

Catalasemia em tumor de Wilms

MARA ALBONEI D. P. KATO¹, AMADEU CASSILHA¹, DIONÍSIO ABRÃO¹, ELIO TANAKA¹, CARLOS ROBERTO MORTEAN¹, JESUSMAR H. RAMOS², LUIZ MILITÃO², AGUINALDO JOSÉ DO NASCIMENTO³, KAZUKO HISHIDA DO NASCIMENTO³, RUI FERNANDO PILOTTO³

Trabalho premiado no 2.º Congresso Brasileiro de Oncologia Pediátrica - Prêmio "Onco", Salvador, BA.

Resumo

A associação de deficiência de catalase com neoplasias tem sido estudada nos últimos anos, sendo particularmente notável na presença de tumor de Wilms, forma hereditária, e aniridia. Pouco se comenta sobre seu comportamento nas formas esporádicas desse tumor. Em 1984, Turleau e cols. descreveram o primeiro caso de tumor de Wilms e deficiência de catalase, sem aniridia.

No presente estudo avaliamos a catalasemia em 13 pacientes com tumor de Wilms e comparamos seus níveis com os de 22 crianças do grupo-controle normal e 10 determinações de um grupo-controle em quimioterapia.

Os resultados mostram que a catalasemia foi mais elevada no grupo de pacientes com tumor de Wilms do que no controle normal e mais elevada ainda naqueles que já haviam concluído o tratamento quimioterápico proposto. O grupo-controle em quimioterapia também apresentou níveis elevados de catalasemia, fazendo supor que essa atividade enzimática sofre influência da ação dos quimioterápicos ou, ainda, que ela está associada a uma situação de homeostase do hospedeiro.

Unitermos: tumor de Wilms; deficiência de catalase

Introdução

A associação de deficiência de catalase com neoplasias tem sido estudada nos últimos anos, sendo particularmente notável essa deficiência na presença de tumor de Wilms e aniridia [3, 4, 8, 12]. A maioria dos autores parece concordar que essa associação seja causada por uma deleção do braço curto do cromossomo 11 (del 11p13), em maior ou menor extensão, onde existe proximidade entre os *loci* responsáveis por essas características [4, 10].

Catalase é uma enzima ferroporfirínica, com a função, entre outras, de proteção das membranas celulares contra os efeitos oxidativos da água oxigenada [1, 15]. É encontrada em todas as células do organismo, sendo facilmente acessível para estudo nos eritrócitos.

Embora a associação de baixos níveis de catalasemia com a forma hereditária de tumor de Wilms já

seja reconhecida na literatura, pouco se comenta acerca de seu comportamento nas formas esporádicas desse tumor [7].

Em 1984, Turleau e cols. [24] descreveram o primeiro paciente com tumor de Wilms, sem aniridia e com 30% da atividade normal da catalase.

Recentemente, um dano da banda 11p13 do cromossomo 11 tem sido encontrado no tecido tumoral de casos esporádicos de tumor de Wilms, sem ocorrer nas células somáticas normais [10, 11, 13, 17, 18].

A grande variabilidade desses achados nos levou a determinar a atividade da catalase nos eritrócitos de pacientes com tumor de Wilms, independentemente da presença de alterações clínicas genéticas associadas, visando ainda avaliar se os resultados encontrados poderiam ou não orientar uma triagem extensiva aos familiares, com a finalidade de se detectar tumores em estádios iniciais, a exemplo do que já é feito quando na presença de aniridia [14, 22].

¹Médicos do Hospital Erasto Gaertner; ²Acadêmicos internos do Hospital Erasto Gaertner; ³Professores Adjuntos da UFP Endereço dos autores para correspondência: Rua Dr. Ovande do Amaral, 201 - Guabirota - 81500 - Curitiba - PR

Material e Métodos

Grupo de estudo

Foram avaliados 13 pacientes com diagnóstico de tumor de Wilms, atendidos no serviço de pediatria do Hospital Erasto Gaertner, Curitiba, no período de 1979 a 1986. Esse grupo foi constituído por nove pacientes do sexo masculino e quatro do sexo feminino; oito pacientes ainda se encontravam em tratamento quimioterápico, com média de duração de tratamento de um ano e um mês, e variação de sete a 20 meses. A idade média, por ocasião da realização dos exames foi de três anos e nove meses, variando de um ano e 10 meses a nove anos e cinco meses.

