

Adriano Jander Ferreira

**CARACTERIZAÇÃO, ANÁLISE DE SOBREVIDA E EXPRESSÃO DE IGFR NAS AMOSTRAS
TUMORAIS DOS PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DOS TUMORES DA FAMÍLIA EWING
TRATADOS NO HOSPITAL DE CÂNCER DE BARRETOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação PIO XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Fernando Lopes

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada por Tatiana Messias Freitas da Costa
Biblioteca da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

D129a Ferreira, Adriano Jander.

Caracterização, análise de sobrevida e expressão de IGFR em pacientes com diagnóstico dos Tumores da Família *Ewing* tratados no Hospital de Câncer de Barretos. / Adriano Jander Ferreira. - Barretos, SP 2013.

97 f. : il.

Orientador: Dr. Luiz Fernando Lopes.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2013.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Adriano Jander Ferreira

Caracterização, análise de sobrevida e expressão de IGFR em pacientes com diagnóstico dos tumores da família Ewing tratados no Hospital de Câncer de Barretos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Oncologia

Data da aprovação: 23/08/2013

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani
Instituição: Fundação Pio XII - Hospital de Câncer de Barretos

Prof.^a Dra. Cecília Maria Lima da Costa
Instituição: Fundação Antonio Prudente – Hospital A. C. Camargo

Prof. Dr. Elvis Terci Valera
Instituição: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Prof. Dr. Luiz Fernando Lopes
Orientador

Prof. Dr. Rui Manuel Vieira Reis
Presidente da Banca Examinadora

Esta dissertação foi elaborada e está apresentada de acordo com as normas da Pós-Graduação do Hospital de Câncer de Barretos – Fundação Pio XII, baseando-se no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Oncologia e no Manual de Apresentação de Dissertações e Teses do Hospital de Câncer de Barretos. Os pesquisadores declaram ainda que este trabalho foi realizado em concordância com o Código de Boas Práticas Científicas (FAPESP), não havendo nada em seu conteúdo que possa ser considerado como plágio, fabricação ou falsificação de dados. As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade dos autores e não necessariamente refletem a visão da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos.

Embora o Núcleo de Apoio ao Pesquisador do Hospital de Câncer de Barretos tenha realizado as análises estatísticas e orientado sua interpretação, a descrição da metodologia estatística, a apresentação dos resultados e suas conclusões são de inteira responsabilidade dos pesquisadores envolvidos.

DEDICATÓRIA

A Deus, por estar comigo o tempo todo.

Aos meus pais, pelo amor, carinho, compreensão e exemplo de vida.

Aos meus irmãos e sobrinhos por acreditarem em mim.

À Mellanie por compartilhar comigo os momentos difíceis e oferecer apoio irrestrito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Professor Dr. Luiz Fernando Lopes, pela paciência, pelas sugestões, por ter acreditado na realização desta pesquisa e confiado em meus ideais.

Ao coordenador do Programa de Pós-Graduação em Oncologia da Fundação PIO XII, Professor Dr. Adhemar Longatto Filho.

À Dra. Rossana Verónica Mendoza López pelo auxílio e ensinamentos nas análises estatísticas e pela paciência, conselhos e força nos momentos de aflição.

Ao Dr. Valter Penna e Dr. Eduardo Areas Toller pela ajuda, disponibilidade e ensinamentos na área da oncologia ortopédica.

À Dra. Erica Boldrini e Dra. Gisele Eiras Martins pelo empenho, ajuda e prontuários impecáveis que facilitaram a coleta de dados nesse estudo.

Ao Professor Dr. Daniel Vidal pelos ensinamentos e assistência nos assuntos relacionados a citogenética.

Às secretárias da Pós-Graduação em Oncologia da Fundação PIO XII, Silvana e Brenda.

Aos professores, colegas e todos os integrantes do curso de Pós-Graduação em Oncologia, que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desse trabalho.

Ao Professor Dr. René Aloísio da Costa Vieira, Professora Dra. Sílvia Regina Caminada de Toledo e Dr. Antônio Talvane Torres de Oliveira pelas dicas e orientações do projeto durante as bancas de acompanhamento e qualificação.

Ao Dr. Murilo Antônio Rocha, Dr. Sebastião Almeida Leitão e Dr. Eduardo Humberto Teodoro e Silva pela ajuda em momentos tão importantes.

A todos os colaboradores do Instituto de Ensino e Pesquisa da Fundação PIO XII.

Aos colaboradores do Laboratório de Patologia Cirúrgica da Fundação PIO XII pelo empenho na confecção das lâminas e ajuda na padronização dos testes de imunoistoquímica.

À Dra. Sandra Regina Morini e ao Dr. Cristovam Scapulatempo Neto pela paciência e persistência na padronização dos testes imunoistoquímicos.

A todos vocês, o meu muito obrigado!

“Médicos são homens que prescrevem remédios sobre os quais pouco sabem, para curar doenças que conhecem ainda menos, em seres humanos de quem não sabem nada”.

Voltaire

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	
1.1	Contexto histórico	1
1.2	Definição	1
1.2.1	Sarcoma de Ewing clássico	1
1.2.2	Tumor neuroectodérmico primitivo (PNET)	2
1.2.3	Tumor de Askin	2
1.2.4	Tumores da Família Ewing (TFE)	3
1.3	Epidemiologia dos tumores da família Ewing	3
1.4	Sintomatologia	4
1.5	Alterações laboratoriais	4
1.6	Diagnóstico por imagem	5
1.6.1	Estadiamento local	5
1.6.2	Estadiamento a distância	8
1.7	Diagnóstico diferencial	9
1.8	Diagnóstico definitivo (Biópsia)	9
1.9	Anatomia patológica	10
1.9.1	Anatomia patológica convencional	10
1.9.2	Imunoistoquímica	10
1.10	Diagnóstico citogenético	11
1.11	Tratamento	12
1.11.1	Tratamento local (Cirurgia)	12
1.11.2	Tratamento local (Radioterapia)	12
1.11.3	Tratamento sistêmico	12
1.12	Fatores prognósticos	13
1.13	Alterações citogenéticas nos TFE	15
2	JUSTIFICATIVA DO ESTUDO	19
3	OBJETIVOS	21

3.1 Gerais	21
3.2 Específicos	21
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS.	
4.1 Delineamento do estudo	23
4.2 Critérios de inclusão	23
4.3 Critérios de exclusão	23
4.4 Metodologia	23
4.4.1 Caracterização da amostra	23
4.4.2 Imunoistoquímica	23
4.5 Análises estatísticas	25
4.6 Questões éticas	26
5 RESULTADOS	28
5.1 Caracterização da amostra	28
5.2 Análise de sobrevida baseada nos critérios de risco	35
6 DISCUSSÃO	50
7 CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	61
ANEXOS	
Anexo 1: Informações do Protocolo Sulamericano para Tratamento de Pacientes com Diagnóstico de TFE.	68
Anexo 2: Esquema de tratamento para TFE conforme Protocolo Euro-EWING.	69
Anexo 3: Esquema de tratamento para TFE de baixo risco conforme Protocolo Brasileiro.	70
Anexo 4: Esquema de tratamento para TFE de alto risco conforme Protocolo Brasileiro.	71

Anexo 5: Esquema de tratamento para TFE conforme Protocolo Sulamericano	72
Anexo 6: Ficha de catalogação de dados.	73
Anexo 7: Carta de aprovação do CEP	75
Anexo 8: Carta de aprovação do CEP para alteração do título do estudo, mudança de orientador e inclusão da análise de imunoistoquímica.	76
Anexo 9: MABIN	77

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 -** Dr. James Ewing. 1
- Figura 2 -** Fotomicrografia de um sarcoma de Ewing de paciente tratado no Hospital de Câncer de Barretos (HCB), corado com hematoxilina-eosina (HE), com aumento de 400 vezes. Nota-se uma neoplasia de pequenas células redondas e com padrão homogêneo. 2
- Figura 3 -** Radiografias em 2 incidências do fêmur proximal direito de paciente tratado no HCB, evidenciando lesão de aspecto permeativo na região metafisária com extensão para diáfise e com focos de lise óssea na cortical interna. 5
- Figura 4 -** Radiografia do fêmur proximal na incidência de frente de paciente tratado no HCB, mostrando o aspecto da reação periosteal do tipo lamelar fina na cortical medial do fêmur proximal. 6
- Figura 5 -** TC do úmero proximal de paciente tratado no HCB, com janela para osso, demonstrando imagem de lise óssea e reação periosteal. 6
- Figura 6 -** RNM da coxa de paciente tratado no HCB, evidenciando no corte axial (A) o grande comprometimento de partes moles adjacentes ao osso, característico dos TFE. Corte coronal (B) evidencia a extensão medular da neoplasia e que tem importância fundamental na programação da margem cirúrgica. 7
- Figura 7 -** RNM do antebraço de paciente tratado no HCB, evidenciando nos cortes axiais tumoração comprometendo partes moles, diagnóstico anatomopatológico de SEPM. 7
- Figura 8 -** Cintilografia óssea do corpo inteiro visão anterior (A) e posterior (B) de paciente tratado no HCB, evidenciando hipercaptação do radiofármaco na região proximal do fêmur direito. 8
- Figura 9 -** TC de tórax com janela para parênquima pulmonar de paciente tratado no HCB, evidenciando nódulos periféricos compatíveis com metástase. 9
- Figura 10 -** Fotomicrografia de um sarcoma de Ewing, tratado no HCB, preparado com

técnica de imunistoquímica, com aumento de 400 vezes. Nota-se uma neoplasia de pequenas células e redondas com positividade para o anticorpo CD99. 11

- Figura 11** - Diagrama demonstrando as vias responsáveis pela atividade e inibição do IGF-1R nos TFE. 17
- Figura 12** - Fluxograma de inclusão e exclusão dos pacientes no estudo. 23
- Figura 13** - Distribuição dos pacientes de acordo com as variáveis sexo e metástase ao diagnóstico tratados no HCB, período 2003-2012. 31
- Figura 14** - Distribuição do tratamento cirúrgico de acordo com o sítio da lesão dos pacientes com diagnóstico dos TFE tratados no HCB, período 2003-2012. 32
- Figura 15** - Distribuição do tratamento radioterápico de acordo com o sítio da lesão dos pacientes com diagnóstico dos TFE tratados no HCB, período 2003-2012 32
- Figura 16** - Distribuição do tratamento de acordo com o sítio da lesão dos pacientes com diagnóstico dos TFE tratados no HCB, período 2003-2012 33
- Figura 17** - Distribuição do tratamento radioterápico de acordo com a variável metástase ao diagnóstico dos pacientes com diagnóstico dos TFE tratados no HCB, período 2003-2012 33
- Figura 18** - Distribuição dos pacientes de acordo com as variáveis expressão de IGFR e metástase ao diagnóstico tratados no HCB, período 2003-2012. 34
- Figura 19** - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, período 2003-2010. 35
- Figura 20** - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, período 2003-2010. 35
- Figura 21** - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável faixa etária, período 2003-2010. 36
- Figura 22** - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável faixa etária, período 2003-2010. 36
- Figura 23** - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE submetidos a tratamento no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável sexo, período 2003-2010. 37
- Figura 24** - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE submetidos a tratamento

	no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável sexo, período 2003-2010.	37
Figura 25	- Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização esquelética ou de partes moles do tumor, período 2003-2010.	38
Figura 26	- Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização esquelética ou de partes moles do tumor, período 2003-2010.	38
Figura 27	- Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização axial ou de extremidade do tumor, período 2003-2010.	39
Figura 28	- Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização axial ou de extremidade do tumor, período 2003-2010.	39
Figura 29	- Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável metástase em diferentes sítios e os não metastáticos, período 2003-2010.	40
Figura 30	- Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável metástase em diferentes sítios e os não metastáticos, período 2003-2010.	40
Figura 31	- Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando diferentes modalidades de tratamento local, período 2003-2010.	41
Figura 32	- Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando diferentes modalidades de tratamento local, período 2003-2010.	41
Figura 33	- Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando o protocolo utilizado no tratamento, período 2003-2010.	42
Figura 34	- Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando o protocolo utilizado no tratamento,	

	período 2003-2010.	42
Figura 35 -	Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável DHL, período 2003-2010.	43
Figura 36 -	Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável DHL, período 2003-2010.	43
Figura 37 -	Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a expressão de IGFR, período 2003-2010.	44
Figura 38 -	Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a expressão de IGFR, período 2003-2010.	44
Figura 39 -	Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE metastáticos tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização da metástase, período 2003-2010.	48
Figura 40 -	Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE metastáticos tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização da metástase, período 2003-2010.	48

