane e 2) *CDR Report*, produzido pelo *NHS Center for Reviews and Dissemination, University of York* (CASTRO, 2001). O quadro 1 compara as determinações para realização de revisão sistemática nas publicações complementares *Cochrane Handbook* e *CDR Report*.

Quadro 1 - Comparativo das determinações para realização de revisão sistemática nas publicações complementares *Cochrane Handbook* e *CDR Report*.

<i>Cochrane Handbook</i>	<i>CDR Report</i>
	Estágio I Planejando a revisão
<u>1º passo</u> – Formulação da pergunta	<i>Fase 0</i> Identificação na necessidade da revisão
<u>2º passo</u> - Localização e seleção dos estudos	<i>Fase 1</i> Preparação de uma proposta para a revisão sistemática
<u>3º passo</u> – Avaliação crítica dos estudos	<i>Fase 2</i> Desenvolvimento de um projeto da revisão
<u>4º passo</u> – Coleta de dados	Estágio II: Conduzindo a revisão
<u>5º passo</u> – Análise e apresentação dos dados	<i>Fase 3</i> Identificação da literatura
<u>6º passo</u> – Interpretação dos resultados	<i>Fase 4</i> Seleção dos estudos
<u>7º passo</u> – Aperfeiçoamento e atualização	<i>Fase 5</i> Avaliação da qualidade dos estudos
	<i>Fase 6</i> Extração dos dados
	<i>Fase 7</i> Síntese dos dados
	Estágio III Apresentação do relatório e divulgação

Fonte: Adaptado de CASTRO, 2001.

A Colaboração Cochrane e os Centros Cochrane realizam revisões sistemáticas, auxiliam os interessados a realiza-las e divulgam resultados de revisões sistemáticas (ATALLAH; CASTRO, 1997). Cada um dos passos recomendados pelo Centro Cochrane do Brasil são detalhados no curso disponibilizado no site <http://www.centrocochranedobrasil.org.br/cms/> (quadro 2).

Na área de saúde, é importante ressaltar a diferença entre palavra-chave e descritor. A primeira é aleatória e retirada de textos de linguagem livre, não obedecendo a nenhuma estrutura. Para uma palavra-chave tornar-se um descritor, ela tem que passar por um rígido controle de sinônimos, significado e importância na árvore de um determinado assunto (BRANDAU *et al.*, 2005 *apud* BARRA *et al.*, 2006). Já os descritores são organizados em estruturas hierárquicas, facilitando a pesquisa e a posterior recuperação do artigo. Por isso, é de fundamental importância que os autores, ao realizarem um estudo, consultem o vocabulário controlado, Descritores em Ciência da Saúde (DeCS), trilingue (português,

espanhol e inglês), (PELLIZZON, 2004 *apud* BARRA *et al.*, 2006) e/ou o *Medical SubjectHeadings* (MeSH), e coloquem os termos que melhor reflitam a base do artigo procurado (BRANDAU *et al.*, 2005 *apud* BARRA *et al.*, 2006).

Quadro 2 - Passos recomendados pela Colaboração *Cochrane* para realização de revisão sistemática.

Passo	Descrição
Formulação da pergunta	Na pergunta, devem ser definidos os pacientes, a doença e a intervenção terapêutica. Questões mal formuladas levam a decisões obscuras sobre o que deve ou não ser incluído na revisão.
Localização e seleção dos estudos	Existem várias fontes utilizadas para realização de busca de estudos. Para identificar todos os estudos relevantes, é necessário: pesquisar nas bases de dados eletrônicas (MEDLINE, LILACS, <i>Cochrane Controlled Trials Database</i> , <i>SciSearch</i> , Embase, entre outros); verificar as referências bibliográficas dos estudos relevantes; solicitar estudos de especialistas; pesquisar manualmente algumas revistas e anais de congressos. Cada uma das fontes usadas deve estar identificada em relação ao método que se utilizou para encontrá-la.
Avaliação crítica dos estudos	Alguns critérios são utilizados para determinar a validade dos estudos selecionados e qual a probabilidade de suas conclusões estarem baseadas em dados viciados. Com a avaliação crítica, identificam-se os estudos válidos para inclusão na revisão, bem como aqueles que não preenchem os critérios de validade. Todos os estudos excluídos devem ser citados juntamente com a justificativa de sua exclusão.
Coleta de dados	As variáveis de cada estudo, as características da metodologia e dos participantes, assim como os desfechos clínicos são registrados e resumidos. A avaliação desses parâmetros é que permitirá a comparação ou não dos estudos selecionados. Eventualmente, durante a coleta de dados será necessário entrar em contato com os autores dos estudos para solicitar informações mais detalhadas omitidas na publicação.
Análise e apresentação dos dados	O agrupamento dos estudos selecionados para a metanálise é baseado na semelhança entre eles. Cada um desses agrupamentos deverá ser pré-estabelecido no projeto, assim como a forma de apresentação gráfica e numérica, para facilitar o entendimento do leitor.
Interpretação dos resultados	Durante este passo deve ser determinada a força da evidência encontrada, a aplicabilidade dos resultados, as informações sobre custo, a prática corrente e tudo mais que seja relevante para determinação clara dos limites entre riscos e benefícios.
Aperfeiçoamento e atualização	Depois de publicada, a revisão sistemática passa por um processo de avaliação no qual receberá críticas e sugestões que devem ser incorporadas às edições subsequentes. Uma revisão sistemática é, portanto, uma publicação viva, que pode ser atualizada cada vez que surgirem novos estudos sobre o tema.

Fonte: <http://www.centrocohranedobrasil.org.br/cms/>

Em virtude do grande impacto provocado tanto na prática médica, quanto nas políticas de saúde e nas definições de prioridades em pesquisas clínicas, o trabalho da Colaboração Cochrane foi considerado o correspondente clínico do Projeto Genoma (ATALLAH, CASTRO; 1997).

5 PERCURSO METODOLÓGICO

Este estudo trata-se de uma revisão sistemática, descritivo, relacionado aos dados publicados sobre a mutação R337H do gene *TP53*.

5.1 Questão norteadora

Qual o valor preditivo da mutação R337H do gene *TP53* no câncer?

5.2 Descritores

Neste estudo, os descritores foram selecionados por consulta aos DeCS, disponível em <http://decs.bvs.br/>, que posteriormente foram utilizados na realização de busca das publicações nas bases de dados, são eles: carcinoma adrenocortical, efeito fundador, gene *TP53* e mutação de sentido incorreto. Utilizaram-se também similares em inglês e espanhol, indexadas nas bases de dados. Com a finalidade de ampliar e direcionar a busca ao tema proposto, também foram empregados os seguintes termos e seus sinônimos em inglês e espanhol: para adrenocortical carcinoma foi usado “adrenocortical”, para efeito fundador foram usados “efeito” e “fundador”, para gene *TP53* foi usado “*TP53*” e para mutação do sentido incorreto foram usados “mutação”, “p.R337H” e “R337H”.

5.3 Critérios de inclusão e exclusão

Foram utilizados como critérios de inclusão e exclusão de artigos:

- Estudos primários e descritivos sobre a mutação R337H do gene *TP53* e sua relação com potenciais marcadores clínicos de prognóstico, cujos participantes fossem portadores de algum tipo de câncer relacionado à mutação.
- Artigos publicados no período de 1997 a setembro de 2013, com disponibilidade em inglês, português ou espanhol.
- Estudos disponibilizados através de bases de dados de periódicos nacionais e internacionais.
- Os artigos indisponíveis na íntegra foram excluídos da pesquisa.
- Qualis e fator de impacto não foram utilizados como critérios de inclusão e exclusão.

5.4 Busca eletrônica

As recomendações estabelecidas pela *Cochrane Collaboration* foram cumpridas durante a identificação e seleção dos estudos.

Os dados foram coletados no período de janeiro a setembro de 2013, utilizando-se as bases de dados eletrônicas: PubMed, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciência da Saúde (LILACS), Literatura Internacional em Ciências da Saúde e Biomédica (MEDLINE), Índice Bibliográfico Espanhol em Ciência da Saúde (IBECS) e *Scientific Electronic Library Online* (Scielo).

O Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde, também denominado como Biblioteca Regional de Medicina (BIREME), é considerado um centro especializado em informações científicas e técnicas em saúde da Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS) para as regiões da América Latina e do Caribe. Desde 1967, a BIREME possui sede no Brasil no *Campus Central* da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), após acordo firmado entre

OPAS e o Governo brasileiro. A cooperação técnica da BIREME, que foi lançada em 1998, é realizada através da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) (BIREME, 2014).

A BVS é basicamente uma coleção de fontes de informações técnicas e científicas em saúde em formato eletrônico disponibilizados para atender as necessidades de informações de profissionais e estudantes. O quadro 3 descreve as bases de dados utilizadas neste estudo que estão incluídas na biblioteca virtual em saúde (BRASIL, 2009).

O PubMed é um banco de dados de versão gratuita desenvolvido pelo *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), que possibilita realização de pesquisa de referencias de artigos médicos publicados em diversas revistas científicas (AZEVEDO, 2010).

As bases de dados utilizadas foram selecionadas por serem amplamente conhecidas e utilizadas atualmente. A estratégia de busca utilizada nas bases de dados selecionadas e o quantitativo de artigos identificados mediante a utilização dos descritores e termos pré-estabelecidos encontram-se relatados no quadro 4.

Quadro 3 - Bases de dados utilizadas nos estudos que estão incluídas na BVS.

BASE DE DADOS	DESCRIÇÃO
LILACS	Considerado o mais importante e abrangente índice da literatura científica e técnica da América Latina e Caribe, contém revistas e artigos bem conceituados na área da saúde, além de outros tipos de documentos (teses, anais de congressos e conferências, publicações governamentais, relatórios técnico-científico, etc.). Disponibiliza acesso gratuito de resumos de artigos em inglês, português e espanhol.
IBECS	Direcionada às Ciências da Saúde com publicação espanhola, que contém referências de artigos científicos disponibilizados em diversas áreas como medicina (englobando saúde pública, epidemiologia e administração sanitária), farmácia, odontologia, veterinária, psicologia e enfermagem.
MEDLINE	Base de dados da literatura internacional da área médica e biomédica, elaborada pela <i>National Library of Medicine</i> (NLM), que possui referências bibliográficas e resumos de revistas publicadas nos Estados Unidos da América e em outros 70 países, nas áreas de medicina, biomedicina, odontologia, enfermagem, veterinária e ciências afins. A MEDLINE é disponibilizada em diferentes interfaces de pesquisa, BVS ou PubMed, onde os mecanismos e expressões de pesquisas são diferenciados.
SciELO	Biblioteca eletrônica que disponibiliza de modo gratuito uma coleção publicações de periódicos de revistas científicas do Brasil, Argentina, Chile, Colômbia, Cuba, Espanha, México, Portugal e Venezuela. Disponibiliza pesquisa básica e avançada, e consulta de periódicos por coleção (Saúde Pública, Ciências Sociais, dentre outros).

Fonte: <<http://regional.bvsalud.org/php/level.php?lang=pt&component=107&item=107>>.

Data de acesso: 17 set 2013.

Quadro 4 - Estratégia de Busca em bases de dados selecionadas e número de artigos identificados.

Base de dados	Estratégia de busca	Nº de artigos identificados
PubMed	("adrenocortical carcinoma"[All Fields] OR (mutacao[All Fields] AND sentido[All Fields]) OR (efeito[All Fields] AND fundador[All Fields]) OR "gene TP53"[All Fields]) OR ("adrenocortical"[All Fields] OR "efeito"[All Fields] OR "fundador"[All Fields] OR "TP53"[All Fields] OR "mutacao"[All Fields]) AND "R337H"[All Fields] AND (English[lang] OR Spanish[lang])	38
PubMed	("adrenocortical carcinoma"[All Fields] OR (mutacao[All Fields] AND sentido[All Fields]) OR (efeito[All Fields] AND fundador[All Fields]) OR "gene TP53"[All Fields]) OR ("adrenocortical"[All Fields] OR "efeito"[All Fields] OR "fundador"[All Fields] OR "TP53"[All Fields] OR "mutacao"[All Fields]) AND "p.R337H"[All Fields] AND (English[lang] OR Spanish[lang])	9
LILACS	tw:(("adrenocortical carcinoma" OR " mutação do sentido incorreto" OR "efeito fundador" OR "gene TP53") OR ("adrenocortical" OR "efeito" OR "fundador" OR "TP53") AND ("mutação") AND ("R337H")) AND db:("LILACS")	4
LILACS	tw:(("adrenocortical carcinoma" OR " mutação do sentido incorreto" OR "efeito fundador" OR "gene TP53") OR ("adrenocortical" OR "efeito" OR "fundador" OR "TP53") AND ("mutação") AND ("p.R337H")) AND db:("LILACS")	1
MEDLINE	("adrenocortical carcinoma"[All Fields] OR (mutacao[All Fields] AND sentido[All Fields]) OR (efeito[All Fields] AND fundador[All Fields]) OR "gene TP53"[All Fields]) OR ("adrenocortical"[All Fields] OR "efeito"[All Fields] OR "fundador"[All Fields] OR "TP53"[All Fields] OR "mutacao"[All Fields]) AND "R337H"[All Fields] AND (English[lang] OR Spanish[lang])	34
MEDLINE	("adrenocortical carcinoma"[All Fields] OR (mutacao[All Fields] AND sentido[All Fields]) OR (efeito[All Fields] AND fundador[All Fields]) OR "gene TP53"[All Fields]) OR ("adrenocortical"[All Fields] OR "efeito"[All Fields] OR "fundador"[All Fields] OR "TP53"[All Fields] OR "mutacao"[All Fields]) AND "p.R337H"[All Fields] AND (English[lang] OR Spanish[lang])	7
IBECS	("adrenocortical carcinoma" OR " mutação do sentido incorreto" OR "efeito fundador" OR "gene TP53") OR ("adrenocortical" OR "efeito" OR "fundador" OR "TP53") AND ("mutação") AND ("R337H")	0
IBECS	("adrenocortical carcinoma" OR " mutação do sentido incorreto" OR "efeito fundador" OR "gene TP53") OR ("adrenocortical" OR "efeito" OR "fundador" OR "TP53") AND ("mutação") AND ("p.R337H")	0
Scielo	("adrenocortical carcinoma" OR " mutação do sentido incorreto" OR "efeito fundador" OR "gene TP53") OR ("adrenocortical" OR "efeito" OR "fundador" OR "TP53") AND ("mutação") AND ("R337H")	3
Scielo	("adrenocortical carcinoma" OR " mutação do sentido incorreto" OR "efeito fundador" OR "gene TP53") OR ("adrenocortical" OR "efeito" OR "fundador" OR "TP53") AND ("mutação") AND ("p.R337H")	1
TOTAL		97

5.5 Seleção de estudos

Testes de relevância elaborados a partir das propostas de Azevedo (2011) e Pereira (2006) foram utilizados no estudo. Os testes são compostos por perguntas claras e objetivas que, conseqüentemente, geram respostas afirmativas ou negativas, que colaboram para a seleção dos artigos que a serem acessados na íntegra.

Os critérios estabelecidos pelos testes de relevância I e II foram utilizados para a seleção dos estudos. O teste de relevância I, apresentado no quadro 5, foi aplicado às referências e resumos dos artigos encontrados, onde o avaliador deveria responder as questões de forma afirmativa ou negativa. Havendo alguma resposta negativa, automaticamente o artigo foi excluído da revisão sistemática, apenas os artigos com todas as respostas afirmativas passaram pelo teste de relevância II.

Quadro 5 – Teste de relevância I aplicado às referências e resumos dos artigos selecionados.