Cinco pacientes já haviam concluído o esquema terapêutico proposto, com um tempo médio de dois anos e quatro meses e com variação de um ano e um mês a quatro anos e quatro meses. A idade média, por ocasião da realização dos exames, foi de nove anos e um mês, variando de quatro anos e três meses a 10 anos e 11 meses.

Quanto à lateralidade, o tumor se apresentou à direita em sete casos, à esquerda em cinco e bilateralmente em um.

Três pacientes apresentavam anomalias associadas, sendo um com rim em ferradura, outro com ureter duplo e o terceiro com criptorquidia, cardiomegalia e sinais menores.

Sete pacientes receberam quimioterapia com sulfato de vincristina, actinomicina-D e adriamicina, e seis apenas com sulfato de vincristina e actinomicina-D.

Grupos-controle

Vinte e duas crianças clinicamente sadias serviram como grupo-controle de normalidade, para a determinação dos níveis de catalasemia sangüínea. Essas crianças pertenciam ao Grupo Escolar Hildebrando de Araújo, sendo 10 do sexo masculino e 12 do sexo feminino. A faixa etária variou de nove anos e um mês a 13 anos e três meses, com média de 10 anos e seis meses.

Com a finalidade de avaliar a possível influência da quimioterapia sobre os níveis de catalasemia, foram feitas 10 determinações em nove crianças com neoplasias que não tumor de Wilms, ainda em tratamento. Os diagnósticos apresentados foram os seguintes: leucemia linfóide aguda em quatro, sarcoma de Ewing em duas, osteossarcoma em uma. A idade média foi de oito anos e um mês, variando de três anos e 10 meses a 15 anos e dois meses. Oito pacientes foram do sexo masculino e uma do sexo feminino. O tempo médio de tratamento quimioterápico foi de 10 meses, com variação de dois a 22 meses. Todos haviam rece-

bido quimioterapia com antraciclina ou actinomicina-D.

Foram excluídas crianças que receberam transfusão sangüínea há menos de 60 dias.

Para o estudo foi obtida autorização prévia dos responsáveis pelas crianças.

Determinação da catalasemia

A catalasemia foi determinada pelo método espectrofotométrico de Aebi [1]. Os eritrócitos foram isolados de sangue heparinizado, obtido por punção de veia periférica. O sangue foi centrifugado e os eritrócitos lavados três vezes com solução salina (NaCl a 0,9%). A papa de hemácias assim obtida foi hemolisada em quatro volumes de solução tampão fosfato 50 mM, pH 7,2, contendo 0,5% de triton X-100, e posteriormente diluída 500 vezes em solução tampão fosfato 50 mM, pH 7,2, para ensaio da catalase. A atividade foi expressa em unidades de Bergmeyer [1] por mililitro de papa de hemácias.

O conteúdo de hemoglobina (Hb) foi verificado em hemoglobímetro, e o volume globular (Vg) pelo método de micro-hematócrito.

Os métodos estatísticos aplicados foram a análise da variância e a comparação de contraste entre duas médias pelo teste de Tukey.

Resultados

Os resultados de hemoglobina encontram-se na Tabela 1, para pacientes com tumor de Wilms, em tratamento ou fora deste, para o grupo-controle normal e para o grupo-controle em quimioterapia.

Tabela 1. Níveis de hemoglobina.

	n	x	s	mín.	máx.
Grupo-controle normal	22	14,25	1,72	11,48	16,72
Pacientes com tumor de Wilms, em tratamento	8	11,04	1,14	8,85	11,90
Pacientes com tumor de Wilms, fora do tratamento	5	12,29	0,56	11,48	12,90
Grupo-controle em quimioterapia	10	11,90	1,19	9,75	14,00

Nota: A concentração de Hb foi expressa como g/dl e os valores experimentais como: n, número de ensaios; x, média; s, desvio-padrão; mínimo, valor mínimo; máximo, valor máximo.

A comparação entre as médias (teste de Tukey) apresentou diferença significativa entre o grupo-controle normal versus os grupos restantes, ao nível de

5% de probabilidade (diferença mínima significativa - DMS de 1,63).

Os valores de hematócrito, para os diferentes grupos, são apresentados na Tabela 2. A comparação das médias (teste de Tukey) apresentou diferença significativa, ao nível de 5% de probabilidade, entre o grupo-controle normal *versus* os pacientes com tumor de Wilms em tratamento e o grupo-controle em quimioterapia (DMS = 5,92).

