

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KARINA COSTA FRAGUAS TOSIN

A IMPORTÂNCIA DO TESTE *TP53* R337H NEONATAL E DO MONITORAMENTO
OBSERVACIONAL PELOS PAIS NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DO TUMOR DE
CÓRTEX ADRENAL EM CRIANÇAS

CURITIBA

2020

KARINA COSTA FRAGUAS TOSIN

A IMPORTÂNCIA DO TESTE NEONATAL *TP53* R337H E DO MONITORAMENTO
OBSERVACIONAL PELOS PAIS NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DO TUMOR DE
CÓRTEX ADRENAL EM CRIANÇAS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Saúde Coletiva.

Orientador: Prof. Dr. Bonald C. Figueiredo
Coorientadora: Professora Helena H. L. Borba

CURITIBA

2020

T714 Tosin, Karina Costa Fraguas

A importância do teste neonatal TP53 R337H e do monitoramento observacional pelos pais no diagnóstico precoce do tumor de córtex adrenal em crianças [recurso eletrônico] / Karina Costa Fraguas Tosin. – Curitiba, 2020.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Bonald C. Figueiredo
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Helena H. L. Borba

1. Neoplasias do córtex suprarrenal. 2. Triagem neonatal.

3. Mutação. 4. Genes p53. 5. R337H. I. Figueiredo, Bonaldo C.

II. Borba, Helena H. L. III. Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

NLM: WK 780



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO SAÚDE COLETIVA -
40001016103P7

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em SAÚDE COLETIVA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **KARINA COSTA FRAGUAS TOSIN** intitulada: **A IMPORTÂNCIA DO TESTE TP53 R337H NEONATAL E DO MONITORAMENTO OBSERVACIONAL PELOS PAIS NO DIAGNÓSTICO PRECOCE DO TUMOR DE CÓRTEX ADRENAL EM CRIANÇAS**, sob orientação do Prof. Dr. **BONALD CAVALCANTE DE FIGUEIREDO**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 18 de Novembro de 2020.

Assinatura Eletrônica

30/11/2020 14:52:14.0

BONALD CAVALCANTE DE FIGUEIREDO

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

03/12/2020 13:38:30.0

DENISE SIQUEIRA DE CARVALHO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

02/12/2020 11:47:40.0

MARA ALBONEI DUDEQUE PIANOVSKI

Avaliador Externo (HOSPITAL ERASTO GAERTNER)

RUA PADRE CAMARGO 280, 3º ANDAR - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 80060-240 - Tel: (41) 3360-7271 - E-mail: mestradoscoletivaufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 64099

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 64099

Às crianças paranaenses e suas famílias.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Genética Molecular do Câncer em Crianças (CEGEMPAC), ao Instituto Pelé Pequeno Príncipe, ao Hospital Pequeno Príncipe, à Universidade Federal do Paraná (UFPR), aos professores e à minha família.

A razão é o passo,
o aumento da ciência o caminho,
e o benefício da humanidade é o fim.

Thomas Hobbes (1651)

RESUMO

O tumor de córtex adrenal (TCA) ocorre com uma incidência 18 a 20 vezes maior em crianças do estado do Paraná (PR) e de Santa Catarina (SC) em comparação com outros países. A alta incidência está associada à variante *TP53* R337H, também responsável por diversos tipos de câncer em adultos. O presente trabalho teve início quando se comprovou a cura para recém-nascidos portadores da mutação R337H mediante treinamento de seus pais para identificar precocemente os sinais e sintomas do TCA, recebendo apenas orientação a distância. Com base nesse histórico, foram traçados os objetivos deste projeto: (1) estimar, por meio de revisão de dados bibliográficos, a população pediátrica em maior risco de desenvolver TCA no PR e em SC; (2) comparar a proporção de casos de TCA pediátrico/ano com e sem a mutação R337H no PR e em SC; (3) estimar o custo para os hospitais para aquisição de quimioterápicos e mitotano para tratamento dos estádios avançados, tomando por base o número de casos registrados no estado do Paraná (2007-2018, SESA/DATASUS), comparando com o que seria exigido para tratar o estágio 1; (4) identificar a proporção dos casos de TCA (2, 3 e 4) internados no Hospital Pequeno Príncipe (HPP) nos últimos nove anos (2011-2019); (5) propor uma nova versão do Projeto de Lei nº 262/2011 para tornar obrigatório o Teste do Pezinho para a mutação R337H no PR e em SC. Trata-se de pesquisa de caráter descritivo, documental, exploratório e qualitativo. A metodologia empregada inclui (1) revisão de frequência da mutação na população e nos TCAs do PR e SC, (2) revisão de casos de TCA admitidos no HPP de 2011 a 2019, complementados com dados dos registros de TCA pediátrico do sistema público. No mapeamento em SC identificou-se uma frequência da mutação R337H média de 0,249% entre os recém-nascidos, enquanto no PR esta foi de 0,30%. A partir dos resultados obtidos foi estimado que 16 crianças por ano, nascidas no PR e portadoras da mutação *TP53* R337H, desenvolverão TCA antes de completarem 12 anos, já em SC seriam oito casos por ano, crescendo-se mais dois ou três sem a mutação nos dois estados. O tratamento (quimioterapia e mitotano) dos casos de TCA nos estádios 3 e 4 (68,6%) 92/134, de 2007 a 2018, implicou em um gasto estimado anual de R\$ 551.568,31 contra R\$ 43.377,60 do estágio 1 (cirurgia). Dos 18 pacientes internados no HPP nos últimos nove anos (2011-2019), 13 (72,2%) foram casos 2, 3 e 4. A péssima qualidade de vida com o longo período de quimioterapia, recorrências, cirurgias, o maior custo e o tempo despendido fora das escolas exigem mudanças no sistema público. Concluindo, o estudo revisa o Projeto de Lei, descartando a necessidade de programa municipal especializado e realização de exames periódicos, enfatizando o aconselhamento genético e o treinamento dos pais e familiares de recém-nascidos com a mutação R337H. O teste para recém-nascidos de ancestrais nascidos nos dois estados seria indicado para aqueles com, no mínimo, um caso de câncer na família.

Palavras-chave: Tumor de Córtex Adrenal. Crianças. Mutação *TP53* R337H. Teste do Pezinho. Custos. Projeto de Lei.

ABSTRACT

The adrenocortical tumor (ACT) incidence is 18 to 20 times more frequent in children from the state of Paraná and Santa Catarina than in children from other countries. The reason is the high frequency of the germline *TP53* R337H variant in Paraná. It is also a serious problem the frequency of other types of cancer among adults. The present work began after documenting the cure for R337H-carrier newborns who developed malignant ACT in a new cohort (Paraná cohort 2012), where well-trained parents receiving only remote support were able to identify early signs and symptoms of ACT. Based on these previous reports, the objectives of this project were: (1) to estimate, using published data, the pediatric population at greater risk of developing ACT in Paraná and Santa Catarina, the only two states with complete mapping of all regional health for R337H mutation; (2) to evaluate the proportion of pediatric ACT cases with and without the R337H mutation in Paraná and Santa Catarina; (3) to determine the costs of chemotherapy and mitotane for the public health system of Paraná (2007-2018, SESA/DATASUS) and the indirect costs considering the number of deaths and surgeries impacting the quality of life of patients between those diagnosed at stage 1 and those at more advanced stages of ACT (2+3+4); (4) evaluate the proportion of stages (2+3+4) admitted to Hospital Pequeno Príncipe in the last ten years (2011-2019); and (5) reassess the applicability of a new version of a Bill for a mandatory neonatal R337H test in Paraná and Santa Catarina. The methodology includes (1) a review of the R337H mutation frequency in the population and in the ACTs of Paraná and Santa Catarina, reviewing ACT cases admitted to the Hospital Pequeno Príncipe (2011-2019), complemented with data from pediatric ACT records in a public database system in the same period. It was also reported that Santa Catarina has a mean R337H frequency of 0.249% among newborns, while in a more complete analysis of the Paraná population the mean frequency was 0.30%. Among the results, it was estimated that 16 children born in Paraná/year carrying the *TP53* R337H mutation will develop ACT before reaching 12 years old, while in Santa Catarina it is approximately eight cases per year, while in both states, non-R337H carriers may develop two or three pediatric ACTs (Costa *et al.*, 2019). These results are proportional to the number of births per year and to the frequency of the mutation in each state. The ACT medication (including only chemotherapy and mitotane) for the stages 3 and 4 (85%, 114/134 in 2007-2018) cost in average (on the basis of cost for SUS) 135 times more than stage 1 treatment (requiring only surgery), without considering consultations, periodical exams and overall costs in hospital. In the last 9 years were admitted 13 cases at stages 2, 3 and 4 (72.2%, 13/18) at Hospital Pequeno Príncipe Hospital. The low quality of life with long time of chemotherapy, recurrences and surgeries, higher costs and the time spent out of the school for children in stage 2, 3 and 4, requires changes in the public system. In conclusion, important changes were proposed for a revised Bill, discarding the need for a specialized municipal program without conducting periodic examinations, emphasizing genetic counseling and training of parents and family members of newborns with the R337H mutation, by trained nurses. The test for newborns of ancestors born in both states would be suitable for newborns with at least one case of cancer in the family.

Keywords: Adrenal Cortex Tumor. Children. *TP53* R337H mutation. Neonatal Screening. Costs. Bill.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H EM SANTA CATARINA, EM SÃO PAULO E NO PARANÁ.....	23
FIGURA 2 - MAPA DA FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H NO ESTADO DO PARANÁ.	24
FIGURA 3 - MAPA DAS REGIONAIS DE SAÚDE DO ESTADO DE SANTA CATARINA.	24
FIGURA 4 - SOBREVIVÊNCIA EM RELAÇÃO AO ESTÁDIO DE CASOS DE TCA QUE ACONTECERAM ENTRE 1970-2000.	37
FIGURA 5 - PROTOCOLO SIMPLIFICADO DO MONITORAMENTO SEM EXAMES PERIÓDICOS.....	56

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - TABELA COMPARATIVA ENTRE INCIDÊNCIAS DE TCA, FC E FKU	45
TABELA 2 - CRIANÇAS COM TCA CONFORME REGISTRO DA SES/PR.....	46
TABELA 3 - CRIANÇA COM TCA CONFORME REGISTRO DA SES/SC	47
TABELA 4 - CASOS DE PACIENTES COM TCA ADMITIDOS NO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE (2011-2019).....	47
TABELA 5 - CUSTOS DO TRATAMENTO PARA TCA COM MEDICAMENTOS: QUIMIOTERAPIA (OITO CICLOS) E MITOTANO (DOIS ANOS).....	49
TABELA 6 – CUSTO DO TCA NO ESTADO DO PARANÁ.....	50
TABELA 7 - INTERNAÇÕES DE CRIANÇAS COM TCA NO ESTADO DE SANTA CATARINA	51
TABELA 8 - CUSTOS ADICIONAIS NÃO CONSIDERADOS PARA RECÉM- NASCIDOS POSITIVOS PARA <i>TP53</i> R337H NO TESTE DO PEZINHO.	51
TABELA 9 - CUSTO DA REALIZAÇÃO DE TESTES DE PCR PARA A PESQUISA DA MUTAÇÃO R337H PARA A POPULAÇÃO DE NASCIDOS VIVOS NO ESTADO DO PARANÁ	52
TABELA 10 - CUSTO DO TESTE DE PCR EM PARENTES DE CRIANÇAS POSITIVAS PARA A MUTAÇÃO NO ESTADO DO PARANÁ	53
TABELA 11 - CUSTO INDIVIDUALIZADO EM REAIS DO TRATAMENTO DAS CRIANÇAS IDENTIFICADAS COM TCA	53
TABELA 12 - PACIENTES ADMITIDOS COM TCA NO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE NOS ÚLTIMOS NOVE ANOS (2011-2019).....	54

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ANS	- Agência Nacional de Saúde Suplementar
APAC	- Autorização de Procedimento de Alta Complexidade
BPS	- Banco de Preço em Saúde
CMED	- Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos
CONITEC	- Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia no Sistema Único de Saúde
DBD	- <i>DNA binding domain</i>
DHEA-S	- Sulfato de Dehidroepiandrosterona
DNA	- Ácido Desoxirribonucleico
ECA	- Estatuto da Criança e do Adolescente
ed.	- edição
FAH	- <i>Fumarylacetoacetate Hydrolase</i>
FEPE	- Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional
g	- gramas
G6PD	- Glicose-6-fosfato Desidrogenase
H	- Histidina
HC	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
HPP	- Hospital Pequeno Príncipe
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMS	- Imposto sobre Circulação de Mercadorias e prestação de Serviços de transporte interestadual e intermunicipal e comunicação
IPACTR	- International Pediatric Adrenocortical Tumors Registry
LFL	- Li-Fraumeni <i>-like</i>
LFS	- Li-Fraumeni
PCR	- <i>Polymerase Chain Reaction</i>
pH	- potencial Hidrogeniônico
PKU	- Fenilcetonúria
PNTN	- Programa Nacional de Triagem Neonatal
PR	- Paraná
R	- Aminoácido arginina
R337H	- Mudança do aminoácido arginina (R) para histidina (H) no códon 337
RN	- Recém-nascido

SC	- Santa Catarina
SES	- Secretaria de Saúde de Santa Catarina
SESA	- Secretaria de Saúde do Estado do Paraná
SIGTAP	- Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e Órteses, Próteses e Materiais especiais do SUS
SUS	- Sistema Único de Saúde
TCA	- Tumor de Córtex Adrenal
<i>TP53</i>	- Proteína supressora de tumores
TRF3	- Tribunal Regional Federal da 3ª Região
UFPR	- Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Objetivo geral	18
1.1.2 Objetivos específicos.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 MUTAÇÕES NO GENE <i>TP53</i>	20
2.2 POPULAÇÃO PEDIÁTRICA DE MAIOR RISCO NO PARANÁ E EM SANTA CATARINA	22
2.3 DO COMPARATIVO DO TESTE DE DNA PARA R337H RESPONSÁVEL PELO TCA PEDIÁTRICO E DE OUTRAS DOENÇAS ABARCADAS NO TESTE DO PEZINHO	27
2.4 DAS FORMAS DE INCORPORAÇÃO DE NOVAS DOENÇAS NO ROL DO TESTE DO PEZINHO.....	30
2.4.1 Do Teste do Pezinho e da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde.....	32
2.4.2 Da judicialização do Teste do Pezinho.....	34
2.5 DA TENTATIVA DE TORNAR O TESTE PARA A MUTAÇÃO <i>TP53</i> R337H OBRIGATÓRIO NO PARANÁ.....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS	41
3.1 ESTIMATIVA E ANÁLISE DA POPULAÇÃO PEDIÁTRICA EM RISCO DE DESENVOLVIMENTO DO TCA NO PR E EM SC	41
3.2 COMPARATIVO DA FREQUÊNCIA DE TCA, FIBROSE CÍSTICA E FENILCETONÚRIA.....	41
3.3 DETERMINAÇÃO DE CUSTOS DOS MEDICAMENTOS (QUIMIOTERÁPICOS E MITOTANO)	42
3.3.1 Custo do monitoramento da criança.....	42
3.3.2 Custos não considerados para fim de comparação entre estágio inicial e estádios avançados de TCA, bem como no monitoramento.	43
3.4 PROPORÇÃO DE CASOS DE TCA NOS ESTÁDIOS, 1, 2, 3 E 4 NO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE.....	44
3.5 REFLEXOS DA PESQUISA NO PROJETO DE LEI Nº 262/2011.....	44
3.6 COMITÊ DE ÉTICA.....	45

4 RESULTADOS	45
4.1 COMPARATIVO DA FREQUÊNCIA DE TCA, FIBROSE CÍSTICA E FENILCETONÚRIA.....	45
4.2 CENÁRIO SESA/PR E SES/SC	46
4.3 LEVANTAMENTO DE CUSTOS	47
4.3.1 Custos da quimioterapia e do mitotano	47
4.3.2 Internações conforme Secretaria de Saúde do Paraná.....	49
4.3.3 Internações conforme Secretaria de Saúde de Santa Catarina	50
4.3.4 Despesas adicionais.....	51
4.3.5 Custos do monitoramento da criança	52
4.4. PROPORÇÃO DE PACIENTES ADMITIDOS NO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE COM TCA EM ESTÁDIOS MAIS AVANÇADOS	54
4.5 REFLEXOS NA REPROPOSITURA DO PROJETO DE LEI.....	55
5 DISCUSSÃO	58
6 CONCLUSÕES	74
7 REFERÊNCIAS	77
8 APÊNDICE – ÍNTEGRA DO ARTIGO PUBLICADO	93

1 INTRODUÇÃO

O objeto de investigação escolhido é a identificação da mutação hereditária *TP53* R337H, responsável por 95% dos casos de Tumor de Córtex Adrenal (TCA), no Paraná (PR) e 87% em Santa Catarina (SC), por meio do teste de DNA do sangue do pezinho (COSTA *et al.*, 2019).

Aparentemente, quase todos os casos registrados de TCA no sul e sudeste do Brasil se relacionam com a mutação genética hereditária *TP53* R337H, cujo genótipo é frequentemente associado com agressivos e avançados tumores (CUSTÓDIO *et al.* 2013; PINTO *et al.*, 2011, 2015).

No mundo, a incidência do TCA nos indivíduos menores de 15 anos é de 0,3 por milhão de crianças abaixo de 18 anos por ano (DEHNER; HILL, 2009). No Brasil, especificamente, a mutação *TP53* R337H, supostamente, tem como origem um ancestral comum (PINTO, 2004) e foi descrita no sul e sudeste do país como causa do aumento de 15 vezes na incidência de TCA (PIANOVSKI, 2006; CUSTÓDIO *et al.*, 2013) em relação a outros países.

Em que pesem os avanços no cuidado médico, aliados à educação dos pais, há necessidade de se buscar outras estratégias, tendo em vista que a demora no diagnóstico persiste e é considerada como a causa principal dos estádios avançados da doença e da pequena taxa de sobrevivida (CUSTÓDIO *et al.*, 2013). Além da diminuta percepção da anormalidade dos sinais do TCA pelos pais com baixo nível de escolaridade, soma-se a isto a falta de comunicação do Setor Público para população sobre a grande frequência de paranaenses e catarinenses portadores da mutação *TP53* R337H e a elevada incidência do TCA nestes estados. Como consequências, há muitas crianças desenvolvendo o TCA nos estados do Paraná e Santa Catarina, e uma parte delas vão a óbito ou passam por múltiplas formas de tratamento e cirurgias porque são diagnosticadas tardiamente. O que o presente trabalho pretende é evitar o diagnóstico tardio (estádios 2, 3 ou 4).

O estágio do TCA pediátrico é baseado no tamanho do tumor e no resíduo de tumor após a cirurgia (RODRIGUEZ-GALINDO *et al.*, 2005). O diagnóstico precoce do TCA (estádio 1) é a alternativa para cirurgia curativa (uma única internação) e pode ser viabilizado apenas com o aconselhamento genético, educação, propagação adequada de informação e contatos periódicos por telefone com os pais da criança portadora da mutação *TP53* R337H, após a notificação destes sobre o resultado

positivo do recém-nascido para a mutação (RODRIGUEZ-GALINDO *et al.*, 2005; CUSTÓDIO *et al.*, 2013). No presente estudo, foram considerados como de pior prognóstico os estádios 2, 3 e 4. Ressalve-se que todos os tumores no estágio 1, pesando mais de 50 g, já apresentam recidivas e óbitos (MICHAELKIEWICZ *et al.*, 2004), logo o objetivo da vigilância pretendida é diagnosticar aproximadamente 100% dos TCAs com menos de 50 g.

Dois protocolos foram testados e confirmaram a cura do TCA com uma curta internação no hospital, sem quimioterapia e com excelente qualidade de vida. Um protocolo adotou exames periódicos até a criança completar cinco anos de idade a partir do teste do DNA positivo, resultando em diagnóstico da doença antes das manifestações clínicas, porém a um custo mais elevado, relativo aos exames de monitoramento além do teste do DNA (CUSTÓDIO *et al.*, 2019). O segundo protocolo adotou orientações dos profissionais médicos, enfermeiros e psicólogos em um período total de nove horas restrito às famílias das crianças com teste do DNA positivo, resultando em diagnóstico nos primeiros sinais do TCA e custos menores relativos ao teste de DNA e remuneração dos profissionais envolvidos (COSTA *et al.*, 2019). O que há de comum nos dois protocolos é o teste da mutação no recém-nascido e o conhecimento dos pais acerca dos sinais e sintomas do TCA, possibilitando o monitoramento observacional de papel imprescindível para o diagnóstico precoce.

Toda pesquisa realizada no Paraná e em Santa Catarina sobre a elevada incidência de TCA pediátrico foi desenvolvida por docentes pesquisadores não atuantes na linha de frente da assistência básica em saúde. Os resultados alcançados são suficientes para os gestores do sistema público tomarem decisões que evitem gastos desnecessários, péssima qualidade de vida e óbito das crianças com diagnóstico tardio de TCA. Tornar obrigatório o teste do pezinho para identificar *TP53* R337H e passar instruções aos pais resultaria em custos parecidos com os despendidos para tratamentos longos e de péssimos resultados (sem o teste do pezinho), mas sem as mortes e sem perda de qualidade de vida. O que este projeto pretende é dar sustentação à terceira tentativa de projeto de lei para tornar obrigatório o teste referido, preferencialmente na esfera federal, por se tratar de uma mudança necessária para os dois estados mencionados, e não apenas para o Paraná, como foram as duas primeiras tentativas.

Diante das limitações de acesso aos custos reais para o diagnóstico e tratamento do TCA, ou seja, considerando a tabela de preço do Sistema Único de Saúde (SUS) e dos planos de saúde (23% do total da população do Paraná, ANS, 2019), a opção prática para efeito de comparação, porém limitada, foi usar apenas a tabela de quimioterápicos e mitotano.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial benefício do monitoramento simplificado após a realização de teste neonatal de DNA para a mutação TP53 R337H no diagnóstico e tratamento do TCA em portadores da mutação, com base em resultados do tratamento para o paciente e nas diferenças de custo conforme estágio da doença.

1.1.2 Objetivos específicos

1) Estimar, com base em revisão de dados bibliográficos, a população pediátrica em maior risco de desenvolver TCA, no Paraná e em Santa Catarina, os únicos dois estados com mapeamento já realizado em todas as regionais de saúde para mutação R337H;

2) Descrever características dos casos de TCA pediátrico com a mutação R337H no Paraná e Santa Catarina;

3) Apurar o custo para os hospitais para aquisição de medicamentos (quimioterápicos e mitotano) para tratamento dos estádios 3 e 4, tomando por base o número de casos registrados no estado do Paraná (2007-2018, SESA/DATASUS), comparando com o que seria exigido para tratar o estágio 1 que exige apenas cirurgia;

4) Estabelecer a proporção de casos de pior prognóstico (2, 3 e 4) nos últimos nove anos na ausência de testes e acompanhamentos das crianças portadores de R337H.

5) Propor mudanças para uma nova versão do Projeto de Lei nº 262/2011 para tornar obrigatório o Teste do Pezinho para a mutação R337H no Paraná e em Santa Catarina em recém-nascidos de famílias com pelo menos um caso de câncer, associado a treinamento dos pais após o aconselhamento genético.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MUTAÇÕES NO GENE *TP53*

TP53 é o gene que codifica a proteína p53 e geralmente está mutado nos cânceres humanos. A alteração chamada R337H é a substituição do aminoácido arginina (R) por uma histidina (H) e pode levar à ruptura da ligação do tetrâmero de R337H (quatro unidades da proteína p53) ao DNA, com a perda subsequente da função (RIBEIRO *et al.*, 2001). A proteína p53-R337H não funciona bem em pH supra-fisiológico (acima de 7.4), nem em temperatura acima de 36.5 °C. Ressalve-se que isso foi demonstrado apenas em tubos de ensaio, mas não o foi ainda no ser humano (DIGIAMMARINO *et al.*, 2002). Hipoteticamente, o que pode se traduzir em maior probabilidade de risco de câncer quando ocorre febre e alcalose. Assim, as células mutadas do *TP53* podem desenvolver uma instabilidade no genoma. Em outras mutações com risco elevado de perda de função, a proteína p53 vai deixar de exercer o papel de supressor tumoral com maior frequência, sem depender de temperatura e pH sanguíneo, deixando de ativar a apoptose (morte celular), evoluindo para um crescimento celular desordenado, desencadeando uma neoplasia e podendo progredir para metástases (CADWELL; ZAMBETTI, 1998; VOGELSTEIN; LANE; LEVINE, 2000). Aproximadamente 80% das mutações do *TP53* ocorrem na parte da proteína que se liga ao DNA (DBD) (WEISZ *et al.*, 2007), o que não é o caso da R337H cujo problema é na união das 4 moléculas de p53-R337H.

A Síndrome de Li-Fraumeni (LFS) e a Síndrome de Li-Fraumeni-like (LFL) são duas apresentações de câncer familiar, geralmente relacionadas à mutação germinativa do *TP53*. A LFS foi primeiramente descrita por Li e Fraumeni (1969) e é caracterizada por um padrão de herança autossômica dominante (significa que a mutação foi de apenas um ou dos dois genes do pai ou da mãe), clinicamente heterogênea, com predisposição hereditária a vários tipos de cânceres em idade precoce, múltiplos tumores primários e de padrão familiar (MALKIN *et al.*, 1990). Li e Fraumeni (1982) definiram clinicamente uma família com LFS dessa forma: um integrante desenvolve sarcoma com menos de 45 anos de idade, um parente de primeiro grau com menos de 45 anos com qualquer câncer, além de um parente de

primeiro ou segundo grau na mesma linhagem, com qualquer câncer antes dos 45 anos de idade, ou um sarcoma em qualquer idade.

Os tumores mais frequentes associados à LFS foram sarcomas, osteossarcomas, tumores de sistema nervoso central, carcinomas de plexo coroide, carcinoma adrenocortical pediátrico, leucemias, câncer de mama, bem como múltiplas neoplasias (GONZALEZ *et al.*, 2009). Outras possibilidades de tumores inclusos na LFS foram relatadas, como melanoma, carcinomas de pulmão, pâncreas, estômago (MALKIN *et al.*, 1990), próstata e tumores gonadais de células germinativas (MALKIN, 2011; VILLANI *et al.*, 2011).

A LFL possui algumas características da LFS, sem cumprimento de todas as exigências requeridas, pois não inclui sarcoma, a idade de ocorrência do tumor é geralmente acima dos 45 anos de idade, não se enquadra no grau de parentesco, ou não possui os três casos de câncer entre os portadores da mutação no gene *TP53*. Outros tipos de cânceres têm sido associados à LFL, quando a idade do surgimento do câncer é mais tardia (BIRCH, 1994). Foi estimado que 50% dos portadores de uma família com o padrão de LFS desenvolvem câncer por volta dos 30 anos de idade (LUSTBADER *et al.*, 1992) e 90% delas até os 60 anos de idade (STRONG *et al.*, 1992; MALKIN, 2011). Entretanto, nem tudo que se descreve sobre LFS ou LFL acontece com a mesma proporção em quem é portador de *TP53* R337H. O que se recomenda na ocorrência de LFS em família com R337H suspeite-se da possibilidade de associações com outras alterações genéticas e epigenéticas (PIANOVSKI; FIGUEIREDO, 2017). Famílias portadoras de R337H têm menos de 25% de LFL (FIGUEIREDO *et al.*, 2006) e LF é ainda menos comum (dados da coorte de famílias do Paraná em avaliação). Conseqüentemente, a penetrância estimada do câncer em homens e mulheres portadores da mutação R337H é menos de 40% até os 70 anos de idade (Database das coortes do Pequeno Príncipe). Essa grande diferença em relação às outras mutações mais graves fez com que os pesquisadores brasileiros não adotassem a classificação LFS para R337H. Em outras palavras, não se justifica aplicar adotar LFS e LFL, se mais de 90% nunca terão LFS, ou se mais de 60% nunca terão LFL, e o resultado disso seria o desnecessário impacto psicológico aplicado de maneira generalizada.

2.2 POPULAÇÃO PEDIÁTRICA DE MAIOR RISCO NO PARANÁ E EM SANTA CATARINA

A descoberta da mutação *TP53* R337H (RIBEIRO *et al.*, 2001) foi motivada pela primeira pesquisa realizada na Santa Casa de São Paulo relatando a elevada incidência de TCA em São Paulo (MARIGO *et al.*, 1969). Várias partes do Sul e Sudeste confirmaram este aumento, sobretudo no Paraná (SANDRINI *et al.*, 1994; PIANOVSKI *et al.*, 2006). A mutação R337H é mais frequente no Paraná, sem uma razão clara aparentemente, existindo evidência de que é originária de um ancestral comum caucasiano/português-ibérico (PINTO *et al.*, 2004).

A elevada probabilidade de o indivíduo desenvolver TCA nos primeiros anos de vida pode estar relacionada à instabilidade da zona fetal do córtex adrenal das glândulas suprarrenais perto do nascimento (CUSTÓDIO *et al.*, 2012), e isso se agrava com o maior número de crianças portadoras da mutação *TP53* R337H.

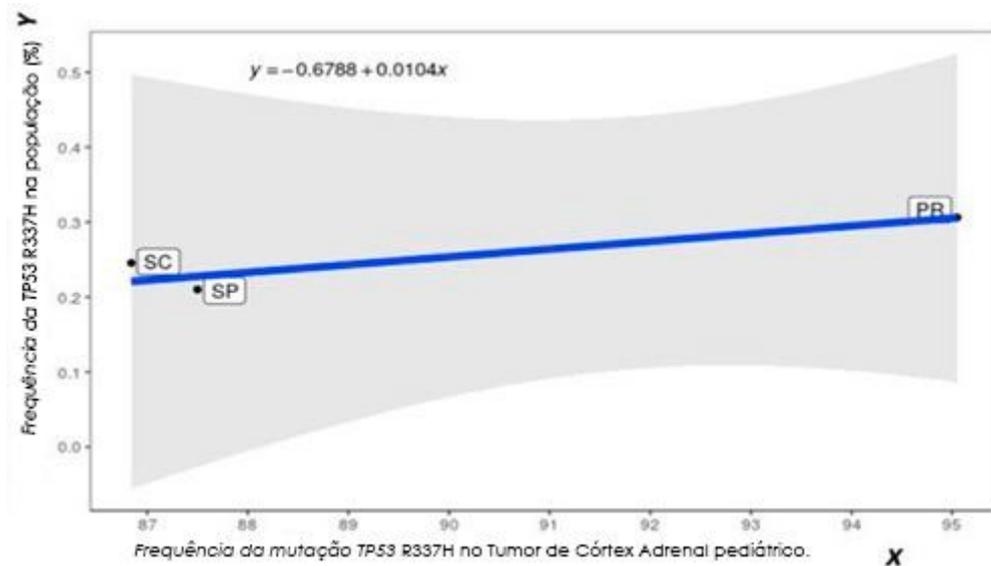
A proteína p53 é o mais importante fator de supressão tumoral, o guardião da célula; e a mudança na proteína (troca de arginina por histidina no códon 337) torna a proteína menos eficiente em pH alcalino ou temperatura febril. Dessa forma, indivíduos que herdam a mutação *TP53* têm aumentada a predisposição para desenvolver câncer ao longo da vida (DIGIAMMARINO *et al.*, 2002; PINTO *et al.*, 2015). Ainda, é preciso considerar alterações que afetam o cromossomo 11p15, como fatores ambientais desconhecidos e outras alterações genômicas (STEENMAN, M.; WESTERVELD, A.; MANNENS, M.; PINTO *et al.* apud COSTA *et al.*, 2019).