Código de referência do estudo: _____		
Questões	Sim	Não
1. O estudo está de acordo com o tema investigado?		
2. O estudo foi publicado dentro do período estipulado?		
3. O estudo foi publicado em idiomas determinados pelos pesquisadores para a investigação?		
4. O estudo é primário, envolvendo diretamente seres humanos como sujeitos?		
5. O estudo aborda a solução do problema que está sendo investigado?		
O estudo foi incluso?		
Assinatura do Avaliador: _____		

Fonte: Adaptado de PEREIRA, 2006; AZEVEDO, 2010.

Os artigos selecionados no teste de relevância I passaram pelo teste de relevância II, onde cada um foi acessado na íntegra para análise qualitativa das informações contidas nos estudos. Nesse teste os artigos foram avaliados por dois profissionais que analisaram os aspectos descritos no quadro 6 elaborado a partir da proposta de Azevedo (2010). No caso de desacordo, foi realizado um encontro presencial para a discussão e definição da inclusão ou exclusão dos artigos (PEREIRA; BACHION, 2006).

Quadro 6 - Teste de relevância II aplicado na íntegra aos artigos selecionados no Teste de relevância I.

Código de referência do estudo: _____		
Questões	Sim	Não
1. O problema da pesquisa é claro?		
2. Os objetivos estão relacionados com a questão investigada?		
3. A metodologia empregada é descrita com clareza?		
4. A metodologia está adequada ao alcance dos objetivos?		
5. Os resultados são compatíveis com a metodologia utilizada, merecendo credibilidade?		
O estudo foi incluso?		
Assinatura do Avaliador: _____		

Fonte: Adaptado de AZEVEDO, 2010.

Os artigos selecionados posteriormente à aplicação do Teste de Relevância II foram avaliados e extraídos dados detalhados sobre a pesquisa de forma independente, baseados no roteiro de extração de dados adaptado de Pereira (2006) e Azevedo (2010) exposto no quadro 7.

Quadro 7 - Roteiro para extração de dados dos artigos incluídos na revisão sistemática.

Referência do estudo:
1. Tema:
2. Tipo de estudo:
3. Objetivo:
4. Características dos sujeitos:
5. Metodologia:
6. Método de análise:
7. Evidência dos Resultados:
8. Vantagens:
9. Desvantagens:
10. Observações do avaliador:

Fonte: Adaptado de PEREIRA, 2006; AZEVEDO, 2010.

Os resultados obtidos após a extração de dados dos artigos selecionados foram apresentados em forma de tabelas, quadros e figuras.

5.6 Cálculos de medidas de prevalência da doença e frequência da mutação

A forma mais básica de se determinar a frequência de uma doença é através da simples contagem dos indivíduos afetados (WAGNER, 1998). As medidas de frequência de doença mais comumente utilizadas em epidemiologia enquadram-se em duas grandes

categorias: prevalência e incidência (ELANDT-JOHNSON, 1975). A prevalência mede a proporção de indivíduos em uma população que estão acometidos da doença em um determinado momento. A incidência refere-se ao número de novos eventos ou casos novos que ocorrem em uma população de indivíduos em risco durante um determinado período de tempo. Existem duas formas de se medir incidência: a) incidência cumulativa, que fornece uma estimativa da probabilidade de um indivíduo desenvolver uma doença durante um período específico de tempo; e b) taxa de incidência ou densidade de incidência, que é considerada como sendo a taxa instantânea de desenvolvimento da doença por unidade de tempo, utilizada em estudos observacionais, tipo coorte (WAGNER, 1998).

Para calcular as medidas de prevalência da doença, a fórmula disponibilizada no quadro 8 foi utilizada.

Quadro 8 – Fórmula para cálculo da prevalência (P).

$$P = \frac{\text{número de indivíduos afetados em um determinado momento}}{\text{Total de indivíduos estudados}}$$

Fonte: WAGNER, 1998.

Para calcular a frequência da mutação, foi adotado o modelo proposto pelo matemático inglês Godfrey Harold Hardy e o médico alemão Wilhelm Weinberg em 1908, modelo este conhecido como Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), que ocorre quando as proporções alélicas e genotípicas permanecem constantes. As condições para que uma população esteja em Equilíbrio de Hardy-Weinberg são: ausência de fatores evolutivos, como seleção natural, migração e mutação; os indivíduos devem ser diplóides e se reproduzir sexuadamente; acasalamento ao acaso e população grande (REIS, 2008). A endogamia, que é uma reprodução preferencial entre indivíduos aparentados, causa um desvio das frequências do Equilíbrio de Hardy-Weinberg de p^2 , $2pq$, q^2 . Mais especificamente, ela lida com um aumento na proporção de homozigotos e uma diminuição na proporção de heterozigotos em uma população. O Equilíbrio de Hardy-Weinberg supõe

a reprodução aleatória em uma população infinitamente grande. Mas nenhuma população real é infinitamente grande, e quando o tamanho da população é limitado, os gametas que se unem para formar os indivíduos da geração seguinte levam uma amostra dos alelos presentes na composição gênica parental. Apenas por acaso, a composição dessa amostra geralmente se desvia da composição gênica parental, e esse desvio pode fazer com que as frequências alélicas mudem. O acaso influencia no fato de alelos estarem presentes nessa amostragem limitada, e desse modo, o erro pode levar à deriva genética, ou mudança na frequência alélica (PIERCE, 2011).

No caso de dois alelos, Hardy e Weinberg demonstraram que, quando os cruzamentos ocorrem de forma aleatória, as frequências alélicas e genotípicas seguem uma distribuição binomial nas populações de organismos diplóides ($2n$ conjuntos gênicos). Nesse caso, os alelos A_1 e A_2 possuem frequências p_{A_1} e $p_{A_2} = 1 - p_{A_1}$, respectivamente. No binômio de Newton associado a $(p_{A_1} + p_{A_2})^2 = 1$ ou $p^2A_1 + 2p_{A_1}p_{A_2} + p^2A_2 = 1$, cada termo do binômio está associado a um dos três genótipos possíveis (A_1A_1 , A_1A_2 , A_2A_2) que ocorrem na população nas seguintes proporções (SILVA, 2006):

- $PA_1A_1 = p^2A_1$: proporção do genótipo homocigoto A_1 (A_1A_1)
- $PA_1A_2 = 2p_{A_1}p_{A_2}$: proporção do genótipo heterocigoto (A_1A_2)
- $PA_2A_2 = p^2A_2$: proporção do genótipo homocigoto A_2 (A_2A_2)

5.7 Cálculo de validade de teste diagnóstico

Diagnóstico, por definição, é o ato de identificar uma doença. O processo de “diagnosticar” uma doença pode variar de probabilidade zero a probabilidade de 100%. Dependendo do conhecimento do clínico e dos métodos complementares usados, essa probabilidade diagnóstica deslocar-se-á mais para um dos extremos, ou seja, a doença poderá ser totalmente descartada (0%) ou confirmada (100%) (MENEZES; SANTOS, 1999).

Para associar o valor preditivo diagnóstico com a mutação R337H, foram usados cálculos de validade dos testes de diagnósticos. A validade de um teste refere-se, em termos quantitativos ou qualitativos, a um teste que é útil para diagnosticar um evento

(validade simultânea ou concorrente) ou para predizê-lo (validade preditiva). Para determinar a validade, comparam-se os resultados do teste com os de um padrão (padrão ouro): esse pode ser o verdadeiro estado do paciente, se a informação está disponível, um conjunto de exames julgados mais adequados, ou uma outra forma de diagnóstico que sirva de referência. O teste diagnóstico ideal deveria fornecer, sempre, a resposta correta, ou seja, um resultado positivo nos indivíduos com a doença e um resultado negativo nos indivíduos sem a doença. Além do que, deveria ser um teste rápido de ser executado, seguro, simples, inócuo, confiável e de baixo custo (IPTSP, 2014).

A figura 6 expõe a relação entre os resultados de um teste e o diagnóstico. Existem quatro possíveis interpretações do resultado de um teste, sendo duas possibilidades corretas (A e D) e duas incorretas (B e C). O teste pode ser considerado positivo (anormal) ou negativo (normal) e a doença, presente ou ausente. O padrão-ouro seria o verdadeiro estado de doente ou não doente determinado através de métodos mais acurados (MENEZES; SANTOS, 1999).

		Doença (padrão ouro)			
		Presente	Ausente		
Teste	Positivo	Verdadeiro positivo a	Falso positivo b	a + b	
	Negativo	Falso negativo c	Verdadeiro negativo d	c + d	
		a + c	b + d	N (a+b+c+d)	

Figura 6 – Validade de um teste diagnóstico. Fonte: IPTSP, 2014.

As proporções/indicadores relacionados aos estudos inclusos na presente revisão sistemática foram calculados, com finalidade de comparar e interpretar os resultados obtidos (tabela 1). A definição de cada proporção/indicadores encontra-se exposta no quadro 9.

Tabela 1 – Cálculos de comparação dos resultados

Proporção/indicadores	Cálculo
Sensibilidade	$a/(a+c)$
Especificidade	$d/(b+d)$
Prevalência (real)	$(a+c)/N$
Prevalência estimada (teste)	$(a+b)/N$
Valor preditivo positivo	$a/(a+b)$
Valor preditivo negativo	$d/(c+d)$

Fonte: Adaptado de IPTSP, 2014; SESAU/SC, 2014.

No contexto epidemiológico e clínico, a validade de um marcador sorológico diz respeito à extensão com que ele pode prever a ocorrência da doença/infecção. A probabilidade de o indivíduo ser doente ou sadio é conhecida como Valor Preditivo (VP), podendo ser positivo (VPP) ou negativo (VPN), e é determinado pela interação de três variáveis: a sensibilidade e a especificidade do teste e a prevalência da doença no grupo de estudo (IPTSP, 2014). No quadro 9 são descritas cada proporção/indicador utilizados nesta revisão sistemática.

Quadro 9 - Descrição das proporções/indicadores utilizados no estudo.

Proporção/indicadores	Descrição
Sensibilidade	Capacidade que o teste diagnóstico/triagem apresenta de detectar os indivíduos verdadeiramente positivos, ou seja, de diagnosticar corretamente os doentes.
Especificidade	Capacidade que o teste diagnóstico/triagem tem de detectar os verdadeiros negativos, isto é, de diagnosticar corretamente os indivíduos sadios.
Prevalência	Proporção de indivíduos em uma população que estão acometidos da doença em um determinado momento.
Valor preditivo positivo	Proporção de doentes entre os positivos pelo teste.
Valor preditivo negativo	Proporção de sadios (sem a doença) entre os negativos ao teste.

Fonte: IPTSP, 2014; WAGNER, 1998.

6 RESULTADOS

6.1 Resultados da seleção dos estudos incluídos

Noventa e sete publicações foram disponibilizadas em quatro das cinco bases de dados selecionadas para a realização da pesquisa, com predominância na base de dados PubMed, com 47 artigos, seguida pela MEDLINE (41), LILACS (5) e Scielo (4) respectivamente. Não foram encontradas publicações na IBECS.

Estudos repetidos foram encontrados em diferentes bases de dados, ou seja, um artigo foi encontrado seis vezes, sete artigos quatro vezes, e 30 artigos duas vezes. Devido a este fato, os artigos foram considerados apenas uma vez, excluindo 58 (59,8%) referências. A maior parte das repetições foram encontradas nas bases de dados PubMed e MEDLINE. Um artigo encontrado no PubMed foi excluído devido a indisponibilidade na íntegra. Portanto, restaram 39 artigos (40,2%) a serem submetidos ao Teste de Relevância I. As informações dos estudos identificados e suas exclusões estão sintetizadas na figura 7.

Após aplicação do teste de relevância I foram excluídos 21 (53,8%) artigos, pois estavam fora do tema a ser investigado, foram considerados estudos secundários onde seres humanos não foram envolvidos como sujeitos da pesquisa, ou não abordavam solução para o problema a sendo investigado na revisão sistemática.

Portanto, dezoito (46,1%) artigos foram selecionados para acesso na íntegra e aplicação do Teste de Relevância II. Na base de dados Scielo, estudo algum selecionado. Na MEDLINE e PubMed foram selecionados respectivamente oito e nove artigos, enquanto apenas um estudo foi selecionado na LILACS. Após aplicação do Teste de Relevância II foram excluídos seis artigos por não apresentarem um ou mais dos critérios estabelecidos no teste de relevância II, restando doze para a extração de dados e inclusão na Revisão Sistemática. A figura 6 descreve o processo de busca e seleção dos artigos inclusos na revisão sistemática.

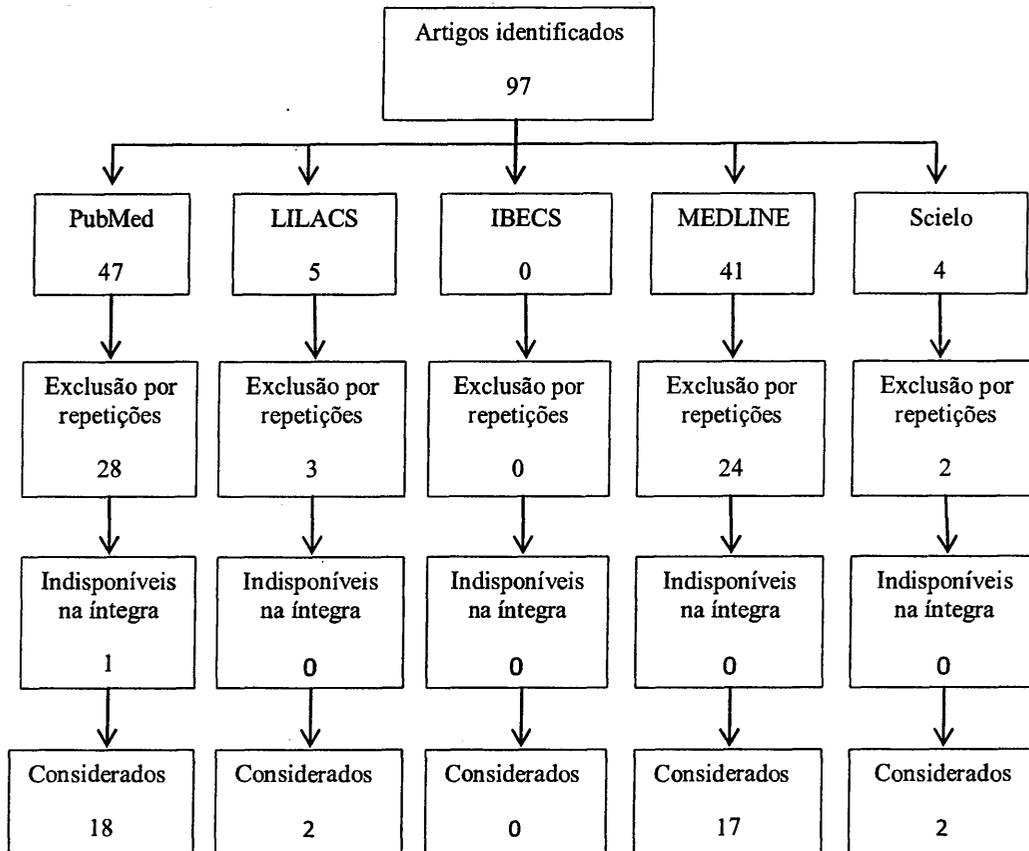


Figura 7 - Estudos identificados nas bases de dados, exclusão por repetição e artigos considerados.

