



UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

MESTRADO EM GENÉTICA

Dissertação de Mestrado

**IMUNODETECÇÃO DA PROTEÍNA p53 EM SARCOMAS DE
PARTES MOLES NO ADULTO**

WILMAR JOSÉ MANOEL

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Maria Paula Curado

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Vera Aparecida Saddi

Goiânia-GO

2007

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

MESTRADO EM GENÉTICA

**IMUNODETECÇÃO DA PROTEÍNA p53 EM SARCOMAS DE
PARTES MOLES**

WILMAR JOSÉ MANOEL

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação Stricto
Sensu Genética da Universidade Católica
de Goiás, para obtenção do Título de
Mestre em Genética.

ORIENTADORA: Prof^a. Dra. Maria Paula Curado

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Vera Aparecida Saddi

Goiânia-GO

2007

Ficha Catalográfica

M266i

Manoel, Wilmar José

Imunodeteccção da Proteína p53 em Sarcomas de Partes Moles no Adulto / Wilmar José Manoel. - Goiânia, 2007.

85f.: il., tabs., figs.

Orientadora: Maria Paula Curado

Co-Orientadora: Vera Aparecida Saddi

Dissertação (Mestrado em Genética)
Universidade Católica de Goiás, 2007.

Referências.

Inclui lista de abreviaturas, siglas e símbolos.

Anexo.

1. Sarcomas de Partes Moles 2. Proteína p53
3. imunodeteccção 4. Sobrevida
- I. Curado, Maria Paula II. Saddi, Vera Aparecida III.
Universidade Católica de Goiás IV. Título.

CDU: 616-006.4

**BANCA EXAMINADORA DA
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Aluno(a): Wilmar José Manoel

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Maria Paula Curado

Co-Orientador(a): Prof^a. Dra^a. Vera Aparecida Saddi

Membros Externos:

Titular: Professor Dr. Elismauro Francisco de Mendonça

Suplente: Professora Dra. Aline Carvalho Batista

Membros Internos:

Titular: Professor Dr. Aparecido Divino da Cruz

Suplente: Professora Dra. Daniela Melo e Silva

Curso de Mestrado em Genética

Universidade Católica de Goiás

Dedico este trabalho...

Aos meus pais, José Manoel Pereira e Luzia Maria de Barcelos e a todos os membros de minha família pelo incentivo e apoio incondicional e ininterrupto durante toda minha formação acadêmica.



UNIVERSIDADE
Católica
DE GOIÁS

DISSERTAÇÃO DO MESTRADO EM GENÉTICA
DEFENDIDA EM 12 DE DEZEMBRO DE 2007 E APROVADA
COM A NOTA 100 (dez inteiros)
PELA BANCA EXAMINADORA

PRÓ-REITORIA DE
PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3227.1071 • Fax: (62) 3227.1073
www.ucg.br • heck@ucg.br

- 1) Dr^a. Maria Paula Curado / UCG (Presidente).. *Maria Paula Curado* ...
- 2) Dr^a. Vera Aparecida Saddi / UCG (Membro)... *Vera Aparecida Saddi*
- 3) Dr. Aparecido Divino da Cruz / UCG (Membro)... *Aparecido*
- 4) Dr. Elismauro Francisco de Mendonça / UFG (Membro)... *Elismauro*

Agradecimentos

À Prof^a. Dr^a. Maria Paula Curado, pelo incentivo e por ter acreditado que eu pudesse concretizar este sonho aqui realizado, sempre contando com sua disponibilidade, paciência, competência e dedicação ao ensino.

À Prof^a Dr^a. Vera Aparecida Saddi, pela prontidão em nos ajudar a qualquer hora do seu precioso tempo, pelas dúvidas sempre esclarecidas com tanta simplicidade, pelo exemplo de dedicação, dinamismo e competência.

Ao biólogo Edésio Martins, pela grandiosa colaboração na análise estatística; pelo constante desejo de aprimoramento, por sua destreza, rapidez e disponibilidade, que foram fundamentais na realização deste estudo.

À equipe do Registro de Câncer de Base Populacional de Goiânia, em especial à Carleane Maciel Bandeira e Silva, pelo profissionalismo, competência e eficiência que fazem do Registro de Câncer um modelo para o Brasil e para o mundo.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Genética da Universidade Católica de Goiás, por dividir seus conhecimentos, pela disponibilidade e pelo incentivo, constantemente presentes.

Aos amigos e colegas pós-graduandos do Programa Pós-Graduação em Genética da Universidade Católica pela amizade e incentivo fornecidos nessa longa jornada.

Aos colegas Médicos Patologistas e Técnicos do Serviço de Anatomia Patológica pelo grande apoio e competência na realização do levantamento do material de parafina, revisão de lâminas e imuno-histoquímica.

Aos colegas do Serviço de Tecido Conjuntivo, do Hospital Araújo Jorge/ACCG: Carlos Inácio de Paula, Roberto Cesar de Conti, Deidimar Cássia

Batista de Abreu, Luis de Paula Silveira Junior, Carlos Henrique do Prado e Flávio Leão Rabelo pela compreensão e apoio prestados durante a realização deste estudo.

Ao Dr. Bruno José Sarmiento e aos acadêmicos Erica Chaul Ferreira e Iron Pires de Abreu Neto pela valiosa colaboração no levantamento dos dados deste estudo.

Ao Dr. Luiz de Paula Silveira Júnior, Diretor do Instituto de Ensino e Pesquisa (IEP) da ACCG, pela amizade, apoio e pela disponibilização dos serviços do IEP.

Aos funcionários e amigos do Instituto de Ensino e Pesquisa da ACCG, pela disponibilidade e apoio técnico na finalização da presente obra.

Sumário

	Página
Figuras, Tabelas e Anexos	viii
Siglas, Símbolos e Abreviaturas	X
Resumo	Xii
Abstract	xiii
Introdução	1
Justificativa	23
Objetivos	24
Metodologia	25
Resultados	29
Discussão	44
Conclusões	49
Referências Bibliográficas	51
Anexos	62

Figuras, Tabelas e Anexos

		Página
Figura 1	Fotomicrografia de corte histológico mostrando SPM corado por hematoxilina e eosina	5
Figura 2	Descrição do estágio, grau e metástases linfonodais e à distância (TNM) – Sistema do <i>Committee on Câncer for Soft-tissue Sarcoma and The Internationa Union Against Câncer</i> . Dados modificados por Greene <i>et al</i> ³¹ .	10
Figura 3	Desenho esquemático da proteína p53, mostrando a localização de regiões distintas com diferentes funções. Cada domínio é responsável por uma determinada função da proteína p53 (Oliveira, 2005)	17
Figura 4	Fotomicrografia mostrando corte histológico de SPM submetido à imuno-histoquímica com índice de marcação de p53 < 50% das células	27
Figura 5	Fotomicrografia mostrando corte histológico de SPM submetido à imuno-histoquímica com índice de marcação de p53 > 50%	27
Figura 6	Sobrevida global em cinco anos para os pacientes com SPM	36
Figura 7	Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação ao grau histopatológico tumoral.	37
Figura 8	Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação ao estágio clinicopatológico do tumor	38
Figura 9	Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação ao tamanho do tumor	39
Figura 10	Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação à presença de metástase linfonodal	40
Figura 11	Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação à presença de metástase à distância	41

Figura 12	Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação à imunodeteção de p53	42
Figura 13	Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação ao índice de marcação de p53 nas células tumorais	43
		Página
Tabela I	Translocações Cromossômicas em Sarcomas de Partes Moles (Adaptada de: Antonescu CR, 2006) ⁷¹ .	9
Tabela II	Números e porcentagens dos casos de sarcoma de partes moles distribuídos em relação ao gênero, faixa etária e idade agrupada dos pacientes.	29
Tabela III	Números e porcentagens dos casos de sarcoma de partes moles distribuídos em relação à localização e ao tipo histológico do tumor.	30
Tabela IV	Números e porcentagens dos casos de sarcoma de partes moles distribuídos em relação ao tamanho, comprometimento linfonodal, metástases à distância, grau tumoral e estadiamento clinicopatológico.	31
Tabela V	Números e porcentagens dos casos de sarcomas de partes moles distribuídos em relação à imunodeteção e índice de marcação da proteína p53.	32
Tabela VI	Imunodeteção da proteína p53 nos sarcomas de partes moles do adulto em relação aos diferentes tipos histológicos.	32
Tabela VII	Frequência relativa por tipo histológico dos sarcomas de partes moles com imunodeteção positiva de p53	33
Tabela VIII	Imunodeteção da proteína p53 em relação aos diferentes aspectos clinicopatológicos dos SPM de adultos.	35
Anexo 1	Classificação de Sarcomas de Partes Moles Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS). Traduzido, baseado em Fletcher CDM, <i>et al</i> 2002.	62
Anexo 2	Ficha de coleta de dados clínico-patológicos de SPM – Hospital Araújo Jorge - ACCG	63
Anexo 3	Autorização do Comitê de Ética em Pesquisa da ACCG (CEPACCG)	64
Anexo 4	Autorização da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa(CONEP)	65

Siglas, Símbolos e Abreviaturas.

SPM	Sarcomas de Partes Moles
INCA	Instituto Nacional do Câncer
RCBPGO	Registro de Câncer de Base Populacional de Goiânia
AIDS	<i>Síndrome de Imunodeficiência Adquirida</i>
ACCG	Associação de Combate ao Câncer em Goiás
IEP	Instituto de Ensino e Pesquisa
RB1	<i>Gene 1 do Retinoblastoma</i>
TP53	<i>Gene supressor TP53</i>
DNA	<i>Ácido Desoxirribonucléico</i>
EBV	<i>Vírus Epstein-Barr</i>
TC	Tomografia Computadorizada
RNM	Renossância Nuclear Magnética
PET	Tomografia por Emissão de Pósitrons
PNET	<i>Tumor Neuroendócrino Primitivo</i>
%	Porcentagem
GIST	<i>Tumor do Estroma Gastrointestinal</i>
KIT	<i>Gene Receptor de Tirosina Quinase</i>
WHO	<i>Organização Mundial de Saúde</i>
AJCC	<i>Junta de Comitê Americano em Câncer</i>
UICC	<i>União Internacional Contra o Câncer</i>
COL1A1	<i>Gene do Colágeno tipo Alfa 1</i>
PDGFB	<i>Fator β de Crescimento Derivado de Plaquetas</i>
p53	Proteína p53
kDA	Kilodaltons
kb	Kilobase
c-Myc	<i>Oncogene da Mielocitomatose</i>
Max	<i>Proteína Max</i>

HDM2	<i>Gene Humano double minute 2</i>
MDM2	<i>Gene Murino double minute 2</i>
HAT	<i>Histona-acetiltransferase</i>
FHM	Histiocitoma Fibroso Maligno
H AJ	Hospital Araújo Jorge
CEPACCG	Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
SOE	Sem Outras Especificações
CP	Cabeça e Pescoço
>	Maior
<	Menor
≥	Maior ou igual
≤	Menor ou igual
HPV	<i>Papilomavírus Humano</i>
SV-40	<i>Vírus 40 do Símio</i>
PCR	<i>Reação em Cadeia de Polimerase</i>
SSCP	<i>Análise Conformacional de Polimorfismo de Cadeia Simples.</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
CM-1, DO-1, DO-7, Pab 1801 e Pab240	Anticorpos monoclonais para detecção de p53 em imuno-histoquímica
ELISA	Imunoensaio enzimático
c-Abl	Proteína de Abelson

RESUMO

Os sarcomas de partes moles (SPM) são neoplasias raras, representando cerca de 1% do total das neoplasias. E com prognóstico ruim. Várias dificuldades são constatadas no tratamento dos SPM com tamanhos maiores que 5 cm, alto grau histológico, localização no tronco e presença de metástases. Estudos de imuno-histoquímica demonstram uma possível correlação entre o prognóstico dos SPM e a imunodeteção de p53, porém, nenhuma investigação acerca desta correlação foi desenvolvida no Brasil. O objetivo deste estudo foi investigar as possíveis correlações entre a detecção imuno-histoquímica da proteína p53 e o prognóstico de SPM em amostras obtidas de 104 pacientes adultos, atendidos no Hospital Araújo Jorge da Associação de Combate ao Câncer em Goiás de 1996 a 2000. Nosso estudo demonstrou a imunodeteção de p53 em 41 dos casos de SPM (39,4%), dos quais o fibrossarcoma foi o tipo histológico com maior imunodeteção (29,2%), seguido do leiomiossarcoma (19,5%). Nenhuma relação estatisticamente significativa foi demonstrada entre a imunodeteção de p53 e os aspectos clinicopatológicos estudados. A imunodeteção de p53 revelou índices de marcação superiores a 50% em 32 casos (78%) e inferiores a 50% em 9 casos (22%). A sobrevivência em cinco anos foi maior para os pacientes cuja imunodeteção da proteína p53 foi negativa (50,06%), quando comparados àqueles nos quais a imunodeteção foi positiva (39,9%). Entretanto, a diferença entre os dois grupos não teve significância estatística ($p=0,279$). A investigação do papel prognóstico da proteína p53, no presente estudo, evidenciou que índices de marcação superiores a 50% das células tumorais associaram-se de forma inversa com a sobrevivência em cinco anos (85,7% vs 28,3%) ($p= 0,015$). Este parâmetro pode ser útil como fator prognóstico para os SPM e deverá ser melhor avaliado em futuros estudos prospectivos multicêntricos, tendo em vista sua potencial influência em decisões terapêuticas.

ABSTRACT

Soft tissue sarcomas are rare neoplasms, usually with dismal prognosis, that account for 1% of all malignancies. Several challenges are described for their management, specially when the tumor is larger than 5cm, with high histological grade, trunk localization and presenting metastasis. Immunohistochemical data demonstrate a possible prognostic role for the immunodetection of p53 protein, but any Brazilian study has ever been carried out on this assumption. The goal of the present study was to investigate the possible association between the immunodetection of p53 protein and prognosis in a group of 104 adult patients with soft tissue sarcoma assisted at the Hospital Araújo Jorge, Associação de Combate ao Câncer em Goiás from 1996 to 2000. Our study demonstrated that 41 cases (39.4%) had positive immunodetection of p53 protein, of whom, fibrosarcoma was the histological type with the higher immunodetection rate (29.2%), followed by leiomiosarcoma (19.5%). No statistically significant association was demonstrated between immunodetection of p53 and clinical-pathological features. The immunodetection of p53 protein in tumor cells revealed a labeling index higher than 50% in 32 cases (78%), and lower than 50% in 9 cases (32%). The 5-year survival rate was higher for patients with negative p53 immunodetection (60.6%), when compared with those with positive immunodetection (39.4%), however, the difference between the two groups was not statistically significant ($p=0.279$). The prognostic role of the p53 protein in the present study revealed that a labeling index higher than 50% was significantly associated with a lower 5-year survival rate (85.7% vs 28.3%) ($p= 0.015$). This parameter should be useful as a prognostic factor for soft tissue sarcoma, and should be better investigated in larger multi-institutional prospective studies, justified by its potential influence in therapeutic decisions.

INTRODUÇÃO

1 – SARCOMAS DE PARTES MOLES

1.1- Epidemiologia

Os Sarcomas de Partes Moles (SPM) são neoplasias raras, oriundas dos tecidos mesenquimais primitivos⁷ e estão localizados entre a epiderme e as víceras, excluindo os ossos.

Os SPM em geral, são altamente agressivos, com prognóstico desfavorável dependendo da localização, tipo histológico, tamanho da lesão, grau histológico, presença ou não de metástases, invasão extracompartimental, invasão neural, linfática e vascular, excisão local, marginal ou intralesional, idade avançada e a não realização da radioterapia nos casos com margens inadequadas^{28,29}.

Partes moles são definidas como tecido não epitelial extra-esquelético incluindo músculos, vasos sangüíneos, vasos linfáticos, tecido adiposo e estruturas fibrosas de suporte, originando principalmente do mesoderma, com alguma contribuição neuroectodérmica⁹. Os SPM podem se originar em qualquer área do corpo, sendo que 40% ocorrem em membros inferiores e cintura pélvica, 20% em membros superiores e cintura escapular, 20% em região retroperitoneal e intraperitoneal, 10% em tronco e 10% em cabeça e pescoço⁹.

Os SPM são responsáveis por 1% do total de pacientes com câncer no mundo. Aproximadamente, 8700 novos casos são diagnosticados anualmente nos Estados Unidos e cerca de 1500 no Reino Unido¹. Segundo os dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), os sarcomas são encontrados em todas as faixas etárias, apresentando uma incidência de 0,7 a 1,0% dentre todas as neoplasias^{2,3}.

Em Goiânia segundo o RCBPGO de 1996 à 2000⁴ a incidência no sexo masculino foi de 1,78 por 100.000 habitantes, equivalendo a 0.72% do total das neoplasias do sexo masculino. No sexo feminino, 2,21 por 100.000 habitantes, correspondendo a 0.82% das neoplasias das mulheres. O aumento da incidência global dos sarcomas pode ser justificado pelo aumento da associação do Sarcoma de Kaposi e Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS)^{5,6}. A incidência relativamente baixa, a diversidade histopatológica, a variedade de sítios anatômicos e o comportamento biológico fazem destes tumores entidades de difícil compreensão diagnóstica. Mais de 50% dos pacientes diagnosticados com sarcomas de partes moles vão a óbito em decorrência da doença num período de 5 anos. Quando diagnosticados em estágios iniciais, o índice de cura é alto, mas na doença metastática, a cura é rara¹⁰.

A sobrevida dos pacientes portadores de sarcomas de partes moles varia de acordo com tipo histológico. As taxas de sobrevida global em 5 anos para os estágios I, II, III e IV são de aproximadamente 90, 70, 50 e 10 - 20%, respectivamente, modificadas de acordo com o tipo histológico, localização, tamanho, grau e outros fatores inerentes ao tumor¹¹.