O TCA pode ocorrer em qualquer idade e é o câncer pediátrico mais comum dentre os portadores da mutação até os 15 anos de vida, sendo que, nas idades mais avançadas, são mais frequentes os cânceres de mama, cérebro e estômago, especialmente pela associação com a síndrome de LFL (FIGUEIREDO *et al.*, 2006).

No Paraná morrem mais crianças em razão do TCA avançado do que em decorrência de fenilcetonúria (PIANOVSKI *et al.*, 2006; CUSTÓDIO *et al.*, 2013; SANTANA *et al.*, 2003) ou fibrose cística (RASKIN *et al.*, 2007).

A frequência do TCA e de outros tumores em crianças e adultos dependem da frequência da mutação *TP53* R337H em cada localidade. Essa informação permite um planejamento sobre cuidados com os prováveis portadores de todas as idades. Sabemos que o Paraná, São Paulo e Santa Catarina possuem as maiores frequências médias entre as Regiões Sul e Sudeste (FIGURA 1).

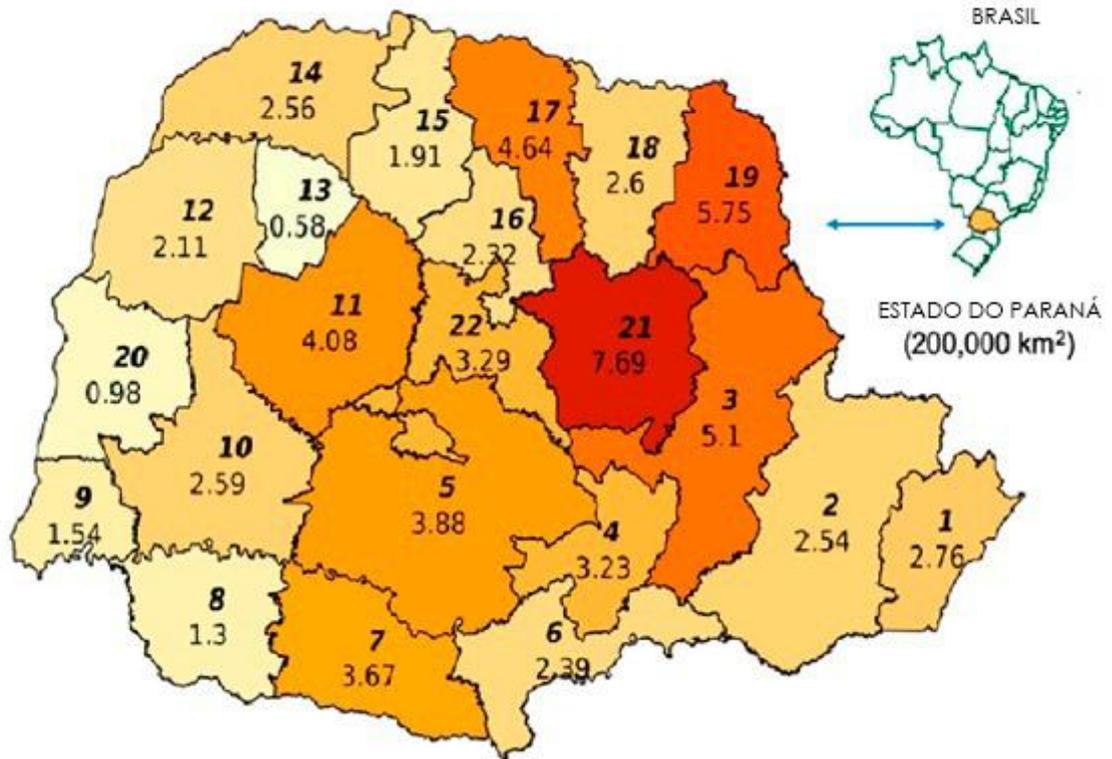
FIGURA 1 - FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO *TP53* R337H EM SANTA CATARINA, EM SÃO PAULO E NO PARANÁ.



FONTE: COSTA *et al.* (2019).

A alta frequência da mutação nos estados do Paraná e Santa Catarina é sustentada em virtude do que já foi mapeado em todas as regionais de saúde dos respectivos estados (FIGURAS 2 e 3). Observe-se que as cores mais escuras das Figuras 2 e 3 dizem respeito às regionais de saúde com maior frequência da mutação *TP53* R337H em recém-nascidos, permitindo refletir sobre o risco da própria mutação e a combinação desta com a exposição aos fatores ambientais carcinogênicos que contribuem para aumentar o risco de câncer e reforçam a importância do estudo dirigido e a testagem dos recém-nascidos dos aludidos estados como forma de potencializar a cura da doença. Assim, o risco final para o desenvolvimento do câncer é multifatorial, porém o maior risco para o desenvolvimento do TCA pediátrico é ser portador da mutação R337H. Esse risco é calculado como penetrância, e, se não houvesse interferência de outros fatores, esse risco ou penetrância seria sempre constante. O cálculo tem que ser com todos os recém-nascidos da população geral e a conclusão mais recente, para crianças até 12 anos de idade, é que a penetrância é de 3,9% (COSTA *et al.*, 2019). Contudo, sabe-se que, na verdade, as interferências de outros fatores mudam esse risco de lugar para lugar no mesmo estado, e entre os estados.

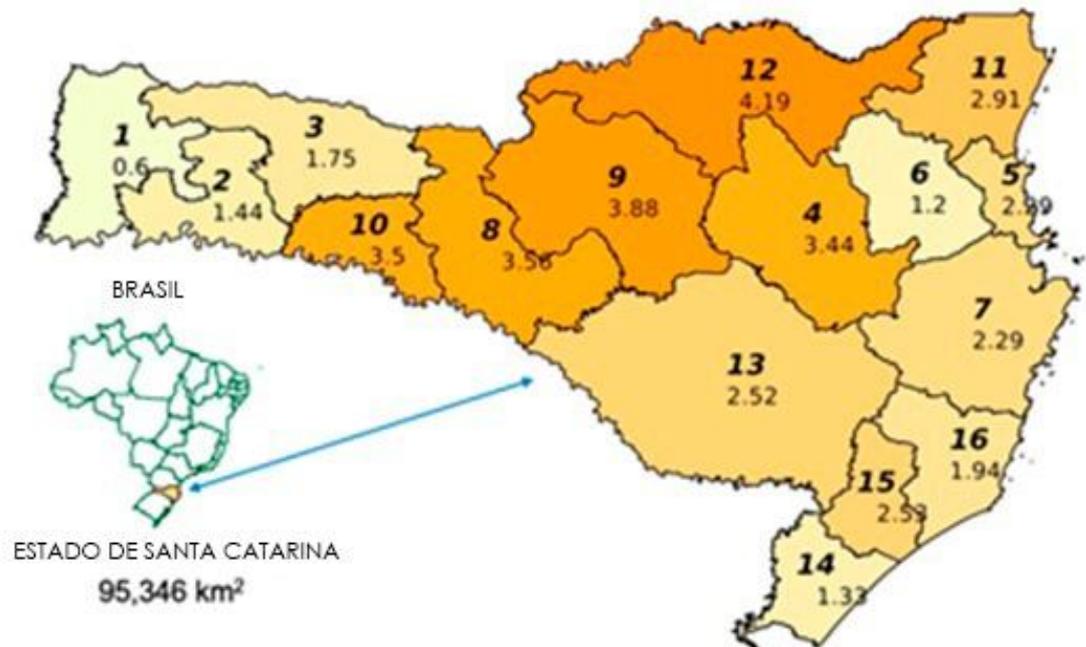
FIGURA 2 - MAPA DA FREQUÊNCIA DA MUTAÇÃO TP53 R337H NO ESTADO DO PARANÁ.



FONTE: COSTA *et al.* (2019).

NOTA: Os números inteiros de 1 a 22 em negrito representam as Regionais de Saúde e os demais números são as frequências da mutação/1000 recém-nascidos testados. Cores mais fortes indicam frequências maiores.

FIGURA 3 - MAPA DAS REGIONAIS DE SAÚDE DO ESTADO DE SANTA CATARINA.



Fonte: COSTA *et al.*, 2019.

NOTA: Os números inteiros de 1 a 16 em negrito representam as Regionais de Saúde e os demais números são as frequências da mutação/1000 recém-nascidos testados. Cores mais fortes indicam frequências maiores.

O cálculo da mutação depende da população estudada, e, por isso, há muitas diferenças entre a população de base hospitalar, ou seja, quando se pesquisam apenas os pacientes admitidos com câncer em determinado hospital, o que geralmente se tem é o viés da exclusão de quem é portador e não tem câncer. A penetrância de R337H para o TCA pediátrico foi estimada em 10,4%, aumentando para 14,1% nos casos de famílias com mais de um indivíduo com TCA em casos de base hospitalar (FIGUEIREDO *et al.*, 2006), mas, em estudo com dados mais precisos e abrangendo a população geral, verificou-se que, em crianças menores de cinco anos, ela seria de 3,4% (CUSTÓDIO *et al.*, 2013). Esse cálculo da população foi atualizado para crianças até 12 anos, sendo de 3,9% (COSTA *et al.*, 2019).

As manifestações do TCA pediátrico são: virilização (pelos pubianos, hipertrofia do clitóris ou pênis, hirsutismo, acne, aumento da massa muscular, aumento da velocidade de crescimento, irritabilidade), síndrome de Cushing, hipertensão arterial e convulsões (PEREIRA *et al.*, 2004).

Estima-se que, por ano, 416 crianças nascerão no Paraná com a mutação TP53 R337H e 16 desenvolverão TCA antes de completar 12 anos de idade. Enquanto no Paraná a frequência da mutação no TCA é de 95%, em Santa Catarina é de 87% e São Paulo é de 81% (FIGURA 1). Teoricamente, estima-se que a diferença de frequência desta mutação entre estes e outros estados se deve à migração diferenciada, às baixas taxas de morbimortalidade desta mutação, à cultura de reprodução dos portadores desta mutação, e outros fatores a partir da colonização pelos europeus, sobretudo portugueses e espanhóis. Ressalve-se, contudo, que a incidência do TCA pediátrico no Paraná é a mais elevada do mundo (COSTA *al.*, 2019). Entretanto, há lugares neste estado em que a incidência do TCA deveria seguir a frequência da mutação nestes lugares, mas percebeu-se a interferência de poluentes ambientais, como os agrotóxicos que são prejudiciais para o TCA muito pequeno (COSTA *et al.*, 2019).

No que toca ao estado de Santa Catarina, a investigação precisa ser aprofundada, na medida em que a atividade da agricultura e a poluição industrial são menos intensas que as do Paraná e o meio ambiente conta com outras peculiaridades não exploradas (COSTA *et al.*, 2019).

A única garantia de cura para o TCA é a ressecção cirúrgica completa, o que acontece geralmente para crianças no estágio 1 (MICHAELKIEWICZ *et al.*, 2004). No tocante à quimioterapia, não há consenso acerca dos medicamentos mais adequados, existindo resposta para alguns tumores quando do uso de Cisplatina, Etoposídeo, Doxorubicina e Mitotano (ZANCANELLA *et al.*, 2006).

Mais de 90% dos indivíduos com TCA pediátrico no Paraná são portadores da mutação *TP53* R337H (RIBEIRO *et al.*, 2001), sendo relatado que os pacientes monitorados periodicamente por médicos foram identificados com tumores abaixo de 50 g, em contraste com aqueles sem nenhum suporte - por recusa ou por não poder comparecer ao acompanhamento ambulatorial (CUSTÓDIO *et al.*, 2013).

O tumor em estágio mais avançado (3 e 4), em regra, exige além da cirurgia primária, o tratamento completo com quimioterápicos (oito meses), Mitotano por, pelo menos, dois anos, e várias cirurgias em virtude das recidivas ou incapacidade de ressecção completa do TCA em uma cirurgia. Além da péssima qualidade de vida frente a estes tratamentos, as chances de sobrevida são muito baixas nesses estádios (MICHAELKIEWICZ *et al.*, 2004).

O cenário ideal é a detecção precoce do tumor que, por vezes, é obstada pelo desconhecimento da população, despreparo da equipe médica, ignorância ou, até mesmo, por fatores culturais. Inclusive, estudo de 2018 (MASTELLARO) aponta o papel determinante exercido pelo pediatra, na atenção primária de saúde, frisando a necessidade de os centros de referência adotarem protocolos terapêuticos e estratégias, possibilitando novas formas de prevenção e medidas preditivas para crianças e parentes.

A identificação da mutação por meio do teste de DNA, utilizando uma gota de sangue do pezinho, viabiliza, conforme estudos de Coorte I e II realizados no Paraná, que se acompanhem os portadores da mutação e, tão logo manifestados os primeiros sinais, se realize exame de imagem e diagnostique o TCA em estágio inicial (COSTA *et al.*, 2019).

2.3 DO COMPARATIVO DO TESTE DE DNA PARA R337H RESPONSÁVEL PELO TCA PEDIÁTRICO E DE OUTRAS DOENÇAS ABARCADAS NO TESTE DO PEZINHO

O teste de triagem neonatal, conhecido como Teste do Pezinho, é previsto no artigo 10, inciso III, do Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA) (BRASIL, 1990), e regulado pela Portaria nº 822/2001 (BRASIL, 2001), do Ministério da Saúde, a qual instituiu o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), com o intuito de aprimorar a triagem já realizada.

O Programa foi delineado em fases, sendo acrescentadas doenças, conforme os avanços conquistados pelos estados, englobando, ao final, fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, fibrose cística, doenças falciformes e outras hemoglobinopatias.

A fase I do PNTN foi universalizada em 2006 (BRASIL, 2012a), envolvendo hipotireoidismo congênito e fenilcetonúria; as fases II (hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria e hemoglobinopatias) e III (hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria, hemoglobinopatias e fibrose cística), em 2013, e a fase IV, em 2014 (hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria, hemoglobinopatias, fibrose cística, hiperplasia adrenal congênita e deficiência da biotinidase). Foi traçada como premissa para a inclusão das doenças a existência de tratamento e medicamento no âmbito do SUS, o que exige estudo de custo-efetividade, em que não apenas se vislumbra a recuperação do montante investido na triagem, mas a determinância na qualidade de vida (BRASIL, 2017a).

Ressalte-se que, por meio da Portaria nº 2.829/2012 (BRASIL, 2012b), o Ministério da Saúde acresceu exames diagnósticos para Hiperplasia Adrenal Congênita e Deficiência de Biotidinase, ou seja, o escopo de acompanhamento de novas doenças diante da inclusão de universalização daquelas contidas nas fases do PNTN persiste e tende ao aumento delimitado principalmente por questões financeiras, podendo-se excogitar, inclusive, sobre a incorporação de testes preditivos, especialmente se o setor público acompanhar as mudanças do privado.

No estado do Paraná, as gotinhas de sangue do pezinho são coletadas na maternidade e submetidas à FEPE (Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional) para análise, sendo posteriormente informada aos responsáveis a existência ou não de alteração e, na sequência, confirmado o diagnóstico com exames

específicos, uma vez que o teste em si não é de diagnóstico, mas de indicação de alteração genética (LEAO; AGUIAR, 2008).

O Teste do Pezinho envolve ao menos cinco etapas (educação, triagem, busca ativa, diagnóstico, tratamento, seguimento e avaliação periódica do programa) e abrange não apenas exame de sangue, mas também de DNA. Assim, se por um lado colabora para o tratamento precoce de doenças, evitando seus piores desfechos, por outro pode gerar falsos negativos e falsos positivos, negligenciando alguns recém-natos (falsos negativos) e ocasionando estresse e ansiedade, ao detectar doenças sem tratamento efetivo, podendo, até mesmo, levar ao questionamento da paternidade (LEAO; AGUIAR, 2008).

O resultado alterado do teste já implica estresse aos pais. Pesquisa realizada por BONATO *et al.* (2005) afirma que a alteração emocional decorre, principalmente, pelo desconhecimento sobre a doença, o que ocasiona ainda medo, tristeza, fragilização.

A fenilcetonúria foi a primeira doença testada por meio da triagem neonatal em 1963, por via da detecção de concentrações de fenilalanina (LEAO; AGUIAR, 2008). Essa desordem genética é decorrente da deficiência ou ausência da enzima fenilalanina hidroxilase e pode ocasionar déficits cognitivos irreversíveis, caso não ajustada a dieta alimentar restrita recomendada por toda a vida da criança (FIGUEIRA *et al.*, 2018).

A fibrose cística é uma doença genética que pode ser fatal, na medida em que decorre de um defeito na proteína reguladora transmembrana, responsável pela condução de cloro, influencia no fluxo de sódio e água, tornando os indivíduos vulneráveis à desnutrição ocasionada pelo desequilíbrio entre ingestão alimentar, gasto e perdas energéticas (CHAVES *et al.*, 2012).

A anemia falciforme é a doença genética de maior prevalência no Brasil. Ela pode envolver anemia crônica, infecções, complicações oculares, cálculo biliar, dactilite (inflamação nos dedos), crise de sequestro (retenção de grande volume de sangue no baço) e acidente vascular cerebral. Ela pode ser tratada por meio de medicamentos, bem como ações terapêuticas - tendo em vista o comprometimento do desenvolvimento emocional, comportamental, cognitivo, acadêmico e social da criança (GARIOLI *et al.*, 2019).

A galactosemia, em sua forma clássica, consiste em uma deficiência enzimática que impossibilita a transformação da galactose em glicose, gerando o acúmulo de

lactose, galactose e metabólicos na corrente sanguínea e nos tecidos, provocando vômitos, diarreias, perda de peso, icterícia, hepatomegalia e ascite, podendo, ainda, evoluir para quadros de cirrose, insuficiência hepática e até mesmo morte por sepse (BRASIL, 2018a).

A hiperplasia adrenal congênita ou hiperplasia congênita da suprarrenal alcança um grupo de síndromes que se denotam por diversas deficiências enzimáticas de síntese (processamento) dos esteroides adrenais. A crise adrenal pode causar desidratação, hipotensão, hiponatremia e hiperpotassemia, resultando no óbito (BRASIL, 2016a).

Se o recebimento de um diagnóstico desfavorável, em momento de vulnerabilidade – dado o recém-nascimento de um filho -, ocasiona forte estresse, revolta, questionamento e culpa, por outro lado é reconfortante a existência de tratamento adequado para amenizar os desconfortos da doença e quiçá, no caso do TCA, obter-se possível cura. Reside neste ponto um dos principais diferenciais entre o teste de DNA para a mutação e as demais doenças abarcadas pelo teste: enquanto estas são diagnosticadas por meio dele, aquele apenas permite o conhecimento da mutação com potencialidade para o desenvolvimento de câncer, portanto tratando-se de teste preditivo.

O teste genético preditivo identifica a probabilidade de desenvolvimento de doenças genéticas, despertando no indivíduo a consciência acerca de medidas preventivas e, conseqüentemente, contribuindo para a diminuição da mortalidade (SALLES, 2010). Para acelerar e facilitar o diagnóstico, a identificação da mutação é imprescindível. Munidos dessa informação, os pais se podem preparar para a possibilidade de um filho desenvolver um TCA.

Destaque-se que não há como evitar o aparecimento de um TCA, e não é possível interferir no controle de natalidade para uma futura mãe ou pai portador da mutação. Quando apenas um deles é portador, a possibilidade de um recém-nascido nascer com a mutação é de 25%. Todavia, o conhecimento precoce sobre a mutação é fator de relevância para a prevenção do câncer, considerando a predisposição genética para o desenvolvimento da doença.

2.4 DAS FORMAS DE INCORPORAÇÃO DE NOVAS DOENÇAS NO ROL DO TESTE DO PEZINHO

A inclusão do teste de DNA para a mutação *TP53* R337H, apesar do caráter preditivo do teste, assemelha-se à incorporação dos testes para anemia falciforme e fibrose cística, diante da identificação de portadores de mutação genética e a relatividade da tratabilidade, de modo que se prioriza o planejamento familiar, mas não se solucionam as questões dos portadores (LEAO; AGUIAR, 2008).

Embora o TCA pediátrico seja uma doença que acontece no Paraná em uma proporção de 1 caso para cada 40 ou 100 portadores da mutação R337H (dependendo de onde vive a criança) (COSTA *et al.*, 2019), é de tratamento impreterivelmente precoce. Ou seja, quando ocorre, os primeiros sinais e sintomas são manifestados geralmente antes dos quatro anos de idade (CUSTÓDIO *et al.*, 2013).

Existem variantes da fenilcetonúria (PKU), sendo que, na sua forma clássica, cuida de doença hereditária ocasionada por desordens no processo bioquímico celular decorrente da deficiência de FAH (MIRA, 2000). Mencionam-se como resultado da forma clássica a despigmentação da pele e cabelos, eczemas, complicações neurológicas e até mesmo autismo e transtornos de comportamento, sintomas que podem ser apresentados após o terceiro mês de vida (MIRA, 2000).

A fenilcetonúria tem sido diagnosticada precocemente por meio do Teste do Pezinho ou triagem neonatal desde 1987, no Paraná (BRANDALIZE; CZERESNIA, 2004), tendo a cobertura progressivamente aumentada. Em nível nacional, em 2001, estimava-se uma cobertura de 50%, tendo-se por bem-sucedido o programa de tratamento e acompanhamento da fenilcetonúria no Paraná, com eficiência de 93,75% nos casos tratados precocemente (BRANDALIZE; CZERESNIA, 2004).

Uma vez detectada a doença, o indivíduo é submetido a uma dieta alimentar capaz de controlar a doença e reduzir o retardo mental, manifestação clínica mais grave da doença (MONTEIRO, 2006).

O TCA, por sua vez, já registrou baixo percentual de sobrevida, quase 50% de chance de óbito, até o ano 2000, calculado a partir de 254 casos do Registro Internacional de Casos Pediátricos (IPACTR), dos quais 50% eram do Paraná (MICHALKIEWICZ *et al.*, 2004), em uma época quando o TCA era pouco divulgado e era comum não especialistas desconhecerem a doença. O percentual persiste elevado, ainda que a taxa de mortalidade global para o TCA pediátrico tenha

registrado baixa, eis que o TCA, nos estádios 3 e 4, conduz o indivíduo a uma série de intervenções médicas que, por vezes, garantem uma sobrevivência e cura por mais de cinco anos. Como o levantamento de casos de TCA do Hospital Pequeno Príncipe deveria respeitar estes cinco anos, esta revisão de casos foi limitada a saber apenas a proporção dos estádios 2, 3 e 4 admitidos nos últimos nove anos para avaliar o grau de conhecimento da população. A rigor, pouco se altera o prognóstico destes estádios e para isto nos baseamos no que já foi documentado (FIGURA 4) por MICHALKIEWICZ *et al.*, (2004).

O Ministério da Saúde reconheceu que o Teste do Pezinho é a forma mais eficaz para diagnosticar a fenilcetonúria, foi adotado como uma rotina em razão ao prognóstico para crianças com deficiência de FAH (fenilalanina), em contraponto com aquelas que não são tratadas e apresentam alto risco de dano cerebral irreversível (BRASIL, 2017b). Referida medida é esperada no que toca ao Teste do Pezinho para a mutação *TP53 R337H* no Estado do Paraná.

O rol de doenças de diagnóstico precoce do Teste do Pezinho pode ser aditado por lei estadual tal qual a Lei nº 6.382/2019 do Distrito Federal, que instituiu o Teste do Pezinho ampliado no Distrito Federal, passando, então, a abarcar 45 doenças, e a Lei nº 23.554/2020 (MINAS GERAIS, 2020) que aumentou em quatro as doenças triadas, incluindo galactosemia e deficiência de enzima desidrogenase de glicose hepática cujos pareceres para incorporação pela CONITEC (Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia) são desfavoráveis (BRASIL, 2018a, 2018b).

Ainda, a ampliação do Teste do Pezinho se pode dar em nível federal, após aprovação de recomendação pela CONITEC (Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologia), ou por meio de Portaria do Ministério da Saúde, ou via lei federal, por iniciativa da Câmara dos Deputados, do Senado Federal ou da população.

Em síntese, o rol é ampliado por razões de política pública, sendo certo que até mesmo decisão judicial (BRASIL, 2018b) no âmbito do estado de São Paulo já provocou o aditamento da relação com base em estudos científicos e no princípio da justiça, uma vez que determinadas doenças são contempladas pelo teste realizado na rede privada.

2.4.1 Do Teste do Pezinho e da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde

A Portaria nº 822 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001) implementou o Programa de Triagem Neonatal Nacional, determinou como sua competência estabelecer o rol de doenças a serem triadas (item 1, “a”), adotando-se critérios específicos.

Tomando por base dados do Comitê Nacional de Triagem do Reino Unido, compreende-se que, para inclusão em um programa de triagem, a doença deve caracterizar-se como um problema relevante de saúde pública; ter a sua história natural compreendida, e ainda:

[...] ser passível de diagnóstico no período pré-sintomático ou sintomático inicial; o teste deve ser simples, seguro, confiável, barato e aceitável pelas pessoas que serão triadas; associar-se a valores bem estabelecidos e que separem claramente os indivíduos “em risco” daqueles “sem risco” (pontos-de-corte); ser sucedido, nos casos positivos, pela investigação diagnóstica; associar-se a um risco de causar danos físicos e/ou psicológicos às pessoas triadas menor do que a chance de que elas sejam beneficiadas pela triagem. O tratamento deve ser efetivo; associar-se a um melhor prognóstico caso seja iniciado em período assintomático ou sintomático inicial da doença. O programa de triagem deve ser clinicamente, socialmente e eticamente aceitável; associar-se a acesso igualitário; ser custo-efetivo; possuir estrutura de suporte que garanta e que controle a sua qualidade. (SOUZA; SCHWARTZ; GIUGLIANI, 2002, p.131).

As mães dos recém-nascidos no pré-aconselhamento nas maternidades, ao ler e fazer perguntas sobre o texto do Termo de Consentimento mutação, aceitaram participar do monitoramento das crianças (CUSTÓDIO *et al.*, 2013).

Analisando de forma concreta, a incorporação de outros testes no Programa Nacional de Triagem Neonatal, em especial o teste para hiperplasia adrenal congênita e a deficiência de biotinidase, evidencia-se terem sido levados em consideração estudos científicos nacionais e internacionais, recomendando a triagem para as citadas doenças; estudos nacionais justificadores da importância epidemiológica; avaliação custo-benefício; recomendações do Grupo de Assessoramento Técnico para estabelecimento de normas técnicas para triagem de recém-nascido (BRASIL, 2012b).

Trazendo tais considerações para o objeto da pesquisa, compreende-se, pelo atendimento de todos os requisitos já considerados na incorporação das doenças

atualmente constantes no rol do Programa Nacional de Triagem Neonatal, que é passível de análise e aprovação pela Comissão Nacional de Incorporação de Novas Tecnologias (CONITEC).

A CONITEC exsurgiu da Lei nº 12.401/2011 (BRASIL, 2011a). O Decreto 7.646/2011 a definiu como:

(...) órgão colegiado de caráter permanente, integrante da estrutura regimental do Ministério da Saúde, tem por objetivo assessorar o Ministério da Saúde nas atribuições relativas à incorporação, exclusão ou alteração pelo SUS de tecnologias em saúde, bem como na constituição ou alteração de protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas (BRASIL, 2011b).

Assim, a CONITEC é responsável pela incorporação de novas tecnologias, adotando critérios de eficácia, eficiência e efetividade em atenção à saúde, determinando a relevância do que se pretende incorporar consoante relação custo-efetividade, emitindo relatórios a embasar as decisões adotadas pelo Ministério da Saúde.

Conforme disposto no artigo 15, §1º, do Decreto nº 7.646 (BRASIL, 2011b), a incorporação de novas tecnologias ou alteração de protocolos e diretrizes terapêuticas devem ser precedidas de processo administrativo, iniciado com a protocolização de pedido pelo interessado na Secretaria-Executiva da CONITEC, sendo que, dentre os requisitos a serem preenchidos, é imprescindível demonstrar que a tecnologia é tão eficaz e segura quanto a já incorporada pelo SUS (Sistema Único de Saúde), sob pena de arquivamento do pedido pela Secretaria da Saúde, cabendo recurso ao Ministro Estadual da Saúde.

A incorporação do exame de DNA para detecção da mutação R337H no gene *TP53* em todos os recém-nascidos no Paraná e em Santa Catarina implica um novo protocolo, dada definição concebida pela Lei nº 12.401 (BRASIL, 2011a): "(...) documento que estabelece critérios para o diagnóstico da doença ou do agravo à saúde; (...) os mecanismos de controle clínico; e o acompanhamento e a verificação dos resultados terapêuticos (...)."

Neste cenário de busca de determinação de diversos testes/exames, visando à extensão do Teste do Pezinho e à obrigatoriedade de submissão do recém-nascido a outros testes em prol da prevenção e maximização da cura, exsurgiu o Projeto de Lei Federal nº 484/2011 (BRASIL, 2011c), o qual propõe a alteração do artigo 10 do

ECA (BRASIL, 1990), acrescentando-lhe parágrafo único, a fim de impor o Teste do Pezinho expandido, nos seguintes termos:

Parágrafo único. No âmbito do Sistema Único de Saúde, os exames de que trata o inciso III são os que compõem o “Teste do Pezinho expandido”, cuja relação de doenças por ele diagnosticadas será definida pelo órgão competente, ou outro conjunto de exames que possibilite o diagnóstico ou a triagem de um número maior de doenças (BRASIL, 2011c, não p.).

Tal projeto apenas reforça a competência da CONITEC para a incorporação da doença, no caso, o TCA, em eventual tentativa de expansão do rol do Teste do Pezinho em nível federal (uma vez que, nos estados, há autonomia para os entes o fazerem), após análise profunda do custo-efetividade. No que toca à efetividade, as pesquisas acerca do TCA são clarividentes sobre a conexão entre a identificação da mutação e o desenvolvimento da doença em parte dos portadores, conduzindo a um diagnóstico prévio e alcance de cura de quase 100%. Quanto à análise de custo, o presente estudo visa conferir informações e argumentos mínimos para considerações futuras.

2.4.2 Da judicialização do Teste do Pezinho

Observa-se, de forma pontual, o Poder Judiciário ao superar os entraves para ampliação do Teste do Pezinho, tornando obrigatório o teste para doenças não abarcadas no rol e com incorporação já negada pela CONITEC (âmbito federal).

Cite-se como exemplo a decisão exarada pela 4ª turma do Tribunal Regional Federal da 3ª Região (BRASIL, 2018b), que obrigou o estado de São Paulo a custear o Teste do Pezinho ampliado (Toxoplasmose Adrenal Congênita, Glicose-6-fosfato Desidrogenase (G6PD) e Galactosemia), enquanto este resiste sustentando que a ampliação seria competência da Comissão Nacional de Incorporação de Novas Tecnologias (CONITEC) do SUS.