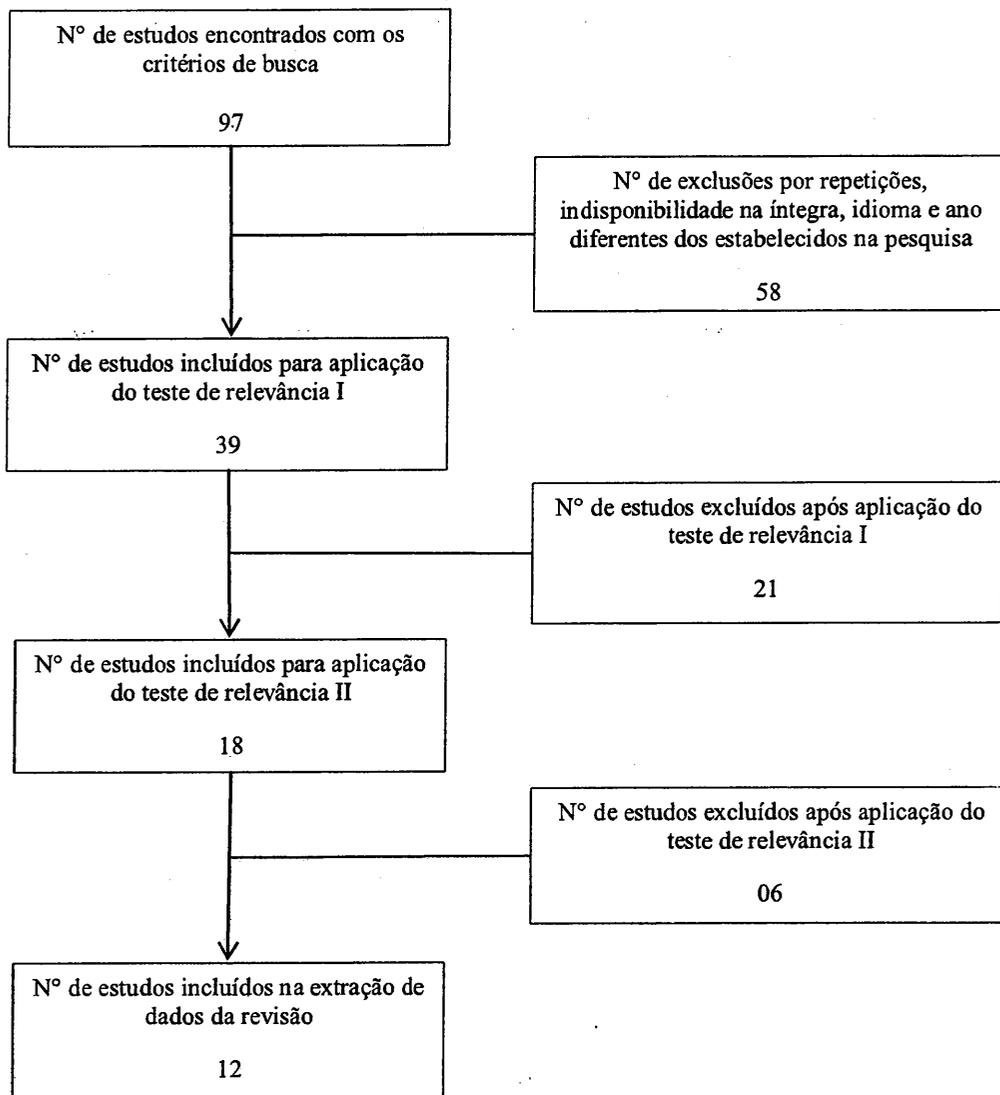


Figura 8 - Processo de busca e seleção de artigos.

A discussão dos resultados deve ser voltada para as implicações das evidências apresentadas em relação às decisões práticas (ATALLAH; CASTRO, 1997). A classificação das evidências é condicionada pela fonte de onde provêm, delineamentos dos estudos que lhes dão origem, intensidade dos efeitos observados e possibilidade de ocorrência de erros aleatórios (GREENHALGH *apud* PEREIRA; BACHION, 2006). Evidência é “algo” que fornece provas e pode ser categorizada em níveis (CRUZ;

PIMENTA, 2005). Na literatura, podem ser encontradas diferentes classificações de evidências. Neste estudo, foi utilizada a força de evidência adotada por Hicks (2004), definida por Tipo e força de evidência e apresenta cinco categorias distintas como mostra a tabela 2.

Tabela 2 - Classificação da força das evidências.

Tipo	Força de evidência
I	Evidência forte a partir de pelo menos uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados, bem delineados.
II	Evidência forte a partir de pelo menos um ensaio clínico controlado, randomizado, bem delineado.
III	Evidência a partir de um ensaio clínico bem delineado, sem randomização, de estudos de apenas um grupo do tipo antes e depois, de coorte, de séries temporais, ou de estudos caso-controle.
IV	Evidência a partir de estudos não experimentais por mais de um centro ou grupo de pesquisa.
V	Opiniões de autoridades respeitadas, baseadas em evidência clínica, estudos descritivos ou relatórios de comitês de especialistas.

Fonte: HICKS *apud* CRUZ; PIMENTA, 2005.

6.2 Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Os doze artigos inclusos na revisão sistemática foram encontrados nas bases de dados PubMed (7), LILACS (1) e MEDLINE (4), todos os estudos foram publicados na língua inglesa. Onze estudos foram realizados no Brasil e um na Alemanha, de 2006 a 2013. Esta amostra demonstra que maior parte dos estudos relacionados à mutação R337H do gene *TP53* foi desenvolvida nas regiões Sul e Sudeste brasileiras. O quadro 10 expõe as características dos estudos incluídos na revisão sistemática. A numeração/codificação de ordem das referências dos estudos exposta no quadro serão as mesmas utilizadas ao longo do trabalho. O fator de impacto (FI) é uma medida do número médio de citações de artigos científicos publicados em determinado periódico, empregado frequentemente para avaliar a importância de um dado periódico em sua área. À medida que o FI foi se estabelecendo como critério de avaliação de publicações nas mais diversas instâncias, foi crescendo igualmente o número de pesquisas que passaram a investigá-lo sob variadas formas e,

invariavelmente, a criticá-lo como indicador de influência das publicações (STREHL, 2005). O FI de foi levantado a partir de consulta individualizada online nos sites de cada periódico dos estudos selecionados: <http://jmg.bmj.com/>, <http://cancerletters.info/>, <http://biomedcentral.com/>, <http://plosone.org/>, <http://press.endocrine.org/journal/jcem>, <http://www.hccpjournals.com/>, <http://www.ojrd.com/>, <http://jco.ascopubs.org/>, <http://www.springer.com/medicine/pathology/journal/428>, <http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1002>.

O roteiro de extração de dados foi usado para levantamento de informações relevantes disponíveis nos doze artigos selecionados para fazer parte do estudo. Pode-se verificar o quantitativo de 1.548 indivíduos portadores de câncer, incluindo tumor do córtex adrenal, câncer mama e rim, carcinoma do plexo coroide, papiloma do plexo coroide, sarcoma de tecido mole e sinovial de perna, osteossarcoma, dentre outros tipos de cânceres. Dentre os indivíduos portadores de câncer, 118 possuíam história familiar de LFS/LFL. Ainda, foram inclusas 750 mulheres saudáveis participantes de um grupo de combate ao câncer de mama, 647 controles e 171.649 recém-nascidos, sendo que 19 destes recém-nascidos foram inclusos no grupo de portadores de câncer por apresentarem tumor do córtex adrenal (TCA). O somatório dos indivíduos analisados para a mutação R337H inclusos na revisão sistemática foi de 175.462. Os informações citadas estão disponíveis no quadro 10.

Para definir o tipo de estudo, as pesquisas foram classificadas segundo as formas de estudo e seus fins. Todos os estudos foram considerados como descritivos. Nesse tipo de pesquisa, o objeto investigado é descrito sem que haja interferência, e procura-se descobrir a frequência com que um fenômeno ocorre, natureza, características, causas, relações e conexões com outros fenômenos. Todas as pesquisas deste estudo também foram consideradas aplicadas, onde o pesquisador é movido pela necessidade de conhecer para a aplicação imediata dos resultados (BARROS *et al.*, 2007). Os estudos selecionados nesta pesquisa tratam-se de análises experimentais utilizando PCR em tempo real, PCR baseada no sistema ARMS, PCR-RFLP, imunohistoquímica e CGH-array para análise das amostras. Os testes estatísticos encontrados nos estudos foram o Teste exato de Fisher, Qui-quadrado, Mann-Whitney, Kaplan-Meier, Kruskal-Wallis, Modelo Gail's, Teste T e ANOVA (Quadro 11).

Quadro 10 - Características dos estudos inclusos na revisão sistemática.

Ord.	Título	Autor principal	Local do estudo	Periódico	Idioma	Ano
1	Penetrance of adrenocortical tumours associated with the germline <i>TP53</i> R337H mutation	Figueiredo BC	Paraná	Journal Med Genet (FI 5.703)	Inglês	2006
2	The <i>TP53</i> mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families	Achatz MIW	São Paulo	Cancer Letters (FI 4.544)	Inglês	2007
3	Detection of R337H, a germline <i>TP53</i> mutation predisposing to multiple cancers, in asymptomatic women participating in a breast cancer screening program in Southern Brazil	Palmero EI	Porto Alegre	Cancer Letters (FI 4.544)	Inglês	2008
4	Association of the germline <i>TP53</i> R337H mutation with breast cancer in southern Brazil	Assumpção JG	Campinas	BioMed Central Cancer (FI 3.330)	Inglês	2008
5	Increased incidence of Choroid Plexus Carcinoma Due to the Germline <i>TP53</i> R337H mutation in Southern Brazil	Custodio G	Curitiba	Plosone (FI 3.730)	Inglês	2011
6	Association of the highly prevalent <i>TP53</i> R337H mutation with pediatric choroid plexus carcinoma and osteosarcoma in Southern Brazil	Seidinger AL	Campinas	Cancer (FI 5.201)	Inglês	2011
7	<i>TP53</i> germline mutation in adult patients with adrenocortical carcinoma	Herrmann LJM	Munique - Alemanha	Journal Clin Endocrinol and Metab (FI 6.430)	Inglês	2012
8	The R337H mutation in <i>TP53</i> and breast cancer in Brazil	Gomes MCB.	Rio de Janeiro	HCCP Journal (FI 1.710)	Inglês	2012
9	Number of rare germline CNVs and <i>TP53</i> mutation types	Silva AG.	São Paulo	Orphanet Journal of Rare Diseases (FI 4.320)	Inglês	2012
10	Impact of neonatal screening and surveillance for the <i>TP53</i> R337H mutation on early detection of childhood adrenocortical tumors	Custódio G	Paraná Brasil	Journal of clinical oncology (FI 2.858)	Inglês	2013
11	A <i>TP53</i> founder mutation, p.R337H, is associated with <i>phylloides</i> breast tumors in Brazil	Giacomazzi J.	Porto Alegre e Barretos Brasil	Vichows Arch (FI 2.676)	Inglês	2013
12	Spindle assembly Checkpoint gene expression in childhood Adrenocortical Tumors (ACT): Overexpression of Aurora Kinases A and B is associated with a poor prognosis	Borges KS.	Ribeirão Preto	Pediatr Blood Cancer (FI 2.353)	Inglês	2013

Quadro 11 – Resultados obtidos por aplicação do roteiro para extração de dados de artigos inclusos.

Ord.	Objetivo	Amostra	Tipo de estudo	Material coletado	Métodos	Teste estatístico	Conclusão
1	Investigar a penetrância da mutação R337H em crianças portadoras de tumor do córtex adrenal (TCA)	927 indivíduos (32 meninas e 9 meninos com TCA)	Descritivo e aplicado	Sangue periférico e células tumorais	PCR	Modelo Gail's	A mutação R337H aumenta drasticamente a predisposição para o TCA na infância, mas não para outros tipos de câncer e explica o aumento da frequência de TCA observada no estado do Paraná
2	Associar a mutação TP53 R337H com as síndromes Li-Fraumeni (LFS) e Li-Fraumeni-like (LFL) em famílias brasileiras	45 famílias com história familiar de LFS/LFL (118 indivíduos)	Descritivo e aplicado	Sangue periférico	PCR-RFLP	-	A mutação da linha germinativa R337H no gene TP53 predispõe a um espectro maior de tumores, semelhante à relatada para outras mutações de TP53
3	Identificar a prevalência da mutação R337H em mulheres assintomáticas participantes do Programa de combate ao câncer de mama no Sul do Brasil	750 mulheres saudáveis	Descritivo e aplicado	Sangue periférico	PCR-RFLP	-	R337H pode ser uma mutação de baixa penetrância que predispõe a vários tipos de câncer e ocorre na população do Sul do Brasil com uma frequência de 10-20 vezes maior do que outras mutações TP53 comumente associados com LFS
4	Associar a mutação germinativa TP53 R337H com o câncer de mama no Sul do Brasil	123 mulheres com câncer de mama; 223 controles	Descritivo e aplicado	Sangue periférico e células tumorais	PCR; Imuno-histoquímica	Teste exato de Fisher	A mutação R337H pode aumentar significativamente o risco de câncer de mama em portadores, que provavelmente depende de fatores genéticos adicionais
5	Analisar a frequência da mutação R337H em famílias com crianças com Carcinoma do Plexus Coroide (CPC).	22 pacientes com CPC; 7 pacientes com PP	Descritivo e aplicado	Sangue periférico e tecido tumoral	PCR-RFLP	Kaplan-Meier; Qui-quadrado; Teste exato de Fisher; Kruskal-Wallis	A mutação R337H é responsável por 63% dos casos de CPC em crianças, sugerindo uma maior incidência de CPC no sul do Brasil
6	Associar a prevalência da mutação TP53 R337H com carcinoma pediátrico do plexus coróide e osteosarcoma no Sul do Brasil	493 crianças com doenças malignas	Descritivo e aplicado	Sangue periférico e células tumorais	PCR-RFLP; Imuno-histoquímica	Teste Mann-Whitney; Qui-quadrado; Teste de Fisher	A mutação R337H está associada não somente com TCA, mas também com o CPC e, em menor medida, com osteosarcoma

7	Analisar a prevalência da mutação germinativa <i>TP53</i> em pacientes adultos com carcinoma adrenocortical (CAC)	103 pacientes com carcinoma adrenocortical	Descritivo e aplicado	Sangue periférico e células tumorais	PCR; Imuno-histoquímica	-	Em adultos jovens (<40 anos) com CAC, o rastreio de mutações germinativas no gene <i>TP53</i> pode ser justificada
8	Avaliar a frequência da mutação <i>TP53</i> R337H em pacientes com câncer de mama no Rio de Janeiro, Brasil	390 pacientes com câncer de mama; 234 controles	Descritivo e aplicado	Sangue periférico	PCR baseada no sistema ARMS	-	O rastreio genético de pacientes jovens com câncer de mama deve incluir o teste para a mutação R337H
9	Avaliar o número de CNVs germinativas raras e tipos de mutação em <i>TP53</i>	100 controles; 21 portadores de câncer.	Descritivo e aplicado	Sangue periférico	CGH-array	Mann-Whitney; Fisher-exact	O acúmulo de variação do número de cópias (CNVs) raras em mutantes do domínio de cópias do DNA (DBD) pode contribuir para a antecipação e gravidade da síndrome. O fato dos indivíduos com a mutação R337H não apresentarem a mesma magnitude da acumulação de CNV rara pode também explicar a manutenção desta frequência da mutação relativamente elevada em algumas populações
10	Avaliar o impacto da detecção da mutação <i>TP53</i> R337H em recém-nascidos	171.649 recém-nascidos	Descritivo e aplicado	Sangue periférico	PCR-RFLP	Teste exato de Fisher; Wilcoxon rank sum test.	A triagem e vigilância de portadores heterozigotos são eficazes na detecção de TCAs quando prontamente curáveis
11	Associar a mutação <i>TP53</i> R337H com tumor de mama <i>phylloides</i> (TMP) no Brasil	148 pacientes com tumor de mama <i>phylloides</i>	Descritivo e aplicado	DNA tumoral	PCR em tempo real	Teste T; ANOVA	As mutações em <i>TP53</i> têm um papel importante no desenvolvimento de tumor <i>Phylloides</i> de mama, tanto benigno quanto maligno
12	Associar a superexpressão de Aurora Quinase A e B com o mau prognóstico de tumores adrenocorticais na infância	60 crianças com TCA	Descritivo e aplicado	Células tumorais	PCR em tempo real; Imuno-histoquímica	Mann-Whitney; ANOVA	A superexpressão de AURKA e AURKB em portadores de TCA pediátrico com a mutação R337H pode estar relacionado com uma doença mais agressiva e a inibição destas proteínas podem ser uma abordagem interessante para o tratamento destes tumores

6.3 Resultados dos estudos incluídos na revisão sistemática

A frequência da mutação R337H do gene *TP53* no Brasil é significativamente mais elevada que em outros países. Dentre os indivíduos dos estudos incluídos na revisão sistemática 175.539 são brasileiros (99,9%) e 103 alemães (0,1%). A mutação foi encontrada em 0,3% das mulheres saudáveis (2/750), 18% dos controles (12/647), 30,5% dos familiares de pacientes portadores de TCA com a mutação R337H (200/887), 0,2% dos recém-nascidos sem tumor (442/171.630) e em 16% dos portadores de câncer (287/1.548), incluindo os 19 recém-nascidos com TCA que desenvolveram a doença no decorrer da pesquisa, que durou aproximadamente 15 meses. O quadro 12 expõe as características dos indivíduos inclusos na revisão sistemática.