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Esquema de pontuação adotado para análise imunoistoquímica pela combinação da intensidade de coloração e a porcentagem de células coradas. 25
- Tabela 2** - Características clínicas e variáveis de interesse prognóstico de 77 pacientes com diagnóstico de TFE tratados no HCB, período 2003-2012. 29
- Tabela 3** - Principais sítios de acometimento dos TFE no esqueleto e nas partes moles dos pacientes tratados no HCB, período 2003-2012. 30
- Tabela 4** - Probabilidade de sobrevida global e sobrevida acumulada livre de eventos, segundo as variáveis de interesse prognóstico, dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados nos HCB, período 2003-2010. 45
- Tabela 5** - Regressão univariada de Cox para SG e SLE das variáveis de interesse prognóstico dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados nos HCB, período 2003-2010. 46
- Tabela 6** - Probabilidade de sobrevida global e sobrevida acumulada livre de eventos, segundo a variável localização da metástase, dos pacientes com diagnóstico de TFE metastáticos, tratados nos HCB, período 2003-2010. 48
- Tabela 7** - Regressão univariada de Cox para SG e SLE, segundo a variável localização da metástase, dos pacientes com diagnóstico de TFE metastáticos tratados nos HCB, período 2003-2010. 48

LISTA DE ABREVIATURAS

SEO	Sarcoma de Ewing Ósseo
SE	Sarcoma de Ewing
PNET	<i>Primitive neuroectodermal tumors</i>
TFE	Tumores da família Ewing
SEPM	Sarcoma de Ewing de partes moles
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
TC	Tomografia computadorizada
RNM	Ressonância Nuclear Magnética
PET scan	Tomografia por emissão de pósitrons
DHL	Desidrogenase láctica
AP	Anátomo-Patológico
MO	Medula óssea
HE	Hematoxilina-eosina
HCB	Hospital de Câncer de Barretos
dp	Desvio padrão
mg/dl	Miligrama por decilitro
PM	Partes moles
cm	Centímetros
cGy	Centigrays
SG	Sobrevida global
SLE	Sobrevida livre de eventos
HR	<i>Hazard Ratio</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
\geq	Maior ou igual a
\leq	Menor ou igual a
$>$	Maior que
$<$	Menor que
χ^2	qui-quadrado de Pearson

RESUMO

Ferreira, AJ. *Caracterização, análise de sobrevida e expressão de IGFR nas amostras tumorais dos pacientes com diagnóstico dos tumores da família Ewing tratados no Hospital de Câncer de Barretos. Tese (Mestrado)*. Barretos - SP: Hospital de Câncer de Barretos; 2013.

Justificativa: O sarcoma de Ewing é a segunda malignidade óssea da infância e adolescência e juntamente com os Tumores Neuroectodérmicos Primitivos e o Tumor de Askin compõem os chamados Tumores da Família Ewing. O tratamento dos Tumores da Família Ewing inclui quimioterapia neoadjuvante, cirurgia e/ou radioterapia e quimioterapia adjuvante. Apesar dos avanços nas técnicas cirúrgicas e descoberta de novos quimioterápicos as taxas de cura e a sobrevida desses pacientes ainda são baixas. **Objetivos:** Estudo das características clínicas dos pacientes com diagnóstico de Tumor da Família Ewing e análise de sobrevida baseada nos critérios de risco e expressão da proteína de superfície IGFR. **Materiais e Métodos:** Trata-se de um estudo de coorte com coleta retrospectiva dos dados clínicos de 77 pacientes com diagnóstico de Tumores da Família Ewing, tratados pelo Departamento de Oncologia Pediátrica do Hospital de Câncer de Barretos, no período compreendido entre 2003 e 2012. As amostras biológicas dos pacientes foram submetidas a pesquisa do receptor de superfície IGFR por meio de técnica de imunistoquímica, utilizando o anticorpo anti-IGFR. A análise de sobrevida foi realizada baseada nos critérios de risco e expressão do IGFR. **Resultados:** A SG dos pacientes incluídos no estudo foi de 45% em 5 anos e a SLE de 30% em 5 anos. Metástase ao diagnóstico esteve presente em 44,2% da amostra, sendo que desses 88,2% eram do sexo masculino ($p < 0,001$). A avaliação da expressão de IGFR nas amostras biológicas dos pacientes apresentou associação com a variável metástase ao diagnóstico ($p < 0,001$). O estudo demonstrou pior prognóstico nos pacientes com metástase extra pulmonar quando comparado com metástase pulmonar ($p = 0,009$). A modalidade de tratamento local da neoplasia demonstrou melhor prognóstico nos pacientes submetidos ao tratamento cirúrgico local quando comparado com as outras modalidades ($p < 0,001$). **Conclusões:** Nossos resultados evidenciaram uma maior incidência de metástase ao diagnóstico nos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no HCB. A metástase de localização extra pulmonar foi fator de pior prognóstico em nosso estudo. O tratamento cirúrgico do tumor primário foi fator de melhor prognóstico. A expressão de IGFR está mais presente nos pacientes com metástase ao diagnóstico, porém não se mostrou como fator prognóstico nos TFE.

Palavras-chaves: Sarcoma de EWING; Tumores Neuroectodérmicos Primitivos Periféricos; Fator de Crescimento Insulin-Like I; Análise de Sobrevida; Neoplasias Ósseas; Oncologia.

ABSTRACT

Ferreira, AJ *Characterization, survival analysis and expression of IGFR in samples of tumor of patients with Ewing's family tumors treated at Barretos Cancer Hospital*. Dissertation (Master's degree). Barretos - SP: Barretos Cancer Hospital; 2013.

Background: Ewing's sarcoma is the second bone malignancy in childhood and adolescence, with primitive neuroectodermal tumors and Askin tumor compose Ewing's Family Tumors. The treatment of Ewing's Family Tumors includes neoadjuvant chemotherapy, surgery and/or radiation therapy and adjuvant chemotherapy. Although advances in surgical techniques and discovery of new chemotherapeutic, cure rates and survival of these patients are still low. **Aims:** Study the clinical characteristics of patients diagnosed with Ewing's Tumor Family and survival analysis based on risk criteria and expression of the protein surface IGFR. **Materials and Methods:** A cohort study with retrospective collection of clinical data of 77 patients diagnosed with Ewing's Family Tumors treated between 2003 and 2012 at the Pediatric Oncology Department of Barretos Cancer Hospital (BCH). Biological samples of patients were examined for the presence of surface receptor IGFR by immunohistochemical technique using the anti-IGFR. Survival analysis was performed based on risk criteria and expression of IGFR, using Kaplan-Meier curves and the Cox regression model. **Results:** The overall survival (OS) of the patients included in the study was 45% in 5 years and 30% of the event-free survival (EFS) in 5 years. Metastasis at diagnosis was present in 44.2% of the sample, and of these 88.2% were male ($p < 0.001$). The expression of IGFR in biological samples of patients was associated with variable metastasis at diagnosis ($p < 0.001$). The study showed worse prognosis in patients with extrapulmonary metastases compared with lung metastases ($p = 0.009$). The modality of local treatment of the tumor showed better prognosis in patients undergoing surgical treatment site when compared to other modalities ($p < 0.001$). **Conclusions:** Our results showed a higher incidence of metastasis at diagnosis in patients with Ewing's Family Tumors treated in BCH. Extra pulmonary metastasis was negative prognostic factor in our study. Surgical treatment of the primary tumor was a factor of better prognosis. The strong expression of IGFR is more present in patients with metastasis at diagnosis, but was not as a prognostic factor in Ewing's Family Tumors.

Keywords: Sarcoma, Ewing; Neuroectodermal Tumors, Primitive, Peripheral; Insulin-Like Growth Factor I; Survival Analysis; Bone Neoplasms; Medical Oncology.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Contexto histórico

O sarcoma de Ewing ósseo (SEO) foi primeiramente descrito como nova entidade patológica por James Ewing (Figura 1), patologista e oncologista americano, em 1921, sendo denominada na ocasião como endotelioma difuso dos ossos (Ewing 1972).



Figura 1 - Dr. James Ewing. (Fonte: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Ewing.jpg#globalusage>).

1.2 Definição

1.2.1 Sarcoma de Ewing clássico

Os tumores ósseos primários representam de 5 a 6% de todos os tumores da infância e adolescência (0 a 19 anos). O SEO é a segunda malignidade óssea em frequência nesta faixa etária, sendo sua incidência menor apenas que o osteossarcoma (Gurney et al. 1999). Sarcoma de Ewing (SE) é definido histologicamente como neoplasia composta por células pequenas, imaturas, redondas e usualmente ricas em glicogênio (Figura 2). Apresenta alterações genéticas em aproximadamente 80% dos casos definida como a translocação

recíproca entre os cromossomos 11 e 22 - t(11;22) (q24;q12), resultando na expressão da proteína EWS/FLI-1 (Dei Tos et al. 1997). Associa-se ainda à translocação recíproca entre os cromossomos 11 e 22, a superexpressão da glicoproteína de superfície celular CD99 (Delattre et al. 1994; Kovar et al. 1999).

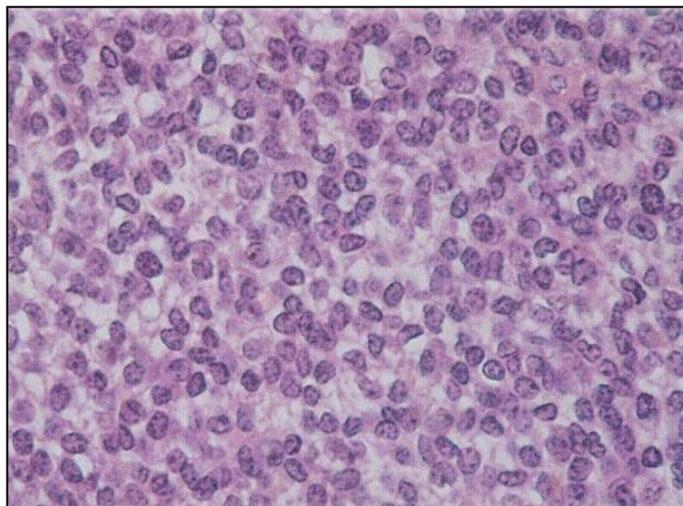


Figura 2 - Fotomicrografia de um sarcoma de Ewing de paciente tratado no Hospital de Câncer de Barretos (HCB), corado com hematoxilina-eosina (HE), com aumento de 400 vezes. Nota-se uma neoplasia de pequenas células redondas e com padrão homogêneo (Fonte: Acervo HCB).

1.2.2 Tumor neuroectodérmico primitivo (PNET)

O Tumor neuroectodérmico primitivo (PNET) pertence a um grupo de tumores de pequenas células redondas (Horowitz et al. 1997). Esses tumores têm origem neural, podendo comprometer o sistema nervoso central ou periférico. O PNET extracraniano tem como sítio primário o osso ou partes moles, ocorrendo com maior frequência na parede torácica, região paravertebral, pelve e membros (Quezado et al. 1997; Gururangan et al. 1998).

1.2.3 Tumor de Askin

O tumor de Askin foi descrito por Askin e colaboradores em 1979 (Askin et al. 1979). Trata-se de um PNET da parede torácica sendo descrito como uma neoplasia rara (Ramasamy et al. 2013).

1.2.4 Tumores da família Ewing (TFE)

Marcadores imunoistoquímicos, citogenética, genética molecular, cultura de tecidos e a detecção da mesma translocação cromossômica t(11;22), nos chamados PNET ou neuroepitelioma periférico, nos Sarcomas de Ewing de partes moles (SEPM) e no tumor de ASKIN denota que todos esses tumores se originam da mesma célula tronco primordial. Dessa forma, todos esses tumores estão agrupados no que chamamos de TFE (Delattre et al. 1994).

