

A ANGIOGÊNESE E LINFANGIOGÊNESE NOS SARCOMAS SINOVIAIS E SUA CORRELAÇÃO CLÍNICO-PATOLÓGICA

CRISTIANE METRAN NASCENTE

**Dissertação apresentada à Fundação Antônio
Prudente para obtenção do Título de Mestre
em Ciências**

Área de concentração: Oncologia

**Orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto
Soares**

**Co-orientadora: Dra Isabela Werneck da
Cunha**

São Paulo

2011

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Nascente, Cristiane Metran

A angiogênese e linfangiogênese nos sarcomas sinoviais e sua correlação clínico-patológica / Cristiane Metran Nascente – São Paulo, 2011.

130p.

Dissertação (Mestrado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Fernando Augusto Soares

Descritores: 1. SARCOMA SINOVIAL. 2. ANGIOGENESE PATOLÓGICA. 3. ENDOTÉLIO LINFÁTICO. 4.SARCOMAS/fisiopatologia. 5. IMUNOISTOQUÍMICA. 6. VASOS SANGUÍNEOS/patologia. 7. DENSIDADE MICROVASCULAR.

"Ninguém irá lhe agradecer por cuidar do presente se você negligenciar o futuro."

Joel Barker

DEDICATÓRIA

A Deus

À minha mãe

À minha avó Olga

Aos meus pacientes

Ao meu pai, à Lídia e minhas irmãs Ana Paula e Larissa

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, motivo de orgulho, admiração e inspiração em sua carreira como médico, pesquisador e professor, e à minha co-orientadora, por buscar seguir o mesmo caminho e mostrar que é possível tentar fazer o melhor no exercício profissional sem poupar esforços no exercício acadêmico

Aos professores da Faculdade de Medicina da UFG, professores da Residência Médica da Unicamp e Hospital do Tatuapé e professores da Pós-Graduação do A.C. Camargo, pelo exercício fundamental para minha formação

Aos meus professores da Escola Chapeuzinho Vermelho, Instituto Maria Auxiliadora e Colégio Dinâmico, eterna gratidão pelos ensinamentos

Às minhas amigas do peito, Aline-s, Carolina, Flávia e Valéria que sempre buscaram me entender e me apoiar, na alegria e na tristeza

À minha grande amiga Mari, pela sua força em enfrentar as adversidades da vida...

Aos funcionários da Anatomia Patológica, SAME, Pós-Graduação e Biblioteca do A.C. Camargo, eterna gratidão pela ajuda

Aos profissionais de saúde que trabalham com pacientes com diagnóstico de Câncer, imensurável papel nos cuidados àqueles que tiveram e ainda terão este diagnóstico

RESUMO

Nascente CM. **A angiogênese e linfangiogênese nos sarcomas sinoviais e sua correlação clínico-patológica.** São Paulo; 2011. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antonio Prudente].

Os Sarcomas Sinoviais (SS) constituem o segundo tumor de partes moles mais comum em adolescentes e adultos jovens. Estão associados com uma translocação típica (X;18)(p11.2; q11.2), presente em 95% dos casos. Sempre considerado um sarcoma de alto grau, apresenta variações histológicas monofásica, bifásica e indiferenciada. A apresentação clínica se dá como uma tumoração de crescimento lento em qualquer local do corpo, o que pode retardar o diagnóstico. Os fatores prognósticos são discordantes na literatura, sendo o mais importante o tamanho tumoral maior que 5 cm. O tratamento se baseia na cirurgia, sendo que a radioterapia adjuvante tem papel no aumento da taxa de sobrevida livre de recidiva (TLSR) Local. A quimioterapia adjuvante com ifosfamida pode ter um papel no aumento da TSLR à Distância. O uso de novos agentes para inibição da angiogênese se baseia na observação da formação vascular em tumores primários e metástases. Optamos pela avaliação da densidade microvascular (DMV) nos Sarcomas Sinoviais como uma forma de se avaliar a angiogênese, pelo uso do marcador CD31, e a linfangiogênese, através do marcador D2-40. O objetivo do estudo foi avaliar a DMV nas amostras tumorais arquivadas dos pacientes com diagnóstico de SS tratados e seguidos no A.C.Camargo com tumores intactos, de extremidades e sem metástases à distância, desde 1973 até abril de 2010, e correlacionar a DMV com dados clínicos obtidos dos prontuários, sendo as principais variáveis as seguintes: sexo, idade, tamanho, comprometimento linfonodal, histologia, tratamento cirúrgico e margens. A casuística englobava 131 pacientes. Foram excluídos 68 pacientes, sendo 49 por falha de critérios e 19 por terem sido tratados no serviço somente após a recidiva. Para a mensuração da DMV foi usada a

avaliação digital do programa "microvascular density" do aparelho Scanscope da APERIO, California. A análise estatística foi realizada através dos testes de qui-quadrado e a sobrevida foi estimada através do método de Kaplan-Meier. Foram estudados 63 pacientes: 27 pacientes tratados no A.C. Camargo desde a biópsia inicial e os 36 pacientes encaminhados para tratamento após a biópsia inicial. A idade mediana de diagnóstico foi de 33 anos, com predominância no sexo masculino. Pacientes com tumores maiores que 5 cm (T2) eram 66,7% e com linfonodos positivos (N1), 9,5%. Os grupos de histologia monofásica, bifásica e indiferenciada eram respectivamente 42,9%, 28,6% e 28,6%. Em relação ao tratamento, 48 pacientes foram submetidos à ressecção ampla após biópsia inicial, 11 pacientes foram submetidos à amputação de membro, 16 pacientes receberam quimioterapia adjuvante e 21 pacientes receberam radioterapia adjuvante. A DMV foi avaliada através dos percentis e médias/ medianas. A TS em 5 anos foi de 67,9%, sendo a média de sobrevida global (SG) de 48,2 meses. Houve diferença estatisticamente significativa para a TS em relação ao T2 e N1. A TSLD foi de 15,8%, com mediana de 21,5 meses. Não foi observada nenhuma associação entre os percentis ou medianas de DMV e as diferentes variáveis. Na análise multivariada o estadió clínico-patológico se mostrou um fator prognóstico. A DMV sanguínea e linfática intra-tumoral não se mostrou um fator prognóstico nos SS. O uso de radioterapia adjuvante esteve associado a uma maior TSLD.

SUMMARY

Nascente CM. **[The angiogenesis and lymphangiogenesis in Synovial Sarcomas and its clinic-pathological correlation]**. São Paulo; 2011. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antonio Prudente].

The Synovial Sarcomas (SS) represent the second most frequent group of Soft Tissue Sarcomas that occurs in young patients. They are characterized by a typical translocation (X;18)(p11.2; q11.2), in about 95% of the cases. They are classified as high grade sarcomas and present the histologic subtypes monophasic, biphasic and poorly differentiated. The clinical presentation is a slow-growing expanding mass in any soft part of the body, what can retard the diagnosis. The prognostic factors are discordant in the literature, making the most reliable one the extension larger than 5 cm. The surgery is the keystone of the treatment. The Radiation Therapy is important in improving the local control and the Adjuvant Chemotherapy with Ifosfamide may improve the distant relapse. New Agents which try to target the angiogenesis are based in the observation of the vessels formation in primary tumors and metastasis. We studied the Microvascular Density (MVD) in SS as a form of evaluation of Angiogenesis, through CD31, and Lymphangiogenesis, through D2-40. The objective was to evaluate the MVD in the histological archive from all the patients with the diagnosis of SS, treated and followed at this Hospital, from 1973 until 2010, with intact not distantly metastatic tumors of the extremities, correlating with main medical records: gender, age, size, lymph node positivity, histology, surgical treatment and margin. For MVD measurement we used the program "microvascular density" from APERIO's Scanscope, California. There were 131 patients with SS diagnosis, from which 68 were excluded for the following reasons: 49 who failed the inclusion criteria and 19 who were treated after relapse. The statistical analysis was made through qui-square and Fisher's exact test. There were 63 patients included in the analysis: 27

patients whose biopsy was obtained at our Institution and 36 patients whose first biopsy was obtained at an outside facility before the referral. The median age at the diagnosis was 33 years, and males were affected more often than females. Patients with tumors larger than 5 cm (T2) were 66.7% and with positive lymph nodes (N1) were 9.5%. The subgroups with the subtypes monophasic, biphasic and poorly differentiated were, respectively, 42.9%, 28.6% and 28.6%. Regarding the treatment, 48 patients were submitted to wide resection after diagnostic biopsy, 11 patients were submitted to amputation, 16 patients received adjuvant chemotherapy and 21 patients received adjuvant Radiation Therapy. The MVD was evaluated through mean/ median and percentiles. The 5-year SR was 67.9%, and the mean Overall Survival (OS) was 48.2 months. There was a statistical significance of SR related to T2 and N1. The Disease Free Survival Rate was 15.8%, with the median of 21.5 months. There was no correlation between the MVD's percentiles or medians and the different variables. In multivariate analysis, the clinic-pathological stage was the most significant prognostic factor. The vascular and lymphatic intratumoral MVD was not a prognostic factor in the SS. The adjuvant Radiation Therapy was associated to a higher Relapse Free Survival.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Painel representando SS monofásico, bifásico e indiferenciado (arquivo A.C. Camargo).....	6
Figura 2	Imagem de marcação por CD31 aumento de 14,6x.....	50
Figura 3	Imagem de marcação por CD31 (aumento de 9,8x) com seleção de área a ser analisada para DMV (em amarelo).....	50
Figura 4	Imagem de marcação por CD31 7,2x após seleção de análise de DMV pelo Aparelho APERIO.....	51
Figura 5	Imagem de marcação por D2-40 com aumento de 3,4x com seleção de área a ser analisada.....	51
Figura 6	Imagem de marcação por D2-40 com aumento de 1,7x do caso controle positivo.....	52
Figura 7	Curva de sobrevida em 5 anos para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	64
Figura 8	Curva de sobrevida em 5 anos para sexo feminino e masculino-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.	65
Figura 9	Curva de sobrevida em 5 anos para idade até 25 anos e superior-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	66
Figura 10	Curva de sobrevida em 5 anos para tumores T1 e T2 - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	67

Figura 11	Curva de sobrevida em 5 anos para N0 e N1 - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	68
Figura 12	Curva de sobrevida em 5 anos para pacientes que tiveram tumores com histopatologia indiferenciada, monofásico e bifásico-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	69
Figura 13	Curva de sobrevida em 5 anos para pacientes que foram tratados ou não com radioterapia neoadjuvante-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	70
Figura 14	Curva de sobrevida em 5 anos para pacientes que foram tratados ou não com quimioterapia neoadjuvante - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	71
Figura 15	Curva de sobrevida em 5 anos para pacientes que foram tratados ou não com radioterapia adjuvante-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	72
Figura 16	Curva de sobrevida em 5 anos para pacientes que foram tratados ou não com quimioterapia adjuvante-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	73
Figura 17	Curva de sobrevida em 5 anos de acordo com os percentis ($p < 25$, $p 25-75$, $p > 75$) de DMV avaliada através de CD31 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	74
Figura 18	Curva de sobrevida em 5 anos de acordo com os percentis ($p < 25$, $p 25-75$, $p > 75$) de DMV avaliada através de D2-40 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	75

Figura 19	Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	79
Figura 20	Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para tumores T1 e T2-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	80
Figura 21	Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para N0 e N1-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	81
Figura 22	Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para pacientes que foram tratados ou não com radioterapia adjuvante-pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.	82
Figura 23	Sobrevida livre de doença em 5 anos para pacientes que foram tratados ou não com quimioterapia adjuvante - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	84
Figura 24	Sobrevida livre de doença em 5 anos de acordo com os percentis ($p < 25$, $p 25-75$, $p > 75$) de DMV avaliada através de CD31 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	84
Figura 25	Sobrevida livre de doença em 5 anos de acordo com os percentis ($p < 25$, $p 25-75$, $p > 75$) de DMV avaliada através de D2-40 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	85
Figura 26	Curva de sobrevida em 5 anos para os pacientes que receberam ou não quimioterapia Adjuvante com ifosfamida tratados primariamente no A.C. Camargo.....	87

Figura 27	Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para os pacientes que receberam ou não quimioterapia Adjuvante com ifosfamida tratados primariamente no A.C. Camargo.....	88
Figura 28	Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do CD31 e associação com T1 e T2 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	93
Figura 29	Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do CD31 e associação com N0 e N1 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	94
Figura 30	Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do CD31 e associação com as histopatologias indiferenciada, monofásica e bifásica para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	95
Figura 31	Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do D2-40 e associação com a T1 e T2 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	98
Figura 32	Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do D2-40 e associação com N0 e N1 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	99
Figura 33	Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do D2-40 e associação com a histopatologia para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Análise da DMV planejada.....	48
Tabela 2	Análise da DMV efetuada.....	48
Tabela 3	Critérios principais de exclusão de pacientes.....	54
Tabela 4	Valor mínimo e máximo, percentis 25, 50 e 75 das variáveis associadas à marcação pelo CD31 para os tumores primários de pacientes que foram tratados no A.C. Camargo.	58
Tabela 5	Valor mínimo e máximo, percentis 25, 50 e 75 das variáveis associadas à marcação pelo D2-40 para os tumores primários de pacientes que foram tratados no A.C. Camargo.	58
Tabela 6	Valores dos intervalos dos percentis < 25, 25-75 e > 75 da DMV avaliada através do CD31 e da frequência de pacientes em cada grupo para os tumores primários de pacientes que foram tratados no A.C. Camargo.....	59
Tabela 7	Valores dos intervalos dos percentis < 25, 25-75 e > 75 da DMV avaliada através do D2-40 e da frequência de pacientes em cada grupo para os tumores primários de pacientes que foram tratados no A.C. Camargo.....	59
Tabela 8	Taxas de sobrevida em 5 anos e qui-quadrado para as variáveis de pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	60

Tabela 9	Taxas de sobrevida livre de doença e qui-quadrado para as variáveis de pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	77
Tabela 10	Taxas de sobrevida e qui-quadrado para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo e que receberam ou não quimioterapia adjuvante com ifosfamida.....	86
Tabela 11	Taxas de sobrevida livre de doença em 5 anos e qui-quadrado para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo e que receberam ou não quimioterapia adjuvante com ifosfamida.....	87
Tabela 12	Análise de associação dos percentis da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis paramétricas para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	90
Tabela 13	Análise de associação da mediana da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis paramétricas para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	91
Tabela 14	Análise de associação da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis não-paramétricas– Teste de correlação de Spearman-para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	92
Tabela 15	Análise de associação dos percentis da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis paramétricas para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	96

Tabela 16	Análise de associação da mediana da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis paramétricas para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	97
Tabela 17	Análise de associação da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis não-paramétricas– Teste de correlação de Spearman para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	101
Tabela 18	Modelo multivariado não exploratório para avaliação de CD31 como possível fator de risco para óbito e recorrência em 5 anos (Hospital A.C. Camargo, 1973–2005).....	103
Tabela 19	Modelo multivariado não exploratório para avaliação de D2-40 como possível fator de risco para óbito e recorrência em 5 anos (Hospital A.C. Camargo, 1973–2005).....	104

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

FISH	Fluorescence in situ hybridization (hibridização in situ por fluorescência)
FNCLCC	French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group
HER-1	Human Epidermal Growth Factor 1 – Fator de Crescimento Epidérmico Humano-1
IRS	Intergroup Rhabdomyosarcoma Study
MeVP	Median vessel perimeter (μm) - Perímetro vascular mediano – PVMe
MVA	Mean vessel area (μm^2) - área vascular média - AVM
Mva	Median Vessel area (μm^2) - área vascular mediana - AVMe
MVD	Microvessel density - Number of vessels per unit área (μm^2) – densidade microvascular - DMV
MVP	Mean vessel perimeter (μm) - Perímetro vascular médio - PVM
QT	Quimioterapia
RECIST	Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
RT	Radioterapia
SDVA	Standard deviation of vessel area (μm^2) - Desvio padrão da área vascular - DPAV
SDVP	Standard deviation vessel perimeter (μm^2) - Desvio padrão do perímetro vascular - DVPV
SG	Sobrevida Global
SLD	Sobrevida Livre de Doença
SS	Sarcoma Sinovial
TNMG	Classificação de tumores malignos mantida pela UICC (International Union Against Cancer) e pela AJCC (American Joint Committee on Cancer)
TR	Taxa de Resposta
TS	Taxa de Sobrevida
TSLD	Taxa de Sobrevida Livre de Doença
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor (Fator de Crescimento Derivado do Endotélio)

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Sarcomas Sinoviais	1
1.1.1	Epidemiologia	1
1.1.2	Etiopatogenia.....	2
1.1.3	Histopatologia.....	3
1.1.4	Manifestações clínicas e diagnóstico	7
1.1.5	Fatores prognósticos	7
1.1.6	Estadiamento.....	8
1.1.7	Tratamento	10
1.2	Angiogênese tumoral.....	18
1.2.1	Linfangiogênese	20
1.2.2	Avaliação da Densidade Microvascular	21
1.2.3	Marcadores endoteliais	23
1.2.4	Comparação entre os marcadores	27
1.2.5	Marcadores da angiogênese e Sarcomas	28
1.2.6	Implicações terapêuticas	29
2	JUSTIFICATIVA.....	30
3	OBJETIVOS.....	32
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1	Pacientes.....	33
4.2	Imunoistoquímica	34
4.3	Mensuração da densidade microvascular	35
4.4	Variáveis testadas em relação à DMV e análise estatística	36
4.5	Casuística	38
4.5.1	Dados da avaliação dos marcadores CD31 e D2-40.....	47
4.5.2	Exclusão de pacientes conforme o projeto	52

4.5.3	Análise descritiva dos dados para análise estatística.....	54
5	RESULTADOS.....	56
5.1	Taxa de Sobrevida	59
5.2	Taxa de Sobrevida Livre de Doença (TSLD)	77
5.3	Taxa de SG e SLD para pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo e que receberam quimioterapia adjuvante	86
5.4	Análise da densidade microvascular e de suas associações com diferentes variáveis para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.....	89
5.4.1	Análise de associação dos percentis da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis paramétricas	90
5.4.2	Análise de associação da mediana da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis paramétricas	91
5.4.3	Análise de associação da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis não-paramétricas (Teste de correlação de Spearman)	92
5.4.4	Análise de associação dos percentis da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis paramétricas.....	96
5.4.5	Análise de associação da mediana da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis paramétricas.....	97
5.4.6	Análise de associação da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis não-paramétricas (Teste de correlação de Spearman)	101
5.5	Análise Multivariada	102
6	DISCUSSÃO	105
7	CONCLUSÕES	113
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

APÊNDICES

- Apêndice 1** Protocolo de Coleta de Dados dos Pronturários
- Apêndice 2** Protocolo de Tratamento para pacientes com Sarcoma de Partes Moles (década de 70 a 80, A.C. Camargo) e Protocolo a partir da década de 90
- Apêndice 3** Tabela de critérios detalhados de exclusão para cada paciente que foi excluído da análise final.
- Apêndice 4** Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

ANEXOS

- Anexo 1** Estadiamento pós-cirúrgico do IRS (Intergroup Rhabdomyosarcoma Study, MAURER et al. 1988)
- Anexo 2** Classificação de tumores malignos mantida pela UICC (International Union Against Cancer) e pela AJCC (American Joint Committee on Cancer) TNMG para Sarcomas (EDGE et al. 2010)
- Anexo 3** RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumours; EISENHAUER et al; 2009)

1 INTRODUÇÃO

1.1 SARCOMAS SINOVIAIS

1.1.1 Epidemiologia

Os Sarcomas Sinoviais (SS) constituem cerca de 9% dos sarcomas de partes moles, acometendo pacientes entre a terceira e quinta décadas de vida, sendo que 1 em cada 3 casos ocorre nas primeiras 2 décadas de vida. A incidência é estimada em 2,75 casos em cada 100.000 pessoas, com aproximadamente 800 novos casos (nos Estados Unidos) a cada ano. É o tumor de partes moles mais comum na adolescência e adultos jovens após o rabdomiossarcoma, sendo responsável por 15 a 20% dos casos nesta faixa etária (FERRARI e COLLINI 2005). Os homens são mais acometidos do que as mulheres (proporção 1,2:1,0). O nome SS se deve à sua semelhança com a sinóvia embriônica, mas não tem nenhuma relação com o acometimento de tecido sinovial ou derivação deste tecido, o que já levou algumas vezes ao questionamento sobre a necessidade de mudança de nome (MIETTINEN e VIRTANEN 1984; KRIEG et al. 2011). Em sua apresentação clássica, se caracteriza por uma diferenciação epitelial parcial, podendo ou não estar presente na amostra histológica (BILLINGS et al. 2004).

1.1.2 Etiopatogenia

A modificação molecular dos SS foi uma das primeiras descritas, sendo que os SS contêm uma translocação típica (X;18)(p11.2;q11.2) (SMITH et al. 1987). A fusão ocorre entre o gene *SS18* (*SYT*) no cromossomo 18 e um dos genes *SSX* do cromossomo X (*SSX1*, *SSX2* ou *SSX4*), sendo que estes 3 genes de fusão são responsáveis por 95% dos casos de SS. O parceiro mais comum é *SSX1* (2/3 dos casos), seguida da fusão com o *SSX2* (1/3 dos casos), sendo a mais rara é com o gene *SSX4*. As funções da proteína *SS18* seriam de co-ativadoras transcricionais relacionadas à cromatina, enquanto as funções da proteína *SSX* seriam de co-repressoras transcricionais, relacionadas às proteínas do grupo *Polycomb*, resultando numa proteína anômala de “ativação-repressão” (DE BRUIJN et al. 2006). A proteína quimérica resultante – SYT-SSX1/ SYT-SSX2 - é responsável pelo remodelamento de complexos associados à cromatina e por mudanças na expressão gênica (DE BRUIJN et al. 2007). Um dos papéis conhecidos é a regulação da beta-catenina, sendo que esta é recrutada para o núcleo, formando um complexo ativo, provocando expressão aberrante de beta-catenina e acúmulo de ciclina D1 (HASEGAWA et al. 2001; HORVAI et al. 2006). A depleção da proteína SYT-SSX2 é capaz de reduzir a sinalização via beta-catenina (PRETTO et al. 2006). A SYT-SSX1 é descrita como associada mais comumente ao SS bifásico.

1.1.3 Histopatologia

A diferenciação histológica do SS como uma entidade nova ocorreu em 1947, descrita por Bennet e posteriormente por Enziger em 1969, citados por WEISS e FRANZ (2011). Em 1977, MACKENZIE (1977) alertou sobre a dificuldade em se diferenciar pela microscopia comum as variações histológicas monofásica e bifásica, que apresentam células com características epiteliais entre as células fusiformes. A maioria dos tumores apresenta um padrão bifásico do ponto de vista histopatológico (SIEGEL et al. 2007). TSUJIMOTO et al. (1987) demonstraram co-positividade para citoceratina e vimentina nas células redondas (no subtipo bifásico), enquanto que as células fusiformes apresentavam marcação somente para vimentina e negativa para citoceratina.

O diagnóstico histopatológico diferencial inclui os tumores da bainha do nervo periférico, o schwanoma, o tumor fibroso solitário, o hemangiopericitoma, o fibrossarcoma e, mais raramente, a família dos tumores de células redondas azuis. Os marcadores imunoistoquímicos realizados para ajudar na diferenciação incluem as citoceratinas, o antígeno da membrana epitelial e o CD34. Apesar da avaliação de múltiplos marcadores imunoistoquímicos, muitas vezes o diagnóstico é difícil, sendo que vem havendo uma busca ativa de métodos diagnósticos como outros biomarcadores imunoistoquímicos, a exemplo o TLE1 (WEST 2010). Este antígeno é positivo em quase 100% dos SS, e tem reação cruzada com os tumores de origem neural.

Podemos classificar os SS baseado na histopatologia em monofásicos, bifásicos e pobremente diferenciados. Há ainda o subtipo monofásico epitelial que é excepcional (FERRARI e COLLINI 2005). No subtipo monofásico notamos a presença única do componente fusiforme. No subtipo bifásico notamos a coexistência do componente glandular/epitelial e do componente fusiforme, em diferentes proporções. No subtipo indiferenciado notamos um dos seguintes padrões: células grandes/epitelióides/ rabdóides; células pequenas; ou padrão fusiforme de alto grau. Na Figura 1 há um Painel representando o SS monofásico, bifásico e indiferenciado, na coloração Hematoxilina-eosina (HE), com imagens digitalizadas com aumentos de 200, 40 e 400 vezes (arquivo A.C. Camargo).

O subtipo raro SS monofásico epitelial tem puramente o componente glandular e é dificilmente diferenciado de um adenocarcinoma, sendo necessário recorrer a testes genéticos moleculares.

O subtipo indiferenciado pode ser considerado uma forma agressiva de progressão, podendo-se notar a presença de hialinização, padrões mixóides e calcificação, sendo que esta está presente em um terço dos casos de SS (FISHER 1998; FERRARI e COLLINI 2005).

Apesar de haver algumas graduações para os sarcomas de partes moles, como o Score abaixo descrito, o SS é considerado sempre um sarcoma de alto grau, por definição. O *Score Francês da French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group* (FNCLCC) considera o grau de diferenciação (1 a 3, sendo que SS é sempre 3), o grau de mitose (menor que 10, entre 10 e 19, maior que 19) e o grau de necrose (ausncia de

necrose, menos de 50% e mais de 50%). Ele é considerado um fator preditivo histológico para a presença de metástases de SS (COINDRE et al. 2001).

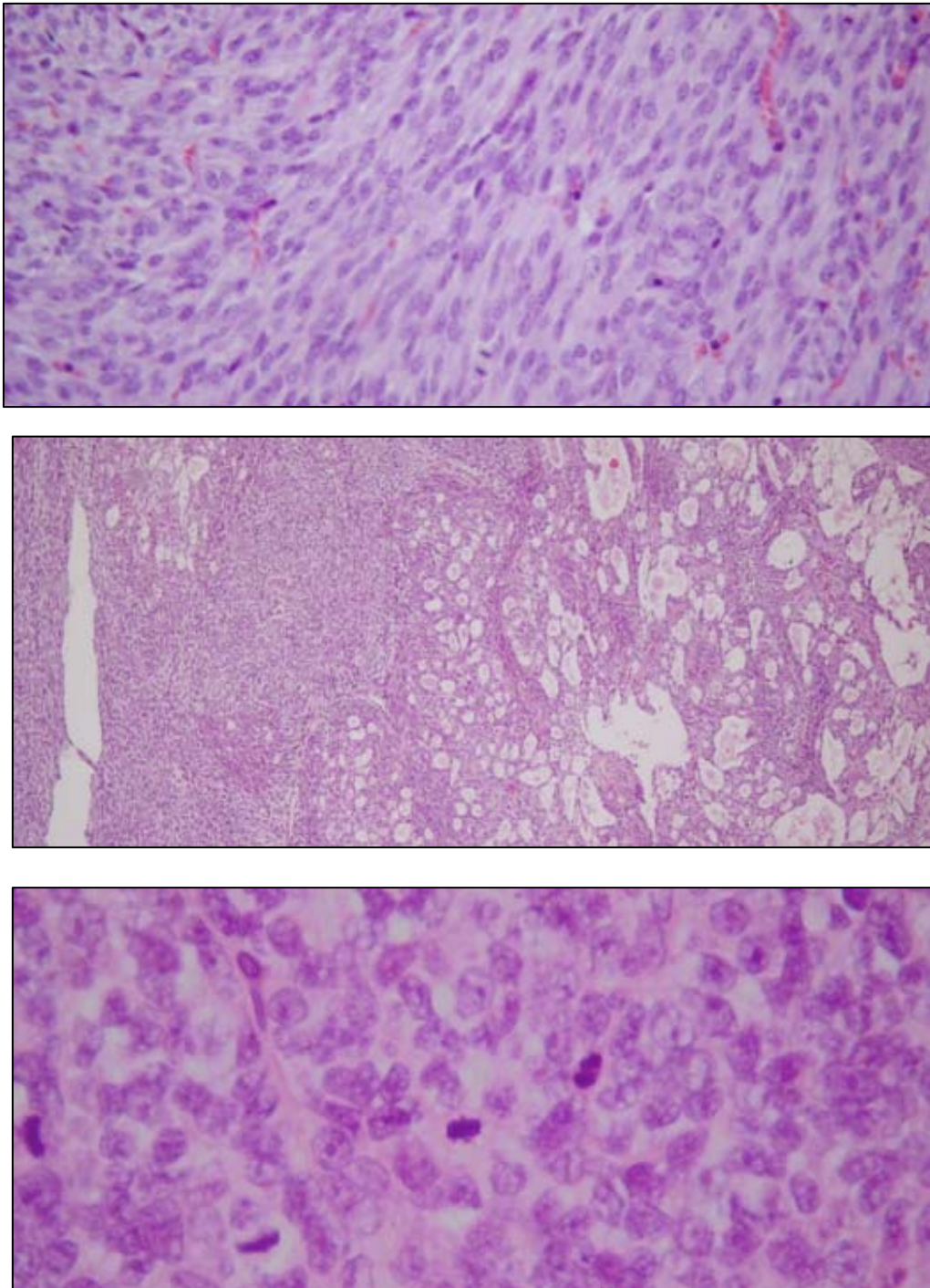


Figura 1 - Painel representando SS monofásico, bifásico e indiferenciado, nesta ordem, na coloração HE, imagens digitalizadas com aumentos de 200, 40 e 400x (arquivo A.C. Camargo).

1.1.4 Manifestações clínicas e diagnóstico

Os SS se apresentam predominantemente como uma tumoração de crescimento lento principalmente em membros inferiores em regiões peri-articulares, em pelo menos 50% dos casos (MURPHEY et al. 2006). Comumente é encontrado próximo a articulações ou tendão, como joelhos e tornozelos. Locais menos comuns incluem: região cervical, parede abdominal, retroperitônio, mediastino, parede torácica. Podem ser primariamente encontrados em praticamente todas as localizações, como pulmões, pleura e língua (DE ALMEIDA-LAWALL et al. 2009).

Por serem tumores que crescem lentamente e por terem sintomas iniciais de pouca repercussão, existe um retardo na busca por atendimento especializado, o que acarreta um atraso no tratamento, que se torna inadequado (KRIEG et al. 2011). Apresentam-se ao diagnóstico com doença metastática em 10% dos casos, sendo que estas ocorrem principalmente nos pulmões. Este é o sitio mais freqüente de metástases sendo que durante a evolução ocorrem entre 25 e 50% dos casos (FERRARI e COLLINI 2005), sendo que na experiência de outros autores estas possam ocorrer em 50 a 70% dos casos (KRIEG et al. 2011).

1.1.5 Fatores prognósticos

Os fatores prognósticos específicos para os SS não são bem estabelecidos, havendo discordâncias na literatura. Em uma série de 112 sarcomas sinoviais, somente com tumores intactos de extremidade, o tamanho do tumor e a invasão de estruturas ósseas ou neurovasculares

tiveram impacto negativo na sobrevida (LEWIS et al. 2000). Estudos envolvendo pacientes com SS também em outras localizações e com manipulação prévia identificaram outros fatores adversos, tais como: sexo masculino (WRIGHT et al. 1982; TRASSARD et al. 2001), idade acima de 25 anos (MULLEN e ZAGARS 1994; BERGH et al. 1999; PAULINO 2004; DE SILVA et al. 2004), ocorrência de recidiva (BERGH et al. 1999; SPILLANE et al. 2000; DESHMUKH et al. 2004), localização proximal no membro (MOBERGER et al. 1968; ODA et al. 1993), amputação (SKYTTING 2000, TRASSARD et al. 2001), margem microscópica comprometida (SINGER et al. 1996) e subtipo monofásico (ZITO 1984; CAGLE et al. 1987; PAULINO 2004). Dentre todos os fatores clínico-morfológicos, o tamanho parece ser o mais importante (SINGER et al. 1996; BERGH et al. 1999; LEWIS et al. 2000; DESHMUKH et al. 2004; PAULINO 2004; DE SILVA et al. 2004).

O FNCLCC considera como grupo de melhor prognóstico aqueles casos com os seguintes fatores: menos de 10 mitoses em 10 campos de grande aumento, ausência de necrose, ausência de áreas pobremente diferenciadas, idade pediátrica, tamanho inferior a 5 cm, tumores localizados totalmente ressecados (COINDRE et al. 2001).

1.1.6 Estadiamento

Para o estabelecimento do estadiamento nos SS deve ser feito um estudo completo do tórax, abdome e do membro que geralmente é afetado. Dá-se preferência à ressonância nuclear magnética para avaliação da extensão e comprometimento de feixes vâsculo-nervosos e ressecabilidade

do tumor primário antes de qualquer intervenção. A tomografia computadorizada tem seu papel na avaliação da extensão óssea.

Após esta determinação da extensão da doença, realiza-se a punção por agulha grossa guiada por exame de imagem para definir o subtipo histopatológico, planejada e executada por cirurgião com experiência em sarcomas, com o intuito de, na cirurgia definitiva, se retirar a área tumoral que foi manipulada e de se evitar complicações como hematoma e invasão de mais do que o compartimento tumoral.

Alguns grupos defendem a realização da técnica de linfonodo sentinela para avaliação da extensão linfonodal (BLAZER et al. 2003; MADUEKWE et al. 2009).

Existe uma certa variação de estadiamento, principalmente quando se trata de população pediátrica, que em alguns centros é considerada até os 21 anos de idade. Muitas vezes é considerada até os 25 anos pela tolerância à quimioterapia, que apresenta toxicidade considerável. Neste grupo é muito adotada a classificação de MAURER et al. (1988), descrita no Anexo 1, que é o estadiamento pós-cirúrgico do IRS (Intergroup Rhabdomyosarcoma Study): Grupo I – tumores completamente ressecados com margens negativas; Grupo II – tumores macroscopicamente ressecados porém com margens positivas ou com linfonodos positivos; Grupo III – doença residual macroscópica após uma ressecção incompleta ou biópsia; e Grupo IV – metástase ao diagnóstico.