As baixas taxas de incidências, o grau de malignidade e a localização do tumor são fatores que contribuem para o retardo do diagnóstico e para condutas terapêuticas inapropriadas. Em consequência, tem-se uma menor taxa de cura, de sobrevida e de qualidade de vida⁸.

1.2- Etiologia

Existem poucos relatos de fatores etiológicos relacionados à carcinogênese dos sarcomas. Porém, alguns fatores de risco são bem estabelecidos, como o linfedema crônico pós-mastectomia associado ao angiossarcoma (Síndrome de Stewart-Treves); neurofibromatose do tipo 1, com um risco de 10% para o desenvolvimento de tumor maligno de bainha de nervo periférico; o retinoblastoma hereditário ocasionado pela mutação germinativa do gene RB1 aumentando o risco relativo no desenvolvimento de osteossarcoma e SPM, tendo um efeito

sinérgico em pacientes submetidos à radioterapia¹³. Sarcomas têm sido também descritos em pacientes com síndrome de Li-Fraumeni, que é causada por uma mutação de linhagens germinativas do gene supressor *TP53*¹⁵.

Os SPM podem se desenvolver de 3 a 15 anos, após o tratamento radioterápico do linfoma, câncer cervical, tumor de testículo ou câncer de mama. No entanto, os benefícios da radioterapia para o tratamento das condições citadas sobrepõem em muito o risco relativo do desenvolvimento de sarcoma¹⁴.

Uma alta proporção (58%) de SPM radioinduzidos exibe uma mutação de inativação somática de um alelo do gene *TP53*, sistematicamente associado com a perda do outro alelo. A alta frequência (52%) de pequenas deleções observadas no padrão de mutação dos SPM radioinduzidos pode estar relacionada com a quebra do DNA induzida pela irradiação⁹⁵.

Os SPM são esporádicos raros e de etiologia desconhecida, poucos têm uma causa identificável. Existe certa associação entre infecções virais, notadamente com o vírus Epstein-Barr (EBV), encontrado em células de leiomiossarcoma de crianças portadoras do vírus da AIDS. O EBV parece não exercer papel na carcinogênese do leiomiossarcoma em pacientes não portadores do vírus da AIDS¹². O herpes vírus humano tipo 8 desempenha um papel chave no desenvolvimento do sarcoma de Kaposi, cujo curso clínico é dependente do estado imunológico do paciente¹⁶.

A exposição à carcinógenos químicos, tais como, herbicidas contendo ácido fenolacético, clorofenóis e seu contaminante, a dioxina, tem sido descrita em estudos suecos como responsável pelo aumento na incidência de sarcoma de partes moles em lenhadores e trabalhadores da agricultura⁹⁶.

1.3- Aspectos Clínicos e Critérios Para Diagnóstico

Os SPM não apresentam sintomas clínicos específicos para o diagnóstico. O achado mais comum é de uma massa indolor de crescimento gradual. O

tamanho do tumor no momento do diagnóstico varia de acordo com a localização. Tumores distais dos membros e de cabeça e pescoço são geralmente menores devido à possibilidade de serem notados mais precocemente, enquanto que tumores da coxa e do retroperitônio podem atingir grandes dimensões até serem detectados. SPM se expandem de uma maneira centrífuga, infiltrando a pseudocápsula tumoral e estruturas adjacentes. Desta maneira, podem apresentar sintomas sítio-dependentes, tais como, parestesia, dor, edema distal ou sintomas relacionados aos órgãos intra-cavitários⁹.

O crescimento dos SPM varia com a agressividade do tumor. Sarcomas de baixo grau podem evoluir por um longo período e serem confundidos com tumores benignos, especialmente lipomas. Tal situação pode levar a uma demora do paciente na procura por centros especializados. A identificação dos SPM requer exame clínico apurado, exames de imagem e análise histopatológica. Os exames de imagem são usados para definir o tamanho do tumor e a sua relação com as estruturas adjacentes¹⁷.

Radiografias convencionais são utilizadas para descartar neoplasias ósseas e detectar calcificações características de osteossarcomas de partes moles ou sarcoma sinovial. A tomografia computadorizada do tórax (TC) é essencial para a detecção de metástases pulmonares. A tomografia computadorizada contribui ainda para identificar tumores intrabdominais, tais como o lipossarcoma, o mais comum dos tumores retroperitoneais. Entretanto, as imagens multiplanares obtidas pela ressonância nuclear magnética (RNM), que possibilitam melhor definição anatômica, são preferíveis no diagnóstico dos SPM de extremidades. O uso combinado de (RNM) e TC permite a aquisição de imagens mais rápidas e com melhor resolução espacial¹⁸. Adicionalmente, a utilização do gadolínio na ressonância nuclear magnética (RNM) promove uma identificação melhor do tumor viável comparado com os tecidos reacionais vizinhos. Uma metanálise recente com resultados da tomografia por emissão de pósitrons (PET), utilizando a fluorodesoxiglicose (F18) concluiu que o uso rotineiro desta técnica é injustificado. Informações da combinação funcional obtidas pelo PET, com detalhes anatômicos

da tomografia computadorizada¹⁹ ou ressonância nuclear magnética²⁰, podem promover o aumento do uso combinado destas técnicas agregam valor e resolutividade no diagnóstico por imagens do SPM. Ressonância nuclear magnética (RNM) por espectroscopia pode ser útil em algumas circunstâncias, como quando se quer avaliar um paciente que foi submetido à quimioterapia antes da ressecção ser realizada²¹.

A confirmação diagnóstica dos SPM é feita por meio de análise histopatológica (Figura 1). A biópsia percutânea com agulha grossa (*core biopsy*) é um procedimento seguro e efetivo e pode ser realizado com anestesia local em pacientes ambulatoriais com tumores em membros superiores e inferiores. O sítio da biópsia deve ser escolhido de maneira que se situe na área de uma possível subsequente ressecção em bloco do tumor. O subtipo e o grau do tumor podem ser determinados em 80% dos casos submetidos a esse procedimento^{22,23}. Patologistas experientes em examinar SPM têm certeza diagnóstica em 95 - 99% dos casos.

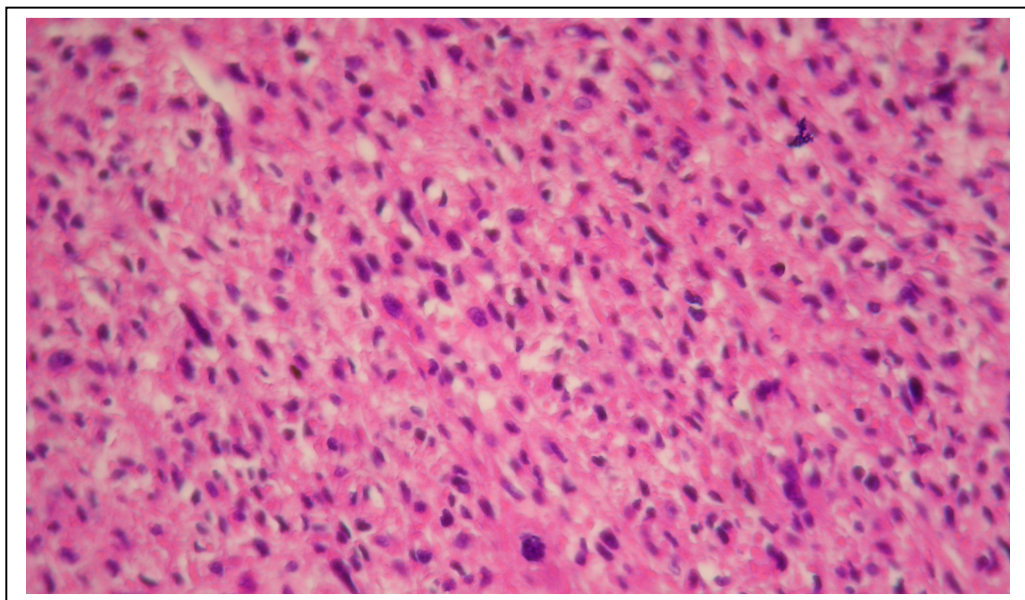


Figura 1. Fotomicrografia de corte histológico mostrando SPM corado por hematoxilina e eosina. (340x) Crédito: Dr. Élbio Cândido de Paula.

Os chamados tumores de células redondas pequenas (rabdomyosarcoma embrionário, sarcoma de Ewing, Tumor Neuroectodérmico Primitivo e linfoma) podem ser identificados em biópsias por agulha grossa, permitindo o tratamento de indução não cirúrgico (Quimioterapia e/ou Radioterapia). Atualmente, a biópsia incisional é menos comum do que biópsia por agulha²³. Em mãos inexperientes, biópsias incisionais apresentam taxas de complicações maiores que biópsias por agulha²⁴ e devem ser realizadas apenas em circunstâncias excepcionais por cirurgiões experientes que planejam a ressecção definitiva. Análises citológicas de aspirados por agulha fina podem ser utilizadas para diagnóstico de doença recidivada^{23,25} e metástases linfonodais. Independente de como o material da biópsia é obtido, este deve ser avaliado por um patologista especialista em doenças do tecido conjuntivo²⁴.

Se os exames de imagem sugerem um tumor retroperitoneal com possibilidades de ressecção, a biópsia não deve ser realizada, devido ao potencial de disseminação transperitoneal e implantes de trajeto²⁶. As exceções incluem suspeita de linfoma ou tumor de células germinativas que geralmente aparecem como massas paraórticas ou laterocavas na tomografia computadorizada, e massas identificadas como sarcomas, para os quais estão indicadas a quimioterapia ou a radioterapia pré-operatórias. A biópsia deve ser considerada se existe a suspeita radiológica de tumor do estroma gastrointestinal (GIST)²⁷, ou se existe suspeita de doença metastática, ou de tumor irresssecável.

1.4- Padrões Histopatológicos

A Organização Mundial de Saúde (OMS)¹⁶ definiu aproximadamente 50 tipos relevantes de SPM que são nominados de acordo com o tecido aos quais mais se assemelham. Um sistema de graduação em 3 graus é aconselhado pela *French Federation of Câncer Centers Sarcoma Group*³⁰, amplamente utilizado e leva em conta o grau de diferenciação, o número de mitoses e a extensão de necrose do tumor. Sistemas de graduação em 4 graus são também utilizados³¹. É

difícil classificar o grau de tumores previamente tratados com radioterapia, quimioterapia e tumores recidivados.

Os sarcomas apresentam padrões morfológicos diversos, incluindo neoplasias de células fusiformes, células redondas e células pleomórficas, com arranjos distintos, fasciculares, alveolares ou difusos. Desta forma, faz-se necessário a utilização de técnicas complementares ao estudo morfológico no diagnóstico de SPM. Por esta razão, os métodos imuno-histoquímicos têm sido aceitos e considerados necessários no auxílio ao diagnóstico anatomopatológico e na determinação prognóstica destas lesões³².

A classificação e caracterização dos SPM evoluíram da informação dada pela análise histológica para a complementação da análise imuno-histoquímica e citogenética, com melhora no entendimento das mudanças genéticas. Os métodos imuno-histoquímicos podem ser realizados em material fixado em formalina e embebido em parafina.

Aberrações genéticas têm sido descritas em muitos sarcomas de partes moles (SPM) e ajudam a identificar tumores difíceis de classificar, especialmente sarcomas pleomórficos³³. Aberrações genéticas podem ser hereditárias ou adquiridas^{34,35-36}. Em determinados tipos de sarcomas, as translocações específicas resultam em novas fusões de genes que os caracterizam (Tabela I)⁷¹. Informações genéticas podem facilitar o diagnóstico, especialmente no caso de tumores de pequenas células redondas. Podem ainda, confirmar as relações entre os tipos morfológicos prevendo o comportamento de sarcomas específicos, além de características como o grau, tamanho, presença de metástase e profundidade de invasão³⁷. Uma aplicação importante é a análise mutacional do tumor do estroma gastrointestinal (GIST), no qual a mutação do gene KIT parece ter um maior efeito na resposta ao tratamento e na sobrevida³⁸. Técnicas emergentes de *gene-arrays* e proteômica têm sido aplicadas para identificar o potencial de tratamento alvo-dirigido, que possibilita a individualização da terapia^{39,40}.

Sarcomas de células claras	t(12;22)(q13;q12)	EWS : ATF1
Fibrossarcoma congênito (Nefroma Mesoblástico)	t(12;15)(p13;q25)	ETV6 : NTRK3
Dermatofibrossarcoma protuberans	t(17;22)(q22;q13)	COL1A1 : PDGFB
Tumor desmoplásico de células pequenas	t(11;22)(p13;q12)	EWS:WT1
Sarcoma do estroma endometrial	t(7;17)(p15;q21)	JAZF1 : JJAZ1
Sarcoma de Ewing / Tumor Neuroectodérmico	t(11;22)(q24;q12)	EWS : FLI1
Primitivo Periférico (PNET)	t(21;22)(q22;q12)	EWS : ERG
	t(7;22)(p22;q12)	EWS : ETV1
	t(17;22)(q12;q12)	EWS : E1AF
	t(2;22)(q33;q12)	EWS : FEV
Condrossarcoma mixóide extra-esquelético	t(9;22)(q22;q12) t(9;17)(q22;q11) t(9;15)(q22;q21)	EWS : NR4A3 RBP56 : NR4A3 TCF12 : NR4A3
Sarcoma fibromixóide, baixo grau	t(7;16)(q33;p11) t(11;16)(p11;p11)	FUS : CREB3L2 FUS : CREB3L1 (raro)
Tumor miofibroblástico inflamatório	t(1;2)(q22;p23) t(2;19)(p23;p13) t(2;17)(p23;q23) t(2;2)(p23;q13)	TPM3 : ALK TPM4 : ALK CLTC : ALK RANBP2 : ALK
Lipossarcoma mixoide	t(12;16)(q13;p11) t(12;22)(p13;q12)	FUS : DDIT3 EWS : DDIT3
Sinoviossarcoma	t(X;18)(p11;q11)	SS18 : SSX1 SS18 : SSX2 SS18 : SSX4 (raro)

Tabela. I Translocações cromossômicas frequentemente relatadas para os Sarcomas de Partes Moles (Adaptada de: Antonescu CR, 2006)⁷¹.

Grau e TNM	Descrição		T1a	T1b	T2a	T2b
			Estágio			
G1	Bem diferenciado					
G2	Moderadamente diferenciado	G1 ou G2	IA	IB	IIC	IIA
G3	Pobrememente diferenciado	G3 ou G4	IIB			III
G4	Indiferenciado	N1	IV			
T1	Tumor ≤ 5cm em sua maior dimensão	M1				
T1a	Superficial à fascia profunda					
T1b	Profundo à fascia profunda que inclui: Retroperitônio, intratorácico e a maioria de cabeça e pescoço					
T2	Tumor > 5cm em sua maior dimensão		Sobrevida 5 anos			
T2a	Superficial à fascia profunda		Estágio	%		
T2b	Profundo à fascia profunda que inclui: Retroperitônio, intratorácico e a maioria de cabeça e pescoço		I	86		
			II	72		
			III	52		
N1	Linfonodos regionais metastáticos		IV	10 - 20		
M1	Metástases à distancia					

Figura 2 – Sistema de descrição do estágio, grau e metástases linfonodais e à distância (TNM) – segundo o *Committee on Câncer for Soft-tissue Sarcoma e a International Union Against Câncer*. Dados modificados por Greene *et al*³¹.

1.6- Tratamento

1.6.1- Cirurgia:

Ressecções cirúrgicas com margens amplas, com ou sem radioterapia oferecem a melhor chance de cura na ausência de doença metastática. A cirurgia deve ser planejada por uma equipe experiente depois do estudo cuidadoso dos exames pré-operatórios. Devido ao fato dos SPM ocorrerem em quaisquer localizações, a cirurgia é individualizada, mas os princípios cirúrgicos oncológicos prevalecem. A associação com a radioterapia e a quimioterapia mostra um aumento no índice de controle local da doença, preservação de membros e até de sobrevida⁴⁵.

O crescimento dos SPM é centrífugo através dos planos teciduais, criando uma falsa cápsula, ou pseudocápsula, dos tecidos vizinhos comprimidos. As

células malignas invadem esta pseudocápsula⁴⁶. A remoção do tumor visível neste plano deixa doença microscópica e 90% dos tumores recidiva se não houver terapia complementar. A recorrência é acima de 30% mesmo depois da excisão do leito tumoral⁴⁷. A subsequente utilização da radioterapia não trará resultados na presença de margens cirúrgicas comprometidas após um tratamento cirúrgico não planejado⁴⁸. As margens positivas adjacentes a uma estrutura crítica, deixadas para preservar um membro, resultam em taxas de recorrência de cerca de 4%, quando a radioterapia é bem planejada. O objetivo da cirurgia é ressecar o tumor com margens amplas (2 a 3 cm), removendo pelo menos um plano de tecido normal não comprometido pela doença.

Aproximadamente 1/3 dos pacientes com tumores de baixo grau e de grau intermediário, submetidos à ressecção cirúrgica ampla, não requerem qualquer tipo de tratamento complementar, incluindo radioterapia. Raramente, a reconstrução de grandes vasos e nervos é necessária, a não ser que estes estejam envolvidos pelo tumor. No entanto, ressecções de partes de grandes nervos resultam geralmente em pequenas disfunções. Esse tipo de ressecção deve ser considerado somente se a amputação for a alternativa⁴⁹. Se for seguro, do ponto de vista oncológico, preservar a inervação de um músculo em um compartimento, em favor de uma melhor função, a cirurgia pode ser menos radical⁵⁰. Os SPM nas porções distais dos membros são menores do que nas proximais, o que dificulta a preservação de função nas porções distais, especialmente em antebraços, mãos e pés. O tratamento de indução pré-operatória, como quimioterapia e/ou radioterapia, pode reduzir o tamanho de tumores nas regiões distais promovendo melhores resultados funcionais. As amputações são necessárias em 5 a 10% dos SPM de membros, usualmente depois de cirurgias prévias de conservação dos mesmos⁵¹. Nestes casos, amputações maiores (desarticulação interescapulotorácica, desarticulação interilioabdominal), são freqüentemente necessárias quando as recidivas são proximais. Tais procedimentos são bem tolerados e promovem um excelente controle local com qualidade de vida satisfatória⁵².