Curioso que, em um primeiro momento, a Ação Civil Pública movida pelo Ministério Público Federal foi julgada improcedente, reverteu-se o resultado pelo Tribunal, via remessa necessária¹, tomando-se por base a necessidade de controle

¹ Conforme previsão do artigo 496 do Código de Processo Civil (BRASIL, 2015b), a remessa necessária é a sujeição da sentença ao duplo grau de jurisdição, ou seja, submissão obrigatória à revisão pelo

judicial das políticas públicas em casos excepcionais e primando pelo direito à saúde e solidariedade dos entes do poder público para tal garantia, afastou-se, então, a reserva do possível pela necessidade de efetivação do mínimo existencial².

Saliente-se que referida ação foi movida pelo Ministério Público em um atendimento à súplica de pais que observavam filhos de pessoas com melhor condição financeira obterem o exame quando do nascimento, enquanto os seus eram negligenciados por um estado que não reconhecia a importância e impacto do exame que já foi incorporado em Goiás e Santa Catarina e há mais de 10 (dez) anos é realizado na rede privada.

No caso em discepção, a decisão pautou-se no fato da triagem não se materializar como inovação da medicina, reconhecendo-se sua eficácia, importância e essencialidade, não podendo o Estado olvidar-se de oferecê-la à população. Vale a constatação inserida no julgado no sentido de que:

Seria uma distorção pensar que o princípio da separação dos poderes, originalmente concebido como escopo de garantia dos direitos fundamentais, pudesse ser utilizado justamente como óbice à realização dos direitos sociais, igualmente importantes (BRASIL, 2018b).

Assim, não foi acatada a alegação de que a incorporação das novas doenças ao teste dependeria de aprovação da CONITEC.

A decisão é interessante eis que aponta maior facilidade na incorporação do teste em âmbito estadual e contraria os esforços até então engendrados para que outras doenças sejam englobadas pelo Teste do Pezinho nacionalmente, em especial quando se observa o histórico de tentativa de efetivação do teste da galactosemia (BRASIL, 2018a). No caso, a CONITEC negou a recomendação da inclusão do teste sob o argumento de insuficiência da evidência existente para estabelecer a adequação do rastreamento para galactosemia em recém-nascidos, encaminhando a matéria para consulta pública.

É inequívoco que, uma vez incorporados na Triagem Neonatal os testes de toxoplasmose congênita, deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase e

tribunal (independentemente de recurso interposto pelas partes). Essa regra se aplica quando a decisão é proferida em desfavor da União, Distrito Federal, estados e municípios.

² Toda a pessoa tem direito a um nível de vida suficiente para lhe assegurar e à sua família a saúde e o bem-estar, principalmente quanto à alimentação, ao vestuário, ao alojamento, à assistência médica e ainda quanto aos serviços sociais necessários, e tem direito à segurança no desemprego, na doença, na invalidez, na viuvez, na velhice ou noutros casos de perda de meios de subsistência por circunstâncias independentes da sua vontade. (ONU, 1948).

galactosemia, dispensarão o consentimento dos pais, dada a patente obrigatoriedade imposta pelo poder público, o qual elege as doenças a serem incluídas no teste de triagem neonatal, presumindo-se atender ao melhor interesse da criança e dispensa-se o consentimento parental.

Embora inexista escolha sobre a submissão da criança ao teste, sua realização exige que se confira aos pais toda a informação necessária, sob pena de inocuidade daquele. Busca-se o diagnóstico precoce e uma melhor qualidade de vida da criança, o que apenas se efetiva mediante conscientização e adoção de medidas adequadas e razoáveis em prol dos indivíduos afetados.

Dessa forma, se por um lado há extrema dificuldade na incorporação legal de novas doenças ao rol do Teste do Pezinho, por outro o Poder Judiciário se pode mostrar favorável à imposição da expansão do teste consoante realidade local.

2.5 DA TENTATIVA DE TORNAR O TESTE PARA A MUTAÇÃO *TP53* R337H OBRIGATÓRIO NO PARANÁ

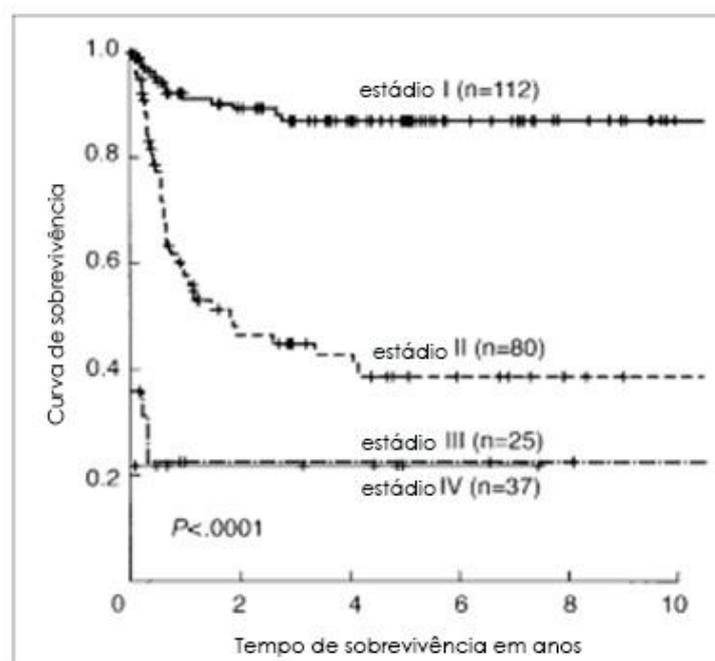
A alta incidência do TCA combinada com a mutação *TP53* R337H no Estado do Paraná despertou interesse da classe política, em especial do Poder Legislativo. Em 16 de junho de 2008, Pedro Ivo Ilkiv, à época deputado estadual, propôs o Projeto de Lei nº 268/2008 (PARANÁ, 2008), com a finalidade de tornar obrigatória a realização do exame de DNA para detecção da mutação R337H no gene *TP53* em todos os recém-nascidos no Paraná, prevendo o fornecimento gratuito do teste, tanto na rede pública como na privada, bem como determinando o acompanhamento das crianças e realização de ecografia abdominal a cada seis meses, até os quatro anos de idade e, posteriormente, até os 15 anos, a cada 12 meses.

Adiante-se aqui que esse acompanhamento foi inicialmente proposto (e repassado ao Deputado Pedro Ivo pela equipe médica do Instituto Pelé Pequeno Príncipe) como medida necessária. Porém, no acompanhamento de centenas de crianças entre 2006 e 2013, a equipe do Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe percebeu que tal acompanhamento ambulatorial não é necessário, uma vez que a cura do TCA acontece em mais de 90% das crianças apenas com orientação e aconselhamento genético (COSTA *et al.*, 2019), o que simplificou e reduziu significativamente o custo da vigilância oncológica após o Teste do Pezinho.

O determinante para o cenário positivo foi o preparo dos pais que foram eficientes na identificação dos sinais e sintomas do tumor, modificando-se apenas o tamanho deste, apesar de um pouco maior, totalmente ressecável. Neste protocolo, o custo ficou apenas no teste, no treinamento dos pais e no contato periódico a distância entre a equipe do Pequeno Príncipe e a família.

No Projeto de Lei de Pedro Ivo, restaram elencados os seguintes motivos para a sua aprovação: a) o TCA é geralmente maligno; b) o diagnóstico tardio de 254 casos de TCA de várias partes do mundo (MICHALKIEWICZ *et al.*, 2004), diagnosticados entre 1980 e 2003 levou a estádios mais avançados com sobrevida global em torno de 50%, e, considerando apenas os estádios 3 e 4, a sobrevida foi de 21% (7/62) (FIGURA 4); c) estimativas de 15-18 novos casos anualmente no Paraná, a maioria acontecendo entre crianças de zero a quatro anos; d) crianças com diagnóstico em estádios avançados são operadas até 10 vezes, com baixo resultado (1-2 em 10 se salva(m)); e) já foi demonstrada cura em 100% das crianças (que desenvolveram TCA) regularmente monitoradas após o teste na maternidade. Outrossim, destacou-se a necessidade de se primar pela qualidade de vida e evitar futura sobrecarga da saúde pública com casos que poderiam ter sido diagnosticados precocemente, aumentando a chance de cura.

FIGURA 4 - SOBREVIDA EM RELAÇÃO AO ESTÁDIO DE CASOS DE TCA QUE ACONTECERAM ENTRE 1970-2000.



FONTE: MICHALKIEWICZ *et al.* (2004).

Chamada a se pronunciar acerca da viabilidade do projeto, a Secretaria de Saúde do Estado do Paraná, em 21 de novembro de 2008, frisando o fato de que em 2007 o número de nascidos vivos foi de 115.181 e de que o teste proposto teria o custo estimado de R\$5,00 naquele de ano, sugeriu modificações ao projeto, de modo que a coleta apenas ocorresse em hospitais de referência e que o acompanhamento das crianças se desse em seus municípios, consoante programa por estes desenvolvido, sem imposição de periodicidade com exames médicos e laboratoriais e de quais exames deveriam ser realizados.

Em parecer, o relator deputado Luiz Cláudio Romanelli pontuou pela inadmissibilidade do projeto, uma vez que a disposição sobre criação, estruturação e atribuição das Secretarias de Estado e órgãos da Administração Pública seria de competência exclusiva do governador, ao que a iniciativa do projeto restaria viciada. Outrossim, argumentou pela imprescindibilidade de inclusão dos testes no Plano Plurianual e na Lei de Diretrizes Orçamentárias, sob pena de ilegalidade do projeto proposto.

Sustentou-se que o obstáculo não se resume à questão orçamentária, especialmente porque é de competência da Assembleia dispor sobre o Plano Plurianual e Orçamentos Anuais, consoante artigo 53, I, da Constituição do Estado do Paraná (PARANÁ, 1989), cuidando-se, sim, de competência exclusiva, fulcrada no artigo 66, IV, da Constituição Estadual do Paraná (PARANÁ, 1989): “*Art. 66. Ressalvado o disposto nesta Constituição, são de iniciativa privativa do Governador do Estado as leis que disponham sobre: IV - criação, estruturação e atribuição das Secretarias de Estado e órgãos da Administração Pública*”. Nesse palmar, inexistido interesse do Governador do Estado do Paraná em suportar tal projeto, restou inviabilizado seu progresso.

Outros esforços para instituir a obrigatoriedade do teste para o TCA se evidenciaram em 2011, quando o então deputado Alexandre Curi propôs o Projeto de Lei nº 262/2011 (PARANÁ, 2011), sem qualquer adequação ao Projeto de Lei nº 268/2008 (PARANÁ, 2008), tampouco com justificativa modificada, nenhum dado acrescido ou sugestões acatadas, apenas sendo feita a seguinte observação: “(...) o projeto é muito importante para a população paranaense” (PARANÁ, 2008, p. 3).

Nessa oportunidade, contudo, o relator Deputado Tadeu Veneri ressaltou que, não obstante a previsão do artigo 66 da Constituição Estadual (PARANÁ, 1989), outrora utilizado para afastar a competência do deputado Pedro Ivo, não restaria

usurpada a competência do governador, já que se visou regulamentar atividade já existente, não se tratando de criação de nova obrigação à Secretaria de Saúde.

Em junho de 2011, novo parecer foi emitido pela Comissão de Constituição e Justiça, constando como relator o Deputado Ademar Traiano (atual presidente da ALEP, ex-advogado e em seu oitavo mandato), o qual reiterou pela inconstitucionalidade do projeto, diante do vício de iniciativa. Irresignado, Alexandre Curi interpôs recurso, o qual foi provido para a inclusão do projeto em pauta para nova deliberação, que foi inexitosa, mantendo-se a inconstitucionalidade, dessa vez, por parecer do relator Deputado Nereu Moura.

Em que pese a frustração na aprovação dos mencionados projetos, o cenário presente é propício para a extensão do Teste do Pezinho, sendo o movimento legislativo no âmbito federal neste sentido, existindo diversas proposições de leis ordinárias por membro/comissão da Câmara dos Deputados Senado Federal, conforme autoriza o artigo 61 da Constituição Federal (BRASIL, 1988).

Não apenas se observa a evolução legislativa em prol da Política Nacional às Pessoas com Doenças Raras (BRASIL, 2014a), mas projetos no sentido de aprovar exames/testes voltados aos recém-nascidos para diagnóstico precoce de doenças como fibrose cística pelo Projeto de Lei nº 5.946/2016 (BRASIL, 2016b) da deputada federal Laura Carneiro, desarquivado em 19.02.2019; Projeto de Lei nº 4.211/2015 do deputado federal Marcelo Belinati (BRASIL, 2015a), acerca da cardiopatia; Projeto de Lei nº 2.818/2011 do deputado federal Eleuses de Paiva (BRASIL, 2011d), sugerindo a instituição de testes como o do coraçãozinho ou oximetria de pulso; teste do quadril ou manobras de Barlow e Ortolani, por meio do Projeto de Lei nº 7.497/2014 (BRASIL, 2014b), teste do olhinho, dentre outros.

Dados os avanços dos estudos pela equipe do Pequeno Príncipe, a qual acrescentou também o mapeamento dos estados do Paraná e Santa Catarina, identificando-se a frequência da mutação R337H em todas as regionais de saúde, tem-se por superadas algumas questões outrora levantadas, como a periodicidade de exames e a necessidade de acompanhamento pelo município mediante programa próprio.

Frise-se que, no final dessa pesquisa de 2013, os próprios pesquisadores perceberam também que havia uma pequena diferença entre os TCAs muito pequenos identificados por meio de exames periódicos (CUSTÓDIO *et al.*, 2013) e os TCAs identificados pelos pais treinados para perceberem as manifestações clínicas

dos portadores de R337H, que revelaram TCAs apenas um pouco maiores e também se curaram (COSTA *et al.*, 2019).

Assim, fica evidente a efetividade do aconselhamento genético dos pais e parentes associado a treinamento especializado e suporte psicológico, em três sessões, de três horas, com dois meses de intervalo, realizando-se exames apenas para esclarecer suspeitas de possíveis manifestações do TCA ou outros cânceres, conforme informações manifestadas pelos parentes por meio de contato telefônico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de pesquisa descritiva, documental e exploratória, a qual utilizou como referencial teórico os mapeamentos realizados no Paraná e em Santa Catarina.

É classificada como descritiva, na medida em que descreve a população pediátrica de risco nos estados do Paraná e de Santa Catarina, sendo essencialmente documental diante das fontes de dados, quais sejam, documentos em Excel que foram disponibilizados pelo Hospital Pequeno Príncipe (HPP) e pelas Secretarias de Saúde do Paraná (SESA/PR) e de Santa Catarina (SES/SC).

O caráter qualitativo se apresenta pela articulação entre os dados numéricos e conclusões, mediante interpretação e análise profunda sobre os números de internações e custos, buscando responder ao questionamento sobre a viabilidade/necessidade de repositura do projeto de lei para tornar obrigatório o Teste do Pezinho para a mutação *TP53 R337H*.

3.1 ESTIMATIVA E ANÁLISE DA POPULAÇÃO PEDIÁTRICA EM RISCO DE DESENVOLVIMENTO DO TCA NO PR E EM SC

Preliminarmente, visando traçar um perfil da população pediátrica em risco e atender aos objetivos 1 e 2, foi realizada revisão de dados bibliográficos sendo utilizados os dois mapeamentos (segundo atualizado no Paraná e o primeiro de Santa Catarina), os cálculos de risco para portadores da mutação, frequência da mutação nos TCAs, dados do segundo protocolo de diagnóstico rápido do TCA, baseado no teste neonatal da mutação com orientação para os pais (COSTA *et al.*, 2019).

3.2 COMPARATIVO DA FREQUÊNCIA DE TCA, FIBROSE CÍSTICA E FENILCETONÚRIA

Para a comparação das taxas de incidência do TCA, fenilcetonúria e fibrose cística foi utilizada revisão bibliográfica. Foram selecionados artigos e documentos que apresentavam estimativas de frequência desses eventos, priorizando-se aqueles que representavam os estados do Paraná e Santa Catarina.

3.3 DETERMINAÇÃO DE CUSTOS DOS MEDICAMENTOS (QUIMIOTERÁPICOS E MITOTANO)

Em conformidade com o Protocolo seguido no Hospital Pequeno Príncipe (CHILDREN'S ONCOLOGY GROUP, 2013), foram descritos os valores correspondentes aos princípios ativos componentes da quimioterapia e do mitotano para o TCA. As tabelas da Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED), atualizada até 2019 (ANVISA, 2019), considerando o valor máximo de medicamento e a taxa de imposto sobre circulação de mercadorias e prestação de serviços de transporte interestadual e intermunicipal e comunicação (ICMS) para o estado do Paraná, basilaram os custos de medicamentos e de procedimentos no âmbito do SUS. Adicionalmente foi utilizado o Banco de Preço em Saúde (BPS) (BRASIL, 2020b) e Tomada de Preço realizada pelo Hospital de Clínicas da UFPR (2019) a fim de conferir fidedignidade aos valores trabalhados em uma perspectiva de preço SUS. A busca no BPS se deu segundo manual disponibilizado no sítio eletrônico, utilizando-se o nome do princípio ativo do medicamento. A Tomada de Preço feita via pregão eletrônico reclamou consulta simples do melhor lance para cada medicamento.

Ressalve-se que o gasto estimado com medicamento não reflete o que é efetivamente despendido pelo estado, na medida em que o hospital que realiza o atendimento via SUS é ressarcido apenas parcialmente quanto a aquisição de medicamentos oncológicos devendo observar limitações impostas pelo Sistema de Autorização de Procedimentos de Alta Complexidade/Custo (APAC).

3.3.1 Custo do monitoramento da criança

O custo do monitoramento considerou a estimativa do valor do teste conforme informação da equipe de pesquisa do Instituto Pelé Pequeno Príncipe, o número de nascidos vivos tabulado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e o percentual de parentes que poderão ser portadores da mutação em consonância com a revisão bibliográfica. O número total de recém-nascidos portadores da mutação *TP53* R337H por ano no Paraná e Santa Catarina precisaria passar pelo aconselhamento genético, suporte psicológico e treinamento dos pais para percepção dos sinais e sintomas do TCA. Médicos e enfermeiros do sistema público poderiam

ser preparados por profissionais do Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe. Os profissionais que já pertencem aos quadros dos municípios e/ou do estado acumulariam a função de monitoramento e diagnóstico precoce do TCA.

3.3.2 Custos não considerados para fim de comparação entre estágio inicial e estágios avançados de TCA, bem como no monitoramento.

Custos adicionais foram mencionados, conforme previstos no Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e OPM do SUS (SIGTAP) (BRASIL, 2020a), mas não se calculou o número de exames, consultas médicas de rotina e de aconselhamento genético para a criança não monitorada. Não foram contabilizados os custos hospitalares para os casos avançados, sendo exclusivamente considerados os valores atribuídos à aquisição de medicamentos para fim de quimioterapia.

Não foram analisados custos indiretos, como o valor correspondente pela mortalidade e morbidade, tampouco foi avaliada a questão da produtividade da força de trabalho e o aumento de bens de consumo, especialmente pela inviabilidade de se definir um perfil econômico da população atingida e pelo pequeno número de indivíduos afetados, eis que se cuida de doença rara, não se fazendo a avaliação econômica da vida humana (ARAÚJO *et al.*, 1975), tampouco dos custos intangíveis (dor, angústia, sofrimento). No tocante ao monitoramento, desconsideraram-se gastos com deslocamento dos pais e tempo útil despendido. Frise-se que, de acordo com as Diretrizes Brasileiras de Avaliações Econômicas (BRASIL, 2014c), estudos sob a perspectiva do SUS consideram somente custos diretos.

Ressalve-se que os valores apontados são anteriores ao início da pandemia da COVID-19 no Brasil, sendo prudente observar que, em 2019, o valor médio do dólar comercial para venda foi de R\$3,94 (IPEADATA, 2020). Sabe-se que os valores utilizados em real foram de registros atualizados anteriormente, pelo menos dois/três anos antes.

3.4 PROPORÇÃO DE CASOS DE TCA NOS ESTÁDIOS, 1, 2, 3 E 4 NO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE

O cálculo de proporção de casos 2, 3 e 4 em relação ao desejado (início do estágio 1) pautou-se em dados compilados em documento Excel fornecido pelo Hospital Pequeno Príncipe mediante consulta de prontuário médico, discriminando data de nascimento, data da descoberta, estágio, peso e dimensão do tumor e lapso temporal entre sintomas e encaminhamento para o hospital. Entretanto, o estágio 1 ainda tem seus extremos, tumores pequenos e grandes pertos de 100 g, e o que se deseja é o estágio 1 com menos de 50 g que se detecta quase sempre quando o diagnóstico é feito nos primeiros dias que surgem os sinais e sintomas. O estudo comparativo dos estágios de pacientes do Pequeno Príncipe excluiu todos os outros pacientes que tiveram algum vínculo com projetos desta instituição facilitando o diagnóstico. Este hospital representa apenas uma parcela do total de casos do estado, mas é útil como referência porque é um hospital que atende SUS e planos de saúde, ou seja, todas as classes socioeconômicas. O número total de casos no estado foi deduzido a partir do registro da SESA, entretanto sem considerar os hospitais onde foram admitidos.

A coleta abarcou os casos admitidos no Hospital Pequeno Príncipe no período de 2011 a 2019, sendo eliminados aqueles alcançados pelo monitoramento realizado através do teste para a mutação R337H. Estes casos foram excluídos porque tiveram ajuda e seguiram orientações para diagnóstico rápido. O que se pretende é saber o atraso no diagnóstico dos pacientes que não tiveram este auxílio.

3.5 REFLEXOS DA PESQUISA NO PROJETO DE LEI Nº 262/2011

Para atender ao objetivo 5, voltado à propositura de um novo Projeto de Lei para tornar obrigatório o Teste do Pezinho para a mutação R337H no Paraná e em Santa Catarina em recém-nascidos de famílias com pelo menos um caso de câncer, associado a treinamento dos pais após o aconselhamento genético, realizou-se a revisão dos projetos de lei propostos na Assembleia Legislativa do Paraná, via consulta dos documentos digitalizados no sítio do órgão público.

3.6 COMITÊ DE ÉTICA

Este pequeno estudo é um complemento do projeto principal sobre o diagnóstico precoce do TCA pediátrico a partir do teste do pezinho e do monitoramento. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Pequeno Príncipe (CAAE nº 50622315.0.0000.0097) sem a utilização do termo de consentimento, visto que não envolveu interação com participantes humanos ou identificação dos pacientes ou famílias. Os dados foram restritos ao sexo, idade, duração das manifestações clínicas antes do diagnóstico do ACT, estadiamento do tumor e custo da medicação.

4 RESULTADOS

4.1 COMPARATIVO DA FREQUÊNCIA DE TCA, FIBROSE CÍSTICA E FENILCETONÚRIA

Identificou-se a frequência da mutação *TP53* R337H e do TCA no Paraná e se comparou o TCA com outras doenças abrangidas pelo Teste do Pezinho.

Analisando exclusivamente o Paraná, extraiu-se que a incidência anual de Fenilcetonúria e Fibrose Cística é de oito e cinco casos, respectivamente, enquanto a do TCA é de 16 casos (todos portadores da mutação R337H) ao ano, em razão da mutação, e de dois casos ao ano, por causa desconhecida no Paraná, e apenas um em Santa Catarina (TABELA 1).

TABELA 1 - TABELA COMPARATIVA ENTRE INCIDÊNCIAS DE TCA, FC E FKU

	População	Nascidos Vivos por ano	Frequência <i>TP53</i> R337H	Total de Portadores na população total	Total com e sem a mutação	Total de FC	Total de FKU
PR	11 milhões ^a	157.701 ^b	3.06/1000 ^c	33.600 ^c	16+2 ^c	15/ano ^d	8/ano ^e
SC	7 milhões ^a	88.772 ^b	2.4/1000 ^c	16.800 ^c	8+1 ^c	12/ano ^d	5/ano ^e

FONTE: Adaptada de IBGE (2019a, 2019b)^a; DATASUS (BRASIL, 2017c)^b; COSTA *et al.*, 2019^c; BRASIL (2017d, 2017e)^{d; e}.

NOTA: Fenilcetonúria (FKU); Fibrose Cística (FC).

O valor do teste para detecção da mutação *TP53 R337H* é de aproximadamente R\$12,00, considerando preço praticado por laboratório comercial, ou apenas R\$3,50, tendo em conta apenas o teste realizado por laboratório de pesquisa ou serviço público, conforme custos levantados nas duas campanhas de testes em recém-nascidos do Paraná e de Santa Catarina realizadas pelo Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe. Este valor do dólar foi mantido, mesmo sabendo que em 30 de outubro subiu para R\$5,39.

4.2 CENÁRIO SESA/PR E SES/SC

Conforme planilha de dados disponibilizada pela SESA (2007-2018) depreende-se que, dos 134 pacientes com TCA (com idade de até 17 anos) admitidos nos hospitais com atendimento SUS (TABELA 2), e sob os seguintes pressupostos: a) o estágio 1 é representado por aqueles que apenas tiveram uma internação para cirurgia, b) o 2 é composto por pacientes que não se submeteram à quimioterapia e que tiveram uma intercorrência clínica e passaram ou não por cirurgia; c) os 3 e 4 consistem nos indivíduos submetidos à quimioterapia, procedimento de colocação e remoção de cateter, cumulados com internação por intercorrência clínica ou tratamento oncológico, o número de internações nos estádios mais avançados em comparação com o estágio 1 em número absoluto foi 23 vezes maior (459 [32+427] *versus* 20). Se for levada em conta a média de internações pelo número de crianças, apura-se que os estádios mais avançados demandaram uma média de quatro internações por criança, ou seja, quatro vezes mais que no estágio 1.

TABELA 2 - CRIANÇAS COM TCA CONFORME REGISTRO DA SESA/PR

ESTÁDIO	NÚMERO DE CRIANÇAS	CIRURGIAS	INTERNAÇÕES
1	20	20	20
2	22	>22	32
3 e 4	92	-	427
TOTAL	134	-	479

FONTE: Adaptada de Secretaria da Saúde Estado do Paraná (SESA/PR) (2007-2018).

Em Santa Catarina, em que pese o registro de 50 casos (indivíduos com menos de 18 anos), o número de internações nos estádios mais avançados supera em cinco vezes os identificados em estágio inicial (125 [29+96] *versus* 08), conforme

demonstrado na TABELA 3. No que concerne à média de internações, os estádios mais avançados levaram a três vezes mais internamentos.

TABELA 3 - CRIANÇA COM TCA CONFORME REGISTRO DA SES/SC

ESTÁDIO	NÚMERO DE CRIANÇAS	CIRURGIAS	INTERNAÇÕES
1	08	08	08
2	20	> 20	29
3 e 4	22	-	96
TOTAL	50	-	133

FONTE: Adaptada de Secretaria da Saúde do Estado de Santa Catarina (SES/SC) (2007-2017).

Conferindo-se atenção ao percentual do grupo de casos de TCA nos estádios 2, 3 e 4 como representativos de maior demora no diagnóstico, comparados com os do estágio 1, verifica-se que no Hospital Pequeno Príncipe (TABELA 4), o número de crianças diagnosticadas com TCA nos estádios de pior prognóstico (2, 3 e 4) superou mais da metade do estágio inicial. E ainda, mesmo sabendo que o estágio 1 encontrado foi o melhor resultado, não é este grupo de pacientes do estágio 1 o melhor exemplo, porque neste há ainda os que demoraram muito mais do que duas semanas para serem diagnosticados e alguns tumores foram maiores.

TABELA 4 - CASOS DE PACIENTES COM TCA ADMITIDOS NO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE (2011-2019)

Estádio	N (%)	Peso do tumor principal	Tempo entre sintoma e encaminhamento para o hospital	Resultado
1	5 (27,7%)	38,2±20,6	4,6±3,2	Vivos e sem recidivas.
2, 3 e 4	13 (72,2%)	251,4±139,9	5,3±3,2	Registradas 4 mortes (estádios 3 e 4) e 2 recidivas.

FONTE: Hospital Pequeno Príncipe (2011-2019).

4.3 LEVANTAMENTO DE CUSTOS

4.3.1 Custos da quimioterapia e do mitotano

Nota-se, então, ser imprescindível considerar o custo da quimioterapia administrada de regra aos pacientes com TCA em estágio 3 ou 4 (TABELA 5).

No tocante ao estágio 2, especificamente, a prática demonstra que normalmente não se aplica quimioterapia. Todavia, é recomendado o retorno mensal dos pacientes identificados nos primeiros seis meses, e, após tal período, as consultas são espaçadas até que se completem cinco anos de tratamento (ainda que não se submeta à quimioterapia, para ele é administrado o Mitotano). Ressalve-se que, se o paciente possui a mutação, superado o quinquênio, é efetuado anualmente. Aos pacientes a que se propõe a quimioterapia, o retorno se dá semanalmente até o fim do protocolo (oito ciclos de quimioterapia e dois de Mitotano) e, após, uma vez por mês nos primeiros seis meses e, depois, as consultas são espaçadas, observando as individualidades dos casos.

Feita a reserva, admite-se que o tratamento dos estádios mais avançados consiste em oito ciclos de quimioterapia e dois anos de administração de Mitotano, em conformidade com o Protocolo observado no Hospital Pequeno Príncipe (CHILDREN'S ONCOLOGY GROUP, 2013) e elaborado pelo Grupo de Oncologia de Crianças.

De acordo com dados da CMED (ANVISA, 2019) aplicáveis ao estado do Paraná e licitação promovida pelo Hospital de Clínicas da UFPR (2019), considerando apenas os medicamentos em seu uso hospitalar e a correspondência com o Protocolo utilizado no Hospital Pequeno Príncipe (CHILDREN'S ONCOLOGY GROUP, 2013), colheu-se o seguinte:

O Mitotano³ deve ser administrado por dois anos. O tratamento adaptado para crianças (4 g/m²/dia) é variável para atingir e manter determinado nível sanguíneo (PEREIRA *et al.*, 2004).

A Cisplatina é recomendada na dose de 50 mg/m² e seu preço varia na CMED de R\$134,45⁴ até R\$26,83⁵ (frascos de 10 ml a 50 ml), pelo que se considerou o valor sugerido pelo BPS (BRASIL, 2020b) de R\$29,00 a unidade do frasco de 50 ml.

O Etoposídeo na dose 100mg/m² tem preço variado de R\$428,73 até R\$724,78 na CMED (ANVISA, 2019), sendo todos os medicamentos contidos na relação similares ao Vepesid, injetáveis e de uso restrito hospitalar. Em recente pregão

³ Código 505102801110317 - LISODREN (BRISTOL-MYERS SQUIBB).

⁴ Código 522238503154413 PLATISTINE CS (S PFIZER) 1 MG/ML SOL INJ CT 1 FA PLAS TRANS X 50 ML.