Séries de avaliações de pacientes pertencentes aos Grupos I e II mostram SG de 80%, mas que cai para 60 a 70% para tumores acima de 5

cm. Para o Grupo III, a sobrevida cai para 50 a 70% (LADENSTEIN et al. 1993).

A sobrevida global (SG) para pacientes com tumores que não são de extremidades é ainda menor, como SS de regiões cervicais, torácica e retroperitoneal.

Para adultos o estadiamento mais usado é o TNM, criado na década de 40 pelo Dr Denoix, depois modificada e atualizada em todo o mundo, e em 2010 atualizada pela American Joint Committee on Cancer, descrito no Anexo 2. Ela considera o tamanho tumoral até 5 cm ou maior que 5 cm (T1 e T2, respectivamente), o comprometimento de linfonodos (N0 ou N1) e a presença de metástases à distância (M0 ou M1). Apesar de os sarcomas de partes moles terem a histopatologia graduada em 1, 2 ou 3 de acordo com a diferenciação, atividade mitótica e extensão da necrose, desde a década de 90, para os SS este grau é sempre considerado 3, pelo fato de ser uma doença com risco de progressão em 10 a 20 anos (BROWN et al. 2000; EDGE et al. 2010). O SS por ser de alto grau é considerado no mínimo estágio clínico IIA se for T1; se for N1 no mínimo EC III e se metastático IV.

1.1.7 Tratamento

A Cirurgia

A cirurgia é a base do tratamento, com o objetivo de retirar o tumor com margens seguras e com a menor seqüela possível. Cada vez mais se tem buscado cirurgia preservadora de membro pois tem sido mostrado que é possível obter sobrevida semelhante à obtida com a amputação de membro

(ROSENBERG et al. 1982). Apesar de se conseguir realizar cirurgia de ressecção tumoral ampla com preservação de membro em 85 a 90% dos pacientes com sarcomas de alto grau, como para o SS, sabe-se que a recorrência local tem alta morbidade e está associada a uma menor sobrevida (EILBER et al. 2005). A quimioterapia e radioterapia neoadjuvantes têm papel na redução tumoral para os casos em que a ressecção inicial está impossibilitada para a preservação do membro (FERRARI e COLLINI 2005). A avaliação de resposta é feita usando os critérios RECIST, de resposta parcial, doença estável e resposta completa (Anexo 3). As margens seguras são consideradas adequadas a depender do tecido vizinho que existe. Se o tecido vizinho for considerado ressecável, a exemplo de um tecido muscular, esta margem deve ter pelo menos 1 cm em todas as direções. Se esta margem não é ressecável, deve ser pelo menos de 1 mm, a exemplo de um tecido como o periósteo, nervos periféricos, tecido perineural, fáscia muscular (GRONCHI et al. 2005). O tratamento cirúrgico ideal que define o subgrupo de melhor prognóstico é aquele com ressecção R0 (completa), ou seja, ressecção compartmental (ressecção em bloco do tumor e todo o tecido ao redor, onde o tumor estava anatomicamente confinado), e excisão ampla (excisão em bloco do tecido tumoral com sua pseudocápsula, ou seja, o tecido tumoral e também o normal além da zona reativa mas dentro o compartimento muscular).

Pelo grande número de condutas cirúrgicas não-oncológicas, tumores extensos com mais de 5 cm devem ser tratados em centro oncológico, com o objetivo de se avaliar biópsia seguida de tratamento neoadjuvante.

B Radioterapia

O papel da radioterapia adjuvante é para controle local da doença para tumores com margens exíguas ou marginais aos feixes vâsculo-nervosos e para tumores extensos ressecados. Para crianças seu papel deve ser melhor avaliado considerando as toxicidades tardias. Estudos têm mostrado maior SLR local para os pacientes que têm margem exígua / marginal quando recebem radioterapia adjuvante quando comparado aos que não fazem radioterapia adjuvante. A SLR local chega a 57% para o subgrupo IRSII que recebe radioterapia adjuvante, enquanto é 7% para o grupo que não recebe; para o subgrupo IRS I, é 78% contra 67% (FERRARI et al. 2004). Desta forma, a radioterapia adjuvante tem seu papel melhor definido para o subgrupo IRS II, mas não para o subgrupo I, que ainda é uma incógnita, principalmente para aqueles pacientes com tumores acima de 5 cm.

A radioterapia neoadjuvante tem seu papel para pacientes em que a ressecção completa primária seria inadequada, tendo que recorrer a tratamentos pré-operatórios com o intuito de aumentar a chance de ressecção com margens oncológicas. Em alguns casos o paciente recebe ainda radioterapia adjuvante, que apresenta menor risco de complicações. A neoadjuvância tem suas vantagens sobre a adjuvância em relação à redução da contaminação intra-operatória, aumento de chances de ressecção completa, redução da extensão do campo radioterápico e das doses usadas. A abordagem multi-disciplinar pode aumentar a chance de

ressecção ampla tumoral com margem livres ou pelo menos marginais (SCOGGINS e POLLOCK. 2005).

C Quimioterapia

O papel da quimioterapia está mais bem definido para subgrupos com tumores de maiores dimensões (T2) e com fatores de risco e mau prognóstico. Em pacientes pediátricos o benefício da quimioterapia adjuvante é mais notório do que em adultos, exceto para subgrupos IRS I e II (OKCU et al. 2003). A idade influencia a resposta à quimioterapia adjuvante, nem sempre estando associada a uma maior SLP à distância (FERRARI et al. 2004). A resposta à quimioterapia para o SS, em torno de 60%, é maior do que para outros subtipos de sarcomas de partes moles (menor que 40%) e menor do que nos Rabdomiossarcomas (80%). Apesar de a idade se comportar como um fator prognóstico, não há razão para tratar adultos de forma diferenciada (FERRARI e COLLINI 2005). Em alguns centros, pela toxicidade associada à quimioterapia nos diferentes sistemas (medular/ hematológica, renal, hepática, por exemplo), muitas vezes se opta por não indicar quimioterapia adjuvante para pacientes IRS I e II com mais de 40 anos de idade, como na década de 70 e 80 no A.C. Camargo. A partir da década de 90, passou-se a considerar o papel da quimioterapia neoadjuvante principalmente para os pacientes com doença não passível de ressecção completa com margem adequada, realizando-se 3 ciclos de quimioterapia de indução baseada em ifosfamida, doxorrubicina e mesna, seguida de cirurgia e quimioterapia/radioterapia adjuvantes. Estes protocolos

estão no Apêndice 2. Ao invés de se considerar a idade acima de 40 anos como contra-indicação para quimioterapia, a tendência foi considerar a performance ou estado clínico (KPS – Karnofsky Performance Scale) acima de 70%, ajustando ou suspendendo a quimioterapia de acordo com a tolerância.

Os quimioterápicos mais usados são doxorrubicina e ifosfamida. São usados como monoterapia ou em esquemas de associação. Metanálise publicada em 1997 mostrou o benefício da quimioterapia adjuvante com doxorrubicina para sobrevida livre de progressão local e à distância para sarcomas de partes moles, sendo que o melhor resultado para a sobrevida global foi para sarcomas de extremidades (Sarcoma Meta-analysis Collaboration-SMAC 1997). Este mesmo resultado foi demonstrado por metanálise da Cochrane de 2003. Estudo retrospectivo avaliando pacientes com diferentes sarcomas de partes moles avançados que receberam ifosfamida como primeira linha de quimioterapia revelou que a histologia SS é um fator prognóstico independente para resposta à ifosfamida (SLEIJFER et al. 2010). O uso de ifosfamida em altas doses mesmo após resistência à sua combinação com outros agentes já foi demonstrada (ERIKSSON 2010). A ifosfamida está associada a uma maior sobrevida livre de recorrência à distância, mas não a uma maior sobrevida livre de recorrência local (EILBER et al. 2007).

O uso de quimioterapia de segunda linha também mostrou aumento de SG para o grupo de pacientes com diagnóstico de SS, que se mostrou um fator independente de resposta. Dentre os esquemas de quimioterapia

usados está a monoterapia com doxorrubicina (19% dos pacientes), monoterapia com ifosfamida (37,7% dos pacientes) e agentes usados em estudos fase I (10,7% dos pacientes). Os outros agentes mais usados foram: trabectedina, paclitaxel, dacarbazina e gencitabina. Foram responsáveis por uma taxa de resposta de 22,7% (MINCHOM et al. 2010).

A trabectedina é outro quimioterápico aprovado para tratamento de pacientes que apresentam resistência aos antracíclicos, chegando a apresentar SLP de 61% em alguns trabalhos (VAN GLABBEKE et al. 2002; FAYETTE et al 2006; SCHÖFFSKI et al. 2008).

D Novos agentes

Alguns novos agentes estão voltados para o bloqueio da angiogênese. Existem diversas maneiras de se inibir a angiogênese nos sarcomas de partes moles, como através da ação sobre o VEGF, sobre os receptores de VEGF, sobre a via de tirosinaquinase ou ainda sobre as células endoteliais (GANJOO e JACOBS 2010).

O inibidor de tirosinaquinase pazopanibe mostrou SLP de 3 meses e está sendo estudado em estudo fase II em pacientes com SS (SLEIJFER et al. 2009). Outro inibidor de tirosinaquinase, o semaxanibe, que age inibindo o receptor-2 e o receptor KIT do VEGF, não mostrou atividade antitumoral em 13 pacientes com sarcomas de partes moles (HEYMACH et al. 2004).

O inibidor de angiogênese bevacizumabe é um anticorpo humanizado anti-VEGF que se liga ao VEGF-A e suas isoformas levando a uma normalização da vasculatura e facilitando o acesso e ação dos

quimioterápicos. Tem sido usado de forma isolada e em combinações (BENESCH et al. 2008). Estudo fase II que avaliou a associação de bevacizumabe e doxorubicina chamou atenção apenas pelo número de pacientes com doença estável (65%) por mais de 3 meses, sem benefício em relação à TR, tendo sido notada uma normalização da vascularização e necrose, porém sendo dificilmente notada uma redução das dimensões tumorais (D'ADAMO et al. 2005).

Outro inibidor da angiogênese, a esqualamina, que age inibindo a proliferação e migração de células endoteliais *in vitro*, foi usada em estudos fase I em pacientes com diversos tumores sólidos, entre eles SS, não tendo evidenciado resposta que justificasse prosseguir com maiores usos, a não ser no câncer de pulmão e de ovário (BHARGAVA et al. 2001).

Outro agente que já foi estudado pela positividade do HER-1 foi o gefitinibe para tumores refratários à doxorubicina e ifosfamida, que não mostrou impacto (RAY-COQUARD et al. 2008).

Está em estudo o uso da romidepsina, um Inibidor de deacetilase de histonas, no tratamento de SS, havendo estudo Fase II em andamento. A ação da romidepsina seria na reversão da alteração da histona 3, a qual sofre trimetilação de sua porção (Lisina) e recruta proteínas à sua parte promotora, mediando a repressão transcricional. Nesta porção está o gene supressor tumoral EGR1 (Early Growth Response 1). Os SS apresentam em grande parte a oncoproteína SYT-SSX que se liga diretamente ao componente deacetilase de histona, mediando a repressão transcricional

(ITO et al. 2005; WUNDER et al. 2007). Assim, a romidepsina reverteria esta alteração e reativaria a expressão do EGR1 (LUBIENIECKA et al. 2008).

Existe uma escassez de estudos que mostram a real angiogênese dos tumores. Um motivo é a dificuldade em relação ao melhor método para a avaliação da angiogênese. O princípio dos estudos com inibidores da angiogênese foi a ausência ou baixa taxa de resposta observada nos sarcomas de partes moles e o conhecimento da formação de metástases, muito freqüentes nestes tipos de câncer. Partiu-se então para a inclusão destes pacientes com SS em estudos fase I. Porém é importante enfatizar o pouco conhecimento das características dos sarcomas em geral, entre eles o SS, devido à escassez dos casos, o que acarreta um desinteresse na comunidade científica.

E Seguimento

Considerando o SS um subtipo de alto grau, o seguimento deve ser baseado na avaliação locorregional e à distância (pulmões) por tempo prolongado, além dos 10 anos, conforme demonstração do Apêndice 2.

Nos primeiros 2 anos deve haver seguimento trimestral com anamnese, exame físico, sendo que as avaliações de tórax e locorregionais com exames de imagem devem ser realizadas a cada 6 meses, sendo tórax dentro de 6 meses e locorregional dentro de 3 meses. A partir do 3º ao 5º ano as avaliações são trimestrais da mesma forma, com exame físico e de imagem. Entre 6º e o 10º ano deve-se manter avaliação anual local e à distância. A partir do 10º ano as alterações locorregionais orientarão a

realização de exames de imagem mas a avaliação do tórax deve ser mantida anualmente.

1.2 ANGIOGÊNESE TUMORAL

A angiogênese tumoral foi inicialmente proposta em 1971 por FOLKMAN et al. (1971) que colocaram a hipótese de que a interação entre as células tumorais e o endotélio pré-existente desencadearia uma alteração do comportamento das células endoteliais, que seriam induzidas a participarem na angiogênese.

A angiogênese é a formação de vasos sanguíneos a partir de um leito vascular pré-existente, e é fundamental para o crescimento tumoral, invasão e metástases (FOLKMAN 1990). O crescimento de tumores sólidos além de 1 a 2 mm em tamanho não é possível sem ela, quando a difusão de oxigênio sozinha não é suficiente para manter um nível de oxigenação tecidual adequado. As células de um tumor em fase pré-vascular podem replicar-se tão rapidamente quanto as de um tumor bem vascularizado em crescimento, mas sem a formação de novos vasos o número de células em proliferação atinge um equilíbrio com o número de células que morrem (HANAHAHAN et al. 1996; SKOBE et al. 1997). O processo de formação de novos vasos sanguíneos é complexo e depende de um balanço local entre vários fatores pró-angiogênicos e anti-angiogênicos, liberados tanto por células tumorais como do hospedeiro, incluindo células estromais adjacentes e células do sistema imune. Este processo consiste em uma série de passos interligados,

incluindo a separação de células endoteliais dos pericitos, invasão e migração através da membrana basal e subsequente extensão para dentro da massa tumoral (FOX et al. 2001). Vasos formados sob a influência destas vias são anormais, com alterações de permeabilidade e fluxo (JAIN 2000; FOX et al. 2001). Como resultado, apesar de novos vasos terem sido formados, a oferta sangüínea e conseqüentemente de oxigênio não se dá de forma adequada se comparada a tecidos normais. Este novo ambiente pode levar à seleção genética de células resistentes a drogas e radiação.

Existem múltiplos fatores envolvidos com a angiogênese, como fatores de crescimento derivados de fibroblastos (FGF), fatores de crescimento derivados do endotélio vascular (VEGF), fatores estromais como as integrinas, da mesma forma que existem múltiplos inibidores da angiogênese como fatores derivados de plaquetas, angiostatinas, endostatinas (VAN HINSBERGH et al. 1999).

Essenciais na angiogênese são o VEGF e seus receptores (VEGF-R1, VEGF-R2, e VEGF-R3). Os isômeros de VEGF ativam o VEGF-R1 (Flt-1), que é um receptor em destaque envolvido principalmente na angiogênese embrionária, além de ativar o VEGF-R2 (Flk-1/KDR), que é o receptor mais importante na angiogênese como um todo, atuando na promoção da proliferação vascular, sobrevida e metástases. O VEGF-R3 (Flt-4) é envolvido principalmente na linfangiogênese, promovendo a proliferação vascular linfática e a ocorrência de metástases linfonodais (GANJOO e JACOBS 2010).

A formação de vasos tumorais e peri-tumorais segue um padrão distinto da formação de vasos de tecidos normais, apresentando diferenças microscópicas relacionadas à forma, subdivisão, tortuosidade, heterogeneidade e distribuição espacial (FUKUMURA e JAIN 2007). A diferenciação entre estes vasos neoformados e os vasos normais é uma forma de buscar uma arma terapêutica direcionada à inibição da neoangiogênese tumoral.

Existem evidências de que a angiogênese evidenciada através da maior densidade microvascular ocorre em cultura de células de SS com mutação de p53 (supressor tumoral) quando comparada à DMV observada em células de SS com p53 selvagem (ZHANG et al. 2000).

1.2.1 Linfangiogênese

A busca por marcadores que possam ser úteis para a diferenciação entre microcapilares linfáticos e sanguíneos tem seu marco uma vez que vários processos biológicos e patológicos relacionados à linfangiogênese ainda se mantinham inexplicados. Uma variedade de moléculas de superfície vem sendo identificadas, dentre elas a podoplanina, permitindo esta diferenciação (SLEEMAN et al. 2001). Além das proteínas da superfície celular, fatores de crescimento, receptores, e fatores de transcrição têm sido relacionados ao funcionamento do endotélio linfático (PARTANEN e PAAVONEN 2001).

Os vasos linfáticos intratumorais também se diferem de vasos linfáticos de tecidos normais e peritumorais. Apresentam disfunção devido à

compressão pelas células tumorais adjacentes, enquanto os vasos linfáticos que margeiam o tumor apresentam função normal, com habilidade de coletar fluidos, fatores de crescimento, células tumorais, contribuindo para a formação de metástases (FUKUMURA e JAIN 2007). A identificação de marcadores moleculares específicos para células endoteliais linfáticas trouxe um novo entendimento da biologia tumoral linfática. São processos seqüenciais que incluem disseminação e invasão de tecidos estromais pelo tumor primário, penetração até paredes linfáticas e implantação linfonodal, extravasamento ou proliferação em órgãos-alvo de metástases. Ocorre uma disfunção dos vasos linfáticos e da densidade destes, disfunção de válvulas linfáticas, alteração da pressão intersticial de fluidos e da concentração de fatores de crescimento linfangiogênicos. O papel dos linfáticos intra e peritumorais tem sido evidenciado, assim como a sua relação com a linfangiogênese e a atuação de linfáticos pré-existentes (JI 2006). Além disso, o estudo da vascularização linfática, de seu crescimento e remodelamento vem trazendo maior compreensão da formação de metástases de tumores sólidos, inflamação e linfedema (MAKINEN et al. 2007). Já se pode dizer que várias neoplasias são linfangiogênicas, ou seja, podem gerar seus próprios vasos linfáticos e suas metástases para linfonodos regionais (AL-RAWI et al. 2005).

1.2.2 Avaliação da Densidade Microvascular

A avaliação da densidade microvascular (DMV) é uma forma de avaliar a angiogênese e a neoangiogênese. A avaliação desta DMV pode ser

feita de diferentes formas, como através da determinação de uma área que reflete a angiogênese de uma maior amostra tumoral. É necessário determinar áreas com a vascularização mais exacerbada, as chamadas “áreas quentes” ou “hot spots” (LEEK et al. 2001). A DMV e a Área Microvascular Total (AMT) são usadas como fatores prognósticos para diferentes tumores que cursam com uma importante neoangiogênese (SHARMA et al. 2005). Para determinação de tais parâmetros há necessidade de métodos que utilizem marcadores específicos do endotélio vascular, como a imunoistoquímica, a qual permite a identificação de moléculas associadas aos microvasos.

A determinação da quantidade de vascularização em um tumor e a sua relação com prognóstico foi primeiro mostrada por WEIDNER et al. em 1991 em casos de carcinoma mamário. O número de vasos neoformados no tumor correlacionou-se com o estadio da doença e mostrou-se ser um fator de prognóstico independente dos normalmente utilizados. A DMV determinada em tumores primários está associada com a ocorrência de metástases e com o prognóstico desfavorável em alguns tumores que envolvem a angiogênese, como tumores sólidos tais como mama, próstata e tumores hematológicos (NICO et al. 2008). Uma metanálise com 87 estudos que avaliaram a correlação da DMV com sobrevida global (SG) e sobrevida livre de progressão (SLP) no câncer de mama mostrou que uma alta DMV está correlacionada com uma pior SG e SLP (WEIDNER 1995). Embora a densidade vascular tenha se mostrado útil como fator prognóstico em carcinomas, o mesmo não aconteceu com sarcomas (SAENZ et al. 1998;

TOMLINSON et al. 1999). Estes estudos incluíram todos os subtipos histológicos sem distinção, inclusive sarcomas sinoviais, e sugerem que a angiogênese não desempenha um papel importante no mecanismo de metástases deste tipo tumoral. Em estudo fase II, não foi identificada resposta a um agente anti-angiogênico utilizado em pacientes com sarcomas de partes moles em estadió avançado (HEYMACH et al. 2004). Apesar disto, estudos preliminares com drogas antiangiogênicas mostraram resultados também em pacientes com sarcomas, lançando dúvida sobre esta primeira conclusão (HEYMACH 2001).

1.2.3 Marcadores Endoteliais

A CD31

A molécula CD31 ou PECAM-1 (Platelet endothelial cell adhesion molecule) é uma molécula de adesão celular do grupo de imunoglobulinas que está relacionada à inflamação e angiogênese (DELISSER et al. 1993). É expressa em todas as células do compartimento vascular, em diferentes graus, sendo encontrada em subtipos de leucócitos, plaquetas e células endoteliais. Nestas, é expressa predominantemente nas junções celulares (WOODFIN et al. 2007). Seu papel como molécula de adesão celular interfere em vários processos patológicos como angiogênese, trombose, apoptose, migração celular/transendotelial e proliferação (MOUSA 2008). Já seu papel como molécula de sinalização interfere em diferentes áreas da biologia vascular como angiogênese, função plaquetária, trombose, regulação da migração de leucócitos e sensibilização mecânica endotelial à

depleção de fluidos (WOODFIN et al. 2007). Há ainda outros papéis relacionados com a resposta imune como a regulação negativa da sinalização celular imune, a autoimunidade, a fagocitose por macrófagos, a anafilaxia mediada por IgE (JACKSON 2003). Dentro do papel de adesão entre células endoteliais, é importante enfatizar os múltiplos mecanismos envolvidos com a dissociação e reorganização destas junções interendoteliais (SCHITTLER et al. 1998). Sua expressão é regulada por outras moléculas relacionadas à angiogênese, como sua regulação negativa mediada pela trombospondina-1, uma glicoproteína com papel antiangiogênico relacionada à inibição da formação tumoral e de metástases (SHEIBANI et al. 1997, SHEIBANI e FRAZIER 1999). O uso de anticorpos anti-PECAM podem inibir contatos intercelulares endoteliais e influenciar a evolução da angiogênese e da recuperação tecidual, como no processo de inflamação e cicatrização (SHARMA et al. 2005).

O CD31 é visto como um marcador pan-endotelial, em meio à interpretação dos inúmeros marcadores vasculares existentes (NICO et al. 2008). Pode ser encontrado tanto em vasos linfáticos como em vasos sanguíneos (BALUK et al. 2007). Vem sendo usado para avaliação da Densidade Microvascular (DMV) em diferentes tumores, como carcinoma epidermóide de laringe, mostrando uma correlação direta entre a DMV e critérios de mau prognóstico, como o estadiamento (LENTSCH et al. 2006). Diversos trabalhos têm mostrado a importância da DMV avaliada através da medida da expressão de CD31 demonstrando correlação com a sobrevida

global e sobrevida livre de doença em tumores sólidos tais como aqueles originados na mama, no cólon e no pulmão (SHARMA et al. 2005).

Além de todos estes aspectos, o CD31 se constitui em um possível alvo da terapia antiangiogênica com o objetivo de normalizar transitoriamente o microambiente com a perspectiva de otimizar o acesso vascular dos quimioterápicos através do tratamento combinado (HUANG e CHEN 2008).

B Podoplanina

A Podoplanina, cujo anticorpo para reconhecimento chama-se D2-40, é uma glicoproteína transmembrana detectada na superfície de podócitos/células endoteliais linfáticas, tendo sua expressão induzida pelo gene homeobox Prox-1, com receptor identificado em plaquetas (KALOF e COOPER 2009). É considerada um marcador específico do endotélio linfático uma vez que não é expressa no endotélio de vasos sanguíneos (BREITENEDER-GELEFF et al. 1999). Sua expressão imunoistoquímica vem sendo correlacionada à avaliação da densidade microvascular em áreas tumorais e peri-tumorais e à linfangiogênese e status linfonodal no câncer de mama entre outros tumores (REIS-FILHO e SCHMITT 2003). É um marcador útil para a compreensão da relação linfangiogênese e desenvolvimento de metástases linfonodais, e da identificação de comprometimento dos vasos linfáticos pré-existentes (JI 2006). Também tem sido utilizada para a compreensão dos mecanismos de metástases de

tumores sólidos, da inflamação e da formação do linfedema (MAKINEN et al. 2007).

A diferença da intensidade de expressão da podoplanina em diferentes tumores põe em questão a possibilidade de que possa haver uma modulação pelo tecido circundante, como pelo fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento fibroblástico e fator de necrose tumoral alfa (WICKI e CHRITOFORI 2007). Uma hipótese recentemente levantada traz a tona o papel da podoplanina na carcinogênese, onde teria função como molécula de adesão celular, que similarmente a outras moléculas que teriam papel semelhante e que seriam fundamentais para a invasão de células tumorais (WICKI e CHRITOFORI 2007).

Seu uso como marcador de vasos linfáticos tem sido referido na identificação de neoplasias de origem linfovascular tais como linfangioma, sarcoma de Kaposi e o hemangioendotelioma (KALOF e COOPER 2009). Além disso tem sido identificada em diversas neoplasias não-vasculares (KALOF e COOPER 2009). Nestas, o aumento de sua expressão está diretamente relacionado à invasão linfovascular como no mesotelioma epitelióide, tumores germinativos (seminomas) e carcinomas epidermóides (RAICA et al. 2008). Mais recentemente também foi identificada nos tumores adreno-corticais, em schwannomas e em tumores anexiais de pele (KALOF e COOPER 2009).

1.2.4 Comparação entre os marcadores

Alguns estudos que buscam correlacionar a expressão destes marcadores com a densidade microvascular e a área microvascular com o prognóstico de alguns tumores, como câncer de mama, cólon e pulmão, mostram que o CD105 está mais relacionado à neoangiogênese que o CD31, por exemplo, que funciona como um marcador pan-endotelial e não de vasos neoformados.

Em relação ao SS, há apenas um estudo em língua inglesa relacionando a DMV e o prognóstico no sarcoma sinovial (KAWAUCHI et al. 1999) e que não demonstrou correlação entre a DMV e fatores clínico-patológicos em 54 casos de SS (42 primários e 12 recorrentes). Foram avaliadas a DMV por CD34 e a marcação imunoistoquímica por VEGF. Foi observada uma correlação negativa entre a DMV e SG e também negativa entre a DMV e a expressão de VEGF. Mais recentemente, SUN et al. (2006) obtiveram resultados diferentes, avaliando a DMV pelo CD31, a expressão de MMP2 (metaloproteinase de matriz) e o TIMP-2 (inibidor de metaloproteinase 2), em 72 casos de SS, mas infelizmente este estudo está em língua chinesa impedindo a sua análise mais criteriosa. Seu resumo revela que houve uma correlação positiva entre a maior DMV, a menor expressão de TIMP2, a maior expressão de MMP2 e a pior TS e maior potencial metastático.

1.2.5 Marcadores da angiogênese e Sarcomas

Há uma escassez de estudos que busquem avaliar marcadores de angiogênese e linfangiogênese associados aos sarcomas de modo em geral e particularmente ao sarcoma sinovial.

Utilizando sarcomas de diferentes origens histogenéticas, WEST et al. (2005) não tiveram sucesso em correlacionar a angiogênese e densidade microvascular (DMV) e sobrevida ou prognóstico dos sarcomas. Baseando em consensos prévios para avaliação de angiogênese em tumores sólidos, estes autores estudaram várias amostras de diferentes áreas tumorais considerando que os sarcomas apresentariam alterações patológicas heterogêneas e mesmo assim não obtiveram diferenças (VERMEULEN et al. 1996a e b; HANSEN et al. 2000; VERMEULEN et al. 2002; WEST et al. 2005). Estudos posteriores buscaram avaliar a expressão de VEGF com grau histológico tumoral, com diferentes técnicas de medida do VEGF. Um estudo baseado em metodologia de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) para determinar estes níveis de VEGF em 115 pacientes com sarcomas de partes moles mostrou uma correlação positiva entre maiores níveis de VEGF e grau tumoral, recorrência local e à distância, estadiamento mais avançado e menor sobrevida (YUDOH et al. 2001). A disparidade entre resultados de estudos que avaliaram a DMV e VEGF e sua correlação com fatores prognósticos de sarcomas pode refletir dificuldades metodológicas em se avaliar a DMV (DUBOIS e DEMETRI 2007).

Há 2 estudos, já expostos acima, que buscaram estudar a DMV em Sarcomas Sinoviais, o primeiro negativo e o segundo positivo para a associação entre a maior DMV e a menor sobrevida.

1.2.6 Implicações terapêuticas

A angiogênese ganha importância particular com a instalação de estratégias de drogas com ação anti-angiogênica. A terapia anti-angiogênica vem sendo estudada há mais de 30 anos e grandes avanços estão implementados. Apesar de já ser utilizada na prática clínica, ainda necessita de definições terapêuticas uma vez que lida com um mecanismo de crescimento tumoral com múltiplas variáveis, como fatores de crescimento e sua regulação, microambiente como um todo, englobando células estromais, grau de hipóxia, acesso de medicamentos (FUKUMURA e JAIN 2007). Há etapas consecutivas que podem ser alvos de terapia, como: liberação de fatores pró-angiogênicos, liberação de enzimas proteolíticas, migração de células endoteliais, morfogênese e proliferação (MAIO et al. 2001).

A terapia antiangiogênica pode normalizar de forma transitória a vasculatura tumoral e seu microambiente aumentando a eficácia da quimio-radioterapia. Pode agir através da melhora da perfusão, oxigenação tecidual, normalização da pressão intersticial de fluidos, facilitando a distribuição dos quimioterápicos na área tumoral e sensibilizando o tecido tumoral à radiação (HUANG e CHEN 2008).

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Os sarcomas de partes moles são tratados como a mesma entidade, sendo que existem várias diferenças histopatológicas, biológicas, moleculares e de comportamento clínico. Ao longo da história vêm sendo percebidas várias evoluções destes diante do mesmo tratamento, muitas vezes melhor para um subtipo do que para outro. Na maioria das situações não se tem uma explicação eficaz para tais evoluções diversas.

Com a percepção médica do mau prognóstico dos pacientes com este diagnóstico, foram sendo testadas outras alternativas para tratamento. Ao invés de estas tentativas terem se desenvolvido de acordo com as diferenças histopatológicas de cada sarcoma, foram sendo observadas diferentes evoluções destes sarcomas quando tratados com o mesmo esquema de quimioterapia e/ou tratamento biológico, e somente a partir destas observações é que se notou que algum dia dever-se-ia estudar melhor cada subtipo.

Desta forma, surgiu a curiosidade e necessidade de voltar ao caminho que na verdade deveria ter sido o correto para se buscar algumas características destes subtipos de sarcoma que justificassem a aplicação de outros tratamentos.

Estudos fase I mostraram a diversidade desta evolução. Alguns Sarcomas respondiam muito bem a medicações com ação anti-angiogênicas, e outros não. Um exemplo é o bevacizumabe, citado na

Introdução. Ele foi estudado e foram sendo tentadas algumas opções de tratamento com associação deste agente com quimioterapia, melhor do que ele isoladamente.

Apesar disto, existem poucos estudos avaliando a angiogênese de subtipos de sarcomas, como por exemplo dos SS. A maior parte dos estudos está relacionada ao subtipo Angiossarcoma.

Assim, optamos por estudar o SS, sua angiogênese e linfangiogênese, sendo estas representadas pelo estudo da DMV, com base em dados clínicos obtidos de prontuários e dados histopatológicos obtidos a partir da análise das amostras tumorais do arquivo do Serviço de Anatomia Patológica do A.C. Camargo.

3 OBJETIVOS

- 1 Estudar a angiogênese expressa pela DMV sanguínea na série de SS tratados no Hospital A.C. Camargo, considerando que:
 - a importância da DMV como fator de mau prognóstico em sarcomas é pouca conhecida;
 - a literatura é escassa com 2 trabalhos contraditórios em SS;
- 2 Estudar a linfangiogênese expressa pela DMV linfática considerando:
 - a apresentação morfológica de tumor mesenquimal com diferenciação epitelial (tumor bifásico);
 - a maior frequência de metástases linfonodais em relação a outros sarcomas;
- 3 Analisar os fatores clínico-patológicos relevantes nos pacientes com SS de extremidades não-metastáticos e intactos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PACIENTES

A casuística do presente projeto foi obtida a partir dos arquivos (em parafina) do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital A.C. Camargo. Estes casos já se encontravam separados e confirmados por FISH e fizeram parte de outros estudos com sarcomas sinoviais. Parte desta casuística pretendida foi parcialmente descrita por nosso grupo (CORRÊA et al. 2005). Os dados dos pacientes foram colhidos dos prontuários, a maior parte microfilmados, sendo revistos em sua integridade, até abril de 2010. Os primeiros pacientes foram de 1973, com pacientes que tiveram início ao tratamento até a finalização de coleta dos dados em abril de 2010. Porém a mesma chance de seguimento foi dada aos pacientes para a análise estatística, no mínimo, 5 anos, para o cálculo das curvas de sobrevida.

Foram critérios de elegibilidade para o estudo:

- Confirmação anátomopatológica de SS e bloco de parafina com material suficiente para o estudo;
- Localização em extremidades, com a exclusão dos casos de SS de tronco, cabeça e pescoço ou não especificados;
- Todos os pacientes tratados e acompanhados no Hospital do Câncer A.C Camargo;

- Pacientes submetidos à neoadjuvância sem que tivessem tecido de biópsia prévia disponível para estudo.