1.6.2- Radioterapia:

O tratamento radioterápico deve ser considerado em tumores de alto grau das extremidades (a não ser aqueles com margens amplas) e grau intermediário dos membros com margens histológicas exíguas ou comprometidas⁵³. A Radioterapia tem papel limitado em SPM primário de baixo grau, porém deve ser considerada no caso de recidiva e pode ser utilizada na forma de radioterapia externa ou braquiterapia. A braquiterapia tem teoricamente vantagens quando administrada no pós-operatório devido a natureza hipóxica da ferida e das características radiobiológicas da lei do inverso do quadrado (a dose local é alta, mas decresce proporcionalmente com o aumento da distância do tumor). Esta vantagem é mais importante em pacientes que já foram previamente tratados com a radioterapia externa⁵⁴.

Radioterapia exclusiva deve ser considerada quando a cirurgia é contraindicada ou recusada pelo paciente. Com isso consegue-se um controle local entre 30 a 60% dos casos⁵⁵. Não existe consenso sobre qual o melhor período para iniciar a radioterapia. A radioterapia pré-operatória requer uma dose total menor, cerca de 50 Gy e a pós-operatória um total de 60 a 66 Gy que é usualmente empregada para maximizar a morte de células tumorais hipóxicas. O resultado funcional no grupo tratado de maneira pré-operatória é um pouco melhor, mas associado com o dobro da incidência de problemas com a cicatrização da ferida operatória⁵⁶. A demora em iniciar a radioterapia pós-operatória não piora significativamente a taxa de controle local da doença⁵⁷.

Pacientes com sarcomas retroperitoneais geralmente morrem de recidiva. Uma melhora no controle local poderia ter grande impacto no tratamento. Radioterapia pós-operatória apresenta um desafio particular nessa localização; grandes áreas são irradiadas e os efeitos colaterais nos órgãos vizinhos é um fator limitante de doses. A radioterapia pré-operatória⁹⁷ ou intra-operatória⁹⁸, teoricamente, eliminaria estes problemas, mas progressos mínimos são alcançados na prática.

1.6.3- Quimioterapia

Enquanto o objetivo da cirurgia e da radioterapia é o controle local do tumor, o da quimioterapia é o controle sistêmico e pode ser terapêutico, adjuvante ou paliativo. Alguns subtipos de SPM são sensíveis a agentes quimioterápicos e o resultado desta terapia é insatisfatório no geral, sendo o uso da quimioterapia adjuvante ainda controverso. Entretanto, os tumores de células pequenas redondas são tratados inicialmente com quimioterapia combinada. Este procedimento melhorou a sobrevida de pacientes com sarcomas de Ewing, em torno de 10%, antes da introdução do tratamento sistêmico, para mais de 60%⁵⁸.

Ciclofosfamida, ifosfamida, vincristina, doxorrubicina, dactinomicina e etoposide são as drogas de eleição no tratamento destes tumores⁵⁹. O exame histopatológico de tumores ressecados, depois da indução, mostrando graus de necrose superiores a 90% apresenta melhor sobrevida do que graus menores de necrose, independente do tamanho do tumor⁶⁰. A quimiosensibilidade varia de acordo com o subtipo do tumor e a probabilidade de resposta e sobrevida é influenciada pelo grau histológico do tumor, idade do paciente, estagio clínico e tempo de ocorrência de metástases⁶¹. A quimioterapia é paliativa para a maioria dos pacientes com doença irresssecável ou metastática.

1.6.4- Terapia Molecular Alvo-Dirigida

Progressos estão ocorrendo com o uso de terapia direta a alvos moleculares específicos em SPM. O tumor do estroma gastro-intestinal (GIST) é o melhor exemplo conhecido, pois apresenta mutação com ativação do proto-oncogene KIT, um receptor com domínio de tirosina kinase, descrito por Hirota *et al*⁶². A proteína KIT é detectada por imuno-histoquímica⁶³. O inibidor de tirosina kinase, Imatinib, se apresenta como tratamento de escolha para o GIST inoperável ou metastático. O papel do Imatinibe como terapia neoadjuvante está sob avaliação. Ensaios definiram o perfil de efeitos colaterais⁶⁴, taxas de respostas de mais 60%⁶⁵ e relação com a dependência da dose.

Outros subtipos de SPM com alvos moleculares específicos foram também identificados. O *dermatofibrossarcoma protuberans* e o fibrossarcoma de células gigantes são originados a partir de uma translocação, causando a fusão dos genes COL1A1 e PDGFB e a proteína resultante da fusão é um PDGFB funcional⁶⁶. O imatinib é um inibidor do receptor de PDGFB e pode ser efetivo no tratamento do dermatofibrossarcoma protuberans⁶⁷; sendo assim, esse agente pode ser utilizado em pacientes com esse tipo de tumor recidivado, inoperável ou com disseminação metastática.

A angiogênese é um alvo terapêutico potencial, porque os SPM expressam fator de crescimento vascular endotelial. O bevacizumab é um fator antiangiogênico que pode inibir a angiogênese em SPM^{68,69}.

1.7- Seguimento

A vigilância após o tratamento, por meio de exame clínico e tomografia computadorizada do tórax, é recomendada para detectar recidiva local e metástases tratáveis⁷⁰. Taxas de recidivas de 5 a 10% são esperadas após o tratamento ideal para os SPM de extremidade. A utilização da tomografia computadorizada (TC) e da ressonância nuclear magnética (RNM) para detectar recidivas subclínicas ainda não foi estabelecida, mas essas abordagens podem ser úteis para detectar lesões mais profundas, desde que 2/3 das recidivas ocorrem num período de até 2 anos¹¹, o seguimento deve ser feito em intervalos mais curtos neste período.

2 - PROTEÍNA p53

2.1- A proteína p53 humana:

O fator de transcrição humano p53 é uma proteína com 393 aminoácidos, consistindo de um domínio de trans-ativação N-terminal, uma seqüência específica central de domínio de ligação ao DNA e um domínio C-terminal de oligomerização. Centenas de estudos são dedicadas à elucidação da função de p53. A p53 desempenha um papel central na supressão tumoral. Na verdade, a perda da função normal de p53 ocorre em quase todos os cânceres em humanos⁷².

O mecanismo de ação de p53 tem sido discutido em inúmeros estudos e um consenso para tal mecanismo foi proposto. p53 é inativo em células normais e é rapidamente ativado por vários tipos de sinais de estress que causam alterações oncogênicas, como dano de DNA, hipóxia ou depleção de nucleotídeos. A ativação de p53 resulta na execução de programas transcricionais que levam à interrupção do ciclo celular, permitindo o reparo do dano, ou induzindo a célula sob estress ao mecanismo de apoptose. Entretanto, os mecanismos de ativação de p53, interrupção do ciclo celular e apoptose não estão ainda completamente elucidados⁷³.

2.2- Do gene à proteína p53:

O gene supressor tumoral *TP53* localiza-se no cromossomo 17p13.1, ao longo de 20 kb com 11 éxons. A expressão do gene resulta em um produto funcional, a proteína de 53 kDa, também chamada de proteína p53. O gene *TP53* foi descrito em 1979, a partir de estudos baseados em experimentos de transfecção em ratos, sendo proposto inicialmente como um oncogene. Posteriormente, em 1989, verificaram que a atividade oncogênica deste gene dependia de mutações no quadro aberto de leitura e que o gene não mutado produzia uma proteína cuja função era de reconhecer danos no DNA, além de controlar o crescimento e a morte celular⁷⁴. O gene *TP53* é altamente conservado

filogeneticamente, apresentando homologia em diversas espécies eucarióticas como *Drosophila melanogaster*, *Xenopus leavis*, *Mus musculus* entre outros^{73,75}. Os fatores de transcrição para o gene *TP53* incluem heterodímeros de proteínas c-Myc/Max que reconhecem seqüências CATGTG de -29 à -34 no sítio promotor do gene, podendo elevar a expressão de *p53* em até 12 vezes⁷⁶.

A proteína *p53* é uma fosfoproteína nuclear constituída de 393 aminoácidos na sua extensão. Ela apresenta quatro domínios com funções distintas (Figura 3). A extremidade amino-terminal ou N-terminal (resíduos 1 ao 83) constitui o domínio de transativação, a porção central (resíduos 102 ao 292) constitui a porção ligante ao DNA, e por fim na extremidade carboxi-terminal ou C-terminal estão os domínios de tetramerização (resíduos 319 ao 360) e regulatório (resíduo 364 ao 393)⁷³.

Por desempenhar diferentes funções, cada domínio da proteína atua em momentos específicos da atividade da *p53*. O domínio de transativação é importante para a ativação específica da transcrição de determinados genes, além de ser o sítio de ligação de sua principal antagonista, a oncoproteína HDM2 – a forma humana do gene *murine double minute 2 protein (MDM2)*. O domínio de ligação ao DNA permite a adesão da molécula protéica a motivos de DNA, incluindo os das regiões promotoras ou das regiões intrônicas de determinados genes-alvo. O domínio de tetramerização é responsável pela formação dos tetrâmeros de *Tp53*, que representa a forma mais ativa da molécula em transativação. Finalmente, o domínio regulatório é responsável pela regulação negativa do domínio central de ligação ao DNA, inibindo assim a ligação específica da proteína aos diferentes promotores⁷⁴.

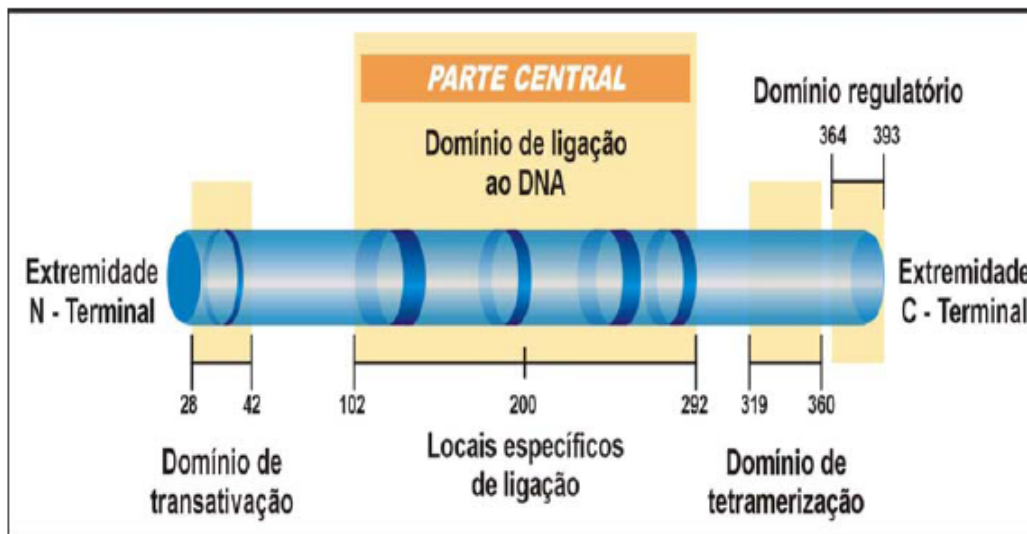


Figura 3. Desenho esquemático da proteína p53, mostrando a localização de regiões distintas com diferentes funções. Cada domínio é responsável por uma determinada função da proteína p53 (Oliveira, 2005). Reproduzido mediante autorização de Oliveira, 2005.

A proteína p53 funciona como um inibidor do crescimento celular, induzindo a interrupção do ciclo celular através da proteína p21 reparo do DNA através da proteína GADD ou a apoptose através da proteína BAX. Assim, a atividade de p53 deve ser regulada no sentido de permitir o crescimento normal das células e a supressão tumoral, assim como a transição entre esses dois estados. A regulação de p53 ocorre tanto a nível transcricional como traducional. No entanto, três mecanismos devem ser considerados a fim de que a ativação do gene TP53 seja compreendida, incluindo o controle dos níveis da proteína p53, sua localização celular e sua habilidade de funcionar como um fator de transcrição seqüência específica⁷³.

2.4- Estabilidade da proteína p53

Em células normais não submetidas a stress, a meia vida da proteína p53 é curta, de maneira que suas concentrações sejam mantidas baixas, frequentemente em níveis indetectáveis na célula. A regulação da concentração da proteína p53 é necessária para o crescimento e desenvolvimento celular. Na ausência de sinais indutores de stress, os baixos níveis de p53 são mantidos por meio da interação com a proteína HDM2, uma ubiquitina-ligase. HDM2 atua ligando-se à porção N-terminal de p53, mas transfere unidades de ubiquitina para sítios específicos localizados na porção C-terminal da proteína p53. A proteína p53 ubiquitinada é subsequentemente exportada do núcleo e degradada via proteossoma. Entretanto, a expressão de HDM2 está sob o controle da p53, assim, esta alça de feedback negativo funciona como um meio de manter os níveis de p53 baixos em células não submetidas ao stress e reduzir os níveis de p53 em células com stress, quando o dano for reparado⁷³.

Em resposta aos sinais de stress celular, p53 é ativada e o aumento da atividade é acompanhado de aumento da estabilidade da proteína. Como a interação p53/HDM2 é importante para a manutenção de baixas concentrações de p53, os níveis de HDM2 são também críticos para os níveis de p53. Assim, diversas vias que ativam p53 influenciam a interação p53/HDM2. Por exemplo, sob stress celular, várias cinases intranucleares são ativadas. Tais cinases fosforilam tanto p53 quanto HDM2 e esta fosforilação diminui a afinidade entre ambas, impedindo a ubiquitinação e resultando em aumento da estabilidade de p53. Além da fosforilação, existem outros mecanismos que resultam na estabilização da proteína p53. Por exemplo, em resposta ao dano causado ao DNA, c-Abl pode ligar e estabilizar p53. Essa associação não impede que HDM2 se ligue à p53, mas previne a ubiquitinação de p53 por HDM2⁷³.

Uma via de degradação independente de proteossoma também foi descrita em células humanas, envolvendo calpaínas, uma família de ubiquitina-cisteína-proteases que também degradam p53 e esta via pode induzir a apoptose em algumas circunstâncias^{77,78}.

2.5- Localização da proteína p53

Além da estabilidade, a localização nuclear de p53 também regula sua atividade. Existem vários mecanismos que regulam a importação e a exportação nuclear de p53. Esses mecanismos incluem uma rede de microtúbulos e uma proteína denominada dineína que reconhecem a porção N-terminal da p53. Além disso, na porção C-terminal de p53, existem vários sinais de localização nuclear que são reconhecidos por fatores de importação. Depois de entrar no núcleo, mecanismos de exportação de p53 também são necessários, incluindo a oligomerização do domínio C-terminal e a ligação do HDM2 na região N-terminal de p53. Na verdade, a exportação de p53 não depende diretamente de HDM2, mas HDM2 contribui para a exportação de p53 por meio da atividade de ubiquitina ligase. Na forma tetramérica de p53, o sinal de exportação nuclear C-terminal não está acessível. A fim de que ocorra a exportação, é preciso haver ubiquitinação e expor o sinal de exportação C-terminal para que p53 se mova ao citoplasma.

O sinal de exportação nuclear N-terminal é regulado por fosforilação, que por sua vez inibe a seqüência de exportação nuclear. Os efeitos da fosforilação N-terminal de p53 resultam em retenção nuclear de proteína p53, podendo ocorrer de duas maneiras, ou seja, inibindo o sinal de exportação N-terminal, ou inibindo a ligação de HDM2 e subsequente redução da ubiquitinação e ativação do sinal de exportação c-terminal⁷⁴.

2.6 Regulação da atividade da proteína p53

A proteína p53 exerce seus efeitos tanto por mecanismos de transcrição quanto por mecanismos não-transcricionais. O mecanismo mais estudado e compreendido de p53 é o seu papel como fator de transcrição, estimulando os genes que interrompem o ciclo celular ou os genes que induzem apoptose. A proteína p53 é capaz de distinguir entre induzir interrupção do ciclo celular e apoptose, mas, até o presente momento, esse mecanismo não foi elucidado. A função do fator de transcrição p53 envolve sua ligação com o DNA e interação com a maquinaria transcricional, sendo esta mediada, em parte, por modificações pós-

traducionais. Duas regiões específicas na proteína p53 são marcadas por modificações pos-traducionais. Uma na porção N-terminal, onde ocorre fosforilação e outra na porção C-terminal, que pode ser acetilada, fosforilada ou glicosilada, todas elas afetando a função de p53⁷³. A fosforilação da porção N-terminal de p53, além de relacionar-se com várias funções, também estimula sua atividade de transativação. A fosforilação de p53 na porção N-terminal intensifica sua ligação com as histona-acetil-transferases (HAT) e outras proteínas que funcionam como co-fatores da transcrição. Além da fosforilação N-terminal, a porção C-terminal é alvo de várias modificações pós-traducionais. Reações de acetilação de aminoácidos específicos resultam em modificações que afetam as interações de p53 com outras proteínas que funcionam como co-fatores da transcrição, potencializando ou inibindo sua função transcricional⁷³.

3- PROTEÍNA p53 E SARCOMAS DE PARTES MOLES

Mutações do gene TP53 são as anormalidades genéticas mais comumente associadas aos cânceres humanos⁷⁹. Uma grande quantidade de estudos relaciona a presença de mutação do gene TP53, avaliada pela imunodeteção da proteína p53 mutante, com pior prognóstico em vários tipos de tumores sólidos, como mama, pulmão, ovário, estômago e cólon^{80,81,82,84,85}. No câncer de mama, por exemplo, estudos demonstram que a presença de p53 mutada pode ser considerada marcador independente de menor sobrevida global e menor sobrevida livre de doença^{81, 82, 83}.