A mutação R337H foi encontrada em 60,5% dos portadores de tumor do córtex adrenal (184/304), 65,7% de carcinoma do plexo coróide (23/35), 5% de câncer de mama (28/555), 65,7% carcinoma do plexo coróide (23/35), 7,3% de osteosarcoma (3/41), 100% de câncer renal (5/5), 100% de sarcoma sinovial de perna (1/1), 60% de sarcoma de partes moles (6/10), 5% de tumor *phylloides* de mama (8/148), 23,6% de tumor do sistema nervoso central (9/38), 100% de câncer de tireoide (2/2), 100% de câncer de pele (1/1), 28,5% de câncer de pulmão (2/7), 100% de melanoma (1/1), 62,5% de câncer de estômago (5/8), 66,6% de câncer em órgão genital feminino (2/3), 75% de câncer de próstata (3/4), 100% de câncer de pâncreas (1/1), 33,3% de câncer de esôfago (1/3), e na presença de tumores associados como: 100% de tumor do córtex adrenal e câncer renal (1/1), e em 100% de sarcoma de partes moles, câncer de mama e tireoide (1/1) (figura 9).

Dentre os 287 indivíduos portadores de câncer com a mutação R337H do gene *TP53*, incluindo os 19 recém-nascidos com TCA, um era de origem alemã e os demais brasileiros. A figura 9 expõe os tipos de câncer encontrados nos portadores da mutação e o figura 10 demonstra os indivíduos considerados saudáveis portadores da mutação R337H.

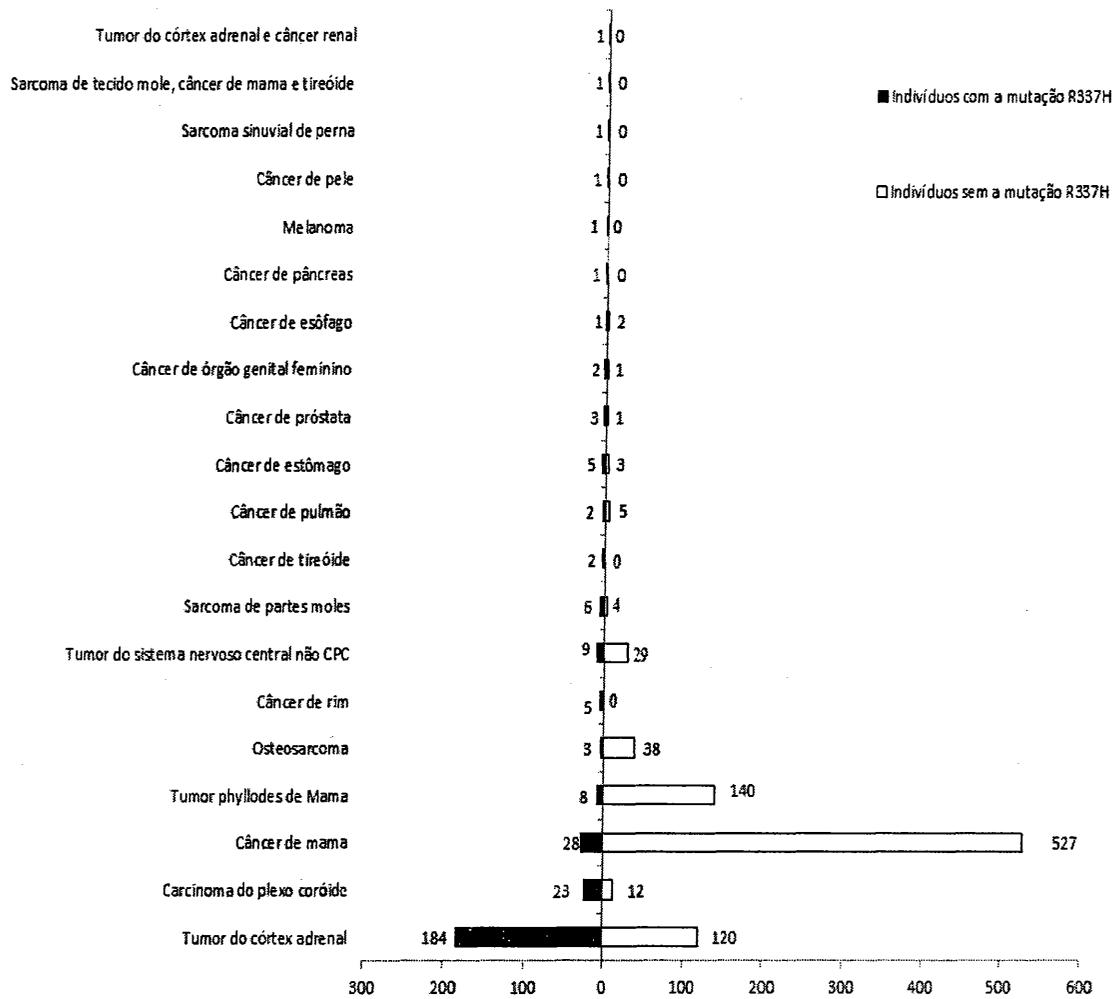


Figura 9 – Tipos de câncer relatados nos estudos incluídos nesta pesquisa de RS.

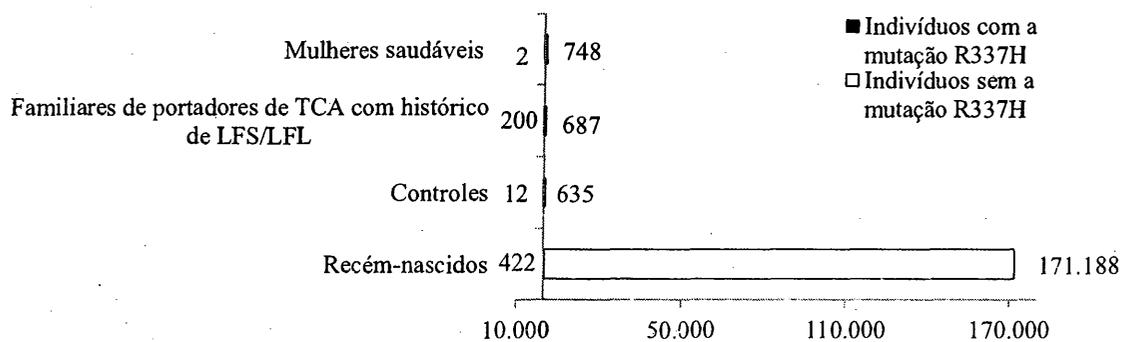


Figura 10 – Grupo de estudo composto por indivíduos considerados saudáveis.

Quadro 12 – Características dos indivíduos incluídos na revisão sistemática.

Descrição	Indivíduos com R337H	Indivíduos sem R337H	TOTAL
Tumor do córtex adrenal	184	120	304
Câncer de mama	28	527	555
Carcinoma do plexo coróide	23	12	35
Papiloma do plexo coróide	-	12	12
Osteosarcoma	3	38	41
Câncer de rim	5	-	5
Mola hidatiforme e tumor de Ampola de Vater	-	1	1
Sarcoma de tecido mole e câncer de mama	-	1	1
Câncer de mama bilateral e tumor de vesícula biliar	-	1	1
Câncer de mama e colo retal	-	1	1
Sarcoma de tecido mole, câncer colo retal e pulmão	-	1	1
Rabdomiosarcoma, tumor do plexo coróide e liposarcoma	-	1	1
Sarcoma sinovial de perna	1	-	1
Tumor do córtex adrenal e câncer renal	1	-	1
Sarcoma de tecido mole, câncer de mama e tireóide	1	-	1
Tumor <i>phylloides</i> de mama	8	140	148
Leucemia linfoblástica aguda	-	236	236
Linfoma	-	30	30
Tumor do sistema nervoso central não-CPC	9	29	38
Sarcoma de Ewing	-	25	25
Rabdomiosarcoma	-	8	8
Sarcoma de tecido mole	6	4	10
Câncer de tireoide	2	-	2
Câncer de pele	1	-	1
Câncer de pulmão	2	5	7
Melanoma	1	-	1
Câncer de estômago	5	3	8
Câncer de fígado	-	3	3
Câncer de órgão genital feminino	2	1	3
Câncer de próstata	3	1	4
Câncer de pâncreas	1	-	1
Câncer de esôfago	1	2	3
Câncer de ossos	-	2	2
Câncer de Ampulla de Vater	-	2	2
Câncer colorretal	-	7	7
Mola hidatiforme	-	1	1
Leucemia mielóide aguda	-	44	44
Câncer de cabeça e pescoço	-	3	3
Mulheres saudáveis	2	748	750
Familiares de pacientes portadores de TCA com mutação R337H	200	687	887
Controles	12	635	647
Recém-nascidos	442	171.188	171.630
TOTAL	943	174.519	175.462

Oito dos doze estudos associaram a mutação R337H do gene *TP53* com histórico familiar de câncer de 411 pacientes com a mutação. Nas famílias, foram encontrados 390 portadores de diversos tipos de câncer, tendo 33% com câncer de mama (n= 129), sendo considerado como o mais frequente, seguido de 25% de câncer de estômago (n= 99), 15,9% de carcinoma do córtex adrenal (n= 62), 12,3% de câncer cerebral (n= 48), 3,3% de câncer de próstata (n= 13), 1% de câncer de pulmão (n= 4), 0,8% de sarcoma de partes moles (n= 3), 0,8% de câncer de esôfago (n= 3), 0,8% de câncer de fígado (n= 3), 0,8% de câncer de útero (n= 3), 0,5% de câncer renal (n= 2), 0,5% de câncer de pâncreas (n= 2), 0,5% de câncer de cabeça e pescoço (n= 2), 0,5% de câncer de laringe (n= 2), 0,5% de câncer de órgão genital feminino (n= 2), 0,5% de carcinoma do plexo coroide (n= 2), 0,3% de leucemia (n= 1), 0,3% de neuroblastoma (n= 1), 0,3% de linfoma (n= 1), 0,3% de glioblastoma multiforme (n= 1), 0,3% de melanoma (n= 1), 0,3% de câncer de braço (n= 1), 0,3% de câncer abdominal desconhecido (n= 1), 0,3% de câncer de osso (n= 1), 0,3% de câncer de garganta (n= 1), 0,3% de câncer de axila (n= 1) e 0,3% de câncer de tireoide (n= 1). A figura 11 mostra a porcentagem dos tipos de câncer encontrados nos familiares de indivíduos portadores da mutação R337H do gene *TP53*.

A frequência da mutação R337H referente aos indivíduos inclusos na revisão sistemática está exposta no quadro 13. A média da frequência alélica do alelo selvagem (R) foi de 0,89 e para o alelo mutado (H) de 0,11. Já a média da frequência genotípica foi de 0,70 (RR), 0,21 (RH) e 0,001667 (HH). O desvio padrão global da frequência alélica tanto para o alelo selvagem quanto para o mutado foi de 0,13; para a frequência genotípica foi de 0,26 (RR e RH) e 0,003727 (HH). O genótipo RR foi encontrado em um total de 174.424 indivíduos, o genótipo RH em 935 e o genótipo HH em apenas oito indivíduos. Demonstrando um quantitativo maior de indivíduos homocigotos selvagem identificados na população incluída na revisão sistemática.

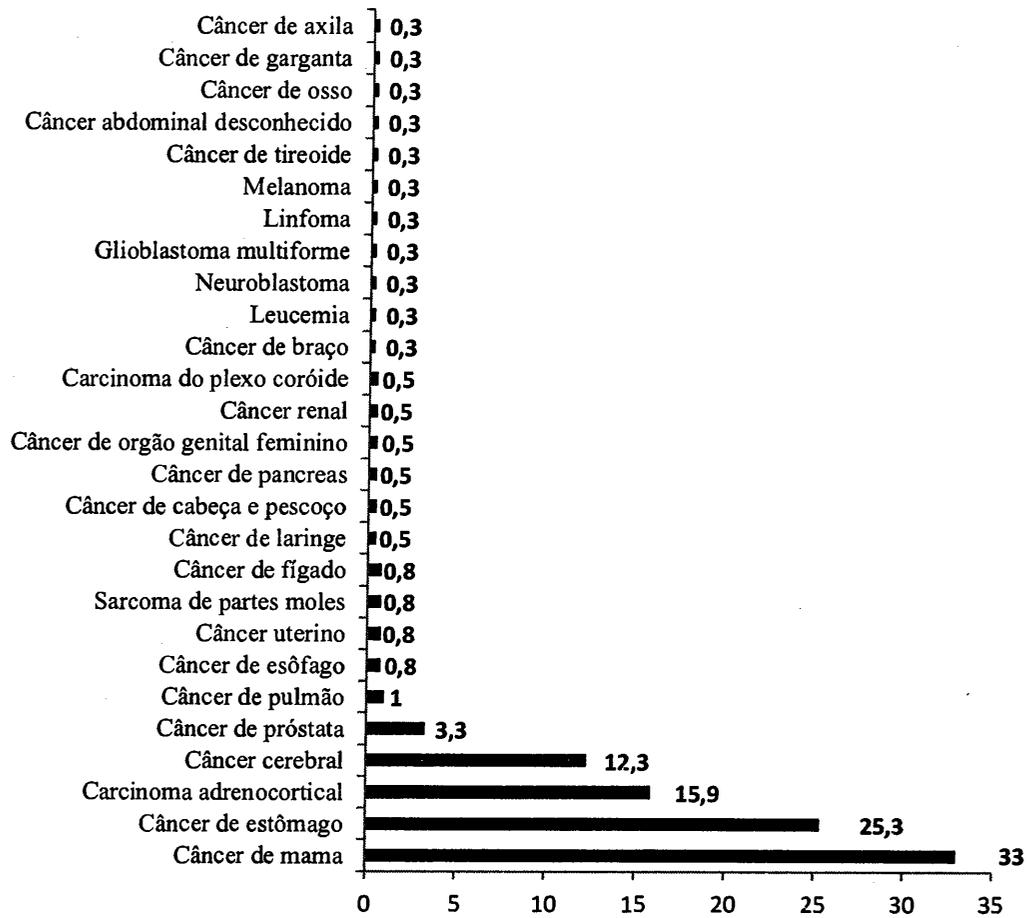


Figura 11 – Tipos de câncer encontrados em familiares de portadores da mutação R337H (%)

Quadro 13 – Frequência da mutação R337H.