1.3 Epidemiologia dos tumores da família Ewing

Nos Estados Unidos, a incidência anual dos TFE é de 2,9 casos por milhão em indivíduos até 20 anos de idade (Gurney et al. 1999). No continente europeu, em torno de 900 casos novos são diagnosticados anualmente (Gatta et al. 2011). São raros em indivíduos negros, predominam discretamente no sexo masculino e ocorrem mais comumente na segunda década de vida (Pizzo et al. 2005). Cerca de 80% dos indivíduos com diagnóstico de TFE são jovens com menos de 20 anos de idade (Lanzkowsky 2005). São raros acima dos 30 anos e abaixo dos 5 anos de idade, quando o diagnóstico diferencial deve ser com neuroblastoma metastático (Dorfman & Cerniak 1998).

Ao diagnóstico, cerca de 70% dos pacientes apresentam doença localizada e 30% apresentam metástase. O sítio preferencial de metástase é o pulmão (50% dos casos), entretanto também podem ocorrer em osso (25%) e/ou medula óssea (20%) (Grier 1997).

O SEO acomete mais frequentemente ossos da pelve, fêmur, tíbia e úmero (Jedicka 2010).

A localização mais frequente dos SEPM é a parede torácica (Arpaci et al. 2013). Porém algumas séries de casos trazem os SEPM localizados mais comumente nas extremidades (Kinsella et al. 1983; Rud et al. 1989; Siebenrock et al. 1996).

Ao inferirmos sobre as estatísticas no Brasil devemos sempre levar em consideração a dificuldade dos registros de câncer existentes no país para manter a coleta de dados continuamente. Na maioria das vezes, estes registros enfrentam problemas estruturais para a sua manutenção, o que pode levar a vieses que se refletirão na análise dos dados das diferentes regiões do país (Guerra et al. 2005).

Estima-se que a incidência dos TFE no Brasil esteja entre 3,1 a 4,2 casos/milhão/ano no estado de São Paulo (Fundação Oncocentro de São Paulo 2012).

Estudo pioneiro envolvendo análise descritiva de registro de câncer de base populacional em crianças e adolescentes, publicado no Brasil, envolveu 14 registros no país. O estudo demonstra a importância do conhecimento da incidência, prevalência, mortalidade e taxas de sobrevivência nos vários tipos de câncer para avaliarmos a qualidade do sistema de saúde (de Camargo B et al. 2010).

Em estudo publicado pelo Instituto de Oncologia Pediátrica da Universidade Federal de São Paulo (IOP-GRAACC-UNIFESP), caracterizando 64 pacientes com diagnóstico de SEO, no período compreendido entre 1995 e 2010, houve predominância no sexo masculino e a idade média foi de 14,7 anos. A sobrevivência global dos pacientes incluídos neste estudo foi de 59,5% em 5 anos (Bellan et al. 2012).

Conforme dados do boletim do Protocolo Sulamericano para Tratamento dos TFE, publicado em julho de 2012, o Brasil foi responsável pela inclusão de 52 novos casos (63,41%) seguido da Argentina com 12 novos casos (14,63%), Chile com 10 (12,19%) e Uruguai com 8 inclusões (9,75%) no período que compreendeu janeiro de 2011 a julho de 2012. No Brasil, o Hospital de Câncer de Barretos da Fundação Pio XII (HCB) é responsável pelo maior número de inclusões de pacientes no protocolo de acordo com esse boletim, totalizando 12 pacientes (14,63% de todos os pacientes incluídos no protocolo e 23,07% dos pacientes incluídos pelo Brasil)(Anexo I).

1.4 Sintomatologia

Os pacientes com diagnóstico de TFE frequentemente referem quadro de dor localizada e progressiva podendo estar presente, na dependência do sítio anatômico, uma massa palpável, endurecida e dolorosa a palpação. Quando as lesões estão próximas às articulações pode haver bloqueio mecânico e se há lesão na proximidade da coluna vertebral podemos encontrar compressão de raízes nervosas. Nos casos avançados pode ocorrer emagrecimento, febre e prostração (Widhe & Widhe 2000).

1.5 Alterações laboratoriais

Os pacientes com diagnóstico de TFE podem apresentar, na dependência do estágio da doença, quadro de anemia, leucocitose e aumento da velocidade de hemossedimentação (VHS), estas alterações associadas ao quadro radiológico podem simular o diagnóstico de osteomielite e retardar o início do tratamento. A dosagem de desidrogenase láctica (DHL) no

soro do paciente pode estar aumentada, tendo fator na avaliação da resposta ao tratamento (Durbin et al. 1998).

1.6 Diagnóstico por imagem

1.6.1 Estadiamento local

Nos tumores ósseos, a radiografia convencional tem importância fundamental e é o primeiro exame a ser solicitado. A radiografia evidencia uma lesão de aspecto permeativo, de limites imprecisos, com focos de lise óssea, podendo haver reação do perióstio do osso acometido (Figura 3). A reação do perióstio pode ser em lâminas finas estratificadas (Figura 4) ou chamado aspecto em “roído de traça”. Há ainda comprometimento de partes moles adjacentes sem calcificações no seu interior (Rud et al. 1989; Widhe & Widhe 2000).



Figura 3 - Radiografias em 2 incidências do fêmur proximal direito de paciente tratado no HCB, evidenciando lesão de aspecto permeativo na região metafisária com extensão para diáfise e com focos de lise óssea na cortical interna (Fonte: Acervo HCB).

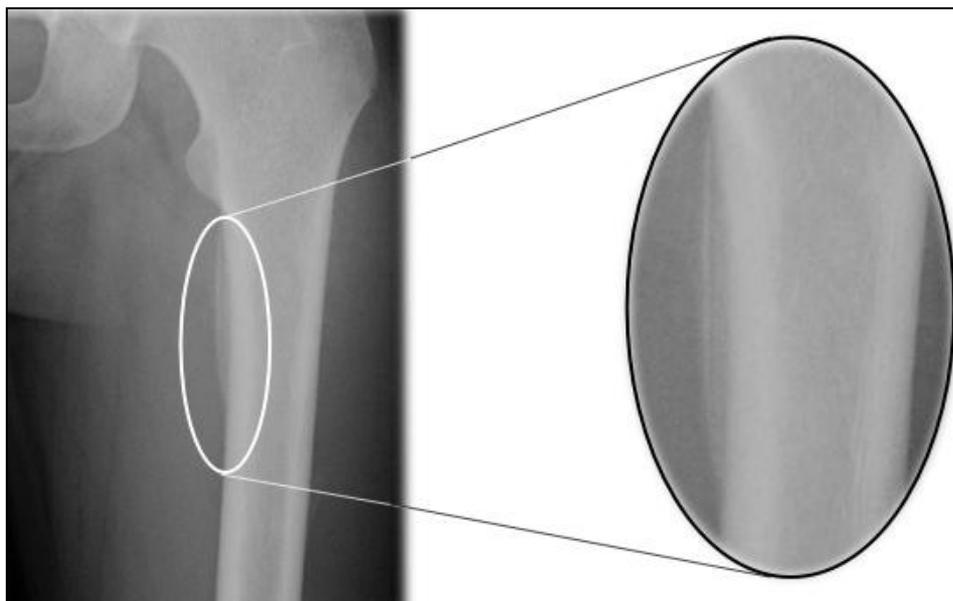


Figura 4 - Radiografia na incidência de frente de paciente tratado no HCB, mostrando o aspecto da reação periosteal do tipo lamelar fina na cortical medial do fêmur proximal (Fonte: Acervo HCB).

A tomografia computadorizada (TC) (Figura 5) e a ressonância nuclear magnética (RNM) complementam o estadiamento local dos TFE, permitindo a visualização da relação com estruturas anexas e acometimento das partes moles adjacentes, neste último caso sendo a RNM o exame padrão ouro (Figuras 6 e 7) (Acervo HCB).

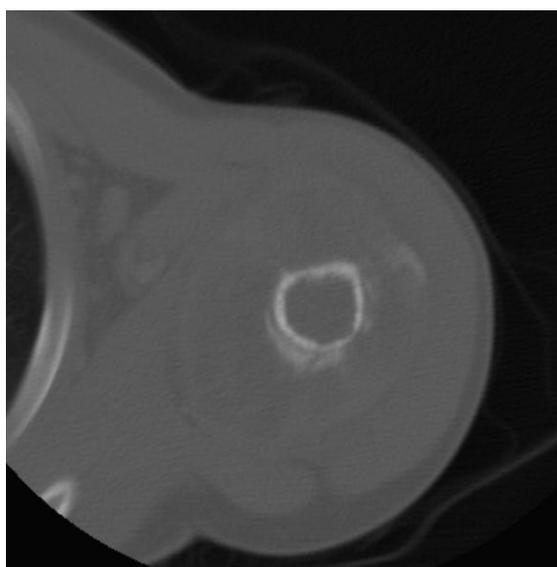


Figura 5 - TC do úmero proximal de paciente tratado no HCB, com janela para osso, demonstrando imagem de lise óssea e reação periosteal (Fonte: Acervo HCB).

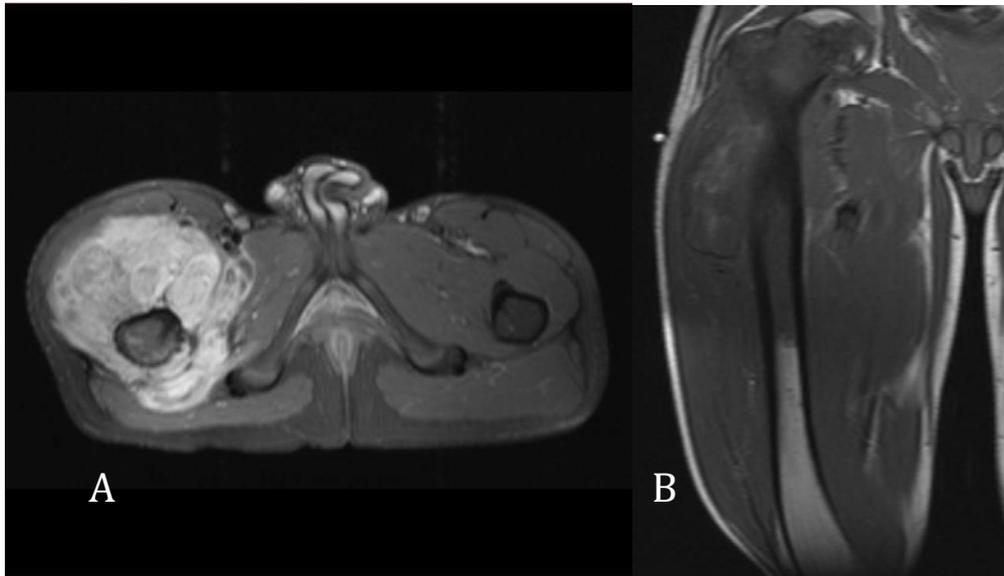


Figura 6 - RNM da coxa de paciente tratado no HCB, evidenciando no corte axial (A) o grande comprometimento de partes moles adjacentes ao osso, característico dos TFE. Corte coronal (B) evidencia a extensão medular da neoplasia e que tem importância fundamental na programação da margem cirúrgica (Fonte: Acervo HCB).