Foram excluídos todos os casos que não preencheram os critérios de inclusão e que se apresentaram com doença metastática ao diagnóstico.

4.2 IMUNOISTOQUÍMICA

As reações de imunoistoquímica foram realizadas em novos cortes do bloco mais representativo do tumor e que tivesse tecido estromal adjacente.

Os seguintes anticorpos foram utilizados

- Anti-PECAM1 (ou anti-CD31): para marcação do CD31 - células endoteliais/ pan-endotelial;
- D2-40: para a marcação da Podoplanina - endotélio linfático;

A técnica utilizada foi a padrão no laboratório de imunoistoquímica do Setor de Patologia do Hospital A.C. Camargo, de forma automatizada com as máquinas de imunoistoquímica da Dako. Resumidamente, os cortes histológicos foram desparafinizados e preparados por passagens sucessivas por xilol e etanol e submetidos à recuperação antigênica pelo calor pelo sistema Dako Link. A seguir, foi feito o bloqueio da peroxidase endógena com solução de peróxido de hidrogênio a 3% (água oxigenada 10 vol.), com três trocas de 5 minutos cada. Após o bloqueio da peroxidase, também foi realizado o bloqueio de proteína (DAKO® Protein Block Serum-Free) por 20 minutos. A seguir, as lâminas foram incubadas com os anticorpos primários. Após incubação, as lâminas foram lavadas em tampão PBS com três trocas

de 5 minutos cada, sendo incubadas, posteriormente, com Advance Polymer (Dako), por 30 minutos, passando em seguida por três lavagens de 5 minutos em PBS. As lâminas foram reveladas com solução de Diaminobenzidina (DAB, DAKO®) e contra coradas com hematoxilina de Harris (Merck®). As lâminas foram montadas no montador automático Prism (Sakura Inc, USA).

Para todos os anticorpos testados foram realizadas lâminas controle da reação. Como controle positivo foi utilizado um tecido sabidamente com expressão da proteína a ser pesquisada. Foram realizadas duas lâminas de controle negativo. A primeira delas foi feita com a retirada do anticorpo primário e substituição por soro bovino fetal. O segundo controle negativo foi realizado com a retirada da reação do anticorpo secundário e substituição por soro contendo imunoglobulina do mesmo idiótipo do anticorpo primário mas da mesma espécie do anticorpo primário. Além disso, o próprio tumor funciona como controle negativo pela diferenciação de áreas sem vasos que não devem ser coradas com marcadores de células endoteliais.

4.3 MENSURAÇÃO DA DENSIDADE MICROVASCULAR

A DMV foi medida no compartimento tumoral, não sendo realizada a medida na região Peri-tumoral, de acordo com as explicações fornecidas pelas diferenças entre os carcinomas e sarcomas. Para tal foi utilizado o aparelho Scancope (APERIO. Califórnia, CA, EUA). Este aparelho escaneia e digitaliza as imagens para posterior análise. Pode ser usado para vários

tipos de análise histológica (núcleo, membrana e outros). Inicialmente nosso aparelho não estava configurado para leitura e análise de densidade microvascular, sendo que foi realizada a configuração de acordo com o programa patenteado pela empresa e treinamento adequado da equipe para haver a uniformização da conduta.

Nesta avaliação foram medidas a DMV assinalando-se área intratumoral que representasse adequadamente o tumor. A área marcada foi avaliada pelo programa computacional “microvascular density” de propriedade da Aperio. Não houve alteração do padrão do algoritmo, utilizando-se o padrão original do programa. Após a seleção da área o aparelho identifica e cora os vasos, dando diversas variáveis, baseadas no número/ cor/ lúmen/ perímetro/ forma dos vasos, formando uma tabela. Após os cálculos finais resulta na sumarização das seguintes variáveis: densidade microvascular, área vascular média, área vascular mediana, desvio padrão da área vascular, perímetro vascular médio, perímetro vascular mediano, desvio padrão do perímetro vascular.

4.4 VARIÁVEIS TESTADAS EM RELAÇÃO À DMV E ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis que foram testadas em relação à DMV incluíram a idade de apresentação do tumor (maior ou menor que 25 anos), gênero (masculino e feminino), localização na extremidade (proximal ou distal – sendo estes os tumores situados a partir do cotovelo ou joelho), tamanho do tumor (menor

ou maior que 5 cm), comprometimento linfonodal (presente ou ausente) e subtipo histológico (monofásico, bifásico ou indiferenciado). Para a análise estatística foram utilizados os testes de qui-quadrado bi-caudal e exato de Fischer para verificar a associação entre as variáveis de interesse, utilizando-se da categorização das mesmas.

A DMV foi também testada em relação ao prognóstico calculado pelo tempo de sobrevida livre de recidiva e sobrevida global. Para análise do prognóstico, o tempo de sobrevida livre de recidiva foi calculado como o período entre o início do tratamento e a data da ocorrência da recorrência tumoral local e/ou à distância a partir da admissão na instituição ou a data do último seguimento (para os casos que não apresentaram recorrências). O tempo de sobrevida livre de doença foi calculado como o período entre o início do tratamento e a data da ocorrência da primeira recidiva detectada por exame de imagem ou a data do último seguimento (para os casos que não apresentaram metástases). A sobrevida estimada foi calculada pelo método de Kaplan-Meier e a comparação das curvas através do teste de log-rank. O modelo de regressão de Cox foi utilizado para o cálculo das “hazard ratio” para recidiva e óbito por câncer. A técnica “stepwise forward” foi utilizada para construção do modelo multivariado. Nos modelos multivariados seriam utilizadas de forma selecionada as variáveis que atingiram significância estatística com $p < 0,1$ na análise univariada, porém foi feita uma análise não-exploratória, ou seja, procurando avaliar o CD31 e o D2-40 como possíveis fatores prognósticos, independentemente dos valores de p encontrados de análise univariada.

Foi utilizado o seguinte critério de censura para curva de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier ou para utilização da regressão de Cox:

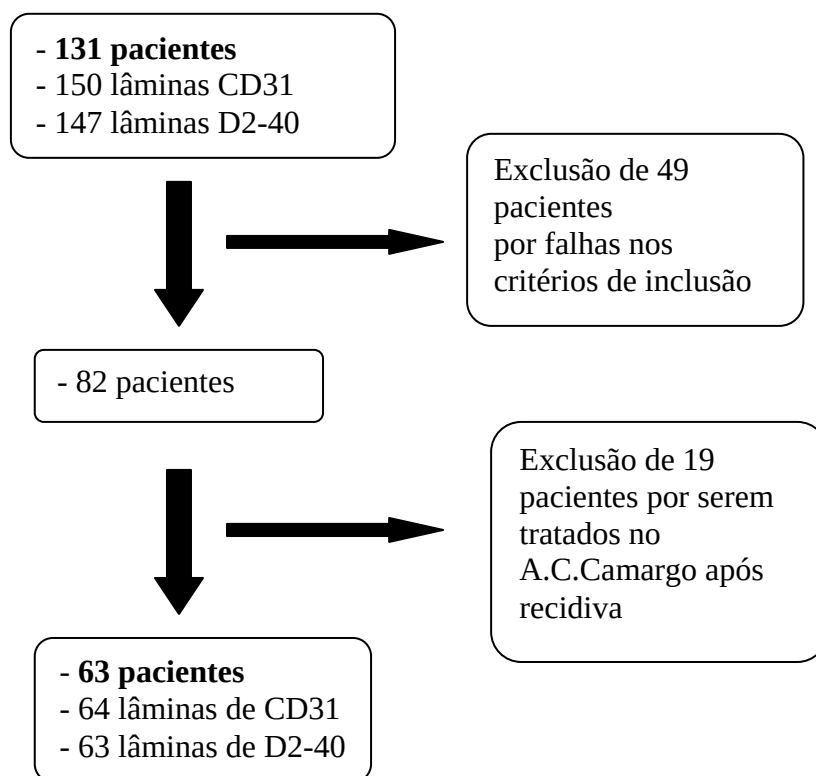
- no cálculo de sobrevida livre de recidiva - pacientes sem recorrência da doença até a data do último seguimento.

Pacientes que não compareceram ao hospital, em um período maior do que 2 vezes o período estipulado pelo médico para seu retorno, foram considerados como perdidos de seguimento na data da última informação. Estes pacientes contribuíram para curva de sobrevida até esta data, sendo então classificados como sob censura.

A significância estatística está determinada para um valor de $p < 0,05$.

4.5 CASUÍSTICA

A casuística era composta de 131 pacientes sendo que houve necessidade de excluir 68 pacientes de acordo com o objetivo do estudo, restando 63 pacientes que fazem parte dos resultados e da análise estatística. A seguir está demonstrado de forma esquemática como se chegou ao número de 63 pacientes. Posteriormente, estão as explicações no texto para isso.



Foram estudados 131 pacientes com diagnóstico confirmado e revisado de Sarcoma Sinovial. Anteriormente à exclusão dos pacientes houve necessidade de conhecer todos a fim de diferenciá-los. A seguir serão descritos os dados mais relevantes obtidos dos prontuários e contido no protocolo de coleta de dados (Apêndice 1) antes da exclusão dos pacientes conforme o objetivo do projeto.

Os pacientes foram estadiados conforme o TNMG – Anexo 2. Foram incluídos apenas pacientes com EC II a III.

Dentre os sintomas iniciais estiveram tumoração (99%), dor (53%), perda de peso (12%), ulceração (7%) e linfonodomegalia locorregional (7%). A dor foi o primeiro sintoma em 29% dos pacientes. A ulceração do tumor primário ocorreu durante a evolução da doença em 12% dos casos.

Dezenove pacientes (14,5%) se referiram a algum trauma local como fator desencadeante da evolução da doença.

Em relação aos antecedentes pessoais, foram identificados pelo menos 20 diferentes antecedentes clínicos: cardiopatia, hipertensão arterial sistêmica, pneumopatias, asma, síndrome dispéptica, diabetes melitus, lipoma, trauma prévio/ atropelamento, hepatites B e C, tumor do glomus da jugular, prolactinoma, obesidade mórbida, carcinoma basocelular, bócio tireoidiano, plaquetopenia e bicitopenia constitucionais, prolapso de válvula mitral, nefrolitíase, neurocisticercose, infecção pelo HPV, tuberculose.

Dentre os antecedentes cirúrgicos estiveram: Amputação prévia ou Cirurgia suspeita de ter sido sarcoma/ tumor de partes moles prévio e outras cirurgias não associadas, tais como acidente por arma branca e arma de fogo, amigdalectomia, ressecção transuretral prostática, ressecção de carcinoma de colo uterino, colecistectomia, ressecção de astrocitoma, cirurgia de varizes, histerectomia por mioma, ooforectomia por cistoadenocarcinoma mucinoso de ovário, herniorrafia inguinal.

Dentre os antecedentes familiares colhidos estavam câncer prévio das seguintes origens, cabeça e pescoço, estômago, pele, músculo/ossos, fígado, mama, hematológico (leucemia e mieloma múltiplo), colo uterino, útero, próstata, intestino, úvea/ íris, reto, esôfago, sítio primário desconhecido; e doenças crônicas e outras comorbidades tais como tromboembolismo pulmonar, doença vascular encefálica, insuficiência renal crônica, diabetes melitus, insuficiência cardíaca, bronquite, cirrose,

cardiopatias congênitas, gastrite, hipertensão arterial sistêmica, doença reumatológica, nefrolitíase, hiperplasia prostática benigna.

Dentre os hábitos de vida, 14% dos pacientes relataram tabagismo e 7% etilismo.

Os locais do tumor primário foram: membros superiores – braço, cotovelos, antebraço, mão (metacarpos, falanges); membros inferiores – coxas, joelhos, pernas, pés (metatarsos, falanges); tumores primários que não de extremidades, presentes em 14 pacientes nos sítios seguintes: ombros, hemitórax, fossa axilar/ retropeitoral, fossa ilíaca/reg inguinal, região glútea, região cervical, região de coluna – tóraco-lombar, hipofaringe.

Em relação ao intervalo entre clínica e início do tratamento adequado, houve casos que levaram até 17 anos para o tratamento adequado.

Sobre a microscopia, observamos 30 diferentes microscopias iniciais identificadas vindas de outros serviços, sendo importante lembrar que anteriormente não havia a diferenciação do sarcoma sinovial por técnicas imunoistoquímicas. Há casos que se confundem com tumor da bainha do nervo periférico, schwannoma, tumor fibroso solitário, hemangiopericitoma, fibrossarcoma e mais raramente, tumor de células redondas azuis, que são diagnósticos diferenciais.

A recidiva local ocorreu em 46% dos pacientes. A recidiva linfonodal ocorreu em 19% dos pacientes. O tipo de linfonodo acometido foi diferenciado em: ipsilateral ou à distância. O tipo de acometimento mais freqüente foi o ipsilateral, presente em 12% dos pacientes, seguido do linfonodo à distância, em 10% dos pacientes.

Metástases à distância ocorreram em 56% dos pacientes. O sítio mais comum de metástase foi pulmão, em 51% dos pacientes, seguido de pleura (17%), ossos (14,5%), SNC (3,8%), tecido paravertebral (2%), pericárdio (1,5%), subcutâneo (1,5%), fígado (menos de 1%). Vários pacientes apresentaram mais de um sítio de metástase – 32%.

Múltiplos tratamentos para recidivas foram feitos com o intuito de aumentar a sobrevida. O número de cirurgias a que o mesmo paciente se submeteu variou de 1 a 16, com número de esquemas de quimioterapia paliativa variando de 1 a 5 com duração de 1 a 57 meses. Da mesma forma que houve um grande número de tratamentos, puderam ser observadas várias complicações relacionadas aos vários tratamentos. Complicações estas presentes em 51 pacientes e descritas abaixo.

Os tratamentos mais freqüentes foram toracotomia, toracocentese, amputação, quimioterapia e radioterapia. Dificilmente o paciente foi tratado com cuidados paliativos exclusivos como primeira opção, uma vez que na maioria dos casos o paciente apresentava boa performance clínica para tratamento fosse ele com cirurgia paliativa quando possível, fosse ele com quimioterapia paliativa.

Em relação às complicações relacionadas ao tratamento, foram identificadas complicações cirúrgicas, quimioterápicas, radioterápicas e clínicas. Dentre as complicações cirúrgicas estavam: infecção local, deiscência, necrose de retalho, rotura de cápsula tumoral, alterações fibróticas e cicatriciais associadas ao pós-operatório, dor fantasma, seqüela de acometimento nervoso cirúrgico como incontinência urinária.

Dentre as complicações quimioterápicas estavam: infecção (decorrente de alteração na imunidade), neutropenia febril, toxicidades grau 4 (proibitivas de manter quimioterapia), cistite hemorrágica, insuficiência renal, hipocalcemia. Dentre as complicações radioterápicas estavam: radiodermite, anquilose, osteopenia, linfedema. Dentre as complicações clínicas estavam: hemorragia, caquexia, ulceração do tumor com infecção secundária, linfedema, trombose venosa profunda, compressão medular, hipertensão intracraniana, hemoptise, fratura patológica, dor, febre tumoral, distúrbio de ansiedade e depressão, ascite, diabetes relacionado ao uso crônico de corticóide, insuficiência respiratória, insuficiência renal, atelectasia secundária à decúbito prolongado, necrose de cabeça de fêmur, fístula, erisipela.

Dentre as causas de óbito identificadas, estão: insuficiência respiratória (por acometimento secundário do pulmão ou por invasão tumoral vertebral e medular), caquexia tumoral, hipertensão intracraniana, choque hipovolêmico por sangramento tumoral ou provocado pelo tumor, abdome agudo obstrutivo, insuficiência hepática, insuficiência de múltiplos órgãos e sistemas.

Uma grande variedade de condutas terapêuticas foi tomada ao longo dos anos. Abaixo estão descritos os principais tratamentos identificados para os pacientes ao longo destas quatro últimas décadas.

Em relação à quimioterapia transoperatória, foram usados os seguintes quimioterápicos: doxorrubicina, tiotepa, doxorrubicina combinada ao tiotepa.

Como quimioterapia neoadjuvante, foram usados 18 diferentes esquemas: 5-fluorouracil, actinomicina, doxorubicina, cisplatina, ifosfamida, VAC (Vincristina – Doxorubicina – Ciclofosfamida), 5-fluorouracil combinado à tiotepa e ciclofosfamida, dacarbazina combinada à doxorubicina, cisplatina combinada à doxorubicina, ifosfamida combinada à doxorubicina, alternância entre VAC (Vincristina – Doxorubicina – Ciclofosfamida) e ifosfamida - Actinomicina D – Vincristina – Etoposídeo, VIP (Etoposide – Ifosfamida – Cisplatina), epirrubicina combinada à ifosfamida e etoposide.

Em relação à quimioterapia adjuvante e paliativa foram usados os seguintes quimioterápicos isolados: doxorubicina, ifosfamida, 5-fluorouracil, actinomicina-D, etoposide, trabectedina, talidomida, gencitabina, imatinibe, docetaxel, mitoxantrona, dacarbazina, ciclofosfamida. Entre as combinações estão as seguintes:

- Doxorubicina, 5-fluorouracil, metotrexate, vincristina
- Ciclofosfamida, 5-fluorouracil, metotrexate, vincristina
- Doxorubicina, 5-fluorouracil, ciclofosfamida, vincristina
- Doxorubicina, 5-fluorouracil, vincristina
- Ciclofosfamida, doxorubicina, actinomicina-D, vincristina
- Dacarbazina e doxorubicina
- Cisplatina, dacarbazina e doxorubicina
- VIP (Etoposide – Ifosfamida – Cisplatina)
- VAC (Vincristina – Doxorubicina – Ciclofosfamida)
- ICE (Ifosfamida- Carboplatina – Etoposide)
- Cisplatina e doxorubicina

- Cisplatina e dacarbazina
- Cisplatina e etoposide
- Cisplatina e Ifosfamida
- Cisplatina, ciclofosfamida e doxorrubicina
- Ifosfamida e doxorrubicina
- Ifosfamida e epirubicina
- Ifosfamida e carboplatina
- Ifosfamida e etoposide
- Ifosfamida e dacarbazina
- Ifosfamida, doxorrubicina e dacarbazina
- Ciclofosfamida e topotecano
- Ciclofosfamida e doxorrubicina
- Ciclofosfamida, actinomicina-D e bleomicina
- Alternância entre bleomicina – ciclofosfamida – actinomicina-D e cisplatina - etoposide
- Alternância entre doxorrubicina – cisplatina e ifosfamida – dacarbazina
- Alternância entre VAC (Vincristina – Doxorrubicina – Ciclofosfamida) e Ifosfamida-Actinomicina D – Vincristina – Etoposide
- Ciclofosfamida, topotecano, gencitabina
- Mitomicina C e mitoxantrona
- Gencitabina e docetaxel

Houve um protocolo, usado no final da década de 70 e início da década de 80, descrito no Apêndice 2, no Serviço do A.C. Camargo, que passou a ser seguido para uniformização da conduta. E outro protocolo usado a partir da década de 90 descrito também no Apêndice 2.

A ifosfamida foi usada em 12 pacientes como parte do esquema de quimioterapia neoadjuvante, em 14 pacientes como adjuvância e em 38 pacientes como quimioterapia paliativa. Foi reusada em 11 pacientes.

O seguimento foi realizado de acordo com o exposto na introdução e no Apêndice 2. Nos primeiros 2 anos o seguimento foi trimestral com anamnese, exame físico, sendo que as avaliações de tórax de locorregionais com exames de imagem foram realizadas a cada 6 meses. Tórax dentro de 6 meses e locorregional dentro de 3 meses. A partir do 3º ao 5º ano as avaliações foram trimestrais da mesma forma, com exame físico e de imagem. Entre o 6º e o 10º ano mantida avaliação anual local e à distância. A partir do 10º ano as alterações locorregionais orientaram a realização de exames de imagem mas a avaliação do tórax foi mantida anualmente.

4.5.1 Dados da Avaliação dos Marcadores CD31 e D2-40

As lâminas coradas para CD31 e D2-40 foram escaneadas e analisadas no aparelho APERIO (Califórnia, CA, EUA) através do programa específico para análise da densidade microvascular. Conforme explicações descritas acima, estão ilustradas imagens obtidas do aparelho durante momentos da análise nas Figuras 2 a 6: Figura 2 ilustra uma imagem de marcação por CD31 (aumento de 14,6x); Figura 3, imagem de marcação por CD31 (aumento de 9,8x) com seleção de área a ser analisada para DMV (em amarelo); Figura 4, imagem de marcação por CD31 7,2x após seleção e análise de DMV pelo Aparelho APERIO; Figura 5, imagem de marcação por D2-40 com aumento de 3,4x com seleção de área a ser analisada; Figura 6 - imagem de marcação por D2-40 com aumento de 1,7x do caso controle positivo.

As análises de CD105 e VEGFR3 foram excluídas.

Os 131 pacientes tiveram blocos tumorais armazenados, sendo que 21 pacientes apresentavam mais de 1 bloco armazenado. Alguns casos apresentavam ausência de material para ambas as análises – CD31 e D2-40.

Tabela 1 – Análise da DMV planejada.

Análise Planejada	CD31	D2-40
Pacientes com bloco único	110	110
Pacientes com 2 blocos	18	18
Pacientes com 3 blocos	3	3
Total de pacientes	131	131
Lâminas de pacientes com bloco único (110)	110	110
Lâminas de pacientes com 2 blocos (18)	36	36
Lâminas de pacientes com 3 blocos (3)	9	9
Controles positivos	2	2
Controles negativos	2	2
Total de análises	159	159

Tabela 2 – Análise da DMV efetuada.

Análise Efetuada	CD31	D2-40
Lâminas de pacientes com bloco único	105	104
Lâminas de pacientes com 2 blocos	33	32
Lâminas de pacientes com 3 blocos	8	7
Controles positivos	2	2
Controles negativos	2	2
Total de análises	150	147

As variáveis obtidas foram:

- densidade microvascular (DMV)
- área vascular média
- área vascular mediana

- desvio padrão da área vascular
- perímetro vascular médio
- perímetro vascular mediano
- desvio padrão do perímetro vascular

Porém, para correlação com dados clínicos e de sobrevida, foi usada a DMV.

Respeitando os objetivos e critérios de exclusão do projeto, para análise estatística foi usado o anátomo-patológico da biópsia inicial - antes da neoadjuvância - para os pacientes que fizeram a neoadjuvância, e do tratamento cirúrgico definitivo para os pacientes que não receberam neoadjuvância.

Para os pacientes que tinham mais de 1 bloco da mesma situação clínica – antes do início de qualquer tratamento, o que ocorreu somente para 1 paciente incluso na análise de sobrevida, foi feita uma média dos valores.

As análises estatísticas para as marcações com CD31 e D2-40 foram feitas de duas formas:

- 1) análise com a variável numérica (pura), comparando as médias/medianas conforme as diversas variáveis;
- 2) análise com a variável categórica, tendo sido realizada a definição de três subgrupos a partir dos percentis (< 25 , P25-P50, $> P75$), posteriormente comparando estes percentis com as diversas variáveis.

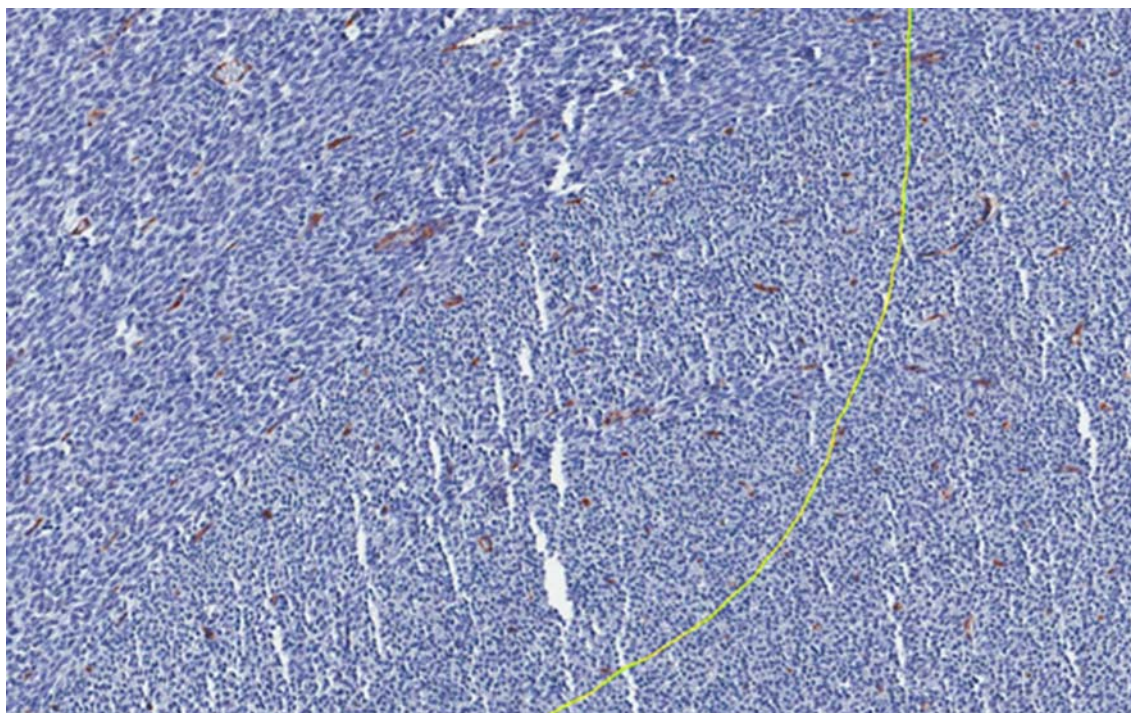


Figura 2 - Imagem de marcação por CD31 (aumento de 14,6x).

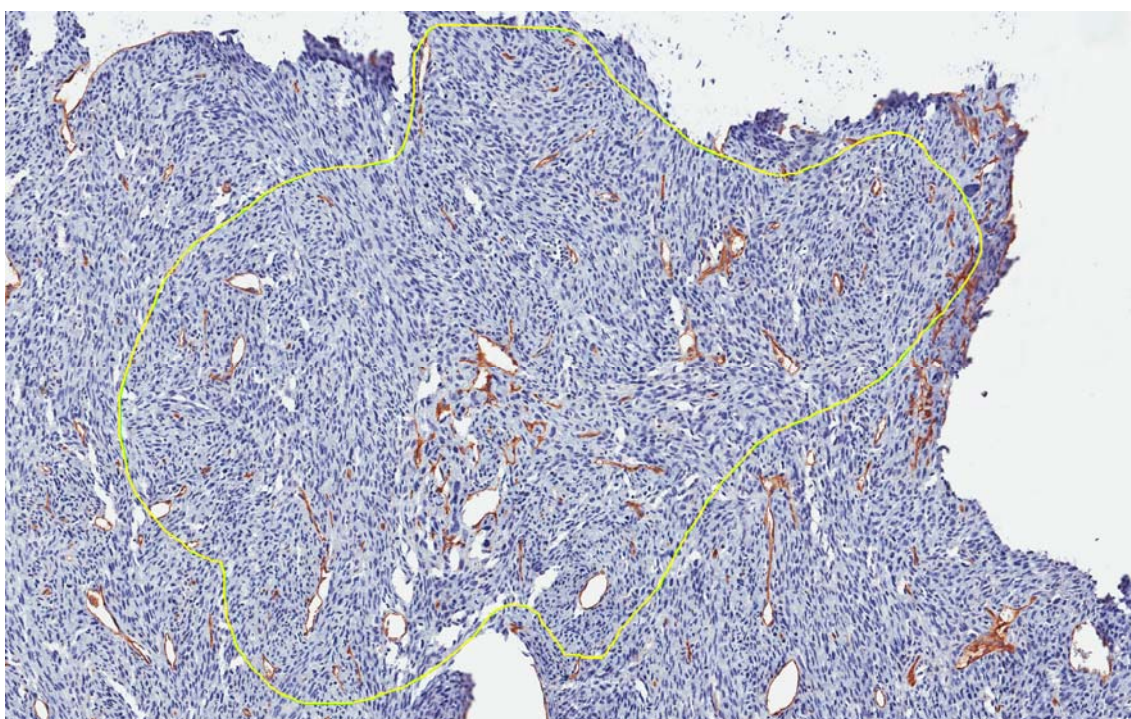


Figura 3 - Imagem de marcação por CD31 (aumento de 9,8x) com seleção de área a ser analisada para DMV (em amarelo).

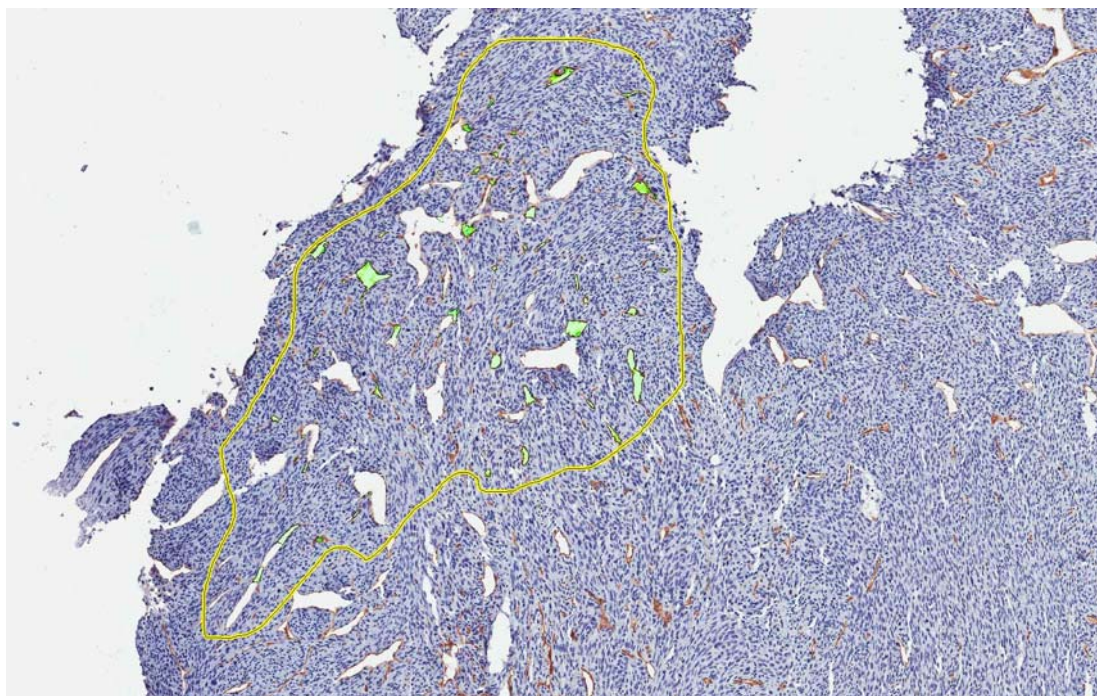


Figura 4 – Imagem de marcação por CD31 7,2x após seleção e análise de DMV pelo Aparelho APERIO.

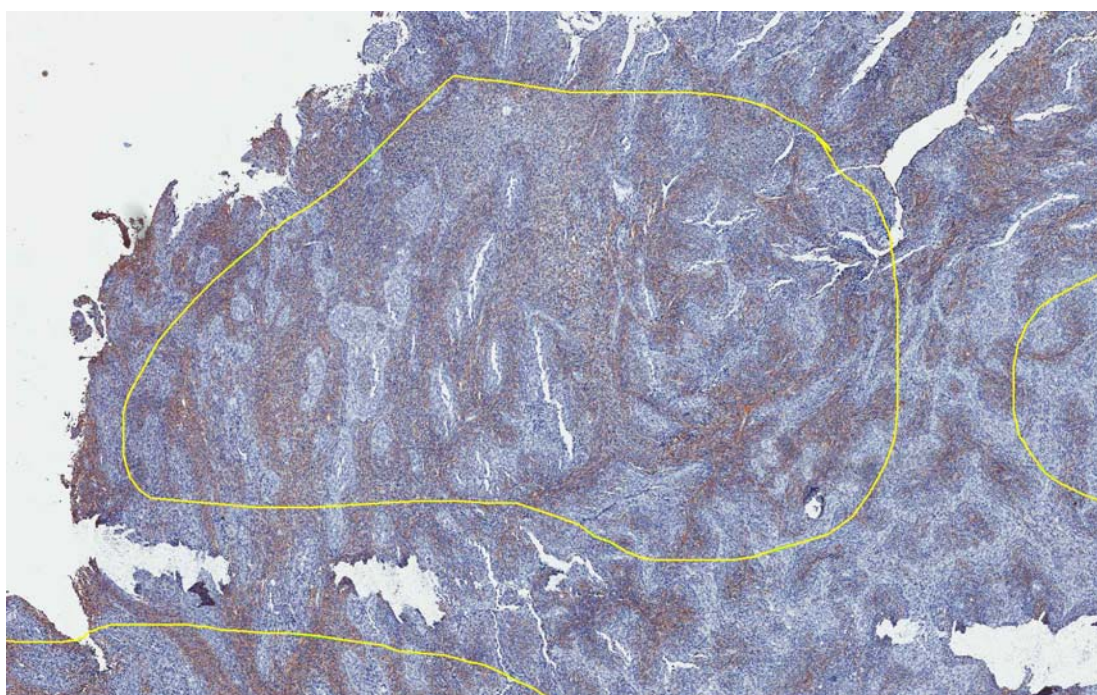


Figura 5 – Imagem de marcação por D2-40 com aumento de 3,4x com seleção de área a ser analisada.