Ord	Descrição da População	Freq. Alélica		Freq. Genotípica		
		R	H	RR	RH	HH
1	População total: 927 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 240	0,87 (1.614)	0,13 (240)	0,75 (687)	0,26 (240)	ZERO
2	População total: 118 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 56	0,76 (180)	0,24 (56)	0,53 (62)	0,47 (56)	ZERO
3	População total: 750 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 2	0,99 (1498)	0,01 (2)	0,99 (748)	0,003 (2)	ZERO
4	População total: 346 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 3	0,99 (689)	0,004 (3)	0,99 (343)	0,009 (3)	ZERO
5	População total: 29 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 14	0,76 (44)	0,24 (14)	0,52 (15)	0,48 (14)	ZERO
6	População total: 497 Homozigotos: 5 Heterozigotos: 75	0,91 (909)	0,09 (85)	0,84 (412)	0,15 (75)	0,01 (5)
7	População total: 103 Homozigotos: 1 Heterozigotos: 0	0,99 (204)	0,01 (2)	0,98 (102)	ZERO	0,02 (1)
8	População total: 624 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 2	0,99 (1246)	0,01 (2)	0,99 (622)	0,01 (2)	ZERO
9	População total: 121 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 24	0,9 (218)	0,1 (24)	0,8 (97)	0,2 (24)	ZERO
10	População total: 171.649 Homozigotos: 2 Heterozigotos: 459	0,99 (343.298)	0,01 (463)	0,99 (171.188)	0,002 (459)	0,00001 (2)
11	População total: 148 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 8	0,97 (288)	0,03 (8)	0,95 (140)	0,05 (8)	ZERO
12	População total: 60 Homozigotos: 0 Heterozigotos: 52	0,57 (68)	0,43 (52)	0,13 (8)	0,87 (52)	ZERO
Total	População total: 175.372 Homozigotos: 8 Heterozigotos: 935	(350.256)	(951)	(174.424)	(935)	(8)
Média	População total: 14621,8333 Homozigotos: 0,67 Heterozigotos: 77,916667	0,89	0,11	0,79	0,21	0,001667
Desvio padrão global	Homozigotos: 1,43 Heterozigotos: 131,58	0,13	0,13	0,26	0,26	0,003727

A sensibilidade, especificidade, prevalência, prevalência estimada, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) foram calculados com finalidade de associar a mutação R337H e o valor preditivo diagnóstico. Primeiramente, o cálculo foi baseado do somatório de todos os casos com recém-nascidos inclusos e excluídos, e para testar a confiabilidade das informações as proporções/indicadores foram calculados separadamente para cada grupo de doentes disponibilizados na pesquisa (quadro 16). O grupo de recém nascidos (RNs) foi excluído de alguns cálculos devido o fato dos mesmos não apresentarem idade suficiente para desenvolverem algum tipo de tumor. Os RNs que apresentaram diagnóstico de TCA possuíam idade entre 3 e 112 meses. Com essa exclusão a comparação e a confiabilidade dos dados podem ser determinadas. Os cálculos na íntegra encontram-se no anexo I. A variação dos valores das proporções/indicadores encontrados foi basicamente: sensibilidade entre 0,05405405 e 1, especificidade entre 0,90630473 e 0,99622802, prevalência 0,00001149 e 0,40209424, prevalência estimada 0,00377766 e 0,15378671, VPP entre 0,05045045 e 1, e VPN entre 0,62368183 e 1. Levando em consideração que valores correspondentes a 1, tanto no que se refere a sensibilidade, VPP e VPN foram devido a um número reduzido de casos identificados do tumor em questão, como observamos em SPM, melanoma, câncer de pâncreas, câncer de pele, câncer renal, câncer de tireoide, SSP, em tumores associados (TCA e renal ou tireoide, mama e SPM).

Os números observados de genótipos inclusos na revisão sistemática, assim como as frequências dos genótipos esperados sob o Equilíbrio de Hardy-Weinberg e o número esperado para cada genótipo (multiplicação das frequências genotípicas esperadas pelo total de genótipos observados na amostra) são descritos na tabela 3.

Tabela 3 – Números observados e esperados de genótipos inclusos na revisão sistemática

Genótipos	Números observados	Frequência dos Genótipos esperados	Números esperados para cada genótipo
RR	174.424	0,994	174.314,798
RH	935	0,346	60.676,982
HH	8	0,000009	1.578303
TOTAL	175.367		

Comparando esses números esperados com os números observados de cada genótipo, vemos que existem mais homozigotos RR, heterozigotos RH e homozigotos HH

na população do que o esperado. Um teste do qui-quadrado de verossimilhança é usado para determinar se as diferenças entre os números observados e os esperados de cada genótipo são devidas ao acaso. O quadro 14 expõe o cálculo do teste do qui-quadrado da revisão sistemática.

Quadro 14 – Cálculo do teste do qui-quadrado da revisão sistemática

$$x^2 = \sum \frac{(\text{observado} - \text{esperado})^2}{\text{esperado}} = \frac{(174.424 - 174.314,798)^2}{174.314,798} + \frac{(935 - 60.676,982)^2}{60.676,982} + \frac{(8 - 1.578303)^2}{1.578303}$$

$$x^2 = 0,00125 + (-1,96918) + 8,13747 = 6,16954$$

O valor calculado do x^2 é 6,16954. Para obtermos a probabilidade associada a esse valor de x^2 , determinamos os apropriados graus de liberdade. Os dados disponibilizados no quadro 15 foram usados para identificar os valores críticos da distribuição do x^2 , onde o grau de liberdade encontra-se na coluna da esquerda e as probabilidades são dadas na parte superior do quadro. Os valores teóricos de x^2 aumentam da esquerda para a direita e as probabilidades diminuem da esquerda para a direita (PIERCE, 2011). Nosso valor de x^2 de 6,16954 cai entre o valor 5,5024, associado a uma probabilidade de 0,025, e o valor 6,635, associado à probabilidade de 0,01. A probabilidade associada a nosso valor de x^2 é menor que 0,025 e maior que 0,01. Logo, há uma probabilidade menor que 2,5% de que o desvio que observamos entre o esperado e o obtido de indivíduos com e sem a mutação R337H do gene *TP53* possa ser devido ao acaso.

Quadro 15 – valores críticos da distribuição do χ^2 .

df	P								
	0,995	0,975	0,9	0,5	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005
1	0,000	0,000	0,016	0,455	2,706	3,841	5,024	6,635	7,879
2	0,010	0,051	0,211	1,386	4,605	5,991	7,378	9,210	10,597
3	0,072	0,216	0,584	2,366	6,251	7,815	9,348	11,345	12,838
4	0,207	0,484	1,064	3,357	7,779	9,488	11,143	13,277	14,860
5	0,412	0,831	1,610	4,351	9,236	11,070	12,832	15,086	16,750
6	0,676	1,237	2,204	5,348	10,645	12,592	14,449	16,812	18,548
7	0,989	1,690	2,833	6,346	12,017	14,067	16,013	18,475	20,278
8	1,344	2,180	3,490	7,344	13,362	15,507	17,535	20,090	21,955
9	1,735	2,700	4,168	8,343	14,684	16,919	19,023	21,666	23,589
10	2,156	3,247	4,865	9,342	15,987	18,307	20,483	23,209	25,188
11	2,603	3,816	5,578	10,341	17,275	19,675	21,920	24,725	26,757
12	3,074	4,404	6,304	11,340	18,549	21,026	23,337	26,217	28,300
13	3,565	5,009	7,042	12,340	19,812	22,362	24,736	27,688	29,819
14	4,075	5,629	7,790	13,339	21,064	23,685	26,119	29,141	31,319
15	4,601	6,262	8,547	14,339	22,307	24,996	27,488	30,578	32,801

P = probabilidade; df = graus de liberdade.

Fonte: PIERCE, 2011.

Quatro dos doze estudos associaram a mutação R337H do gene *TP53* com o prognóstico em pacientes portadores da mutação que apresentaram algum tipo de câncer (tabela 4). Um total de 64 indivíduos foram analisados e acompanhados para determinar o desfecho situacional associado ao prognóstico e a mutação R337H. Os indivíduos descritos possuíam idade entre 3 meses a 71 anos, e apresentavam carcinoma do córtex adrenal (3/64), tumor do córtex adrenal (52/64) ou carcinoma do plexo coroide (9/64). O desfecho observado correlacionado ao prognóstico em indivíduos homocigotos para a mutação foi pior do que os observados em indivíduos heterocigotos. Um número significativo de pacientes com genótipo homocigoto mutante apresentou recidiva, doença progressiva, câncer secundário e posteriormente óbito. Enquanto pacientes com genótipo heterocigoto mutante apresentaram melhor resposta ao tratamento e sobrevida maior.

Quadro 16 - Cálculo das proporções/indicadores utilizados na revisão sistemática.

Descrição da população	Sens	Esp	Prev	Prev Est	VPP	VPN
Todos os casos	0,18684896	0,99622802	0,00875463	0,00537475	0,30434783	0,99284269
Todos os casos (sem recém-nascidos)	0,18684896	0,90630473	0,40209424	0,13115183	0,57285429	0,62368183
Tumor do córtex adrenal	0,60526316	0,99622802	0,00174494	0,00482155	0,60526316	0,99930787
Tumor do córtex adrenal (sem recém-nascidos)	0,60526316	0,90630473	0,11746522	0,15378671	0,60526316	0,94520548
Câncer de mama	0,05045045	0,99622802	0,00318108	0,00392047	0,05045045	0,99696752
Câncer de mama (sem recém-nascidos)	0,05045045	0,90630473	0,19549137	0,08524128	0,05045045	0,79707355
Carcinoma do plexo coroide	0,65714286	0,99622802	0,00020121	0,00390344	0,65714286	0,99993074
Carcinoma do plexo coroide (sem recém-nascidos)	0,65714286	0,90630473	0,01509271	0,10219922	0,65714286	0,99423631
Osteosarcoma	0,07317073	0,99622802	0,00023569	0,00378834	0,07317073	0,99978072
Osteosarcoma (sem recém-nascidos)	0,07317073	0,90630473	0,01763441	0,09333333	0,07317073	0,98197343
SPM, melanoma, câncer de pâncreas, câncer de pele, SSP, e tumores associados: TCA e renal ou tireoide, mama e SPM	1	0,99622802	0,00377197	0,00377771	1	1
SPM, melanoma, câncer de pâncreas, câncer de pele, SSP, e tumores associados: TCA e renal ou tireoide, mama e SPM (sem recém-nascidos)	1	0,90630473	0,00043764	0,0940919	1	1
Tumor <i>phylloides</i> de mama	0,05405405	0,99622802	0,00085027	0,00381473	0,05405405	0,99919261
Tumor <i>phylloides</i> de mama (sem recém-nascidos)	0,05405405	0,90630473	0,06085526	0,09128289	0,05405405	0,93665158
Sarcoma de partes moles	0,6	0,99622802	0,00380626	0,00380626	0,6	0,99997691
Sarcoma de partes moles (sem recém-nascidos)	0,6	0,90630473	0,0043592	0,09590235	0,6	0,99807136
Tumor do SNC não CPC	0,23684211	0,99622802	0,00021845	0,00382289	0,23684211	0,99983265
Tumor do SNC não CPC (sem recém-nascidos)	0,23684211	0,90630473	0,0163652	0,0960379	0,23684211	0,9861839
Câncer renal	1	0,99622802	0,00380061	0,00380062	1	1
Câncer renal (sem recém-nascidos)	1	0,90630473	0,00218436	0,09567497	1	1
Câncer de estômago	0,625	0,99622802	0,00380055	0,00380055	0,625	0,99998269
Câncer de estômago (sem recém-nascidos)	0,625	0,90630473	0,0034904	0,09554974	0,625	0,99855282
Câncer de pulmão	0,28571429	0,99622802	0,00378332	0,00378333	0,28571429	0,99997114
Câncer de pulmão (sem recém-nascidos)	0,28571429	0,90630473	0,00305543	0,09428197	0,28571429	0,99759036
Câncer de próstata	0,75	0,99622802	0,03789142	0,00378914	0,75	0,99999423
Câncer de próstata (sem recém-nascidos)	0,75	0,90630473	0,00174825	0,09484266	0,75	0,99951714
Câncer de esôfago	0,33333333	0,99622802	0,00001724	0,00377766	0,33333333	0,99998846
Câncer de esôfago (sem recém-nascidos)	0,33333333	0,90630473	0,00131176	0,09400962	0,33333333	0,99903475

Continua...

... Continuação

Câncer de tireoide	1	0,99622802	0,00001149	0,00378344	1	1
Câncer de tireoide (sem recém-nascidos)	1	0,90630473	0,00087489	0,09448819	1	1
Câncer de órgão genital feminino	0,66666667	0,99622802	0,00001724	0,00378341	0,66666667	0,99999423
Câncer de órgão genital feminino (sem recém-nascidos)	0,66666667	0,90630473	0,00131176	0,09444687	0,66666667	0,99951714

SENS = sensibilidade, ESP = especificidade, PREV = prevalência, PREV EST = prevalência estimada, VPP = valor preditivo positivo, VPN = valor preditivo negativo, SPM = sarcoma de partes moles, SSP = sarcoma sinovial de perna, TCA = tumor do córtex adrenal, CPC = carcinoma do plexo coroide, SNC = sistema nervoso central.

Tabela 4 - Associação da mutação R337H com o prognóstico em pacientes portadores da mutação que apresentaram algum tipo de câncer.

Referência do estudo	Idade	Tipo de tumor	Desfecho
Custódio <i>et al.</i>	112 meses (HH)	CCA	Acompanhado por 24 meses. Recidiva com 11 meses após diagnóstico.
	42 meses (HH)	CCA	Acompanhado por 24 meses. Morte resultante de intoxicação 12 meses após diagnóstico.
Borges <i>et al.</i>	-	TCA	Acompanhamento de 52 indivíduos de 8 a 168 meses (mediana: 68.3). Cinco anos de sobrevida livre de eventos (68.0 ± 6.9). Cinco anos de sobrevida global (78.1 ± 6.1). Sobrevivência de 10 anos após o diagnóstico primário.
Herrmann <i>et al.</i>	71 anos	CCA	Desenvolvimento de câncer secundário de cólon e próstata.
Seidinger <i>et al.</i>	13 meses (HH)	CPC	Morte, doença progressiva
	27 meses (HH)	CPC	Morte, doença progressiva
	5 meses (HH)	CPC	Morte, doença não relatada
	9 meses (RH)	CPC	Morte durante cirurgia
	8 meses (RH)	CPC	3 meses de sobrevivência, livre da doença
	17 meses (RH)	CPC	Vivo, recidiva
	36 meses (RH)	CPC	Vivo, recebendo quimioterapia
	8 meses (RH)	CPC	Vivo, recebendo quimioterapia
	3 meses (HH)	CPC	Morte, doença progressiva

CCA = carcinoma do córtex adrenal, TCA = tumor do córtex adrenal, CPC = carcinoma do plexo coroide, HH = genótipo homozigoto mutante, RH = genótipo heterozigoto mutante.

7 DISCUSSÃO

A mutação R337H foi encontrada inicialmente em crianças portadoras de Carcinoma Adrenocortical sem histórico familiar de câncer no Estado do Paraná (RIBEIRO *et al.*, 2001). No mesmo ano, a mutação R337H foi detectada no Estado de São Paulo em indivíduos adultos e crianças portadores de tumor do córtex adrenal sem histórico familiar de câncer (LATRONICO, 2001). Desde então, pesquisas têm sido desenvolvidas com a finalidade de compreender a causa da incidência elevada da mutação nas regiões Sul e Sudeste brasileiras, e outras possíveis regiões que a mutação R337H esteja presente. Estudo desenvolvido na Região Nordeste com dez crianças portadoras de Tumor do Córtex Adrenal, demonstrou que nenhuma delas era portadora da mutação R337H do gene *TP53* (PEREIRA, 2006). A grande diferença entre a população da região sul e da nordeste pode explicar tal situação, uma vez que a primeira apresenta uma origem predominantemente branca e europeia bem diversificada, enquanto no nordeste predomina uma mistura de descendentes portugueses e africanos (PIOVEZAN, 2006).