A catalasemia para os diferentes grupos é apresentada na Tabela 3. A comparação entre as médias (teste de Tukey) resultou em diferença significativa, ao nível de 5% de probabilidade, entre o grupo-controle normal *versus* o grupo fora de tratamento e o grupo-controle em quimioterapia e, ainda, entre o grupo com tumor de Wilms em tratamento e o grupo fora de tratamento (DMS = 948).

A Tabela 4 mostra a análise da variância para os valores de concentração de hemoglobina, hematócrito e catalasemia. Observa-se diferença significativa de 1% de probabilidade.

Tabela 2. Níveis de hematócrito.

	n	x	s	mín.	máx.
Grupo-controle normal	22	43,45	6,55	35,00	55,00
Pacientes com tumor de Wilms, em tratamento	8	33,87	3,09	28,00	36,00
Pacientes com tumor de Wilms, fora de tratamento	5	37,80	1,78	36,00	40,00
Grupo-controle em quimioterapia	10	36,80	3,99	30,00	44,00

Nota: A unidade empregada foi a percentagem (detalhes na Tabela 1). V. texto.

Tabela 3. Catalasemia

	n	x	s	mín.	máx.
Grupo-controle normal	22	2.652	584	1.972	4.188
Pacientes com tumor de Wilms, em tratamento	8	3.491	633	2.707	4.368
Pacientes com tumor de Wilms, fora de tratamento	5	4.530	1.718	2.044	6.134
Grupo-controle em quimioterapia	10	4.194	887	2.748	5.751

Nota: A atividade da catalase foi expressa em unidades Bergmeyer por mililitro de papa de hemácias. (Detalhes na Tabela 1).

Tabela 4. Análise da variância dos valores experimentais de concentração de hemoglobina e catalasemia.

Concentração de hemoglobina			
Fonte de variação	GL	Quadrado médio	F
Tratamento	3	26,412	12,664*
Resíduo	41	2,086	
Total	44		
Hematócrito			
Fonte de variação	GL	Quadrado médio	F
Tratamento	3	227,861	8,292*
Resíduo	41	27,481	
Total	44		
Catalasemia			
Fonte de variação	GL	Quadrado médio	F
Tratamento	3	8.323.297,93	11,814*
Resíduo	41	704.513,49	
Total	44		

Discussão

O tumor de Wilms, o tumor abdominal mais comum da infância, pode ocorrer de forma esporádica ou hereditária [8].

A associação de tumor de Wilms, forma hereditária, com aniridia tem sido atribuída a um dano cromossômico, de vários tamanhos, envolvendo o braço curto do cromossomo 11 [4].

Recentes evidências também implicam um *locus* no cromossomo 11, na gênese do tumor de Wilms esporádico [7, 10-12, 17].

Vários autores têm estudado os níveis de catalasemia em pacientes com associação aniridia-tumor de Wilms e em menor número, em pacientes com tumor de Wilms sem aniridia (Tabela 5). Em 1984, Turleau e cols. descreveram o primeiro paciente apresentando tumor de Wilms, sem aniridia e com 30% da atividade normal da catalase [24].

No presente estudo, o qual avalia pacientes com tumor de Wilms sem aniridia, os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que houve diferença significativa entre os níveis de catalasemia das crianças sem neoplasia e aqueles dos pacientes com tumor de Wilms. Porém, nesse último grupo, a catalasemia foi superior ao grupo-controle normal.

A diferença foi também significativa quando analisamos as médias de catalasemia em pacientes com outras neoplasias, em comparação com aquelas de crianças do grupo-controle sem neoplasia, sendo novamente mais elevadas no grupo de pacientes com neoplasia. A similaridade mais evidente entre crianças com tumor de Wilms e aquelas com outras neoplasias foi o uso de quimioterapia com actinomicina-D e/ou adriamicina/daunomicina.

Não encontramos nenhum paciente com hipocata-

Tabela 5. Associação entre aniridia, tumor de Wilms, alteração no cariótipo e/ou catalasemia - Revisão da literatura.