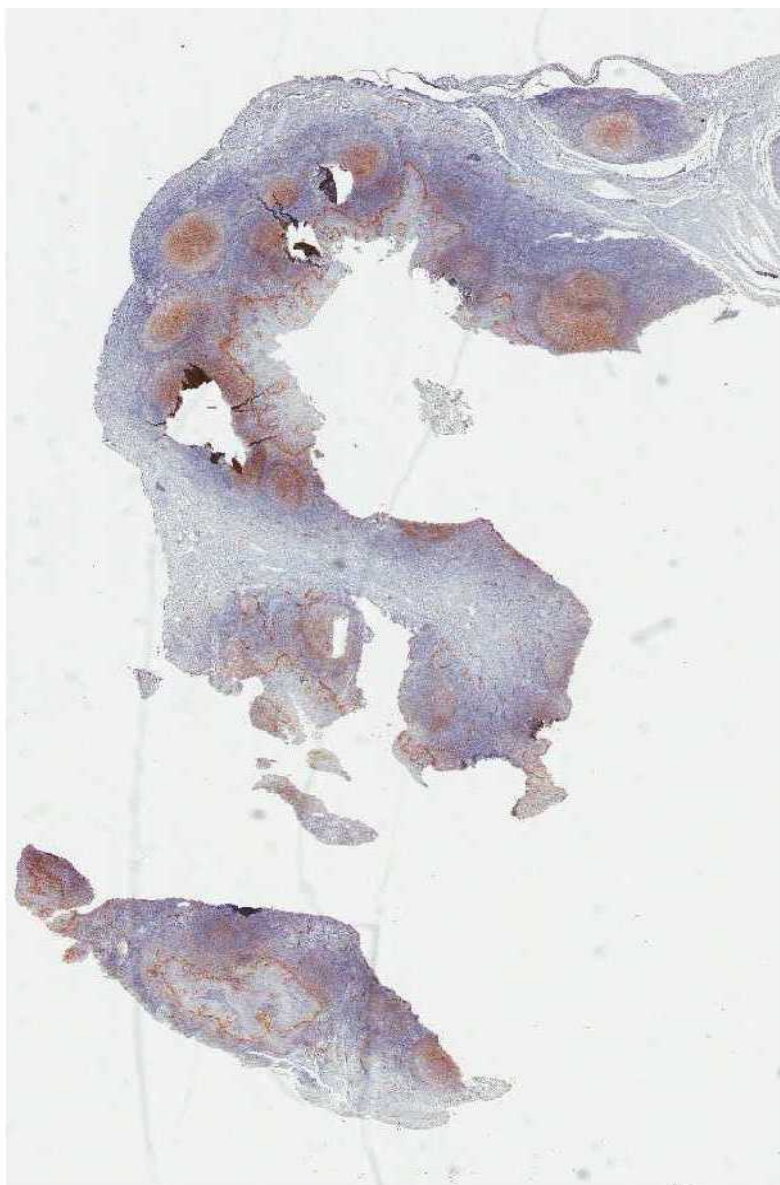


Figura 6 - Imagem de marcação por D2-40 com aumento de 1,7x do caso controle positivo.

4.5.2 Exclusão de Pacientes Conforme o Projeto

Foram estudados 131 pacientes, sendo que 49 foram excluídos de acordo com os critérios de exclusão do projeto.

Apesar de haver a tentativa de uniformização, há grande variedade de condutas antes da chegada do paciente, condutas estas geralmente

inapropriadas para sarcomas de partes moles. Condutas errôneas incluem principalmente 2 grupos de pacientes: 1) aqueles que foram submetidos à ressecção de massas tumorais cujas peças não foram enviadas para estudo anátomo-patológico e que posteriormente aparecem com possível recidiva de tumor; 2) aqueles que foram submetidos a ressecções parciais ou biópsias incisionais e que não foram prontamente tratados da forma adequada e que, muitas vezes, apresentaram progressão da doença quando chegaram neste Serviço para conduta oncológica. Estes pacientes não puderam ser incluídos na análise estatística.

A falta de uniformização da conduta e a variedade de opções de tratamento para o SS dificultaram a análise dos dados. Houve a necessidade de rever todos os dados para buscar um agrupamento de forma a separar os tratamentos e condutas principais.

Além disso, esta heterogeneidade levou à necessidade de subdivisão de duas diferentes populações para a análise estatística. Uma que representa a análise de tumor primário e outra que representa a análise da recorrência para maior confiabilidade dos dados.

A Tabela 3 apresenta os critérios de exclusão de forma resumida sendo que no Apêndice 3 há uma tabela mais detalhada pois há pacientes que apresentam mais de um critério de exclusão.

Tabela 3 – Critérios principais de exclusão de pacientes.

Critérios de exclusão	Número de pacientes	Total de pacientes excluídos
Tumor não de extremidades/ Centrais	14	49
Metástases à distância ao diagnóstico	9	
Interrupção durante tratamento	8	
Tratamento curto no AC depois em outro serviço	7	
Abandono pós-tratamento	4	
Apenas biópsia no AC com tratamento em outro serviço	5	
Apenas revisão AP	2	

4.5.3 Análise Descritiva dos Dados para Análise Estatística

Após a exclusão de 49 pacientes conforme descrito acima, restaram 82 pacientes, sendo que estes puderam ser subdivididos em 3 grupos:

Grupo A) 27 pacientes tratados no A.C.Camargo desde a biópsia inicial;

Grupo B) 36 pacientes encaminhados ao A.C.Camargo após a biópsia inicial em outro serviço e;

Grupo C) 19 pacientes tratados no AC após a recidiva.

Para cálculo de SG, foram compilados os dados dos 2 primeiros grupos de pacientes (A e B) e descartando aqueles que foram tratados no serviço após a recidiva (grupo C) pela falta de conhecimento amplo do ocorrido previamente à chegada no A.C.Camargo e pelo objetivo do estudo, que era avaliar pacientes com tumores intactos não-metastáticos.

Desta forma restaram 63 pacientes para análise do tumor primário e da sobrevida livre de progressão (SLP) e sobrevida global (SG). São estes pacientes que foram incluídos na análise dos dados e resultados.

5 RESULTADOS

Foram analisados 63 pacientes tratados e seguidos no A.C.Camargo dentre 1973 e abril de 2010, data do término da coleta dos dados clínicos dos prontuários, portanto dados de sobrevida. Quanto ao seguimento, ele variou de 3,98 a 397,83 meses (média=90,74, desvio-padrão=80,37; mediana=70,23). A idade média de diagnóstico foi 32,1 anos (4 a 75 anos), com mediana de 33 anos. Em relação ao gênero, 25 pacientes (39,7%) eram do sexo feminino e 38 pacientes (60,3%) eram do sexo masculino.

Quanto à localização do tumor primário, 30 pacientes (47,6%) tinham tumores dos membros superiores e 33 pacientes (52,3%), membros inferiores. Tumores localizados distalmente a partir do cotovelo ou joelho representavam 77,8% dos casos.

Quanto ao estadiamento clínico-patológico inicial, 66,7% dos casos eram T2, ou seja, superior a 5 cm; e apenas 9,5% eram N1, ou seja, com metástases linfonodais confirmadas por anátomo-patológico.

Em relação à microscopia, 28,6% dos casos eram indiferenciados/pobremente diferenciados; 42,9% eram monofásicos e 28,6% eram bifásicos.

Tratamento com radioterapia neoadjuvante foi realizado em 12,6% dos pacientes, quimioterapia neoadjuvante foi realizada em 12,6% dos pacientes e tratamento combinado (quimiorradioterapia) foi realizado em 25,3% dos pacientes. Dentre os 8 pacientes que receberam neoadjuvância

com quimioterapia apenas, 2 pacientes (25%), receberam ifosfamida. quimioterapia transoperatória foi realizada em 11,1% dos pacientes.

Tratamento com quimioterapia adjuvante foi realizada em 16 pacientes (25,3%), sendo que em 9 destes, ou seja, 56,2%, continha ifosfamida no esquema. Radioterapia adjuvante foi realizada em apenas 21 pacientes (33,3%). Tratamento combinado – quimiorradioterapia – foi realizado em 6,3%.

Em relação ao tratamento cirúrgico inicial, 48 pacientes (76,2%) foram submetidos à ressecção ampla após biópsia inicial; 11 pacientes (17,5%) foram submetidos à amputação após biópsia inicial e 4 pacientes (6,3%) foram submetidos apenas à ressecção sem margens, ou seja, sem complementação de uma ampliação de margens. Estes 4 pacientes foram encaminhados de outros serviços após terem a biópsia inicial realizada fora.

Para 3 deles foi realizada radioterapia adjuvante. Para 1 paciente houve atraso no tratamento posterior à biópsia inicial por outras intercorrências de saúde – colelitíase aguda e carcinoma de colo uterino.

Em relação às margens cirúrgicas, 53 pacientes (84,1%) apresentaram margens livres; 5 pacientes (7,9%) apresentaram margens exíguas; 4 pacientes (6,3%) apresentaram margens marginais ao feixe vâsculo-nervoso e 1 paciente (1,6%) apresentou margem ignorada.

Em relação ao desfecho, 39 pacientes (61,9%) apresentaram recidiva da doença e 31 pacientes (49,2%) foram à óbito. Há 4 pacientes vivos com doença.

Dentre os tipos de primeira recidiva, 15 pacientes apresentaram recidiva local, 1 paciente apresentou recidiva linfonodal, 8 pacientes apresentaram recidiva locorregional, 12 pacientes apresentaram recidiva à distância e 3 pacientes apresentaram simultaneamente local e à distância.

A densidade microvascular (DMV) foi avaliada através de médias e medianas e através de percentis, distribuídos da seguinte forma: inferior ao percentil 25, entre o percentil 25 e 75 e superior ao percentil 75. Para facilitar a visualização dos valores da DMV, foi exposta a potência de 10^5 , como pode ser vista a partir da Tabela 4.

Tabela 4 – Valor mínimo e máximo, percentis 25, 50 e 75 das variáveis associadas à marcação pelo CD31 para os tumores primários de pacientes que foram tratados no A.C. Camargo.

	DMV CD31	DMV CD31 x 10^5	CD31 MVA	CD31 MeVA	CD31 MVP	CD31 MeVP
Mínimo	0	0	55,667	28,000	36,111	25,000
Máximo	0,0001370	13,70	466,550	378,000	110,000	110,000
P25	0,000014000	1,4000	126,93475	50,75000	52,88285	36,00000
P50	0,000029000	2,9000	167,16100	59,50000	62,66030	41,00000
P75	0,000063250	6,3250	227,27700	79,25000	74,27145	46,25000

Tabela 5 – Valor mínimo e máximo, percentis 25, 50 e 75 das variáveis associadas à marcação pelo D2-40 para os tumores primários de pacientes que foram tratados no A.C. Camargo.

	DMV D2-40	DMV D2-40 x 10^5	D2-40 MVA	D2-40 MeVA	D2-40 MVP	D2-40 MeVP
Mínimo	0,0000000	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000
Máximo	0,0001765	17,65	877,500	1455,000	274,500	424,000
P25	0,000001118	0,1118	136,49050	55,75000	60,85933	38,00000
P50	0,000008226	0,8226	199,30200	65,50000	68,24070	42,50000
P75	0,000031862	3,1862	259,74050	82,50000	81,58883	50,00000

Tabela 6 – Valores dos intervalos dos percentis < 25, 25-75 e > 75 da DMV avaliada através do CD31 e da frequência de pacientes em cada grupo para os tumores primários de pacientes que foram tratados no A.C. Camargo.

Percentil	Valor percentil	Frequência	Porcentagem válida
P<25	<1,4	14	22,6
P25-75	1,4-6,3	33	53,2
>P75	>6,3	15	24,2

Tabela 7 – Valores dos intervalos dos percentis < 25, 25-75 e > 75 da DMV avaliada através do D2-40 e da frequência de pacientes em cada grupo para os tumores primários de pacientes que foram tratados no A.C. Camargo.

Percentil	Valor percentil	Frequência	Porcentagem válida
P<25	<0,1	13	21
P25-75	0,1-3,2	34	54,8
>P75	>3,2	15	24,2

5.1 TAXA DE SOBREVIDA

Para a análise de SG foram considerados os pacientes tratados desde o início no A.C. Camargo até 2005. Isso porque é necessário que todos os pacientes, em teoria, tenham a mesma chance de seguimento em 5 anos que os demais e, também é necessário o conhecimento do paciente desde o primeiro tratamento. Foi calculada para 57 pacientes. A taxa de sobrevida (TS) foi 67,9%. A média de SG foi de 48,2 meses. A curva de sobrevida em 5 anos para todos os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo está ilustrada na Figura 7. Na Tabela 8 está a TS e qui-quadrado para cada variável.

Tabela 8 – Taxas de sobrevida em 5 anos e qui-quadrado para as variáveis de pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

Variável	Categorias	N	Taxa de sobrevida em 5 anos %	P
Sexo	feminino	23	82,6	0,059
	masculino	33	57,6	
Idade	até 25 anos	23	78,3	0,160
	> 25 anos	33	60,6	
Proximidade ao tronco	proximal	13	84,6	0,193
	distal	43	62,8	
Localização	superior	27	59,3	0,228
	inferior	28	75,0	
Tamanho	T1	16	93,8	0,013
	T2	38	57,9	
Comprometimento linfonodal	N0	48	72,9	0,015
	N1	6	33,3	
Tipo de tratamento cirúrgico	ressecção sem margens	4	75,0	0,730
	ressecção ampla	42	69,0	
	amputação	10	60,0	
	livre	49	67,3	
Margens	exígua/ marginal/ positiva	6	83,3	0,395
	indiferenciado	16	50,0	
Histopatologia	monofásico	25	84,0	0,042
	bifásico	15	60,0	
RT neoadjuvante	não	34	73,5	0,289
	sim	22	59,1	
QT neoadjuvante	não	37	75,7	0,090
	sim	19	52,6	
QT intraoperatória	não	49	69,4	0,485
	sim	7	57,1	
RT adjuvante	não	37	62,2	0,200
	sim	19	78,9	
QT adjuvante	não	40	77,5	0,004
	sim	16	43,8	
DMV CD31	p < 25	11	72,7	0,896
	P 25-75	29	65,5	
	p > 75	15	66,7	
DMV D2-40	p < 25	13	69,2	0,259
	p 25-75	30	73,3	
	p > 75	12	50,0	

Pacientes do sexo feminino apresentaram tendência à maior taxa de sobrevida, com p de 0,059. As curvas de sobrevida estão ilustradas nas Figuras 8 e 9, sendo a Figura 8 a curva de sobrevida em 5 anos para sexo feminino e masculino e a Figura 9 a curva de sobrevida em 5 anos para idade até 25 anos e superior.

Fatores relacionados ao estadiamento clínico-patológico inicial – tamanho tumoral e comprometimento linfonodal - estão relacionados à maior taxa de sobrevida. Pacientes com tumores acima de 5 cm apresentaram TS estatisticamente inferior à observada em pacientes com tumores de até 5 cm – 57,9% contra 93,8%. Da mesma forma, pacientes com comprometimento linfonodal apresentaram TS estatisticamente inferior à observada em pacientes com tumores sem comprometimento linfonodal – 33,3 contra 72,9%. As curvas de sobrevida para tamanho tumoral e comprometimento linfonodal estão ilustradas nas Figuras 10 e 11, respectivamente.

A histopatologia do tumor primário está associada a uma maior TS se for monofásico (84%), seguida do subtipo bifásico (60%), sendo que o subtipo indiferenciado apresentou menor TS (50%), com significância estatística. A Figura 12 apresenta as curvas de sobrevida para os diferentes subtipos histopatológicos.

Chama atenção o fato de pacientes que receberam quimioterapia adjuvante apresentarem menor TS, 43,8 contra 77,5%, o que pode estar relacionado às características do tumor primário que indicam pior prognóstico já conhecido, como tamanho do tumor, histopatologia e margens. A Figura 16 representa a curva de sobrevida em 5 anos para o

grupo que recebeu ou não a quimioterapia adjuvante. A menor TS estaria relacionada aos fatores de mau prognóstico tumorais conhecidos. Os fatores de mau prognóstico estão relacionados à menor TS e também indicam necessidade de quimioterapia adjuvante.

Para avaliação das margens em relação à TS, as margens exíguas, marginais e positivas foram acopladas e comparadas aos casos com margens livres. Em relação à TS observada nos pacientes com margens exíguas/ marginais/ positivas ser superior à observada nos pacientes com margens livres, 83,3% contra 67,3%, leva a pensar no papel do tratamento adjuvante como fator que influencie a sobrevida. Pode ser que algum fator possa favorecer a maior TS nos pacientes que apresentam margens exíguas, por exemplo, a radioterapia adjuvante. A Figura 15 ilustra a sobrevida dos pacientes que receberam ou não radioterapia adjuvante. Apesar de não haver um consenso na indicação de adjuvância, sabe-se que vários serviços utilizam informações relacionadas às margens para indicar ou não a radioterapia adjuvante, como por exemplo, a margem marginal ao feixe vâsculo-nervoso ou margem exígua. Vários trabalhos têm questionado o papel da adjuvância como proteção de recidiva locorregional, pois poderia aumentar a SLR e SG. Já a indicação de quimioterapia neoadjuvante e até mesmo intra-operatória (intracirúrgica) se baseia na ressecabilidade do tumor primário; e a quimioterapia adjuvante, nos fatores de mau prognóstico. As Figuras 13 e 14 ilustram respectivamente as curvas para a radioterapia e quimioterapia neoadjuvantes.

Os pacientes submetidos à amputação de membro apresentaram TS inferior à observada para pacientes submetidos à Ressecção ampla e até mesmo à Ressecção sem margens oncológicas. Apesar de não ser estatisticamente significativa, merece a observação de que este grupo de pacientes apresenta geralmente tumores extensos que por si só já é um fator de mau prognóstico conhecido. Em relação à maior TS dos pacientes submetidos à ressecção sem margens oncológicas, também pode estar relacionado ao tratamento complementar com radioterapia. Estes pacientes que tiveram ressecção sem margens oncológicas foram submetidos à radioterapia adjuvante, exceto 1 paciente, sendo que a radioterapia adjuvante tem se mostrado um fator associado à maior SLP locorregional em alguns estudos.

A densidade microvascular avaliada através da marcação de CD31 e D2-40 não mostrou diferença estatisticamente significativa na TS avaliada para os 3 percentis (menor que 25, 25 a 75 e maior que 75). As Figuras 17 e 18 representam respectivamente, as curvas de sobrevida em 5 anos para a DMV CD31 e D2-40 de acordo com os 3 percentis.

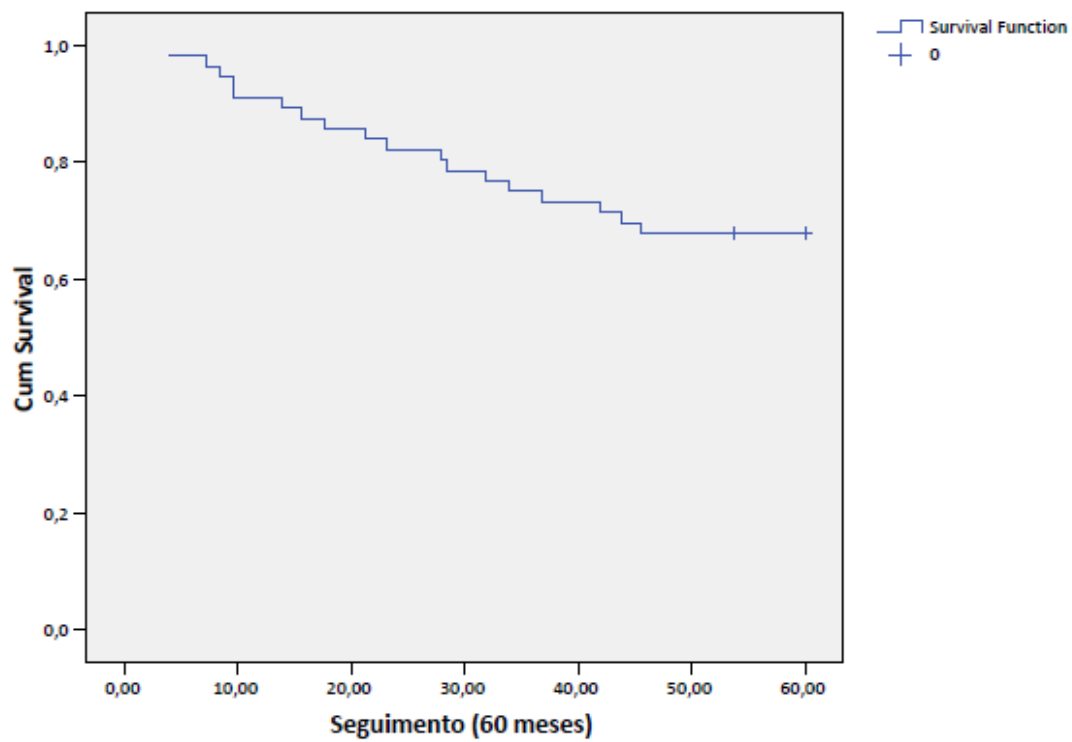


Figura 7 – Curva de sobrevida em 5 anos para 57 pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo (1973-2005).

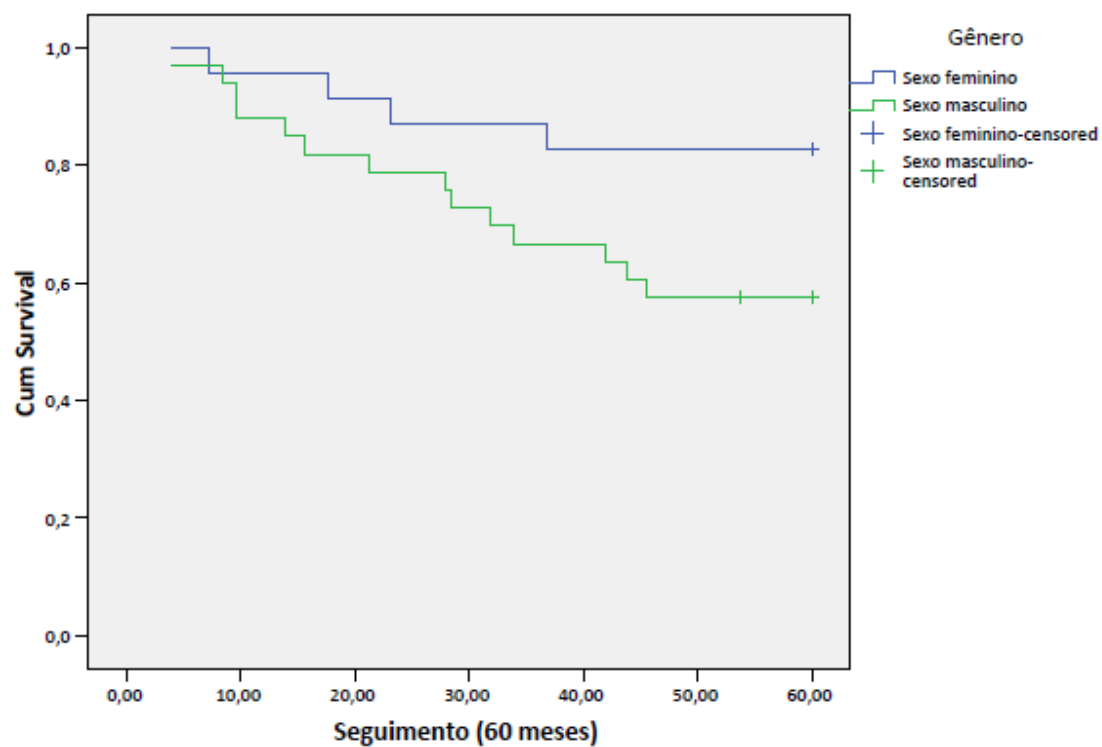


Figura 8 – Curva de sobrevida em 5 anos para sexo feminino e masculino – 56 pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente não-significante (p 0,059).

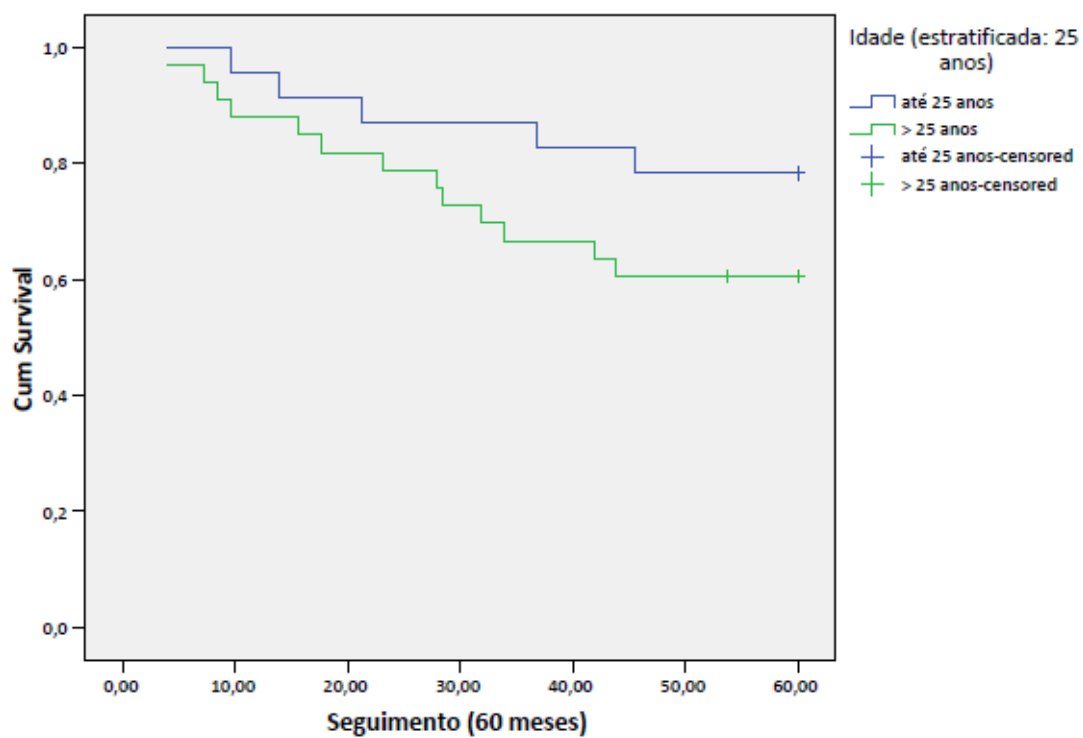


Figura 9 – Curva de sobrevida em 5 anos para idade até 25 anos e superior – 56 pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente não-significante (p 0,160).

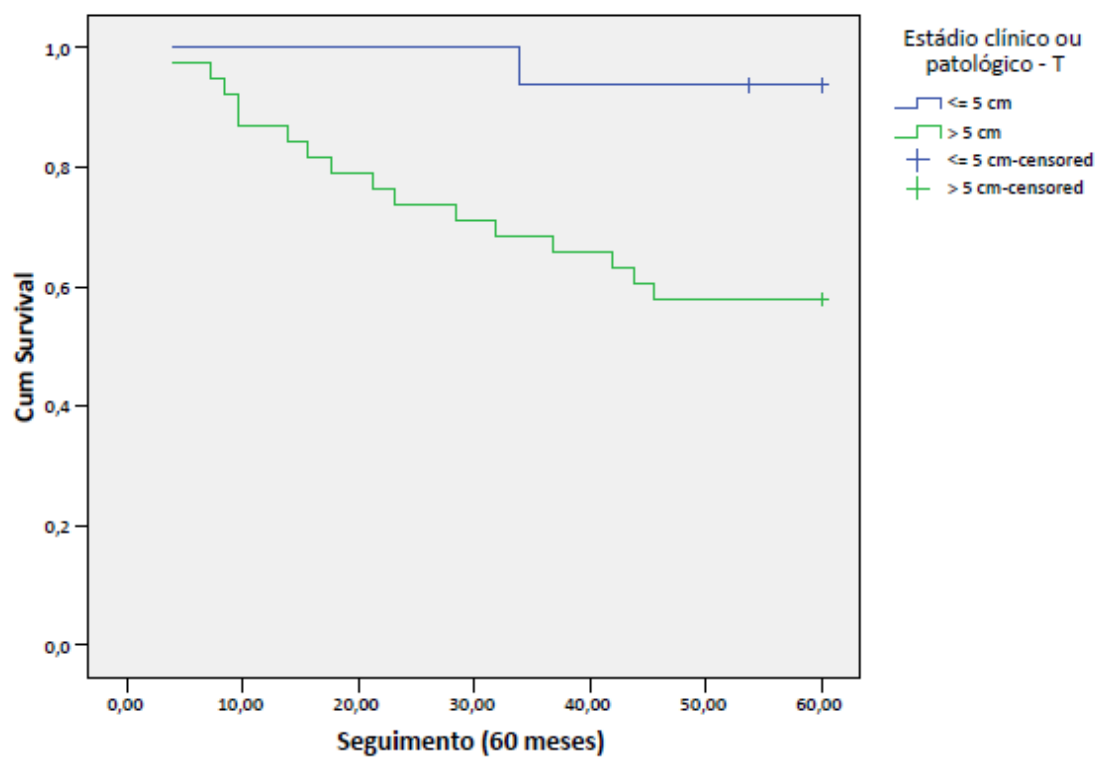


Figura 10 – Curva de sobrevida em 5 anos para tumores T1 e T2 – 54 pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente significante (p 0,013).

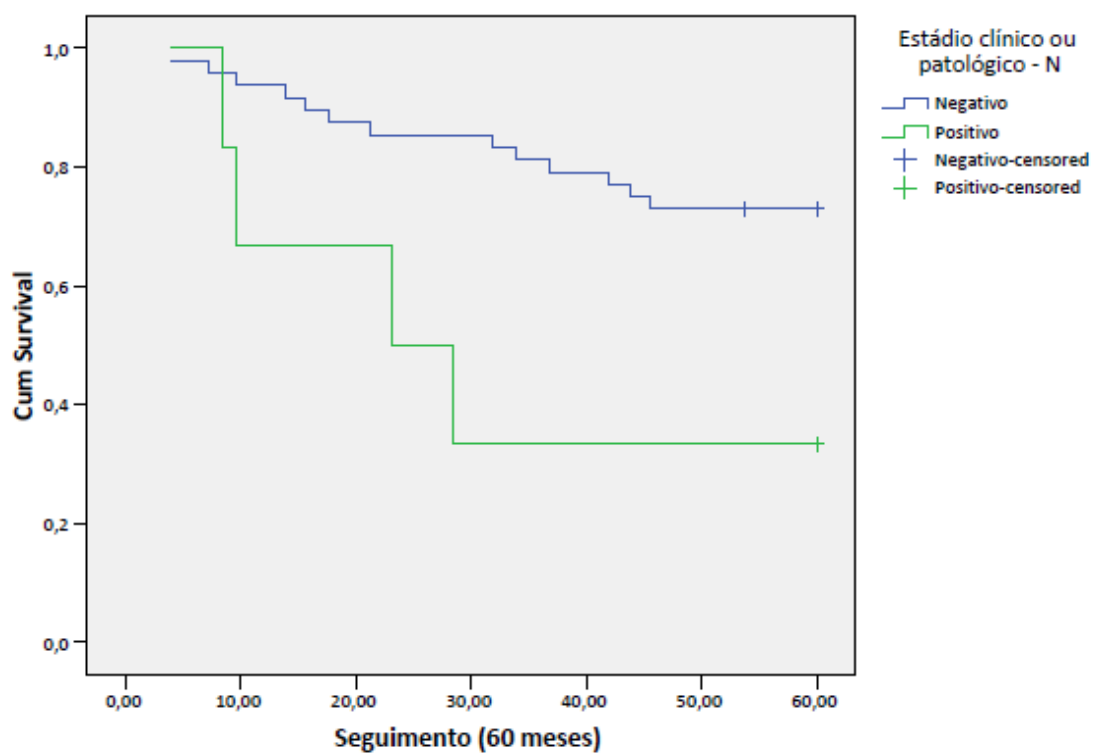


Figura 11 – Curva de sobrevida em 5 anos para N0 e N1 – 54 pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente significativa (p 0,015).

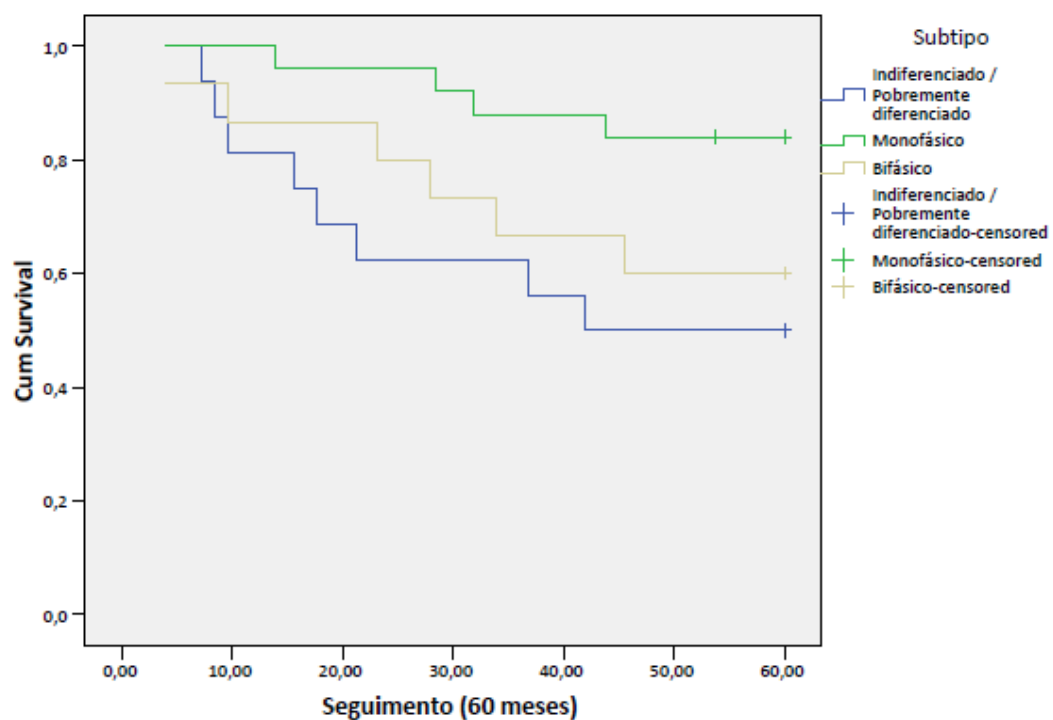


Figura 12 – Curva de sobrevida em 5 anos para 56 pacientes que tiveram tumores com histopatologia indiferenciada, monofásico e bifásico - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente significante (p 0,042).