A mutação R337H do gene *TP53* foi associada com carcinoma do plexus coróide e osteosarcoma em crianças da região Sudeste brasileira. Vinte e duas das 77 crianças com a mutação eram residentes do Estado de Minas Gerais, o que sugere que a mutação R337H não concentra-se apenas nos Estados de São Paulo e Paraná mas, também, na porção sul do Estado de Minas Gerais (SEIDINGER, 2011). Acredita-se que com o crescente processo de imigração a mutação R337H do gene *TP53* tenha sido introduzida em outras regiões brasileiras. Necessita-se de fato que pesquisas em diferentes regiões brasileiras para a mutação R337H sejam desenvolvidas com finalidade de esclarecer a real situação da mutação em nosso país.

Estimativa inicial para a prevalência da mutação R337H do gene *TP53* (1:1500 RNs vivos) no Paraná foi realizada baseando-se em um estudo limitado em 30 famílias que possuíam 41 crianças portadoras de TCA (FIGUEIREDO *et al.*, 2006). Entretanto, em 65% da população do Paraná, a prevalência foi 3 vezes superior, ou seja, 2,12/1000 (PIOVEZAN, 2006). Ao compararmos os dados encontrados nos dois estudos, pode-se considerar que a prevalência encontrada no último estudo é mais correta devido o fato de

ter sido obtida utilizando-se um número estatisticamente aceitável de crianças para o cálculo e análise da prevalência.

Existem poucos relatos da mutação R337H fora do Brasil. Inicialmente a única portadora da mutação R337H foi identificada fora do país, na França. A paciente era uma criança brasileira de oito anos, com tumor do córtex adrenal (BOUGEARD *et al.*, 2001). Foi realizada também uma busca ativa nos três principais centros portugueses de Oncogenética, onde nenhum caso era portador da mutação R337H (ACHATZ, 2008). Mais recentemente, um estudo desenvolvido na Alemanha identificou um indivíduo com diagnóstico de Carcinoma do Córtex Adrenal portador da mutação R337H. O paciente também teve diagnóstico de câncer de próstata e cólon, e apresentava histórico familiar de câncer. O pai do paciente foi diagnosticado com câncer de próstata e a filha com câncer de mama. A análise de SNP179 no paciente alemão revelou um haplótipo distinto do descrito no Brasil, indicando ocorrência independente da mutação germinativa (HERRMANN *et al.*, 2012). Embora a mutação R337H parece ser exclusivamente encontrada no Brasil, é provável que ela e outras mutações no gene *TP53* de baixa penetrância desempenhem um papel muito mais amplo no câncer humano (SEIDINGER *et al.*, 2011).

Um número significativo de estudos inclusos na revisão sistemática descreveu diretamente o histórico familiar de câncer dos indivíduos portadores da mutação R337H do gene *TP53*. Por tanto, alguns tipos de tumores encontrados nos familiares não podem ser diretamente associado a mutação R337H uma vez que podem estar associados com fatores externos, como o câncer de pulmão que pode estar diretamente associado ao tabagismo.

Para associar a mutação R337H com o valor preditivo diagnóstico, foram utilizadas proporções/indicadores para tal finalidade. Observou-se variação nos VPP e VPN quando analisados separadamente para cada tipo de câncer incluído no estudo, com análise de quantitativo incluindo ou não recém-nascidos. Onde foram observados maiores números de prevalência da doença consequentemente obtivemos um resultado aumentado relacionado ao VPP e diminuição do VPN. O valor preditivo é influenciado pela sensibilidade e especificidade do teste, e condicionado pela prevalência da doença na população em que o teste está sendo aplicado. Enquanto a sensibilidade e especificidade de um teste são propriedades inerentes ao teste e não variam a não ser por erro técnico (SESAU, 2014). Ao contrário aos valores preditivos, a sensibilidade e a especificidade não dependem da prevalência da doença (MENEZES; SANTOS, 1999). O VPP aumenta com a prevalência enquanto os VPN diminuem. Assim, quando a doença é rara o VPP é baixo, pois a maior

parte dos exames positivos pertencem a indivíduos considerados sadios, representando resultados falso-positivos. Quanto maior a especificidade do teste, maior será seu valor preditivo positivo, ou seja, maior a segurança de que um paciente com resultado positivo seja de fato doente (SESAU, 2014). Um valor preditivo alto significa alta probabilidade de acerto (VIEIRA, 2003). Como o valor preditivo é influenciado pela prevalência, seu valor depende do contexto em que é aplicado o teste (SESAU, 2014). Por outro lado, o VPN é alto em baixas prevalências. Os resultados falso-positivos e falso-negativos podem ser minimizados utilizando-se a combinação de testes, em paralelo (dois ou mais testes realizados simultaneamente) ou em série (dois ou mais testes realizados em sequência), para a definição de resultado positivo. Se a intenção é reduzir resultados falso positivos (e aumentar a especificidade), um diagnóstico positivo deverá ser confirmado somente quando pelo menos dois testes diferentes forem positivos. Por outro lado, para reduzir resultados falso negativos (e aumentar a sensibilidade), um único teste positivo seria suficiente para considerar um diagnóstico positivo (IPTSP, 2014). A interpretação de um teste diagnóstico negativo ou positivo pode variar de um local para outro, de acordo com a prevalência estimada da doença local (SESAU, 2014).

Há um certo número de estudos demonstrando que o tipo e posição de uma mutação no domínio de ligação ao DNA do gene *TP53* em câncer tem valor prognóstico (LANE; LEVINE, 2010). É provável que outros fatores genéticos, ainda não identificados podem atuar como modificadores de penetrância e fenótipo (PALMERO *et al.*, 2008), e estar diretamente associado ao prognóstico dos portadores da mutação.

O diagnóstico tardio da doença pode ser um fator agravante para o mal prognóstico dos indivíduos portadores da mutação R337H. Os resultados do estudo desenvolvido por Custódio *et al.* em 2013, sugerem que 90% a 95% das crianças com TCA seriam curadas sem morbidade, como resultado de rastreamento de recém-nascidos e parentes, seguido de vigilância. O tumor do córtex adrenal associado com homozigotos R337H, outras mutações raras no gene *TP53*, ou tipo selvagem *TP53* pode ter uma história natural diferente, mas seria responsável por alguns casos de pacientes. Sem rastreamento e vigilância, apenas 50% das crianças com TCA podem sobreviver, e muitas necessitam de quimioterapia intensiva tóxica. O custo total de triagem e vigilância totalmente implementada é de cerca de US\$1.000,000 e seis vidas seriam salvas (40% de 15 casos de pacientes), a um custo de US\$166.000 por vida salva.

Outros tipos de tumores, além de carcinoma adrenocortical, ocorrem com alta frequência em portadores da mutação R337H, tais como: carcinoma do plexo coroide, cânceres gástricos, colônico e de tireóide, osteosarcoma, câncer de mama, entre outros (ASSUMPCÃO *et al.*, 2008; CUSTÓDIO *et al.*, 2011; GOMES *et al.*, 2012; LATRONICO *et al.*, 2001; SEIDINGER *et al.*, 2011). Portanto, não se pode restringir a ação deletéria da mutação R337H à apenas uma faixa etária, pois os tumores associados com a mutação tem acometido indivíduos em estágios de vida distintos, desde a infância até a fase adulta.

Dentre os indivíduos com a mutação R337H inclusos no estudo, grande parte possuía tumor do córtex adrenal (TCA), fato este que conduz a associação direta da mutação com esse tipo de tumor. Existem fortes evidências de que a mutação está relacionada ao processo de tumorigênese do córtex adrenal, podendo considerar que: 1) esta mutação não é uma variante frequente na população brasileira; 2) apresenta perda da heterozigose, com retenção do alelo mutado nas células tumorais; e 3) possui aumento da expressão da proteína p53 mutada nos TCAs (PEREIRA, 2006).

Em um estudo de caso-controle envolvendo 123 mulheres com câncer de mama na região sudeste do Brasil, foram identificadas três portadoras da mutação R337H, duas destas apresentando histórico familiar de LFL (ASSUMPCÃO *et al.*, 2008). Estes resultados corroboraram os achados de Achatz *et al.* (2007), que identificaram a mutação germinativa R337H em indivíduos com diferentes tumores, inclusive câncer de mama, sendo demonstrada perda de heterozigose para a mutação em amostra de câncer de mama de uma portadora (ACHATZ *et al.*, 2007). Adicionalmente, verificou-se a prevalência da mutação em um grupo de 750 mulheres consideradas saudáveis participantes de um programa de rastreamento mamográfico no Rio Grande do Sul. A mutação foi detectada em dois indivíduos portadores assintomáticos cujas histórias familiares não preenchem critérios de SLF/LFL (PALMERO, 2008). Apesar do pequeno tamanho amostral, a proporção de portadores (~0,3%), era a mesma daquela observada em recém-nascidos participantes do programa de triagem neonatal do Estado do Paraná (PALMERO *et al.*, 2008; PIOVEZAN, 2006). A carga genética é mais frequentemente armazenada em heterozigose, portanto, uma forma de reprodução não aleatória (endogamia), ou seja, reprodução preferencial entre indivíduos aparentados pode afetar todos os genes, não apenas os que determinam a característica para a qual existe a preferencia reprodutiva. Mais especificamente, esse tipo de reprodução lida com um aumento na proporção de

homozigotos recessivos em uma população (PIERCE, 2011). Esse tipo de cruzamento entre parentes possui algumas vantagens e desvantagens. Como desvantagem, tem-se uma maior possibilidade de se observar doenças de caráter recessivo. Por outro lado, uma vantagem refere-se à questão de adaptação do indivíduo a um determinado meio (REIS, 2008). No entanto, do ponto de vista clínico, a detecção da mutação R337H em heterozigose em indivíduos de famílias com uma ampla gama de tumores hereditários, compatível com as definições SLF/LFL, indica que esta mutação tem o potencial de predispor a tumores em diversos tecidos, diferente de uma predisposição tecido-específica para carcinoma adrenocortical como sugerido inicialmente (ACHATZ *et al.*, 2007; HAINAUT, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2001).

Portadores da mutação R337H foram identificados em diferentes grupos: mulheres com câncer de mama sem história de SLF/LFL com menos de 45 anos e com mais de 45 anos; mulheres com câncer de mama não selecionadas para história familiar de câncer de menos de 45 anos ou mais de 55 anos; mulheres com tumores *phylloides* da mama; crianças com carcinoma adrenocortical e de plexo coroide, concluindo novamente que a mutação está presente em pacientes com e sem história de SLF/LFL (PASKLIN, 2013). Neste estudo, foi também identificado um indivíduo potencialmente homozigoto para a mutação R337H (genótipo HH) cujos pais foram caracterizados como heterozigotos. Embora o genótipo fosse aparentemente homozigoto mutante, os autores não descartaram a possibilidade de uma região com perda de heterozigose por dissomia uniparental em 17p13.1 (GIACOMAZZI *et al.*, 2013).

Em busca de um melhor entendimento do processo carcinogênico associado a mutações germinativas de *TP53* e possíveis marcadores moleculares relacionados especificamente ao CAC infantil, foram avaliados 25 pacientes com CAC (13 deles portadores da mutação R337H do gene *TP53*) e identificaram alterações recorrentes em 4q34, 9q33 e 19p além de perda de heterozigose nas regiões 17p13 e 11p15 e concluíram que outras vias celulares, além da via de *TP53*, também contribuem para o desenvolvimento de CAC infantil (LETOUZE *et al.*, 2012). Em pacientes com SLF/LFL, foi demonstrado uma grande variação de números de cópias (CNVs) em portadores de mutações somáticas localizadas na região gênica correspondente ao domínio de ligação ao DNA (DBD) (n = 9) quando comparados aos portadores da mutação R337H (n = 12) e também quando comparados a sujeitos controles. Os autores concluíram que o reduzido número de raras CNVs em portadoras da mutação R337H pode ter contribuído para a

manutenção da mutação na população, acarretando em sua elevada frequência, sendo hoje 300 vezes maior do que mutações somáticas localizadas no DBD do gene *TP53* (SILVA *et al.*, 2012).

Há controvérsias sobre a hipótese da mutação R337H do gene *TP53* estar diretamente associada com o efeito fundador. Um estudo conduzido por Ribeiro *et al.* em 2001, descartou a possibilidade de haver um único fundador da mutação R337H, pois quatro marcadores polimórficos foram caracterizados em 17 pacientes não relacionados e 10 familiares. Foram identificados diferentes alelos do gene *TP53* e seus marcadores circundantes em vários pacientes. Os haplótipos dos pacientes se diferem do *locus* p53 de ambos os cromossomos. Eliminando, assim, a possibilidade de um único criador. Porém, esse estudo possuía limitações, uma vez que não havia informações suficientes do histórico familiar dos indivíduos inclusos na pesquisa e possuía pouca informação direcionadas as variações genômicas.

Dois marcadores polimórficos intragênicos (VNTRp53 e p53CA) em 22 pacientes com tumor adrenocorticais portadores da mutação R337H, o que demonstrou uma forte evidência de co-segregação entre dois marcadores polimórficos intragênicos do p53 e a mutação germinativa R337H, indicando que esta mutação teve origem num ancestral comum na maioria dos pacientes brasileiros com tumores adrenocorticais, sugerindo que a ocorrência do efeito fundador é estatisticamente provável (PINTO *et al.*, 2004). A genotipagem de três polimorfismos comuns no intron 2 (PIN2, rs1642785), intron 3 (PIN 3) e exon 4 (PEX4, rs1042522) que indicou que indivíduos com R337H compartilham um conjunto comum de polimorfismos, compatível com a hipótese de que o mesmo haplótipo mutante está presente em todas as portadoras de R337H inclusas no estudo (PALMERO, 2008). Após análise de heredogramas de famílias no estado do Paraná, foi sugerido que o alelo *TP53* R337H tinha surgido há, pelo menos, 110 anos. Levando em consideração os dias atuais, pode-se afirmar que a mutação surgiu há aproximadamente 118 anos (FIGUEIREDO *et al.*, 2006).

A frequência alélica de R337H na população do sul do Brasil é maior do que qualquer outra mutação no gene *TP53* associada a Síndrome de Li-Fraumeni (SLF) (BERTOLONHA, 2012), o que faz com que essa mutação seja considerada como um grave problema de saúde pública nessa população.

Diante da incidência elevada, da baixa sobrevida para o tumor do córtex adrenal e dos resultados preliminares da campanha de triagem neonatal financiada pela SETI, se fez necessária obrigatoriedade do teste e a gratuidade a toda a população a fim de salvar inúmeras vidas, além de prevenir gastos públicos muito maiores com o tratamento quando a criança apresenta um tumor já em estágio avançado. Criou-se então o Projeto de Lei nº 268/2008, tornando obrigatória a realização no Estado do Paraná do exame de DNA para detecção da mutação R337H do gene *TP53* em todos recém-nascidos no estado.