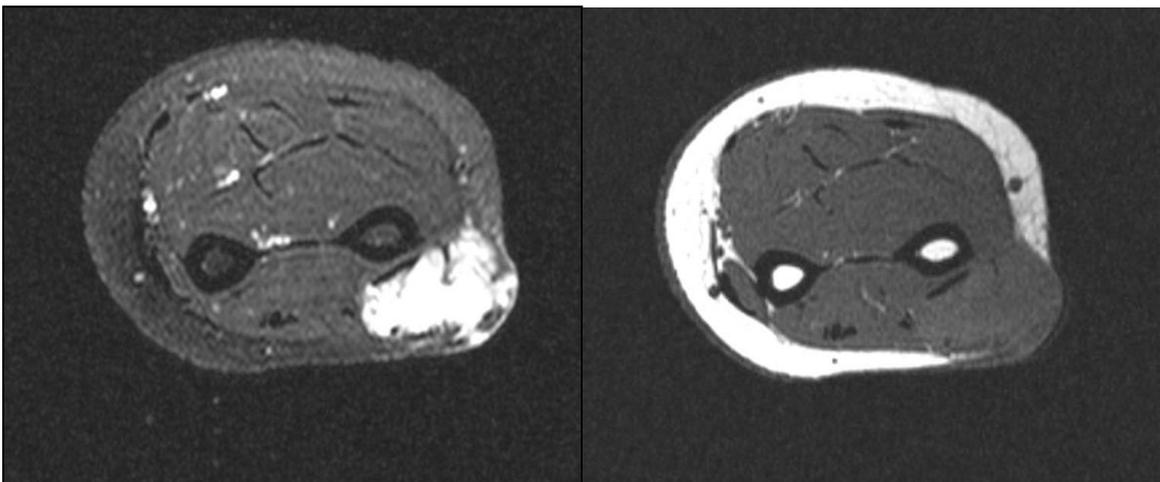


Figura 7 - RNM do antebraço de paciente tratado no HCB, evidenciando nos cortes axiais tumoração comprometendo partes moles, diagnóstico anatomopatológico de SEPM (Fonte: Acervo HCB).

1.6.2 Estadiamento a distância

A cintilografia óssea do corpo inteiro (Figura 8) e TC de tórax (Figura 9) são exames fundamentais para o rastreamento de metástase à distância. Estudos ainda não demonstraram que a tomografia por emissão de pósitrons (PET *scan*) seja superior aos exames cintilográfico convencional e TC na busca por metástase à distância (Hawkins et al. 2005; Völker et al. 2007).

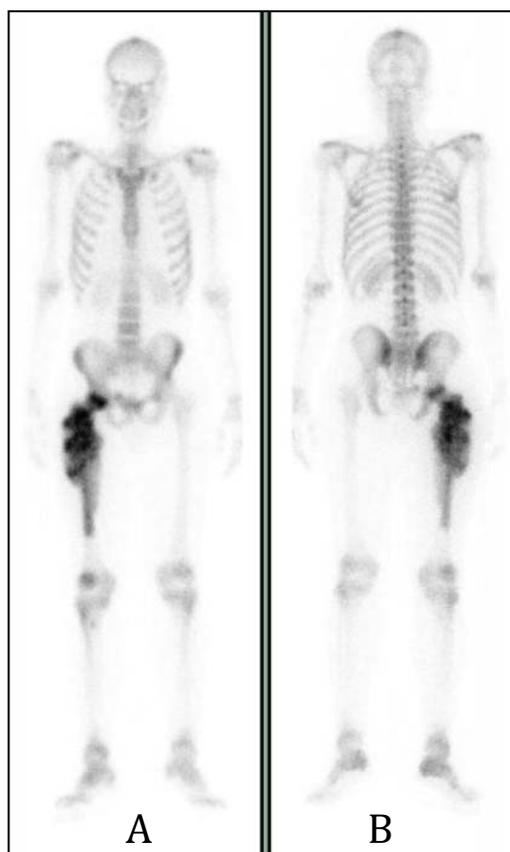


Figura 8 - Cintilografia óssea do corpo inteiro visão anterior (A) e posterior (B) de paciente tratado no HCB, evidenciando hiper captação do radiofármaco na região proximal do fêmur direito (Fonte: Acervo HCB).



Figura 9 - TC de tórax com janela para parênquima pulmonar de paciente tratado no HCB, evidenciando nódulos periféricos compatíveis com metástase (Fonte: Acervo HCB).

1.7 Diagnóstico diferencial

Dentre as patologias benignas, a osteomielite faz diagnóstico diferencial com os TFE por apresentar quadro clínico semelhante com febre, hiperemia local, comprometimento de partes moles, hipercaptação local na cintilografia óssea e elevação da VHS. Dentre as malignidades, os principais são osteossarcoma, condrossarcoma, histiocitoma fibroso maligno, metástase de neuroblastoma e linfoma primário do osso (Heck 2008).

1.8 Diagnóstico definitivo

Biópsia

A biópsia do tumor primário é o procedimento para o diagnóstico definitivo. Nos TFE, a biópsia, deve preferencialmente ser feita por agulha do tipo Jamshidi. A biópsia incisional pode também ser realizada, porém a incisão deve ser a menor possível. Por princípio, deve ser realizada de tal modo a ser incluída na peça cirúrgica de uma provável intervenção futura. Deve-se colher material para a realização do anátomo-patológico (AP) que é fixado em formalina. O volume adequado da amostra da biópsia deve ser de 3 a 5 gramas. Atualmente em virtude dos estudos moleculares recomenda-se o armazenamento de tecido em nitrogênio líquido (Heck 2008).

Quando possível, a realização da análise do tecido por técnica de congelação no momento da biópsia deverá ser realizada para a certeza de uma amostra adequada para o diagnóstico definitivo. A biópsia da medula óssea (MO) faz parte do estadiamento à distância dos TFE e tem como foco avaliar a invasão medular por células tumorais (Heck 2008).

1.9 Anatomia patológica

1.9.1 Anatomia patológica convencional

Ao exame microscópico, a neoplasia deve ter o aspecto histopatológico quando corado pela hematoxilina e eosina (HE) consistente com TFE. Esse aspecto histopatológico é descrito como a presença de uma neoplasia composta por células pequenas, redondas e azuis (Heck 2008).

1.9.2 Imunoistoquímica

Deverão também apresentar um perfil imunoistoquímico compatível com o diagnóstico de TFE, excluindo os outros tumores compostos por células pequenas, redondas e azuis. O painel sugerido inclui desmina, actina músculo-específica e/ou miogenina e MyoD1, além de CD45, CD99 (Figura 10) e citoqueratinas. Positividade para pelo menos dois marcadores de diferenciação neural é requerida no diagnóstico de PNET (Fletcher 2000).

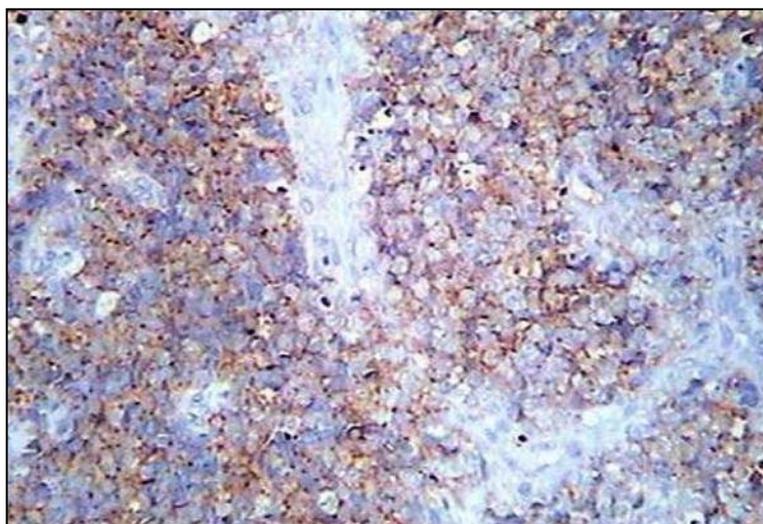


Figura 10 - Fotomicrografia de um sarcoma de Ewing, tratado no HCB, preparado com técnica de imunoistoquímica, com aumento de 400 vezes. Nota-se uma neoplasia de pequenas células e redondas com positividade para o anticorpo CD99 (Acervo HCB).

1.10 Diagnóstico citogenético

Baseado nas mutações genética associadas ao seu desenvolvimento, os sarcomas são subdivididos em duas classes distintas sendo: uma classe é dividida por tumores tendo uma anormalidade de cariótipo complexa sem determinado padrão e uma segunda classe, que inclui os TFE com translocações cromossômicas únicas que dão origem a genes de fusão específicos. Nos SE 85 % dos casos, associado com a translocação t(11;22) (q24; q12), o que leva à formação do gene EWS-FLI-1. Outros 10-15% dos casos, a translocação t(21;12) (22;12) gera a fusão do EWS-ERG, enquanto os restantes 1-5 % dos casos podem abrigar um dos vários possíveis tipos de translocações, cada um, resultando num gene de fusão que contenha uma porção do gene de EWS. Além de fornecer a chave para a compreensão da biologia do SE, estas translocações constituem seu critério diagnóstico mais confiável (Ross et al. 2013).

1.11 Tratamento

1.11.1 Tratamento local (Cirurgia)

Nos casos em que a lesão é ressecável o procedimento de escolha para controle local da neoplasia é a cirurgia (Hoffman et al. 1999; Yaw 1999; Rodriguez-Galindo et al. 2000). Não há estudos randomizados prospectivos que comprovem a superioridade da cirurgia para o tratamento local dos TFE. Essa aparente superioridade da cirurgia pode ser em decorrência de um viés de seleção, uma vez que, os pacientes que apresentam lesões menores e mais periféricas são tratados cirurgicamente, ao passo que os pacientes com lesões grandes e de localização mais central, geralmente são tratados com radioterapia local (Shamberger et al. 2000).

1.11.2 Tratamento local (Radioterapia)

O tratamento local com radioterapia é utilizado para pacientes com tumores irresssecáveis e para pacientes com margens cirúrgicas comprometidas. A dose de radioterapia é usualmente de 5600 cGy (Oberlin et al. 2001). Alguns pacientes podem se beneficiar de ressecção cirúrgica após radioterapia. As recomendações do *Intergroup*

Ewing's Sarcoma Study (IESS) para pacientes com doença residual macroscópica é de 4500 cGy acrescida de 1080 cGy de reforço. Para aqueles com doença microscópica residual é recomendado 4500 cGy acrescido de 540 cGy de reforço. Não há recomendação de radioterapia para pacientes com ressecção com margens livres (Paulussen et al. 1998).

1.11.3 Tratamento sistêmico

Com o advento da quimioterapia no tratamento do SE, associado à cirurgia e/ou radioterapia, a sobrevida dos pacientes com doença localizada passou de 10% para 70% em cinco anos. Apesar deste ganho, para os pacientes com doença metastática ao diagnóstico a sobrevida é de 20% e para aqueles refratários ao tratamento ou que apresentam recaída da doença, a sobrevida não chega aos 10% (Rodriguez-Galindo et al. 2000).

Apesar do avanço das novas terapias e novas drogas, o prognóstico dos pacientes com metástases ao diagnóstico, no entanto, ainda está aquém do ideal, indicando as limitações das estratégias atuais de tratamento. A maioria dos esquemas de quimioterapia são baseados na combinação de agentes alquilantes. A quimioterapia é administrada em intervalos de tempos, sendo uma primeira etapa (quimioterapia neo adjuvante) com o intuito de redução do tumor primário para facilitar o controle local, em particular a cirurgia de salvamento do membro, o que é mais fácil de executar uma vez que uma massa volumosa inicial de tecido mole diminuiu com a administração dos quimioterápicos (Paulussen et al. 2008; Ferrari S et al. 2011).

Diferentes protocolos são utilizados na prática clínica. O protocolo Euro Ewing 99 envolvia uma quimioterapia neoadjuvante utilizando vincristina, ifosfamida, doxorrubicina e etoposide. Após o tratamento local com cirurgia e/ou radioterapia seguia se com a adjuvância sistêmica administrando vincristina, adriamicina e ifosfamida ou vincristina, adriamicina e ciclofosfamida conforme a randomização (Anexo II).

O Protocolo Brasileiro 2006 para tratamento dos TFE subdivide os pacientes em 2 grupos, alto risco ou baixo risco, de acordo com os seguintes critérios: dosagem sérica de DHL, localização do tumor, irressecabilidade do tumor primário e a presença de metástase ao diagnóstico. São considerados pacientes de alto risco aqueles que apresentam DHL 1,5 vezes acima do limite superior da normalidade, localização pélvica do tumor, tumor irressecável ou presença de metástase ao diagnóstico (Anexo III; Anexo IV).

A estratificação nem sempre se correlaciona a evolução clínica dos pacientes, uma vez que aproximadamente 30% a 40% dos pacientes não metastáticos ao diagnóstico apresentam recorrência local da doença ou desenvolvem metástases durante o tratamento e evoluem a óbito em cinco anos (Grier 1997; Grier et al. 2003).