Autores	Aniridia	Tumor de Wilms	Cariótipo	Catalasemia
Ferrell, 1981 [4]	Sim	Não	Normal	54%
	Não	Sim	Sem deleção	Normal
Niikawa, 1982 [12]	(5 casos)	Não	Rearranjos	Diminuída
	Sim		Sem dano	
Riccardi, 1982 [19]	Sim	Sim	Sem dano	-
Junien, 1983 [6]	Sim	Sim	Dano	30%
Punnett, 1983 [16]	Sim	Sim	Dano	Normal
Koufos, 1984 [8]	Não	Sim	Dano*	-
Orkin, 1984 [13]	Não	Sim	Dano*	-
Reeve, 1984 [18]	Não	Sim	Dano*	-
Turleau, 1984 [25]	Não	Sim	Dano	30%
Barletta, 1985 [3]	Sim	Sim	Dano	40%
Rivera, 1985 [20]	Não	Sim	Rearranjos múltiplos	-

*Cariótipo em tecido tumoral

Para os não assinalados o cariótipo foi feito em células não-tumorais.

lasemia, nem mesmo aqueles cujas manifestações clínicas (tumor bilateral e retardo mental + criptorquidia) foram sugestivas de alteração congênita. Contudo, saliente-se que em todos os pacientes a catalasemia foi determinada durante ou após tratamento quimioterápico, nunca em pacientes virgens de tratamento.

A catalasemia não se correlacionou com o nível de hemoglobina, conforme se esperaria da literatura [2], na qual esses valores apresentam correlação entre si. Acreditamos que a diferença de estímulos necessários para a síntese de hemoglobina e para a de catalase, quais sejam basicamente: hipóxia tecidual no primeiro caso e a necessidade de desintoxicação celular no segundo, explica a falta de correlação observada em nossos resultados.

Em relação aos níveis de catalasemia, podemos concluir que crianças submetidas a quimioterapia apresentaram-nos em índices mais elevados que crianças do grupo sem neoplasia, portanto não tratadas.

Duas hipóteses podem ser levantadas: a primeira delas diz respeito ao possível envelhecimento que os quimioterápicos utilizados infligiriam às hemácias dos pacientes, como já descrito em relação à adriamicina e seu efeito oxidativo decorrente da peroxidação dos lipídios das membranas celulares [27]. Corroborando essa hipótese, temos a observação de Webster & Toothill [26], que, analisando sangue estocado, evidenciaram um aumento de atividade da catalase por volta do 15.º ao 20.º dia e, como Sass, Vorsanger & Spear [21], supuseram que esse aumento fosse secundário ao envelhecimento celular, estimulando a

catalase na sua função de desintoxicação celular. Esse aumento da sua atividade persistiria após a suspensão do estímulo quimioterápico e/ou da lesão celular, o que explicaria por que pacientes que já receberam o tratamento proposto permaneceriam com níveis elevados de catalase e, embora sem significação estatística, maiores que os dos pacientes ainda em tratamento, portanto com a duração do estímulo menor que aqueles.

A segunda hipótese refere-se ao significado que níveis mais elevados de catalasemia possam representar quanto ao controle tumoral pelo hospedeiro. Fujimoto [5] cita diminuição da catalase em pacientes com câncer e sua normalização e até elevação após tratamento. Os nossos resultados permitem inferir, analisando os níveis de catalasemia apresentados pelos pacientes fora de tratamento, que a recuperação da homeostase se fez acompanhar da elevação da catalasemia acima dos níveis normais. Porém, a possibilidade de utilizá-las como monitorização da homeostasia não foi apoiada pelos nossos resultados, mas torna-se necessário avaliar um maior número de pacientes com neoplasia para se estabelecer uma conclusão.

Dos 13 pacientes com tumor de Wilms, três apresentaram anomalias genéticas associadas. Seus níveis de catalasemia não diferiram daqueles dos demais pacientes com tumor de Wilms. Embora a amostra seja pequena, essa observação nos leva a pensar que anomalias associadas, diferentes de aniridia, não são suficientes para caracterizar a transmissão hereditária do tumor de Wilms.

Finalmente, devido ao pequeno número de pacientes avaliados, torna-se imperioso realizar um estudo junto a grupos cooperativos, para esclarecimento dos nossos resultados, bem como para identificarmos os níveis de catalasemia em pacientes com tumor de Wilms, forma esporádica, virgens de tratamento, e/ou naqueles com manifestações clínicas outras que não aniridia, porém sugestivas de transmissão genética [9], níveis esses que possam orientar a utilização da catalasemia como teste de triagem para familiares com maior risco de desenvolver tumor de Wilms.

Summary

Association between catalase deficiency to neoplasms has been studied in the last years; it is specially remarkable in patients with Wilms' tumor, hereditary form, and aniridia. Few comments are made about occurrence on sporadic forms of the tumor. In 1984, Turleau et al. described the first case of Wilms' tumor and catalase deficiency, without aniridia.

In the present study, the authors evaluate catalasemia in 13 patients with Wilms' tumor and compare its levels with 22 children from a normal group and 10 determinations on a control group out of chemotherapy.