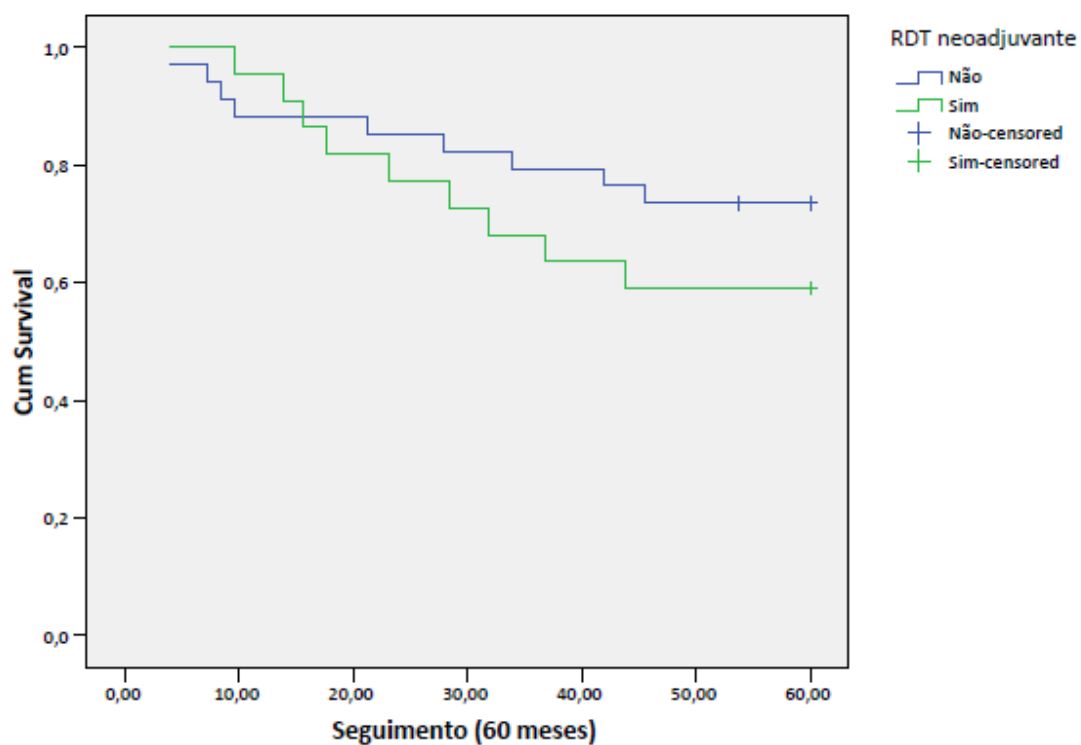


Figura 13 – Curva de sobrevida em 5 anos para 56 pacientes que foram tratados ou não com radioterapia neoadjuvante - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente não-significante (p 0,289).

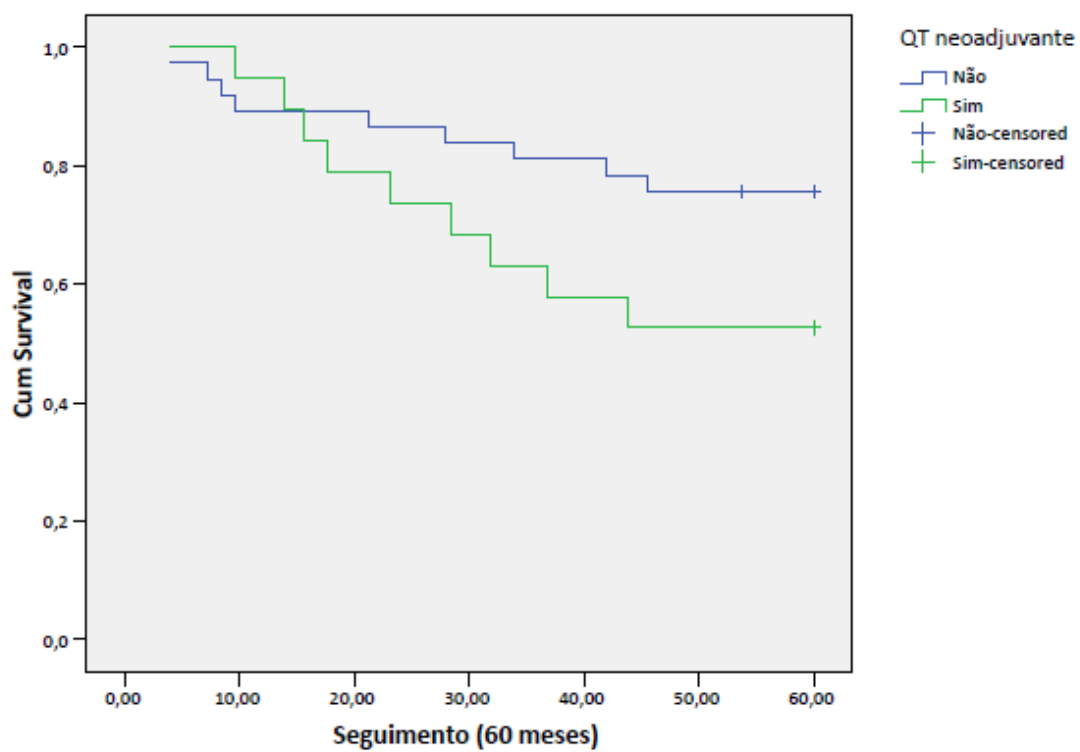


Figura 14 – Curva de sobrevida em 5 anos para 56 pacientes que foram tratados ou não com quimioterapia neoadjuvante - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente não-significante (p 0,090).

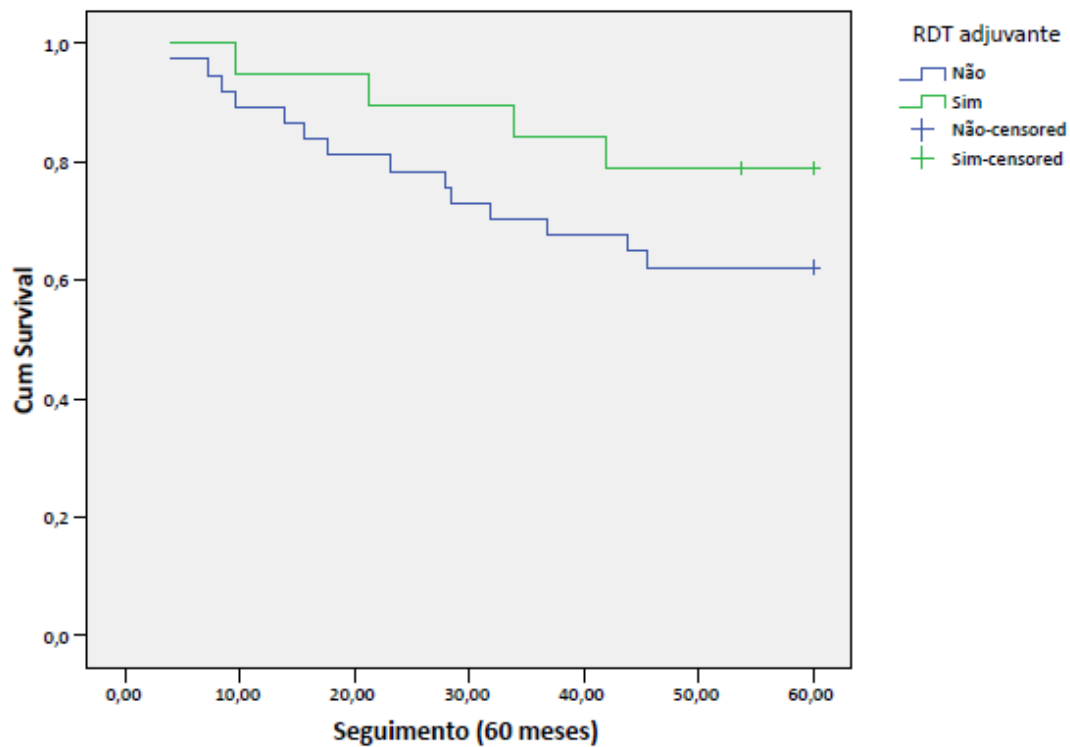


Figura 15 – Curva de sobrevida em 5 anos para 56 pacientes que foram tratados ou não com radioterapia adjuvante - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente não-significante ($p > 0,200$).

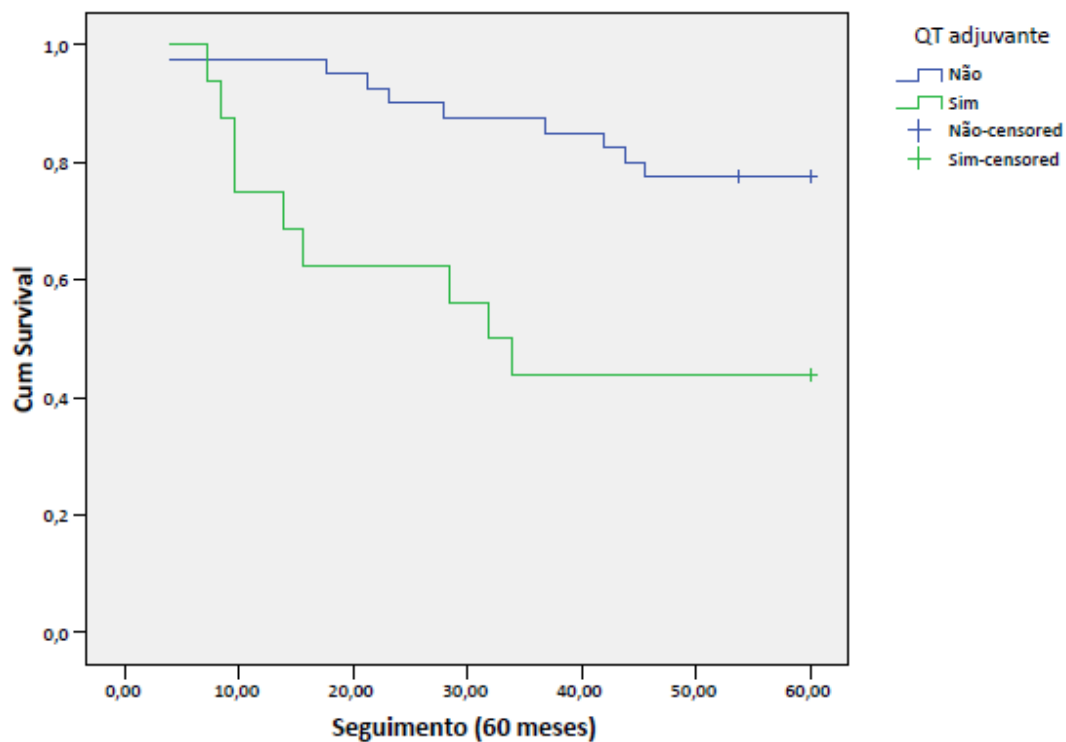


Figura 16 – Curva de sobrevida em 5 anos para 56 pacientes que foram tratados ou não com quimioterapia adjuvante - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente não-significante ($p = 0,004$).

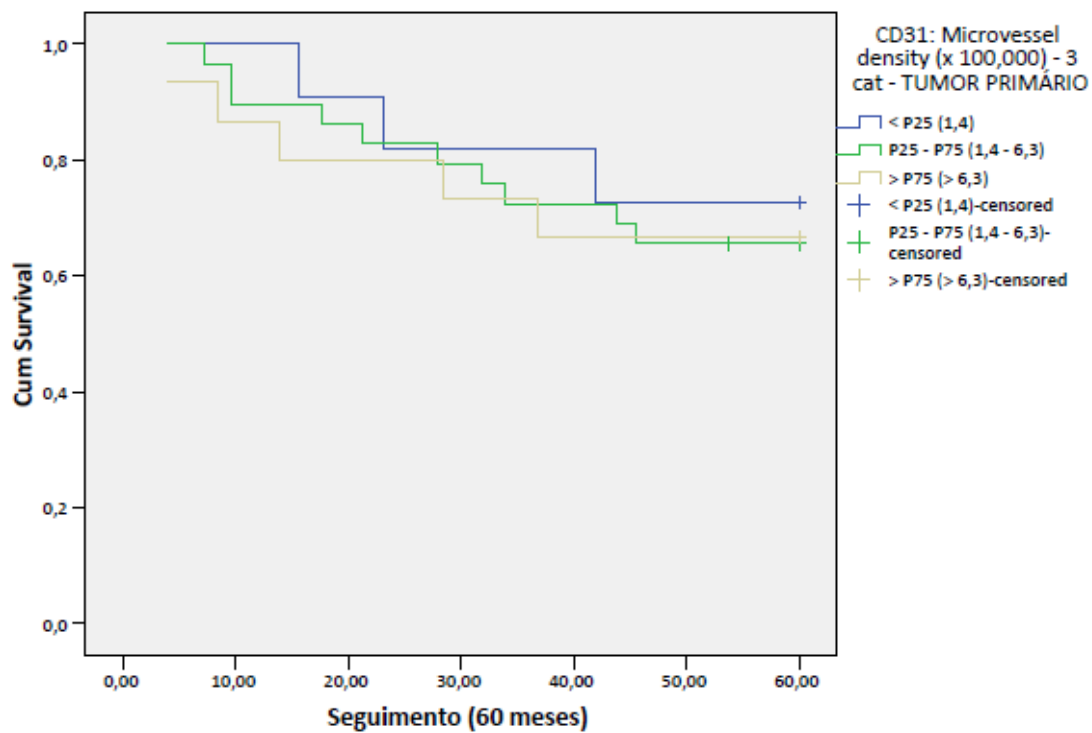


Figura 17 – Curva de sobrevida em 5 anos de acordo com os percentis ($p < 25$, $p 25-75$, $p > 75$) de DMV avaliada através de CD31 para os 55 pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente não-significante ($p 0,896$).

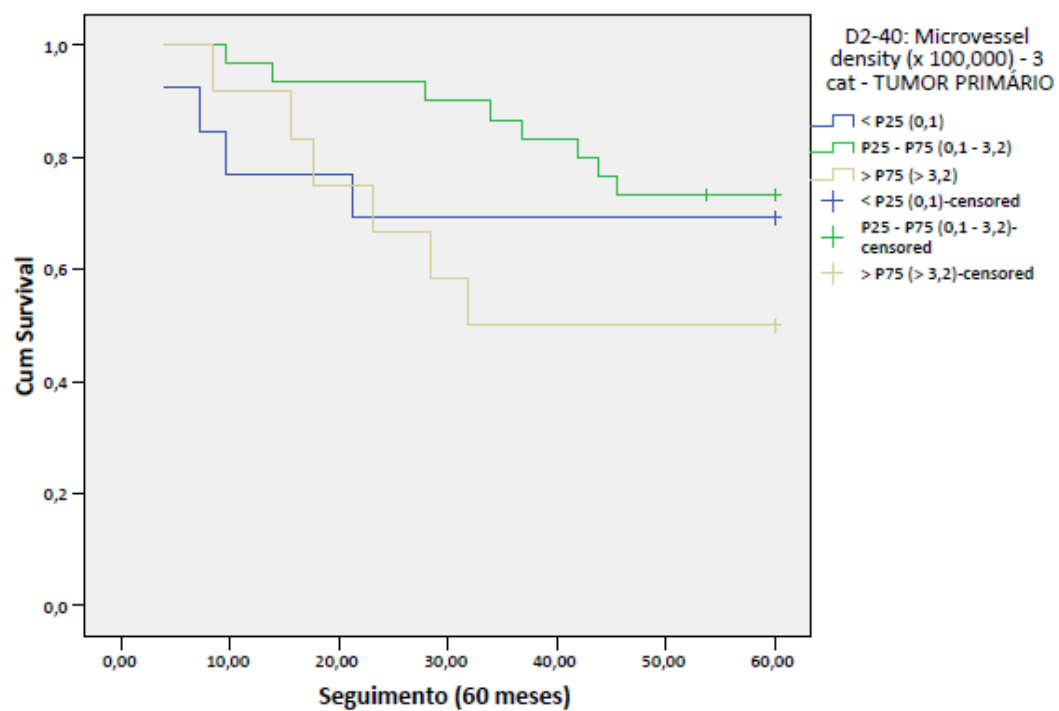


Figura 18 – Curva de sobrevivência em 5 anos de acordo com os percentis ($p < 25$, $p 25-75$, $p > 75$) de DMV avaliada através de D2-40 para os 56 pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo com diferença estatisticamente não-significante ($p 0,259$).

5.2 TAXA DE SOBREVIDA LIVRE DE DOENÇA (TSLD)

Para a análise de TSLD foram considerados os pacientes que tiveram seguimento de, no mínimo, 5 anos, além de considerar os pacientes com intervalo livre de doença maior que 2 meses. Isso porque se menor ou igual a 2 meses indica que seria mais provavelmente progressão de doença não diagnosticada e não recorrência de doença. Desta forma foram analisados 38 pacientes.

O intervalo livre de doença foi calculado da seguinte forma: para aqueles que recorreram, a data final foi a data da recorrência (evento). Para aqueles que não recorreram, a data final foi a data da última informação (censura). Seis casos tiveram recorrência após 5 anos. Contudo, como a taxa de sobrevida livre de doença foi considerada em 5 anos, estes casos, ao final de 5 anos, estavam livre de doença e, portanto, foram contabilizados como censura aos 5 anos.

Tabela 9 – Taxas de sobrevida livre de doença e qui-quadrado para as variáveis de pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

Variável	Categorias	N	Taxa de SLD em 5 anos %	P
Sexo	feminino	15	13,3	0,794
	masculino	23	17,4	
Idade	até 25 anos	15	13,3	0,6
	> 25 anos	23	17,4	
Proximidade ao tronco	proximal	6	0,0	0,741
	distal	32	18,8	
Localização	superior	18	5,6	0,375
	inferior	20	25,0	
Tamanho	T1	11	18,2	0,266
	T2	25	16,0	
Comprometimento linfonodal	N0	31	16,1	0,599
	N1	5	20,0	
Tipo de tratamento cirúrgico	ressecção	sem 4	0,0	1,0
	margens			
	ressecção ampla	28	17,9	
	amputação	6	16,7	
Margens	livre	31	12,9	0,148
	exígua/ marginal/ positiva	6	33,3	
Histopatologia	indiferenciado	11	0,0	0,146
	monofásico	15	13,3	
	bifásico	12	33,3	
RT neoadjuvante	não	25	12,0	0,803
	sim	13	23,1	
QT neoadjuvante	não	24	12,5	0,959
	sim	14	21,4	
QT intraoperatória	não	31	16,1	0,982
	sim	7	14,3	
RT adjuvante	não	24	8,3	0,047
	sim	14	28,6	
QT adjuvante	não	25	16,0	0,338
	sim	13	15,4	
DMV CD31	p< 25	7	14,3	0,916
	P 25-75	22	18,2	
	P >75	9	11,1	
DMV D2-40	p< 25	10	20,0	0,327
	P 25-75	17	5,9	
	P >75	11	27,3	

A radioterapia adjuvante esteve associada a uma maior TSLD, 28,6% contra 8,3%. A adjuvância com radioterapia é sabidamente um fator associado à maior SLD local. A curva de SLD para os pacientes que receberam ou não radioterapia adjuvante está ilustrada na Figura 22, enquanto a curva de SLD para os pacientes que receberam ou não quimioterapia adjuvante está ilustrada na Figura 23.

Não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa em relação ao estadiamento tumoral, T1/ T2 ou N0/ N1, representadas respectivamente nas Figuras 20 e 21. Também não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa em relação à histopatologia do tumor primário – indiferenciado, monofásico ou bifásico, apesar da menor TSLD ser do grupo com subtipo indiferenciado.

Em relação ao tipo de tratamento cirúrgico e às margens obtidas, não foi observada diferença na TSLD, apesar de menor TSLP para os pacientes que tiveram ressecção sem margens.

Pacientes que receberam quimioterapia e radioterapia neoadjuvantes não tiveram maior TSLD, não havendo significância estatística apesar das diferenças.

A DMV avaliada através da marcação por CD31 e D2-40 não esteve associada a uma maior ou menor TSLD. As Figuras 24 e 25 ilustram respectivamente as curvas de SLD para DMV por CD31 e D2-40.

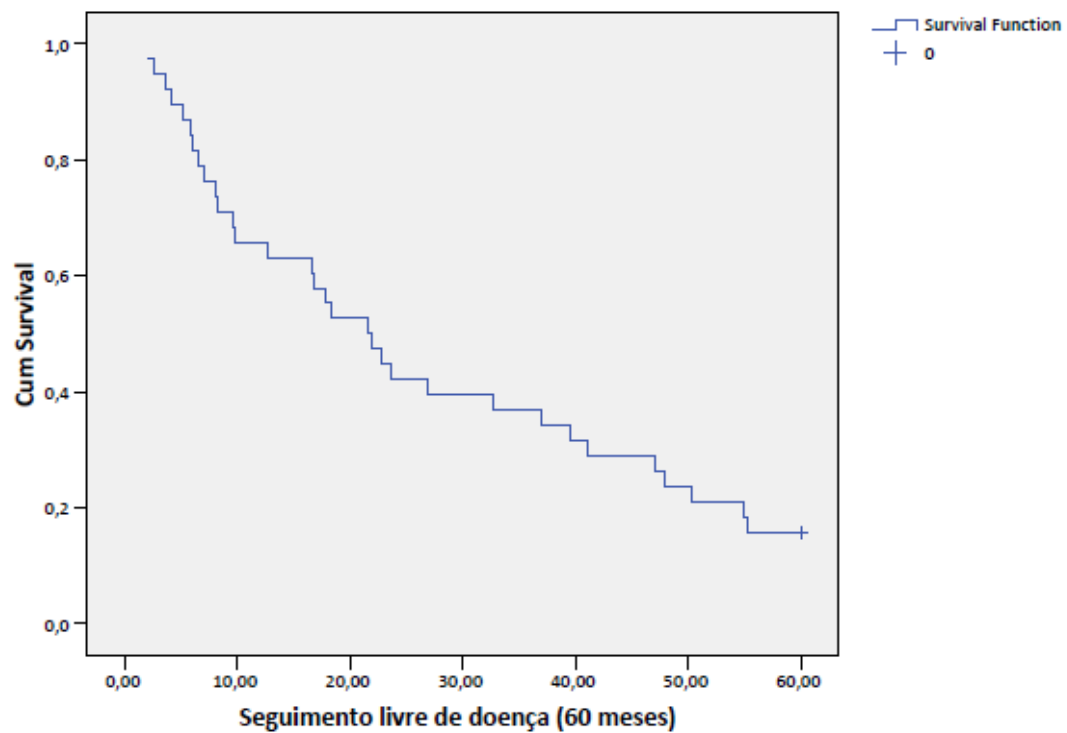


Figura 19 – Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

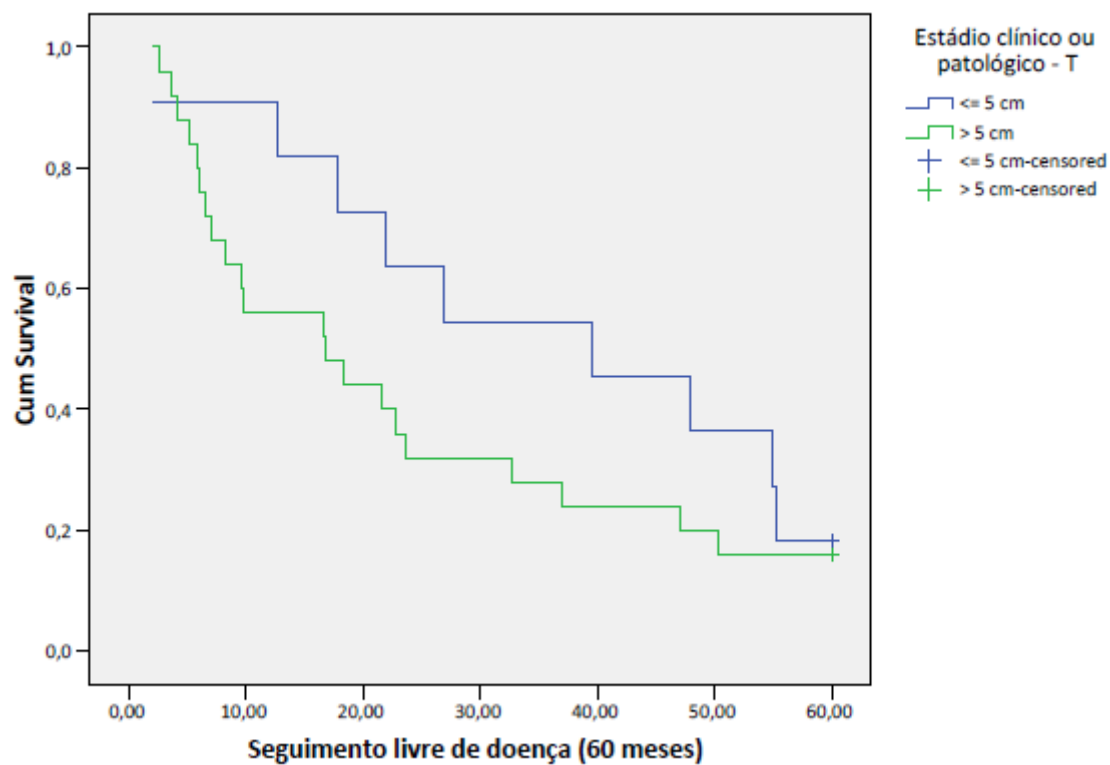


Figura 20 – Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para tumores T1 e T2 - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

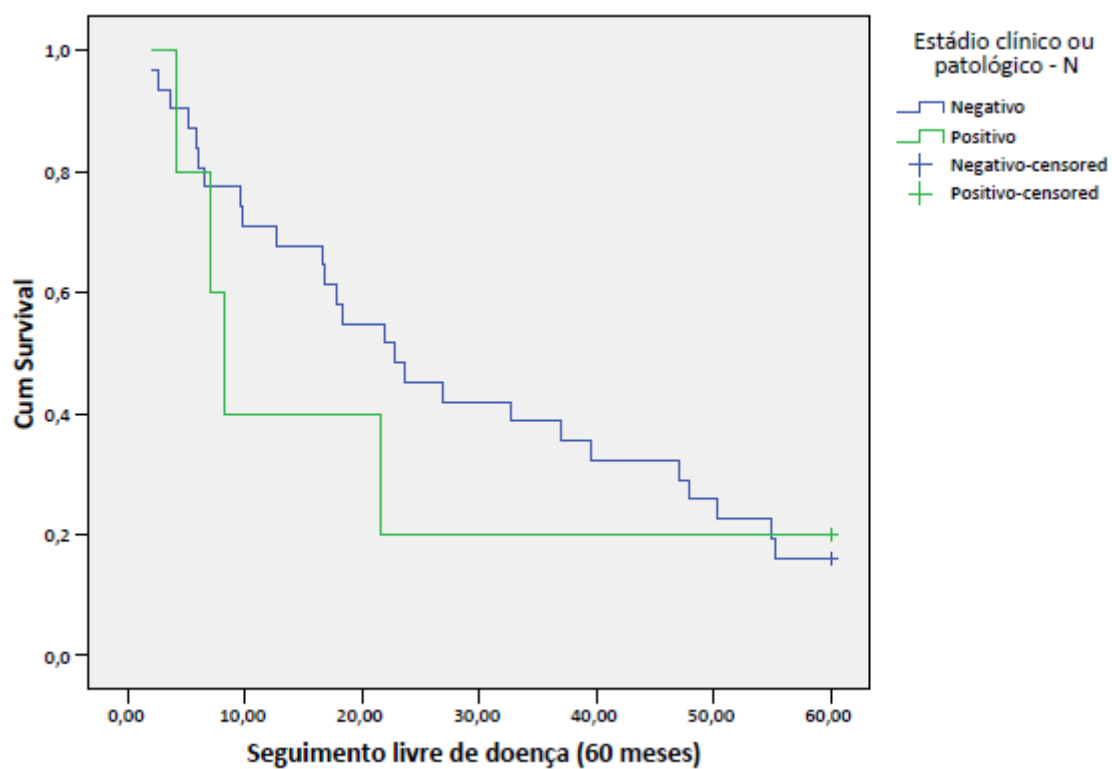


Figura 21 – Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para N0 e N1 - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

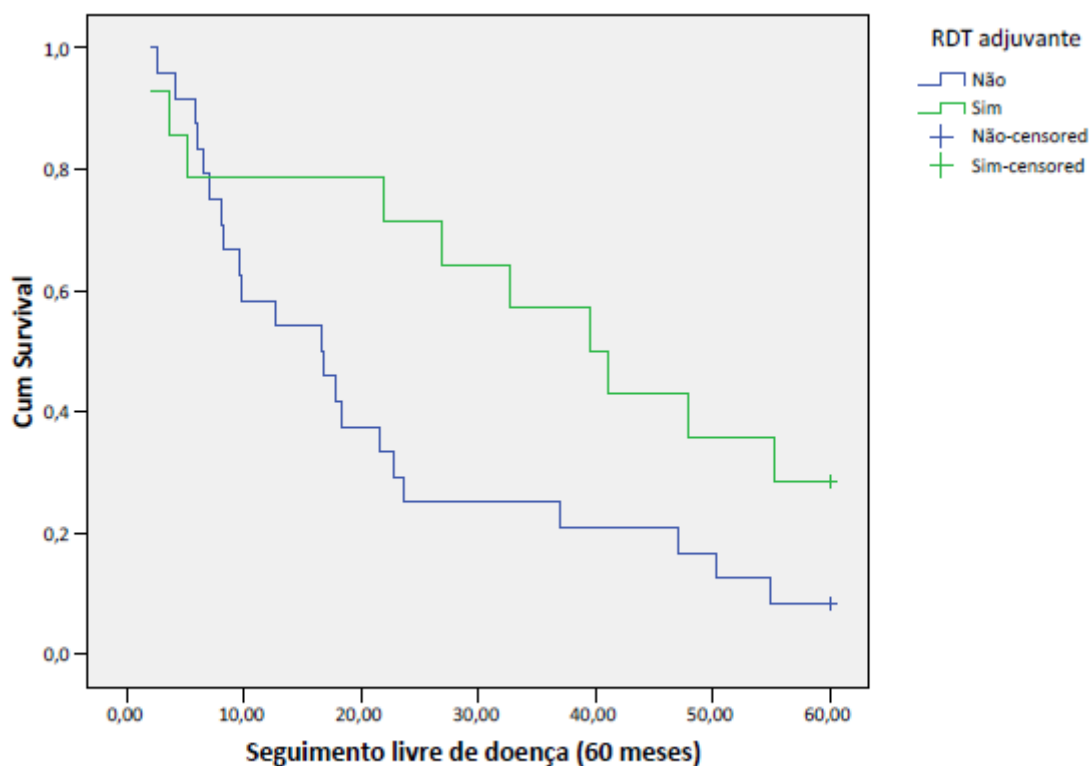


Figura 22 – Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para pacientes que foram tratados ou não com radioterapia adjuvante - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

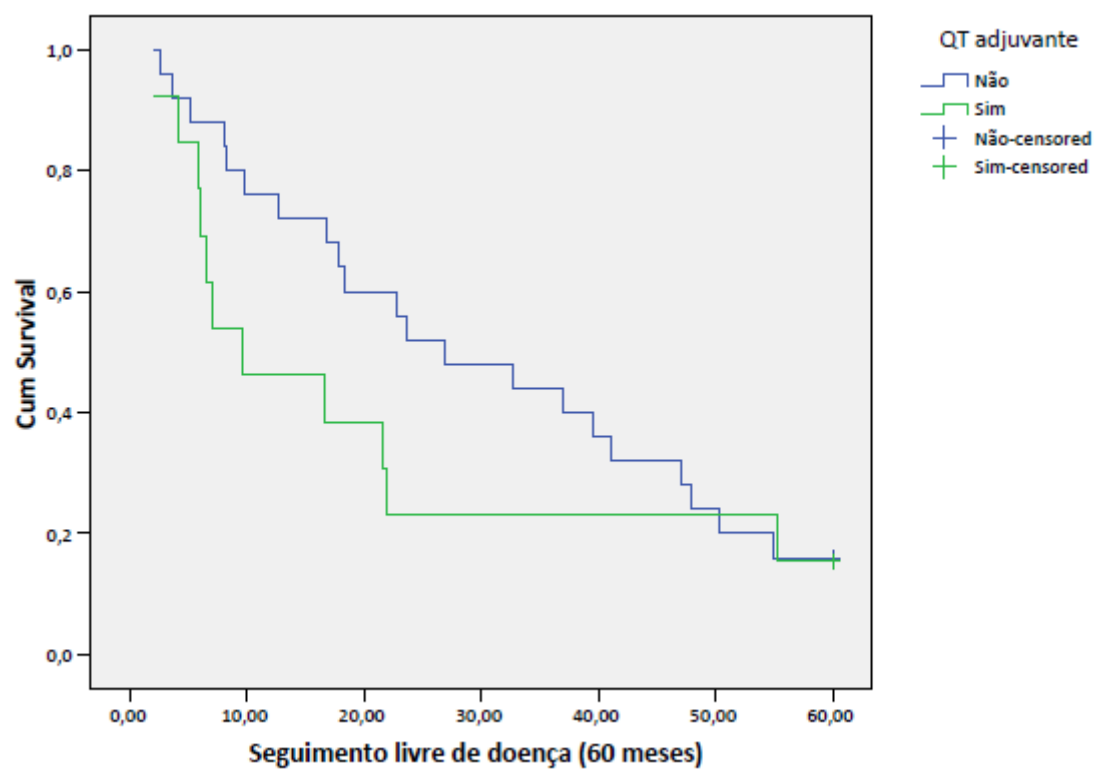


Figura 23 – Sobrevida livre de doença em 5 anos para pacientes que foram tratados ou não com quimioterapia adjuvante - pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