Em sarcomas de partes moles, as mutações da p53 são observadas com frequência elevada (10–55%)^{86,93}. No entanto, poucos trabalhos avaliam a relação da imunodeteção da p53 mutante com a sobrevida no grupo específico dos sarcomas de partes moles^{87,88}. Não há registro de nenhum trabalho publicado com dados brasileiros acerca deste tema.

Yoo *et al.*⁸⁶ registram a imunodeteção de p53 em 55% dos 31 sarcomas analisados. Ressaltam naquele estudo que, embora a mutação constitua o principal mecanismo de alteração da função da p53, outras causas podem estar associadas à inativação da proteína. Schneider-Stock *et al.*⁸⁷ encontraram um índice de imunodeteção da p53 de 34,3%, sendo significativamente maior a positividade para p53 em tumores grau 3 ($p = 0.023$), o que demonstra sua maior ocorrência em tumores indiferenciados.

Dan'ura *et al.*⁸⁸ encontraram imunodeteção nuclear positiva para p53 em 20,3% dos sarcomas de partes moles e, ao contrário da maioria dos trabalhos, não encontraram diferença significativa em relação à sobrevida e a positividade para p53.

Cordon-Cardo *et al.*⁹³, Drobnjak *et al.*⁹², Kawai *et al.*⁸⁹, Hieken *et al.*⁹¹ e Würll *et al.*⁹⁰ demonstraram que a imunodeteção de p53 alterada pode ser usada como indicador de mau prognóstico^{89,93}. Kawai *et al.*⁸⁹ demonstraram a

imunodeteção de p53 em 32.3% dos casos estudados, com variação segundo o tipo histológico (FHM 20,0%, lipossarcoma 13,6% e rabdomiossarcoma 71,4%) e correlação estatisticamente positiva com o grau histológico e a idade do paciente. A sobrevida acumulada dos pacientes com imunodeteção de p53 foi de 53,3%, em 5 anos, e 47,5%, em 8 anos, comparada com 73,0% e 58,5%, respectivamente, nos pacientes com imunodeteção negativa ($p < 0,05$). A sobrevida em 5 anos e a sobrevida livre de metástases foi, respectivamente, 54,0% e 44,0% em pacientes com imunodeteção de p53 positiva, contra 76,0% e 67,5%, naqueles em que a imunodeteção foi negativa ($p < 0,05$). Esses dados sugerem fortemente que a detecção da proteína p53 pode ser um marcador de maior agressividade tumoral e pior prognóstico para os pacientes com SPM. Em nosso estudo somente índices de marcação superiores a 50% das células tumorais relacionou-se estatisticamente de forma inversa com a sobrevida em 5 anos

Outros estudos já citados comprovam os achados de Kawai *et al.*⁸⁹. Würfl *et al.*⁹⁰ avaliaram cinco anticorpos diferentes (CM-1, DO-1, DO-7, Pab 1801 e Pab240) na detecção de p53 e correlação da imunodeteção com o prognóstico. Por meio de análise univariada, todos os anticorpos mostraram correlação positiva com a sobrevida, enquanto que pela análise multivariada, somente os anticorpos DO-1, Pab1801 e DO-7 mostraram correlação estatisticamente significativa com a sobrevida. Hieken *et al.*⁹¹ avaliaram a detecção da proteína p53 de maneira quantitativa, utilizando ensaios de ELISA, ao invés da técnica de imuno-histoquímica. Eles também encontram correlação inversa entre a imunodeteção positiva e a sobrevida global e sobrevida livre de doença nos pacientes com SPM. Além disso, também demonstraram que a quantificação de p53 ($>4,5\text{ng p53 mutante/ mg proteína}$) apresenta relação estatística inversa com a sobrevida ($p < 0,001$).

Drobjnak *et al.*⁹² observaram uma associação significativa entre a imunodeteção de p53 e o grau tumoral ($p = 0,001$), o tamanho do tumor ($p = 0,01$) e a diminuição da sobrevida ($p = 0,02$). Cordon-Cardo *et al.*⁹³ demonstraram a imunodeteção de p53 em 26% dos seus casos, observando correlação positiva com o grau tumoral e redução significativa da sobrevida, quando os índices de marcação eram maiores que 20% das células tumorais ($p = 0,004$).

Justificativas

O presente estudo se justificou pelas seguintes observações:

- (1) Os SPM são neoplasias raras, porém de mau prognóstico.
- (2) Dificuldades são constatadas no tratamento dos SPM com tamanhos maiores que 5 cm, alto grau histológico e localização no tronco.
- (3) Estudos de imuno-histoquímica têm demonstrado uma correlação entre a imunodeteção de p53 e um pior prognóstico em grupos selecionados de sarcomas de mama e sarcomas de Ewing.
- (4) Uma possível correlação entre o prognóstico dos SPM e a imunodeteção de p53 tem sido descrita em alguns estudos.
- (5) Nenhum estudo de imuno-histoquímica determinando a correlação entre a imunodeteção de p53 e os SPM foi desenvolvido no Brasil.

OBJETIVOS

1- Objetivo Geral:

Investigar as possíveis correlações entre a imunodeteção da proteína p53 e o prognóstico de SPM em adultos atendidos no Hospital Araújo Jorge da Associação de Combate ao Câncer em Goiás no período de 1996 a 2000.

2- Obetivos Específicos:

(1) Determinar as possíveis correlações entre a imunodeteção de p53 e os aspectos clínico-patológicos dos tumores: tamanho do tumor, metástases linfonodais e a distância, grau tumoral, idade agrupada, gênero, estágio clinicopatológico

(2) Investigar o perfil de imunodeteção de p53 em 104 espécimes de SPM, de acordo com o tipo histológico.

(3) Analisar o índice de marcação de p53 nos espécimes de SPM.

(4) Investigar a possível correlação entre a imunodeteção de p53 nos SPM e a sobrevida dos pacientes.

(5) Avaliar a possível correlação entre o índice de marcação de p53 em SPM com a sobrevida dos pacientes.

METODOLOGIA

1 – Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo retrospectivo de base hospitalar, baseado em casos atendidos no período de 1996 a 2000 no Hospital Araújo Jorge da ACCG. Foram identificados 236 pacientes portadores de **SPM** neste período através de busca ativa.

2- Critérios de Inclusão

Os casos de SPM considerados incluíram pacientes com idade superior a 18 anos e diagnóstico histopatológico confirmado por revisão de lâminas, realizada por um patologista do Setor de Anatomia Patológica do HAJ / ACCG. Dos 236 pacientes inicialmente identificados, 104 tiveram confirmação diagnóstica de SPM. Os casos confirmados foram submetidos à imuno-histoquímica para imunodeteção da proteína p53. A análise considerou pelo menos 300 células em cada lâmina e os resultados foram apresentados em termos percentuais. A marcação imuno-histoquímica foi considerada somente com base na marcação nuclear e a imunoreatividade classificada em 3 categorias, definidas como: 1) - negativa; 2) positiva em menos de 50% de células tumorais e 3) positiva em mais de 50% de células tumorais.

3- Critérios de Exclusão

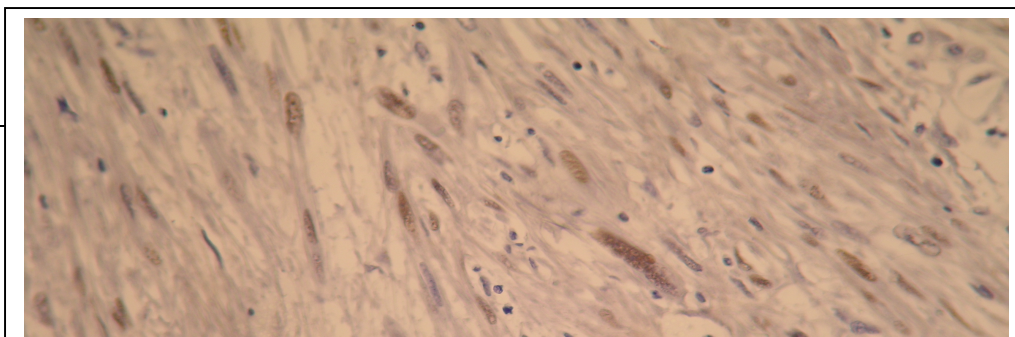
Foram excluídos 132 casos (56,4%) devido a:

1. Indisponibilidade dos blocos de parafina para o estudo.
2. Casos submetidos a cirurgias em outras instituições e reoperados no HAJ, o que impossibilitou a aquisição dos blocos de parafina para a realização de revisão de lâminas

3. Não confirmação histopatológica de **SPM** após revisão de lâminas.

4- Imuno-histoquímica

Para a análise imuno-histoquímica foi empregado o método da estreptoavidina-biotina-imunoperoxidase (Super ABCkit, Erviegas) e foi usada para a imunodeteção da proteína p53, por meio do anticorpo monoclonal DO7 (DAKO). Os cortes, montados em lâminas silanizadas, foram desparafinizados e desidratados, em temperatura controlada. Em seguida, foram submetidos à recuperação antigênica pelo calor, em panela de pressão, durante 20 minutos, utilizando-se o citrato 0,01M, pH 6,0. Após a recuperação antigênica, as lâminas foram mantidas à temperatura ambiente, para resfriamento, por cerca de 1 hora. O bloqueio da peroxidase endógena foi feito em peróxido de hidrogênio 3%, durante 10 minutos, e em seguida, as lâminas foram lavadas com tampão fosfato (PBS) por 5 minutos. Após o bloqueio, as lâminas foram incubadas a 4°C, durante a noite, com o anticorpo monoclonal anti-p53, diluído (1:100) em solução de PBS contendo 1% de albumina bovina. Após a incubação com o anticorpo primário, as lâminas foram lavadas 3 vezes em PBS, por 5 minutos, e incubadas durante 1 hora com o anticorpo secundário conjugado com a biotina-avidina peroxidase. Depois de uma nova lavagem com PBS, por 5 minutos, a reação foi revelada com tetra-hidroclorato de 3-3'diaminobenzidina, por 5 minutos, e as lâminas levemente contracordadas com hematoxilina. Em seguida, as lâminas foram desidratadas e montadas com lamínula. Sempre que possível, cerca de 300 núcleos de células tumorais foram avaliados em cada espécime e os resultados apresentados em termos percentuais. O índice de marcação de p53 foi classificado em 3 categorias definidas como: 1) - negativa; 2) - positiva em menos de 50% das células tumorais e 3) (Figura 4) - positiva em mais de 50% de células tumorais (Figura – 5).



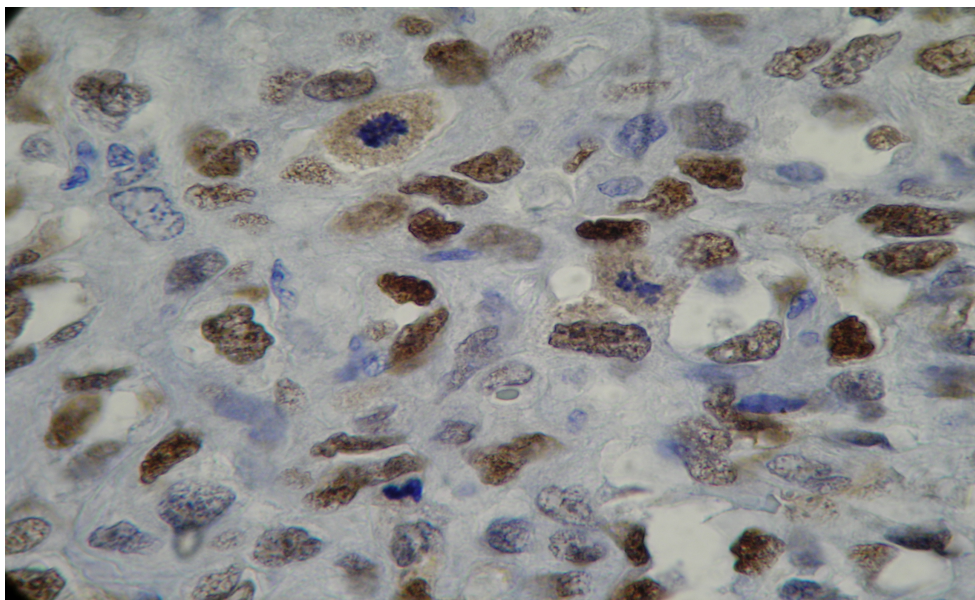


Figura 5 - Fotomicrografia mostrando corte histológico de SPM submetido à imunohistoquímica com índice de marcação de p53 > 50% das células. (850x) Crédito: Dr. Élbio Cândido de Paula

5- Métodos Estatísticos

Os cálculos de medidas de tendência central foram realizados para as variáveis relativas aos pacientes e aos aspectos clinicopatológicos. O teste do qui-quadrado foi utilizado para a verificação de possíveis associações entre a imunodeteção de p53 e os dados clínicos e histopatológicos. Por meio de uma busca nos prontuários dos pacientes portadores de SPM, utilizou-se a última data de informação do paciente para o cálculo da sobrevida, empregando o método de Kaplan-Meier e o teste de log rank para comparação das medidas de sobrevida.

6- Aspectos Éticos

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisas da Associação de Combate ao Câncer em Goiás (CEPACCG) sob o registro 004/06 sendo aprovado sem restrições no dia 07/12/2006 pela CONEP e 19/01/2007 pela CEPACCG (Anexo 2).

RESULTADOS

Dos 236 casos de SPM 104 foram selecionados apartir dos registros do Hospital Araújo Jorge. Dentre eles, 49 (47,1%) eram do sexo masculino e 55 (52,9%) do sexo feminino. A idade dos pacientes variou de 19 até 83 anos, com uma média da idade de 48 anos e mediana de 47 anos. A faixa etária mais acometida pelos SPM foi a de 40-49 anos (tabela II).

Tabela II - Números e porcentagens dos casos de sarcoma de partes moles distribuídos em relação ao gênero, faixa etária e idade agrupada dos pacientes.

Variável	Tamanho Amostral (N)	Frequência Percentual (%)
Sexo		
Masculino	49	47,1
Feminino	55	52,9
Faixa Etária		
≥18	1	1,00
20-29	12	11,50
30 -39	19	18,30
40-49	25	24,00
50-59	21	20,20
60-69	16	15,40
>70	10	9,60
Idade Agrupada		
<40	32	30,8
>40	72	69,2

Os membros inferiores foram a localização anatômica mais acometida pelos SPM, com 37 casos (35,6%), seguida do retroperitônio, com 19 casos (18,3%) e tórax, com 14 casos (13,5%). A maior proporção dos casos estudados foi classificada histologicamente como sarcomas de partes moles sem outras especificações (SOE), perfazendo 29 casos (27,9%). Em seguida, apreceram os

fibrossarcomas, diagnosticados em 21 casos (14,4%), e os leiomiossarcomas em 15 casos (14,4%) (Tabela 3).

Tabela III - Número e porcentagens dos casos de sarcoma de partes moles distribuídos em relação à localização e ao tipo histológico do tumor.

Variável	N	%
Localização		
Cabeça e Pescoço	7	6,7
Tórax	14	13,5
Parede Abdominal	2	1,9
Retroperitônio	19	18,3
Pelve	3	2,9
Intra-abdominal	10	9,6
Membro Superior	12	11,5
Membro Inferior	37	35,6
Tipo Histológico		
Fibrossarcoma	21	20,2
Fibrohistiocitoma Malígnico	1	1
Lipossarcoma	11	10,6
Leiomiossarcoma	15	14,4
Rabdomiossarcoma	2	1,9
Linfagiossarcoma	1	1
Sarcoma de Kaposi	7	6,7
Sarcoma Sinovial	2	1,9
Tumor de Origem Neural	3	2,9
Tumor do Estroma Gastrointestinal	2	1,9
Tumor Neuroendócrino Periférico	2	1,9
Sarcoma SOE	29	27,9
Outros	8	7,7

O estadiamento clinicopatológico foi definido em 99 casos (95,2%), sendo que a maior parte, 38 casos, foi classificada no estágio clínico III (36,5%), seguida por 34 casos (32,7%) no estágio clínico II. Assim, prevaleceram neste estudo os pacientes com tumores maiores que 5 cm, com alto grau de anaplasia e que não apresentavam metástases linfonodais e à distância, à época do diagnóstico (Tabela IV).

Dentre os 104 tumores estudados, 41 (39,4%) apresentaram imunodeteção nuclear de p53. Em 32 casos positivos (78%), os índices de marcação de p53 foram superiores a 50% das células tumorais (Tabela 5). Quando a imunodeteção de p53 foi avaliada em relação aos diferentes tipos histológicos de SPM, evidenciou-se positividade em 12/21 casos de fibrossarcomas (57,1%) e em 8/15 casos de leiomiossarcomas (53,3%). Entretanto, nenhum dos 7 casos de sarcomas de Kaposi apresentou imunodeteção de p53 (Tabela VI). Dentre os 41 casos com imunodeteção positiva para p53, os fibrossarcomas corresponderam a 29,27%, seguidos dos sarcomas SOE com 21,9% e os leiomiossarcomas com 19,5%. (TabelaVII).

Tabela IV-Números e porcentagens dos casos de sarcoma de partes moles distribuídos em relação ao tamanho, comprometimento linfonodal, metástases à distância, grau tumoral e estadiamento clínico-patológico.

Variável	N	%
Tamanho do Tumor		
<5 cm	19	18,3
>5 cm	85	81,7
Linfonodos		
Não	97	93,3
Sim	7	6,7
Metástase		
Não	85	81,7
Sim	13	12,5
sem informação	6	5,8
Grau Tumoral		
Baixo	43	41,3
Alto	54	51,9
sem informação	7	6,7
Estádio		
I	8	7,7
II	34	32,7
III	38	36,5
IV	19	18,3
sem informação	5	4,8

Tabela V - Números e porcentagens dos casos de sarcomas de partes moles distribuídos em relação à imunodeteção e índice de marcação da proteína p53.