O Protocolo Sulamericano 2011 para tratamento dos TFE também envolve uma quimioterapia inicial aos moldes dos protocolos anteriores utilizando vincristina, doxorrubicina, ciclofosfamida, ifosfamida e etoposide. Após o controle local com cirurgia e/ou radioterapia segue se novos ciclos com a combinação dos quimioterápicos anteriormente citados. O Protocolo Sulamericano para tratamento dos TFE contempla ainda o tratamento metronômico (Anexo V). A eficácia antitumoral da maioria dos agentes de quimioterapia administrados de forma crônica, geralmente em doses baixas, sem períodos de descanso prolongados, foi comprovada e denominada de "quimioterapia metronômica" e tem sido atualmente utilizada em casos selecionados (Kerbel & Folkman 2002).

1.12 Fatores prognósticos

Diversos são os fatores prognósticos envolvidos nos TFE, a literatura correlaciona o prognóstico ao sítio do tumor primário, volume do tumor, idade ao diagnóstico, sexo, dosagem da desidrogenase láctica (DHL) sérica e a presença de metástase. Nos TFE há estudos que fazem inferência a um melhor prognóstico nas lesões de extremidade quando comparadas às lesões que comprometem o esqueleto axial (Kinsella et al. 1983; Ahmad et al. 1999). Os tumores irressecáveis localizados no esqueleto axial estão associados a um pior prognóstico (Cotterill et al. 2000). Porém, recente estudo multicêntrico com 114 pacientes não encontrou diferença significativa de valor prognóstico no tocante a localização axial ou de extremidade do tumor (Arpaci et al. 2013). Os SEPM estão associados com pior prognóstico em relação aos SEO (Angervall & Enzinger 1975).

O tamanho do tumor é um fator preditivo de prognóstico nos TFE, tumores com tamanho igual ou acima de 8,0 cm estão associados a pior prognóstico (Tural et al. 2012).

O fator de necrose induzido pela quimioterapia neoadjuvante é fator prognóstico, sendo que pacientes com taxa de necrose acima de 90% na peça cirúrgica ressecada apresenta maior sobrevida (Tural et al. 2012).

Pacientes com idade inferior a 15 anos apresentam melhor prognóstico em relação aos pacientes adolescentes com idade igual ou superior a 15 anos e adultos (Cotterill et al. 2000;

Rodríguez-Galindo et al. 2000; Bacci et al. 2006; Van Den Berg et al. 2008). Estudos norte americanos retratam melhor prognóstico nos indivíduos com idade inferior a 10 anos em relação aqueles com idade entre 10 e 17 anos ao diagnóstico (Grier et al. 2003). Entretanto, revisão de dois ensaios clínicos alemães para tratamento do SE envolvendo pacientes com idade superior a 40 anos ao diagnóstico apresentaram sobrevida comparável aos adolescentes atendidos no mesmo ensaio (Pieper et al. 2008).

Mulheres com diagnóstico de TFE apresentam melhor prognóstico que homens (Bacci et al. 2006; Jawad et al. 2009).

Níveis séricos aumentados de DHL antes do tratamento estão associados com pior prognóstico, sendo que este aumento também pode guardar correlação com grandes tumores primários e metástase (Bacci et al. 2006). Segundo o Protocolo Brasileiro para Tratamento do TFE, níveis séricos acima ou igual a 1,5 vezes o limite superior da normalidade (400 mg/dl) enquadra o paciente no grupo de alto risco da neoplasia (Anexo IV).

A doença metastática pode ser diagnosticada por técnicas de exames de imagem e por biópsia da medula óssea, sendo relatado como fator mais poderoso para o prognóstico. Metástase ao diagnóstico é relatada em 25% dos casos (Esiashvili et al. 2008). Em relação ao sítio de metástase, a literatura evidencia um pior prognóstico para as metástases extrapulmonares (Cotterill et al. 2000; Rodríguez-Galindo et al. 2000; Miser et al. 2004). O número de metástases pulmonares parece não guardar correlação com o prognóstico, porém, a presença de metástase com envolvimento pulmonar bilateral confere pior prognóstico (Paulussen et al. 1998). A presença de metástase óssea parece ter melhor prognóstico apenas em relação aos pacientes que, além do envolvimento ósseo, apresentam também comprometimento pulmonar (Paulussen et al. 1998B). Pode haver envolvimento linfonodal nos pacientes com diagnóstico de TFE, sendo que o pior prognóstico está relacionado com envolvimento linfonodal sistêmico quando comparado aos que apresentam comprometimento localizado (Applebaum et al. 2012).

O grau de necrose induzido pela quimioterapia neo adjuvante tem valor prognóstico, sendo que, quanto maior o grau de necrose na peça ressecada, melhor o prognóstico (Tural et al. 2012). O melhor prognóstico também está relacionado a margens cirúrgicas amplas da peça ressecada (Rud et al. 1989; Siebenrock et al. 1996; El Weshi et al. 2010). A questão do controle local da doença é controversa, uma vez que a comparação dos pacientes

submetidos à cirurgia ou radioterapia ainda não está consolidada (Zagar et al. 2008).

1.13 Alterações citogenéticas nos TFE

Como relatado, a translocação t(11;22)(q24;q12) é a alteração citogenética mais frequente em TFE e sua especificidade sugere que o produto formado a partir deste rearranjo seja o responsável pelo estabelecimento da doença (Arvand & Denny 2001). Este rearranjo leva a uma fusão *in-frame* da porção 5' do gene *EWSR1* no cromossomo 22 e da porção 3' do gene *FLI1* no cromossomo 11, resultando em um mRNA (RNA mensageiro) quimérico expresso a partir do promotor de *EWSR1*, dessa forma codificando a proteína de fusão EWSR1-FLI1. O produto da translocação recíproca (*FLI1-EWSR1*) não é expresso, sendo ocasionalmente perdidos nas células do TFE (Lessnick et al. 1995; Lessnick et al. 2002). A proteína EWS é predita como uma proteína de ligação ao RNA, contendo um domínio de ativação transcricional na sua porção amino-terminal (5') e um sítio de ligação ao RNA na sua porção carboxi-terminal (3'). A expressão de EWS é constante e estável ao longo do ciclo celular. Na translocação, o domínio de ligação ao RNA de EWS é substituído pelo domínio de ligação ao DNA da proteína FLI1 e, embora, a proteína de fusão EWS-FLI1 tenha uma função de fator de transcrição, a função da proteína nativa EWS não é conhecida (Lessnick et al. 1995). Ao contrário, a proteína FLI1 ativa genes alvos específicos pela ligação a partir de seu domínio de ligação ao DNA. Entre esses genes alvos estão incluídos oncogenes, genes supressores tumorais e genes relacionados ao processo de apoptose, diferenciação, angiogênese e invasão celular (Sharrocks 2001).

Pelo menos, oito tipos diferentes de fusão entre os genes *EWSR1* e *FLI1* foram descritos, dependendo do ponto de quebra envolvendo esses genes. Dessas, a fusão mais comum é a denominada do tipo 1 que envolve o exon 7 do *EWSR1* e o exon 6 do *FLI1*, encontrada em 63% dos casos (De Alava et al. 2000 B).

Atualmente, é amplamente reconhecido o papel de EWS-FLI1 como principal fator na gênese do SE, atuando tanto como um fator de transcrição aberrante e/ou um potente repressor (Mackintosh et al. 2010).

Embora a presença da proteína quimérica EWS-FLI1 seja considerado o fator de iniciação do SE, alterações secundárias também têm sido identificadas. Em relação as alterações cromossômicas estão entre as mais frequentes os ganhos cromossômicos de 1q,

2, 8 e 12 (Armengol et al. 1997; Ozaki et al. 2001) e as perdas de 9p e 16q (Brisset et al. 2001; Brownhill et al. 2007). Os resultados relatados por esses trabalhos apresentam estimativas semelhantes da frequência de alterações genômicas no SE, sugerindo uma incidência de 80% dos casos apresentando alterações em números de cópias (*Copy Number Alterations* – CNAs) (Ferreira et al. 2008). Ainda, mutações em alguns genes têm sido descritas como eventos secundários na evolução do SE. Mutações em *p53* são observadas em 10 a 20% dos casos de SE e parecem estar associadas a um prognóstico desfavorável (De Alava et al. 2000 A; Huang et al. 2005). Apesar disso, poucas alterações que podem atuar em colaboração com a proteína EWS-FLI1 no desenvolvimento do SE têm sido descritas. Ainda, o impacto prognóstico dessas alterações não está muito claro, embora alguns estudos suportem uma sobrevida pior associada às alterações mais frequentes (Armengol et al. 1997; Brisset et al. 2001; Matsunobu et al. 2004; Huang et al. 2005). Assim como ocorre com os parâmetros clínicos observados nos pacientes com SE, nenhuma das alterações moleculares descritas tem sido utilizada para auxiliar na estratificação de risco e predição de prognóstico dos pacientes com SE (Van Maldegem et al. 2012).

O paradigma para as terapias de alvo molecular tem sido discutido considerando o IGFR. Para transformação oncogênica em SE é necessário a presença do receptor IGF-1R. O IGF associado à proteína IGFBP-3 se liga ao IGFR e bloqueia sua atividade. EWS/FLI1 inibe a expressão de IGFBP-3 conduzindo a um aumento da atividade de IGF-1. A inibição de IGF-1R tem efeitos anti-tumorais (Figura 11)(Guise et al. 2009).

Justificativa

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Os TFE são raros, no entanto, é uma doença altamente letal e com prognóstico ruim quando metastáticos ou recorrentes. Em contraste com os casos localizados de TFE, os casos avançados não têm apresentado resposta animadoras, quando submetidos a abordagem de tratamento padrão, no que diz respeito a melhorar as taxas de sobrevida, com as taxas em 5 anos, recentemente descritas como menos de 25%. Tem sido sugerido que os tratamentos de quimioterapia e radioterapia estão chegando aos limites de eficácia e toxicidade, tornando se cada vez mais essencial, melhorar a eficácia do tratamento com a utilização das terapias de alvo molecular (Ross et al. 2013).

O HCB é uma instituição de excelência no tratamento de tumores pediátricos, fazendo parte do Estudo Sulamericano para Tratamento dos Pacientes com Diagnóstico dos Tumores da Família Ewing e responsável por incluir o maior número de pacientes por instituição no Brasil. No Brasil a ineficiência dos sistemas de registro hospitalar de câncer e dos registros de base populacional de câncer dificulta os estudos clínicos e epidemiológicos, de sobremaneira nas neoplasias raras, culminando na dificuldade da avaliação da qualidade dos serviços prestados aos pacientes com diagnóstico de câncer.

O presente estudo, um dos pioneiros no Brasil, se justifica por caracterizar os dados clínicos e analisar a sobrevida baseada nos critérios de risco e expressão de IGFR nas amostras biológicas dos pacientes com diagnóstico dos TFE submetidos a tratamento no HCB, pela mesma equipe multidisciplinar, conhecer o perfil do paciente com diagnóstico de TFE do HCB bem como compará-los aos dados da literatura pré-existente.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Gerais

I - Descrever as características clínicas dos pacientes submetidos ao tratamento dos TFE no HCB no período de 2003 a 2012.

3.2 Específicos

II - Avaliar a expressão de IGFR nas amostras biológicas dos pacientes atendidos no HCB no período de 2003 a 2012.

III - Analisar a sobrevida global e livre de eventos baseada nos critérios de risco e expressão de IGFR, das amostras biológicas, para os pacientes tratados no HCB no período de 2003 a 2010.

Casuística e métodos

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo de coorte com coleta de dados retrospectiva, onde foram analisados 101 prontuários dos pacientes com idade até 30 anos e diagnóstico de TFE, atendidos e tratados pelo Departamento de Oncologia Pediátrica do HCB no período compreendido entre 2003 e 2012 e com seguimento até 31/12/2012.

4.2 Critérios de inclusão

Pacientes com o diagnóstico de TFE tratados pelo Departamento de Oncologia Pediátrica do HCB no período compreendido entre 2003 e 2012, sendo que 77 pacientes atenderam aos critérios de inclusão.