⁵ Código 522212090054503 PLATISTINE CS (S PFIZER) 1 MG/ML SOL INJ CT 1 FA PLAS TRANS X 10 ML (REST HOSP).

realizado pelo Hospital de Clínicas da UFPR (2019), o melhor lance para aquisição do medicamento foi de R\$28,98 (frasco com 5 ml).

A Doxorrubicina, 25 mg/m²/dose que varia de 210,64 a 219,76 pela CMED (ANVISA, 2019), tem registro de preço de R\$51,00 pelo Hospital de Clínicas da UFPR (2019), considerando o frasco de 50 mg.

TABELA 5 - CUSTOS DO TRATAMENTO PARA TCA COM MEDICAMENTOS: QUIMIOTERAPIA (OITO CICLOS) E MITOTANO (DOIS ANOS)

	Etoposídeo	Cisplatina	Doxorrubicina	Mitotano
Valor Individual	R\$28,98 ^a	R\$29,00 ^b	R\$51,00 ^a	R\$1205,05^d
Caixas	8	8	8	59
Custo	R\$231,84	R\$232,00	R\$408,00	R\$71.097,95
Custo total por paciente	R\$71.969,79			

FONTE: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (2019)^a; Banco de Preços em Saúde (BRASIL, 2020b)^b; Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e Órteses, Próteses e Materiais especiais do Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2020a)^c; Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (ANVISA, 2019)^d.

Assim, os estádios mais avançados (3 e 4), além de demandaram mais internações por intercorrências e cirurgias, ainda se submetem a quimioterapia, cuja aquisição de medicamentos impacta significativamente o custo com o tratamento da doença.

4.3.2 Internações conforme Secretaria de Saúde do Paraná

Observando-se a tabela conferida pela SESA/PR (PARANÁ, 2007-2018), considerando o número de internações, os estádios classificados conforme número de internações (TABELA 6), verifica-se que, de um total de 134 indivíduos admitidos com TCA, 20 teriam sido diagnosticados no estágio 1, passando por apenas uma cirurgia. Ainda, pode-se identificar que 22 deles podem ter sido diagnosticados no estágio 2 (eis que não fizeram quimioterapia), alguns passaram por cirurgia e tiveram atendimentos por intercorrências clínicas. Os estádios 3 e 4 foram representados pelos 92 indivíduos que foram submetidos à quimioterapia e mais de uma consulta

por intercorrência clínica, representando 68% dos casos de TCA no estado (TABELA 2).

TABELA 6 – CUSTO DO TCA NO ESTADO DO PARANÁ

Conforme estágio	Estádio	Número de admissões	Terapia Adjuvante
20 (14,8%)	1	20	
22 (16,4%)	2	32	
92 (68,6%)	3 e 4	427	R\$6.621.219,76/12 anos (92 pacientes)*

FONTE: Adaptada da Secretaria de Saúde do Estado do Paraná (2007-2018).

*Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (2019); Banco de Preços em Saúde (BRASIL, 2020b); Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e Órteses, Próteses e Materiais especiais do Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2020a); Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (ANVISA, 2019).

Denota-se que os estádios 3 e 4, representariam por ano, uma despesa adicional de R\$551.768,31 (R\$6.621.219,76/12 anos).

4.3.3 Internações conforme Secretaria de Saúde de Santa Catarina

Em Santa Catarina, cotejando-se exclusivamente as internações (TABELA 7), colhe-se que oito indivíduos se internaram apenas uma vez, enquanto 22 se submeteram a um total de 96 internações. Mais uma vez, esses números não correspondem aos estádios, sendo equivocado afirmar que aqueles que tiveram apenas uma internação teriam sido diagnosticados com TCA em estágio 1, submetendo-se a apenas uma cirurgia curativa. Uma simples análise dos procedimentos realizados já elimina tal dedução.

TABELA 7 - INTERNAÇÕES DE CRIANÇAS COM TCA NO ESTADO DE SANTA CATARINA

Conforme estágio	Estádio	Número de admissões	Terapia Adjuvante
08 (16%)	1	08	
20 (40%)	2	29	
22 (44%)	3 e 4	96	R\$1.583.318,00*

FONTE: Secretaria de Saúde do Estado de Santa Catarina (SES) (2007-2017).

*Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (2019); Banco de Preços em Saúde (BRASIL, 2020b); Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e Órteses, Próteses e Materiais especiais do Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2020a); Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (ANVISA, 2019).

4.3.4 Despesas adicionais

Há também despesas adicionais, além da internação e da cirurgia curativa, como as atividades de orientação em grupo, consultas especializadas, exames de ultrassom e ressonância magnética, assim como o aconselhamento genético (TABELA 8), que diferem em número consoante o perfil do paciente.

TABELA 8 - CUSTOS ADICIONAIS NÃO CONSIDERADOS PARA RECÉM- NASCIDOS POSITIVOS PARA TP53 R337H NO TESTE DO PEZINHO.

Serviço	Custo
Atividade Educativa / Orientação Em Grupo Na Atenção Especializada.	R\$ 2,70
Consulta Médica em Atenção Especializada	R\$10,00
Aconselhamento Genético	R\$100,00
Exame de ultrassom	R\$37,95
Exame de Ressonância Magnética	R\$268,75

FONTE: Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e Órteses, Próteses e Materiais especiais do Sistema Único de Saúde (SIGTAP) (BRASIL, 2020a).

Tendo em vista que referidas despesas se fazem presentes em todos os estádios, optou-se por apenas discriminá-las, sem as contabilizar no resultado final.

4.3.5 Custos do monitoramento da criança

Pensando-se em um cenário em que a criança é monitorada, identificando-se previamente a existência da mutação e viabilizando o diagnóstico precoce, tem-se a dispensa da realização da quimioterapia, tendo em vista que as crianças são encaminhadas aos centros médicos quando o TCA ainda não avançou para o estágio 2. Outrossim, exames periódicos são desnecessários, eliminando-se os custos com exames de imagem e consultas.

De outro modo, é acrescido o valor despendido com a realização do Teste do Pezinho para a mutação *TP53 R337H*, não apenas de todos os recém-nascidos no Paraná (TABELA 9 e TABELA 10) como seus parentes (TABELA 11), culminando em um orçamento de R\$634.513,35, contemplando teste, 16 cirurgias, exames e consultas.

TABELA 9 - CUSTO DA REALIZAÇÃO DE TESTES DE PCR PARA A PESQUISA DA MUTAÇÃO R337H PARA A POPULAÇÃO DE NASCIDOS VIVOS NO ESTADO DO PARANÁ

Custo Teste	Nascidos Vivos PR	Total/Ano
R\$3,50^a	157.701 ^c	R\$551.953,50
R\$12,00^b	157.701 ^c	R\$1.892.412,00

FONTE: A autora (2019)^{a; b}; DATASUS (BRASIL, 2017^c).

NOTA: ^aValor para um laboratório de pesquisa ou laboratório público. ^bValor para um laboratório privado (calculado pelos custos de materiais) mais projeções de custos adicionais com pessoal de laboratório).

Como todos os custos levantados foram baseados na tabela de custo para o sistema de saúde pública (SUS), o valor adotado para o Teste do Pezinho foi de R\$3,50.

TABELA 10 - CUSTO DO TESTE DE PCR EM PARENTES DE CRIANÇAS POSITIVAS PARA A MUTAÇÃO NO ESTADO DO PARANÁ

RN testados /ano (N)	RN (famílias) positivos/ano (N)	Média testes em parente/família (N)	Custo dos reagentes químicos/teste (R\$)	Total de testes (N)	Custo total (R\$)
	416		R\$3,50 ^c	157.701	551.953,50
157.701 ^a		25 ^b	R\$3,50 ^c	10.400	36.400,00
Total				168.101	588.353,50

FONTES: DATASUS (BRASIL, 2017c)^a, INSTITUTO PELÉ PEQUENO PRÍNCIPE (2017)^{b,c}.

NOTA: Para cada RN corresponde uma família com cerca de 25 familiares que precisam ser testados (variando aproximadamente de 5 a 170); ^cCusto calculado para reagentes e testes realizados por equipe de pesquisa.

TABELA 11 - CUSTO INDIVIDUALIZADO EM REAIS DO TRATAMENTO DAS CRIANÇAS IDENTIFICADAS COM TCA

Procedimento /exame	Cirurgia	Ultrassom	Ressonância	Exame Laboratorial de Hormônio
Custo Individual	2.711,10	37,95	268,75	13,11 (DHEAS) 9,86 (CORTISOL)
Número	16	01*	01*	05*
Custo Total	43.377,60 (16xR\$3.132,66)	-	-	-

FONTES: Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e Órteses, Próteses e Materiais especiais do Sistema Único de Saúde (SIGTAP) (BRASIL, 2020a).

NOTA: *informação informal colhida em consulta ao INSTITUTO PELÉ PEQUENO PRÍNCIPE (2019).

O monitoramento mediante testagem de todos os recém-nascidos paranaenses e catarinenses não só é recomendável como implica em economia para o SUS.

Em síntese, constata-se que o TCA é mais frequente que a fenilcetonúria e a fibrose cística no estado do Paraná, e, não obstante o valor do teste ser significativamente baixo (R\$3,50), não há como se prevenir a aparição do TCA, sendo imprescindível a associação do teste ao monitoramento observacional pelos pais da criança e inevitável a realização de cirurgia para a remoção do tumor para a obtenção da cura. O TCA, quando identificado tardiamente, é preocupante não apenas pela taxa de sobrevivência, mas também pelas inúmeras cirurgias a que o indivíduo será submetido e pela alta toxicidade da quimioterapia que lhe será administrada.

4.4. PROPORÇÃO DE PACIENTES ADMITIDOS NO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE COM TCA EM ESTÁDIOS MAIS AVANÇADOS

O quarto objetivo específico deste projeto foi identificar o grau de conhecimento atual da população paranaense na habilidade de entender as manifestações clínicas do TCA. Para fazer este levantamento, foram considerados apenas os casos de pais que não participaram de testes genéticos nem de acompanhamentos anteriores (as coortes iniciadas em 2006 e 2016). O tempo declarado de manifestações antes do diagnóstico não foi preciso, mas percebe-se que a proporção nos estádios 1 (27,7%, 5/18) em relação aos demais (72,2%, 13/18) demonstra que o atraso no diagnóstico foi notório em quase todos os casos.

Teoricamente, o que se espera é que pais que percebam anormalidades persistentes (comedões, espinhas, pelos pubianos, hirsutismo, aumento do falus, às vezes com hiperemia malar e obesidade, em uma criança com aparência saudável) procurem ajuda médica nas unidades básicas de saúde. A TABELA 12 tem como objetivo mostrar esta proporção de casos avançados em relação ao estágio 1.

TABELA 12 - PACIENTES ADMITIDOS COM TCA NO HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE NOS ÚLTIMOS NOVE ANOS (2011-2019)

(continua)

	Casos (ID)	IDADE (meses)	Estádio	Peso (g)	Tempo de manifestações antes do diagnóstico (meses)
I	5	8	1	18	1
II	13	74	1	22	8
III	1	24 e 10d	1	38	8
IV	2	69	1	43	0,7
V	14	12	1	70	3
VI	18	12	2	126	3
VII	15	204	4	140	10
VIII	7	24	2	178	6

					(conclusão)
IX	10	84	4	242	3
X	12	60	4	250	12
XI	16	58	2	258	6
XII	8	69	4	264	2
XIII	6	24	2	298	1
XIV	11	48	2	318	8
XV	19	39	3	376	4
XVI	17	48	4	608	4
XVII	3	3	4	-	-
XVIII	4	1	4	-	-

Fonte: Hospital Pequeno Príncipe (2011-2019).

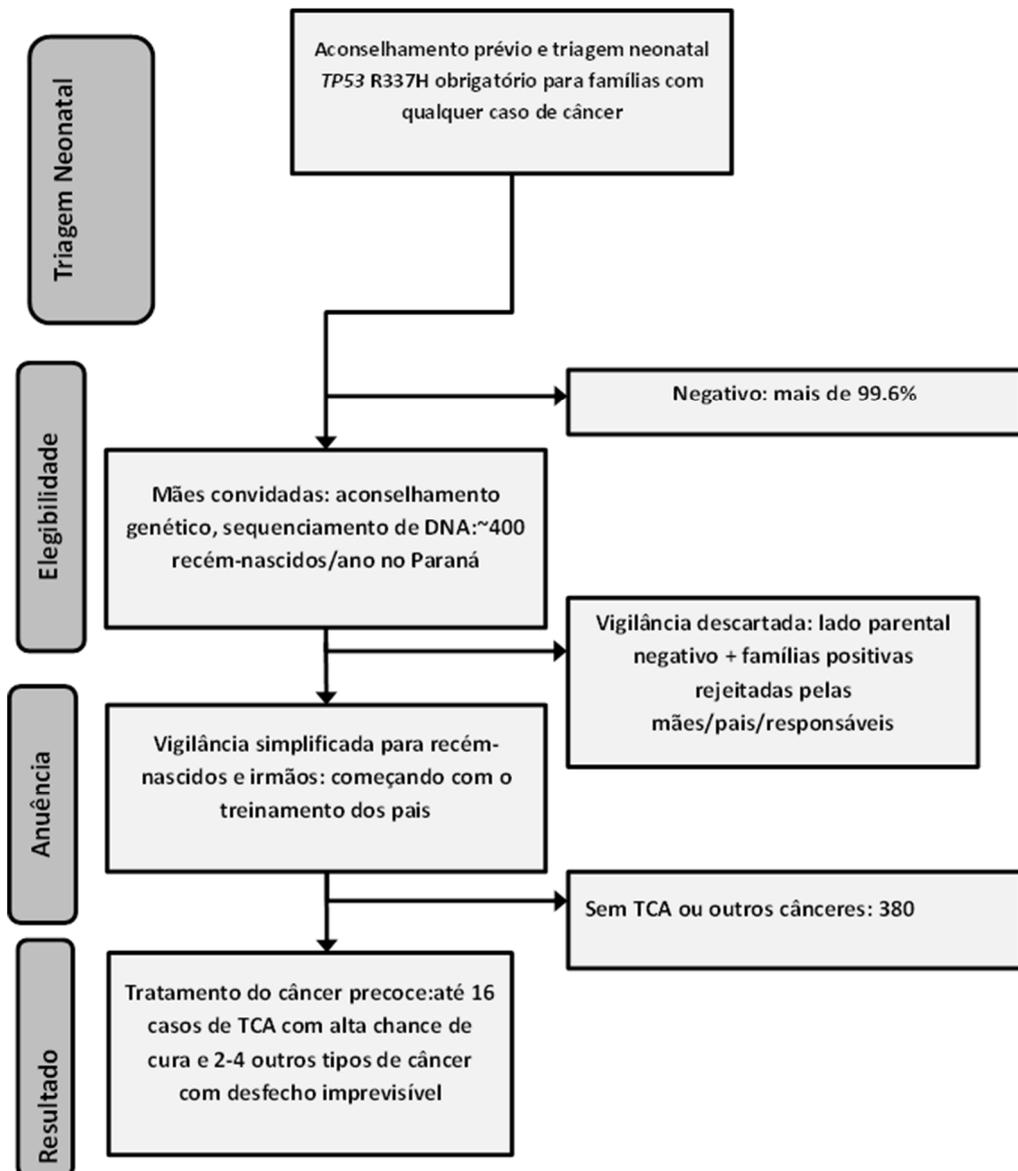
4.5 REFLEXOS NA REPROPOSITURA DO PROJETO DE LEI

Diante dos pontos levantados, depreende-se a necessidade de readequação do Projeto de Lei nº 262/2011, reforçando-se as justificativas para a sua propositura, conforme já exposto na revisão, sendo necessárias as seguintes retificações:

- a) Na justificativa constou que 50% das crianças com TCA diagnosticadas tardiamente não sobreviveram (MICHALKIEWICZ *et al.*, 2004). Esse número deve ser mantido, especialmente como alerta diante do percentual significativo de pacientes diagnosticados com TCA em estágio avançado (72,2%), com piores desfechos em comparação com aqueles que foram diagnosticados com a doença ainda em estágio inicial.
- b) As estimativas registradas no projeto eram de 10-15 novos casos, e, agora, as pesquisas apontam que seriam 16 casos por ano, ressaltando-se que dois indivíduos desenvolverão TCA, apesar de não portarem a mutação.
- c) O custo individual do tratamento para os estádios 3 e 4, ignorando maior número de internações e cirurgias, é de pelo menos R\$71.969,79 para fim de aquisição de medicamentos para quimioterapia e administração de Mitotano. Este valor toma relevância quando em comparação com o estágio inicial cujo gasto seria restrito ao valor dos exames confirmatório, uma cirurgia e uma internação em enfermaria (R\$3.132,66).
- d) O oferecimento do teste deve se dar em duas etapas (FIGURA 5), uma de cunho obrigatório, ainda na maternidade, e outra confirmatória em que a mãe/pai/pais ou responsáveis poderão optar pela assinatura do Termo de

Consentimento Livre e Esclarecido. Ainda, é preciso eliminar as consultas obrigatórias e a realização de ecografia abdominal a cada seis meses e exames de hormônios DHEA-S e cortisol em jejum a cada quatro meses, até os quatro anos de idade e, posteriormente, até os 15 anos, a cada 12 meses. Em substituição, foi determinado que após o aconselhamento genético (após o teste do pezinho ser positivo para mutação), o protocolo prevê um treinamento dos pais em três sessões de três horas, seguido de acompanhamento telefônico acerca do monitoramento observacional realizado pelos pais de crianças portadoras da mutação.

FIGURA 5 - PROTOCOLO SIMPLIFICADO DO MONITORAMENTO SEM EXAMES PERIÓDICOS



Fonte: a autora

Por fim, deve ser mantida a disposição sobre a campanha de esclarecimento à população e acrescentado o treinamento dos profissionais de saúde que atuam nos municípios.

5 DISCUSSÃO

Seguindo o padrão dos tipos de tumor maligno, o diagnóstico e/ou o tratamento tardio do carcinoma de córtex adrenal são o principal motivo da redução da taxa de sobrevivência. As crianças que sobrevivem acabam passando um ou mais anos com baixa qualidade de vida, muitos dias em ambiente hospitalar com múltiplas cirurgias, alguns com crises hipertensivas, realizando inúmeros exames, repetindo o ano escolar e suportando intercorrências, como infecções e tratamentos decorrentes da imunodepressão.

Outro grande problema é o estresse dos pais, sobretudo durante os deslocamentos para consultas e tratamentos nos hospitais de referência (> 90% em Curitiba, ou em Florianópolis e Joinville - Santa Catarina). Em situação oposta estão quase todos os classificados no estágio 1, porém, é necessário que o diagnóstico aconteça antes do TCA atingir 50 g, ou seja, metade do limite máximo do estágio 1 (100 g) para ter quase 100% de cura (MICHALKIEWICZ *et al.*, 2004).

Chama a atenção nos estágios 2, 3 e 4 o forte impacto psicológico das manifestações clínicas com as mudanças corporais, principalmente para meninas (quatro vezes em maior número) com genitália ambígua (que às vezes exige cirurgia estética), pilificação pubiana e em outras partes do corpo, aumento da massa muscular, entre outras alterações (SANDRINI *et al.*, 1997; MICHALKIEWICZ *et al.*, 2004).

Tudo isso foi tolerado até se perceber a causa da elevada incidência do TCA (RIBEIRO *et al.*, 2001), ou, com mais precisão, até quando foi possível conhecer a frequência da mutação em todas as cidades do Paraná (CUSTÓDIO *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2019) e Santa Catarina (COSTA *et al.*, 2019), comprovando-se em seguida que um protocolo simples é capaz de reduzir o custo do monitoramento dos portadores de R337H, quase ao valor do Teste do Pezinho (COSTA *et al.*, 2019).

A ciência fez a sua parte, resta saber se o sistema público irá adotar o Teste do Pezinho para R337H para os recém-nascidos de famílias com, pelo menos, um caso de câncer, no Paraná e em Santa Catarina, o que dependerá da velocidade da avaliação jurídica à terceira tentativa de projeto de lei.

Martin Luther King Junior (1963, não p.), em carta da Prisão de Birmingham, usou a frase “**Justiça atrasada demais é justiça negada**”. O presente trabalho está amparado por uma vasta documentação de fatos e evidências, mostrando que a

mutação *TP53* R337H não afeta apenas a criança, mas principalmente os adultos. Isto ocorre porque o maior risco para criança é nos primeiros cinco anos de vida (em ordem decrescente com o aumento da idade), ao passo que para o adulto o risco aumenta com a idade e abrange todos os tipos de câncer.

Uma estimativa inicial mostrou que, entre os portadores da mutação R337H de famílias do Paraná, há pelo menos 30 vezes mais casos de câncer em adultos do que em crianças (CUSTÓDIO *et al.*, 2013). Isso se justifica pelo maior número e maior tempo de exposição de adultos à mutação R337H e aos fatores carcinogênicos do ambiente e ao sinergismo entre eles com outras possíveis mutações herdadas ou adquiridas. O treinamento dos pais para se dedicar à atenção dos filhos beneficiará também um maior número de pessoas da mesma família. O que se conclui com estas diferenças é que o aconselhamento genético e os exames precisam ser também para todos os parentes do lado da linhagem parental, em que quase 25% das pessoas têm a mutação. Todos precisam de monitoração remota para avaliar como estão, o que tem sido feito pelo Hospital Pequeno Príncipe desde 2006, quando começaram a surgir os primeiros recém-nascidos com a mutação *TP53* R337H; atualmente há mais de 600 famílias em acompanhamento.

Apesar do menor número de casos de câncer em crianças do que em adultos, o fato é que o TCA pediátrico é um tumor de fácil diagnóstico e tem uma faixa de idade muito curta e de maior risco (entre zero e cinco anos de idade). Dentro dessa mesma faixa etária, encontra-se o risco para o segundo mais frequente tumor da criança causado por R337H, depois do TCA, o carcinoma do plexo coroide (CUSTÓDIO *et al.*, 2011; SEIDINGER *et al.*, 2011).

Após o início de dois estudos de Coorte no Estado do Paraná (2006 e 2016), evidenciou-se a efetividade do teste da mutação R337H, usando menos de uma gota de sangue, com baixíssimo risco de resultado falso positivo ou falso negativo por se tratar de exame de DNA (FIGUEIREDO *et al.*, 2006; CUSTÓDIO *et al.*, 2011). Ao contrário dos testes clássicos do pezinho que exigem rapidez e cuidado com a preservação do sangue depositado na membrana, o exame de DNA é mais preciso e dispensa cuidados especiais.

O pioneiro dos testes neonatais, Robert Guthrie, teve forte oposição da Academia Americana de Pediatria na década de 60, eis que esta achava prematura a proposta do Dr. Guthrie de tornar obrigatório o teste para fenilcetonúria (GUTHRIE; SUSI, 1963). Da mesma forma, foi erroneamente considerada controversa a inclusão

do teste para fibrose cística (RIBEIRO *et al.*, 2002). Observa-se menor frequência dessas duas patologias frente a uma maior frequência do TCA pediátrico no Paraná e em Santa Catarina, e, mesmo assim, considera-se extremamente necessária a permanência dos testes da fenilcetonúria e da fibrose cística no Teste do Pezinho.

Apesar da superioridade do método para detecção da mutação R337H, por sua grande especificidade e sensibilidade, sem ter custo mais elevado que os demais testes do pezinho, é preciso entender a lógica do R337H como teste de predisposição ao TCA e outros tumores, e não como teste de doença. Jamais se poderia confundir este com um teste para detecção de doença, porque o TCA é imprevisível, não sendo possível determinar se irá acontecer. O previsível é acontecer um caso de TCA para cada 40 portadores de R337H entre zero e cinco anos de idade no Paraná (COSTA *et al.*, 2019). Considerando que nascem por ano, no Paraná, cerca de 400 crianças portadoras de R337H, em cinco anos são 2000, sem contabilizar os parentes (COSTA *et al.*, 2019), que se somam aos parentes de primeiro e segundo grau com menos de 18 anos para considerar o total de casos pediátricos.

Diante desse cenário, o que se pretende evitar é o diagnóstico tardio, que são todos os casos com peso do TCA acima de 50 g (metade do limite máximo do estágio 1), com menor chance de cura (MICHALKIEWICZ *et al.*, 2004). O estágio 1 é considerado pelo Registro Internacional dos Tumores de Córtex Adrenal Pediátricos (IPACTR) com peso até 100 g (RODRIGUEZ-GALINDO *et al.*, 2005). O protocolo de Costa e colaboradores (2019) consegue identificar os primeiros sinais clínicos da grande maioria dos casos que apresentam sinais de virilização, e, geralmente, quase todos os TCAs entre 20 g e 50 g já apresentam manifestações clínicas de virilização (CUSTÓDIO *et al.*, 2013). Fora desta faixa de diagnóstico ficam cerca de 5% dos TCAs que não apresentam sinais e sintomas de virilização (RODRIGUEZ-GALINDO *et al.*, 2005).

A percepção desses sinais depende dos pais e do treinamento que eles tiveram, desde quando o filho recebeu o laudo positivo para mutação (COSTA *et al.*, 2019). Veja-se que dos casos admitidos no Hospital Pequeno Príncipe, no período de 2011-2019, 72,2% (13/18) foram identificados tardiamente, com pelo menos três meses de atraso entre a manifestação dos sintomas e o encaminhamento ao hospital. É evidente o papel do tempo no desfecho da doença, já que quanto mais desenvolvido o tumor, menor as chances de cura.

Outrossim, a experiência demonstra a desnecessidade de se submeter a criança portadora da mutação a exames periódicos de acompanhamento, porque eles se fazem necessários apenas após sinalizados pelos pais possíveis sintomas. Isso não apenas diminui o estresse da criança, mas representa economia para o sistema público de saúde. De outro norte, os estádios avançados, conforme o quadro, demandam mais de uma cirurgia, quimioterapia extremamente agressiva e internações por intercorrências da doença.

Assim, defende-se que o monitoramento da doença pelos pais, mediante aconselhamento e acompanhamento remoto, somado ao Teste do Pezinho são elementos que corroboram a proposta de incluir o TCA no rol de doenças abarcadas por este, ainda que se trate de teste preditivo, não buscando a identificação da doença, mas a mutação que tem associação com esta última.

Contudo, um dos principais empecilhos para que se aprove a obrigatoriedade do teste são justamente as leis orçamentárias. Destarte, o estado do Paraná ao adotar o protocolo sugerido, não apenas pouparia um valor significativo aos cofres públicos, como privilegiaria o diagnóstico precoce aumentando a sobrevida do paciente, sua qualidade de vida.

Os valores apurados neste trabalho contam com algumas limitações iniciais, especialmente no que diz respeito ao gasto dos hospitais com a aquisição de medicamentos mediante licitação. O cálculo do número de medicamentos adquiridos dista da exatidão, especialmente porque as licitações são feitas conforme a necessidade do hospital, sendo as drogas administradas para pacientes com diferentes diagnósticos.

Para a obtenção de um número mais próximo da realidade, seria necessário obter o perfil de cada paciente, separado por idade e peso, o que não foi levado em conta nesta pesquisa; repise-se que assim se conduziu porque a compra de medicamento não se faz pelo critério do que cada criança efetivamente irá receber durante o tratamento. Contudo, não se ignora que esse dado seria importante para se ter precisão sobre o efetivo consumo das drogas.

Em consulta ao Banco de Preço em Saúde (BPS) (BRASIL, 2020b), constatou-se que não obstante o referido estabelecimento constar cadastrado no sistema, não há registro conciliado com a instituição. Vale consignar que o BPS serve como referência para a aquisição de medicamentos, enquanto a tabela disponibilizada

pela Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED) regula o preço máximo por que um medicamento pode ser fornecido por um fabricante.

Considerando que a licitação para aquisição de medicamentos deve obrigatoriamente observar o BPS, compreendeu-se que este fornece o dado mais fidedigno com a realidade para a análise de custo-doença.

Todavia, ao se buscar os componentes da quimioterapia, verificou-se existir valor de referência apenas para a Cisplatina, apesar de todos os componentes da quimioterapia serem descritos no CATMAT (referência de descrição para os itens de saúde) ou códigos BR.

Dessa forma, a pesquisa foi lastreada pelos dados da CMED (ANVISA, 2019), atualizada até 01.10.2019, para o estado do Paraná, em contraponto com licitação promovida pelo Hospital de Clínicas da UFPR (2019).

Algumas peculiaridades merecem especial atenção. No tocante aos pacientes com TCA em estágio 2, conforme o protocolo adotado, normalmente não se aplica quimioterapia. No entanto, é recomendado o retorno mensal, nos primeiros seis meses, dos pacientes identificados e, após tal período, as consultas são espaçadas até que se completem cinco anos de tratamento (ainda que não se submetam à quimioterapia, para eles é administrado o Mitotano, segundo grande parte dos centros de referência). Ressalve-se que, se o paciente possui a mutação, superado o quinquênio, a consulta é efetuada anualmente. Aos pacientes a que se propõe a quimioterapia, o retorno se dá semanalmente até o fim do protocolo (oito ciclos de quimioterapia e dois anos de Mitotano) e, após, uma vez por mês, nos primeiros seis meses, e, depois, as consultas são espaçadas, observando as individualidades dos casos.

Por certo, apenas um estudo detalhado poderia traçar a correspondência entre número de pacientes, quantidade de medicamento e o que é efetivamente comprado mediante licitação. A aquisição dos medicamentos não corresponderá exatamente à demanda do estabelecimento, especialmente porque a aquisição de maiores lotes garante economia e as aquisições são apoiadas em estimativas de cada entidade licitante.

Quanto às internações, ainda que a maioria dos procedimentos tenha código correspondente no SIGTAP (BRASIL, 2020a), não foi possível encontrar código próprio para a internação em enfermaria, aplicável às crianças no estágio 1.

Ainda, não há como presumir que o valor de enfermagem estaria incluso no montante atribuído à cirurgia, isso porque na descrição fornecida pelo SIGTAP (BRASIL, 2020a) não há referência a tal serviço, sendo atinente ao leito pediátrico e ao cirúrgico aquele leito preparatório para cirurgia, definido como hospital dia, que é utilizado por período de até 12 horas.

Logo, buscou-se trabalhar com os números mais factíveis e com informações oficiais de licitações, das listas fornecidas pela CMED e pelo SIGTAP, dados relacionados no BPS (BRASIL, 2020b) e auditoria do Ministério da Saúde, em uma análise de custo aproximado, sem a pretensão da exatidão.

Ressalve-se que a análise comparativa de custos priorizou o paciente mais frequente, que é do SUS (cerca de 77%). O que foi ignorado, uma limitação do presente estudo, é o fato de que cerca de 23% dos paranaenses possuem planos de saúde (ANS, 2018), o que deveria ser o percentual de atendidos no Hospital Pequeno Príncipe.

No que toca aos óbitos e cirurgias, não foi possível conciliar os dados da base da SESA/PR e da SES/SC, porque a utilização se deu restritamente ao número de internações. Não escapa que a confiabilidade dos dados merece calibração, na medida em são secundários e alimentados por diferentes hospitais, ainda que compilados pelas Secretarias de Saúde de SC e do PR.