Variável	N	%
Imunodeteção de p53		
Negativa	63	60,6
Positiva	41	39,4
Índice de marcação de p53		
<50%	9	22
>50%	32	78

Tabela VI - Imunodeteção da proteína p53 nos sarcomas de partes moles do adulto em relação aos diferentes tipos histológicos.

Tipo Histológico	N	%
Fibrossarcoma	21	12 (57,1)
FHM	1	1 (100,0)
Lipossarcoma	11	2 (18,2)
Leiomiossarcoma	15	8 (53,3)
Rabdomiossarcoma	2	1 (50,0)
Linfagiossarcoma	1	1 (100,0)
Sarcoma de Kaposi	7	0
Sarcoma Sinovial	2	0
Tumor de Origem Neural	3	1 (33,3)
Tumor do Estroma Gastrointestinal	2	1 (50,0)
Tumor Neuroendócrino Periférico	2	1 (50,0)

Sarcoma SOE	29	9 (31,0)
Outros	8	4 (50,0)
Total	104	41

Tabela VII - Frequência relativa por tipo histológico dos sarcomas de partes moles com imunodeteção positiva de p53

Tipo Histológico	N	%
Fibrossarcoma	12	29,27
Fibrohistiocitoma Malígnico	1	2,44
Lipossarcoma	2	4,88
Leiomiossarcoma	8	19,51
Rabdomiossarcoma	1	2,44
Linfagiossarcoma	1	2,44
Sarcoma de Kaposi	0	0,00
Sarcoma Sinovial	0	0,00
Tumor de Origem Neural	1	2,44
Tumor do Estroma Gastrointestinal	1	2,44
Tumor Neuroendócrino Periférico	1	2,44
Sarcoma SOE	9	21,95
Outros	4	9,76
TOTAL	41	100,00

A imunodeteção da proteína p53 foi avaliada em relação aos diferentes aspectos clinicopatológicos dos pacientes com SPM estudados, incluindo sexo, idade agrupada, tamanho do tumor, estágio clinicopatológico, grau tumoral e presença ou ausência de metástases. Nenhuma diferença estatisticamente

significativa foi detectada entre os parâmetros analisados. Os resultados encontram-se descritos na Tabela VIII.

A sobrevida global em cinco anos analisada para os pacientes com SPMs, neste estudo, foi de 46,5% (Figura 6). Pacientes com tumores de baixo grau apresentaram maior sobrevida em 5 anos (63,7%), quando comparados com aqueles que apresentaram tumores de alto grau (35,8%) ($p=0,007$) (Figura 7).

Quando a sobrevida em cinco anos foi analisada em relação aos diferentes estágios clínico-patológicos, uma diferença estatisticamente significativa ($p<0,001$) foi observada para os pacientes com SPM. A sobrevida para os pacientes com estágio clínico I foi de 85%, seguida dos pacientes com estágio clínico II (63,7%), estágio clínico III (43,5%) e estágio clínico IV (11,6%) (Figura 8).

Um dos principais fatores prognósticos nos SPM é o tamanho do tumor. Entretanto, neste estudo, nenhuma diferença estatisticamente significativa na sobrevida foi demonstrada com relação aos diferentes tamanhos dos tumores ($p=0,409$) (Figura 9).

A sobrevida em cinco anos foi analisada em relação à presença de metástases locorregionais e metástases à distância. As metástases locorregionais não influenciaram significativamente a sobrevida dos pacientes com SPM ($p=0,242$). Porém, pacientes com SPM e metástases à distância apresentaram sobrevida significativamente menor que aqueles que não apresentaram metástases ($p<0,001$) (Figuras 10 e 11).

A sobrevida em cinco anos foi também avaliada com relação à imunodeteção de p53. Pacientes com imunodeteção de p53 negativa apresentaram maior sobrevida (50,6%) que aqueles com imunodeteção positiva (39,9%), entretanto a diferença entre os dois grupos não foi estatisticamente significativa ($p=0,279$). Os índices de marcação de p53 foram avaliados nos SPM e dois grupos foram estabelecidos, sendo um com índices menores que 50% das células tumorais e outro com índices maiores que 50%. A sobrevida em cinco anos foi significativamente maior para o grupo com índices de marcação menores

que 50% (85,7%), comparada ao grupo com índices maiores que 50% (28,3%) ($p=0,015$) (Figuras 12 e 13).

Tabela VIII – Imunodeteccção da proteína p53 em relação aos diferentes aspectos clinicopatológicos dos SPM de adultos.

Variável	Nºexaminado	Casos Positivos (%)	P
Todos os casos	104	41 (39,4)	-
Gênero			
Masculino	49	17 (34,7)	-
Feminino	55	24 (43,6)	0,352
Idade Agrupada			
<40	32	12 (37,5)	-
≥40	72	29 (40,3)	0,789
Tamanho do Tumor			
<5 cm	19	5 (26,3)	-
≥5 cm	85	36 (42,4)	0,196
Estádio			
I	8	4(50,0)	-
II	34	11 (32,4)	-
III	38	19 (50,0)	0,187
IV	12	7 (36,8)	-
sem informação	5	0	-
Grau Tumoral			
Baixo	43	17 (39,5)	-
Alto	54	24 (44,4)	0,152
sem informação	5	0	-
Metástase			
Não	85	35 (41,2)	-
Sim	13	6 (46,2)	0,233
sem informação	4	0	-
Linfonodos			
Não	97	40 (41,2)	-
Sim	7	1 (39,4)	0,159

Figura 6 – Sobrevida global em cinco anos para os pacientes com SPM.

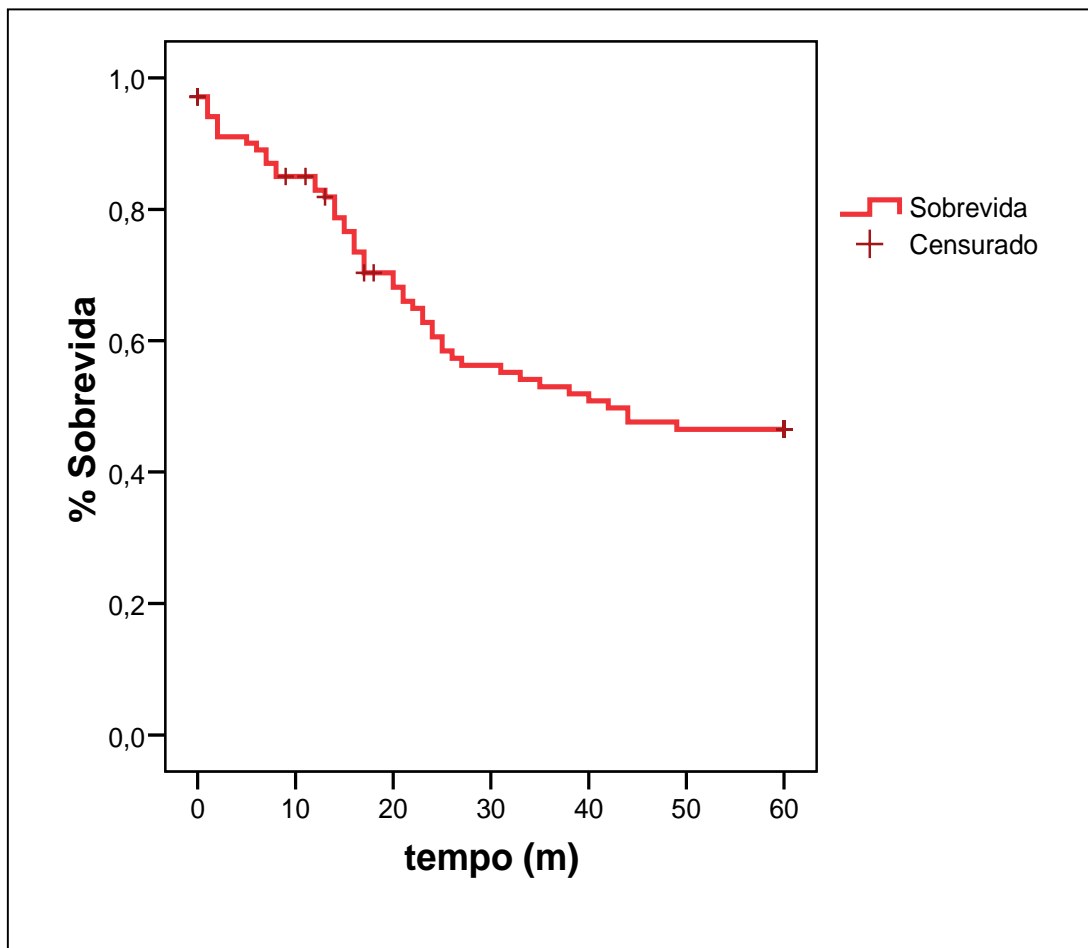
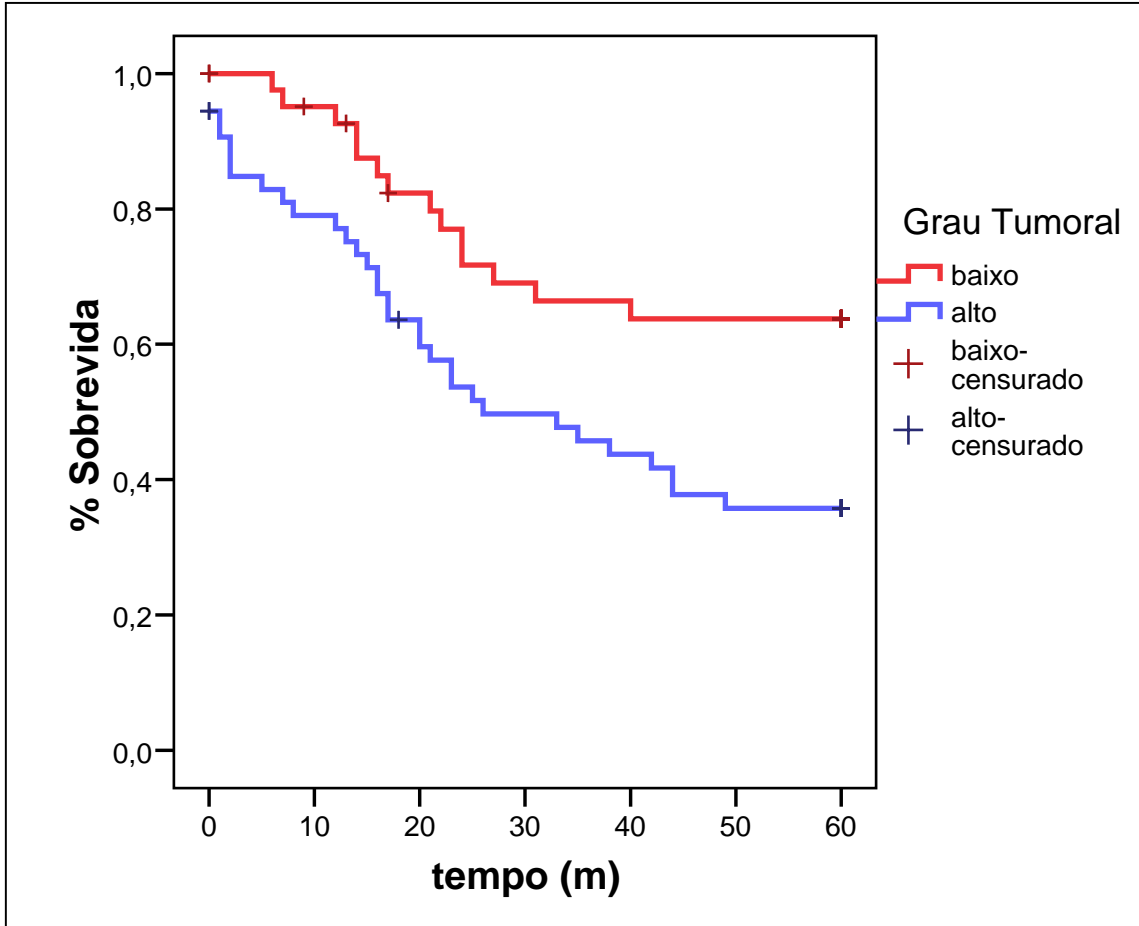


Figura 7 – Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação ao



grau histopatológico tumoral.

Figura 8 – Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação ao estágio clinicopatológico do tumor.

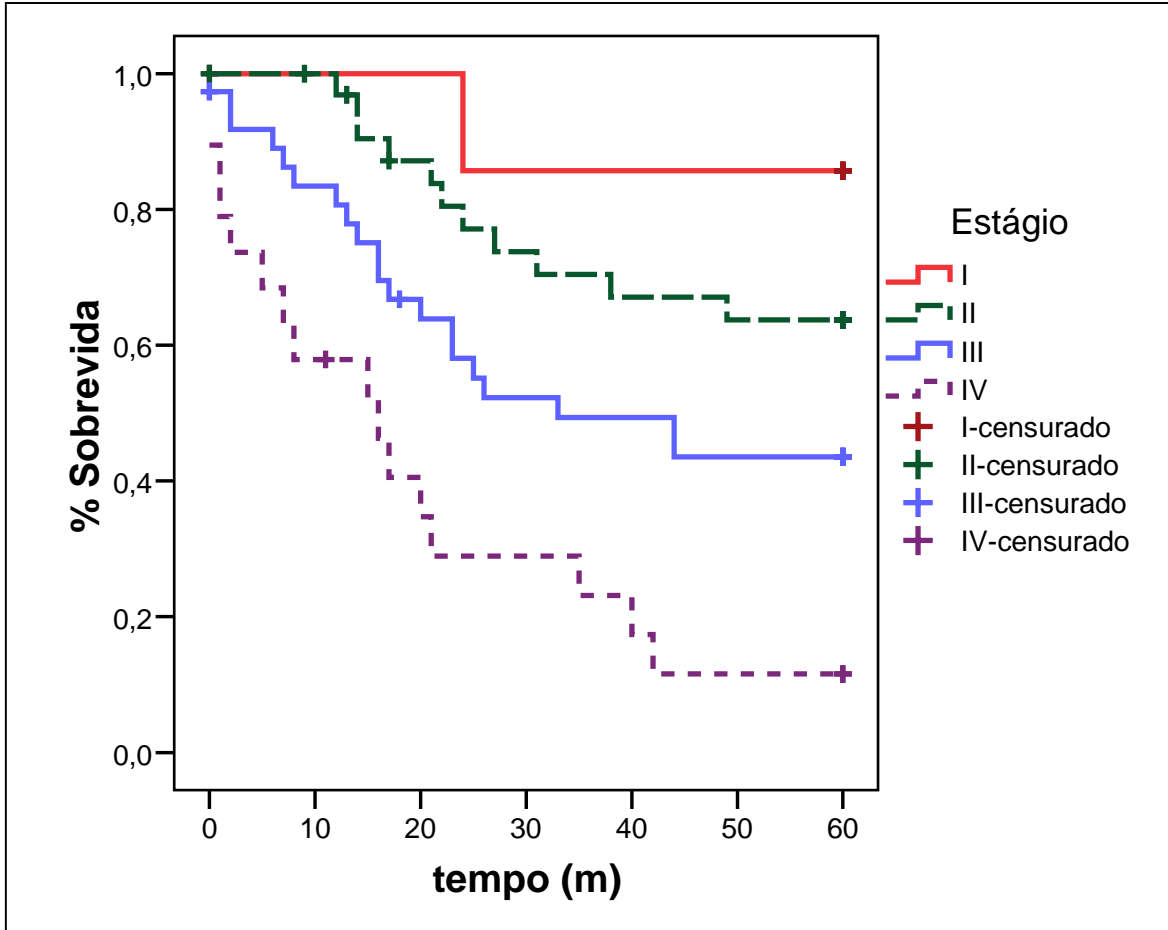


Figura 9 – Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação ao tamanho do tumor.