4.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os pacientes com diagnóstico dos TFE tratados inicialmente em outra instituição e os pacientes tratados no HCB, porém não tratados pelo Departamento de Oncologia Pediátrica, sendo que 24 pacientes apresentaram critérios de exclusão.

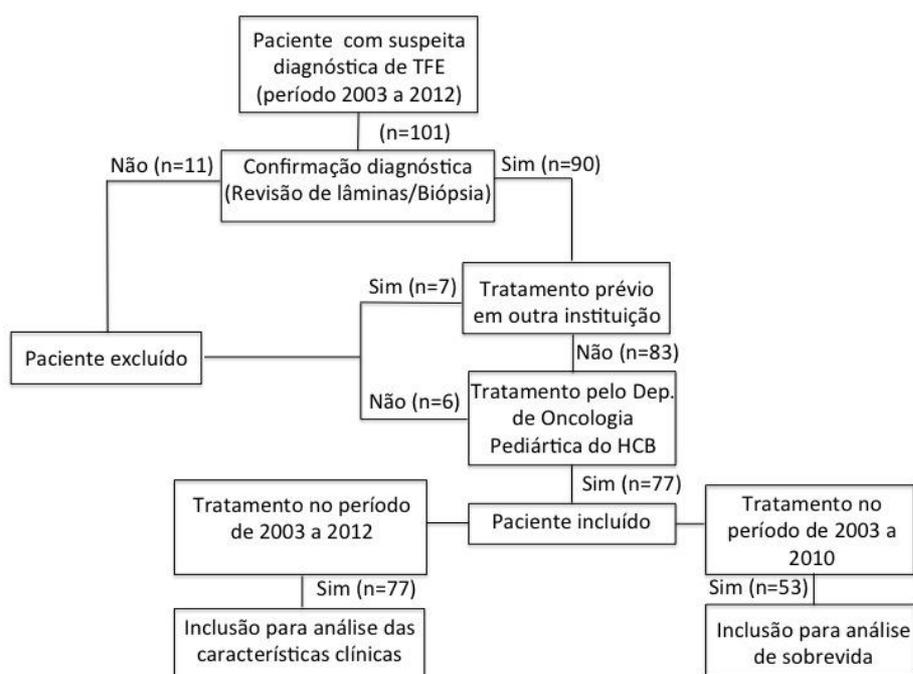


Figura 12 – Fluxograma de inclusão e exclusão dos pacientes no estudo.

4.4 Metodologia

4.4.1 Caracterização da amostra

Para a caracterização das características clínicas e análise de sobrevida da amostra foram coletados dados dos pacientes em ficha específica (Anexo V) e após, inseridos em um banco de dados utilizando o programa estatístico SPSS (Versão 19.0; Inc., Chicago, IL).

4.4.2 Imunoistoquímica

Foram separados 68 blocos de parafina de tumores de pacientes com diagnóstico de TFE tratados no HCB no período 2003 a 2012, os quais encontravam-se armazenados no arquivo do Departamento de Anatomia Patológica do HCB. As lâminas correspondentes aos blocos foram reavaliadas para confirmação diagnóstica.

O bloco mais representativo de cada caso foi separado para a realização das lâminas de imunoistoquímica, utilizando-se lâmina convencional sinalizada.

As lâminas foram colocadas no equipamento XT da Ventana (Roche®), onde foram submetidas à desparafinização e recuperação antigênica com o reagente cc1 (cell conditioning minutes – pH 8,5) por 60 minutos. Posteriormente as lâminas foram lavadas com solução salina. A seguir, foi realizado o bloqueio da peroxidase por quatro minutos, seguido novamente por lavagem com solução salina. As lâminas foram incubadas com o seguinte anticorpo primário pronto para uso: Anti-IGF1(Rabbit polyclonal to IGF1 Receptor ABCAM®). Após 32 minutos de incubação foi realizada a sequência de lavagens entre os seguintes processos: Multímero (8 minutos), DAB + H₂O₂ (8 minutos), Copper (4 minutos), Hematoxilina (12 minutos) e Bluing (4 minutos). Após esse período foi realizada a finalização com lavagem em detergente e água corrente, passando na sequência pela desidratação em etanol e xilol e subsequente montagem das lâminas com entellan para a leitura.

Os controles positivos são os que acompanham as reações e o padrão de marcação imunoistoquímico com positividade citoplasmática em tecido pancreático normal. A avaliação padronizada para os marcadores foi baseada no “Quick score” $Q=P \times I$ (Hoos et al. 2001; Bertucci et al. 2004; Bendardaf et al. 2007) onde P, que corresponde a porcentagem de células epiteliais positivas de forma difusa e uniforme, foram assim avaliadas: (0: negativo; 1: < 25% de células positivas no citoplasma; 2: 26 a 50%; 3: >50%) e I que avalia a

intensidade da coloração (1: leve; 2: moderada; 3: intensa), multiplicando os valores de P e I obtemos a pontuação ou *score*.

A expressão foi considerada positivo fraco nos casos com pontuação (*score*) de 0 a 5 (1) e positivo forte na pontuação (*score*) 6 ou mais (2), de acordo com a Tabela 1 (Dong et al. 2011).

I: Intensidade de coloração	P: percentagem de células coradas			
	0 (0%)	1 (< 25%)	2 (26-50%)	3 (>50%)
1 (leve)	0	1	2	3
2 (moderada)	0	2	4	6
3 (intensa)	0	3	6	9

Tabela 1 – Esquema de pontuação adotado para análise imunoistoquímica pela combinação da intensidade de coloração e a porcentagem de células coradas (Dong et al. 2011).

4.5 Análise estatística

Análise descritiva das características clínicas dos pacientes por meio de medidas de tendência central (média e mediana), dispersão (desvio padrão) para as variáveis quantitativas. Frequências e porcentagens foram calculadas para as variáveis clínicas categóricas.

Para avaliar a associação entre duas variáveis categóricas independentes foi utilizado o teste qui-quadrado de Pearson (χ^2).

Análise da sobrevida global baseada nos critérios de risco (idade ao diagnóstico, distribuição por sexo, localização do tumor primário, doença localizada ou metastática ao diagnóstico, local da metástase, protocolo de tratamento, modalidade de tratamento local dosagem sérica de DHL e expressão de IGFR) foi realizada adotando como evento de interesse a morte por quaisquer causas e razões para a censura o término do seguimento

(paciente vivo) ou perda de seguimento. Por outro lado, na análise da sobrevida livre de eventos foi adotado como evento de interesse a progressão da doença (progressão e/ou recidiva local ou à distância) ou morte por quaisquer causas, e as razões de censura, os pacientes vivos e sem progressão da doença, sem recidiva local ou à distância ou com perda de seguimento.

As curvas de sobrevida foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e para a comparação de curvas de sobrevida foi utilizado o teste Log-rank.

Fatores prognósticos foram avaliados segundo o modelo de regressão de Cox univariada para SG e SLE.

As análises foram realizadas no programa estatístico SPSS (Versão 19.0; Inc, IL). Foi adotado o nível de significância de 5% para todas as hipóteses.

4.6 Questões éticas

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII - Hospital de Câncer de Barretos em 21/07/2011 sob o número 517/2011 (Anexo VI).

Realizado adendo para mudança do título do estudo, inclusão da realização da técnica de imunoistoquímica nas amostras tumorais acondicionadas em parafina e utilização das referidas amostras (Anexo VII).

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização da amostra

A média de idade dos pacientes foi de 15 anos (desvio padrão [DP] = 5,42 anos) variando de 2,34 a 28,57 anos e houve predomínio do sexo masculino com 63,6% dos casos. Ao avaliarmos o grupo étnico a maioria dos pacientes eram brancos, perfazendo 83,1% da nossa casuística e apenas 2,6% dos indivíduos foram negros (Tabela 2).

Em relação à localização, o acometimento ósseo prevaleceu, acometendo 58,4% dos casos. Dos pacientes com lesões de acometimento ósseo, 28,8% acometeram o esqueleto axial e nas lesões que comprometeram as partes moles (PM) a região axial foi acometida em 75,5% dos pacientes (Tabela 2).

Ao avaliarmos a presença de metástases, observamos que 44,2% dos pacientes apresentavam lesões metastáticas ao diagnóstico (Tabela 2). Dentre os pacientes metastáticos ao diagnóstico 88,2% eram do sexo masculino ($p < 0,001$) (Figura 13).

O principal sítio de metástase foi o pulmão perfazendo 52,9% da amostra, seguido da localização óssea com 8,8% (Tabela 2).

A análise da dosagem sérica da DHL dos pacientes incluídos neste estudo, evidenciou que 38,6% dos pacientes apresentavam valores acima de 1,5 vezes o limite superior da normalidade (400 mg/dl) (Tabela 2).

A imunoistoquímica foi realizada em 68 amostras de tumores dos paciente incluídos no estudo. A expressão forte de IGFR esteve presente em 51,5% da amostra ao passo que 48,5% apresentavam expressão positivo fraco (Tabela 2).

Os principais sítios de acometimento ósseo da neoplasia foram o fêmur e ossos da pelve com 22,2% de acometimento em cada um desses segmentos. Nos tumores localizados em partes moles, o gradeado costal (tumores de Askin) foi o principal sítio de acometimento totalizando 43,8% dos pacientes (Tabela 3).

Tabela 2 –Características clínicas e variáveis de interesse prognóstico de 77 pacientes com diagnóstico de TFE tratados no HCB, período 2003-2012.

Variável		n	(%)
Idade	≤ 15 anos	35	45,5
	> 15 anos	42	54,5
Sexo	Masculino	49	(63,6)
	Feminino	28	(36,4)
Raça	Branco	64	(83,1)
	Negros	2	(2,6)
	Pardo	10	(13,0)
	Amarelo	1	(1,3)
Localização do tumor primário	Esquelético	45	(58,4)
	Extremidade Axial	32	(71,1)
	Partes moles	13	(28,8)
	Extremidade Axial	32	(41,6)
		8	(25,0)
		24	(75,5)
Doença ao diagnóstico	Localizada	43	(55,8)
	Metastática	34	(44,2)
Local da metástase	Pulmão	18	(52,9)
	Osso	3	(8,8)
	Pulmão + osso	8	(23,6)
	Sistema nervoso central	3	(8,8)
	Outras localizações	2	(5,8)
Protocolos de tratamento	Euro Ewing	10	(13)
	Brasileiro	46	(59,7)
	Sulamericano	21	(27,3)
Controle local	Cirurgia	18	(22,6%)
	Radioterapia	30	(39,4%)
	Cirurgia + radioterapia	15	(19,7%)
	Sem controle local	14	(18,3%)
Dosagem sérica DHL *	<600 mg/dl	43	(61,4)
	≥600 mg/dl	27	(38,6)
Expressão de IGFR**	Positivo fraco	33	(48,5)
	Positivo Forte	35	(51,5)

* 7 pacientes não tinham dosagem sérica de DHL ao diagnóstico.

**9 pacientes não possuíam amostras biológicas nos arquivos da patologia.

Tabela 3 – Principais sítios de acometimento dos TFE no esqueleto e nas partes moles.