As crianças identificadas com a mutação a partir das duas campanhas, uma iniciada em 2006 e outra em 2016, tiveram diagnósticos rápidos com menos de um mês de manifestações clínicas (CUSTÓDIO *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2019), e algumas tiveram diagnóstico sem manifestações clínicas porque foram identificadas através de exames periódicos (CUSTÓDIO *et al.*, 2013). Percebe-se que todos os casos que não tiveram acesso ao teste neonatal nem receberam informações sobre TCA, independente do estágio, tiveram atrasos consideráveis no diagnóstico, com mais de um mês de manifestações clínicas (TABELA 15). O diagnóstico tardio persiste, apesar de quase 20 anos de descoberta da mutação (RIBEIRO *et al.*, 2001). Fundamentando-se nos dados do Hospital Pequeno Príncipe (2011-2019), arremata-se que os casos de pior prognóstico TCA (2, 3 e 4) representaram 72,2% (13 de um total de 18).

Infelizmente, não foi possível concluir sobre o número de cirurgias nem sobre os desfechos do tratamento nas bases de dados da SESA/PR e SES/SC.

Reafirma-se que o ideal seria a identificação da mutação quando da realização do Teste do Pezinho, todavia, em razão de entrave econômico, tem-se que medida paliativa seria o investimento na educação dos profissionais da área da saúde. Entretanto, mesmo longe de resolver o problema da educação médica, a parte mais difícil é solucionar a questão da educação dos pais em saber o que está acontecendo, principalmente porque o TCA deixa a criança energizada sob o efeito de hormônios anabólicos que transmitem força e vida saudável. Até do ponto de vista cultural extremo, existe ainda a tendência de alguns acharem que os sinais de masculinidade nos meninos refletem apenas uma masculinidade precoce.

Diante do histórico de tentativas de tornar obrigatório o Teste do Pezinho no estado do Paraná, tendo como principal empecilho o interesse político e as leis orçamentárias, o melhor custo-benefício é um projeto de lei para o estado do Paraná e de Santa Catarina, disponibilizando o teste ao recém-nascido de ancestral do sul do Brasil, com, no mínimo, um caso de câncer na família. Os referidos critérios viabilizariam a diminuição do número de testes e, aliado a programas de formação para os profissionais de saúde, representaria avanço no controle e cura do TCA.

A aprovação do Projeto de Lei implicaria também economia para o estado quando comparados os custos com os casos mais avançados e iniciais e representaria melhores chances de sobrevivência aos indivíduos diagnosticados com TCA. Ressalve-se que a aplicação do teste, seja de modo obrigatório por meio do Teste do Pezinho ou facultativo mediante consentimento informado dos pais do recém-nascido, deve se restringir aos estados mapeados. A generalização do teste para todo o país significaria ignorar os levantamentos já realizados e tomar por verdadeiro dado temerário, além de ocasionar um custo desnecessário aos cofres públicos que seguem sistema de contingenciamento de gastos com reflexo na área da saúde.

Para reforço do argumento, pertinente algumas ilações sobre o direito aqui invocado, qual seja, o da igualdade. Não se cuida da acepção formal no sentido de que todos são iguais perante a lei, desconsiderando condições ou circunstâncias de cada indivíduo, mas na noção de igualdade construída a partir do século XX, em que se refletiu sobre quem deveria receber igual tratamento e em que medida, dando origem à concepção material de igualdade partindo-se da fórmula de Aristóteles: tratar os iguais como tal e os desiguais desigualmente na medida de sua desigualdade, o que “pressupõe a adoção de critérios distintivos, justos e razoáveis” (NOVELINO, 2019, p. 371).

Sobre a igualdade material, Novelino (2019, p. 372) clarifica que ela “impõe aos poderes públicos o dever de adotar medidas concretas para a regulação ou compensação de desigualdades existentes no plano dos fatos (princípio da igualdade fática)”. Nesses termos, é concebida como uma meta a ser buscada por meio de ações e políticas públicas, exigindo iniciativas concretas em proveito dos grupos desfavorecidos.

Ações voltadas para a redução das desigualdades sociais e regionais exaltam o princípio da igualdade fática ou material e não meramente jurídica. Uma igualdade que se impõe ao legislador, vinculando-o no sentido de conferir igualdade na lei. Neste sentido, Alexandre de Moraes discorre:

O princípio da igualdade consagrado pela constituição opera em dois planos distintos. De uma parte, frente ao legislador ou ao próprio executivo, na edição, respectivamente, de leis, atos normativos e medidas provisórias, impedindo que possam criar tratamentos abusivamente diferenciados a pessoas que se encontram em situações idênticas. Em outro plano, na obrigatoriedade ao intérprete, basicamente, a autoridade pública, de aplicar a lei e atos normativos de maneira igualitária, sem estabelecimento de diferenciações em razão de sexo, religião, convicções filosóficas ou políticas, raça, classe social (MORAES, 2003, não p.).

A igualdade não pode ser dissociada da proporcionalidade entre o meio adotado e a finalidade almejada, sendo que ambos se devem amparar pelos princípios e valores constitucionais. Celso Antônio Bandeira de Melo elencou quatro elementos de observância obrigatória para garantia da isonomia:

- a) que a desequiparação não atinja de modo atual e absoluto um só indivíduo;
- b) que as situações ou pessoas desequiparadas pela regra de direito sejam efetivamente distintas entre si, vale dizer, possuam características, traços, nelas residentes, diferenciados;
- c) que exista, em abstrato, uma correlação lógica entre os fatos diferenciais existentes e a distinção de regime em função deles, estabelecida pela norma jurídica;
- d) que, *in concreto*, o vínculo de correlação suprarreferido seja pertinente em função dos interesses constitucionalmente protegidos, isto é, resulte em diferenciação de tratamento jurídico fundada em razão valiosa - ao lume do texto constitucional- para o bem do público. (MELO, 1999, p.21).

Transferindo referidos critérios para o presente trabalho, certifica-se que todos foram atendidos: a desequiparação atinge todos os indivíduos nascidos nos estados do Paraná e de Santa Catarina, os quais se distinguem por traços e características tendo por comum o local de nascimento, ascendente e o registro de um parente com câncer.

A diferenciação se justifica uma vez que o TCA é uma doença rara, restando comprovado por mapeamento a alta frequência nos estados do PR e de SC, apenas se admitindo o elastecimento da lei para alcançar outros estados se, com supedâneo em mapeamento, demonstrada frequência equivalente. O bem maior buscado é a preservação da vida e a dignidade humana, eis que não basta conferir o direito à vida, este necessariamente se conjuga com a dignidade.

A noção de dignidade da pessoa humana, tal qual a igualdade, evolui e metamorfoseia-se de acordo com os valores, visão política, história e cultura de cada sociedade, sendo ora vista como princípio, ora como valor absoluto ou princípio jurídico. Sua origem é na Filosofia, como um axioma de bom, justo e virtuoso, cuidando-se de um valor central para o Direito, a partir do século XX. No plano político, ela é dotada de papel especial mediante sua menção em documentos internacionais e previsão constitucional. Dessa forma, é um valor fundamental que foi convertido em princípio jurídico constitucional, dotado de diferentes tipos de eficácia (BARROSO, 2010).

A eficácia direta consiste em comando extraído do núcleo do princípio; a eficácia interpretativa é a limitação conferida no sentido e no alcance da norma jurídica, servindo como parâmetro de ponderação entre princípios e valores caros à sociedade; a eficácia negativa é um mecanismo que impede a aplicação de norma ou realização de ato jurídico incompatível com o princípio da dignidade. Ainda que a dignidade tenha precedência na maioria das situações de conflito entre princípios, ela não é absoluta, pois do contrário não se permitiria a pena de prisão, a expulsão do estrangeiro ou algumas formas de expressão (BARROSO, 2010, p. 13), em que a dignidade cede espaço à segurança e à autonomia.

“As coisas têm preço, mas as pessoas têm dignidade” (BARROSO, 2010, p. 17), o que vem ao encontro com o conhecido imperativo categórico de Kant no sentido de que as pessoas são fim e nunca meio. E inspirado nessas ideias, Barroso destaca:

(...) a conduta ética consiste em agir inspirado por uma máxima que possa ser convertida em lei universal; todo homem é um fim em si mesmo, não devendo ser funcionalizado a projetos alheios; as pessoas humanas não têm preço nem podem ser substituídas, possuindo um valor absoluto, ao qual se dá o nome de dignidade. (BARROSO, 2010, p.18).

Permanecendo na ideia de que o ser humano tem dignidade e que o conteúdo desta pode ser preenchido conforme o avanço de cada sociedade, sobressai o teor

do valor comunitário como elemento indeclinável, ao identificar a relação entre grupo e indivíduo. Envolvendo valores compartilhados, responsabilidades e deveres, funcionando como autocontenção do sujeito e proteção do direito de terceiros, nas palavras de Barroso:

Também referida como dignidade como heteronomia, ela se destina a promover objetivos sociais diversos, dentre os quais a proteção do indivíduo em relação a atos que possa praticar capazes de afetar a ele próprio (condutas autorreferentes), a proteção de direitos de outras pessoas e a proteção de valores sociais, dos ideais de vida boa de determinada comunidade (BARROSO, 2010, p.38).

Engajando-se nas concepções expostas e buscando incorporá-las nesta pesquisa, compreende-se que o Teste do Pezinho para mutação *TP53 R337H* atende à igualdade constitucionalmente prevista em seu viés material, bem como potencializa a dignidade humana como valor comunitário, sendo de interesse da sociedade que os portadores tenham intensificadas as chances de cura da doença e possam gozar de qualidade de vida, uma vez que comprovada a efetividade do monitoramento observacional.

Quanto aos demais estados brasileiros, é aconselhável a implantação de redes de informação sobre a doença (TCA), de modo a tornar os profissionais da saúde preparados para diagnosticar, tratar o TCA tão logo identificado, e orientar as famílias sobre a mutação e suas possíveis implicações.

Outrossim, é pertinente balancear sobre o teste se transvestir de caráter obrigatório ou não: a relevância de se incorporar o teste de DNA para a mutação no rol do Teste do Pezinho atribui obrigatoriedade e implica impossibilidade de negativa dos pais.

A bioética analisa, prescreve e opina sobre o que é moralmente aceitável (BARBOSA NETO; BRAZ, 2005). Quando abordada a questão de realização de teste preditivo em recém-nascidos, exsurge como um dos principais contra-argumentos a necessidade de se preservar as escolhas futuras do indivíduo, maximizando suas potencialidades, conferindo-lhe condições para que defina os aspectos mais fundamentais de sua vida. Inexiste consenso sobre a existência de um direito da criança a um futuro não predeterminado por escolhas irreversíveis tomadas por outras pessoas antes que elas possuam capacidade para fazê-las. Há uma corrente doutrinária que defende que o “direito a um futuro aberto” sequer deteria a qualidade

de direito (MILLUM, 2014) diante da indeterminação de seu conteúdo, inevitabilidade de transgressão e dificuldade de interpretação. Simpatizantes deste pensamento relativizam a autonomia futura e compreendem pela permissibilidade de testes preditivos sob o viés ético (GARRET, 2019), especialmente resguardando o tempo presente das crianças.

É possível conceber o então “direito” a um futuro aberto como um princípio orientador do exercício do poder exercido pelos pais sobre seus filhos (poder parental), especialmente no que toca a decisões médicas que influenciarão escolhas futuras da criança. Nessas circunstâncias, no princípio de que às crianças se deveria assegurar um futuro aberto estaria incutida a ideia de um direito de não saber, no sentido de ter a opção de não se submeter a teste ou desconhecer seu resultado a fim de preservar a genética das crianças nas dimensões: individualidade (predisposições), integridade (não discriminação) e identidade (constituição genética) (AZAMBUJA, 2014). O direito à desinformação está previsto no artigo 10 da Declaração Internacional sobre os Dados Genéticos (DUGHDH, 2001), e é extensivo aos parentes das crianças testadas. Alerta-se, contudo, que há circunstâncias que autorizam a desobediência ao referido direito, Azambuja (2014) declara que cabe ao escúpio cumprir seu dever de confidencialidade quando a situação não se enquadrar como de risco eminente, a qual autorizaria a quebra de sigilo baseada no estado de necessidade.

Outrossim o resultado do teste envolve sigilo a resguardar o indivíduo. Note-se que apesar de tais proteções, inexiste no ordenamento jurídico brasileiro lei própria contra a discriminação genética, embora haja projeto de lei específico em tramitação (BRASIL, 1998), protegendo os indivíduos contra discriminação por seguradoras, escolas, bancas de concursos públicos e empregadores. Ainda, com a vigência suspensa até agosto de 2022, há a Lei Geral de Proteção de Dados (BRASIL, 2018d), a qual tem como um de seus objetos dado pessoal sensível, abrangendo, portanto, informação referente à saúde, ao dado genético ou biométrico tutelando de forma mais eficiente, não obstante ter se absterido de discorrer sobre o dever de sigilo imposto ao médico. Observamos que justamente a ausência de risco de dano severo aos parentes dispensa a divulgação de informação pelo profissional da saúde e não representa violação ao dever de solidariedade, afastando as críticas direcionadas ao direito de não saber, ampliando-se a autonomia do paciente sem se traduzir em retorno ao paternalismo médico.

A primeira testagem proposta no presente estudo (neonatal *TP53* R337H) reveste-se de cunho obrigatório por imposição do Estado pautado no melhor interesse da criança. O segundo teste, de caráter genético e preditivo (confirmatório do teste neonatal) e para receber instruções sobre os sinais do tumor de córtex adrenal, depende de assentimento da mãe e/ou dos pais ou responsáveis legais pelo recém-nascido, em decorrência do poder parental⁶. A autonomia é nesta oportunidade exercida através da assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido. Ressalte-se ainda que eventual discordância entre os pais ou responsáveis pelo recém-nascido acerca da submissão deste ao teste pode ser suprida judicialmente.

Anote-se que os contornos do poder parental não são claros e exigem a ponderação de direitos fundamentais. Vale mencionar que a Corte Superior Brasileira definirá acerca da temática da vacinação obrigatória no país, e se debruçará sobre a proteção integral à criança, argumento invocado por ambos os polos envolvidos na demanda (BRASIL, 2020), o dever dos pais de assistir, cuidar e exercer sua liberdade de consciência, e a necessidade de harmonização dessas incumbências com o direito à saúde garantido pelo Estado via políticas sociais e econômicas e as limitações da autonomia privada frente às imposições estatais. Essa decisão terá reflexos sobre o dimensionamento do melhor interesse da criança, que serve de guia moral e legal, exercendo papel de limite para intervenção estatal, de fonte de obrigações e modelo de razoabilidade (KOPELMAN, 1997). De toda sorte, justamente pela dificuldade de compreensão da extensão do melhor interesse da criança, há posicionamento no sentido de que o vetor deveria ser substituído pelo “no harm principle”, de forma que os questionamentos sobre a intenção dos pais precisariam envolver a prevenção do dano à criança, dissociando-se de interesses próprios (DIEKEMA, 2004).

A sobrecarga psicológica é fator preponderante de preocupação dos progenitores no que toca aos testes preditivos, e se destaca quando analisada sob a perspectiva dos portadores da mutação que não desenvolverão TCA na idade pediátrica (95%). Entretanto, todo preparo da família será útil para o resto da vida, com informações complementares que receberão de acordo com a idade e sexo. O importante é que nos 5% de crianças que desenvolverão câncer, estarão mais de 90% das crianças com tumor de córtex adrenal. Se a identificação dos sinais e sintomas se

⁶ Tartuce (2019) conceitua poder familiar como: “o poder exercido pelos pais em relação aos filhos, dentro da ideia de família democrática, do regime de colaboração familiar e de relações baseadas, sobretudo, no afeto”.

der pelos pais logo no início, será atingida a meta de cura em todos os portadores *TP53 R337H*.

A despeito do efeito psicológico, pesquisas apontam que o conhecimento sobre a condição genética impacta positivamente o comportamento de todos os membros da família e melhora os cuidados essenciais com a saúde desde que bem compreendidas as informações recebidas e conferidas de forma personalizada (MCBRIDE *et al.*, 2010, GOZDZIEJEWSKI *et al.*, em avaliação). Por certo a adaptação da família nuclear à realidade em potencial revelada pelo teste genético positivo depende de condições variadas, desde questões sociogeográficas e econômicas, até demandas, capacidade de comunicação de seus membros, habilidade de funcionarem como uma unidade, seus padrões e modo de gestão familiar (RIPPER, 2010).

O impacto psicológico identificado logo após o aconselhamento genético, seguido de segunda coleta de sangue para confirmação da variante genética R337H e treinamento dos pais sobre os sinais e sintomas do tumor de córtex adrenal e outros tumores traduz-se em ansiedade que dura cerca de um a três meses, sendo que as mães recebem suporte psicológico na proporção do nível de ansiedade identificado (Gozdziejewski *et al.*, em avaliação). Estes autores reforçam também que mães que tiveram distúrbios psicológicos ou usaram medicações psicotrópicas periodicamente antes, e que pertencem a classe de mães solteiras, baixa escolaridade, possuindo mais de dois filhos, apresentam ansiedade nos testes aplicados, mesmo no grupo controle (mães em recém-nascidos com a mutação).

Contudo, conferindo-se maior peso ao caráter preditivo do teste, tem-se a possibilidade de incorporá-lo ao Sistema Único de Saúde como facultativo na etapa confirmatória da mutação, impondo-se preliminarmente determinados critérios para a sua realização, tal qual o registro de pelo menos um caso de câncer na família do recém-nascido, indicativo de possível mutação quando pelo menos um dos pais ou um dos avós for paranaense (COSTA *et al.*, 2019).

A obrigatoriedade do teste faz presumir que este satisfaz o melhor interesse da criança, enquanto a facultatividade deixa margem aos pais e ao julgador que eventualmente seja chamado a suprir a vontade de um dos responsáveis, quando existente divergência para ponderação entre os benefícios e malefícios do teste.

Nesse palmilhar, o teste no formato proposto, ora caráter obrigatório, ora facultativo, restrito aos estados em que realizado o mapeamento genético, privilegia a

equidade e confere tratamento condizente com as peculiaridades de cada estado brasileiro.

Por derradeiro, a estimativa da mutação se condiciona às características da população estudada. A assertiva de que, por ano, 416 crianças nascerão no Paraná com a mutação *TP53 R337H* e 16 desenvolverão TCA antes de completarem 12 anos de idade é suportada pelo mapeamento feito no estado em duas coortes em que se ampliou o número de indivíduos testados, galgando-se uma frequência do TCA positivo para mutação de 95% no Paraná e 87% em Santa Catarina. Os 16 casos ano no Paraná e oito casos ano em Santa Catarina são de crianças portadoras da mutação, contudo estudo (COSTA et. al., 2019) aponta que duas pessoas no Paraná desenvolverão a doença independentemente da mutação, por causas desconhecidas, enquanto, em Santa Catarina, um indivíduo se enquadraria nesta condição.

É evidente que o gasto com o estágio 1 é significativamente menor do que os demais estágios; a qualidade de vida gozada pelo paciente, que, naquela hipótese, se submete a apenas uma cirurgia, é muito melhor, enquanto nos demais tem a vida condicionada às recidivas da doença. A testagem de todos os recém-nascidos nas populações mapeadas onera menos em comparação com o custo do tratamento da doença quando a criança não é monitorada. Pondere-se que o valor para monitoramento poderia ser significativamente reduzido caso estabelecido critério para a testagem dos nascidos nos estados mapeados, qual seja, o recém-nascido contar com, no mínimo, um caso de câncer na família, servindo como um indicativo da mutação.

De toda sorte, a questão econômica não se sobrepõem ao melhor interesse da criança, conforme insculpido no ordenamento jurídico brasileiro, no artigo 227 da Constituição Federal (BRASIL, 1988), bem como no Estatuto da Criança e do Adolescente (BRASIL, 1990), nos artigos 3º, 4º e 5º. Conforme Mendes e Ormerod (2019), o princípio do melhor interesse da criança teria três facetas, seria um direito subjetivo (inerente ao ser humano), um princípio legal (diretriz de orientação) e uma regra de procedimento invocável em todo e qualquer processo envolvendo uma criança ou que possa afetá-la de maneira reflexa.

Há quem prefira orientar-se pelo princípio da não maleficência, considerando difícil definir o melhor interesse da criança, tratando-se de uma questão de valores, em que o melhor interesse varia conforme a avaliação do indivíduo e é reduzido a

objetivos médicos (DIEKMA apud KIPPER, 2015). A garantia do melhor interesse da criança não se impõe apenas aos pais, mas em especial ao Estado:

Dentre os deveres determinados aos pais, destaca-se o dever jurídico de cuidar⁷ (arts. 227 e 229, CF), corolário do princípio constitucional da paternidade responsável. O cuidado (em suas diversas formas de manifestação) é um valor jurídico objetivo, sendo a omissão do genitor caracterizada como conduta antijurídica (violação de dever legal) que agrava a condição de vulnerabilidade da criança e do adolescente e viola o dever de solidariedade dos pais. Sendo objetivamente aferível, independe do afeto e quando não exercido no melhor interesse do menor, exige intervenção direta do Estado. (SCHAEFER, p. 245).

Seja qual for a compreensão do princípio salientado, a proteção ao desenvolvimento da criança se faz cogente, porque o Estado não pode permanecer inerte frente às lutas enfrentadas pelas crianças com TCA, que, uma vez identificadas tardiamente, tem diminuta chance de cura e são submetidas a tratamento agressivo, exigindo vários retornos ao ambiente hospitalar por intercorrências da doença. Por suposto, a adoção do teste pelo sistema público de saúde resguarda o melhor interesse da criança e sobressai-se à questão econômica.

O comprometimento dos pais com o monitoramento observacional deve ser compartilhado com o do Estado de realizar o teste nos recém-nascidos e conferir-lhes a chance da cura e de uma vida digna, permitindo que desenvolvam suas potencialidades, preservando sua infância e futuro. Frise-se: a questão econômica frente ao teste tem menor peso e colide diretamente com princípio constitucional caro aos cidadãos brasileiros.

A releitura do Projeto de Lei nº 262/2011 tem como ponto fulcral a eficiência do monitoramento observacional feito pelos pais. Uma vez feita a testagem e adequado aconselhamento dos pais, potencializa-se demasiadamente a chance de cura da criança que desenvolve o TCA e a prevenção dos portadores da mutação. Ademais, elimina o custo com consultas obrigatórias, exames, quimioterapias e

⁷ “O cuidado é uma forma de amor, porém não se trata do amor que vincula um casal pelo afeto, ou do sentimento que os pais nutrem pelos filhos. O cuidado é um amor construído com dispêndio de tempo e energia – o amor proativo da pós-modernidade –, forjado em um processo diuturno de providências, e sacrifícios; ou seja, atos materiais perfeitamente sindicáveis e objetivamente aferíveis por um espectador privilegiado. [...] o inadimplemento do cuidado é fato jurídico que interessa ao ordenamento jurídico”. (ROSENVALD, [200-], p. 04).

“Cuidado implica garantir às crianças e aos adolescentes condições de desenvolvimento físico e emocional adequado, que lhes permita, inclusive, o sentimento de fazer parte de uma família, em cujo seio possam vivenciar o afeto, a confiança, a cumplicidade, proporcionando-lhes condições de estabilidade emocional” (MENEZES, 2015, p. 510).

internações, sem contar a qualidade de vida preservada. Acresce-se, outrossim, importância no treinamento dos profissionais da saúde para reconhecer os sinais da doença e portarem-se da melhor forma para que se consiga um diagnóstico precoce e mantenha-se a vida digna.

Diante da argumentação de que a medicina atual tem meios de evitar mortes de crianças e sofrimento de suas famílias com longos e tóxicos tratamentos para o TCA e considerando que o Estatuto da Criança e do Adolescente dispõe de instrumentos que garantem o direito à vida plena que está sendo negligenciado, depara-se com grave questão a ser enfrentada, em especial, no campo da bioética.

6 CONCLUSÕES

Objetivos 1 e 2: Nos estados do Paraná e de Santa Catarina a alta incidência do TCA está conectada com a frequência da mutação *TP53 R337H* nessas localidades, que é de 95% no PR e 87% em SC. Assim, estima-se que anualmente nascerão no estado paranaense 416 indivíduos com a mutação e 16 deles desenvolverão o TCA, enquanto em SC seriam oito casos de TCA com a mutação. Particularize-se que não houve correspondência entre a frequência da mutação e a incidência do TCA em determinadas localidades do Paraná em razão da interferência de poluentes ambientais.

Objetivo 3: A frequência do TCA no Paraná supera os casos estimados de Fibrose Cística e Fenilcetonúria, doenças cuja testagem é imprescindível. Ainda, o custo para tratamento dos casos avançados é demasiadamente elevado em comparação ao estágio 1, especialmente quando observado o custo de aquisição de medicamentos envolvidos na quimioterapia. Consoante dados da Secretaria de Saúde do Paraná (SESA/PR), abrangendo o período de 2007-2018, o número de internações e cirurgias de crianças com TCA mais avançado (estádios 2, 3 e 4) foi 23 vezes maior em contraposição com as identificadas em estágio inicial.

Objetivo 4: Atestou-se que o diagnóstico tardio persiste, e, apesar de o estado depender quantia considerável para o tratamento dos indivíduos com TCA avançado em comparação com o estágio inicial, por certo o monitoramento da doença através do Teste do Pezinho e orientação dos pais representa oneração menor considerando o número total de nascidos vivos por ano e o custo para enfermeiras controlarem o monitoramento das crianças.

Objetivo 5: A revisão do Projeto de Lei nº 262/2011, ao eliminar a responsabilidade dos municípios na criação de um programa especial para acompanhamento das crianças, sugerindo a adoção de um protocolo adaptado em que equipes compostas por profissionais de saúde são treinadas para atender em centros escolhidos conforme plano de gestão, bem como dispensar os exames periódicos, impacta nos custos finais do monitoramento. Uma alternativa para a redução do custo sem prejuízo da eficiência do monitoramento é a obrigatoriedade do teste apenas para as crianças com pelo menos um caso de câncer na família e com pelo menos um dos avós nascido na Região Sul.

De toda sorte, a economia não deve ser óbice para garantia do melhor interesse das crianças e priorização da dignidade da pessoa humana.

Objetivo geral: É notório o benefício do monitoramento observacional de crianças portadoras da mutação *TP53 R337H*, qual seja, o diagnóstico do TCA em estágio inicial a viabilizar cirurgia curativa e proporcionar qualidade de vida aos pacientes e, de forma reflexa, seus parentes. Não apenas diminui-se o estresse dos pais, mas alertam-se seus familiares acerca da potencialidade de desenvolvimento de câncer conduzindo a uma conduta preventiva e voltada aos cuidados com a saúde.

CONSIDERAÇÕES GERAIS: Uma vez incluso o TCA no rol de doenças abarcadas pelo Teste do Pezinho, não apenas a realização do teste se torna obrigatória, mas também o conhecimento de seu resultado prévio, restando facultativo apenas o teste confirmatório da mutação.

Em razão do TCA ser câncer que afeta principalmente a faixa pediátrica e ter forte associação com a mutação, deve-se questionar o prejuízo psicológico dos indivíduos portadores que ficarão na expectativa de desenvolver outros cânceres.

Primando-se pela vida e dignidade, a questão da potencialidade em desenvolver câncer, levando o indivíduo a buscar um planejamento de prevenção, parece menor frente ao diagnóstico precoce do TCA que rapidamente pode levar à morte se não tratado inicialmente, mas esse aspecto merece maior aprofundamento.

Assim, uma reflexão bioética profunda sobre o consentimento e obrigatoriedade do teste, além da questão orçamentária, é recomendável.

Atente-se para o fato de que, ao se descobrir um recém-nascido positivo para mutação *TP53 R337H*, haverá aproximadamente 25% de pessoas do lado materno ou paterno que também são portadoras da mutação. Junto com os recém-nascidos, eles continuarão anônimos, sem saber o risco de desenvolver qualquer tipo de câncer.

A descoberta de uma segunda mutação hereditária chamada de *XAF1-E134** que codifica uma proteína truncada (faltando o resto da proteína a partir do códon 134) tem uma relação muito importante com a mutação *TP53 R337H* (PINTO *et al.*, 2020). Na avaliação destes autores, a proteína *XAF1* normal é considerada também como fator de supressão tumoral, mas com a alteração *E134** pode intensificar o risco para alguns tipos de câncer se na mesma pessoa existir também a mutação *TP53 R337H*. Estes autores descreveram que esta mutação está presente em pelo menos 69% dos recém-nascidos positivos para *TP53 R337H*, geralmente no mesmo cromossomo 17, isto é, co-segregado, muito próximo um do outro. Quando normal (apenas *XAF1*), esta

proteína auxilia na ativação do gene *TP53* na resposta contra danos no DNA, porém sendo truncada não funciona bem ao lado de *TP53* R337H. A tradução disto é a possibilidade de maior risco para alguns tipos de câncer, por exemplo, sarcomas, e um aumento menor para o desenvolvimento de TCA.

Diante do exposto, recomenda-se que todos os recém-nascidos positivos para mutação sejam também depois testados para *XAF1*-E134*, e sendo positivos, recebam no aconselhamento genético as orientações pertinentes. Estes testes adicionais representam um gasto adicional de 416 testes de DNA por ano, ou seja, o total previsto de recém-nascidos positivos para *TP53* R337H (COSTA *et al.*, 2019). Do ponto de vista de cálculos não deve interferir na avaliação anterior considerando que não foram computados os gastos com muitas consultas e exames no acompanhamento dos estádios 2, 3 e 4.

7 REFERÊNCIAS

ANDORNO, R. The right not to know: an autonomy based approach. **J Med Ethics**. v. 30, n. 5, p. 435-440, out. 2004. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1733927/>>. Acesso em: 7 nov. 2020. DOI: 10.1136/jme.2002.001578.

AZAMBUJA, L. F. Testes genéticos preditivos: uma reflexão bioético jurídica. **Rev. Bioética y Derecho**. Barcelona, v. 30, p. 92-108, 2014. Disponível em: <http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1886-58872014000100007&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 7 nov. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1886-58872014000100007>.

AGÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE SUPLEMENTAR (ANS). **Painel de Precificação: plano de saúde 2018**. Rio de Janeiro, v. 7, p. 1-69, 2019. Disponível em: <http://www.ans.gov.br/images/Painel_Precifica%C3%A7%C3%A3o_2018.pdf>. ISSN online 2525-569X. Acesso em 18 dez. 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED). **Preços máximos de medicamentos por princípio ativo**. Brasília: 10 dez. 2019. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/374947/2829072/LISTA+CONFORMIDADE_2019-12-10.pdf/fa8a856b-0483-440d-b240-2691814ff74e>. Acesso em 11 dez. 2019.

ARAÚJO, J. D. de. O custo da doença: revisão de literatura. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 229-238, jun. 1975. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101975000200013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 02 maio 2020.

AUDITORIA SUS: custo médio de internação em UTI. Disponível em: <<https://auditasus.com.br/internacoes-sus/custo/custo-medio-diaria-uti/custo-medio-diaria-uti-por-especialidade>>. Acesso em: 18 abr. 2020.