Results show that catalasemia had higher levels in Wilms' tumor group than in normal control group and the highest levels were seen in patients who had finished chemotherapy regimens. Chemotherapy control group had also high catalasemia levels, supposing that enzymatic activity suffer from chemotherapy influence or it is associated to a homeostatic situation on the host.

Key words: *Wilms' tumor; catalase deficiency*

Referências bibliográficas

1. AEBI H. Catalase: In: Bergmeyer HV. Methods of enzymatic analysis. New York: Academic Press 1974, p. 673.
2. BAMBAREN CA. Catalasemia em cancerosos. Sem Med 1963; 6: 1322.
3. BARLETTA C et al. 11 p 13 deletion and reduced RBC catalase in a patient with aniridia, glaucoma and bilateral Wilms tumor. Tumori 1985; 71: 119.
4. FERRELL RE, RICCARDI VM. Catalase levels in patients with aniridia and/or Wilms' tumor: utility and limitations. Cytogenet Cell Genet 1981; 31: 120.
5. FUJIMOTO S. Clinical value of preoperative cancer chemotherapy as an index to the changes in tissue catalase activity. Cancer 1966; 19: 844.
6. JUNIEN C et al. Catalase determination in various etiologic forms of Wilms' tumor and gonadoblastoma. Cancer Genet Cytogenet 1983; 7: 51.
7. KONDO K et al. Chromosome abnormalities in tumor cells from patients with sporadic Wilms' tumor. Cancer Res 1984; 44: 5376.
8. KOUFOS A et al. Loss of alleles at loci in human chromosome 11 during genesis of Wilms' tumor. Nature 1984; 309: 172.
9. KRAMER S, MEADOWS AT, JARRETT P. Radical variation in incidence of Wilms' tumor: relationship to congenital. Med Ped Oncol 1984; 12: 401.
10. MICHALOPOULOS EE et al. Molecular analysis of gene deletion in aniridia-Wilms' tumor association. Hum Genet 1985; 70: 157.
11. MISHRIKI Y et al. Bilateral adult Wilms' tumor. Cancer 1987; 59: 1210.
12. NIIKAWA N et al. Chromosome abnormalities involving 11p13 and low erythrocyte catalase activity. Hum Genet 1982; 60: 373.
13. ORKIN SH, GOLDMAN DS, SCALLAN SE. Development of homozygosity for chromosome 11 p markers in Wilms' tumor. Nature 1984; 309: 172.
14. PALMER N & EVANS AE. The association of aniridia and Wilms' tumor: methods of surveillance and diagnosis. Med Ped Oncol 1983; 11: 73.
15. PERCY ME. Catalase: an old enzyme with a new role? Can J Biochem Cell Biol 1983; 62: 1006.
16. PUNNETT H et al. Deletion 11p13 with normal catalase activity. Pediatr Res 1983; 17: 217A.
17. RAZIS AM et al. A mitotic recombination in Wilms' tumor occurs between the parathyroid hormone locus and 11p13. Hum Genet 1985; 70: 344.
18. REEVE AE et al. Loss of a harvey ras allele in sporadic Wilms' tumor. Nature 1984; 309: 174.
19. RICCARDI VM et al. Wilms' tumor with aniridia/iris dysplasia and apparently normal chromosomes. J Pediatr 1982; 100: 574.
20. RIVERA H et al. Constitutional mosaics t(2; 7) (q 33, p 22) and other rearrangements in a girl with Wilms' tumor. Ann Génét 1985; 28: 52.
21. SASS MD, VORSANGER E, SPEAR PW. Enzyme activity as an indicator of red cell age. Clinica Chim Acta 1964; 10: 21.
22. SHANNON RS et al. Wilms' tumor and aniridia: clinical and cytogenetic features. Arch Dis Child 1982; 57: 685.
23. SLATER RM et al. A cytogenetic study of Wilms' tumor. Cancer Gen Cytogenet 1985; 14: 95.
24. TURLEAU C et al. Del 11p13/nephroblastoma with out aniridia. Human Genet 1984; 67: 455.
25. TURLEAU C et al. Del 11p/aniridia complex. Report of three patients and review of 37 observations from the literature. Clin Genetics 1984; 26: 356.
26. WEBSTER NR, TOOTHILL C. Effects of blood storage on red cell antioxidative systems. Acta Haemat 1986; 75: 30.
27. YOUNG RC, OZOLS RF, MYERS CE. The anthracycline antineoplastic drugs. N Engl J Med 1981; 305: 139.