Até o momento, diferentes estudos demonstraram em diferentes coortes que a mutação germinativa R337H do gene *TP53* ocorre em indivíduos com vários tipos de câncer (câncer de mama, ACC, *phylloides* e plexo coroide, entre outros), porém, nenhum estudo utilizou plataformas de análise genômica na linhagem constitutiva tanto em pacientes com carcinoma adrenocortical como com câncer de mama para identificação de alterações genéticas associadas à mutação R337H. Portadores da mutação R337H apresentaram diferentes desfechos (câncer na infância, câncer na vida adulta, um ou múltiplos tumores, nenhum tumor), sendo desta forma, um grande desafio clínico realizar uma previsão do fenótipo de portadores da mutação R337H. Portanto, acredita-se que outros fatores genéticos ainda não identificados possam agir como modificadores da penetrância e do fenótipo associados com R337H tanto em carcinoma adrenocortical como em câncer de mama, e uma análise genômica poderia servir como ferramenta inicial de rastreamento para posterior investigação de alterações potencialmente relacionadas e modificadoras do fenótipo de câncer (PASKLIN, 2013).

8 CONCLUSÕES

As seguintes conclusões do estudo foram obtidas a partir da análise dos resultados coletados:

- A frequência da mutação R337H do gene *TP53* no Brasil é mais elevada nas regiões Sul e Sudeste. Não havendo relatos de sua existência em outras regiões brasileiras.
- A frequência da mutação R337H do gene *TP53* no mundo é menor do que a encontrada no Brasil.
- A mutação R337H do gene *TP53* está associada com o histórico familiar de câncer dos pacientes com a mutação.
- A mutação R337H do gene *TP53* foi associada ao aumento do valor preditivo positivo e à diminuição do valor preditivo negativo no diagnóstico.
- A mutação R337H do gene *TP53* está associada com o mal prognóstico em pacientes portadores da mutação homocigotos que apresentam algum tipo de câncer.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Contradizendo alguns estudos anteriormente publicados, os estudos inclusos na presente revisão sistemática corroboram que há relação entre o genótipo da mutação R337H com o prognóstico da população estudada. Essa afirmação justifica-se pois os indivíduos homozigotos para a mutação apresentaram pior prognóstico que os heterozigotos, onde grande parte dos homozigotos possuía doença progressiva e evoluíram gradativamente para o óbito. Já os heterozigotos possuíam maior sobrevida, porém apresentaram recidiva ou algum tipo de tumor secundário. Alguns dos indivíduos acompanhados ainda encontravam-se em fase de tratamento, o que impossibilitou o relato de resultado ou consequências decorrentes da doença. Por tanto, o fenótipo clínico e o impacto do prognóstico dependem largamente da mutação e possivelmente de potenciais confundidores (HERRMANN *et al.*, 2012).

Considerada a relevância da mutação R337H no contexto epidemiológico do câncer no Brasil, há muito o que se pesquisar sobre a associação dessa mutação com tipos tumorais específicos. O rastreamento da mutação em populações distintas das encontradas nas regiões sul e sudeste permite a implantação de políticas e protocolos clínicos direcionados aos portadores da mutação.

A identificação de indivíduos em situação de risco é fundamental para direcionar condutas direcionadas ao diagnóstico precoce do câncer e, conseqüentemente, para aumento no êxito nos tratamentos. A alta incidência da mutação R337H e sua associação com determinados tipos de tumores justificam a investigação dessa mutação como marcador biológico para potencial estratificação de risco, desenvolvimento do tumor e prognóstico.

Os resultados encontrados contribuem para fins práticos, visando à solução mais ou menos imediata do problema encontrado na realidade (BARROS *et al.*, 2007). Após análise da força das evidências dos artigos inclusos, a revisão sistemática foi classificada como nível de evidência V, por utilizar opiniões de autoridades respeitadas, baseadas em evidência clínica, estudos descritivos ou relatórios de comitês de especialistas, de acordo com a força das evidências dos artigos inclusos.

A mutação R337H do gene *TP53* apresenta valor preditivo significativo quando correlacionada com potenciais marcadores clínicos, tanto no diagnóstico quanto no prognóstico. Dados esses que podem contribuir de forma positiva para o manejo clínico de indivíduos portadores da mutação, uma vez que a mutação R337H do gene *TP53* é considerada um problema de saúde pública atual.

Portanto, é essencial concentrar esforços para a avaliação do risco de câncer associado com a mutação R337H do gene *TP53*, e na possível identificação de modificadores que possam ajudar a prever melhor os indivíduos portadores da mutação R337H que encontram-se em maior risco.

REFERÊNCIAS

ACHATZ, M. I. A. S. W.; HAINAUT, P.; ASHTON-PROLLA, P. Highly prevalent *TP53* mutation predisposing to many cancers in the Brazilian population: a case for newborn screening? **The Lancet Journals**, v. 10, p. 920-925, 2009.

ACHATZ, M. I. A. S. W. **Modificadores de penetrância de mutações germinativas no gene *TP53* em famílias brasileiras com diagnóstico clínico da síndrome de Li-Fraumeni e Li-Fraumeni-like: impacto dos polimorfismos intragênicos do *TP53* e de genes que regulam a atividade da p53.** 2008. 228 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

ACHATZ, M. I. W. *et al.* The *TP53* mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families. **Cancer Letters**, v. 245, p. 96-102, 2007.

ASSUMPÇÃO, J. G. *et al.* Association of the germline *TP53* R337H Mutation with breast cancer in Southern Brazil. **BioMed Central**, v. 8, n. 357, p. 1-6, 2008.

ATALLAH, A. N.; CASTRO, A. A. Revisão Sistemática da Literatura: a melhor forma de evidência para tomada de decisão em saúde e a maneira mais rápida de atualização terapêutica. **Diagnóstico & tratamento**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 12- 15, 1997.

AZEVEDO, R. S. **Sobrecarga do cuidador informal da pessoa idosa frágil: uma revisão sistemática.** 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

BARRA, P. S. C. *et al.* **Pesquisa na Literatura Científica usando Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) versus Palavra-Chave no Google, Scholar Google e SciELO. Sociedade Brasileira de Informática em Saúde (Sbis).** Disponível em: <<http://www.sbis.org.br>>. Acesso em 19 set 2013.

BARROS, A. J. S.; LEHFELD, N. A. S. **Fundamentos de metodologia científica.** 3 ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2007.

BELYI, V. A. *et al.* The origins and evolution of the p53 family of genes. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. a001198, p. 1-17, 2010.

BERTONHA, F. B. **Caracterização da região 22q13.31 e sua associação com genes supressores de tumor em carcinomas de cabeça e pescoço.** 264 f. Tese (Doutorado em

Ciências) Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia, Fundação Antônio Prudente. São Paulo, 2012.

BIREME. Biblioteca Regional de Medicina. História da BIREME. Disponível em: <<http://www.bireme.br/local/Site/bireme/P/historia.htm>>. Acesso em: 25 mai 2014.

BOUGEARD, G. et al. Detection of 11 germline inactivating TP53 mutations and absence of TP63 and HCHK2 mutations in 17 French families with Li-Fraumeni or Li-Fraumeni-like syndrome. *Journal of Medical Genetics*, v. 38, p. 253-256, 2001.

BRASIL, Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Rede Nacional de Câncer Familiar: manual operacional/ Instituto Nacional de Câncer – Rio de Janeiro: INCA, 2009. 229 p.**

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria-Executiva. **Guia sobre as Tecnologias do Modelo Biblioteca Virtual em Saúde.** Brasília: SE, 2009, 76p.

CASE, D. A.; CHEATHAN, T. E.; DARDEN, T.; GOHLKE H.; LUO, R.; MERZ, K. M.; ONUFRIEV, A.; SIMMERLING, C.; WANG, B.; WOODS, R. J. The amber biomolecular simulation program. *Journal of Computational Chemistry*, v. 26, n. 16, p. 1668–1688, 2005.

CASTRO, A. A. **Revisão Sistemática e Meta-análise.** Metodologia. Disponível em: <www.metodologia.org>. Acesso em 19 set 2013.

COCHRANE. **Curso de revisão sistemática e metanálise.** Centro Cochrane do Brasil. Disponível em: <<http://www.centrocochranedobrasil.org.br/cms/>>. Acesso em: 18 set 2013.

CHOMPRET, A. P53 germline mutations in childhood cancers and cancer risk for carrier individuals. *British Journal of Cancer*, v. 82, n. 12, p. 1932–1937, 2000.

CONFORTO, E. C.; AMARAL, D. C.; SILVA, S. L. Roteiro para revisão bibliográfica sistemática: aplicação no desenvolvimento de produtos e gerenciamento de projetos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO DE DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO – CBGDP, n. 8, 2011, Porto Alegre. **8 Congresso Brasileiro de Gestão de desenvolvimento de produto.** Porto Alegre: CBGDP, 2011. 12p.

CRUZ, D. A. L. M.; PIMENTA, C. A. M. Prática Baseada em Evidências, Aplicada ao Raciocínio Diagnóstico. *Revista Latino-americana de Enfermagem*, v. 13, n. 3, p. 415-422, mai/jun 2005.

- CUSTÓDIO, G. *et al.* Impact of Neonatal Screening and Surveillance for the *TP53* R337H Mutation on Early Detection of Childhood Adrenocortical Tumors. **Journal of Clinical Oncology**, v. 31, n. 20, p. 2619-2626, jul. 2013.
- CUSTÓDIO, G. *et al.* Increased incidence of Choroid Plexus Carcinoma Due to the Germline *TP53* R337H Mutation in Southern Brazil. **Plos One**, v. 6, n. 3, p. 1-7, 2011.
- DIGIAMMARINO, E. L. *et al.* A novel mechanism of tumorigenesis involving pH-dependent destabilization of a mutante p53 tetramer. **Nature Structural Biology**, v. 9, n. 1, p. 12-16, 2002.
- ELANDT-JOHNSON, R. C. definition of rates: Some remarks on their use and misuse. **American Journal of Epidemiology**, v. 102, n. 4, p. 267-271, 1975.
- FIGUEIREDO, B. C. *et al.* Penetrance of adrenocortical tumours associated with the germline *TP53* R337H mutation. **Journal of Medical Genetics**, v. 43, p. 91-96, 2006.
- GALVÃO, C. M.; SAWADA, N. O.; TREVIZAN, M. A. Revisão sistemática: recurso que proporciona a incorporação das evidências na prática da enfermagem. **Revista Latino-americana de Enfermagem**, v. 12, n. 3, p. 549-556, 2004.
- GARRITANO, S. *et al.* Detailed Haplotype Analyses at the *TP53* Locus in p.R337H Mutation Carriers in the Population of Southern Brazil: Evidence for a Founder Effect. **Human Mutation**, v. 31, n. 2, p. 143-150, 2010.
- GIACOMAZZI, J. *et al.* A *TP53* founder mutation, p. R337H, is associated with *phylloides* breast tumors in Brazil. **Virchows Arch (The European Journal of Pathology)**, v. 463, p. 17-22, 2013.
- GIACOMAZZI, J. *et al.* *TP53* p.R337H is a conditional cancer-predisposing mutation: further evidence from a homozygous patient. **BMC Cancer**, v. 13, n. 13, p. 1-8, 2013.
- HERRMANN, L. J. M. *et al.* *TP53* Germline Mutation in Adult Patients with Adrenocortical Carcinoma. **Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 97, n. 3, p. E476-E485, 2012.
- HOLLSTEIN, M.; HAINAUT, P. Massively regulated genes: the example of *TP53*. **Journal of Pathology**, v. 220, p.164-173, Nov 2010.
- HU, W. *et al.* Glutaminase 2, a novel p53 target gene regulating energy metabolism and antioxidant function. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 16, p. 7455-7460, abr 2010.

INCA. **Estimativa 2012: incidência de câncer no Brasil** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Coordenação Geral de Ações Estratégicas, Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: Inca, 2011. 118 p.

IPTSP. **Avaliação de testes de diagnósticos**. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UFG. Disponível em: <[http://posstrictosensu.iptsp.ufg.br/uploads/59/original Modulo2-Avaliacaodetestesdiagnosticos.pdf](http://posstrictosensu.iptsp.ufg.br/uploads/59/original_Modulo2-Avaliacaodetestesdiagnosticos.pdf)>. Acesso em: 31 jan. 2014.

KLUMB, C. E.; CAVALCANTI JUNIOR, G. B. Avaliação dos métodos de detecção das alterações do gene e proteína P53 nas neoplasias linfoides. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, n. 2, p. 111-125, 2002.

LANE, D.; LEVINE, A. p53 research: the past thirty years and the next thirty years. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. a000893, p. 1-10, 2010.

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. **Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 86, p. 4970-4973, 2001.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 3 edição. São Paulo: Sarvier, 2002. 975 p.

LETOUZÉ, E. *et al.* SNP Array Profiling of Childhood Adrenocortical Tumors Reveals Distinct Pathways of Tumorigenesis and Highlights Candidate Drive Genes. **Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 97, n. 7, p. E1284-E1293, 2012.

LILACS. **Componentes da metodologia**. LILACS. Disponível em: <<http://lilacs.bvsalud.org/>>. Acesso em: 17 set 2013.

LIMA, J. M. L.; SERAFIM, P. V. P.; SILVA, I. D. C. G.; FORONES, N. M. Estudo do polimorfismo genético no gene p53 (códon 72) em câncer colorretal. **Arquivos de gastroenterologia**, v. 43, n. 1, p. 8-13, 2006.

LINZER, D. I.; LEVINE, A. J. Characterization of the 54k Dalton cellular SV40 tumor antigen present in SV40-transformed cells and uninfected embryonal carcinoma cells. **Cell**, v. 17, p. 43-52, 1979.

LODISH, H.; BERK, A.; SCOTT, M. P.; KAISER, C.; KRIEGER, M.; MATSUDAIRA, P. T. **Biologia Celular e Molecular**. Artmed, 4 edição. Rio de Janeiro: Revinter, 2002. 1084 p.

MACEDO, G. S. *et al.* Increased Oxidative Damage in Carriers of the Germline TP53 p.R337H Mutation. **PLOS ONE**, v. 7, n. 10, p. 1-6, 2012.

MAGNONI, M. S.; FRANCISCO, O. In: Congresso de Iniciação Científica - Faculdades Integradas de Ourinhos, VIII, 2009, Ourinhos/SP. **Expressão da proteína p53 na reparação do DNA correlacionando oncogenes em humanos**. Disponível em http://fio.edu.br/cic/anais/2009_viii_cic/artigos.html>. Acesso em: 21 out 2013.

MARAFON, C. M. Genética do câncer de mama hereditário. **R. Ci. Méd. biol.**, v. 6, n. 1, p. 86-90, jan/abr 2007.

MCLURE, K. G.; LEE, P. W. How p53 binds DNA as a tetramer. **The EMBO Journal**, v. 17, p. 3342-3350, 1998.

MENEZES, A. M. B.; SANTOS, I. S. Curso de epidemiologia básica para pneumologistas: 4ª parte – epidemiologia clínica. **Jornal de Pneumologia**, v. 25, n. 6, p. 321-326, 1999.

MOURA-GALLO, C. V. *et al.* Mutações no gene TP53 em tumores malignos de mama: associação com fatores de risco e características clínico-patológicas, inclusive risco de óbito, em pacientes residentes no Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n 2, p. 167-175, 2004.

MOLL, U. M.; WOLFF, S.; SPEIDEL, D.; DEPERT, W. Transcription-independent proapoptotic functions of p53. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 17, p. 631-636, 2005.

MUÑOZ, S. I. S. *et al.* Revisão sistemática de literatura e metanálise: noções básicas sobre seu desenho, interpretação e aplicação na área da saúde. *Proceedings*. Simpósio Brasileiro de Comunicação em Enfermagem, São Paulo, 2002. Disponível em: http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC000000052002000200010&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 24 set 2013.

OLIVER, M.; HOLLSTEIN, M.; HAINAUT, P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v. 2, p. 01-08, 2010.

OLIVER, M.; EELES, R.; HOLLSTEIN, M.; KHAN, M. A.; HARRIS, C. C.; HAINAUT, P. The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. **Hum mutat**, v. 19, n. 6, p. 607-614, 2002.