BARBOSA NETO, J.G.; BRAZ, M. **Bioética, testes genéticos e a sociedade pós-genômica. Bioética e saúde: novos tempos para mulheres e crianças?** 20 ed. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 195-218, 2005. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/wnz6g/epub/schramm-9788575415405.epub>>. Acesso em 7 nov. 2020. DOI: 10.747/9788575415405.

BARROSO, L. R.. **A dignidade da pessoa humana no direito constitucional contemporâneo: natureza jurídica, conteúdos mínimos e critérios de aplicação**. Disponível em: <<https://www.luisrobertobarroso.com.br/wp->

content/uploads/2010/12/Dignidade_texto-base_11dez2010.pdf>. Acesso em 13 maio 2020.

BIRCH J.M. *et al.* Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families. **Cancer Res.** Filadélfia, v. 54, n. 5, 1994. Disponível em: <<https://cancerres.aacrjournals.org/content/54/5/1298.long>>. Acesso em: 04 maio 2020.

BONATO, M. L. *et al.* O Impacto Psicológico do Diagnóstico Positivo do Teste do Pezinho na Relação Mãe–Bebê. *Estudos de Biologia*, [S.l.], v. 27, n. 60, p. 33-37, nov. 2005. ISSN 1980-590X. DOI: 10.7213/reb.v27i60.21927. Disponível em: <<https://periodicos.pucpr.br/index.php/estudosdebiologia/article/view/21927>>. Acesso em: 05 dez. 2019.

BRANDALIZE, S. do R. C.; CZERESNIA, D. Avaliação do programa de prevenção e promoção da saúde de fenilcetonúricos. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 300-306, abr. 2004. DOI: 10.1590/S0034-89102004000200021. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102004000200021&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 12 out. 2018.

BRASIL. 4ª turma do Tribunal Regional Federal da 3ª Região. **Apelação Cível 0010114-89.2012.4.03.6100**. Apelante: Ministério Público Federal. Apelado: Estado de São Paulo. Relator: Desembargador Marcelo Saraiva. São Paulo, 11 abr. 2018b. Disponível em: <<https://trf-3.jusbrasil.com.br/jurisprudencia/419884260/apelacao-civil-ac-101148920124036100-sp/inteiro-teor-419884271>>. Acesso em: 12 out. 2018.

BRASIL. Câmara dos Deputados. Projeto de lei nº 5946/2016, de 9 de agosto de 2016. Autor: Laura Carneiro. Dispõe sobre ações de atenção à saúde das pessoas portadoras de hemoglobinopatias, fenilcetonúria, hipotireoidismo, fibrose cística, deficiência de biotinidase e hiperplasia adrenal congênita e altera as Leis nº 8.069, de 13 de julho de 1990, e nº 9.263, de 12 de janeiro de 1996, para tornar obrigatória a realização das ações que especifica. **Câmara dos Deputados**, Brasília, DF, 2016b. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=1481311&filename=PL+5946/2016>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. **Código de Processo Civil**. Lei nº 13.105/2015. Diário Oficial da União, Brasília, DF: Senado Federal, 17 de março de 2015b. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2015/lei/l13105.htm>. Acesso em: 31 maio 2020.

BRASIL. Constituição (1988). **Constituição**: República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado Federal, 1988.

BRASIL. Decreto nº 7.646/2011, de 21 de dezembro de 2011. Dispõe sobre a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde e sobre o processo administrativo para incorporação, exclusão e alteração de tecnologias em saúde pelo Sistema Único de Saúde (SUS), e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 22 dez. 2011b. Seção I, p.3. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2011/Decreto/D7646.htm>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Lei nº 12.401/2011, de 28 de abril de 2011. Altera a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologia em saúde no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. [s/n], 29 abr. 2011a. Seção I, p. 1. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2011/Lei/L12401.htm>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990. **Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA)**. Dispõe sobre o Estatuto da Criança e do Adolescente e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n.135, 16 jul. 1990. Seção I, p. p. 13563. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8069.htm#art266>. Acesso em: 12 out. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Banco de Preços em Saúde (**BPS**). Brasília, DF, 2020. Disponível em: <<http://bps.saude.gov.br/login.jsf>>. Acesso em 10 jan. 2020b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC). **Relatório de Recomendação Galactosemia**. Brasília, DF, 2018a. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Consultas/2018/Relatorio_Galactosemia_TriagemNeonatal_CP25_2018.pdf>. Acesso em 30 nov. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC). **Relatório de Recomendação Enzima desidrogenase de glicose hepática (glicose-6-fosfato desidrogenase, G-6-PD)**. Brasília, DF, 2018b. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Consultas/2018/Relatorio_Glicose6-fosfato-TriagemNeonatal_CP30_2018.pdf>. Acesso em 7 nov. 2020.

BRASIL. Ministério da saúde. Dados sobre o Programa Nacional de Triagem Neonatal. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF, 21 ago. 2017a. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-da-triagem-neonatal/dados-sobre-o-programa-nacional-de-triagem-neonatal>>. Acesso em: 29 nov. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS. Número de nascidos vivos para residência da mãe segundo Município no Paraná em 2017c. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinasc/cnv/nvpr.def>>. Acesso em 07.06.2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS. SISTEMA DE GERENCIAMENTO DA TABELA DE PROCEDIMENTOS, MEDICAMENTOS E OPM DO SUS (**SIGTAP**). Tabela de Procedimentos, Medicamentos, Órteses, Próteses e Materiais Especiais do SUS. Competência junho 2020a. Disponível em: <<http://sigtap.datasus.gov.br/tabela-unificada/app/sec/procedimento/exibir/0301010072/06/2020>>. Acesso em 8 jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Diretrizes Brasileiras de Avaliações Econômicas. Brasília, DF, 2014c. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_diretriz_avaliacao_economica.pdf>. Acesso em: 26 maio 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 199/2014, de 30 de jan. de 2014. Institui a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras. Diretrizes para Atenção Integral às Pessoas com Doenças Raras no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) e institui incentivos financeiros de custeio. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF, jan. 2014a. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt0199_30_01_2014.html>. Acesso em: 12 out. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.829/2012, de 14 de dezembro de 2012. Inclui a Fase IV no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), instituído pela Portaria nº 822/GM/MS, de 6 de junho de 2001. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF, 14 dez. 2012b. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2012/prt2829_14_12_2012.html>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 2, de 28 de set. de 2017. Consolidação das normas sobre as políticas nacionais de saúde do Sistema Único de Saúde. Instituição das Políticas Nacionais do SUS. **Ministério da Saúde**, Brasília, DF, 28 set. 2017b. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0002_03_10_2017.html>. Acesso em: 29 maio 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). **Fibrose Cística (FC)**. Ministério da Saúde, Brasília, DF, 15 ago. 2017d. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-da-triagem-neonatal/fibrose-cistica-fc>>. Acesso em: 4 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). **Fenilcetonúria (PKU)**. Ministério da Saúde, Brasília, DF, 15 ago. 2017e. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/acoes-e-prog/programa-nacional-da-triagem-neonatal/fenilcetonuria-pku>>. Acesso em: 4 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Triagem Neonatal Biológica: manual técnico. **Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática**. Brasília, DF, 2016a. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal_biologica_manual_tecnico.pdf>. Acesso em 21.12.2019.

BRASIL. Senado Federal. **Projeto de lei nº 4610/1998, de 5 de junho de 1998**. Autor: Lúcio Alcântara. Define os crimes resultantes de discriminação genética. Senado Federal, Brasília, DF, 1998. Disponível em: <<https://www.camara.leg.br/propostas-legislativas/20995>>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Projeto de lei nº 2.818/2011, de 30 de novembro de 2011. Autor: Eleuses Paiva. Obriga a realização do Exame de Oximetria de Pulso em todos os recém-nascidos. **Câmara dos Deputados**, Brasília, DF, 2011c. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=945330&filename=PL+2818/2011>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Projeto de lei nº 4.211/2015, de 22 de dezembro de 2015. Autor: Marcelo Belinati. Torna obrigatória a realização do teste de triagem neonatal com a finalidade de estabelecer o diagnóstico de fibrose cística em todas as crianças nascidas nos hospitais e demais estabelecimentos de atenção à saúde de gestantes. **Câmara dos Deputados**, Brasília, DF, 2015a. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=1426799&filename=PL+4211/2015>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Projeto de lei nº 484/2011, de 18 de fevereiro de 2011. Autor: Eduardo Azeredo. Altera o art. 10 da Lei 8.069, de 13 de julho de 1990 (Estatuto da Criança e do Adolescente), para tornar obrigatória a realização de exames para diagnóstico ou triagem, em recém-nascidos, de anormalidades do metabolismo, no âmbito do Sistema Único de Saúde. **Senado Federal**, Brasília, DF, 2011d. Disponível em: <<https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=4924>>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Projeto de lei nº 5701/2013, de 4 de junho de 2013. Autor: Geraldo Resende. Altera a Lei nº 12.303, de 2 de agosto de 2010, que “dispõe sobre a obrigatoriedade de realização do exame denominado Emissões Otoacústicas Evocadas”. **Câmara dos Deputados**, Brasília, 2013. Disponível em:

<https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=1095710&filename=PL+5701/2013>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Projeto de lei nº 7497/2014, de 6 de maio de 2014. Autor: Heuler Cruvinel. Dispõe sobre a obrigatoriedade da realização, em todo território nacional, das manobras de Barlow e Ortolani em bebês recém-nascidos - "teste do quadril".

Câmara dos Deputados, Brasília, DF, 2014b. Disponível em:

<https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=1250653&filename=PL+7497/2014>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Diretrizes Brasileiras de Avaliações Econômicas. Brasília, DF, 2014c. Disponível em:

<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_diretriz_avaliacao_economica.pdf>. Acesso em: 26 maio 2020.

BRASIL. **Portaria nº 822/2001, de 6 de junho de 2001**. Institui, no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Triagem Neonatal/PNTN.

Ministério da Saúde, Brasília, DF, 6 jun. 2001. Disponível em:

<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2001/prt0822_06_06_2001.html>. Acesso em: 4 abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.829/2012, de 14 de dezembro de 2012**. Inclui a Fase IV no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), instituído pela Portaria nº 822/GM/MS, de 6 de junho de 2001. Ministério da Saúde, Brasília, DF, 14 dez. 2012. Disponível em:

<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2012/prt2829_14_12_2012.html>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. **Lei nº 12.401/2011, de 28 de abril de 2011**. Altera a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologia em saúde no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Diário Oficial da União, Brasília, DF, n. [s/n], 29 abr. 2011a. Seção I, p. 1. Disponível em:

<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2011/Lei/L12401.htm>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. **Decreto nº 7.646/2011, de 21 de dezembro de 2011**. Dispõe sobre a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde e sobre o processo administrativo para incorporação, exclusão e alteração de tecnologias em saúde pelo Sistema Único de Saúde (SUS), e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 dez. 2011b. Seção I, p.3.

Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2011/Decreto/D7646.htm>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. **Projeto de lei nº 2.818/2011, de 30 de novembro de 2011**. Autor: Eleuses Paiva. Obriga a realização do Exame de Oximetria de Pulso em todos os recém-nascidos. Câmara dos Deputados, Brasília, DF, 2011c. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra?codteor=945330&filename=PL+2818/2011>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. **Projeto de lei nº 484/2011, de 18 de fevereiro de 2011**. Autor: Eduardo Azeredo. Altera o art. 10 da Lei 8.069, de 13 de julho de 1990 (Estatuto da Criança e do Adolescente), para tornar obrigatória a realização de exames para diagnóstico ou triagem, em recém-nascidos, de anormalidades do metabolismo, no âmbito do Sistema Único de Saúde. Senado Federal, Brasília, DF, 2011d. Disponível em: <<https://www.camara.leg.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=4924>>. Acesso em: 3 abr. 2019.

BRASIL. Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990. **Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA)**. Dispõe sobre o Estatuto da Criança e do Adolescente e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, n.135, 16 jul. 1990. Seção I, p. p. 13563. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8069.htm#art266>. Acesso em: 12 out. 2018.

BRASIL. Constituição (1988). **Constituição**: República Federativa do Brasil. Brasília, DF: Senado Federal, 1988.

BRASIL. Superior Tribunal de Justiça. Repercussão Geral. **Tema 1103**: saber se os pais podem deixar de vacinar os seus filhos, tendo como fundamento convicções filosóficas, religiosas, morais e existenciais. ARE 1267879. Recorrente: A.C.P.C. e outro. Recorrido: Ministério Público do Estado de São Paulo. Relator: Min. Roberto

Barroso. Brasília, 28 ago. 2020. Disponível em: <<https://trf-3.jusbrasil.com.br/jurisprudencia/419884260/apelacao-civel-ac-101148920124036100-sp/inteiro-teor-419884271>>. Acesso em: 12 out. 2018.

CADWELL , C; ZAMBETTI. G.P. Regulators and mediators of the p53 tumor suppressor. **J Cell Biochem**. [S.l.], p. 43-49, 1998.

CARTA DE UMA PRISÃO EM BIRMINGHAM. Carta de 16 abr. 1963, de autoria de Martin Luther King Jr. Disponível em: <<http://www.reparacao.salvador.ba.gov.br/index.php/noticias/822-sp-1745380961>>. Acesso em: 08 jun. 2020.

CHAVES, C. R. M. M.; CUNHA, A. L. P. Avaliação e recomendações nutricionais para crianças e adolescentes com fibrose cística. *Isso. Paul. Pediatr.* São Paulo, v. 30, n. 1, p. 131-138, 2012. DOI: 10.1590/S0103-05822012000100019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-05822012000100019&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 05 dez. 2019.

CHILDREN'S ONCOLOGY GROUP. Treatment of Adrenocortical Tumors with Surgery plus Lymph Node Dissection and Multiagent Chemotherapy. Departamento de Hematologia e Oncologia. Boston, 2013. Disponível em: <<https://www.childrensoncologygroup.org/arar0332>>. Acesso em: 07 abr. 2020.

COMISSÃO NACIONAL DE INCORPORAÇÃO DE TECNOLOGIAS NO SUS (CONITEC). **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Fenilcetonúria**: relatório de recomendação, nº. 16. Brasília: CONITEC, 2019. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2019/Relatorio_PCDT_Fenilcetonuria_CP16_2019.pdf>. Acesso em: 8 jun. 2020.

COSTA, T. E.J. *et al.* Penetrance of the TP53 R337H Mutation and Pediatric Adrenocortical Carcinoma Incidence Associated with Environmental Influences in a 12-Year Observational Cohort in Southern Brazil. *Cancers*, Basileia, v. 11, n. 11, p. 1-16, 16 nov. 2019. MDPI AG. DOI: 10.3390/cancers11111804. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-6694/11/11/1804>>. Acesso em: 05 dez. 2019.

CUSTÓDIO, G. *et al.* Impact of neonatal screening and surveillance for the TP53 R337H mutation on early detection of childhood adrenocortical tumors. *J Clin Oncol*, Alexandria, v. 31, n. 20, p. 2619-2626, jul. 2013. DOI: 10.1200/JCO.2012.46.3711. _____. Molecular epidemiology of adrenocortical tumors in southern Brazil. *Mol Cell Endocrinol*, Amsterdã, v. 351, p. 44-51, 31 mar. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720711006332?via%3Dihub>>. Acesso em: 22 abr. 2020.

_____. Increased incidence of choroid plexus carcinoma due to the germline TP53 R337H mutation in southern Brazil. *PLoS One*. Bethesda, v. 22, n. 6, p. e18015, mar. 2011. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0018015>>. Acesso em: 11 maio 2020.

DATABASE das coortes do Pequeno Príncipe [<https://coorte1.ippsys.org/>].

DEHNER, L.P., HILL, D.A. Adrenal cortical neoplasms in children: why so many carcinomas and yet so many survivors?. *Pediatr Dev Pathol*. [S.l.], v. 12, n. 4, p. 284-291, jul. 2009. DOI: 10.2350/08-06-0489.1. Disponível em:

<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.2350/08-06-0489.1?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed#articleCitationDownloadContainer>. Acesso em: 8 jun. 2020.

DIGIAMMARINO, E. *et al.* A novel mechanism of tumorigenesis involving pH-dependent destabilization of a mutant p53 tetramer. **Nat Struct Mol Biol.** [S.l.], v. 9, p. 12–16, jan. 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nsb730>>. Acesso em: 22 abr. 2020.

DISTRITO FEDERAL. Assembleia Legislativa do Distrito Federal. **Lei nº 6.382/2019, de 24 de setembro de 2019.** Autora: Celina Leão. Assembleia Legislativa do Distrito Federal. Altera a Lei nº 4.190, de 6 de agosto de 2008, que assegura a todas as crianças nascidas nos hospitais e demais estabelecimentos de atenção à saúde de gestantes da rede pública de saúde do Distrito Federal o direito ao teste de triagem neonatal, na sua modalidade ampliada. Distrito Federal, DF, 24 set. 2019. Disponível em: <http://www.sinj.df.gov.br/sinj/Norma/e1e43ed1a0394c2ea01011e0176d5adb/Lei_6382_24_09_2019.html>. Acesso em: 7 nov. 2020.

FIGUEIRA, V. B. Perfil clínico e epidemiológico de pacientes portadores de fenilcetonúria no estado de Goiás. Dissertação de mestrado a ser apresentada ao Programa de Pós-graduação em Enfermagem da Faculdade de Enfermagem da Universidade Federal de Goiás como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Enfermagem, Mestrado em Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/8400>>. Acesso em: 30 nov. 2019.

FIGUEIREDO, B. C. *et al.* Penetrance of adrenocortical tumours associated with the germline *TP53* R337H mutation. **Journal of Medical Genetics**, Londres, v. 43, n.1, p. 91-96, jan. 2006. DOI: 10.1136/jmg.2004.030551.

GARIOLI, D. *et al.* Avaliação do coping da dor em crianças com Anemia Falciforme. **Estud. psicol.** Campinas, v. 36, e160079, p. 1-12, 2019. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103166X2019000100901&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 02 jan. 2020.

GARRETT, J.R. *et al.* Rethinking the “open future” argument against predictive genetic testing of children. **Genet Med**. Califórnia, v. 21, p. 2190–2198, 2019, mar. 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41436-019-0483-4>>. Acesso em: 7 nov. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0483-4>.

GUERRA, F. A. **TABELA SUS:** uma avaliação do CRMMG. Trabalho apresentado em debate sobre o reajuste da Tabela SUS aplicável aos hospitais filantrópicos na

Comissão de Seguridade Social e Saúde da Câmara dos Deputados, Brasília, 2015. Disponível em: <<https://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/cssf/audiencias-publicas/audiencia-publica-2015/audiencia-31-03-tarde/apresentacao-2>>. Acesso em: 18 abr. 2020.

GUTHRIE, R.; SUSI, A. A simple phenylalanine method for detection of phenylketonuria in large populations of newborns infants. **Pediatrics**. Maryland Heights, v. 32, p. 338-348, set. 1963. Disponível em: <<https://pediatrics.aappublications.org/content/32/3/338.long>>. Acesso em: 11 maio 2020.

HOSPITAL DE CLINICAS DA UFPR. **Pregão eletrônico 101/2019**. Implantação de Sistema Registro de Preços, com vigência de doze meses, para aquisição parcelada, conforme necessidade, de medicamentos (paclitaxel 100mg e outros). Curitiba: 10 jul. 2019. Disponível em: <<https://www.sigapregao.com.br/app/pregao/153808/101/2019>>. Acesso em: 18 de abr. 2020.

HOSPITAL PEQUENO PRÍNCIPE. [Internações TCA 2006-2019]. Curitiba, 2020. [Documento não divulgado].
INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **População do Paraná no último censo**, 2019a. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pr/panorama>>. Acesso em: 08 jun. 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **População de Santa Catarina no último censo**, 2019b. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/panorama>>. Acesso em: 08 jun. 2020.

IPEADATA. Base de dados macroeconômicos, financeiros e regionais do Brasil mantida pelo IPEA (Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada). Disponível em: <<http://www.ipeadata.gov.br/ExibeSerie.aspx?serid=31924>>. Acesso em: 05 maio 2020.

KING JÚNIOR., M. L. Carta de uma prisão em Birmingham. Birmingham, 16 abr. 1963. Disponível em: <<http://www.reparacao.salvador.ba.gov.br/index.php/noticias/822-sp-1745380961>>. Acesso em: 08 jun. 2020.

KIPPER, Délio José. Limites do poder familiar nas decisões sobre a saúde de seus filhos – diretrizes. **Rev. Bioét.**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 40-50, abr. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-80422015000100040&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 04 jan. 2020.

LEAO, L. L.; AGUIAR, M. J. B. de. Triagem neonatal: o que os pediatras deveriam saber. **J. Pediatr.** (Rio J.), Porto Alegre, v. 84, n. 4, supl. p. S80-S90, ago. 2008. DOI: 10.1590/S0021-75572008000500012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572008000500012&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 27 nov. 2019.

LI, F.P.; FRAUMENI JUNIOR, J.F. Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and identification of a familial cancer syndrome. **J Natl Cancer Inst.** [S.l.], v. 43, p. 1365-1373, 1969.

LUSTBADER, E.D. *et al.* Segregation analysis of cancer in families of childhood soft-tissue-sarcoma patients. **Am J Hum Genet.** Birmingham, v. 51, n. 2, p. 344-356, 1992.

MALKIN, D. *et al.* Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. **Science**, [S.l.], v.30, n. 250(4985), p. 1233-1238, 1990.

MALKIN, D. Li-fraumeni syndrome. **Genes Cancer.** Orchard Park, v. 2, p. 475-84, abr. 2011. DOI: 10.1177/1947601911413466. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3135649/>>. Acesso em: 06 maio 2020.

MARIGO, C.; MULLER, H.; DAVIES, J.N.P. Survey of cancer in children admitted to a Brazilian charity hospital. **J NATL. Cancer Inst.** [S.l.], v. 43 ,n. 6, p. 1231-40, 1969.

MASTELLARO, M. J. *et al.* Tumores adrenocorticais associados à mutação germinativa TP53 p.R337H podem ser identificados durante as consultas de puericultura. **J. Pediatr.** (Rio J.), Porto Alegre, v. 94, n. 4, p. 432-439, ago. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572018000400432&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 02 maio 2020.

MCBRIDE C.M. *et al.* The behavioral response to personalized genetic information: will genetic risk profiles motivate individuals and families to choose more healthful behaviors? **Annu Rev Public Health.** [S.l.], v. 31, n.1, p. 89-103, abr. 2010. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.publhealth.012809.103532>>. Acesso em: 7 nov. 2020. DOI: 10.1146/annurev.publhealth.012809.103532.

MELO, C. A. B. de. **O conteúdo jurídico do Princípio da Igualdade.** 3ª ed. São Paulo: Malheiros, 1999.

MENDES, J. A. A.; ORMEROD, T. O Princípio dos Melhores Interesses da Criança: Uma Revisão Integrativa de Literatura em Inglês e Português. **Psicol. Estud.** Maringá, v. 24, e45021, nov. 2019. ISSN 1807-0329. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-73722019000100233&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 31 maio 2020.

MENEZES, J. B.; MORAES, M. C. B. Autoridade parental e privacidade do filho menor: o desafio de cuidar para emancipar. **Revista Novos Estudos Jurídicos – Eletrônica**, v. 20, n. 2, mai-ago 2015, p. 501-532. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/281393318_AUTORIDADE_PARENTAL_E_PRIVACIDADE_DO_FILHO_MENOR_O_DESAFIO_DE_CUIDAR_PARA_EMANCIPAR>. Acesso em: 20 jan. 2020.
MICHAELKIEWICZ, E. *et al.* Clinical and outcome characteristics of children with adrenocortical tumors: a report from the International Pediatric Adrenocortical Tumor Registry. **J Clin Oncol**, Alexandria, v. 22, n. 5, p.838-845, mar. 2004. DOI: 10.1200/JCO.2004.08.085.

MIRA, N. V. M. de; MARQUEZ, U. M. L. Importância do diagnóstico e tratamento da fenilcetonúria. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 86-96, fev. 2000. DOI: 10.1590/S0034-89102000000100016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102000000100016&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 12 out. 2018.
MINAS GERAIS. Assembleia Legislativa de Minas Gerais. **Lei nº 23554/2020, de 13 de janeiro de 2020**. Altera a Lei nº 22.422, de 19 de dezembro de 2016, que estabelece objetivos e diretrizes para a adoção de medidas de atenção à saúde materna e infantil no Estado. Belo Horizonte, MG, 14 jan. 2020. Disponível em: <<https://www.almg.gov.br/consulte/legislacao/completa/completa.html?tipo=LEI&num=23554&comp=&ano=2020>>. Acesso em: 7 nov. 2020.

MONTEIRO, L. T. B.; CANDIDO, L. M. B. Fenilcetonúria no Brasil: evolução e casos. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 381-387, jun. 2006. DOI: 10.1590/S1415-52732006000300009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-52732006000300009&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 12 dez. 2019.

MORAES, A. de. **Direito Constitucional I**. 13. ed. São Paulo: Atlas, 2003. Sem paginação. Disponível em: <https://jornalistaslivres.org/wp-content/uploads/2017/02/DIREITO_CONSTITUCIONAL-1.pdf>. Acesso em: 13 maio 2020.

NOVELINO, M. **Curso de Direito Constitucional**. Rio de Janeiro: Juspodivm. 14^a ed. 2019.

PARANÁ. Assembleia Legislativa do Paraná. Projeto de lei nº 268/2008, de 16 de junho de 2008. Autor: Pedro Ivo Ilvik. **Assembleia Legislativa do Paraná**. Institui no estado do Paraná a realização do exame de DNA para detecção da mutação responsável pela incidência do tumor de córtex adrenal em crianças. Curitiba, PR, 16 jun. 2008. Disponível em:

<http://portal.alep.pr.gov.br/modules/mod_legislativo_arquivo/mod_legislativo_arquivo.php?leiCod=16601&tipo=I>. Acesso em: 3 abr. 2019.

PARANÁ. Assembleia Legislativa. Projeto de lei nº 262/2011, de 30 de março de 2011. Autor: Alexandre Curi. **Assembleia Legislativa do Paraná**, Curitiba, PR, 30 mar. 2011. Disponível em:

<http://portal.alep.pr.gov.br/modules/mod_legislativo_arquivo/mod_legislativo_arquivo.php?leiCod=3764&tipo=I>. Acesso em: 3 abr. 2019.

PARANÁ. Constituição (1989). **Constituição do Estado do Paraná**. Curitiba, PR: Assembleia Estadual Constituinte, 1989. Disponível em:

<<http://www2.senado.leg.br/bdsf/handle/id/70436>>. Acesso em: 3 abr. 2019.

PARANÁ. Lei nº 8627/1987, de 9 de dezembro de 1987. Dispõe sobre a obrigatoriedade dos diagnósticos que especifica, nas crianças nascidas nas maternidades e casas hospitalares mantidas pelo Estado do Paraná. **Diário Oficial**, Curitiba, PR, n. 2667, 10 dez. 1987. Disponível em:

<<https://www.legislacao.pr.gov.br/legislacao/pesquisarAto.do?action=exibir&codAto=7031&codItemAto=58705#521006>>. Acesso em: 3 abr. 2019.

PARANÁ. SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DO PARANÁ. [Internações TCA 2007-2018]. Curitiba, 2019. [Documento não divulgado].

PEREIRA, Rosana Marques et al. Tumores do córtex adrenal na infância. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 48, n. 5, p. 651-658, out. 2004. DOI:

10.1590/S0004-27302004000500010. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302004000500010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 15 jul. 2020.

PIANOVSKI, M.A. *et al.* Mortality rate of adrenocortical tumors in children under 15 years of age in Curitiba, Brazil. **Pediatr Blood Cancer**, [S. l.], v. 47, p.56-60, jul. 2006. DOI: 10.1002/pbc.20624.

PINTO E.M. *et al.* XAF1 as a Modulator of *TP53* p.R337H-Driven Tumorigenesis: The Effect of a Genetic Modifier on Cancer Susceptibility. **Science Advances**. [S.l.], v. 6, n. 26, não p., jun. 2020. Disponível em:

<<https://advances.sciencemag.org/content/6/26/eaba3231/tab-pdf>>. Acesso em: 23 jul. 2020. DOI: 10.1126/sciadv.aba3231.

_____. TP53-Associated Pediatric Malignancies. **Genes & Cancer**. Bethesda, v. 2, n. 4, p. 485-490, abr. 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3135643/>>. Acesso em: 22 abr. 2020. DOI 10.1177/1947601911409745.

_____. Genomic landscape of paediatric adrenocortical tumours. **Nat Commun.**, Bethesda, v. 6, n. 6302, 6 mar. 2015. DOI: 10.1038/ncomms7302.

_____. Founder effect for the highly prevalent R337H mutation of tumor suppressor p53 in Brazilian patients with adrenocortical tumors. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo, v. 48, n. 5, p. 647-650, out. 2004. DOI: 10.1590/S0004-27302004000500009.

RASKIN, S. et. al. Incidence of cystic fibrosis in five different states of Brazil as determined by screening of p.F508del, mutation at the CFTR gene in newborns and patients. **J Cyst Fibros**, [S.l.], v. 7, p. 15-22, jan. 2008. DOI: 10.1016/j.jcf.2007.03.006. Disponível em: <[https://www.cysticfibrosisjournal.com/article/S1569-1993\(07\)00036-7/fulltext](https://www.cysticfibrosisjournal.com/article/S1569-1993(07)00036-7/fulltext)>. Acesso em: 22 abr. 2020.

RIBEIRO, J. D.; RIBEIRO, M. A. G. de O.; RIBEIRO, A. F. Controvérsias na fibrose cística: do pediatra ao especialista. **J. Pediatr.** Porto Alegre, v. 78, supl. 2, p. 171-186, dez. 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572002000800008&lng=en&nrm=iso>>. Acesso em: 11 maio 2020.

RIBEIRO, R. C. *et al.* An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. **Proc Natl Acad Sci**, Philadelphia, v. 98, n. 16, p. 9330-9335, jul. 2001. DOI: 98:9330-5.

RODRIGUEIRO, D. A. *et al.* Síndrome de Li-Fraumeni: uma abordagem para identificação e aconselhamento genético de portadores. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, [S.l.], p. 89, out. 2016. ISSN 1984-4840. Disponível em: <<https://ken.pucsp.br/RFCMS/article/view/29848>>. Acesso em: 02 maio 2020.

RODRIGUEZ-GALINDO, C. *et al.* Biology, clinical characteristics and management of adrenocortical tumors in children. **Pediatr. Blood Cancer**. Vancouver, v. 45, n.3, p. 265-273, 2005. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/toc/15455017/2005/45/3>>. Acesso em: 11 maio 2020.

ROSENVALD, Nelson. **O ilícito omissivo parental: as três travessias**. Disponível em:
 <https://docs.wixstatic.com/ugd/d27320_47adb680219640af8c1ac8ad9be76f5b.pdf>.
 Acesso em 02 jan. 2018.

SALLES, A. A. Aspectos éticos dos testes preditivos em doenças de manifestação tardia. **Rev. Bras. Saude Mater. Infant.** Recife, v. 10, supl. 2, p. s271-s277, dez. 2010. DOI: 10.1590/S1519-38292010000600003. Disponível em:
 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151938292010000600003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 18 jan. 2020.