Sítio do tumor primário	n	(%)
Esquelético	45	(100,0)
Fêmur	10	(22,2)
Ossos da pelve	10	(22,2)
Tíbia	6	(13,3)
Úmero	5	(11,1)
Escápula	4	(8,8)
Clavícula	3	(6,7)
Ossos do pé	3	(6,7)
Mandíbula	1	(2,2)
Maxila	1	(2,2)
Ulna	1	(2,2)
Fíbula	1	(2,2)
Partes moles	32	(100,0)
Gradeado costal	14	(43,8)
Pelve	5	(15,6)
Coxa	3	(9,3)
Perna	2	(6,3)
Cervical	2	(6,3)
Braço	1	(3,1)
Tornozelo	1	(3,1)
Reto vaginal	1	(3,1)
Couro cabeludo	1	(3,1)
Tubo digestivo	1	(3,1)
Região sacral	1	(3,1)

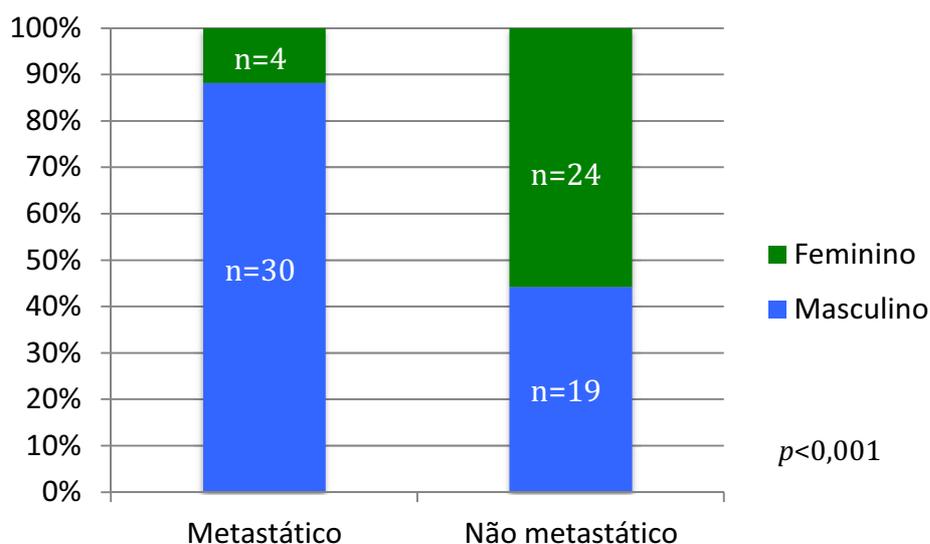


Figura 13 – Distribuição dos pacientes de acordo com as variáveis sexo e metástase ao diagnóstico tratados no HCB, período 2003-2012 ($p<0,001$).

Todos os pacientes receberam tratamento quimioterápico previamente ao tratamento local da neoplasia. O tratamento local da lesão com radioterapia e/ou cirurgia teve a seguinte distribuição: 22,6% foram submetidos apenas a cirurgia, 39,4% foram submetidos a radioterapia exclusiva, 19,7% submetidos a cirurgia e radioterapia e 18,3% dos pacientes foram a óbito antes do término da quimioterapia neoadjuvante (Tabela 2).

A modalidade de tratamento do sítio primário da neoplasia associada com a localização do tumor mostrou que nas lesões de comprometimento axial o tratamento cirúrgico foi realizado em 29,7% das lesões de acometimento axial e 55,9% nas lesões de extremidade ($p=0,023$) (Figura 14). A radioterapia exclusiva foi indicada em 64,9% dos pacientes com lesão axial e em 52,9% dos pacientes com tumores localizados nas extremidades ($p=0,218$) (Figura 15). A associação das modalidades de tratamento local com cirurgia e radioterapia esteve presente em 18,9% dos pacientes com lesão axial ($p=0,069$) (Figura 16). Dentre os pacientes metastáticos ao diagnóstico 71,9% foram submetidos a tratamento local com radioterapia ($p=0,048$) (Figura 17). A expressão de IGFR mostrou associação com a variável metástase ao diagnóstico ($p<0,001$) (Figura 18).

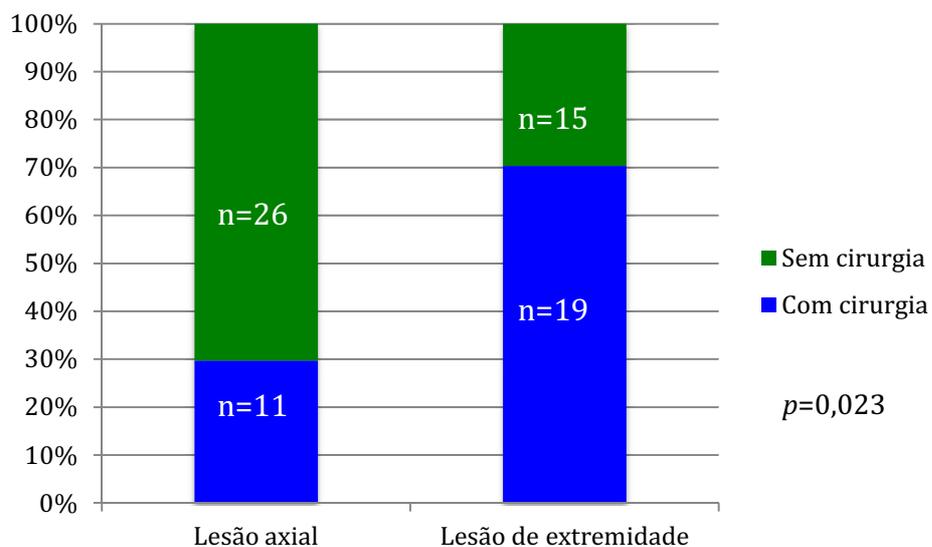


Figura 14 – Distribuição do tratamento cirúrgico de acordo com o sítio da lesão dos pacientes com diagnóstico dos TFE tratados no HCB, período 2003-2012 ($p=0,023$).

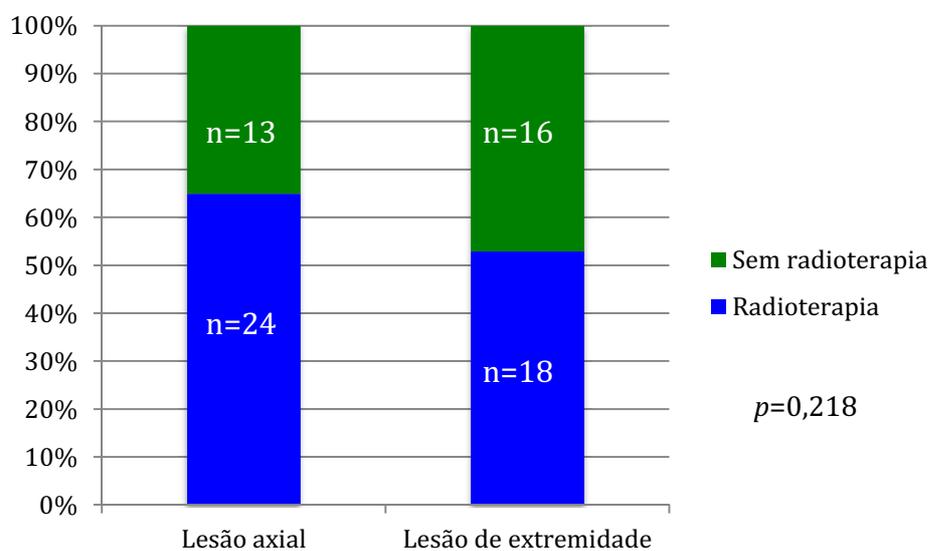


Figura 15 – Distribuição do tratamento radioterápico de acordo com o sítio da lesão dos pacientes com diagnóstico dos TFE tratados no HCB, período 2003-2012 ($p=0,218$).

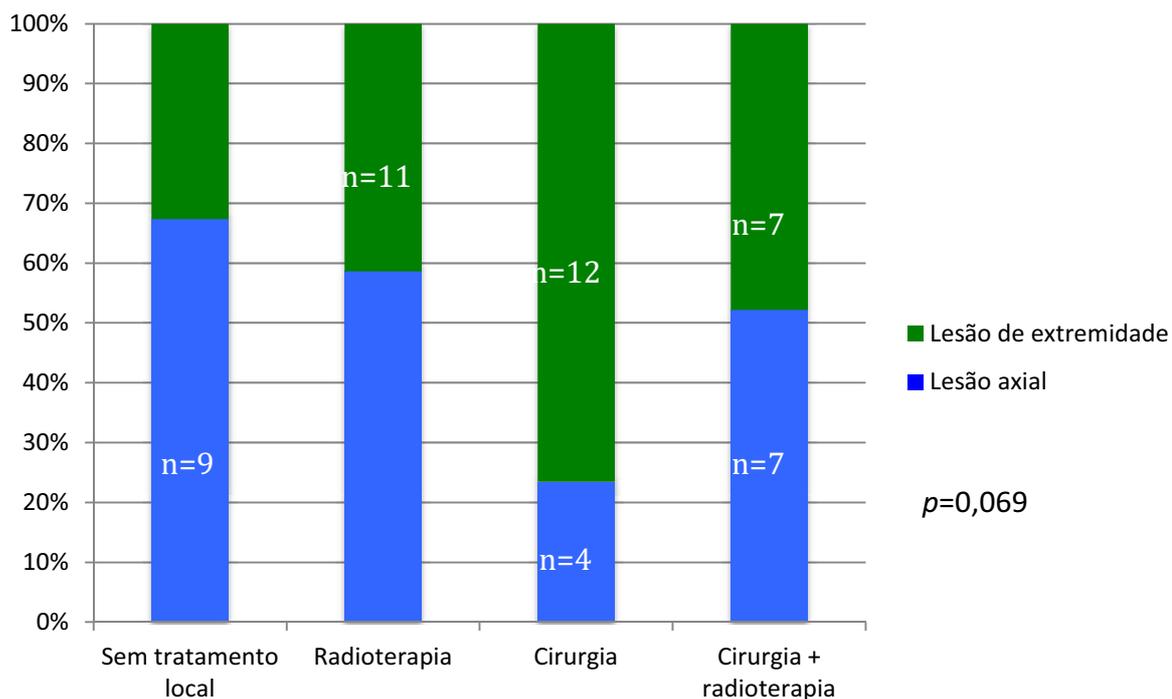


Figura 16 – Distribuição do tratamento de acordo com o sítio da lesão dos pacientes com diagnóstico dos TFE tratados no HCB, período 2003-2012 ($p=0,069$).

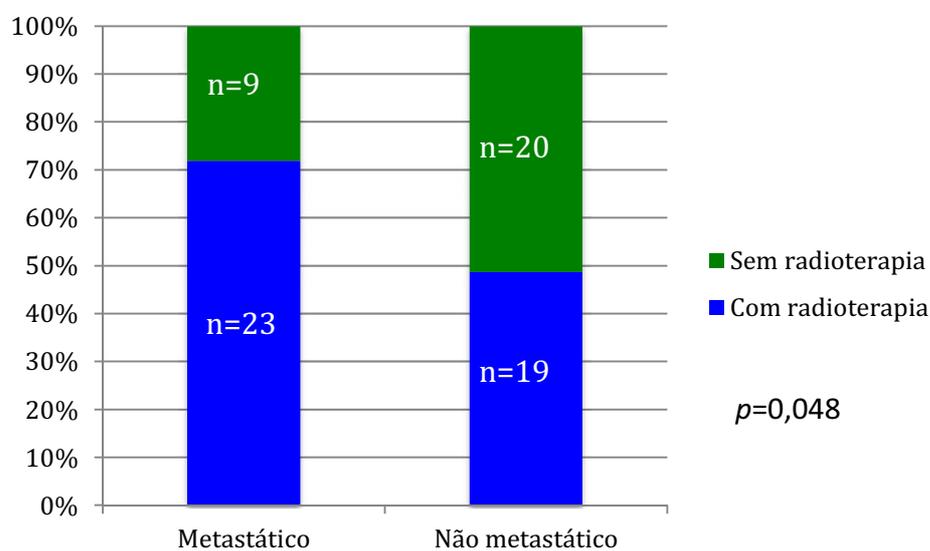


Figura 17 – Distribuição do tratamento radioterápico de acordo com a variável metástase ao diagnóstico dos pacientes com diagnóstico dos TFE tratados no HCB, período 2003-2012 ($p=0,048$).