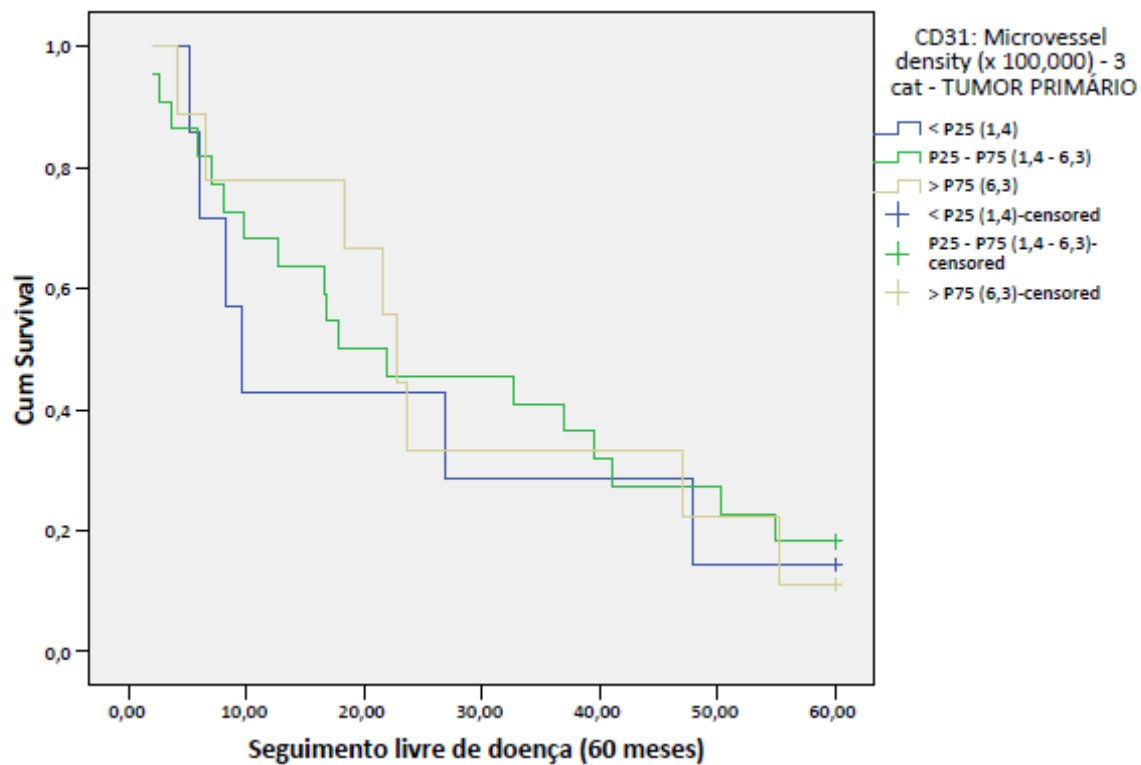


Figura 24 – Sobrevida livre de doença em 5 anos de acordo com os percentis ($p < 25$, $p 25-75$, $p > 75$) de DMV avaliada através de CD31 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

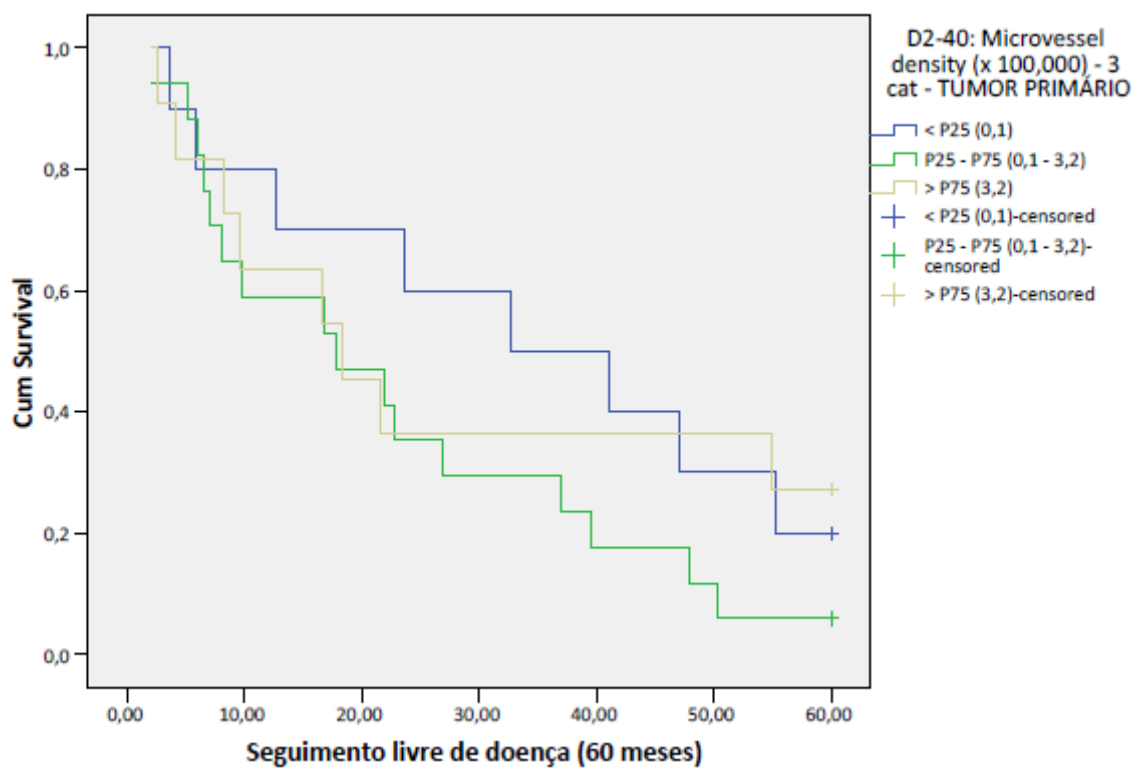


Figura 25 – Sobrevida livre de doença em 5 anos de acordo com os percentis ($p < 25$, $p 25-75$, $p > 75$) de DMV avaliada através de D2-40 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

5.3 TAXA DE SG E SLD PARA PACIENTES TRATADOS PRIMARIAMENTE NO A.C. CAMARGO E QUE RECEBERAM QUIMIOTERAPIA ADJUVANTE

Foi feita uma análise deste grupo de pacientes que receberam quimioterapia adjuvante para avaliar o impacto da quimioterapia com ifosfamida na TSG e TSLD, com base nos estudos que têm mostrado benefício do uso de ifosfamida para aumento da sobrevida livre de recorrência à distância. Os resultados estão nas Tabelas 10 e 11 e ilustradas pelas curvas nas Figuras 26 e 27.

Tabela 10 - Taxas de sobrevida e qui-quadrado para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo e que receberam ou não quimioterapia adjuvante com ifosfamida.

Variável	Categoria	N	Taxa de	P
			Sobrevida em 5 anos %	
Quimioterapia adjuvante com ifosfamida	Não	45	64,4	0,821
	Sim	7	71,4	

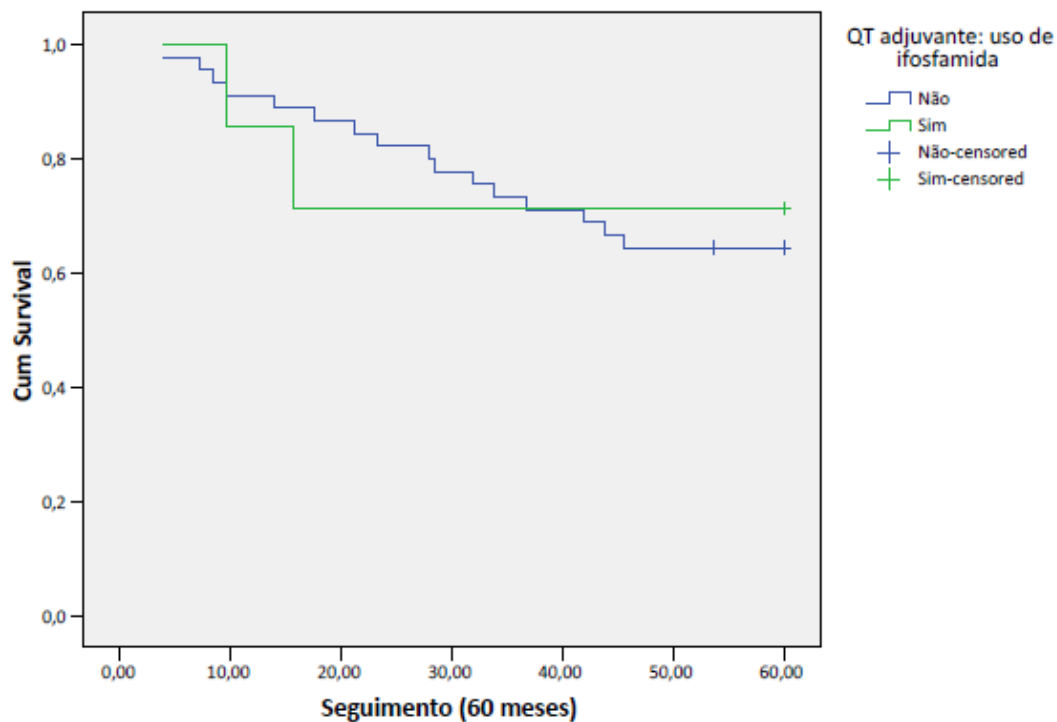


Figura 26 - Curva de sobrevivência em 5 anos para os pacientes que receberam ou não quimioterapia adjuvante com ifosfamida tratados primariamente no A.C. Camargo.

Tabela 11 – Taxas de sobrevivência livre de doença em 5 anos e qui-quadrado para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo e que receberam ou não quimioterapia adjuvante com ifosfamida.

Variável		Categoria	N	Taxa de SLD em 5 anos %		P
Quimioterapia adjuvante com ifosfamida		Não	33	18,2		0,445
		Sim	4	0		

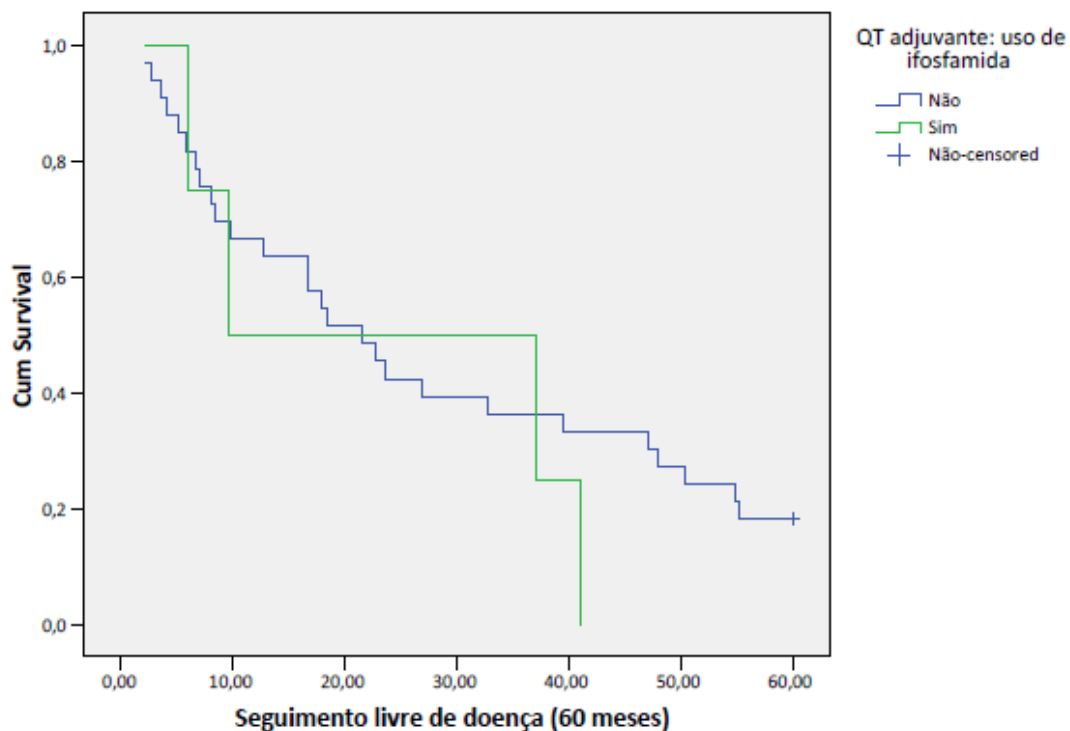


Figura 27 - Curva de sobrevida livre de doença em 5 anos para os pacientes que receberam ou não quimioterapia adjuvante com ifosfamida tratados primariamente no A.C. Camargo.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos que receberam ou não ifosfamida na adjuvância. Isso pode se dever ao fato de não se ter considerado critérios de mau prognóstico destes pacientes pois há pacientes que não têm tumores T1. Ou seja, há outros pacientes que apresentam critérios de bom prognóstico que foram incluídos na mesma análise.

5.4 ANÁLISE DE ASSOCIAÇÃO DA DENSIDADE MICROVASCULAR COM DIFERENTES VARIÁVEIS PARA OS PACIENTES TRATADOS PRIMARIAMENTE NO A.C. CAMARGO

A densidade microvascular (DMV) foi avaliada através de dois modos:

1) através de medianas e;

2) através de percentis, distribuídos em:

- inferior ao percentil 25,
- entre o percentil 25 e 75,
- superior ao percentil 75.

5.4.1 Análise de associação dos percentis da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis paramétricas

A Tabela 12 apresenta os resultados da associação dos percentis da DMV CD31 e as diferentes variáveis.

Tabela 12 - Análise de associação dos percentis da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis paramétricas para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

Variável	Categorias	N	%	N	%	N	%	P
		P < 25	P < 25	P 25-75	P 25-75	P > 75	P > 75	
Sexo	feminino	6	25	13	54,2	5	20,8	0,886
	masculino	8	21,1	20	52,6	10	26,3	
Proximidad e ao tronco	proximal	2	15,4	6	46,2	5	38,5	0,454
	distal	12	24,5	27	55,1	10	20,4	
Local	superior	7	23,3	15	50,0	8	26,7	0,943
	inferior	7	22,6	17	54,8	7	22,6	
Tamanho	T1	4	21,1	12	63,2	3	15,8	0,137
	T2	10	24,4	19	46,3	12	29,3	
Compromet i-mento linfonodal	N0	12	22,2	29	53,7	13	24,1	0,613
	N1	2	33,3	2	33,3	2	33,3	
Histologia	indiferenciada	5	29,4	9	52,9	3	17,6	0,690
	monofásica	5	18,5	13	48,1	9	33,3	
	bifásica	4	22,2	11	61,1	3	16,7	

Não foi observada nenhuma associação entre os percentis de DMV avaliado através do CD31 e as diferentes variáveis.

5.4.2 Análise de associação da mediana da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis paramétricas

A Tabela 13 apresenta os resultados da associação das medianas da DMV CD31 para as diferentes variáveis. As Figuras 28, 28 e 30 ilustram, respectivamente, os diagramas-caixa (Box-plots) para as diferentes associações da DMV CD31 com tamanho tumoral, comprometimento linfonodal e histopatologia.

Tabela 13 - Análise de associação da mediana da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis paramétricas para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

Variável	Categorias	N	Valor Mediano X 10 ⁵	Mínim o	Máximo	P25	P75	p
Sexo	feminino	24	2,9500	0,00	12,2	1,1000	5,5250	0,548
	masculino	38	2,6500	0,00	13,70	1,4000	7,9250	
Proximidad e ao tronco	proximal	13	3,8000	0,10	13,00	1,4000	9,8000	0,328
	distal	49	2,4000	0,00	13,70	1,2000	5,7500	
Local	superior	30	2,4500	0,00	0,00	1,3000	7,9250	0,829
	inferior	31	2,9000	13,00	13,70	1,4000	5,3000	
Tamanho	T1	19	1,8000	0,10	11,10	1,4000	4,0000	0,373
	T2	41	3,8000	0,00	13,70	1,1000	8,3000	
Comprome- timento linfonodal	N0	54	2,9000	0,00	13,40	1,4000	6,3250	0,838
	N1	6	2,2000	0,20	13,70	0,5750	9,6500	
Histologia	indiferenciada	17	3,8000	0,00	13,70	0,8000	5,8000	0,961
	monofásica	27	2,9000	0,00	13,40	1,4000	8,3000	
	bifásica	18	2,1000	0,10	13,00	1,2750	5,7750	

Não foi observada nenhuma associação entre os valores medianos de DMV avaliado através do CD31 e as diferentes variáveis.

5.4.3 Análise de associação da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis não-paramétricas (Teste de correlação de Spearman)

Tabela 14 - Análise de associação da densidade microvascular através da marcação por CD31 com variáveis não-paramétricas – Teste de correlação de Spearman - para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

Variável	P	Coeficiente de correlação
MVA – área vascular média CD31	0,002	0,384
MeVA – área vascular mediana CD31	0,184	0,171
MVP – perímetro vascular médio CD31	0,006	0,346
MeVP – perímetro vascular mediano CD31	0,080	0,224
DMV – Densidade microvascular D2-40	0,266	-0,144
MVA – área vascular média D2-40	0,865	-0,022
MeVA – área vascular mediana D2-40	0,563	0,075
MVP – perímetro vascular médio D2-40	0,824	-0,029
MeVP – perímetro vascular mediano D2-40	0,395	0,110

Existiu correlação fracamente positiva entre a DMV avaliada através do CD31 com a MVA CD31 e MVP CD31, como evidenciado na Tabela 14. Existe plausibilidade biológica se consideramos que são todas formas de se avaliar a densidade microvascular.

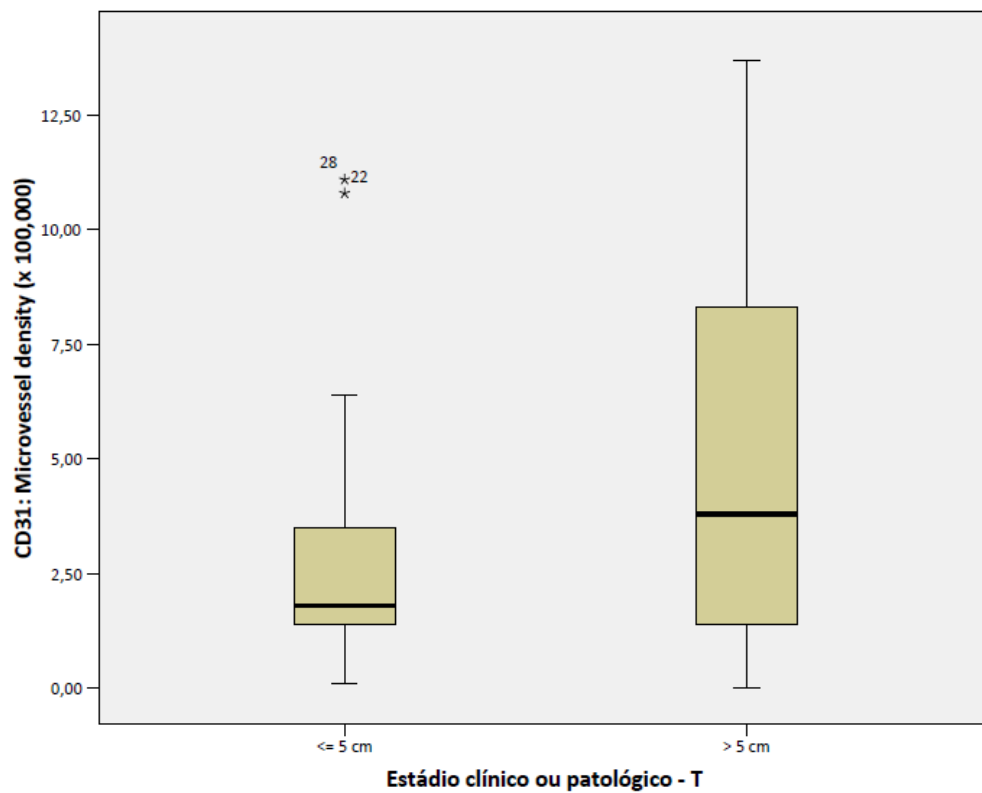


Figura 28 – Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do CD31 e associação com T1 e T2 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

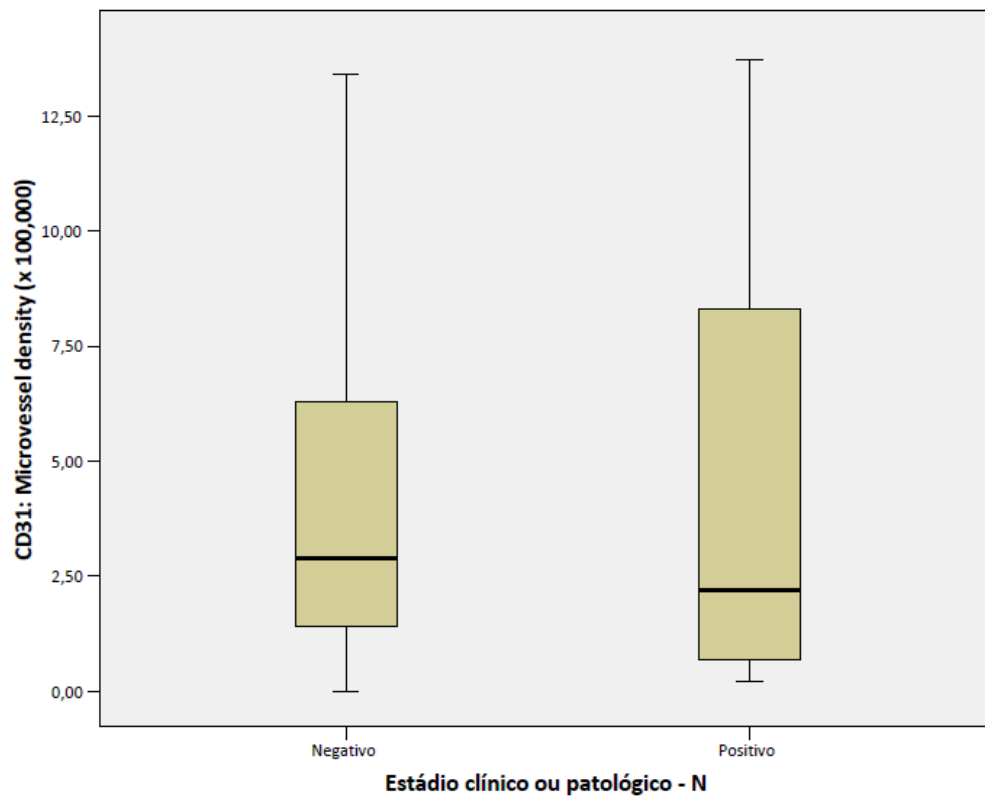


Figura 29 – Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do CD31 e associação com N0 e N1 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

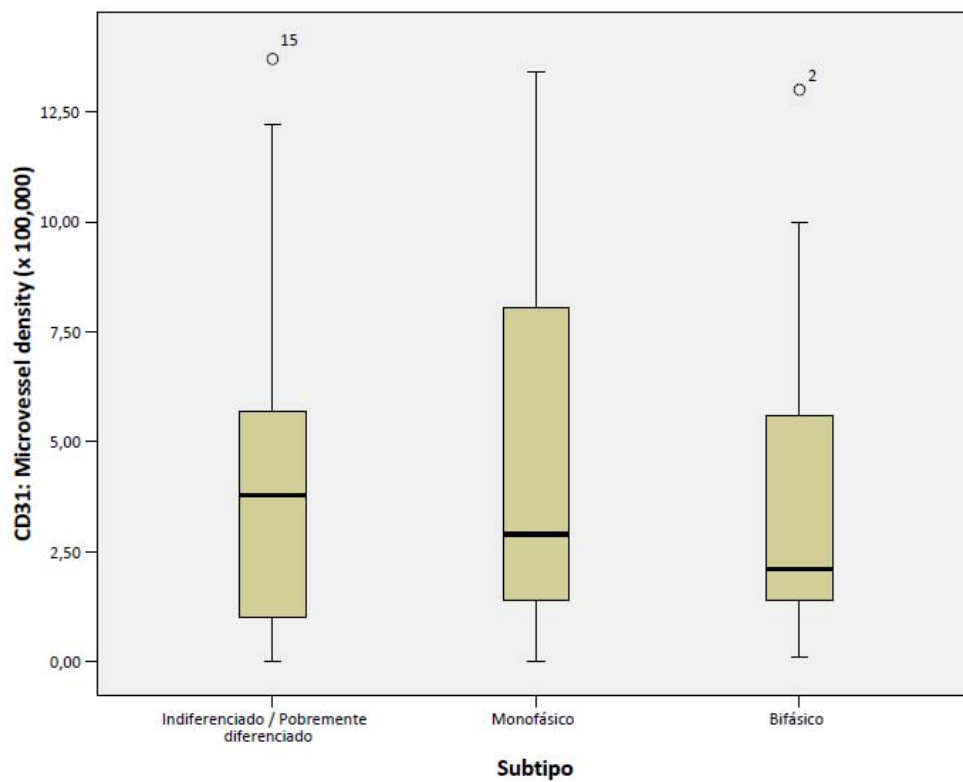


Figura 30 – Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do CD31 e associação com as histopatologias indiferenciada, monofásica e bifásica para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

5.4.4 Análise de associação dos percentis da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis paramétricas

A Tabela 15 apresenta os resultados da associação dos percentis da DMV D2-40 com as diferentes variáveis.

Tabela 15 - Análise de associação dos percentis da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis paramétricas para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

Variáveis		N	%	N	%	N	%	P
		P < 25	P < 25	P 25-75	P 25-75	P > 75	P > 75	
Sexo	feminino	8	33,3	11	45,8	5	20,8	0,054
	masculino	5	13,2	23	60,5	10	26,3	
Proximidade ao tronco	proximal	4	30,8	8	61,5	1	7,7	0,054
	distal	9	18,4	26	53,1	14	28,6	
Local	superior	6	20,0	17	56,7	7	23,3	0,148
	inferior	7	22,6	16	51,6	8	25,8	
Tamanho	T1	3	15,8	13	68,4	3	15,8	0,151
	T2	9	22,0	20	48,8	12	29,3	
Comprometimento linfonodal	N0	12	22,2	30	55,6	12	22,2	0,060
	N1	0	0	3	50,0	3	50,0	
Histologia	indiferenciada	5	29,4	8	47,1	4	23,5	0,047
	monofásica	5	18,5	18	66,7	4	14,8	
	bifásica	3	16,7	8	44,4	7	38,9	

Não houve associação estatisticamente significativa entre os percentis da DMV avaliada através do D2-40 e as diferentes variáveis, exceto para a histopatologia, sendo observada diferença estatisticamente significativa (p de 0,047).

5.4.5 Análise de associação da mediana da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis paramétricas

A Tabela 16 apresenta os resultados da associação das medianas da DMV D2-40 com as diferentes variáveis. As Figuras 31, 32 e 33 ilustram, respectivamente, os diagramas-caixa (Box-plots) para as diferentes associações da DMV D2-40 com tamanho tumoral, comprometimento linfonodal e histopatologia.

Tabela 16 - Análise de associação da mediana da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis paramétricas para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

Variáveis		N	Valor mediano	Mínimo	Máximo	P25	P75	p
Sexo	feminino	24	0,4056	0,00	9,82	0,0575	2,9706	0,312
	masculino	38	1,3719	0,01	17,65	0,1497	3,9743	
Proximidade ao tronco	proximal	13	0,1604	0,00	16,82	0,0656	1,4913	0,061
	distal	49	1,7317	0,01	17,65	0,1741	4,1011	
Local	superior	30	0,4643	0,00	17,65	0,1011	3,1940	0,516
	inferior	31	1,7317	0,02	9,82	0,1149	3,6694	
Tamanho	T1	19	0,5027	0,02	17,65	0,2460	1,8516	0,880
	T2	41	1,3402	0,00	16,82	0,0995	4,3460	
Comprometimento linfonodal	N0	54	0,6354	0,00	17,65	0,1122	2,4652	0,087
	N1	6	3,4363	0,10	10,20	1,4751	6,1835	
Histologia	indiferenciada	17	0,4248	0,00	9,82	0,0734	3,3273	0,765
	monofásica	27	1,7317	0,00	10,20	0,1916	2,3226	
	bifásica	18	0,3647	0,01	17,65	0,1118	7,5876	

Não houve associação estatisticamente significante entre os valores medianos de DMV avaliada através do D2-40 e as diferentes variáveis.

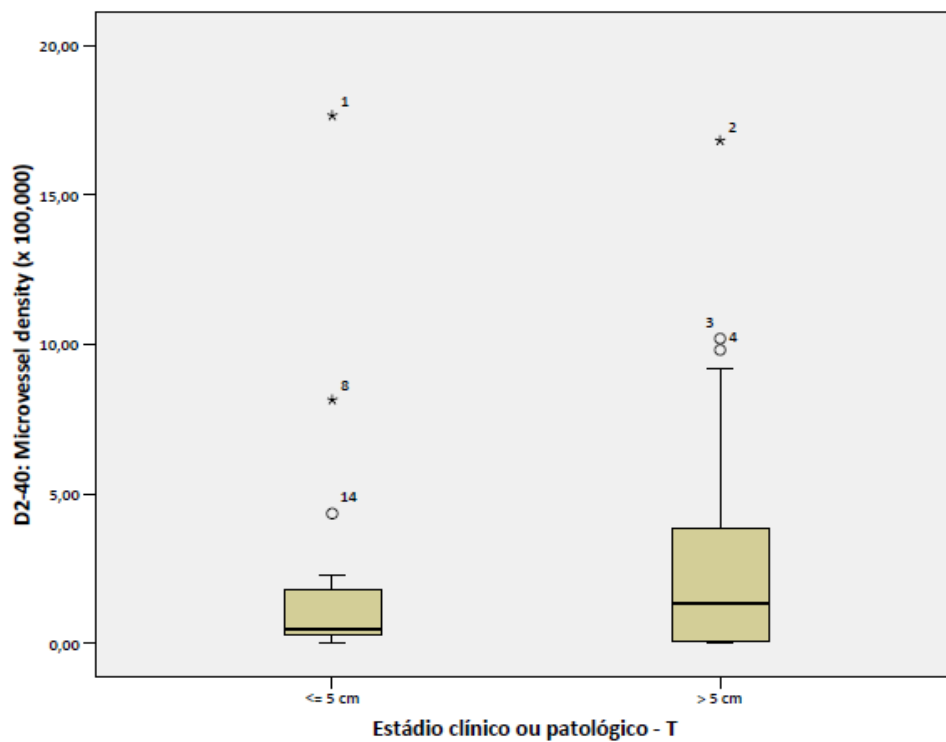


Figura 31 – Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do D2-40 e associação com a T1 e T2 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

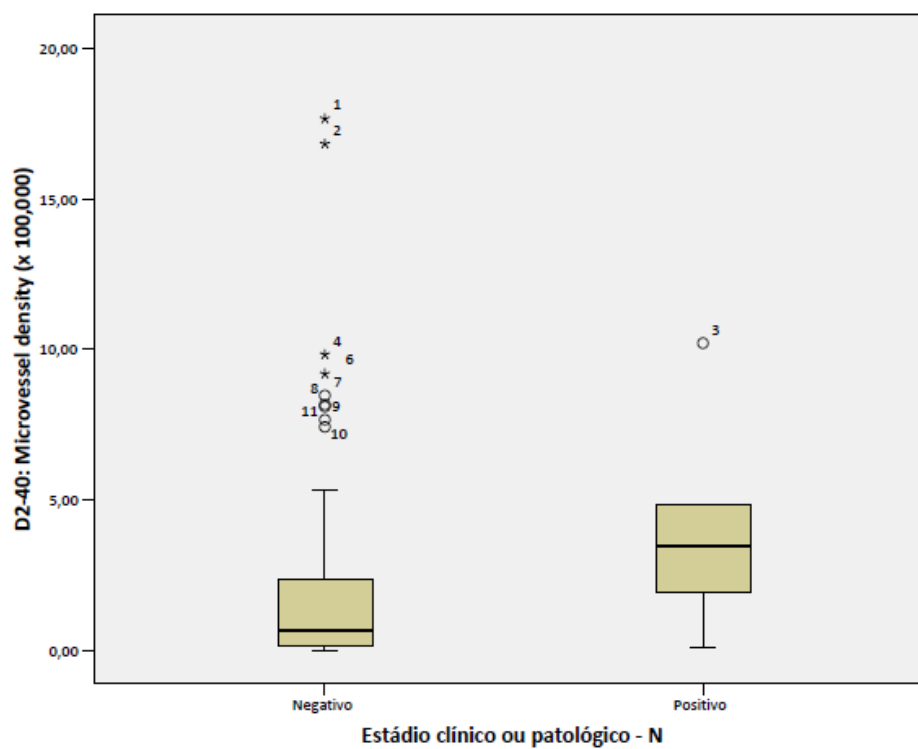


Figura 32 – Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do D2-40 e associação com N0 e N1 para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

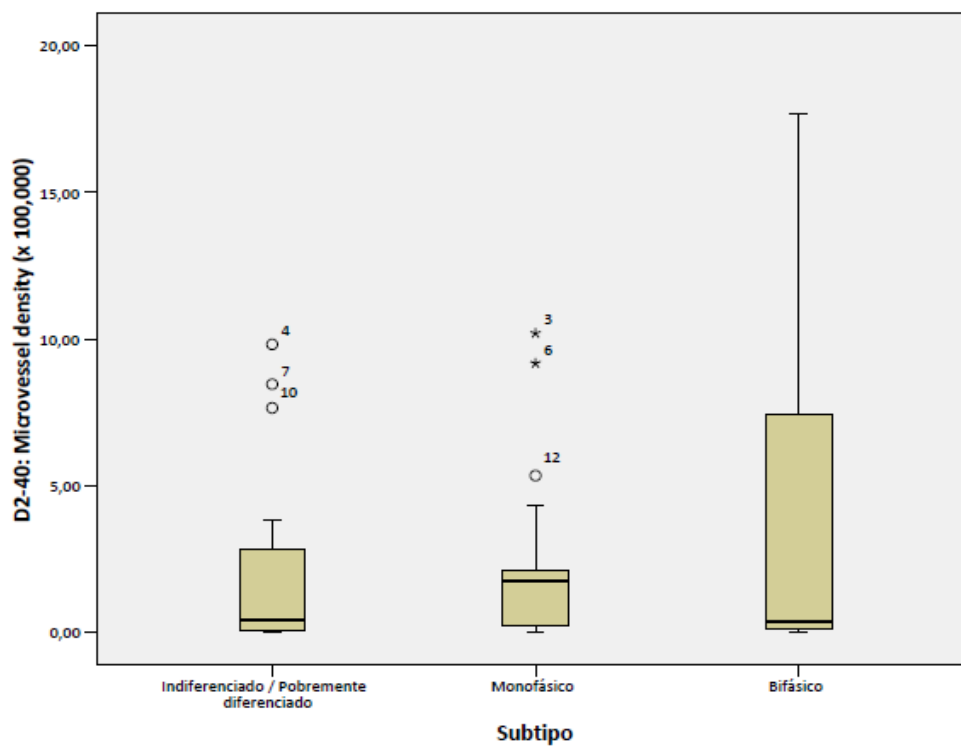


Figura 33 – Gráfico tipo Boxplot para a DMV avaliada através do D2-40 e associação com a histopatologia para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

5.4.6 Análise de associação da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis não-paramétricas (Teste de correlação de Spearman)

Tabela 17 - Análise de associação da densidade microvascular através da marcação por D2-40 com variáveis não-paramétricas – Teste de correlação de Spearman para os pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

Variável	P	Coefficiente de Correlação
MVA – área vascular média D2-40	0,000	0,438
MeVA – área vascular mediana D2-40	0,720	0,046
MVP – perímetro vascular médio D2-40	0,001	0,410
MeVP – perímetro vascular mediano D2-40	0,615	0,065
DMV – Densidade microvascular CD31	0,266	-0,144
MVA – área vascular média CD31	0,917	0,013
MeVA – área vascular mediana CD31	0,856	0,023
MVP – perímetro vascular médio CD31	0,880	-0,020
MeVP – perímetro vascular mediano CD31	0,535	-0,080

Existiu correlação moderadamente positiva entre a DMV avaliada através do D2-40 com a MVA D2-40 e com a MVP D2-40. Existe plausibilidade biológica se considerarmos que são todas formas de se avaliar a densidade microvascular.