SANDRINI, R. *et al.* Childhood adrenocortical tumors. *J Clin. Endocr. Metab.* [S.I.], v. 82, n. 7, p. 2027–2031, jul. 1997. Disponível em:
 <<https://academic.oup.com/jcem/article/82/7/2027/2865880>>. Acesso em: 11 maio 2020.

SANTA CATARINA. SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DE SANTA CATARINA. [Internações TCA 2007-2017]. Curitiba, 2019. [Documento não divulgado]

SANTANA, L. C. da S. *et al.* Molecular characterization of phenylketonuria in South Brazil. **Mol Genet Metab**, [S.I.], v. 79, p. 17-24, maio 2003. DOI: 10.1016/S1096-7192(03)00032-5. Disponível em:
 <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1096719203000325?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 abr. 2020.

SCHAEFER, Fernanda. Autoridade Parental e Vacinação Obrigatória. In: Luciana Dadalto; Ana Carolina Brochado Teixeira. (Org.). **Autoridade Parental: Dilemas e Desafios Contemporâneos**. 1. ed. Indaiatuba: Foco, 2019, v. 1, p. 245-262.

SEIDINGER, A.L. *et al.* Association of the highly prevalent TP53 R337H mutation with pediatric choroid plexus carcinoma and osteosarcoma in southeast Brazil. **Cancer**. Georgia, v. 117, n. 10, p. 2228-2235, 15 maio 2011. DOI: 10.1002/cncr.25826. Disponível em:
 <<https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cncr.25826>>. Acesso em: 21 maio 2020.

SILVA, L. P. da. **Direito à saúde e o princípio da reserva do possível**. Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Direito Público, no Curso de Pós-Graduação Lato Sensu, do Instituto Brasiliense de Direito Público (IDP). Brasília. [2007?]. Disponível em:

<https://www.stf.jus.br/arquivo/cms/processoAudienciaPublicaSaude/anexo/DIREITO_A_SAUDE_por_Leny.pdf>. Acesso em 13 maio 2020.

SOUZA, C. F. M. de; SCHWARTZ, I. V.; GIUGLIANI, R. Triagem neonatal de distúrbios metabólicos. **Ciênc. saúde coletiva**, São Paulo, v. 7, n. 1, p. 129-137, 2002. DOI: 10.1590/S1413-81232002000100012. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81234842002000100012&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 12 out. 2018.

STRONG, L.C.; WILLIAMS, W.R.; TAINSKY, M.A. The Li-Fraumeni syndrome: from clinical epidemiology to molecular genetics. **Am J Epidemiol.**, [S.l.], v. 135, n. 2, p. 190-199, 1992. Disponível em: <<https://academic.oup.com/aje/article-abstract/135/2/190/92401?redirectedFrom=fulltext>>. Acesso em: 06 maio 2020.

TESTES DO PEZINHO DE BEBÊS DE SANTA CATARINA SERÃO ANALISADOS NO PARANÁ. **G1 Paraná**, Santa Catarina, 4 ago. 2016. Disponível em: <<http://g1.globo.com/sc/santa-catarina/noticia/2016/08/testes-do-pezinho-de-bebes-de-santa-catarina-serao-feitos-no-parana.html>>. Acesso em: 3 abr. 2019.

VILLANI, A. *et al.* Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: a prospective observational study. **Lancet Oncol.** [S.l.], v. 12, n. 6, p. 559-567, 2011. DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70119-X. Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(11\)70119-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(11)70119-X/fulltext)>. Acesso em 08 jun. 2020.

VOGELSTEIN, B.; LANE, D.; LEVINE, A.J. Surfing the p53 network. **Nature.** [S.l.], v. 408, p. 307–310, 2000. DOI: 10.1038/35042675. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/35042675>>. Acesso em: 06 maio 2020.

WEISZ, L., Oren, M.; ROTTER, V. Transcription regulation by mutant p53. **Oncogene.** [S.l.], v. 26, p. 2202–2211, 2007. DOI: 10.1038/sj.onc.1210294. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/1210294>>. Acesso em: 06 maio 2020.

ZANCANELLA, P. *et al.* Mitotane associated with cisplatin, etoposide, and doxorubicin in advanced childhood adrenocortical carcinoma: mitotane monitoring and tumor regression. **J Pediatr Hematol Oncol.**, [S.l.], v. 28, n. 8, p. 513-524, 2006. DOI: 10.1097/01.mph.0000212965.52759.1c. Disponível em: <https://journals.lww.com/jpho-online/Abstract/2006/08000/Mitotane_Associated_With_Cisplatin,_Etoposide,_and.5.aspx>. Acesso em: 22 abr. 2020.

8 APÊNDICE – ÍNTEGRA DO ARTIGO PUBLICADO



Article

Penetrance of the TP53 R337H Mutation and Pediatric Adrenocortical Carcinoma Incidence Associated with Environmental Influences in a 12-Year Observational Cohort in Southern Brazil

Tatiana E. J. Costa^{1,2,3}, Viviane K. Q. Gerber^{1,4}, Humberto C. Ibañez¹, Viviane S. Melanda⁵, Ivy Z. S. Parise^{1,2,3}, Flora M. Watanabe⁶, Mana A. D. Pianovski⁷, Carmem M. C. M. Fiori⁸, Ana L. M. R. Fabro^{2,6}, Denise B. da Silva⁴, Diancarlos P. Andrade^{1,2}, Heloisa Komechen^{1,9}, Monalisa C. Mendes^{1,9}, Edna Carboni⁶, Ana Paula Kuczynski⁶, Emanuelle N. Souza^{1,9}, Mariana M. Paraizo^{1,2,9}, Marilena V. C. Ibañez¹, Laura M. Castilho⁹, Amanda F. Cruz⁹, Thaila F. da Maia⁹, Cleber Machado-Souza^{1,2}, Roberto Rosati^{1,2}, Claudia S. Oliveira^{1,2}, Guilherme A. Parise⁹, Jaqueline D. C. Passos⁹, José R. S. Barbosa^{1,9}, Mirna M. O. Figueiredo⁹, Leniza Lima^{7,10}, Tiago Tormen^{7,10}, Cesar C. Sabbaga⁶, Sylvio G. A. Ávila⁶, Lenia Grisa⁶, Airtun Aranha⁶, Karina C. F. Tassin⁶, Karin R. P. Ogradowski^{1,2}, Geneci Lima¹, Edith E. Legal², Tania H. Aneagawa^{11,12}, Tânia L. Mazzucco¹², André L. Grion¹, José H. G. Balbinotti¹, Karin L. Dammski¹, Rosiane G. Melo^{1,2}, Nilton Kiesel Filho⁶, Gislaïne Custódio⁹ and Ronald C. Figueiredo^{1,2,3,4,6,10,11}

¹ Instituto de Pesquisa Polí Pequeno Príncipe, Av. Silva Jardim, 1832, Curitiba 80250-060, PR, Brazil

² Faculdades Pequeno Príncipe, Av. Iguaçu, 333, Reboouças, Curitiba 80230-020, Brazil

³ Hospital Infantil Joana de Gusmão, R. Rui Barbosa, 152, Agronômica, Florianópolis 88025-301, SC, Brazil

⁴ Departamento de Enfermagem, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Rua Simão Varela de Sá, 03, Vila Carli, Guaranapuava 83040-080, PR, Brazil

⁵ Secretaria do Estado da Saúde do Paraná, R. Piquiri, 170, Reboouças, Curitiba 80230-140, PR, Brazil

⁶ Hospital Pequeno Príncipe, Rua Desembargador Motta, 1070, Água Verde, Curitiba 80250-060, PR, Brazil

⁷ Oncologia Pediátrica, Hospital Erasmo Gasstron, R. 201, Jardim das Américas, Curitiba 81520-060, PR, Brazil

⁸ Hospital do Câncer, UNIPICC/AN, R. Itaquaitanas, 708, Santo Osmo, Cascavel 85806-300, PR, Brazil

⁹ Centro de Genética Molecular e Pesquisa do Câncer em Crianças (CEGEMPAE-APACN), Av. Agostinho Lodo (Jurist), 400, Alto da Glória, Curitiba 80030-110, PR, Brazil

¹⁰ Oncologia Pediátrica, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, R. Gen. Carneiro, 581, Alto da Glória, Curitiba 80060-900, PR, Brazil

¹¹ Oncologia Pediátrica, Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid-PR 445 Km 380, Campus Universitário, Londrina 86057-070, PR, Brazil

¹² Oncologia Pediátrica, Hospital do Câncer de Londrina, Rua Lucília Balfalai, 212, Jardim Petrópolis, Londrina 86015-520, PR, Brazil

¹³ Divisão de Endocrinologia, Departamento de Clínica Médica, Universidade Estadual de Londrina, Rua Robert Koch, 60, Vila Operária, Londrina 86038-350, PR, Brazil

¹⁴ Departamento de Saúde Coletiva, Universidade Federal do Paraná, R. Padre Camargo, 280, Alto da Glória, Curitiba 80060-240, PR, Brazil

* Correspondence: ronaldc@yaho.com.br

Received: 9 October 2019; Accepted: 13 November 2019; Published: 16 November 2019



Abstract: The TP53 R337H mutation is associated with increased incidence of pediatric adrenocortical tumor (ACT). The different environmental conditions where R337H carriers live have not been systematically analyzed. Here, the R337H frequencies, ACT incidences, and R337H penetrance for ACT were calculated using the 2006 cohort with 4165 R337H carriers living in Paraná state (PR) subregions. The effectiveness of a second surveillance for R337H probands selected from 42,438 tested newborns in PR (2016 cohort) was tested to detect early stage I tumor among educated families without periodical exams. Estimation of R337H frequencies and ACT incidence in Santa Catarina

state (SC) used data from 50,115 tested newborns without surveillance, ACT cases from a SC hospital, and a public cancer registry. R337H carrier frequencies in the population were 0.245% (SC) and 0.306% (PR), and 87% and 95% in ACTs, respectively. The ACT incidence was calculated as ~6.4/million children younger than 10 years per year in PR (95% CI: 5.28; 7.65) and 4.15/million in SC (CI 95%: 2.95; 5.67). The ACT penetrance in PR for probands followed from birth to 12 years was 3.9%. R337H carriers living in an agricultural subregion (C1) had a lower risk of developing pediatric ACT than those living in industrial and large urban subregion (relative risk = 2.4). One small ACT (21g) without recurrence (1/112) was detected by the parents in the 2016 cohort. ACT incidence follows R337H frequency in each population, but remarkably environmental factors modify these rates.

Keywords: R337H; TP53; Li-Fraumeni syndrome; adrenocortical carcinoma; children; environmental modifiers

1. Introduction

Pediatric malignancies represent about 1.5% of all human malignancies [1]; data from the American National Cancer Institute suggest that pediatric adrenocortical tumors (ACT) are very rare, representing about 0.2% of all childhood malignancies [2]. In Paraná state (PR) in Southern Brazil, however, the frequency of ACT is at least 15 times greater (per million children) than in Los Angeles (0.4/million) and 60 times greater than in Hong Kong or Bombay (0.1/million) [3–5]. Germline mutations in the TP53 gene are associated with Li-Fraumeni syndrome (LFS) and are responsible for the majority of ACT cases in young children worldwide, which merits genotyping and counseling, including for low-penetrance TP53 mutation carriers [6,7]. Although approximately 80% of pathogenic TP53 mutations occur within the DNA binding domain (DBD) [8], TP53 R337H, which is the single most commonly found germline mutation [9], is located in the tetramerization domain in exon 10 (p.Arg337His, c.1010C > A). TP53 R337H is a founder mutation [10], and its increasing frequency in the population is facilitated by its low penetrance, with a relatively low cancer risk during the reproductive years. However, it is not clear how this mutation accumulated only in Southern Brazil from a Caucasian/Portuguese-Iberian common ancestor [11]. While R337H occurs in 1:370 births in Paraná state [3], other TP53 germline mutations are thought to occur at a frequency of between 1:5000 and 1:20,000 births [7,12] in other countries. These conclusions were based on mutations found in patients with early onset breast cancer unselected for family history (2–3%) [12] or any type of cancer family history (17.3%) [7]. A lack of accuracy in these frequencies could be attributed to selection criteria [13], inclusion of somatic and germline mutations, and differences in haplotype penetrance. Predisposition of R337H carriers and non-carriers to ACT has an early peak in the first three years after birth (virilization syndrome more common than Cushing syndrome), decreases with age toward a second phenotype (Cushing syndrome > single virilizing syndrome) in the second decade, and is associated with a poorer ACT prognosis in adulthood [13–15]. The elevated susceptibility of the adrenal cortex to ACT during the first postnatal years may be related to fetal zone instability around birth, and the expected incidence of ACT is proportional to the number of children born with the germline TP53 R337H mutation [13]. In addition, a minor contribution to tumorigenesis is attributed to genetic and epigenetic alterations affecting chromosome 11p15 [16,17], as well as other unknown constitutional predispositions or environmental factors. For example, the most potent toxic compounds impacting the adrenal cortex and ACT development are the organochlorines (OCs) dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p'-DDT) and its main derivatives dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE) and dichlorodiphenyldichloroethane (p,p'-DDD), which were detected at high levels in some regions of Paraná state [18].

A small hospital-based cohort study (~1000 participants) estimated that the penetrance for ACT is approximately 10% [19]. However, in a surveillance control and larger normal population-based and prospective cohort of R337H-carrier newborns, the penetrance was 3.4% for children younger than

five years of age [3]. These authors found a 1:15 (adult/pediatric) ACT frequency, which is in line with the R337H carrier rate previously reported [20]. Testing newborns for R337H, combined with specific surveillance for ACT, has improved the early preclinical diagnosis of ACT and raised the cure rate [3]. However, higher-penetrance TP53 mutations merit extended surveillance for children and adults with diagnoses of early onset tumors [21]. Phenotypic heterogeneity among R337H carriers may indicate the involvement of other genetic variants that are able to modulate ACT development [22]. However, the estimation of ACT risk is partially hampered by a lack of in-depth knowledge of environmental influences on R337H carriers.

The aims of this study were (1) to determine the frequency of the R337H carrier in newborns and the overall ACT incidence among children of Paraná (PR) and Santa Catarina (SC) states; (2) to compare the ACT incidence and estimate relative risk (RR) among three PR subregions with distinct environmental conditions (C1 with very strong agriculture production; C2 with moderate agriculture and mild industry; and C3 with strong industry activity and mild agriculture production); and (3) to test a cost-effective surveillance method to detect early stage ACT among R337H-carrier children from PR. To test the hypothesis that R337H frequency and different environmental factors influence the incidence of pediatric ACT, we evaluated differences in the cumulative ACT incidence according to the total number of R337H carriers in our cohort (2006-C) living in C1, C2, and C3. This hypothesis was validated using a public ACT registry database [23] that matched with ACT hospital registries. The second neonatal R337H screening in PR empowered estimates of R337H frequencies and established a second cohort of R337H-carrier newborns efficiently monitored without periodical exams. We performed the first R337H neonatal screening in SC without any surveillance (as approved by the Ethics Committee just to confirm the epidemiological problem), and the obtained frequency of R337H in pediatric ACT from SC to compare with PR's status.

2. Results

2.1. TP53 R337H Frequency in the Southern Brazilian Population

Geographic differences in the R337H frequencies in newborns (NBs) from all Administrative Health Regions (AHR) of two southern Brazilian states are shown in Figure 1. More accurate frequencies in the 22 Paraná AHRs were estimated by adding 42,438 new tests to the previously tested 171,649 newborns [3], for a total of 214,087 tested newborns. The total number of births per year in PR is ~155,000. The updated average population R337H frequency was 0.306%, ranging from 0.058% to 0.769% in these 22 AHRs (Figure 1A). We performed 50,115 R337H tests on dried blood stored on Guthrie cards in the Santa Catarina (SC) state repository (from newborns born in 2013 and 2014) in each of the 16 AHRs, corresponding to over 50% of the total number of births per year (~92,000 births). The average R337H frequency in the SC population was 0.248%, ranging from 0.06% to 0.49% (>3000 tested newborns/AHR). The highest frequencies were found in the central AHRs closest to PR (Figure 1B).

2.2. TP53 R337H Frequency in Adrenocortical Tumors from Santa Catarina

From 2000 to 2018, 35 ACT patients younger than 10 years and three between 10 and 14 years of age were admitted at the Joana Gusmão Children's Hospital (Florianópolis, SC capital), which is responsible for the care of more than 60% of all cancer patients in SC. Thirty-three patients (86.8%) were heterozygous for the R337H haplotype, and five were wild type.

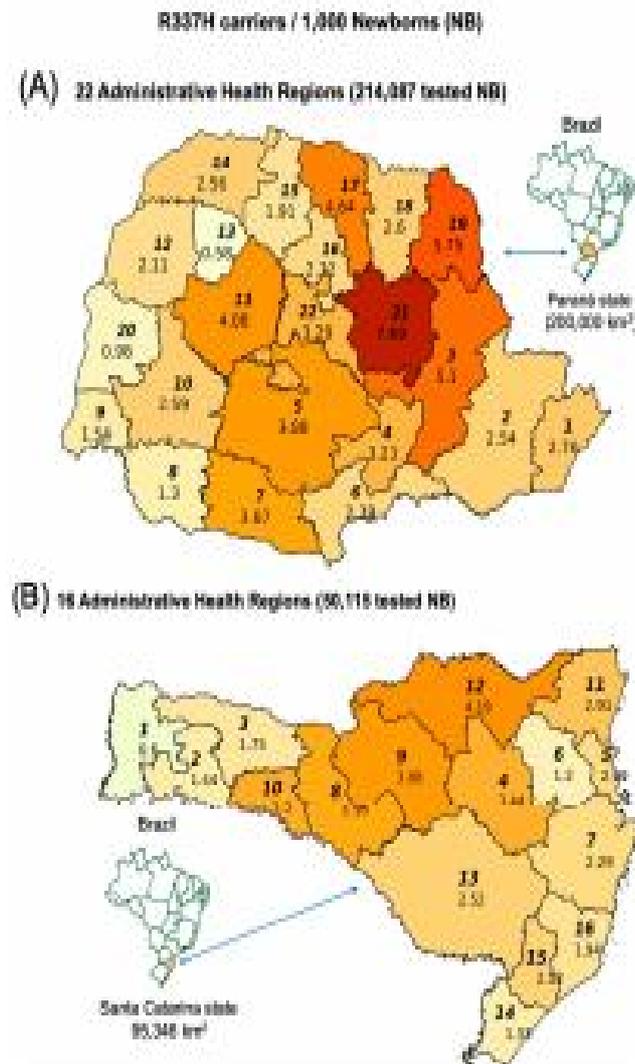


Figure 1. (A) R337H frequencies among newborns from 22 Paraná Administrative Health Regions (AHRs) and (B) from 16 Santa Catarina AHRs (staged blood collected in 2013–2014). AHRs are represented by bold italic numbers.

2.3. Cumulative Incidence of Pediatric ACT in the PR 2006-C Cohort According to Subregion

Three distinct subregions were previously identified: C1 with strong agriculture; C2 with moderate agriculture and mild industry; and C3 with strong industry activity and mild agriculture production. Higher levels of DDT/DDD/DDE were detected in C1, intermediary levels in C2, and lower levels in C3. A small subregion of the PR territory without geochemistry analyses was classified as C1 [18]. Retrospective ($N = 51$) and prospective ($N = 26$) instances of pediatric adrenocortical tumors were identified in 409 families in the 2006-C cohort. Fifty-three new families (previously non-adherent) decided to participate five to seven years after their index cases (NBs) were identified as positive for R337H on the neonatal screening. These 77 ACT cases were identified in 66 families with one or more cases among children younger than 10 years ($N = 76$), plus one at 14 years ($N = 1$) and three cases among adult R337H carriers since 2006. The cumulative incidence for childhood ACT among all 4162 carriers was 0.95% in C1, 1.83% in C2, and 2.47% in C3. Remarkably, the relative risk (RR) to develop ACT was 2.41 (1.07; 5.39) in C3 ($p < 0.031$) as compared with C1 (Table 1). The number of ACT cases divided by the number of carriers in each subregion for the 2006 cohort identified one ACT for each 105 R337H carriers in C1, in contrast to the 1:44 proportion in C3, suggesting that it is easier to develop

ACT in C3 and/or the risk is lowered in C1. This conclusion was further validated using the public ACT registry of patients admitted to public hospitals (patients without medical insurance).

Table 1. Cumulative adrenocortical tumor (ACT) incidence among 7753 R337H carriers, ACT cases, and relative risk (RR) per subregion based on the 2006-C data.

ACT and Carriers		Subregion			Total
		C1	C2	C3	
ACT cases <10 years of age		7	34	36	77
Carriers without ACT		730	1829	1536	4095
Total		737	1863	1572	4162

ACT								
Subregion	N	C.I. (/10000)	Subregion	N	C.I. (/10000)	RR	p Value	
							X ²	Fischer
C2	34	18.3	C1	7	9.5	1.932 [0.86; 4.338]	0.146	0.118
C3	36	22.9	C2	34	18.3	1.248 [0.783; 1.983]	0.414	0.297
C3	36	22.9	C1	7	9.5	2.411 [1.078; 5.392]	0.04	0.031

C.I., cumulative incidence. These ACT cases in adults were not included in this analysis.

2.4. Pediatric ACT Incidence Rates in Paraná and Santa Catarina

The ACT incidence estimated for PR was 6.38 per million children per year until nine years of age (95% CI: 5.28; 7.65). The significant differences in the frequency of ACT development between C1 and C3 in the 2006-C cohort considering the number of ACT cases and the number of carriers in each subregion (Table 1) were further validated using data on ACT cases from the public cancer registry [23]. The number of identified patients under 10 years old in PR between 2007 and 2018 (N = 118) was used to calculate the ACT incidence. Differences in ACT incidence rate were calculated using the estimated population per year from 2007 to 2018 in PR and in each PR subregion (C0, C1, C2, and C3) (Table 2A). The incidence rate in C3 is 2.7 times (IRR) higher than in C1 ($p = 0.0053$, Bonferroni adjusted) (Table 2B), which validates our cohort result shown in Table 1.

Dividing the number of ACT cases by the number of estimated R337H carriers in each subregion demonstrated that there is one ACT for every 93 R337H carriers in C1 and one ACT for every 26 carriers in C3 for children less than 10 years of age. These proportions are slightly different to the calculated proportions using the 2006-C cohort (1:44 and 1:103), because the database from the Brazilian Single Health System (DATASUS) registry (1) included a low percentage of ACT cases from other small public hospitals, (2) may have included non-R337H ACTs, and (3) may have excluded patients with private medical health insurance. Cancer patients with health insurance correspond to ~22% of all patients according to National Health Agency [24].

The calculated ACT incidence in SC (using 39 ACT cases from the public database), based on ACT cases identified from 2007 to 2017 [23], was 4.15 per million children per year in children younger than ten years (CI 95%: 2.95; 5.67).

Table 2. ACT incidence rate per subregion of Paraná state (A), and differences using Bonferroni-adjusted *p* values (B) using the public databases (2007–2018).

A				
Subregion	ACT Cases <10 Years (2007–2018)	Persons <10 Years (2007–2018)	Incidence (<10 Years) (/Million/Year)	95% CI
C0	9	958,764	9.41	4.30; 17.86
C3	46	5,643,503	8.15	5.97; 10.87
C2	50	7,952,735	6.62	4.91; 8.73
C1	13	4,328,094	3.0	1.60; 5.14
B				
Comparison	Incidence Rate Ratio (IRR)	95% CI	Adjusted <i>p</i> (Bonferroni)	
C0/C3	1.134	0.487; 2.386	1.0000	
C0/C2	1.421	0.614; 2.939	1.0000	
C0/C1	3.132	1.182; 7.939	0.0638	
C3/C2	1.231	0.807; 1.875	1.0000	
C3/C1	2.714	1.442; 5.475	0.0053	
C2/C1	2.204	1.180; 4.423	0.0514	

2.5. Linear Regression (LR) for R337H Frequencies: General Population versus ACT Patients

In addition to the neonatal screening in SC, we tested 35 pediatric ACT patients admitted to the main SC pediatric hospital (Joana Gusmão Pediatric Hospital at Florianópolis) from 2000 to 2018 and found 30 R337H positive and five R337H negative tumors. R337H frequencies reported in the population and in ACT by other studies in PR [3,9,25], and in SP [20,26–28], were also used to estimate the LR. The mean R337H carrier frequencies in the general population (Y) were 0.210% (SP) according to data by Camir6a et al. [28], 0.245% (SC), and 0.306% (PR) (calculated in the present study) associated with 87%, 87%, and 95% R337H frequencies in pediatric ACTs, respectively. Paired coordinates of the average frequencies of R337H-positive ACT (X) and of R337H carriers in the general population (Y) from SP, PR, and SC states were used to detect the approximate LR ($Y = -0.6788 + 0.0104X$) (Figure 2). The limitations of this LR are predictable as the information is restricted to only three coordinates. In addition, the SP R337H population frequency data was restricted to one small region (metropolitan area of Campinas-SP). Consequently, inferences may also be prone to small distortions between estimates versus real measurements of both frequencies in unknown places, within or around these three states.

2.6. ACT Surveillance in Paraná: 2006-C and 2016-C Cohorts

Among the 42,438 tested NBs in PR (born between 2015 and 2018), 147 were heterozygous for R337H, but only 112 NBs and their families adhered to the observational trial studying a new surveillance design without periodic exams (2016-C). The parents and most relatives were counseled and received training about cancer manifestations as well as psychological support during three sessions that were three hours in length at two-month intervals after the birth of the proband (2016-C cohort). Specific exams were provided only to clarify suspicious clinical manifestations of ACT or other cancers spontaneously reported by the parents or during periodic inquiries by telephone. The cancer history was taken, and all available relatives from the carrier side were offered genetic and psychological counseling, testing, and periodic support (preclinical exams (PE)). This 2016-C (without PE) cohort was followed in parallel with the 2006-C cohort under full surveillance with medical, hormonal, and ultrasound exams at 3-, 6-, or 12-month intervals according to age [3]. Three new cases of pediatric ACT were identified among the 353 children in the 2006-C cohort followed since birth,

with a mean follow-up time of almost 10 years (Table 3A). Only one ACT case (girl at the age of 9.4 months, presenting a very small ACT) was identified among the 112 R337H-carrier children of the 2016-C group, with a mean follow-up time of 2.7 years (Table 3B). Exclusion of PE associated with a small cost for educating the parents of the probands significantly reduced the costs of the surveillance.

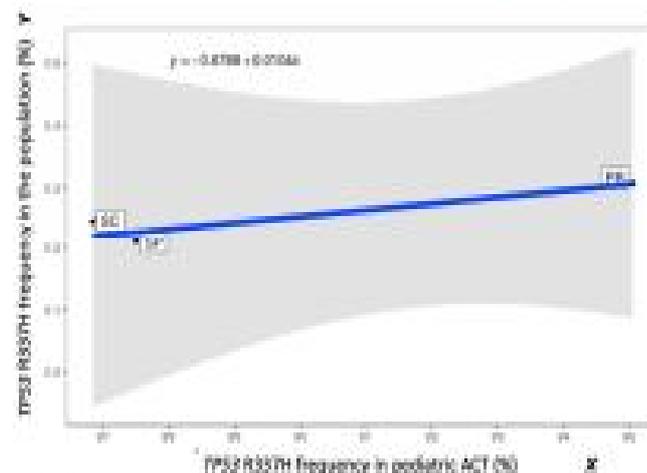


Figure 2. The R337H frequencies (population versus ACT) and the obtained linear regression (LR) based on the overall averages for each state (SP, Paraná state (PR), and Santa Catarina (SC)). The blue straight line was obtained by simple LR using the method of least squares weighted by the number of individuals tested in each state, assuming equal weights for the considered variables. The shaded area represents the 95% confidence interval of the line assuming the normality of the errors.

2.7. Revised Estimate of R337H Penetrance in the Paraná 2006-C Cohort

Among all 353 R337H-carrier newborns followed since their births between 2006 and 2019, 14 developed ACT before turning 12 years old, including 11 probands previously reported before completing five years of age [3] and three more recent cases (Table 3A). The present median follow-up time for participants of all ages in the cohort until April 2019 was 9.84 years (range, 8.67–12.01 years). The probands continued under the same surveillance protocol with PE that previously detected a 3.4% penetrance for children under five years of age until 2012 [3]. ACT cases among siblings and other relatives were excluded from this analysis. The estimated 3.96% penetrance was further adjusted for the total children born per year in PR (~155,000, 2012 census) taking into account the previously identified R337H newborns (461 carriers/171,649 tested newborns). Thus, it is expected that approximately 416 newborns will be found to carry R337H every year. We conclude that approximately 16 children (from all socioeconomic backgrounds, including patients with private medical insurance) born every year carrying the R337H mutation will develop ACT before turning 12 years old. In addition, at least one or two non-carrier children may develop ACT among those born each year [3].

2.8. Age of Pediatric ACT Onset in the PR 2006-C Cohort According to Generation

Data from carriers from all families were subdivided according to the generation (Figure 3). The first two (I + II) and the last two generations (IV + V) of all families, from all subregions were combined to augment statistical power. Despite the fact that different environmental conditions could have opposite results, a striking earlier age of ACT onset was observed in the last generations ($p = 0.0001$).

Table 3. ACT cases among ESRH carriers: three cases in the 2006-C cohort between 2012 and 2018 with exams (A), and one adenocortical carcinoma (ACC) case in 2016-C without periodical exams (PI) (B).

A							
Code	Surveillance *Interval **	Gender(ACC Age (Y))	Clinical Features	ACT Weight (g)	Stage/Treatment	Recurrence	Outcome/Event Age (Years)
1	Regular/4 months	F/6.2	Acne	14	ICR	No	Well/8.2
2	Irregular/9 months	M/7.3	Acne + pubic hair	267	I/CR + M	No	Well/11.4
3	Irregular/22 months	F/5.8	Enlarged C, hirsut, acne, pubic hair + H	NA	IV/PR + IEDM	Remained local tumor and metastasis	DD/6.4
B							
Code	Surveillance *Interval **	Gender(ACC Age (Y))	Clinical Features	ACT Weight (g)	Stage/Treatment	Recurrence	Outcome/Event Age (Years)
1	Regular/No PE	F/0.9	Pubic hair	21	ICR	No	Well/3.6

In part A: * Surveillance (regular consultations with hormonal and imaging exams: every six months between five and eight years of age); ** Consultation interval; CR, complete resection; DD, died of disease; NA, not available; PR, partial resection; H, high blood pressure; M, mitotane; IEDM (meposide, doxorubicin, cisplatin + mitotane regimen); Well, alive without signs of disease. In part B: * Surveillance (inquiry about signs and symptoms without any PE); ** (44 months); CR, complete resection.