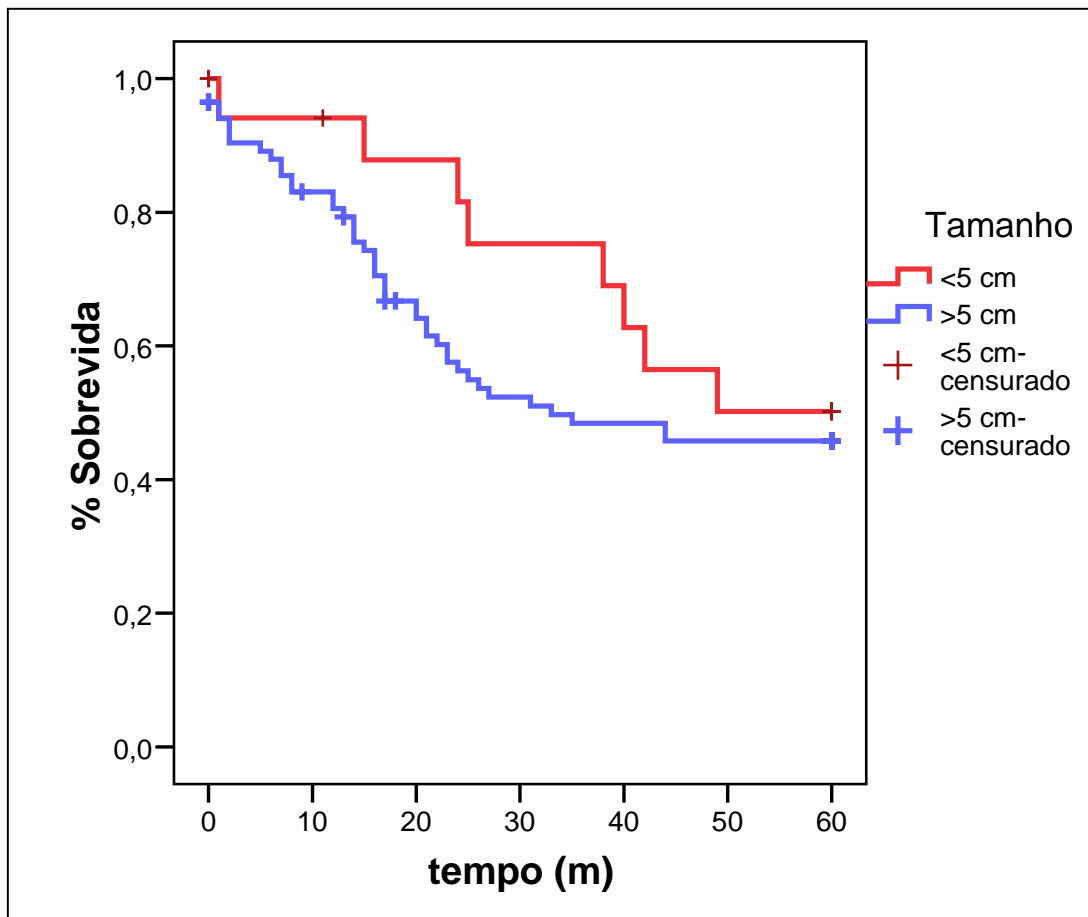


Figura 10 – Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação à presença de metástase linfonodal

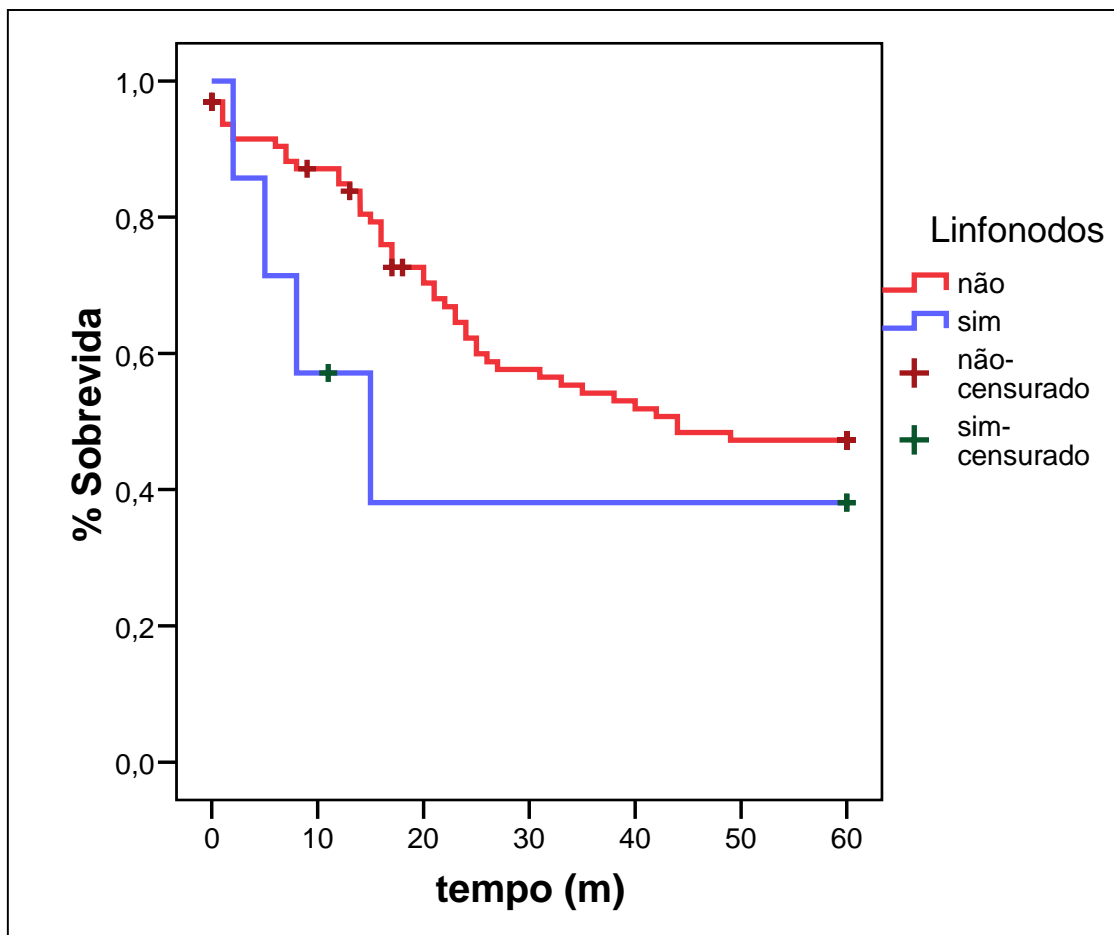


Figura 11 – Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação à presença de metástase à distância.

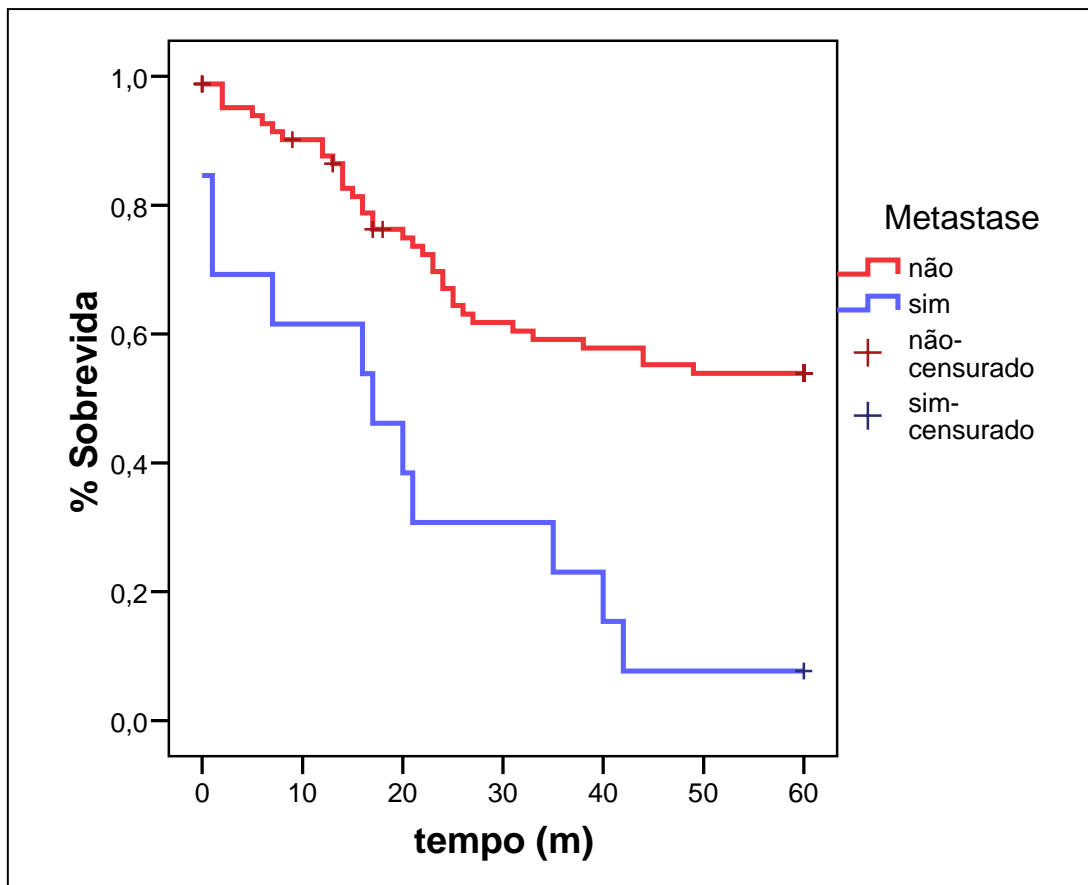


Figura 12 – Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação à imunodeteção de p53.

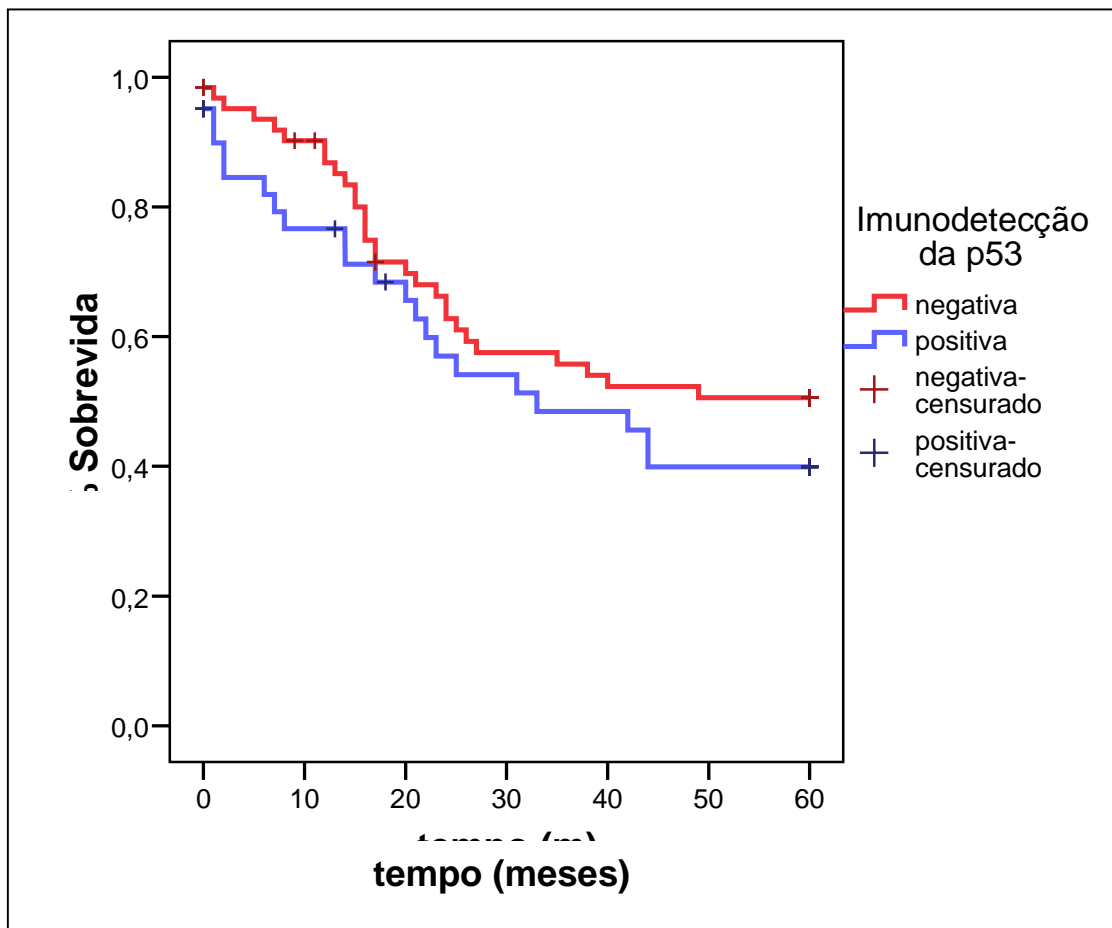
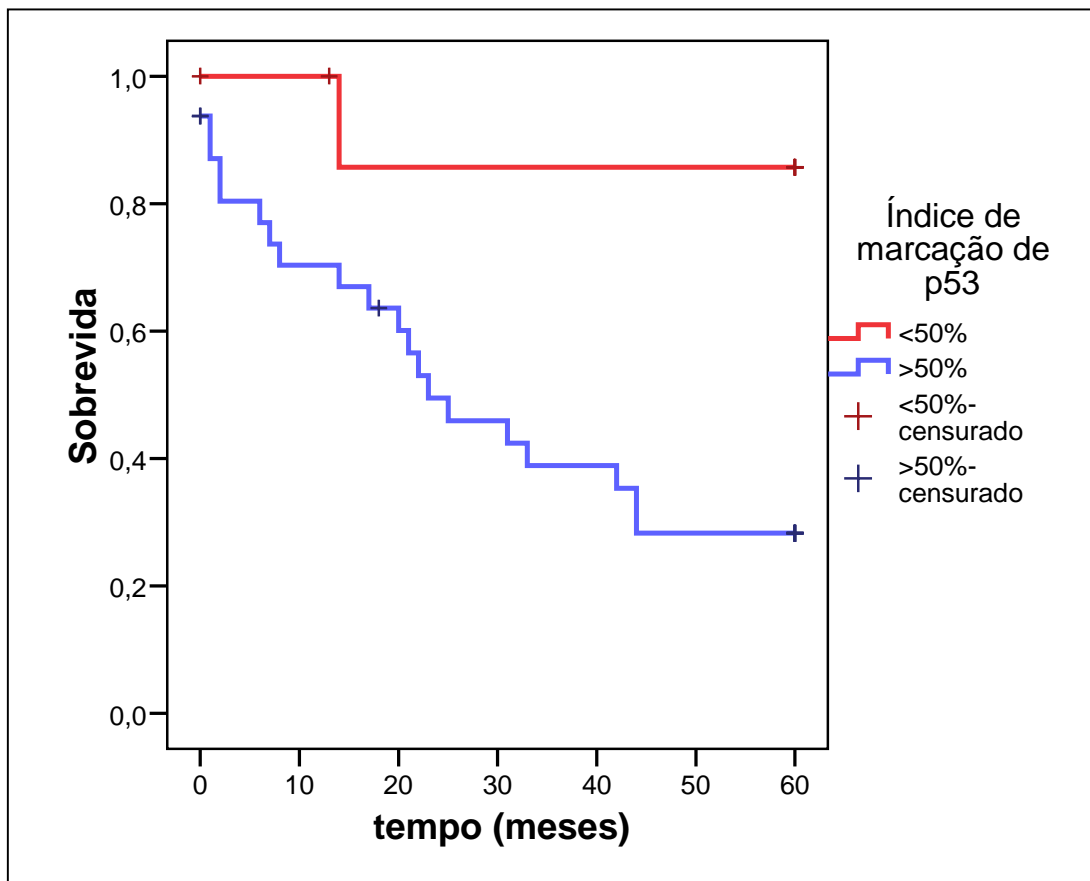


Figura 13 – Sobrevida em cinco anos para os pacientes com SPM em relação ao índice de marcação de p53 nas células tumorais.



DISCUSSÃO

Os sarcomas de partes moles formam um grupo bastante heterogêneo de neoplasias e de ocorrência pouco comum na população. Representam menos de 1% das neoplasias, fato que limita a realização de estudos com grande número de casos, assim como a determinação do tratamento mais adequado e mais efetivo para esta doença^{1,7}. Apesar da cirurgia ser o tratamento considerado padrão, a quimioterapia e a radioterapia podem e devem ser utilizadas⁴⁵. Os fatores prognósticos conhecidos que caracterizam o comportamento mais agressivo do tumor, como o grau tumoral, o tamanho do tumor, o tipo histológico e a presença de metástases, orientam hoje o tratamento de escolha^{41, 42, 43}.

Neste estudo, incluindo 104 casos de SPM, as características clínico-patológicas dos pacientes estudados foram semelhantes às de outras séries descritas na literatura³², com idade média de 48 anos e localização tumoral mais freqüente em membros inferiores (35,6%), seguida do retroperitônio (18,3%), torax (13,5%) e membros superiores (11,5%). Achados também condizentes com os da literatura^{89, 100}.

Uma diferença em relação ao descrito na literatura desta série foi a distribuição dos tipos histológicos. Os subtipos mais encontrados foram os sarcomas SOE (27,9%), seguidos pelos fibrossarcomas (20,2%) e leiomiossarcomas (14,4%). Neste estudo, não se utilizou a imuno-histoquímica para determinação da histogênese dos SPM.

Em relação ao estadiamento clínico-patológico, a maior parte dos tumores estudados pertencia ao estágio clínico III (36,5%), prevalecendo assim tumores maiores que 5 cm e ausência de metástases locorregionais e à distância. Dados semelhantes foram observados no estudo de Ohsawa *et al.*⁹⁹ em que numa série de 142 casos de SPM, 51 pacientes (35,9%) apresentavam estágio clínico III.

A proteína supressora de tumor p53 tem sido estudada em uma grande variedade de neoplasias humanas, utilizando-se diferentes metodologias. Uma grande quantidade de estudos relacionou a presença de mutação do gene TP53,

avaliada pela imunodeteção da proteína p53 mutante, com pior prognóstico em vários tipos de tumores sólidos, como tumores de mama, pulmão ovário, estômago e cólon^{80,81,82,84,85}. No câncer de mama, por exemplo, estudos demonstraram que a presença de p53 mutante pode ser considerada marcador independente de menor sobrevida global e menor sobrevida livre de doença^{81,82,83}. Alterações em p53 estão relacionadas com a progressão tumoral e com fenótipos tumorais mais agressivos⁹⁴. Em sarcomas de partes moles, as mutações de p53 são freqüentemente observadas, com taxas que variam de 10 a 55%^{86,93}. No entanto, poucos trabalhos avaliam a relação da imunodeteção de p53 com a sobrevida de pacientes diagnosticados especificamente com sarcomas de partes moles^{87,88}. Não encontramos registro de nenhum trabalho publicado com dados brasileiros acerca deste tema.

Usando o método da imuno-histoquímica, nosso estudo detectou a expressão elevada de proteína p53 em 41 (39,4%) dos 104 casos estudados. Esse valor é semelhante àqueles encontrados na literatura mundial que variam entre 19,5 a 55% dos casos^{86,87,89}. Contudo, nenhuma relação estatisticamente significativa foi encontrada entre a imunodeteção da proteína p53 e as características estudadas, como sexo, idade agrupada, tamanho do tumor, estadiamento, grau histológico tumoral e presença e ausência de metástases. A imunodeteção de p53 foi mais freqüente nos tumores maiores que 5cm (42,4%), quando comparados aos tumores menores que 5cm (26,3%). Entretanto, a diferença entre os dois grupos não foi estatisticamente significativa ($p = 0,196$). Toffoli *et al*⁹⁴, em sua série de 61 pacientes, encontrou relação entre a imunodeteção de p53 e o grau tumoral, sendo esta mais freqüente em tumores grau 3 ($p < 0,01$). Naquele mesmo estudo, a imunodeteção de p53 também foi correlacionada com o estadiamento clinicopatológico ($p = 0,02$) e com o grau de aneuploidia ($p < 0,01$). Resultados semelhantes foram encontrados por Kawai *et al*⁸⁹, em uma série de 96 pacientes, na qual demonstrou-se relação entre a imunodeteção de p53, o grau histológico dos tumores e a idade dos pacientes. A imunodeteção de p53 também foi maior nos tumores com estágios mais avançados, apesar da falta de significância estatística para esta relação ($p = 0,063$).