OSORIO, P. S. **Análise da mutação p.R337H no gene TP53 em pacientes com câncer de mama da Região Sul do Brazil.** 2011. 34 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2011.

PAGANO, B. *et al.* Structure and stability insights into tumour suppressor p53 evolutionary related proteins. **Plos One**, v. 8, n. 10, p. 1-17, 2013.

PALMERO, E. I. *et al.* Detection of R337H, a germline TP53 mutation predisposing to multiple cancers, in asymptomatic women participating in a breast cancer screening program in Southern Brazil. **Cancer Letters**, n. 261, p. 21-25, 2008.

PASKULIN, D. D. **Alterações moleculares do gene TP53 e de genes que regulam a atividade da p53 na infertilidade e no câncer.** 2013. 178f. Tese (doutorado em ciências). Programa de pós-graduação em genética e biologia molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

PAVLETICH, N. P.; CHAMBERS, K. A.; PABO, C. O. The DNA-binding domain of p53 contains the four conserved regions and the major mutation hot spots. **Genes & Development**, n. 7, p. 2556-2564, 1993.

PEREIRA, A. L.; BACHION, M. M. Atualidades em revisão sistemática de literatura, critérios de força e grau de recomendação de evidência. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, Porto Alegre, v. 27, p.491-498, 2006.

PEREIRA, R. M. **Avaliação clínica e laboratorial de portadores da mutação TP53 R337H, parentes de pacientes portadores da mutação e com tumor do córtex adrenal na infância.** 2006. 56 f. Tese (Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Departamento de Pediatria, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

PETITJEAN, A.; MATHE, E.; KATO, S.; ISHIOKA, C.; TAVTIGIAN, S. V.; HAINAUT, P.; OLIVER, M. Impact of mutant p53 functional properties on TP53 mutation patterns and tumor phenotype: lessons from recent developments in the IARC TP53 database. **Hum mutat**, v. 28, p. 622-629, 2007.

PIANOVSKI, M. A. D. *et al.* Mortality rate of Adrenocortical Tumors in Children under 15 years age in Curitiba, Brazil. **Pediatric Blood Cancer**, v. 47, p. 56-60, 2006.

PIERCE, B. A. **Genética: um enfoque conceitual.** 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

PINTO, E. M. *et al.* Founder Effect for the Highly Prevalent R337H Mutation of Tumor Suppressor p53 in Brazilian Patients with Adrenocortical Tumors. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 48, n. 5, p. 647-650, 2004.

PIOVEZAN, G. C. **Prevalência do alelo TP53 R337H no Estado do Paraná**. 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

POLANIA, D. *et al.* Carcinoma Corticoadrenal: Revisión de tema. **Revista Med**, V. 19, n. 2, p. 207-216, 2011.

REIS, R. L. **Comparação Bayesiana de modelos para o desequilíbrio de Hardy-Weinberg**. 2008. 99f. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação Agropecuária) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

RIBEIRO, R. C. *et al.* An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 16, p. 9330-9335, 2001.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Revista Brasileira de Fisioterapia**, São Carlos, v. 11, n. 1, p. 83-89, 2007.

SESAU. Secretaria de Saúde de Santa Catarina. **Vigilância em Saúde Pública**. Saúde. Disponível em:
<http://www.saude.sc.gov.br/gestores/sala_de_leitura/saude_e_cidadania/ed_07/pdf/09_02.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2014.

SEIDINGER, A. L. *et al.* Association of the Highly Prevalent TP53 R337H Mutation with Pediatric Choroid Plexus Carcinoma and Osteosarcoma in Southeast Brazil. **Cancer**, v. 117, n. 10, p. 2228-2235, 2011.

SCHLERETH, K.; BEINORAVICIUTE-KELLNER, R.; ZEITLINGER, M. K.; BRETZ, A. C.; SAUER, M. DNA binding cooperativity of p53 modulates the decision between cell-cycle arrest and apoptosis. **Mol Cell**, v. 38, p. 356-368, 2010.

SILVA, A. G. *et al.* Number of rare germline CNVs and TP53 mutation types. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 7, n. 101, p. 1-6, 2012.

SILVA, E. M. *et al.* TP53 mutation p.R337H in gastric cancer tissues of a 12-year-old male child – evidence for chimerism involving a common mutante founder haplotype: case report. **BMC Cancer**, v. 11, p. 1-5, 2011.

SILVA, C. Q.; ARMBORST, T. Métodos para medir desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg através de medidas de endocruzamento. **Revista de Matemática e Estatística**, São Paulo, v.24, n.4, p.51-71, 2006.

SOUZA, M. A.; FONSECA, A. M.; BAGNOLI, V. R.; SOARES-JUNIOR, J. M.; BARROS, N.; FRAZOLIN, S. O. B.; BARACAT, E. C. Polimorfismo do gene do receptor estrogênico como fator de risco do câncer de mama. **Femina**, v. 40, n. 4, p. 179-186, 2012.

STELLE, D. Uso de *Data Mining* na descoberta ou identificação de regras de envelhecimento baseado em perfis de hidrofobicidade. Dissertação. Mestrado em Engenharia da informação. Universidade Federal do ABC. Santo André – SP. 2011.

STREHL, L. Impact factor od ISI and evaluation of scientific production: conceptual and methodological aspects. **Ciência da Informação**. v. 34, n. 1, p. 19-27, 2005

THUROW, H. S. et al. Análise do SNP Arg72Pro do gene da p53 e a herança familiar de câncer na coorte de 1982 de Pelotas. XIX CIC, 2010.

VARLEY, J. M.; MCGOWN, G.; THORNCROFT, M. et al. Are there low-penetrance TP53 Alleles? Evidence from childhood adrenocortical tumors. **The American Journal of Human Genetics**, v. 65, n. 4, p. 995-1006, 1999.

VIEIRA, S. **Bioestatística: tópicos avançados**. 5ª reimpressão. Rio de Janeiro: Elsevier, 2003.

WAGNER, M. B. Medindo a ocorrência da doença: prevalência ou incidência? **Jornal de pediatria**, v. 74, p. 157-162, 1998.

WASSERMAN, J. D.; ZAMBETTI, G. P.; MALKIN, D. Towards an understanding of the role of p53 in adrenocortical carcinogenesis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 351, p. 101-110, 2012.

WHINBLEY, C.; PHAROAH, P. D.; HOLLSTEIN, M. p53 polymorphisms: cancer implications. **Nat Rev Cancer**, v. 9, n. 2, p. 95-107, 2009.

WOITECHUMAS, J. B. **Mecanismos moleculares envolvidos na dominância negativa na síndrome de resistência ao hormônio tireoideano: I. genes regulados negativamente pelo receptor de hormônio tireoideano; II. Genes regulados pelos receptores ativados por proliferadores de peroxissoma**. 2010. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, 2010.

XIE, Z.; KLIONSKY, D. Autophagosome formation: core machinery and adaptations. **Nature Cell Biology**, v. 9, n. 10, p. 1102-1109, out 2007.

XU-MONETTE, Z. Y.; MEDEIROS, L. J.; LI, Y.; ORLOWSKY, R. Z.; ANDREEFF, M.; BUESO-RAMOS, C. E.; GREINER, T. G.; MCDONNELL, T. J.; YOUNG, K. H. Dysfunction of the TP53 tumor suppressor gene in lymphoid malignancies. **Blood**, v. 119, n. 16, p. 3668-3683, abr 2012.

ZAMBETTI, G. P. The p53 Mutation "Gradient Effect" and its Clinical Implications. **Journal of Cellular Physiology**, v. 213, n.2, p. 370-373, 2007.

ZHANG, X.; QIN, Z.; WANG, J. The role of p53 in cell metabolism. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 31, p.1208-1212, 2010.

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Somatório de todos os casos com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	287	656	943
Negativo	1249	173258	174507
Total	1536	173914	175450

Sensibilidade	0,18684896
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00875463
Prevalência estimada	0,00537475
VPP	0,30434783
VNP	0,99284269

Somatório de todos os casos sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	287	214	501
Negativo	1249	2070	3319
Total	1536	2284	3820

Sensibilidade	0,18684896
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,40209424
Prevalência estimada	0,13115183
VPP	0,57285429
VNP	0,62368183

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Tumor de córtex adrenal com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Presente	184	656	840
Ausente	120	173258	173378
Total	304	173914	174218

Sensibilidade	0,60526316
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00174494
Prevalência estimada	0,00482155
VPP	0,60526316
VNP	0,99930787

Tumor do córtex adrenal sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	184	214	398
Negativo	120	2070	2190
Total	304	2284	2588

Sensibilidade	0,60526316
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,11746522
Prevalência estimada	0,15378671
VPP	0,60526316
VNP	0,94520548

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Câncer de mama com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	28	656	684
Negativo	527	173258	173785
Total	555	173914	174469

Sensibilidade	0,05045045
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00318108
Prevalência estimada	0,00392047
VPP	0,05045045
VNP	0,99696752

Câncer de mama sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	28	214	242
Negativo	527	2070	2597
Total	555	2284	2839

Sensibilidade	0,05045045
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,19549137
Prevalência estimada	0,08524128
VPP	0,05045045
VNP	0,79707355

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Carcinoma do plexo coróide sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	23	656	679
Negativo	12	173258	173270
Total	35	173914	173949

Sensibilidade	0,65714286
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00020121
Prevalência estimada	0,00390344
VPP	0,65714286
VNP	0,99993074

Carcinoma do plexo coróide sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	23	214	237
Negativo	12	2070	2082
Total	35	2284	2319

Sensibilidade	0,65714286
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,01509271
Prevalência estimada	0,10219922
VPP	0,65714286
VNP	0,99423631

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Osteosarcoma com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	3	656	659
Negativo	38	173258	173296
Total	41	173914	173955

Sensibilidade	0,07317073
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00023569
Prevalência estimada	0,00378834
VPP	0,07317073
VNP	0,99978072

Osteosarcoma sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	3	214	217
Negativo	38	2070	2108
Total	41	2284	2325

Sensibilidade	0,07317073
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,01763441
Prevalência estimada	0,09333333
VPP	0,07317073
VNP	0,98197343

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Sarcoma de partes moles, melanoma, câncer de pâncreas, câncer de pele, sarcoma sinovial de perna, tumor associado: TCA e renal ou tireóide, mama e SPM com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		
	Presente	Ausente	
Positivo	1	656	657
Negativo	0	173258	173258
	1	173914	173915

Sensibilidade	1
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00377197
Prevalência estimada	0,00377771
VPP	1
VNP	1

Sarcoma de partes moles, melanoma, câncer de pâncreas, câncer de pele, sarcoma sinovial de perna, tumor associado: TCA e renal ou tireóide, mama e SPM sem recém-nascidos inclusos.

	Presente	Ausente	
Positivo	1	214	215
Negativo	0	2070	2070
	1	2284	2285

Sensibilidade	1
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,00043764
Prevalência estimada	0,0940919
VPP	1
VNP	1

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Tumor *phyllodes* de mama com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	8	656	664
Negativo	140	173258	173398
Total	148	173914	174062

Sensibilidade	0,05405405
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00085027
Prevalência estimada	0,00381473
VPP	0,05405405
VNP	0,99919261

Tumor *phyllodes* de mama sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	8	214	222
Negativo	140	2070	2210
Total	148	2284	2432

Sensibilidade	0,05405405
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,06085526
Prevalência estimada	0,09128289
VPP	0,05405405
VNP	0,93665158

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Sarcoma de partes moles com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	6	656	662
Negativo	4	173258	173262
Total	10	173914	173924

Sensibilidade	0,6
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00380626
Prevalência estimada	0,00380626
VPP	0,6
VNP	0,99997691

Sarcoma de partes moles sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	6	214	220
Negativo	4	2070	2074
Total	10	2284	2294

Sensibilidade	0,6
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,0043592
Prevalência estimada	0,09590235
VPP	0,6
VNP	0,99807136

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Tumor do Sistema Nervoso Central (Não CPC) com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	9	656	665
Negativo	29	173258	173287
Total	38	173914	173952

Sensibilidade	0,23684211
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00021845
Prevalência estimada	0,00382289
VPP	0,23684211
VNP	0,99983265

Tumor do Sistema Nervoso Central (Não CPC) sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	9	214	223
Negativo	29	2070	2099
Total	38	2284	2322

Sensibilidade	0,23684211
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,0163652
Prevalência estimada	0,0960379
VPP	0,23684211
VNP	0,9861839

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Câncer renal com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	5	656	661
Negativo	0	173258	173258
Total	5	173914	173919

Sensibilidade	1
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00380061
Prevalência estimada	0,00380062
VPP	1
VNP	1

Câncer renal sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	5	214	219
Negativo	0	2070	2070
Total	5	2284	2289

Sensibilidade	1
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,00218436
Prevalência estimada	0,09567497
VPP	1
VNP	1

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Câncer de estômago com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	5	656	661
Negativo	3	173258	173261
Total	8	173914	173922

Sensibilidade	0,625
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00380055
Prevalência estimada	0,00380055
VPP	0,625
VNP	0,99998269

Câncer de estômago sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	5	214	219
Negativo	3	2070	2073
Total	8	2284	2292

Sensibilidade	0,625
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,0034904
Prevalência estimada	0,09554974
VPP	0,625
VNP	0,99855282

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Câncer de pulmão com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	2	656	658
Negativo	5	173258	173263
Total	7	173914	173921

Sensibilidade	0,28571429
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00378332
Prevalência estimada	0,00378333
VPP	0,28571429
VNP	0,99997114

Câncer de pulmão sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	2	214	216
Negativo	5	2070	2075
Total	7	2284	2291

Sensibilidade	0,28571429
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,00305543
Prevalência estimada	0,09428197
VPP	0,28571429
VNP	0,99759036

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Câncer de próstata com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	3	656	659
Negativo	1	173258	173259
Total	4	173914	173918

Sensibilidade	0,75
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,03789142
Prevalência estimada	0,00378914
VPP	0,75
VNP	0,99999423

Câncer de próstata sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	3	214	217
Negativo	1	2070	2071
Total	4	2284	2288

Sensibilidade	0,75
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,00174825
Prevalência estimada	0,09484266
VPP	0,75
VNP	0,99951714

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Câncer de esôfago com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	1	656	657
Negativo	2	173258	173260
Total	3	173914	173917

Sensibilidade	0,33333333
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00001724
Prevalência estimada	0,00377766
VPP	0,33333333
VNP	0,99998846

Câncer de esôfago sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	1	214	215
Negativo	2	2070	2072
Total	3	2284	2287

Sensibilidade	0,33333333
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,00131176
Prevalência estimada	0,09400962
VPP	0,33333333
VNP	0,99903475

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Câncer de tireóide com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	2	656	658
Negativo	0	173258	173258
Total	2	173914	173916

Sensibilidade	1
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00001149
Prevalência estimada	0,00378344
VPP	1
VNP	1

Câncer de tireóide sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	2	214	216
Negativo	0	2070	2070
Total	2	2284	2286

Sensibilidade	1
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,00087489
Prevalência estimada	0,09448819
VPP	1
VNP	1

ANEXO I – Cálculos de proporções/indicadores

Câncer de órgão genital feminino com recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (doença ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	2	656	658
Negativo	1	173258	173259
Total	3	173914	173917

Sensibilidade	0,66666667
Especificidade	0,99622802
Prevalência	0,00001724
Prevalência estimada	0,00378341
VPP	0,66666667
VNP	0,99999423

Câncer de órgão genital feminino sem recém-nascidos inclusos.

Teste	Doença (padrão ouro)		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	2	214	216
Negativo	1	2070	2071
Total	3	2284	2287

Sensibilidade	0,66666667
Especificidade	0,90630473
Prevalência	0,00131176
Prevalência estimada	0,09444687
VPP	0,66666667
VNP	0,99951714