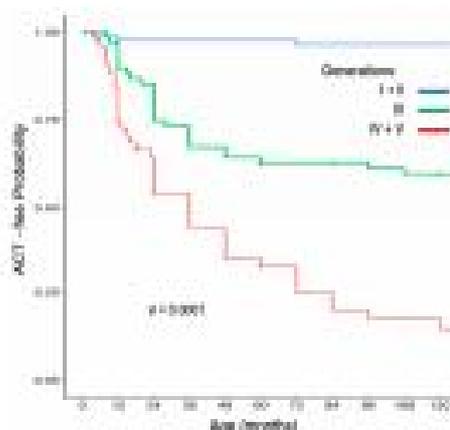


Figure 3. ACT-free probability in the 2006-C cohort.

3. Discussion

Our results provided new insights into the heterogeneity of adrenal cortex tumor development in young children living in different subregions in southern Brazil. Data from the 2006 and 2016 cohorts revealed that TP53 R337H is a low-penetrance mutation based on the observed average lifetime cancer risks, estimated as less than 40% in our 2006 cohort. We further confirmed the 2006 cohort findings [3] that TP53 R337H is a low-penetrance mutation with a low lifetime cancer risk. Carriers may escape cancer, as the carrier side of a family demonstrates. On average, only 3.9 more cancer cases of all types occur in the carrier side of the family than in the non-R337H segregating side of the family, in contrast to the high penetrance and high lifetime cancer risk reported in classical LFS [29]. Despite the fact that the R337H mutation lies within the p53 dimerization domain which may affect tetrameric stability, R337H had wild-type p53 activity in *in vitro* assays, in contrast to the profound defects in DNA binding domain mutant reported in LFS [9]. The pH-dependent destabilization of p.R337H tetramer demonstrated *in vitro* [30] has not yet been validated in human cells. One interesting aspect of R337H carriers in our two cohorts is the variable frequency of pediatric ACT among different PR subregions. The 2016-C cohort was strategically selected to include more C1 municipalities in Paraná state, where only one 0.93-year old girl developed ACT in the first 30 months of follow-up of this 2016 cohort. This finding is in line with the detailed differences found between C1 and C3 in the long-term follow-up of the 2006 cohort, which was geographically classified in our recent environmental analysis [18].

The frequency of the germline R337H mutation among Paraná newborns [3] was refined in the present study after adding results from 42,438 newborns to obtain more accurate estimates. (A total of 214,067 tests or ~140% of the total number of births in one year were analyzed). The updated average frequency of R337H carriers in PR (0.306%) is the highest, followed by that in SC (0.245%), and SP (0.21%), which was partially consistent with the highest R337H frequencies estimated in ACTs for PR (95%), SP (87%), and SC (87%). It is also consistent with the highest ACT incidence in PR, with 6.38/million in children younger than 10 years admitted to public hospitals (95% CI: 5.28; 7.65). This rate is slightly different from that observed in our 2006 cohort, likely because patients with medical insurance are included in the cohorts. However, our data demonstrated that ACT incidence is not homogenous in PR, with the exception observed in PR subregion C1, which does not have the frequency of ACT cases compatible with the large proportion of R337H carriers. This was demonstrated using two datasets, one from the 2006 cohort and the second from an independent ACT public registry.

The LR shown in Figure 2 highlights the differences in the frequencies of R337H in the populations and in the ACTs between states. Considering that these three states (PR, SC, and SP) may correspond to the highest R337H frequencies, which drop progressively in the more distant municipalities of other states, LR provides additional information about burden of disease associated, which may change with diverse scenarios (e.g., change of environments). However, these are limitations which include

the large range of the 95% confidence interval (uncertainty indicated by shading), and most of the studies are not sufficiently powered to demonstrate this population vs. tumor genotype frequency and the environmental interference. However, this study presents a framework for investigating this relationship in larger populations. Therefore, future studies are necessary to investigate interferences from different environment factors, genetic, and epigenetic variants.

The complexity of ACT development, including the presence of environmental modifiers, is not clearly understood, and there are important caveats to be further explored in our study. It is clear that the adrenocortical tissue is highly susceptible to most TP53 mutations, and one of the reasons for this may be the adrenal cortex physiological transition across birth (reviewed by [13]). Since some families presented two or more cases of ACT in the 2006 cohort, 71 of them (20%) had 81 cases of ACT (95% were children diagnosed at age <10 years) originating from diverse rural and urban environments. We demonstrated a significant difference in the incidence using two different datasets, with a rate 2.7 times (IRR, Table 2) higher in C3 than in C1 ($p = 0.0053$). This phenotypic heterogeneity could be due to the elevated contamination levels of anti-ACT DDT/DDD/DDE previously measured in the rivers of C1 [18] and/or other ACT-promoting environmental pollutants in C3. 1-chloro-2-[2,2-dichloro-1-(4-chlorophenyl)ethyl]benzene (α,p' -DDD) (mitotane) was identified as a by-product of p,p' -DDD or p,p' -DDT and was reported as more potent in causing total inhibition of steroidogenesis in dogs than p,p' -DDD [31]. To date, mitotane remains the best adjuvant therapy for advanced stages of ACT in adults and children [32,33]. The adremolytic effect of mitotane is inferior to those of the organochlorines p,p' -DDT, p,p' -DDE, and p,p' -DDD [34,35], which are very lipophilic and accumulate in fat tissues of animals consumed by humans [36,37].

ACT diagnoses based on hormonal and imaging preclinical exams (PE) allowed us to detect pre-clinical ACT [3]. Very small ACTs were confirmed by hormone testing and ultrasound to confirm sustained growth prior to deciding on better-resolution imaging analyses for surgical planning. Because of the possibility of high surveillance costs associated with PE, family transportation difficulties, and other factors, we designed another surveillance protocol for the 2016 cohort (2016-C) for clinical diagnosis based on early manifestations reported by trained, pre-counseled, and supportive parents. Considering the surveillance without PE, the odds of delayed ACT diagnosis are increased for the ~10% of tumors that do not produce excess steroids [14]; this could represent a loss of one ACT case per year in PR (1/17, considering carriers and non-carriers). Despite the small number of documented ACT cases ($N = 1$) identified without using PE in the 2016-C cohort to date (one stage I ACC found during a mean follow-up period of 2.1 years among 112 carrier newborns), we predict that it is cost-effective to replace PE with three sessions of training with psychological support for pre-counseled parents. Monitoring of carrier children by telephone through contact with parents has the potential to successfully detect early stage I pediatric ACT.

Pediatric ACT is the fourth most common cancer in our 2006 cohort (after breast, gastric, and intestine). The recalculated average ACT penetrance changed slightly from the ages of five years (3.1%) to 12 years (3.9%), and this age range represented ~95% of all pediatric ACT cases (based on our present study data). The age at diagnosis of ACT during the first decade follows a similar age distribution to that reported for LFS [38]. PR is a territory with the highest worldwide frequency of R337H carriers, the highest pediatric ACT incidence, and very diverse environment conditions, ranging from a highly agricultural region to industrial areas and large urban regions [18]. Remarkably, C3 is a subregion where industries converge with large urban areas, and this region demonstrated a higher ER of developing pediatric ACT (adjusted for the number of R337H carriers) than C1 with the highest agriculture productivity. We have identified in average one case of pediatric ACT for every 54 R337H carriers in PR (77:4165; ACT-population), ranging from 1:26 in C3 to 1:93 in C1. However, the p -R337H in the adrenal cortex could unfold and lose function in carriers living in any subregion [38]. Furthermore, while it is unclear how hostile the environment is in C3, it is possible that environmental factors in this region could facilitate a second mutational hit with loss of the wild-type allele [39]. We speculate that low-penetrance mutations in tumor suppressor genes may be altered by specific

environmental modifiers for each type of cancer (e.g., smoking for lung cancer or hepatitis B/C virus for liver cancer).

The R337H frequencies across subregions of SC would predict an ACT incidence rate very similar to that in PR. However, since a lower burden of pollutants from agriculture and industry would be expected in SC due to the environmental differences compared with PR, further studies are needed to evaluate the SC environment. Given the frequency of other TP53 germline mutations in other countries of between 1:5000 and 1:20,000 births [12,40] and 80% frequency of low-penetrance germline TP53 mutations identified in pediatric ACT as reported by the Manchester Children's Tumor Registry [6], it is important to consider the influence of environmental factors on the development of ACT in R337H carriers. Remarkably, the average age of ACT diagnosis dropped significantly in the last several generations of the 2006-C cohort, in all subregions and among carriers as well as non-carriers. This is likely related to the suboptimal medical care and delayed diagnosis in previous decades, as well as other unknown reasons. However, it is not yet possible to rule out anticipation in R337H carriers, nor can we rule out a stronger burden of environmental pollutants in the last several decades leading to an increased number of somatic variants causing different cancer types [40].

4. Materials and Methods

4.1. Genotyping of Newborns for TP53 R337H and Their Cohorts

Two neonatal screenings with two different surveillance protocols in Paraná state were used. The first followed periodical medical, hormonal, and ultrasound analyses aiming at pre-clinical or clinical diagnosis [3]. The second abolished all of the periodical exams (PE) but expanded the genetic and psychological counseling; this included three consultations and trainings sections on clinical manifestations of ACT and other cancers, at two-month intervals after birth. Furthermore, all families adhering to this training were periodically contacted by telephone and other methods of communication. The neonatal screening in Santa Catarina was conducted according to the Santa Catarina Ethics Committee recommendations (necessary use of stored blood from Guthrie's tests, without establishing contacts with the families and parents of the positive newborns).

A second neonatal screening was performed in PR to compare differences in ACT incidence among the PR subregions. R337H carrier frequencies obtained from these newly tested newborns as well as more accurate R337H frequencies obtained from 22 Administrative Health Regions (AHRs) gave rise to a second PR cohort (2016-C) under a surveillance protocol without PE to be compared with the cohort with PE (2006-C) established in 2006 [3]. In this second cohort without PE, pre-counseled parents received specific instructions and remote monitoring through periodic telephone communications about ACT clinical manifestations.

Research participant protection has been evaluated by five different Ethics Committees (ECs) over the last 15 years. Follow-up of families identified from the first neonatal screening in PR, which began in 2006, was approved by the ECs of Hospital de Clínicas at Federal University of Paraná (UFPR) and Poquemo Príncipe Hospital (CAA: 0023.0.208.000-05 from 2005, CAAE 0612.0.015.000-08, 2009) as a retrospective and prospective cohort initiated in 2006 [3]. The second PR neonatal screening was approved by the Poquemo Príncipe Hospital EC (CAAE: 50622315.0.0000.0097, 2015). Blood samples for this screening were obtained after parents signed the consent form at the Paraná State maternity ward or hospital (42,438 newborn blood samples collected during their Guthrie test) after pre-counseling on the second day after birth (2015 and 2016). Other NB blood samples were not included in our analyses because they were not from PR, the mothers were not located, or they did not sign the consent form.

This observational cohort followed the Strebe protocol framework [41] and was registered in the REBEC clinical trial (Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos, www.ensaiosclinicos.gov.br), which provided psychological support, genetic counseling, DNA testing, and referral to specialists for treatment of cancer.

Neonatal screening in SC was performed to compare the R337H frequency in 16 SC AHRs. This was approved by the EC without access to families by the SC Health Secretary State EC, Florianópolis, state of Santa Catarina (CAAE: 73057817.5.0000.0115, 2017). The tests on 50,115 stored Guthrie cards were collected by the Central Laboratory (LACEN) of SC two years before the assays. Permission to screen stored newborn blood previously used for Guthrie tests in SC was granted along with the name of the newborn's municipality.

4.2. TP53 R337H Assay

A PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) assay was used to detect the TP53 R337H mutation as described previously [42]. Briefly, DNA was extracted from paraffin-embedded ACT and 3 mm punches from each filter paper-stored blood sample from Guthrie tests and families and assayed in 96-well plates. Blood and ACT samples from patients admitted to Joana de Gusmão Children's Hospital (HJG) from 2000 to 2018 ($N = 35$) were approved to be tested for the TP53 R337H mutation by the hospital Ethics Committee (HJG-2014). All samples that tested positive for R337H were confirmed by DNA sequencing.

4.3. ACT Cases from the Cohorts and Public Registry Used to Calculate Incidence

ACT cases identified in the 2006-C cohort were grouped into subregions of Paraná, C1, C2, and C3, in which spatial trends in human congenital malformations and chemical pollutions were confirmed, particularly in C1, which is predominated by very intense agriculture and higher levels of DDT/DDD/DDE [18]. The subregion with intermediary agriculture and industry activities was C2. Families were aggregated according to the generation and the subregion in which they lived when they developed ACT. The ACT incidence rate was calculated for children younger than 10 years.

Data from children younger than 10 years diagnosed with ACT and admitted to public hospitals from 2007 to 2018 in PR ($N = 118$) and from 2007 to 2017 in SC ($N = 39$) were obtained from the DATASUS Registry [23]. These cases were matched with ACT registries in the five main public hospitals in PR (~85%) and the main hospital in SC (~65% of the total) using a combination of three parameters for each patient (date of birth, place of birth, and date admitted to the hospital). The differences between the DATASUS registry and the cases admitted to the main hospitals in PR (98/118) and SC (28/39) could be explained by patients admitted to other public hospitals. The mean state population sizes for children younger than 10 years was calculated using registries for live births and child deaths from Paraná Institute of Social and Economic Development (IPARDES, <http://www.iparades.pr.gov.br/imp/index.php>) and from SC (DATASUS, <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?simasc/cnv/misc.def> and <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defhohtm.exe?sim/cnv/ob110c.def>).

4.4. LR for R337H Frequencies in Three Brazilian States

LR was calculated by the method of weighted least squares using two datasets: the R337H frequencies in the populations of PR, SC, and SP and the respective averages for R337H frequencies in ACT cases in each state. The data from PR and SC came from newborn testing and testing in ACT cases in the present study, as well as other PR data previously reported [3,9,20,30–33].

4.5. TP53 R337H Penetrance in 2006-C Cohort

Pediatric ACT penetrance in Paraná state was recalculated by adding newborn R337H carriers registered in the 2006-C cohort who developed new cases of ACT after 2012 [3]. The cumulative age-specific penetrance of ACTs was calculated by computing the linearly interpolated cumulative incidence. From the analyzed cohort, the families were grouped together and allocated by generations II, III, and IV or more (G-II, G-III, and G-IV+) using a non-parametric Kaplan–Meier estimator to estimate the age at ACT diagnosis per generation.

4.6. Statistical Analysis

The R language program [43] was used for all statistical analyses. The chi-square and Fisher's exact tests were used to evaluate the relationship dependence between categorical variables. The non-parametric Kaplan–Meier estimator was used to estimate the time of ACT occurrence, and the log rank test was used to compare two or more survival curves. ACT-free time was calculated from birth to ACT diagnosis or to most recent follow-up. The cumulative age-specific penetrance of ACTs in children identified as carriers at birth was analyzed using the 2006-C data by the method of Kalbfleisch and Prentice [44]. Confidence intervals for incidence rate, incidence rate ratio, and comparison test statistics were performed by the exact Poisson method [45]. The relative risk (RR) was estimated using the 2006-C data (cumulative incidence), and the incidence rate ratio (IRR) was calculated using the public ACT data. The linear regression (LR) was estimated for the R337H frequency in the populations of three states with the respective R337H frequencies in their ACT cases.

5. Conclusions

Collectively, the results from these two states have created an opportunity for classifying pediatric ACT incidence on the basis of R337H frequencies and geographical differences. Importantly, environmental influences should be considered in cancer risk, especially for carriers of germline TP53 mutations. A complete understanding of the variability among environmental conditions to which R337H and non-R337H carriers are exposed is hindered by the lack of measurement of exact components needed to characterize the factor(s) associated with the observed high ACT incidence in C3 and lower incidence in C1 subregions. Therefore, the next major advance for southern Brazil will be to characterize the environmental factors in C1, C3, and other regions. The best available option for Southern Brazil to increase the rate of ACT cure is early onset ACT diagnosis and surgical dissection without any other therapy, as previously demonstrated in the 2006 cohort [3], combined with the preferential use of the simple and cost-effective surveillance method used in the present study (the 2016 cohort).

Author Contributions: Conceptualization, B.C.F.; formal analysis, B.C.F.; funding acquisition, B.C.F.; investigation, T.E.J.C., V.K.Q.G., H.C.I., V.S.M., L.Z.S.P., P.M.W., M.A.D.P., C.M.C.M.P., A.L.M.R.P., D.B.d.S., H.R., M.C.M., E.C., A.P.K., E.N.S., M.M.P., M.V.C.I., R.G.M., L.M.C., A.B.C., T.P.d.M., C.M.-S., R.R., G.A.P., C.S.O., J.D.C.P., J.R.S.B., M.M.O.P., L.L., T.T., C.C.S., S.G.A.A., L.G., A.A., R.C.P.T., K.R.P.O., G.L., E.F.L., T.H.A., T.L.M., J.H.G.B., N.K.F., G.C. and B.C.F.; methodology, T.E.J.C., V.K.Q.G., H.C.I., V.S.M., D.P.A., R.L.D., R.G.M., A.L.G. and G.C.; resources, B.C.F.; supervision, B.C.F.; writing—original draft, T.E.J.C., V.K.Q.G.; writing—review and editing, H.C.I., G.C. and B.C.F.

Funding: This work was funded by Pólo Pequeno Príncipe Research Institute (1904/2014), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES) Finance code 001, and Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa (CNPq, Brazil).

Acknowledgments: We are grateful to José Álvaro Carneiro, Ely Cristina F. Carneiro, and Thelma de Oliveira from Pequeno Príncipe Complex for their support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. National Cancer Institute. *SEER Cancer Statistics Review, 1975–2007*; Ahluwalia, D.E., Kosary, C.L., Krapcho, M., Neyman, N., Aminou, R., Waldron, W., Rubel, J., Howlander, N., Tatalovich, Z., Cho, H., et al., Eds.; National Cancer Institute: Bethesda, MD, USA, 2010.
2. Bernstein, L.; Gurney, J.G. Carcinomas and other malignant epithelial neoplasms. In *Cancer Incidence and Survival among Children and Adolescents: United States Sex Progress 1975–1995*; Ries, L.A.G., Smith, M.A., Gurney, J.G., Linney, M., Tamra, T., Young, J.L., Bunin, G.R., Eds.; National Cancer Institute, SEER Program: Bethesda, MD, USA, 1999; pp. 139–147.
3. Custódio, C.; Parise, G.A.; Kiesel Filho, N.; Kornachon, H.; Sabbaga, C.C.; Rosati, R.; Grisa, L.; Parise, L.Z.; Panovski, M.A.; Fiori, C.M.; et al. Impact of neonatal screening and surveillance for the TP53 R337H mutation on early detection of childhood adrenocortical tumors. *J. Clin. Oncol.* **2013**, *31*, 2619–2626. [[CrossRef](#)]

4. IARC Scientific Publication. *International Incidence of Childhood Cancer*; Parkin, D.M., Kramarova, E., Draper, G.J., Masuyat, E., Michaëlis, J., Neglia, J., Qureshi, S., Stiller, C.A., Eds.; IARC Scientific Publications: Lyon, France, 1998; Volume 2.
5. Stiller, C.A. International variations in the incidence of childhood carcinomas. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **1994**, *3*, 305–308.
6. Varley, J.M.; McGowan, G.; Thomcroft, M.; James, L.A.; Margison, G.P.; Forster, G.; Evans, D.G.; Harris, M.; Kelsey, A.M.; Birch, J.M. Are there low-penetrance TP53 Alleles? evidence from childhood adrenocortical tumours. *Am. J. Hum. Genet.* **1999**, *65*, 995–1008. [[CrossRef](#)]
7. Gonzalez, K.D.; Nollmer, K.A.; Burin, C.H.; Gu, D.; Wen-Pong, C.Y.; Nguyen, V.Q.; Han, J.H.; Lowstater, K.; Longmate, J.; Sommer, S.S.; et al. Beyond Li Fraumeni Syndrome: Clinical characteristics of families with p53 germline mutations. *J. Clin. Oncol.* **2009**, *27*, 1290–1296. [[CrossRef](#)]
8. Petitjean, A.; Mahe, E.; Kato, S.; Ishikawa, C.; Tavtigian, S.V.; Hainaut, P.; Olivier, 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.* **2007**, *28*, 622–629. [[CrossRef](#)]
9. Ribeiro, R.C.; Sandrini, F.; Figueiredo, B.; Zambetti, G.P.; Michalkiewicz, E.; Lafferty, A.R.; DeLacorda, L.; Rabin, M.; Cadwell, C.; Sampaio, G.; et al. An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 9330–9335. [[CrossRef](#)]
10. Pinto, E.M.; Billebeck, A.E.; Villares, M.C.; Dornelles, S.; Mendonca, B.B.; Latronico, A.C. Founder effect for the highly prevalent R337H mutation of tumor suppressor p53 in Brazilian patients with adrenocortical tumors. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* **2004**, *48*, 647–650. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Pascolun, D.D.; Giacomazzi, J.; Achatz, M.L.; Costa, S.; Reis, R.M.; Hainaut, P.; dos Santos, S.E.B.; Ashton-Prolla, P. Ancestry of the Brazilian TP53 c.3030G>A (p.Arg337His, R337H) founder mutation: Clues from haplotyping of short tandem repeats on chromosome 17p. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0143262. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Lalloo, F.; Varley, J.; Ellis, D.; Morari, A.; O'Dair, L.; Pharoah, P.; Evans, D.G.R.; The Early Onset Breast Cancer Study Group. Prediction of pathogenic mutations in patients with early-onset breast cancer by family history. *Lancet* **2003**, *361*, 1301–1302. [[CrossRef](#)]
13. Custodio, G.; Kamechen, H.; Figueiredo, F.R.; Pachin, N.D.; Pianovski, M.A.; Figueiredo, B.C. Molecular epidemiology of adrenocortical tumors in southern Brazil. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2012**, *351*, 44–51. [[CrossRef](#)]
14. Michalkiewicz, E.; Sandrini, R.; Figueiredo, B.; Miranda, E.C.; Carran, E.; Oliveira-Filho, A.G.; Marques, R.; Pianovski, M.A.D.; Lacorda, L.; Cristofani, L.M.; et al. Clinical and outcome characteristics of children with adrenocortical tumors: A report from the International Pediatric Adrenocortical Tumor Registry. *J. Clin. Oncol.* **2004**, *22*, 838–845. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Overview on the management of adrenocortical carcinoma (ACC). In *Adrenal and Endocrine Tumors in Children*; Humphrey, G.B.; Pysher, T.; Holcombe, J.; Gross, M.; Chan, H.; Cushing, B.; D'Angio, G.J.; Schein, P.; Lamer, J.J.A. (Eds.) Springer: Boston, MA, USA, 1983; pp. 349–356.
16. Stromman, M.; Westerveld, A.; Mannens, M. Genetics of Beckwith-Wiedemann syndrome-associated tumors: Common genetic pathways. *Genet. Chromosom. Cancer* **2000**, *28*, 1–13. [[CrossRef](#)]
17. Pinto, E.M.; Rodriguez-Galindo, C.; Founds, S.B.; Wang, L.; Clay, M.R.; Neale, G.; Garfinkel, E.A.; Lam, C.G.; Levy, C.F.; Pappo, A.S.; et al. Identification of clinical and biologic correlates associated with outcome in children with adrenocortical tumors without germline TP53 mutations: A St Jude Adrenocortical Tumor Registry and Children's Oncology Group Study. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 3956–3965. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Ibanez, H.C.; Molanda, V.S.; Garber, V.K.Q.; Licht, O.A.B.; Ibanez, M.V.C.; Aguiar Junior, T.R.; Mello, R.G.; Kamechen, H.; Andrade, D.P.; Picharski, G.L.; et al. Spatial trends in congenital malformations and stream water chemistry in Southern Brazil. *Sci. Total Environ.* **2018**, *650 Pt 1*, 1276–1291. [[CrossRef](#)]
19. Figueiredo, B.C.; Sandrini, R.; Zambetti, G.P.; Pereira, R.M.; Cheng, C.; Liu, W.; Lacorda, L.; Pianovski, M.A.; Michalkiewicz, E.; Jenkins, J.; et al. Penetrance of adrenocortical tumours associated with the germline TP53 R337H mutation. *J. Med. Genet.* **2006**, *43*, 91–96. [[CrossRef](#)]
20. Latronico, A.C.; Pinto, E.M.; Dornelles, S.; Fragoso, M.C.; Martin, R.M.; Zerbini, M.C.; Lacerda, A.M.; Mendonca, B.B. An inherited mutation outside the highly conserved DNA-binding domain of the p53 tumor suppressor protein in children and adults with sporadic adrenocortical tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2001**, *86*, 4670–4675. [[CrossRef](#)]

21. Villani, A.; Shore, A.; Wasserman, J.D.; Stephens, D.; Kim, R.H.; Draker, H.; Gallinger, B.; Naumer, A.; Kohlman, W.; Nowakrost, A.; et al. Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: 11 year follow-up of a prospective observational study. *Lancet Oncol.* **2016**, *17*, 1295–1305. [[CrossRef](#)]
22. Pinto, E.M.; Chen, X.; Easton, J.; Parkkelinen, D.; Liu, Z.; Pounds, S.; Rodriguez-Galindo, C.; Lund, T.C.; Mendis, E.R.; Wilson, R.K.; et al. Genomic landscape of paediatric adrenocortical tumours. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 6302. [[CrossRef](#)]
23. Brasil, Ministério da Saúde. DataSUS, SIH/SUS, SIASUS. Available online: <http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0901> (accessed on 4 August 2019).
24. Agência Nacional de Saúde Suplementar. Available online: <https://www.ans.gov.br/perfil-do-setor/dados-gerais> (accessed on 9 May 2019).
25. Pereira, R.M.; Michalkiewicz, E.; Sandrini, F.; Figueiredo, B.C.; Pianovski, M.; Franca, S.N.; Boguszewski, M.; Costa, O.; Cai, L.; Lucinda Filho, L.D.; et al. Childhood adrenocortical tumours. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* **2004**, *48*, 651–658. [[CrossRef](#)]
26. Sandrini, F.; Villani, D.P.; Tacci, S.; Moreira, A.C.; de Castro, M.; Elias, L.L. Inheritance of R337H p53 gene mutation in children with sporadic adrenocortical tumor. *Horm. Metab. Res.* **2005**, *37*, 231–235. [[CrossRef](#)]
27. Seidinger, A.L.; Mastellaro, M.J.; Pascheal Fortes, F.; Geodoy Assumpcao, J.; Apanscida Cardinali, I.; Apanscida Gamarza, M.; Ribeiro, R.C.; Brandalise, S.R.; dos Santos Aguiar, S.; Yunes, J.A. Association of the highly prevalent TP53 R337H mutation with pediatric choroid plexus carcinoma and osteosarcoma in Southeast Brazil. *Cancer* **2011**, *117*, 2228–2235. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Caminha, I.P. *Prevalence of Germline TP53 p.R337H Mutation at Metropolitan Area of Campinas and Surrounding Cities*; Universidade Estadual de Campinas: Campinas, Brazil, 2015.
29. Wu, C.C.; Sheto, S.; Amos, C.I.; Strong, L.C. Joint effects of germ-line p53 mutation and sex on cancer risk in Li-Fraumeni syndrome. *Cancer Res.* **2006**, *66*, 6287–6292. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. DiGiuseppe, E.L.; Lee, A.S.; Cadwell, C.; Zhang, W.; Bothner, B.; Ribeiro, R.C.; Zambetti, G.; Kravacki, R.W. A novel mechanism of tumorigenesis involving p53-dependent destabilization of a mutant p53 tetramer. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2002**, *9*, 12–16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Marz, F.; Straw, J.A. The in vitro metabolism of 1-(p-chlorophenyl)-1-(p-chlorophenyl)-2,2-dichloroethane (o,p'-DDD) by dog adrenal mitochondria and metabolite covalent binding to mitochondrial macromolecules: A possible mechanism for the adrenocorticolytic effect. *Drug Metab. Dispos.* **1977**, *5*, 482–486. [[PubMed](#)]
32. Berrini, A.; Terzolo, M.; Pia, A.; Angeli, A.; Dogliotti, L. Mitotane associated with etoposide, doxorubicin, and cisplatin in the treatment of advanced adrenocortical carcinoma. Italian Group for the Study of Adrenal Cancer. *Cancer* **1998**, *83*, 2194–2200. [[CrossRef](#)]
33. Zancanella, F.; Pianovski, M.A.; Oliveira, R.H.; Ferraro, S.; Pirovzan, G.C.; Lichtman, L.L.; Voss, S.Z.; Singher, S.T.; Caldeira, L.G.; Parisi, G.A.; et al. Mitotane associated with cisplatin, etoposide, and doxorubicin in advanced childhood adrenocortical carcinoma: Mitotane monitoring and tumor regression. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* **2006**, *28*, 513–524. [[CrossRef](#)]
34. Castro, C.; Brown, J.H.; Richardson, A.P., Jr. Biological studies on an adrenocorticolytic agent and the isolation of the active components. *Endocrinology* **1958**, *62*, 334–339. [[CrossRef](#)]
35. Cai, W.; Berthoz, R.; Couttsell, R.E.; Daryvagar, T.; Schisingart, D.E.; Strahetzer, J.E.; Weiring, L.L. Bovine adrenal cortex transformations of mitotane [1-(2-chlorophenyl)-1-(4-chlorophenyl)-2,2-dichloroethane; o,p'-DDD] and its p,p'- and m,p'-isomers. *Biochem. Pharmacol.* **1995**, *60*, 1463–1469. [[CrossRef](#)]
36. Peterson, J.E.; Robison, W.H. Metabolic products of p,p'-DDT in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1968**, *6*, 321–327. [[CrossRef](#)]
37. Matsushima, A. A novel action of endocrine-disrupting chemicals on wildlife: DDT and its derivatives have remained in the environment. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 1377. [[CrossRef](#)]
38. Wasserman, J.D.; Zamboni, G.P.; Malkin, D. Towards an understanding of the role of p53 in adrenocortical carcinogenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2012**, *351*, 101–110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Ponder, B. Cancer: Gene losses in human tumours. *Nature* **1968**, *215*, 403–402. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Watson, I.R.; Takahashi, K.; Patrino, P.A.; Chin, L. Emerging patterns of somatic mutations in cancer. *Nat. Rev. Genet.* **2013**, *14*, 703–718. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

41. Von Elm, E.; Altman, D.G.; Egger, M.; Pocock, S.J.; Gøtzsche, P.C.; Vandenbroucke, J.P. The Strengthening of Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: Guidelines for reporting observational studies. *Lancet* **2007**, *370*, 1453–1457. [[CrossRef](#)]
42. Custodio, G.; Taqian, G.R.; Figueiredo, B.C.; Gugelmin, E.S.; Oliveira Figueiredo, M.M.; Watanabe, F.; Pontarolo, R.; Lalli, E.; Torres, L.F.R. Increased incidence of choroid plexus carcinoma due to the germline TP53-R271H mutation in southern Brazil. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e18015. [[CrossRef](#)]
43. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. 2017. Available online: <https://www.R-project.org/> (accessed on 15 June 2018).
44. Kalbfleisch, J.; Prentice, R. *The Statistical Analysis of Failure Time Data*, 2nd ed.; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2002; ISBN 978-047-0471363578.
45. Saha, H.; Khurshid, A. *Statistics in Epidemiology: Methods, Techniques, and Applications*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1995; p. 321.



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).