5.5 ANÁLISE MULTIVARIADA

Foi feita uma análise não-exploratória, ou seja, procurando avaliar o CD31 e o D2-40 como possíveis fatores prognósticos, independentemente dos valores de p encontrados de análise univariada

A análise multivariada foi feita para os pacientes que foram tratados primariamente no A.C. Camargo. Considerando o número de óbitos (17) e recorrências (30), foram analisadas a correlação da DMV e das variáveis estadio clínico-patológico e adjuvância, representadas nas Tabelas 18 e 19.

Não foi observada correlação entre os marcadores de DMV avaliada através do CD31 e o D2-40 e óbito e recorrência. Ou seja, o CD31 e o D2-40 não se mostraram fatores prognósticos para óbito ou recorrência.

A adjuvância também não se mostrou um fator prognóstico. O estadio clínico-patológico se mostrou um fator prognóstico.

Tabela 18 – Modelo multivariado não exploratório para avaliação de CD31 como possível fator de risco para óbito e recorrência em 5 anos (Hospital A.C. Camargo, 1973 – 2005).

VARIÁVEL	CATEGORIA	ÓBITO (*1)				RECORRÊNCIA (*2)			
		n	HR	IC 95% (HR)	P	n	HR	IC 95% (HR)	P
CD31	(variável contínua)	53	1,03	0,9 – 1,2	0,628	36	1,0	0,9 – 1,1	0,549
Estadio	II	16	1,0	Referência		11	1,0	Referência	
	III	37	10,2	1,3 – 78,4	0,025	25	1,7	0,7 – 3,9	0,246
Adjuvância	Não	25	1,0	Referência		14	1,0	Referência	
	Sim	28	2,6	0,9 – 7,4	0,065	22	0,8	0,4 – 1,9	0,654

(*1) Número de óbitos considerados no modelo: 17

(*2) Número de recorrências consideradas no modelo: 30

HR: Hazard ratio

IC95%: Intervalo de confiança de 95%

Tabela 19 - Modelo multivariado não exploratório para avaliação de D2-40 como possível fator de risco para óbito e recorrência em 5 anos (Hospital A.C. Camargo, 1973 – 2005).

VARIÁVEL	CATEGORIA	ÓBITO				RECORRÊNCIA			
		n	HR	IC 95% (HR)	P	n	HR	IC 95% (HR)	P
D2-40	(variável contínua)	53	1,0	0,9 – 1,1	0,987	36	0,9	0,8 – 1,0	0,925
Estadio	II	16	1,0	Referência		11	1,0	Referência	
	III	37	10,5	1,4 – 80,1	0,023	25	1,6	0,7 – 3,5	0,289
Adjuvância	Não	25	1,0	Referência		14	1,0	Referência	
	Sim	28	2,5	0,9 – 6,8	0,074	22	1,0	0,4 – 2,1	0,929

(*1) Número de óbitos considerados no modelo: 17

(*2) Número de recorrências consideradas no modelo: 30

HR: Hazard ratio

IC95%: Intervalo de confiança de 95%

6 DISCUSSÃO

Os SS vêm sendo estudados desde o início do século passado, sendo que a maior mudança na TS foi sendo observada a partir dos estudos da década de 90 que mostraram a aplicação da radioterapia adjuvante e da quimioterapia adjuvante. Apesar destes tratamentos, os fatores prognósticos mais relevantes são inerentes às próprias características tumorais e à extensão da doença. Há pouco mais de uma década vêm sendo buscadas evidências de outras características que possam ter um impacto na mudança do tratamento. É neste campo que se enquadra o estudo da angiogênese, da linfangiogênese e da DMV.

A TS em nosso estudo foi 67,8% em 5 anos, sendo 93,8% para os pacientes T1 e 57,9% para o subgrupo T2. Os dados existentes na literatura variam entre 80 e 90% para tumores T1 e 60 a 70% para tumores T2 (LADENSTEIN et al. 1993; PAPPO et al. 1994; LEWIS et al. 2000; FERRARI et al. 2004; KRIEG et al. 2011). É importante considerar a variação da TS para o subgrupo T2 nos diferentes estudos, o que se deve provavelmente ao papel da quimioterapia adjuvante, o que pode elevar a TS de 27% para 47% neste subgrupo de pacientes (FERRARI et al. 2004). A taxa de recidiva local em nosso estudo, de 46%, é compatível com séries da literatura, sendo que a taxa de recidiva à distância de 56% dificilmente pode ser comparada com a de séries descritas, o que pode se dever à diferença de inclusão dos mesmos subgrupos de pacientes, com tumores extensos, com a mesma

faixa de idade e com a mesma aplicação de quimioterapia adjuvante e até mesmo com a diferença de quimioterapia usada (FERRARI et al. 2004; KRIEG et al. 2011). A SG mínima foi de 3,9 meses, com média de 48,2 meses. A média de SLD foi de 27,4 meses, com mínima de 2,1 meses. A média de SLR local e à distância é variável entre os estudos, sendo respectivamente de 42 meses e 65 meses, sendo observados pacientes que apresentaram recidiva tardia, além de 5 anos, de acordo com a história natural da doença, sabidamente um sarcoma que pode recidivar tardiamente, seja localmente e/ou à distância (KRIEG et al 2011).

Pacientes do sexo feminino apresentaram tendência em ter maior taxa de sobrevida, assim como pacientes de até 25 anos. O sexo masculino já se mostrou ser fator de risco para menor taxa de sobrevida doença-específica em trabalho anterior e a maior idade se mostrou ser um fator desfavorável (SOULE 1986; TRASSARD et al. 2001).

Fatores relacionados ao estadiamento clínico-patológico inicial – tamanho tumoral e comprometimento linfonodal - estiveram relacionados à maior taxa de sobrevida, com significância estatística. O estadiamento clínico-patológico T2 é um fator prognóstico desfavorável extensamente demonstrado em vários trabalhos (TRASSARD et al. 2001; BRECHT et al. 2006; SIEGEL et al. 2007; TAKENAKA et al. 2008).

A histopatologia do tumor primário esteve associada a uma maior TS quando monofásico, seguida do subtipo bifásico, sendo que o subtipo indiferenciado apresentou menor TS, com significância estatística. Apesar de ser um fator muito estudado, nem sempre se comprova ser um fator

desfavorável com significância estatística. TAKENAKA et al. (2008) mostrou associação enquanto LADANYI et al. (2002) não mostrou nenhum impacto na SG. Além disso, os trabalhos são discordantes em relação ao subtipo de pior prognóstico, alguns demonstrando o subtipo indiferenciado, outros o bifásico e até o monofásico. A presença de histologia glandular desde a década em 80 tem sido estudada como um fator favorável (SOULE 1986). Estudo demonstrou associação do subtipo monofásico com pior sobrevida livre de recidiva à distância (TRASSARD et al. 2001). A presença de áreas com histologia pobremente diferenciada em meio a outras pode estar associada a uma pior evolução, apesar de não haver diferença estatisticamente significativa entre a histopatologia monofásica e bifásica (GUILLOU et al. 2004).

Os pacientes que receberam quimioterapia adjuvante apresentaram menor TS, o que pode estar relacionado às características do tumor primário que indicam pior prognóstico já conhecido, como tamanho do tumor. O fato de ter tumor extenso estaria sim associado à menor TS e também indicaria, assim, a necessidade de quimioterapia adjuvante.

Em relação à TS observada nos pacientes com margens exúguas ou positivas ser superior à observada nos pacientes com margens livres leva a pensar no papel da radioterapia adjuvante como fator que influencie a sobrevida. A margem já foi demonstrada como um fator prognóstico (SIEGEL et al. 2007). Também já foi mostrada como fator não prognóstico, diferentemente do T2 (BRECHT et al. 2006). A radioterapia adjuvante no nosso estudo esteve associada a uma maior TSLD. A radioterapia adjuvante

tem se mostrado um fator associado a uma maior TS (OKCU et al. 2003). Está também associada a uma maior sobrevida livre de recorrência local, mas não associado a uma maior SLR à distância (EILBER e DRY 2008). A quimioterapia adjuvante com ifosfamida pode ser um fator que influencie a SLR à distância mas não a SLR local (EILBER et al. 2007).

Os pacientes submetidos à amputação de membro apresentaram TS inferior à observada para pacientes submetidos à Ressecção ampla e até mesmo à Ressecção sem margens oncológicas. Apesar de não ser estatisticamente significativa, merece a observação de que este grupo de pacientes apresenta geralmente tumores extensos que por si só já é um fator de mau prognóstico conhecido. Em relação à maior TS dos pacientes submetidos à ressecção sem margens oncológicas, também pode estar relacionado ao tratamento complementar com radioterapia. Importante enfatizar que o tipo de tratamento cirúrgico não é um fator extensamente estudado como fator prognóstico, talvez porque o fator que mais influencie seja a extensão tumoral, que geralmente é o que determina o tratamento cirúrgico, em ressecção ampla ou amputação. Destaca-se o fato de que a maioria dos pacientes descritos em todos os trabalhos que estudaram os pacientes tratados nos últimos 60 anos não foi tratada adequadamente como é preconizado na atualidade. Um exemplo é um trabalho que avaliou retrospectivamente pacientes tratados na Europa no século passado, sendo que entre os 62 pacientes estudados, apenas 4 pacientes foram tratados adequadamente (KRIEG et al. 2011). Além do tratamento inadequado, muitas vezes o seguimento é inadequado, devendo-se lembrar das

metástase e recidivas tardias, com redução da TS em 5, 10 e 15 anos (KRIEG et al. 2011).

A densidade microvascular avaliada através da marcação de CD31 e D2-40 não mostrou diferença estatisticamente significativa na TS ou na TSLD avaliada para os 3 percentis (menor que 25, 25 a 75 e maior que 75) e medianas. A única exceção foi para a histopatologia, quando analisadas os percentis de DMV D2-40, sendo observada diferença estatisticamente significativa (p de 0,047). Porém quando observada a mediana de DMV D2-40, pode ser notada a semelhança dos valores e a ausência de significância estatística. Estes achados vão de encontro a resultados prévios que não mostraram correlação da densidade microvascular com o prognóstico de 54 pacientes com SS primários e recidivados (KAWAUCHI et al. 1999). Este mesmo estudo não mostrou associação entre a expressão de VEGF e a SG. Há um estudo em língua chinesa que relata em seu resumo que foi verificada correlação entre níveis de metaloproteinase de matriz (MMP2), níveis de inibidor tecidual de metaloproteinase (TIMP2) e potencial metastático em 72 pacientes com SS (SUN et al. 2006). Há outros estudos que avaliaram a DMV em diversos grupos de sarcomas de partes moles, com resultados conflitantes.

WEST et al. (2005) avaliaram a correlação clínico-patológica de 42 casos de sarcomas de partes moles, entre eles 2 casos de SS, sendo que a DMV avaliada através da marcação pelo CD31 não apresentou correlação com ocorrência de metástases. Também não mostrou correlação entre a DMV através do Fator VIII e a sobrevida, estudo que avaliou 119 pacientes

com sarcomas de partes moles primários (SAENZ et al. 1998). Já COMANDONE et al. (2003) mostraram diferenças na SLD entre os grupos com menor e maior DMV, sendo 35 pacientes com sarcomas de partes moles primários e 3 pacientes com SS. Outro estudo buscou correlacionar a expressão imunoistoquímica de VEGF e a DMV avaliada através do CD34 em 30 pacientes com sarcomas e 30 pacientes com tumores benignos, sendo 2 casos de SS. Houve correlação entre a expressão de VEGF e a DMV pelo CD34 (HARA et al. 2006).

Estudo que avaliou a concentração de VEGF sérico em 144 pacientes com diagnóstico de sarcoma de partes moles de diferentes subtipos mostrou correlação entre a concentração sérica de VEGF pré-tratamento e o estado pós-cirúrgico (HAYES et al. 2003). YUDOH et al. (2001) avaliaram a DMV através do Fator VIII e a concentração de VEGF baseado em metodologia de ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) em 115 pacientes com sarcomas de partes moles, entre eles 12 casos de SS, mostrando uma correlação positiva entre maiores níveis de VEGF e grau tumoral, recorrência local e à distância, estadiamento mais avançado e menor sobrevida, mas falhando em mostrar o mesmo para a DMV. GRAEVEN et al. (1999) estudaram o nível sérico de VEGF pré-operatório em 85 pacientes com diagnóstico de sarcoma de partes moles e 18 controles, verificando correlação positiva entre o nível de VEGF e o maior grau tumoral. Outro estudo mostrou correlação positiva entre a alta expressão imunoistoquímica de VEGF, a maior DMV e o maior grau tumoral (PAKOS et al. 2005).

Para outros tipos de sarcomas de partes moles, como o Schwannoma e Fibrohistiocitoma Maligno, não houve correlação entre a DMV e o prognóstico (OHSAWA et al. 1995; MIRACCO et al. 1996). IYODA et al. (2001) estudaram 27 casos de sarcomas torácicos, não havendo nenhum caso de SS, mostrando correlação entre a expressão de VEGF e a DMV avaliada através do CD34 e com a SLD.

A correlação entre a expressão de VEGF e CXCR4, receptor de citocina relacionado à quimiotaxia e ocorrência de metástases, foi estudada por ODA et al. (2009) em 176 pacientes, incluindo 24 casos de SS, entre eles 22 casos de tumores primários, mostrando que existe uma maior expressão de VEGF, CXCR4 e menor sobrevida. A alta expressão de VEGF avaliada por imunistoquímica foi detectada em sarcomas de partes moles de alto grau, em estudo que avaliou 79 amostras de pacientes com diferentes subtipos tumorais primários e recidivados, dentre eles somente 1 SS primário (CHAO et al. 2001).

Apesar desses resultados, não é possível dizer que a angiogênese não é importante para a ocorrência de metástases, mas sim que provavelmente a avaliação da DMV não é o melhor método para se avaliar a angiogênese de sarcomas de partes moles, entre eles o SS. Por exemplo, o VEGF poderia facilitar a ocorrência de metástases através de outro mecanismo que não seja aumentando a DMV, mas sim aumentando a permeabilidade vascular (DUBOIS e DEMETRI 2007). Da mesma forma, não é possível dizer que a linfangiogênese não é importante para a sobrevida

destes pacientes, apenas que a DMV pode não ser a melhor forma de estudar a linfangiogênese destes tumores.

Para a TSLD não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa em relação ao estadiamento tumoral, T1/ T2 ou N0/ N1. Também não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa em relação à histopatologia do tumor primário – indiferenciado, monofásico ou bifásico, apesar da menor TSLD ser do grupo com subtipo indiferenciado.

Em relação ao tipo de tratamento cirúrgico e às margens obtidas, não foi observada diferença na TSLD, apesar de menor TSLD para os pacientes que tiveram ressecção sem margens.

Pacientes que receberam quimioterapia e radioterapia neoadjuvantes tiveram maior TSLP.

Em relação às formas de avaliação da DMV, foi observada a correlação entre a DMV avaliada através do CD31 com a MVA CD31 e MVP CD31 e a associação da DMV avaliada através do D2-40 e MVP D2-40 em pacientes tratados primariamente no A.C. Camargo.

A análise multivariada não mostrou correlação entre os marcadores de DMV avaliada através do CD31 e o D2-40 e óbito e recorrência. Ou seja, o CD31 e o D2-40 não se mostraram fatores prognósticos para óbito ou recorrência. A adjuvância também não se mostrou um fator prognóstico. O estadio clínico-patológico se mostrou um fator prognóstico.

7 CONCLUSÕES

Frente aos resultados apresentados pode-se concluir que:

1. A densidade microvascular sanguínea e linfática intra-tumoral não se mostrou um fator prognóstico em sarcomas sinoviais;
2. Foram fatores desfavoráveis para o prognóstico o estadio clínico III / tumores T2/ positividade linfonodal e o padrão histopatológico indiferenciado (apenas na análise univariada); o gênero masculino e a idade superior a 25 anos, apesar da menor taxa de sobrevida, não tiveram significância estatística;
3. O uso de radioterapia adjuvante esteve associado à maior sobrevida livre de doença;
4. De acordo com a análise multivariada, o estadio clínico-patológico segue sendo o fator prognóstico mais relevante.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Rawi MA, Mansel RE, Jiang WG, et al. Lymphangiogenesis and its role in cancer. **Histol Histopathol** 2005; 20:283-98.

Baluk P, Fluxe J, Hashizume H, et al. Functionally specialized junctions between endothelial cells of lymphatic vessels. **J Exp Med** 2007; 204:2349-62.

Benesch M, Windelberg M, Sauseng W, et al. Compassionate use of bevacizumab (Avastin) in children and young adults with refractory or recurrent solid tumors. **Ann Oncol** 2008; 19:807-13.

Bergh P, Meis-Kindblom JM, Gherlinzoni F, et al. Synovial sarcoma: identification of low and high risk groups. **Cancer** 1999; 85:2596-607.

Bhargava P, Marshall JL, Dahut W, et al. A phase I and pharmacokinetic study of squalamine, a novel antiangiogenic agent, in patients with advanced cancers. **Clin Cancer Res** 2001; 7:3912-9.

Billings SD, Walsh SV, Fisher C, Nusrat A, Weiss SW, Folpe AL. Aberrant expression of tight junction-related proteins ZO-1, claudin-1 and occludin in synovial sarcoma: an immunohistochemical study with ultrastructural correlation. **Mod Pathol** 2004; 17:141-9.

Blazer DG 3rd, Sabel MS, Sondak VK. Is there a role for sentinel lymph node biopsy in the management of sarcoma? **Surg Oncol** 2003; 12:201-6.

Brecht IB, Ferrari A, Int-Veen C, et al. Grossly-resected synovial sarcoma treated by the German and Italian Pediatric Soft Tissue Sarcoma Cooperative Groups: discussion on the role of adjuvant therapies. **Pediatr Blood Cancer** 2006; 46:11-7.

Breiteneder-Geleff S, Soleiman A, Kowalski H, et al. Angiosarcomas express mixed endothelial phenotypes of blood and lymphatic capillaries: podoplanin as a specific marker for lymphatic endothelium. **Am J Pathol** 1999; 154:385-94.

Brown FM, Fletcher CD. Problems in grading soft tissue sarcomas. **Am J Clin Pathol** 2000; 114 Suppl:S82-9.

Cagle LA, Mirra JM, Storm FK, Roe DJ, Eilber FR. Histological features relating to prognosis in synovial sarcoma. **Cancer** 1987; 59:1810-4.

Chao C, Al-Saleem T, Brooks JJ, Rogatko A, Kraybill WG, Eisenberg B. Vascular endothelial growth factor and soft tissue sarcomas: tumor expression correlates with grade. **Ann Surg Oncol** 2001; 8:260-7.

Coindre JM, Terrier P, Guillou L, et al. Predictive value of grade for metastasis development in the main histologic types of adult soft tissue sarcomas: a study of 1240 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. **Cancer** 2001; 91:1914-26.

Comandone A, Boglione A, Berardengo E, et al. for the Italian Sarcoma Group. Microvessel density (MVD) as a marker of neoangiogenesis: prognostic significance in correlation to grading and stage in adult soft tissue sarcoma (STS) of the extremities: a perspective study. **Proc Am Soc Clin Oncol** 2003; A3303.

Corrêa DS, Cunha IW, Carvalho AL, Soares FA, Falzoni R, Lopes A. Sarcoma sinovial de extremidades com doença localizada ao diagnóstico: tratamento e padrões de recidiva em 57 casos. **Rev Col Bras Cir** 2005; 32:304-9.

D'Adamo DR, Anderson SE, Albritton K, et al. Phase II study of doxorubicin and bevacizumab for patients with metastatic soft-tissue sarcomas. **J Clin Oncol** 2005; 23:7135-42.

de Almeida-Lawall M, Mosqueda-Taylor A, Bologna-Molina RE, et al. Synovial sarcoma of the tongue: case report and review of the literature. **J Oral Maxillofac Surg** 2009; 67:914-20.

de Bruijn DR, Allander SV, van Dijk AH, et al. The synovial-sarcoma-associated SS18-SSX2 fusion protein induces epigenetic gene (de)regulation. **Cancer Res** 2006; 66:9474-82.

de Bruijn DR, Nap JP, van Kessel AG. The (epi)genetics of human synovial sarcoma. **Genes Chromosomes Cancer** 2007; 46:107-17.

de Silva MV, McMahon AD, Reid R. Prognostic factors associated with local recurrence, metastases, and tumor-related death in patients with synovial sarcoma. **Am J Clin Oncol** 2004; 27:113-21.

DeLisser HM, Newman PJ, Albelda SM. Platelet endothelial cell adhesion molecule (CD31). **Curr Top Microbiol Immunol** 1993; 184:37-45.

Deshmukh R, Mankin HJ, Singer S. Synovial Sarcoma: the importance of size and location for survival. **Clin Orthop** 2004; 419:155-61.

DuBois S, Demetri G. Markers of angiogenesis and clinical features in patients with sarcoma. **Cancer** 2007; 109:813-9.

Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A. **AJCC cancer staging manual**. 7th ed. New York: Springer Verlag; 2010. Soft tissue sarcoma; p.291-8.

Eilber FC, Brennan MF, Riedel E, Alektiar KM, Antonescu CR, Singer S. Prognostic factors for survival in patients with locally recurrent extremity soft tissue sarcomas. **Ann Surg Oncol** 2005; 12:228-36.

Eilber FC, Brennan MF, Eilber FR, et al. Chemotherapy is associated with improved survival in adult patients with primary extremity synovial sarcoma. **Ann Surg** 2007; 246:105-13.

Eilber FC, Dry SM. Diagnosis and management of synovial sarcoma. **J Surg Oncol** 2008; 97:314-20.

Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). **European Journal of Cancer** 2009; 45:228-57.

Eriksson M. Histology-driven chemotherapy of soft-tissue sarcoma. **Ann Oncol** 2010; 21 Suppl 7:vii270-vii276.

Fayette J, Coquard IR, Alberti L, et al. ET-743: a novel agent with activity in soft-tissue sarcomas. **Curr Opin Oncol** 2006; 18:347-53.

Ferrari A, Collini P. **Synovial sarcoma. 2005 Liddy Shriver Sarcoma Initiative**. Disponível em: <URL:http://sarcomahelp.org/learning_center/synovial_sarcoma.html> [2011 jun 2]

Ferrari A, Gronchi A, Casanova M, et al. Synovial sarcoma: a retrospective analysis of 271 patients of all ages treated at a single institution. **Cancer** 2004; 101:627-34.

Fisher C. Synovial sarcoma. **Ann Diagn Pathol** 1998; 2:401-21.

Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. **N Engl J Med** 1971; 285: 1182-6.

Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? **Natl Cancer Inst** 1990; 82:4-6.

Fonsatti E, Del Vecchio L, Attomonte M, et al. Endoglin: an accessory component of the TGF-beta-binding receptor-complex with diagnostic, prognostic and bioimmunotherapeutic potential in human malignancies. **J Cell Physiol** 2001; 188: 1-7.

Fox SB, Gasparini G, Harris AL. Angiogenesis: pathological, prognostic, and growth-factor pathways and their link to trial design and anticancer drugs. **Lancet Oncol** 2001; 2:278-89.

Fukumura D, Jain RK. Tumor microvasculature and microenvironment: targets for anti-angiogenesis and normalization. **Microvasc Res** 2007; 74:72-84.

Ganjoo K, Jacobs C. Antiangiogenesis agents in the treatment of soft tissue sarcomas. **Cancer** 2010; 116:1177-83.

Graeven U, Andre N, Achilles E, Zornig C, Schmiegel W. Serum levels of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in patients with soft-tissue sarcoma. **J Cancer Res Clin Oncol** 1999; 125:577-81.

Gronchi A, Casali PG, Mariani L, et al. Status of surgical margins and prognosis in adult soft tissue sarcomas of the extremities: a series of patients treated at a single institution. **J Clin Oncol** 2005; 23:96-104.

Guillou L, Benhattar J, Bonichon F, et al. Histologic grade, but not SYT-SSX fusion type, is an important prognostic factor in patients with synovial sarcoma: a multicenter, retrospective analysis. **J Clin Oncol** 2004; 22:4040-50.

Hanahan D, Christofori G, Naik P, Arbeit J. Transgenic mouse models of tumour angiogenesis: the angiogenic switch, its molecular controls, and prospects for preclinical therapeutic models. **Eur J Cancer** 1996; 32A:2386-93.

Hansen S, Grabau DA, Sørensen FB, Bak M, Vach W, Rose C. The prognostic value of angiogenesis by Chalkley counting in a confirmatory study design on 836 breast cancer patients. **Clin Cancer Res** 2000; 6:139-46.

Hara H, Akisue T, Fujimoto T, et al. Expression of VEGF and its receptors and angiogenesis in bone and soft tissue tumors. **Anticancer Res** 2006; 26:4307-11.

Hasegawa T, Yokoyama R, Matsuno Y, Shimoda T, Hirohashi S. Prognostic significance of histologic grade and nuclear expression of beta-catenin in synovial sarcoma. **Hum Pathol** 2001; 32:257-63.

Hayes AJ, Mostyn-Jones A, Koban MU, A'Hern R, Burton P, Thomas JM. Serum vascular endothelial growth factor as a tumour marker in soft tissue sarcoma. **Br J Surg** 2004; 91:242-7.

Heymach JV. Angiogenesis and antiangiogenic approaches to sarcomas. **Curr Opin Oncol** 2001; 13:261-9.

Heymach JV, Desai J, Manola J, et al. Phase II study of the antiangiogenic agent SU5416 in patients with advanced soft tissue sarcomas. **Clin Cancer Res** 2004; 10:5732-40.

Horvai AE, Kramer MJ, O'Donnell R. Beta-catenin nuclear expression correlates with cyclin D1 expression in primary and metastatic synovial sarcoma: a tissue microarray study. **Arch Pathol Lab Med** 2006; 130:792-8.

Huang G, Chen L. Tumor vasculature and microenvironment normalization: a possible mechanism of antiangiogenesis therapy. **Cancer Biother Radiopharm** 2008; 23:661-7.

Ito T, Ouchida M, Morimoto Y, et al. Significant growth suppression of synovial sarcomas by the histone deacetylase inhibitor FK228 in vitro and in vivo. **Cancer Lett** 2005; 224:311-9.

Iyoda A, Hiroshima K, Baba M, Fujisawa T, Yusa T, Ohwada H. Expression of vascular endothelial growth factor in thoracic sarcomas. **Ann Thorac Surg** 2001; 71:1635-9.

Jackson DE. The unfolding tale of PECAM-1. **FEBS Lett** 2003; 540:7-14.

Jain RK. Delivery of molecular and cellular medicine to solid tumors. **Adv Drug Deliv Rev** 2000; 26:71-90.

Ji RC. Lymphatic endothelial cells, tumor lymphangiogenesis and metastasis: New insights into intratumoral and peritumoral lymphatics. **Cancer Metastasis Rev** 2006; 25:677-94.

Kalof AN, Cooper K. D2-40 immunohistochemistry – so far! **Adv Anat Pathol** 2009; 16: 62-4.

Kawauchi S, Fukuda T, Tsuneyoshi M. Angiogenesis does not correlate with prognosis or expression of vascular endothelial growth factor in synovial sarcomas. **Oncol Rep** 1999; 6:959-64.

Krieg AH, Hefti F, Speth BM, et al. Synovial sarcomas usually metastasize after >5 years: a multicenter retrospective analysis with minimum follow-up of 10 years for survivors. **Ann Oncol** 2011; 22:458-67.

Ladanyi M, Antonescu CR, Leung DH, et al. Impact of SYT-SSX fusion type on the clinical behavior of synovial sarcoma: a multi-institutional retrospective study of 243 patients. **Cancer Res** 2002; 62:135-40.

Ladenstein R, Treuner J, Koscielniak E, et al. Synovial sarcoma of childhood and adolescence: report of the German CWS-81 study. **Cancer** 1993; 71:3647-55.

Leek RD. The prognostic role of angiogenesis in breast cancer. **Anticancer Res** 2001; 21:4325-31.

Lentsch EJ, Goudy S, Sosnowski J, Major S, Bumpous JM. Microvessel density in head and neck squamous cell carcinoma primary tumors and its correlation with clinical staging parameters. **Laryngoscope** 2006; 116:397-400.

Lewis JJ, Antonescu CR, Leung DH, et al. Synovial sarcoma: a multivariate analysis of prognostic factors in 112 patients with primary localized tumors of the extremity. **J Clin Oncol** 2000; 18:2087-94.

Lubieniecka JM, de Bruijn DR, Su L, et al. Histone deacetylase inhibitors reverse SS18-SSX-mediated polycomb silencing of the tumor suppressor early growth response 1 in synovial sarcoma. **Cancer Res** 2008; 68:4303-10.

Mackenzie DH. Monophasic synovial sarcoma--a histological entity? **Histopathology** 1977; 1:151-7.

Maduekwe UN, Hornicek FJ, Springfield DS, et al. Role of sentinel lymph node biopsy in the staging of synovial, epithelioid, and clear cell sarcomas. **Ann Surg Oncol** 2009; 16:1356-63.

Maio M, Altomonte M, Calabro L, Fonsatti E. Bioimmunotherapeutic targets on angiogenetic blood vessels in solid malignancies. **Fronties Biosc** 2001; 6:D776-84.

Makinen T, Norrmén C, Petrova TV. Molecular mechanisms of lymphatic vascular development. **Cell Mol Life Sci** 2007; 64:1915-29.

Maurer HM, Beltangady M, Gehan EA, et al. The Intergroup Rhabdomyosarcoma Study-I. A final report. **Cancer** 1988; 61:209-20.

Miettinen M, Virtanen I. Synovial sarcoma--a misnomer. **Am J Pathol** 1984; 117:18-25.

Minchom A, Jones RL, Fisher C, et al. Clinical benefit of second-line palliative chemotherapy in advanced soft-tissue sarcoma. **Sarcoma** 2010; 2010:264360.

Miracco C, Montesco MC, Santopietro R, et al. Proliferative activity, angiogenesis, and necrosis in peripheral nerve sheath tumors: a quantitative evaluation for prognosis. **Mod Pathol** 1996; 9:1108-17.

Moberger G, Nilsson U, Friberg S. Synovial sarcoma. **Acta Orthopaedica Scand** 1968; 111:3-38.

Mousa SA. Cell adhesion molecules: potential therapeutic and diagnostic implications. **Mol Biothechnol** 2008; 38:33-40.

Mullen JR, Zagars GK. Synovial sarcoma outcome following conservation surgery and radiotherapy. **Radiother Oncol** 1994; 33:23-30.