No grupo de 41 casos de SPM em que a imunodeteção da proteína p53 foi positiva, 32 casos (78%) apresentaram o índice de marcação maior que 50% das células examinadas, enquanto que 9 casos (22%) apresentaram índice de marcação inferior a 50% das células.

Nosso estudo demonstrou uma sobrevida global em 5 anos de 46,5% para os pacientes com SPM, com uma perda de seguimento de 10 pacientes (9,6%). Com relação a este parâmetro, confirmamos a importância de fatores prognósticos já conhecidos na literatura, como o grau tumoral, o estágio clínico-patológico e a presença de metástases à distância³². A sobrevida dos pacientes com tumores de baixo grau (63,7%) foi mais alta do que a dos pacientes com tumores de alto grau (35,8%) ($p=0,007$), como já esperado.

Quando a sobrevida em cinco anos foi analisada em relação aos diferentes estágios clinicopatológicos, uma diferença estatisticamente significativa ($p<0,001$) foi observada. A sobrevida dos pacientes que apresentavam estágio clínico I foi de 85%, seguida dos pacientes com estágio clínico II (63,7%), estágio clínico III (43,5%) e estágio clínico IV (11,6%). Os pacientes com estágio clínico mais avançado e metástase à distância tiveram pior sobrevida. O tamanho do tumor não mostrou correlação com a sobrevida nessa série ($p=0,409$), o que não se encontra de acordo com as da literatura³⁷. Este resultado pode ter sido influenciado pelo número pequeno de pacientes com tumores menores que 5 centímetros, ou seja, 19 pacientes (18,3%). Novos estudos com maior número de pacientes com tumores menores que 5 centímetros deverão ser realizados para avaliar a correlação com a sobrevida.

A sobrevida em cinco anos foi analisada em relação à presença de metástases locorregionais e metástases à distância. As metástases locorregionais não influenciaram significativamente a sobrevida dos pacientes com SPM ($p=0,242$). Porém, pacientes com SPM e metástases à distância apresentaram sobrevida significativamente menor que aqueles que não apresentaram metástases ($p<0,001$).

A sobrevida dos pacientes cujos tumores apresentaram imunodeteção de p53 (39,9%) foi pior quando comparada ao grupo de pacientes com tumores

negativos para a imunodeteccção de p53 (50,6%), apesar desta diferença não ter sido estatisticamente significativa ($p=0,279$). Outros estudos de séries mostraram resultados positivos para as correlações entre a deteccção de p53 e o prognóstico dos pacientes com SPM^{89,91,94}. Hieken *et al*⁹¹ encontraram maior sobrevida para os pacientes cujos tumores foram negativos para a imunodeteccção de p53 ($p<0,01$). A imunodeteccção de p53 também foi um fator prognóstico importante no estudo de Kawai *et al*⁸⁹, no qual tanto a sobrevida global quanto a sobrevida livre de metástases foram mais baixas para os pacientes que apresentaram tumores com imunodeteccção de p53 ($p < 0,05$).

Quando os índices de marcação de p53 foram considerados, verificou-se que os pacientes com imunodeteccção em mais de 50% das células tumorais apresentaram pior sobrevida (28,3%), quando comparados ao grupo com imunodeteccção menor que 50% (85,7%) ($p=0,015$). Cordon-Cardo *et al.*⁹³ avaliaram a imunodeteccção de p53 em sarcomas de partes moles e obtiveram resultados positivos em 26% dos seus casos, observando correlação positiva com o grau tumoral e redução significativa da sobrevida, quando os índices de marcação eram maiores que 20% das células tumorais ($p= 0,004$). Resultados semelhantes foram relatados nos estudos de Hieken *et al*⁹¹, pela técnica de *Elisa* e *Western Blot*, nos quais pacientes com imunodeteccção de p53 acima de 4,5ng apresentaram maior redução da sobrevida, comparados aos pacientes com expressão de p53 abaixo de 4,5ng. A utilização dos índices de marcação de p53 como ferramenta para deteccção de subgrupos de SPMs de pior prognóstico ainda depende da realização de mais estudos. Mutações de p53 podem interferir na modalidade terapêutica a ser utilizada, já que a quimioterapia à base de adriamicina e a radioterapia agem por vias apoptóticas dependentes de p53. Assim, tais modalidades terapêuticas podem se tornar ineficazes no tratamento das neoplasias com mutações em p53⁹¹.

É possível que a análise do presente estudo, a imuno-histoquímica tenha subestimado mutações de p53 em sarcomas de partes moles (SPM), porque algumas mutações como deleções bilaterais do gene P53, mutações tipo

nonsense ou aquelas em que a proteína p53 sofre alterações conformacionais no epítopo reconhecido pelo anticorpo DO7, tornam impossível sua detecção pela técnica da imuno-histoquímica. Entretanto, estes mecanismos de inativação são excepcionais. Na maioria dos pacientes, o tipo de mutação mais comum em p53 foi a troca de base única (*missense*) e células com tais lesões devem expressar altos níveis de proteína mutante⁸⁹.

Existe também a possibilidade do produto de gene TP53 não mutado ser detectado pela imuno-histoquímica, ou seja, quando esta proteína se torna disfuncional, formando complexos com proteínas oncogênicas virais, como no caso das proteínas do SV-40 e proteínas do papilomavírus humano (HPV). Nessas circunstâncias, alterações de p53 não podem ser detectadas por meio de análises de DNA. A análise imuno-histoquímica de p53 pode ser mais facilmente realizada, em comparação com reações do tipo PCR (*Polymerase Chain Reaction*), SSCP (*Single-Strand Conformation Polymorphism Analysis*) e sequenciamento do DNA.

Apesar das limitações do método, como acima descritos, a imunodeteção de p53 continua sendo uma excelente técnica para seu estudo em séries retrospectivas e análises anátomo-patológicas. A imunodeteção de p53 deve ser considerada como fator prognóstico e marcador do comportamento biológico mais agressivo destes tumores. O índice de imunomarcção quando encontrado em mais de 50% das células tumorais parece ter maior influência na sobrevida dos pacientes com SPM que a imunodeteção isoladamente.

CONCLUSÕES

Com base no estudo realizado, podemos concluir que:

- 1) Nenhuma relação estatisticamente significativa foi detectada entre a imunodeteção de p53 e os aspectos clinicopatológicos estudados, como: tamanho do tumor, metástases linfonodais e à distância, grau tumoral, idade agrupada, gênero e estágio clínico-patológico.
- 2) A imunodeteção de p53, investigada nos diferentes tipos histológicos dos SPM revelou 41 casos positivos (39,4%), dos quais o fibrossarcoma foi o tipo histológico com maior porcentagem de imunodeteção (29,2%), seguido do leiomiossarcoma (19,5%) e do lipossarcoma (4,8%). Os sarcomas sem outras especificações (SOE) contribuíram com 21,9% dos casos.
- 3) A imunodeteção de p53, positiva em 41 casos (39,4%) de SPM, revelou índices de marcação superiores a 50% em 32 casos (78%), e inferiores a 50% em 9 casos (22%).
- 4) A sobrevida em cinco anos foi maior para os pacientes cuja imunodeteção da proteína p53 foi negativa (50,6%), quando comparados àqueles nos quais a imunodeteção foi positiva (39,9%). Entretanto a diferença entre os dois grupos não teve significância estatística ($p=0,279$).
- 5) O papel prognóstico da proteína p53, estudado no grupo de 104 pacientes com SPM, evidenciou que índices de marcação superiores a 50% das células tumorais relacionam-se de forma inversa com a sobrevida em cinco anos, ou seja, pacientes cujos tumores apresentaram índice de marcação superiores a 50% apresentaram menor sobrevida (85,7%X28,3%) ($p= 0,015$). Portanto, o índice de marcação de p53 maior que 50% das células tumorais pode ser

utilizado como fator de pior prognóstico e assim, influenciar decisões terapêuticas em relação a este grupo de pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. Jemal A, Tiwari RC, Murray T, *et al.* Cancer statistics. **CA Cancer J Clin** 2004; 54:8-29.
02. INCA/MS: Instituto Nacional de Câncer / Ministério da Saúde (2005). Estimativas 2006: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro.
03. Martin RG. Soft tissue sarcomas. In: CLARK, RL & HOWE, CD Cancer patient care. Chicago, **Year Book Medical**; 1976; 473-483.
04. RCBPGO, 1996 a 2000, Relatório interno Janeiro, 2006.
05. Zahm SH, Fraumeni Junior JF. The epidemiology of soft tissue sarcoma. **Semin Oncol** 1997; 24:504-14.
06. Levi F, La Vecchia C, Randimbison L *et al.* Descriptive epidemiology of soft tissue sarcomas in Vaud, Switzerland. **Eur J Cancer** 1999; 35: 1711-6.
07. Manoel WJ, De Paula CI, De Conti RC *et al.* Sarcomas de Partes Moles: análise de 73 casos. **Acta Oncol Bras**; 1988; 8(3): 117-120.
08. Kowalski LP, Anelli A, Salvajoli JV *et al.* Parte XI – Cirurgia pélvica. Manual de condutas diagnósticas e terapêutica em oncologia. Hospital A.C. Camargo. **Âmbito Editores**, São Paulo 2002; 2:597.
09. Matthew A. Clark, F.R.A.C.S., Cyril Fisher, F.R.C.Path., Ian Judson, F.R.C.P. Soft-Tissue Sarcomas in Adults. **N Engl J Med** 2005; 353:701-11.
10. Jemal A, Murray T, Samuels A, *et al.* Cancer statistics. **CA Cancer J Clin**; 2003 53: 5

11. Stojadinovic A, Leung DH, Allen P, Lewis JJ, Jaques DP, Brennan MF. Primary adult soft tissue sarcoma: time-dependent influence of prognostic variables. **J Clin Oncol** 2002; 20: 4344-52.
12. McClain KL, Leach CT, Jenson HB, *et al.* Association of Epstein–Barr virus with leiomyosarcomas in young people with AIDS. **N Engl J Med** 1995; 332: 12-8.
13. Wong FL, Boice JD, Abramson DH, *et al.* Cancer incidence after retinoblastoma: radiation dose and sarcoma risk. **JAMA** 1997; 278: 1262-7.
14. Brady MS, Gaynor JJ, Brennan MF. Radiation- associated sarcoma of bone and soft tissue. **Arch Surg** 1992; 127:1379-85.
15. Strong LC, Williams WR, Tainsky MA. The Li-Fraumeni syndrome: from clinical epidemiology to molecular genetics. **Am J Epidemiol.** 1992; 135:190-9.
16. Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F. Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone. Vol. 5 of the World Health Organization classification of tumours. Lyon, France: **IARC Press**, 2002.
17. Rydholm A. Improving the management of soft tissue sarcoma: diagnosis and treatment should be given in specialist centres. **BMJ** 1998; 317:93-4.
18. Sanders TG, Parsons TW III. Radiographic imaging of musculoskeletal neoplasia. **Cancer Control** 2001;8:221-31.
19. Bar-Shalom R, Yefremov N, Guralnik L, *et al.* Clinical performance of PET/CT in evaluation of cancer: additional value for diagnostic imaging and patient management. **J Nucl Med** 2003; 44:1200-9.
20. Somer EJ, Marsden PK, Benatar NA, Goodey J, O'Doherty MJ, Smith MA. PET-MR image fusion in soft tissue sarcoma: accuracy, reliability and practicality of interactive point-based and automated mutual information techniques. **Eur J Nucl Med Mol Imaging** 2003; 30:54-62.

21. Hoerber I, Spillane AJ, Fisher C, Thomas JM. Accuracy of biopsy techniques for limb and limb girdle soft tissue tumors. **Ann Surg Oncol** 2001; 8:80-7.
22. Heslin MJ, Lewis JJ, Woodruff JM, Brennan MF. Core needle biopsy for diagnosis of extremity soft tissue sarcoma. **Ann Surg Oncol** 1997; 4:425-31.
23. Mankin HJ, Mankin CJ, Simon MA. The hazards of the biopsy, revisited. **J Bone Joint Surg Am** 1996; 78:656-63.
24. Trovik CS, Bauer HC, Brosjo O, Skoog L, Soderlund V. Fine needle aspiration (FNA) cytology in the diagnosis of recurrent soft tissue sarcoma. **Cytopathology** 1998; 9:320-8.
25. Alvegard TA, Berg NO. Histopathology peer review of high-grade soft tissue sarcoma: the Scandinavian Sarcoma Group experience. **J Clin Oncol** 1989; 7:1845-51.
26. Clark MA, Thomas JM. Portsite recurrence after laparoscopy for staging of retroperitoneal sarcoma. **Surg Laparosc Endosc Percutan Tech** 2003; 13:290-1.
27. Burkill GJC, Badran M, Al-Muderis O, *et al.* Malignant gastrointestinal stromal tumor: distribution, imaging features, and pattern of metastatic spread. **Radiology** 2003; 226:527-32.
28. Hoekstra HJ; Schraffordt Koops H; Molenaar WM; Oldhoff J. Results of isolated regional perfusion in the treatment of malignant soft tissue tumors of the extremities. **Cancer** 1987; 60 (8):1703-1707.
29. Vraa S; Keller J; Nielsen OS; Sneppen O; Jurik AG; Jensen OM. Prognostic factors in Soft Tissue Sarcomas: The Aarhus Experience. **Eur Journal of Cancer**, 1998; 34, n^o 12, p. 1876 – 1882.
30. Guillou L, Coindre JM, Bonichon F, *et al.* Comparative study of the National Cancer Institute and French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group grading

systems in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. **J Clin Oncol** 1997; 15:350-62.

31. Greene FL, Page DL, Fleming ID, *et al.* eds. AJCC cancer staging manual. **6th ed.** New York: Springer-Verlag, 2002.

32. Lopes A. Sarcomas de Partes Moles. In: Patologia Geral. **Medsi Editora Médica e Científica**; 1999; 41-68

33. Segal NH, Pavlidis NA, Antonescu CR, *et al.* Classification and subtype prediction of adult soft tissue sarcoma by functional genomics. **Am J Pathol** 2003; 163:691-700.

34. Strong LC, Williams WR, Tainsky MA. The Li-Fraumeni syndrome: from clinical epidemiology to molecular genetics. **Am J Epidemiol** 1992; 135:190-9.

35. Stratton MR, Moss S, Warren W, *et al.* Mutation of the p53 gene in human soft tissue sarcomas: association with abnormalities of the RB1 gene. **Oncogene** 1990; 5: 1297-301.

36. Karpeh MS, Brennan MF, Cance WG, *et al.* Altered patterns of retinoblastoma gene product expression in adult soft-tissue sarcomas. **Br J Cancer** 1995; 72: 986-91.

37. 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.

38. Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, *et al.* Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. **J Clin Oncol** 2003; 21: 4342-9.

39. Lee YF, John M, Edwards S, *et al.* Molecular classification of synovial sarcomas, leiomyosarcomas and malignant fibrous histiocytomas by gene expression profiling. **Br J Cancer** 2003; 88: 510-5.
40. Nielsen TO, West RB, Linn SC, *et al.* Molecular characterisation of soft tissue tumours: a gene expression study. **Lancet** 2002; 359: 1301-7.
41. Ramanathan RC, A'Hern R, Fisher C, Thomas JM. Modified staging system for extremity soft tissue sarcomas. **Ann Surg Oncol** 1999; 6: 57-69.
42. Pisters PW, Leung DH, Woodruff J, Shi W, Brennan MF. Analysis of prognostic factors in 1,041 patients with localized soft tissue sarcomas of the extremities. **J Clin Oncol** 1996; 14: 1679-89.
43. Van Dalen T, Hennipman A, Van Coevorden F, *et al.* Evaluation of a clinically applicable post-surgical classification system for primary retroperitoneal soft-tissue sarcoma. **Ann Surg Oncol** 2004; 11: 483-90.
44. Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, *et al.* Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. **Hum Pathol** 2002; 33: 459-65.
45. Brennan MF. Cancer – Principles e Practice of Oncology – 7th Edition **Edited by Lippincott Williams e Wilkins**. 2005 Chapter 35 p. 1581 – 1637.
46. Bowden L, Booher RJ. The principles and technique of resection of soft parts for sarcoma. **Surgery** 1958; 44: 963-76.
47. Gerrand CH, Wunder JS, Kandel RA, *et al.* Classification of positive margins after resection of soft-tissue sarcoma of the limb predicts the risk of local recurrence. **J Bone Joint Surg Br** 2001; 83: 1149-55.
48. Schwartz DL, Einck J, Bellon J, Laramore GE. Fast neutron radiotherapy for soft tissue and cartilaginous sarcomas at high risk for local recurrence. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 2001; 50: 449-56.

49. Bickels J, Wittig JC, Kollender Y, Kellar-Graney KL, Malawer MM, Meller I. Sciatic nerve resection: is that truly an indication for amputation? **Clin Orthop** 2002; 399: 201-4.
50. Pitcher ME, Thomas JM. Functional compartmental resection for soft tissue sarcomas. **Eur J Surg Oncol** 1994; 20: 441-5.
51. Clark MA, Thomas JM. Amputation for soft-tissue sarcoma. **Lancet Oncol** 2003; 4: 335-42.
52. Merimsky O, Kollender Y, Inbar M. Is forequarter amputation justified for palliation of intractable cancer symptoms? **Oncology** 2001; 60: 55-9.
53. McCarter MD, Jaques DP, Brennan MF. Randomized clinical trials in soft tissue sarcoma. **Surg Oncol Clin N Am** 2002; 11: 11-22.
54. Janjan N, Crane C, Delclos M, Ballo M. Brachytherapy for locally recurrent soft-tissue sarcoma. **Am J Clin Oncol** 2002; 25: 9-15.
55. Tepper JE, Suit HD. Radiation therapy alone for sarcoma of soft tissue. **Cancer** 1985; 56: 475-9.
56. O'Sullivan B, Davis AM, Turcotte R, *et al.* Preoperative versus postoperative radiotherapy in soft-tissue sarcoma of the limbs: a randomised trial. **Lancet** 2002; 359: 2235-41.
57. Ballo MT, Zagars GK, Cormier JN, *et al.* Interval between surgery and radiotherapy: effect on local control of soft tissue sarcoma. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 2004; 58: 1461-7.
58. Schuck A, Ahrens S, Paulussen M, *et al.* Local therapy in localized Ewing tumors: results of 1058 patients treated in the CESS 81, CESS 86, and EICESS 92 trials. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 2003; 55: 168-77.

59. Kolb EA, Kushner BH, Gorlick R, *et al.* Long-term event-free survival after intensive chemotherapy for Ewing's family of tumors in children and young adults. **J Clin Oncol** 2003; 21: 3423-30.
60. Oberlin O, Deley MC, Bui BN, *et al.* Prognostic factors in localized Ewing's tumours and peripheral neuroectodermal tumours: the third study of the French Society of Paediatric Oncology (EW88 study). **Br J Cancer** 2001; 85: 1646-54.
61. 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.
62. Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, *et al.* Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. **Science** 1998; 279: 577-80.
63. Kindblom LG, Remotti HE, Aldenborg F, Meis-Kindblom JM. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. **Am J Pathol** 1998; 152: 1259-69.
64. Van Oosterom AT, Judson I, Verweij J, *et al.* Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumours: a phase I study. **Lancet** 2001; 358: 1421-3.
65. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, *et al.* Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. **N Engl J Med** 2002; 347: 472-80.
66. Shimizu A, O'Brien KP, Sjoblom T, *et al.* The dermatofibrosarcoma protuberans-associated collagen type I alpha1/platelet-derived growth factor (PDGF) B-chain fusion gene generates a transforming protein that is processed to functional PDGF-B. **Cancer Res** 1999; 59: 3719-23.

67. Maki RG, Awan RA, Dixon RH, Jhanwar S, Antonescu CR. Differential sensitivity to imatinib of 2 patients with metastatic sarcoma arising from dermatofibrosarcoma protuberans. **Int J Cancer** 2002; 100: 623-6.
68. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, *et al.* A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. **N Engl J Med** 2003; 349: 427-34.
69. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, *et al.* Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. **N Engl J Med** 2004; 350: 2335-42.
70. Whooley BP, Gibbs JF, Mooney MM, McGrath BE, Kraybill WG. Primary extremity sarcoma: what is the appropriate followup? **Ann Surg Oncol** 2000; 7: 9-14.
71. Antonescu CR. The role of genetic testing in soft tissue sarcoma. *Histopathology* 2006; 48, 13 – 21.
72. Hollstein M; Sidransky D; Vogelstein B; Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science*. 1991; 253: 49-53.
73. Sutcliffe JE, Brehm A. Of flies and men; p53, a tumor suppressor. *FEBS Letters*. 2004; 567: 86-91.
74. Oliveira MVP. Implicações do Polimorfismo do Códono 72 do Gene p53 no Carcinoma Laríngeo. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Goiás. 2005.
75. Cavalcante Jr GB, Klumb CE, Maia RC. p53 e as hemopatias malignas. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2002; 48(3): 419 - 427.

76. Roy B, Beamon J, Balint E, Reisman D. Transactivation of the human p53 tumor suppressor gene by c-Myc/Max contributes to elevated mutant p53 expression in some tumors. *Molecular and Cellular Biology* 1994; 14(12):7805 - 7815.
77. Benetti R. et al. The death substrate Gas2 binds m-calpain and increases susceptibility to p53-dependent apoptosis. *EMBO J.* 2001; 20: 2702-2714.
78. Kubbutat MH. And Vousden KH. Proteolytic cleavage of human p53 by calpain: a potential regulator of protein stability. *Mol. Cell. Biol.* 1997; 17, 460-468.
79. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature (Land.)* 1991; 351: 453-456.
80. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the *p53* tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. **Cancer Res** 1994; 54: 4855-4878.
81. Friedrichs K, Gluba S, Eidtmann H, Jonat W. Overexpression of p53 and prognosis in breast cancer. **Cancer (Phila.)** 1993; 72: 2641- 2647.
82. Thor AD, Moore DH 11, Edgerton SM, Kawasaki ES, Reihnsaus E, Lynch HT, *et al.* Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. **J Natl Cancer Inst** 1992; 84: 845-55.
83. Isola J, Visakorpi T, Holli K, Kallioniemi OP. Association of overexpression of tumor suppressor protein p53 with rapid cell proliferation and poor prognosis in node-negative breast cancer patients. **J Natl Cancer Inst** 1992; 84: 1109-14.
84. Bosari S, Viale G, Bossi P, Maggioni M, Coggi G, Murray JJ, Lee AK. Cytoplasmic accumulation of p53 protein: an independent prognostic indicator in colorectal adenocarcinomas. **J Natl Cancer Inst.** 1994;86(9):681-7.

85. Bell SM, Scott N, Cross D, Sagar P, Lewis FA, Blair GE, Taylor GR, Dixon MF, Quirke P. Prognostic value of p53 overexpression and c-Ki-ras gene mutations in colorectal cancer. **Gastroenterology**. 1993; 104(1):57-64.
86. Yoo J, Lee HK, Kang CS, Park WS, Lee YL, Shim SI. P53 gene mutations and p53 expression in human soft tissue sarcomas. **Arch Pathol Lab Med** 1997; 121(4): 395-399.
87. Scheneider-Stock R, Radig K, Oda Y, Mellin W, Rys J, Niezabitowski A, Roessner A. p53 gene mutations in soft-tissue sarcomas – correlations with p53 immunohistochemistry and DNA ploidy. **J Cancer Res Clin Oncol** 1997; 123: 211-218.
88. Dan'ura T, Kawai A, Morimoto Y, Naito N, Yoshida A, Inoue H. Apoptosis and expression of its regulatory proteins in soft tissue sarcomas. **Cancer Lett** 2002; 178: 167-174.
89. Kawai A, Noguchi M, Beppu Y, Yokoyama R, Mukai K, Hirohashi S, Inoue H, Fukuma H. Nuclear immunoreaction of p53 protein in soft tissue sarcomas. **Cancer** 1994; 73:2499-2505
90. Würfl P, Taubert H, Meye A, Berger D, Lautenschläger C, Holzhausen HJ, Schmidt h, Kalthoff H, Rath FW, Dralle H. Prognostic value of immunohistochemistry for p53 in primary soft-tissue sarcomas: a multivariate analysis of five antibodies. **J Cancer Clin Oncol** 1997; 123: 502-508.
91. Hieken TJ, Gupta TK. Mutant p53 expression: A marker of diminished survival in well-differentiated soft tissue sarcoma. **Clin Cancer Res** 1996; 2(8): 1391-1395.
92. Drobnjak M, Latres E, Pollack D, Karpeh M, Dudas M, Woodruff JM, Brennan MF, Cordon-Cardo C. Prognostic implication of p53 nuclear overexpression and

high proliferation index of Ki-67 in adult soft-tissue sarcomas. **J Natl Cancer Inst** 1994; 86:549-554

93. Cordon-Cardo C, Latres E, Drobnjak M, Oliva MR, Pollack D, Woodruff JM, Marechal V, Chert J, Brennan ME, Levine AJ. Molecular abnormalities of mdm2 and p53 genes in adult soft tissue sarcomas. **Cancer Res** 1994, 54:794-799.

94. Toffoli G, Doglioni C, Cernigoi C, Frustaci S, Perin T, Canal B, Boiocchi M. p53 overexpression in human soft tissue sarcomas: Relation to biological aggressiveness. **Annals of Oncology** 1994; 5:167-172

95. Gonin-Laurent N; Gibaud A; Huygue M; Lefèvre SH; Le Bras M; Chauveinc L; Sastre-Garau X; Doz F; Lumbroso L; Chevillard S; Malfoy B. Specific TP53 mutation pattern in radiation-induced sarcomas. **Carcinogenesis** 2006; 27 (6): 1266-72.

96. Eriksson M, Hardell L, Adami HO. Exposure to dioxins as a risk factor for soft tissue sarcoma: a population-based case-control study. **J Natl Cancer Inst.** 1990 21; 82 (6) 486 – 90.

97. O`Sullivan B, Ward I, Catton C. Recent advances radiotherapy for soft-tissue sarcoma. **Curr Oncol Rep** 2003; 5: 274-81.

98. Alektiar KM, Hu K, Anderson L, Brennan MF, Harrison LB. High-dose-rate intraoperative radiation therapy (HDR-IORT) for retroperitoneal sarcomas. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 2000; 47:157-63.

99. Masahiko Ohsawa, Katsuyuki Aozasa, Akira Myoui, Masaki Q. Fujita, Masahiko Tsujimoto, Takafumi Ueda, Atsumasa Uchida, Keiro Ono e Meishi Matsumoto. Histological factors contributing to favorable prognoses of soft tissue sarcomas in premenopausal patients. **Jpn. J Clin Oncol** 1991; 21: 115-119.

100. Clark MA; Fisher C; Judson I; Thomas JM. Soft-tissue sarcomas in adults. **N Engl J of Med** 2005; 353: 701-11.

4. Anexos

Anexo 1 - Classificação de Sarcomas de Partes Moles Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS). Traduzido, baseado em Fletcher et al, 2002.

	TUMOURS	CÓDIGO
TUMORES GORDUROSOS	Lipossarcoma Desdiferenciado	8858/3
	Lipossarcoma Mixóide	8852/3
	Lipossarcoma de Células Redondas	8853/3
	Lipossarcoma Pleomórfico	8854/3
	Lipossarcoma Mixóide	8855/3
TUMORES FIBROBLASTICOS / MIOFIBROBLASTICOS	Lipossarcoma, não especificado	8850/3
	Fibrossarcoma do Adulto	8810/3
	Mixofibrossarcoma	8811/3
	Sarcoma Fibromixóide de Células Fusiformes Hialinizantes de Baixo Grau	8811/3
	Fibrossarcoma epitelióide esclerosante	8810/3
TUMORES FIBROHISTIOCITICOS	Fibrohistiocitoma maligno pleomórfico / Sarcoma pleomórfico indiferenciado	8830/3
	Fibrohistiocitoma maligno de células gigantes / Sarcoma pleomórfico indiferenciado de células gigantes	
	Fibrohistiocitoma maligno inflamatório / Sarcoma pleomórfico indiferenciado com proeminente inflamação	8830/3
TUMORES DE MUSCULOS LISOS	Leiomiossarcoma (excluindo pele)	8890/3
TUMORES PERIVASCULARES (PERICITICOS)	Tumor glômico maligno	8711/3
TUMORES DE MUSCULOS ESQUELÉTICOS	Rabdomiossarcoma embrionário	8910/3
	(incl. células fusiformes, botrioide, anaplásico)	8912/3
	Rabdomiossarcoma Alveolar (Incluindo: sólido, anaplásico)	8910/3
	Rabdomiossarcoma pleomórfico	8920/3
TUMORES VASCULARES		8901/3
	Sarcoma de Kaposi	9140/3
	Hemangioendotelioma epitelióide	9133/3
TUMORES DE DIFERENCIAÇÃO INCERTA	Angiossarcoma de partes moles	9120/3
	Sinoviossarcoma	9040/3
	Sarcoma epitelióide	8804/3
	Sarcoma alveolar de partes moles	9581/3
	Sarcoma de células claras de partes moles	9044/3
	Condrossarcoma mixóide extraesquelético	9231/3
	PNET / Tumor de Ewing extraesquelético pPNET	
	Tumor de Ewing extraesquelético	9364/3
	Tumor desmoplásico de células redondas pequenas	9260/3
	Tumor rabdóide extrarenal	8806/3
Mesenquimoma maligno		
Neoplasias com diferenciação de células claras perivascular (PEComa)	8963/3	
tumor miomelanocítico de células claras	8990/3	
	8800/3	

Anexo 2 – Ficha de coleta de dados clínico-patológicos de SPM – Hospital Araújo Jorge – ACCG

BANCO DE DADOS RETROSPECTIVO
SARCOMAS DE PARTES MOLES
HOSPITAL ARAÚJO JORGE –ACCG
DEPARTAMENTO DE TECIDO CONJUNTIVO E ORTOPEDIA

Número

I. IDENTIFICAÇÃO

1. Prontuário: _____ 2. Nome: _____
3. Data de nascimento: ____/____/____ 4. Sexo: 1. Masc 2. Fem 5. Idade: _____

II. LOCALIZAÇÃO/DIAGNÓSTICO/ESTADIAMENTO

6. Localização: 1. cabeça e pescoço 2. tórax 3. parede abdominal 4. retroperitônio 5. pelve
 6. intra-abdominal 7. membro superior 8. membro inferior 9. outros: _____
7. Biópsia fora: 1. Sim Não 8. Cirurgia fora: 1. Sim 2. Não 9. Dor local: 1. Sim 2. Não
10. Histologia/IHQ: 1. fibrossarcoma 2. FHM 3. lipossarcoma 4. leiomiossarcoma 5. rabdomiossarcoma
 6. linfangio/ssarcoma 7. Kaposi 8. sarcoma sinovial 9. sarcoma epitelióide
 10. TON 11. GIST 12. Ewing 12. PNET 13. paraganglioma
 14. sarcoma alveolar 15. sarcoma SOE 16. outros: _____
11. Estadiamento: _____ 12. Tamanho: _____ cm 13. Linfonodos: 1. Sim 2. Não
14. Grau: 1. baixo 2. alto 15. Metástase: 1. Sim 2. Não 16. Ressecção de metástase: 1. Sim 2. Não
17. Sítio metastático: 1. pulmão 2. fígado 3. cérebro 4. osso 5. NA 6. outros: _____

III. NEOADJUVÂNCIA

18. Radioterapia neoadjuvante: 1. Sim 2. Não 19. Dose: _____ Gy
20. Quimioterapia neoadjuvante: 1. Sim 2. Não 21. Droga principal: _____

IV. TRATAMENTO CIRÚRGICO

22. Cirurgia: 1. Preservação 2. Amputação/ressec. órgão 22. Margem: 1. livre 2. comprometida 3. NA
23. Complicações: 1. Sim 2. Não 24. Tipo: 1. Infecção 2. Deiscência 3. outras: _____

V. ADJUVÂNCIA/TRATAMENTO EXCLUSIVO CURATIVO

25. Radioterapia adjuvante: 1. Sim 2. Não 26. Dose: _____ Gy
27. Quimioterapia adjuvante: 1. Sim 2. Não 28. Droga principal: _____

29. Trat. paliativo inicial: 1. Sim 2. Não 30. Tipo: 1. RT 2. QT 3. Cirurgia 4. Combinado: _____

VI. EVOLUÇÃO

30. Recorrência: 1. Sim 2. Não 31. Padrão: 1. local 2. local+distância 3. distância
32. Sítio metastático: 1. pulmão 2. fígado 3. cérebro 4. osso 5. não 6. outros: _____
33. Ressecção de metástase: 1. Sim 2. Não 34. Tempo para recorrência: _____ meses
35. Situação atual: 1. vivo s/doença 2. vivo c/doença 3. perda de seguimento 4. óbito
36. Tempo de seguimento _____ meses 37. Admissão: ____/____/____ 38. Última consulta: ____/____/____

Apenas sarcomas de partes moles. Se tratamento paliativo(29), apenas itens I, II e VI36-39. NA=não avaliável; TON=tumor de origem neural; GIST= tumor estromal gastrointestinal; PNET=tumor neuroectodérmico

Anexo 3 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da ACCG (CEPACCG)

PROTOCOLO CEPACCG Nº 004/06

Goiânia, 19/06/2006.

INVESTIGADOR (A) RESPONSÁVEL (IES): Dr. Wilmar José Manoel

TÍTULO: “Imunoexpressão da proteína p53 em sarcoma de partes moles no adulto: caracterização genética e epidemiológica ”

Área Temática: Grupo I – Genética Humana

Local de Realização: ACCG/Hospital Araújo Jorge/Tecido Conjuntivo

Senhor Pesquisador,

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa da Associação de Combate ao Câncer em Goiás, após a análise das respostas apresentadas, conforme solicitação, **aprovou sem restrições** o projeto de Pesquisa acima referido, e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

→ **Há** necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa.

→ O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEPACCG, relatórios trimestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).



Dr. Geraldo Silva Queiroz
Coordenador do CEPACCG

Anexo 4 – Parecer da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

PARECER Nº 1283/2006

Registro CONEP: 13295 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

Registro CEP: 004/2006

Processo nº 25000.112738/2006-43

Projeto de Pesquisa: "Imunoexpressão da proteína p53 em sarcomas de partes moles no adulto. Caracterização genética e epidemiológica".

Pesquisador Responsável: Dr. Wilmar José Manoel

Instituição: Hospital Araújo Jorge /GO

Área Temática Especial: Genética humana

Ao se proceder à análise do projeto de pesquisa em questão, em resposta ao Parecer CONEP nº 979/2006, cabem as seguintes considerações:

- a) O pesquisador acrescentou ao protocolo como será feita a correlação da expressão protéica com o tumor e outras variantes, conforme solicitado.
- b) A justificativa para a não obtenção do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi aceita pelo CEP com base no tipo de informação a ser obtida nos prontuários, de forma retrospectiva, apenas para cálculo da sobrevida, sem identificação dos pacientes.
- c) As informações enviadas atendem aos aspectos fundamentais da Res. CNS 196/96 sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.
- d) O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa – CEP da instituição supracitada.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Brasília, 07 de dezembro de 2006.


Gyselle Sadi Tannous
Coordenadora Interina da CONEP/CNS/MS