Murphey MD, Gibson MS, Jennings BT, Crespo-Rodríguez AM, Fanburg-Smith J, Gajewski DA. From the archives of the AFIP: Imaging of synovial sarcoma with radiologic-pathologic correlation. **Radiographics** 2006; 26:1543-65.

Nico B, Benagiano V, Mangieri D, Maruotti N, Vacca A, Ribatti D. Evaluation of microvascular density in tumors: pro and contra. **Histol Histopathol** 2008; 23: 601-7.

Oda Y, Hashimoto H, Tsuneyoshi M, Takeshita S: Survival in synovial sarcoma. A multivariate study of prognostic factors with special emphasis on the comparison between early death and long-term survival. **Am J Surg Pathol** 1993; 17:35-44.

Oda Y, Tateishi N, Matono H, et al. Chemokine receptor CXCR4 expression is correlated with VEGF expression and poor survival in soft-tissue sarcoma. **Int J Cancer** 2009; 124:1852-9.

Ohsawa M, Tomita Y, Kuratsu S, Kanno H, Aozasa K. Angiogenesis in malignant fibrous histiocytoma. **Oncology** 1995; 52:51-4.

Okcu MF, Munsell M, Treuner J, et al. Synovial sarcoma of childhood and adolescence: a multicenter, multivariate analysis of outcome. **J Clin Oncol** 2003; 21:1602-11.

Pakos EE, Goussia AC, Tsekeris PG, Papachristou DJ, Stefanou D, Agnantis NJ. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor, KDR/Flk-1, in soft tissue sarcomas. **Anticancer Res** 2005; 25:3591-6.

Pappo AS, Fontanesi J, Luo X, et al. Synovial sarcoma in children and adolescents: the St Jude Children's Research Hospital experience. **J Clin Oncol** 1994; 12:2360-6.

Partanen TA, Paavonen K. Lymphatic versus blood vascular endothelial growth factors and receptors in humans. **Microscopy Res Techn** 2001; 55:108-21.

Paulino AC. Synovial sarcoma prognostic factors and patterns of failure. **Am J Clin Oncol** 2004; 27:122-7.

Pretto D, Barco R, Rivera J, Neel N, Gustavson MD, Eid JE. The synovial sarcoma translocation protein SYT-SSX2 recruits beta-catenin to the nucleus and associates with it in an active complex. **Oncogene** 2006; 25:3661-9.

Raica M, Cimpean AM, Ribatti D. The role of podoplanin in tumor progression and metastasis. **Anticancer Res** 2008; 28:2997-3006.

Ray-Coquard I, Le Cesne A, Whelan JS, et al. A phase II study of gefitinib for patients with advanced HER-1 expressing synovial sarcoma refractory to doxorubicin-containing regimens. **Oncologist** 2008; 13:467-73.

Reis-Filho JS, Schmitt FC. Lymphangiogenesis in tumors: what do we know? **Microscopy Res Techn** 2003; 60: 171-80.

Rosenberg SA, Tepper J, Glatstein E, et al. The treatment of soft tissue sarcoma of the extremities: prospective randomized evaluation of (1) limb-sparing surgery plus radiation therapy compared with amputation and (2) the role of adjuvant chemotherapy. **Ann Surg** 1982; 196: 305-9.

Saenz NC, Heslin MJ, Adsay V, et al. Neovascularity and clinical outcome in high-grade extremity soft tissue sarcomas. **Ann Surg Oncol** 1998; 5:48-53.

[SMAC] Sarcoma Meta-analysis Collaboration. Adjuvant chemotherapy for localised resectable soft-tissue sarcoma in adults. **Cochrane Database Syst Rev** 2000; (4):CD001419.

[SMAC] Sarcoma Meta-analysis Collaboration. Adjuvant chemotherapy for localised resectable soft-tissue sarcoma of adults: meta-analysis of individual data. **Lancet** 1997; 350:1647-54.

Schittler HJ. Structural and functional aspects of intercellular junctions in vascular endothelium. **Basic Res Cardiol** 1998; 93:30-9.

Schöffski P, Dumez H, Wolter P, et al. Clinical impact of trabectedin (ecteinascidin-743) in advanced/metastatic soft tissue sarcoma. **Expert Opin Pharmacother** 2008; 9:1609-18.

Scoggins CR, Pollock R. Extremity soft tissue sarcoma: evidence-based multidisciplinary management. **J Surg Oncol** 2005; 90: 10-13.

Sharma S, Sharma MC, Sarkar C. Morphology of angiogenesis in human cancer: a conceptual overview, histoprognostic perspective and significance of neoangiogenesis. **Histopathology** 2005; 46:481-9.

Sheibani N, Newman PJ, Frazier WA. Thrombospondin-1, a natural inhibitor of angiogenesis, regulates platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 expression and endothelial cell morphogenesis. **Mol Biol Cell** 1997; 8:1329-41.

Sheibani N, Frazier WA. Thrombospondin-1, PECAM-1, and regulation of angiogenesis. **Histol Histopathol** 1999; 14: 285-94.

Siegel HJ, Sessions W, Casillas MA Jr, Said-Al-Naief N, Lander PH, Lopez-Ben R. Synovial sarcoma: clinicopathologic features, treatment, and prognosis. **Orthopedics** 2007; 30:1020-5.

Singer S, Baldini EH, Demetri GD, Fletcher JA, Corson JM. Synovial sarcoma: prognostic significance of tumor size, margin of resection, and mitotic activity for survival. **J Clin Oncol** 1996; 14:1201-8.

Skobe M, Rockwell P, Goldstein N, et al. Halting angiogenesis suppresses carcinoma cell invasion. **Nat Med** 1997; 3:1222-7.

Skytting B. Synovial sarcoma: a Scandinavian Sarcoma Study Group project. **Acta Orthop Scand Suppl** 2000; 291:1-28

Sleeman JP, Krishnan J, Baumann P. Markers for the lymphatic endothelium: in search of the holy grail. **Micros Res Tech** 2001; 55: 61-9.

Sleijfer S, Ray-Coquard I, Papai Z, et al. Pazopanib, a multikinase angiogenesis inhibitor, in patients with relapsed or refractory advanced soft tissue sarcoma: a phase II study from the European organisation for research and treatment of cancer-soft tissue and bone sarcoma group (EORTC study 62043). **J Clin Oncol** 2009; 27:3126-32.

Sleijfer S, Ouali M, van Glabbeke M, et al. Prognostic and predictive factors for outcome to first-line ifosfamide-containing chemotherapy for adult patients with advanced soft tissue sarcomas: an exploratory, retrospective analysis on large series from the European Organization for Research and Treatment of Cancer-Soft Tissue and Bone Sarcoma Group (EORTC-STBSG). **Eur J Cancer** 2010; 46:72-83.

Smith S, Reuers BR, Wong L, Fisher C. **Cancer Genet Cytogenet** 1987; 26: 179-80.

Soule EH. Synovial sarcoma. **Am J Surg Pathol** 1986; 10 Suppl 1:78-82.

Spillane AJ, A'Hern R, Judson IR, Fisher C, Thomas JM. Synovial sarcoma: a clinicopathologic, staging, and prognostic assessment. **J Clin Oncol** 2000; 18:3794-803.

Sun BC, Sun Y, Zhao XL, Wang J, Wang X, Liu YX. Correlation between matrix metalloproteinases-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression, metastatic potential and tumor angiogenesis in synovial sarcoma and its prognostic significance [abstract]. **Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi** 2006; 35:155-8.

Takenaka S, Ueda T, Naka N, et al. Prognostic implication of SYT-SSX fusion type in synovial sarcoma: a multi-institutional retrospective analysis in Japan. **Oncol Rep** 2008; 19:467-76.

Tomlinson J, Barsky SH, Nelson S, et al. Different patterns of angiogenesis in sarcomas and carcinomas. **Clin Cancer Res** 1999; 5:3516-22.

Trassard M, Le Doussal V, Hacène K, et al. Prognostic factors in localized primary synovial sarcoma: a multicenter study of 128 adult patients. **J Clin Oncol** 2001; 19:525-34.

Tsujimoto M, Ueda T, Nakashima H, Hamada H, Ishiguro S, Aozasa K. Monophasic and biphasic synovial sarcoma: an immunohistochemical study. **Acta Pathol Jpn** 1987; 37:597-604.

Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Oosterhuis JW, et al. Prognostic factors for the outcome of chemotherapy in advanced soft tissue sarcoma: an analysis of 2,185 patients treated with anthracycline-containing first-line regimens--a European Organization for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group Study. **J Clin Oncol** 1999; 17:150-7.

Van Hinsbergh VM, Collen A, Koolwijk P. Angiogenesis and anti-angiogenesis: perspectives for the treatment of solid tumors. **Ann Oncol** 1999; 10:60-3.

Vermeulen PB, Dirix LY, Van Marck E, Van Oosterom AT. High endothelial cell proliferation index and high microvessel density in vascular hotspots suggest an active angiogenic process in human colorectal adenocarcinomas. Angiogenesis Group. **Br J Cancer** 1996a; 74:1506-7.

Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, et al. Quantification of angiogenesis in solid human tumours: an international consensus on the methodology and criteria of evaluation. **Eur J Cancer** 1996b; 32A:2474-84.

Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB, et al. Second international consensus on the methodology and criteria of evaluation of angiogenesis quantification in solid human tumours. **Eur J Cancer** 2002; 38:1564-79.

Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. **N Engl J Med** 1991; 324:1-8.

Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors. **Breast Cancer Res Treat** 1995; 36:169-80.

Weiss SW. Franz M. **Enzinger: his life and work**. Available from: <URL:<http://www.pathologyportal.org/95th/pdf/companion10h.pdf>> [2011 jun 2]

West CC, Brown NJ, Mangham DC, Grimer RJ, Reed MW. Microvessel density does not predict outcome in high grade soft tissue sarcoma. **Eur J Surg Oncol** 2005; 31:1198-205.

West RB. Expression profiling in soft tissue sarcomas with emphasis on synovial sarcoma, gastrointestinal stromal tumor, and leiomyosarcoma. **Adv Anat Pathol** 2010; 17:366-73.

Wicki A, Chirtofori G. The potential role of podoplanin in tumor invasion. **Br J Cancer** 2007; 96:1-5.

Woodfin A, Voisin MB, Nourshargh S. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology. **Arteriosclerosis, Thromb Vascular Biol** 2007; 27:2514-23.

Wright PH, Sim FH, Soule EH, Taylor WF. Synovial sarcoma. **J Bone Joint Surg Am** 1982; 64:112-22.

Wunder JS, Nielsen TO, Maki RG, O'Sullivan B, Alman BA. Opportunities for improving the therapeutic ratio for patients with sarcoma. **Lancet Oncol** 2007; 8:513-24. Erratum in: **Lancet Oncol** 2007; 8):670.

Yudoh K, Kanamori M, Ohmori K, Yasuda T, Aoki M, Kimura T. Concentration of vascular endothelial growth factor in the tumour tissue as a prognostic factor of soft tissue sarcomas. **Br J Cancer** 2001; 84:1610-5.

Zhang L, Yu D, Hu M, Xiong S, Lang A, Ellis LM, Pollock RE. Wild-type p53 suppresses angiogenesis in human leiomyosarcoma and synovial sarcoma by transcriptional suppression of vascular endothelial growth factor expression. **Cancer Res** 2000; 60:3655-61.

Zito RA. Synovial sarcoma: an Australian series of 48 cases. **Pathology** 1984; 16:45-52.

Apêndice 1 – Protocolo de Coleta de Dados dos Pronturários

Dados clínicos admissionais:

Dados da identificação

Data de admissão

Dados clínicos – sintoma inicial

Tempo de sintomas até ajuda médica

Exame Físico – diâmetros tumorais no exame físico inicial/ linfonodos palpáveis e ausculta pulmonar

Antecedente Pessoais

Clínicos

Cirúrgicos

Antecedentes Familiares

Câncer prévio

Doenças crônicas e outras comorbidades

Hábitos de Vida

Tabagismo

Etilismo

Local do tumor primário:

Membros superiores – braço, cotovelos, antebraço, mão (metacarpos, falanges)

Membros inferiores – coxas, joelhos, pernas, pés (metatarsos, falanges)

Outros sítios

Delimitação local do tumor primário

Proximal/ distal

Anterior/ posterior

Interno ou medial

Externo ou lateral

Plantar ou palmar

Dorsal

Circunferencial

Direito ou esquerdo quando tumor acomete membro

Estadiamento (baseado em dados clínicos iniciais)

T1 tumor menor que 5 cm

T2 tumor maior ou igual a 5 cm

N0 linfonodo negativo

N1 linfonodo positivo

M0 ausência de metástase à distância

M1 metástase presente à distância

Dados relacionados à manipulação tumoral inicial

Data da primeira biópsia

Intervalo entre clínica e início do tratamento adequado

Conduta inicial imprópria para sarcoma

Biópsia incisional ou excisional

Macroscopia

Evidência da profundidade

Microscopia

Tratamento inicial

Data do tratamento inicial

Data do tratamento inicial neste serviço

Descrição da primeira cirurgia realizada neste Serviço

Achado da primeira cirurgia

Amputação inicial ou em algum momento

Negação da amputação

Causa de amputação

Ressecção da massa tumoral apenas ou biópsia excisional ou tratamento cirúrgico sem margens oncológicas adequadas

Ressecção ampla com margens oncológicas

Dados relacionados à recidiva

Tipo de recidiva: local, linfonodal, à distância.

Sítio de metástase à distância

Tratamento da recidiva

Dados relacionados à evolução da doença e necessidade de tratamentos outros

Local tratado com Radioterapia Paliativa

Quimioterapia realizada

Número de ciclos de quimioterapia

Complicações relacionadas ao tratamento

Complicações cirúrgicas, quimioterápicas, radioterápicas e clínicas

Interrupção do tratamento

Causa de interrupção

Momento de interrupção do tratamento

Motivo do atraso do tratamento

Causa do óbito

Tratamentos

Quimioterapia neoadjuvante

Radioterapia neoadjuvante

Quimioterapia transoperatória

Quimioterapia adjuvante

Radioterapia adjuvante

Tratamento combinado (quimiorradioterapia) neo/ adjuvante

Quimioterapia paliativa

Uso de ifosfamida e em qual situação – neoadjuvância/ adjuvância/ palição

Apêndice 2 – Protocolo de Tratamento para pacientes com Sarcoma de Partes Moles (décadas de 70 - 80, A.C. Camargo) e mudança na década de 90 aos dias atuais

Conduta pré-operatória:

Exame clínico incluindo o exame locorregional detalhado, Raios-X de tórax PA e Perfil, Raios-X local tumor (época em que não havia Tomografia Computadorizada), Perfil Imunológico, incluindo PPD (teste tuberculínico).

Tratamento radioterápico pré-operatório:

Tumores ressecáveis localmente: 2000 rads (5 x 400) + quimioterapia radiosensibilizante com 5-fluorouracil endovenoso 500mg (no 1º e 4º dias)

Tumores residuais ressecáveis localmente: 2000 rads (5x 400) + 5-fluorouracil 500mg (no 1º e 4º dias)

Tumores não ressecáveis localmente: 6000 rads em aproximadamente 6 semanas

Poliquimioterapia (nos casos não-ressecáveis localmente):

Doxorrubicina 0,6mg/Kg

Ciclofosfamida 8mg/kg

Vincristina 1mg

5-Fluorouracil 15 mg/Kg

Na 1ª e 3ª semanas deveriam ser administrados EV, num mínimo de 21 dias e máximo de 28 dias

Levamisol 1cp 3 dias consecutivos em semanas alternadas

Tratamento cirúrgico

Ressecção radical

Ressecção radical com esvaziamento (em continuidade ou à distância)

Amputação e desarticulação

Ressecções múltiplas

Ressecções de metástases à distância (imediate e mediata)

Cirurgias paliativas (higienização, para alívio de sintomas, para reduzir sangramentos, etc.)

Quimioterapia intracirúrgica

Doxorrubicina 0,8mg/kg

Thiotepa ** 10mg/m²

Thiotepa ** na quantidade de 20mg diluídos em 100mL de Soro nas compressas

** Thiotepa é o nome comercial para TSPA – Agente alquilante subtipo mostarda nitrogenada que pode ter aplicação intra-cavitária

Quimioterapia no pós-operatório imediato

Doxorrubicina 0,8mg/Kg (máximo de 50mg)

Ciclofosfamida 10mg/kg

Vincristina 1mg

5-Fluorouracil 15 mg/Kg

Iniciar 3 semanas após complementação cirúrgica. Repetir a cada 21 dias por 10 ciclos

Imunoterapia com BCG do 7º ao 17º dias, adulto 300mg/dia e criança até 30 Kg 100mg/dia

Radioterapia no pós-operatório

Nos casos de ressecção radical e ressecção radical com esvaziamento, aplicar 3000 a 4000 rads

Protocolo mais recente para Sarcoma de Partes Moles Hospital A.C.Camargo

Esquema para doença locorregional em pacientes sem tratamento prévio

Padronizações do departamento de Cirurgia Pélvica:

Tumor superficial: localizado acima da fáscia superficial , sem invadi-la.

Tumor profundo: invade a fáscia superficial ou está abaixo dela. Sarcomas do mediastino, retroperitônio e pélvis são considerados profundos.

Biópsia excisional: para lesões pequenas e superficiais.

Biópsia incisional e/ou tru-cut: para lesões maiores e/ou profundas.

A incisão deve obedecer o maior eixo da localização topográfica do tumor.

É considerada cirurgia adequada aquela que obedece os princípios de ressecção tridimensional.

As linfadenectomias em monobloco ou dibloco serão realizadas na presença de linfonodos clinicamente positivos e quando o tumor estiver localizado em área de drenagem linfática.

O cirurgião deverá colher material para o banco de tumores por ocasião da biópsia em conjunto com o patologista.

Aspectos do tratamento:

Tumores de alto grau passíveis de ressecção adequada: cirurgia

1. Braquiterapia: HDR 18Gy em 6 frações de 3 Gy, 2x dia em 3 dias com início no 5º PO + Teleterapia 45 Gy: 180 cGy/dia, 5 x na semanas (25 sessões).
2. Teleterapia: quando não tiver realizado 1. Dose total de 60 Gy, com reduções aos 45 e 55 Gy. Fracionamento: 180 cGys/dia, 5 vezes por semana (33 sessões).
3. QT adjuvante para KPS > 70%

Tumores não passíveis de ressecção adequada

1. Teleterapia: 30Gys
2. Fracionamento: 250cGy/dia, 5 x semana (12 sessões) + Quimioterapia com doxorrubicina semanal 20mg/m² em bolus durante a radioterapia + cirurgia 4 semanas após

Se ressecção marginal completar radioterapia

1. Braquiterapia: HDR 21Gy em 6 frações de 3,5 Gy, em 3 dias com início no 5º PO ou
2. Teleterapia 25 Gy, quando não tiver realizado 1.

Fracionamento: 180 cGys/dia, 5 vezes por semana (14 sessões).

Se não for possível ressecção marginal, realizar amputação.

Tumores não passíveis de ressecção adequada e que aceitam inclusão em protocolo: quimioterapia neoadjuvante e radioterapia pós-operatória

Quimioterapia neoadjuvante (3 ciclos): doxorrubicina 30mg/m² D1 e D2 em bolus, ifosfamida 2g/m² D1 a D5, Mesna 100% da dose de ifosfamida

Cirurgia 4 semanas após o ciclo 3

Radioterapia adjuvante (teleterapia ou braquiterapia)

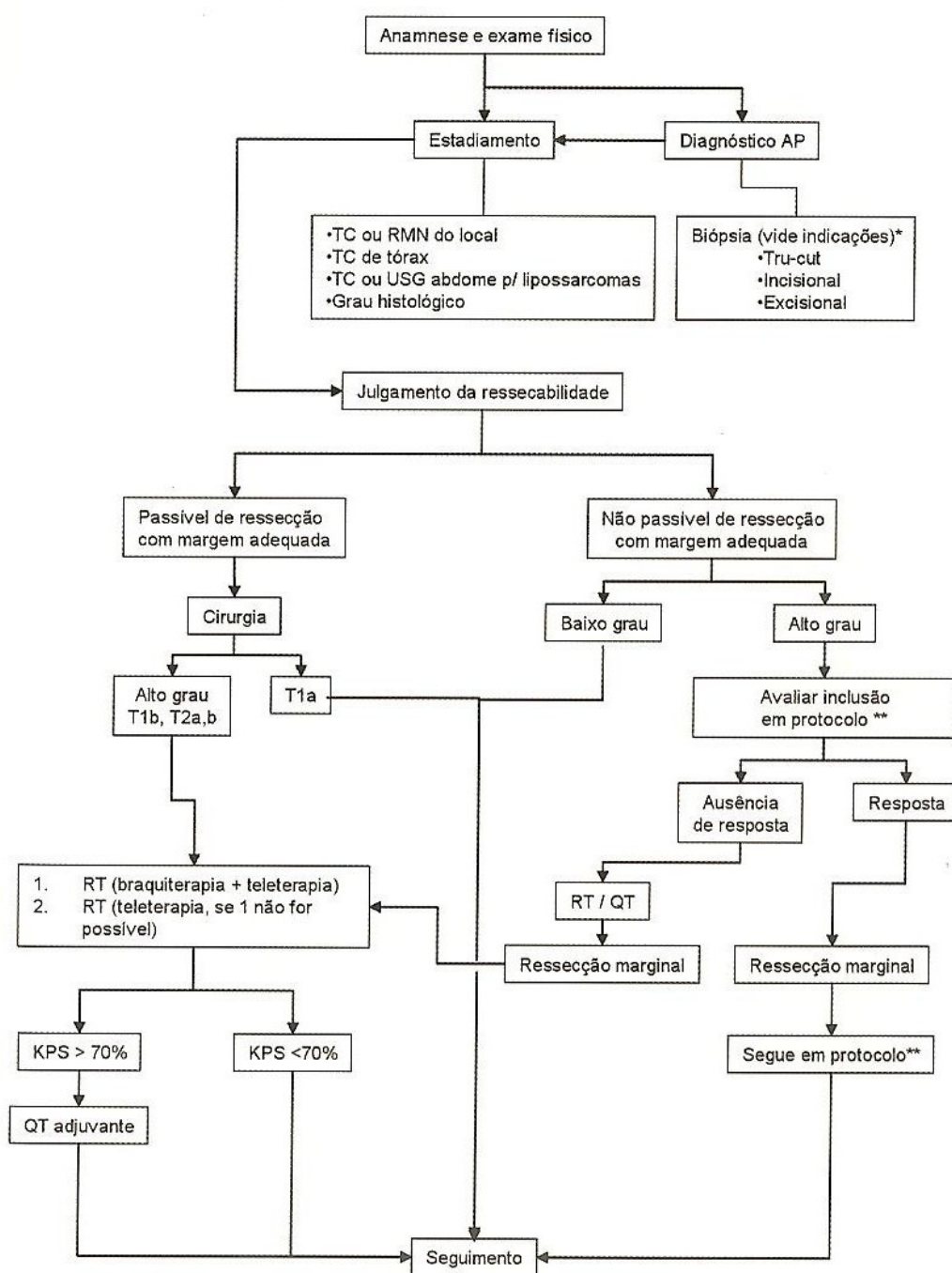
Quimioterapia neoadjuvante concomitante à radioterapia com doxorrubicina 20mg/m² EV em bolus D1, D8, D15.

Quimioterapia neoadjuvante sem radioterapia (protocolo investigacional com termo de consentimento pós-informado)

Protocolo 3 ciclos de quimioterapia seguida de reavaliação para cirurgia e avaliação AP (anátomo-patológica): ifosfamida 2g/m² D1 a D5, em 2 horas + Mesna 100% da dose de ifosfamida em infusão contínua em 24 horas ou 1/3 da dose meia hora antes da lfo, 4h e 8h após + doxorrubicina 60mg/m² D1 bolus ou doxorrubicina 30mg/m² D1 e D2

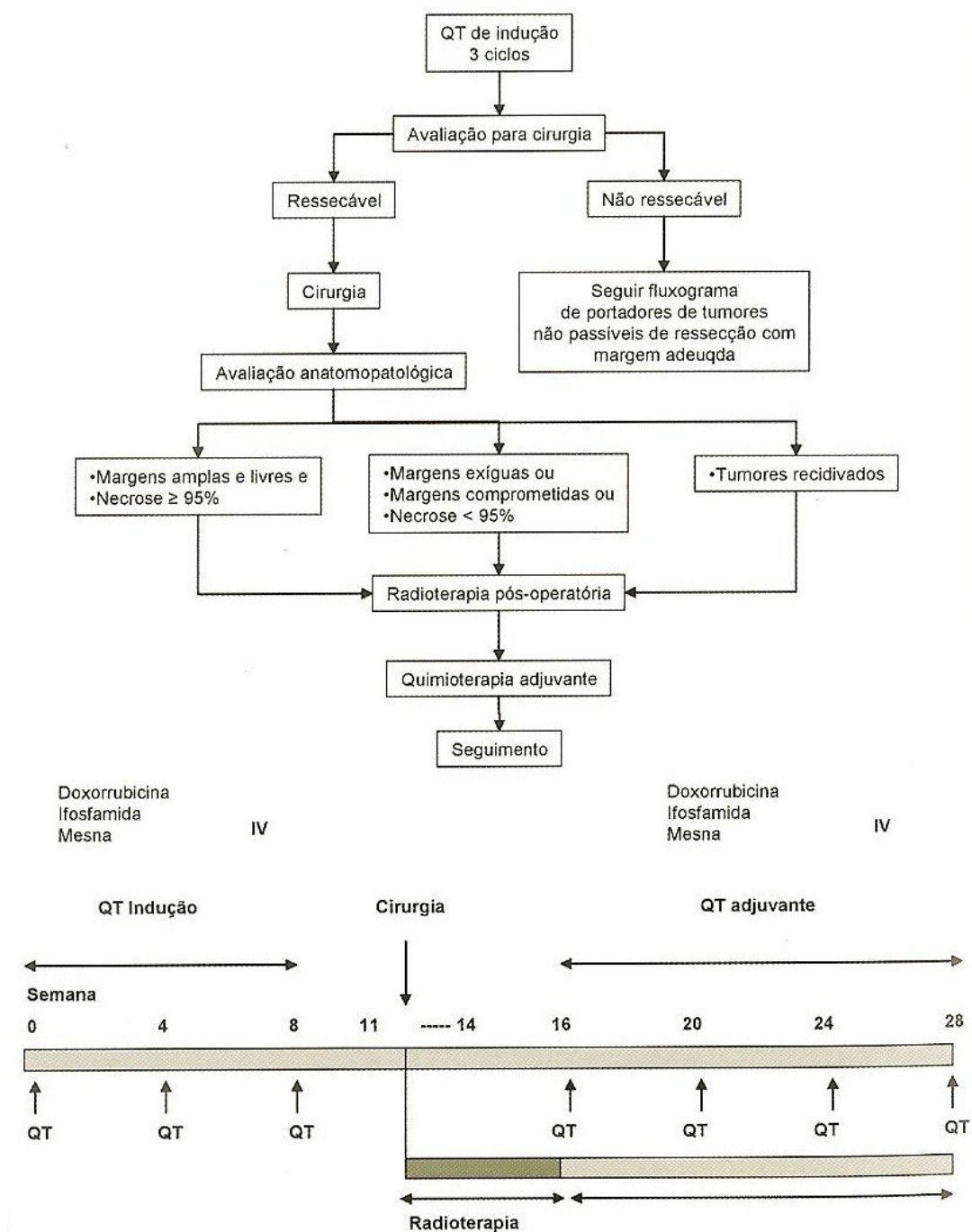
Repetir a cada 21 dias por 3 ciclos pré-operatório. Considerar fortemente uso de fator de crescimento de colônias (Filgrastim) 300 mcg/dia por 5 a 7 dias pós quimioterapia.

Doença locorregional em pacientes sem tratamento prévio



**** Protocolo**

SPM de alto grau não passível de ressecção com margem adequada



Seguimento

	1º e 2º anos				3º ao 5º ano		> 5 anos	> 10 anos
Meses	3	6	9	12	6	12	12	12
Anamnese e EF	X	X	X	X	X	X	X	X
TC ou RMN do local	X		X		X	X	X	
Rx de tórax		X		X	X	X	X	X
USG ou TC abdome*				X		X	X	

* a depender da queixas

Apêndice 3 – Tabela de critérios detalhados de exclusão para cada paciente que foi excluído da análise final.

RH	Iniciais	Interrupção durante tto	Tto curto no AC	término tto outro serviço	Abandono pós-tto	M1	Central	Biópsia apenas sem tto	Apenas revisão AP
772902	IMSV	X							
848256	ALP		X		X				
843694	OJOF	X							
852779	SSP	X							
800086	MFOF	X		X					
751842	EDB	X			X				
870554	JBSM	X		X					
905976	FJP	X							
9103004	AC		X	X					
9104168	JCG		X	X					
94042985	FCCS	X		X					
97025003	AJP		X		X				
984281	NSP		X	X					
0000403	JSC		X	X					
03024385	VAS		X	X					
95001549	FR		X		X				
830731	MLC	X		X					
834477	VMCS	X	X	X					
96025336	SAO		X		X				
743974	FCC					X			
865349	OMCC						X		
824129	TMC					X			
871389	MMAB						X		
883798	AGS						X		
885792	EGS					X			
96053933	JBL					X	X		
9803245	SPM						X		
95045473	IFB					X			
00036897	ACBL						X		
96017287	FGR						X		
84047143	APS						X		
02025027	RRS						X		
04027213	FS					X			
04015070	GRLV						X		
01053558	AOL						X		
804053	ESS					X	X		
95031430	FAFF						X		
00052604	RDR						X		
04010655	APS						X		

Cont/ Apêndice 3

RH	Iniciais	Interrupção durante tto	Tto curto no AC	término tto outro serviço	Abandono pós-tto	M1	Central	Biópsia apenas sem tto	Apenas revisão AP
97039276	JCT						X		
05032164	CCS					X			
06020828	FMS					X			
0838340	AAO							X	
94013144	KCS							X	
03047695	LDN							X	
9.801.391	MTCA							X	
92.019.202	X							X	
EXTERNO1	AZD								X
EXTERNO2	FPS								X

Apêndice 4 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP em 23/06/2009.



**Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP**

São Paulo, 24 de Junho de 2009.

Ao
Dr. Fernando Augusto Soares

Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1246/09
“Avaliação da Angiogênese e Linfangiogênese dos Sarcomas Sinoviais e sua Correlação Clínico-Patológica”

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 23/06/2009, após analisarem as respostas aos questionamentos realizados em reunião de 12/05/2009, aprovaram a realização do estudo em referência e tomaram conhecimento dos seguintes documentos:

- Folha de Rosto para Pesquisa envolvendo Seres Humanos;
- Termo de Compromisso do Pesquisador com Resoluções do CNS;
- Termo de Dispensa do Consentimento Livre e Esclarecido;
- Orçamento Financeiro detalhado;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Anatomia Patológica.

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas à assistente do CEP dentro de 12 meses.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Luiz Paulo Kowalski
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Anexo 1 - Estadiamento pós-cirúrgico do IRS (Intergroup Rhabdomyosarcoma Study (MAURER et al. 1988))

Grupo I – tumores completamente ressecados com margens negativas

Grupo II – tumores macroscopicamente ressecados porém com margens positivas ou com linfonodos positivos

Grupo III – doença residual macroscópica após uma ressecção incompleta ou biópsia

Grupo IV – metástase ao diagnóstico

Anexo 2 Classificação de tumores malignos mantida pela UICC (International Union Against Cancer) e pela AJCC (American Joint Committee on Cancer) TNMG para Sarcomas (EDGE et al. 2010).

T – Tumor primário

Tx – não pode ser avaliado

T0 – não há evidência de tumor primário

T1 – tumor de até 5 cm

T1a – tumor superficial

T1b – tumor profundo

T2 – tumor > 5 cm

T2a – tumor superficial

T2b – tumor profundo

N – Linfonodos regionais

Nx – não pode ser avaliado

N0 – ausência de metástase linfonodal

N1 – presença de metástase linfonodal

M- Metástase à distância

Mx – não pode ser avaliado

M0 – ausência de metástase

M1 – metástase à distância

G – Grau histológico

Gx – não pode ser avaliado

G1 – grau 1

G2 – grau 2

G3 – grau 3

Nota: O grau histológico deve ser avaliado a partir de 3 parâmetros – diferenciação, atividade mitótica e extensão da necrose.

Estadio Clínico	T	N	M	Grau
IA	1a	0	0	1
	1b	0	0	1
IB	2a	0	0	1
	2b	0	0	1
IIA	1a	0	0	2/3
	1b	0	0	2/3
IIB	2a	0	0	2
	2b	0	0	2
III	2a/b	0	0	3
	X	1	0	qualquer
IV	X	X	1	qualquer

Anexo 3 - RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumours; EISENHAUER et al; 2009)

Resposta Completa (RC) / Complete Response (CR):

Desaparecimento de todas as lesões-alvo.

Se Linfonodo positivo (patologia), deve ter tamanho < 10mm no menor eixo.

Resposta Parcial (RP) / Partial Response (PR):

Redução mínima de 30% na soma dos diâmetros das lesões-alvo, tendo como referência a soma dos diâmetros iniciais.

Progressão de Doença (PD) / Progressive Disease (PD):

Aumento mínimo de 20% na soma dos diâmetros das lesões-alvo, tomando como referência a menor soma dos diâmetros já obtida pelo paciente.

Também deve haver aumento absoluto de no mínimo 5 mm.

(Nota: o aparecimento de 1 ou mais lesões é considerada progressão).

Doença Estável (DE) / Stable Disease (SD):

Redução que não configura RP e aumento que não configura PD considerando como referência a menor soma dos diâmetros já observada.