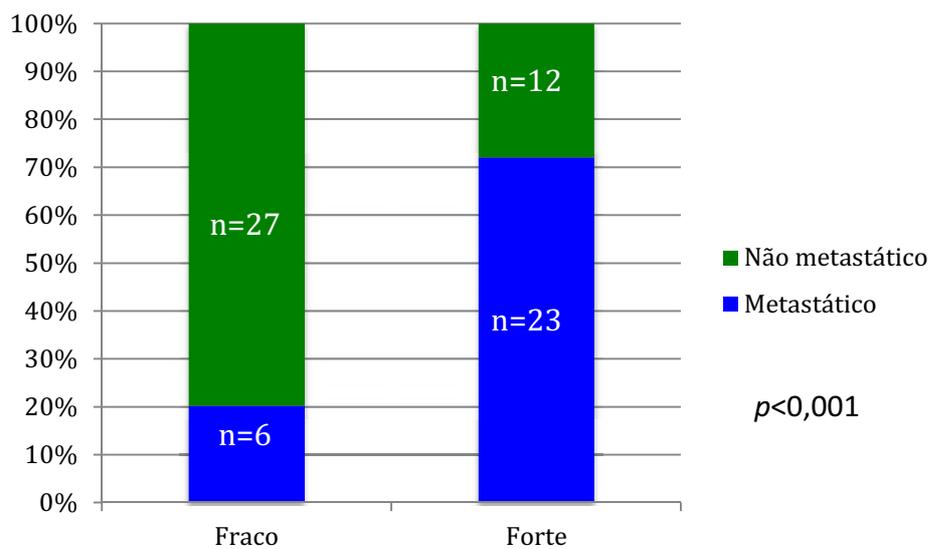


Figura 18 – Distribuição dos pacientes de acordo com as variáveis expressão de IGFR e metástase ao diagnóstico tratados no HCB, período 2003-2012 ($p < 0,001$).

5.2 Análise de sobrevida baseada nos critérios de risco

Segue abaixo as curvas da SG e SLE segundo as características clínicas dos pacientes incluídos no estudo no período de 2003 a 2010.

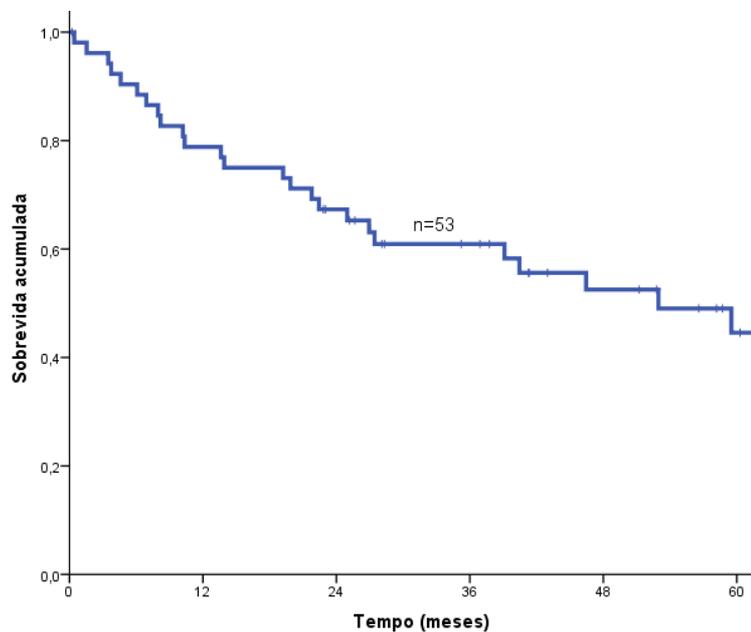


Figura 19 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, período 2003-2010.

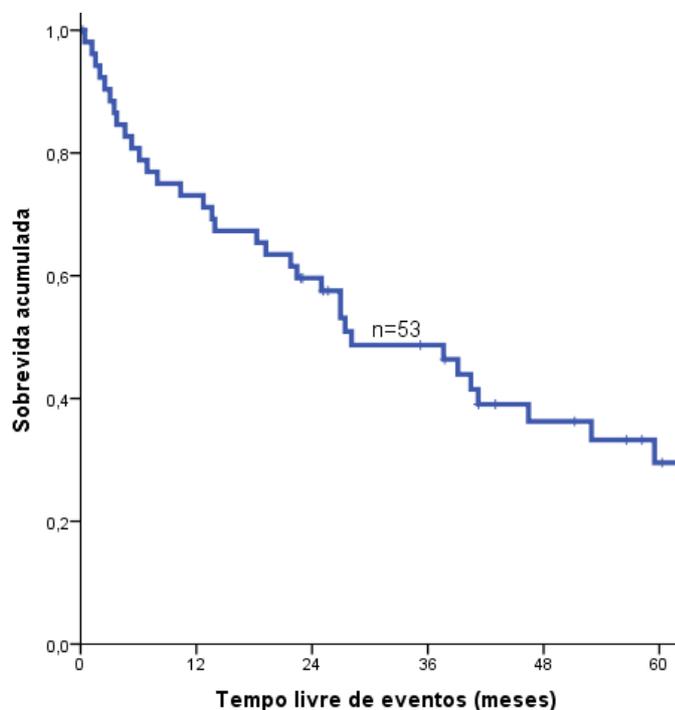


Figura 20 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, período 2003-2010.

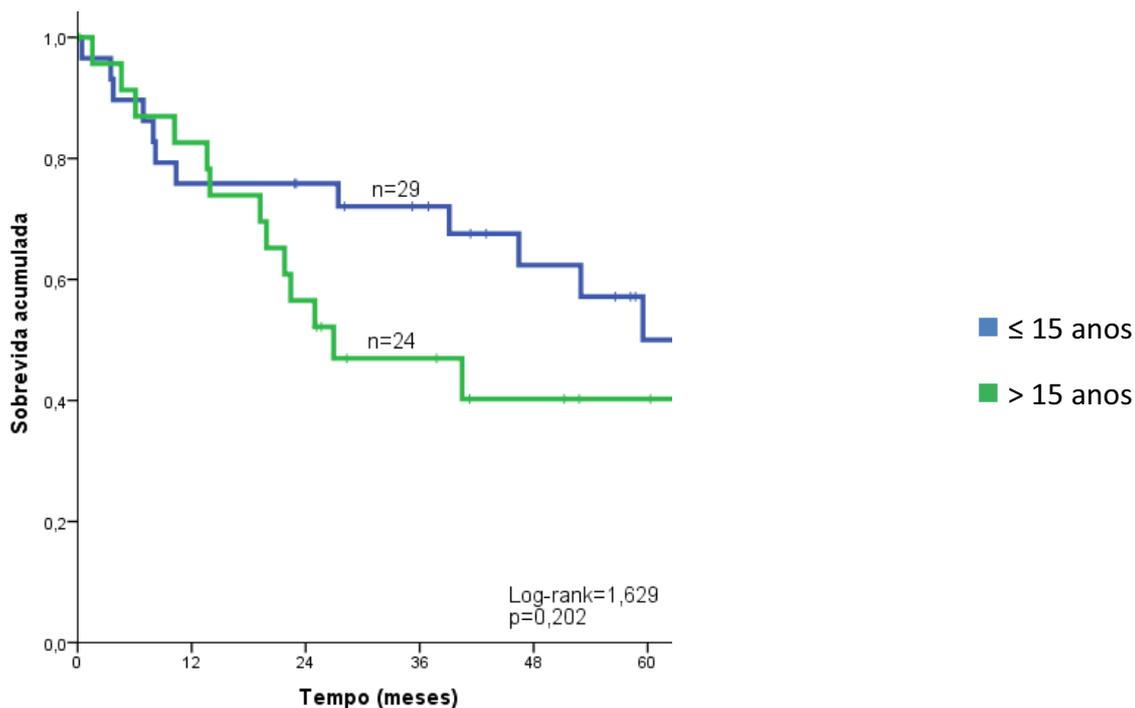


Figura 21 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável faixa etária, período 2003-2010.

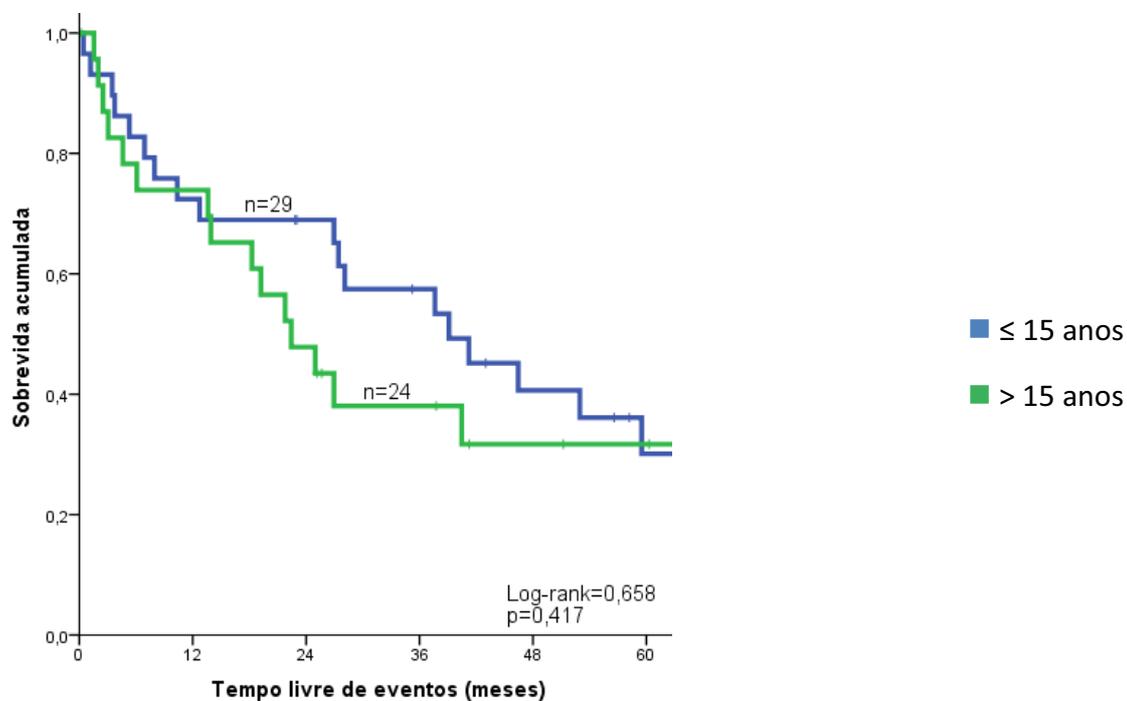


Figura 22 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável faixa etária, período 2003-2010.

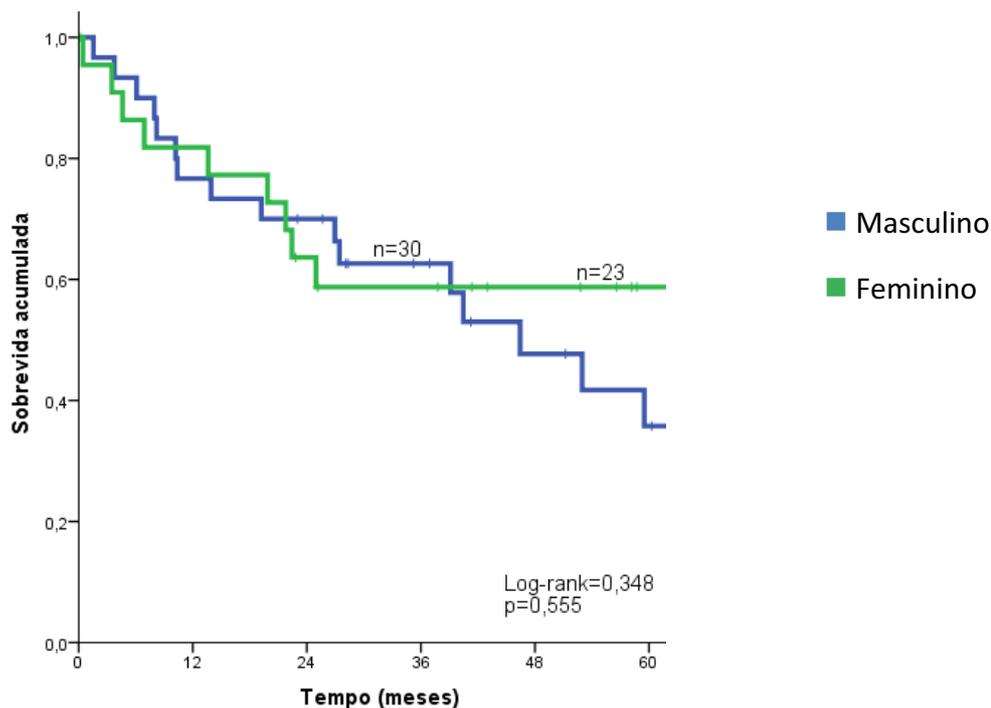


Figura 23 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE submetidos a tratamento no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável sexo, período 2003-2010.

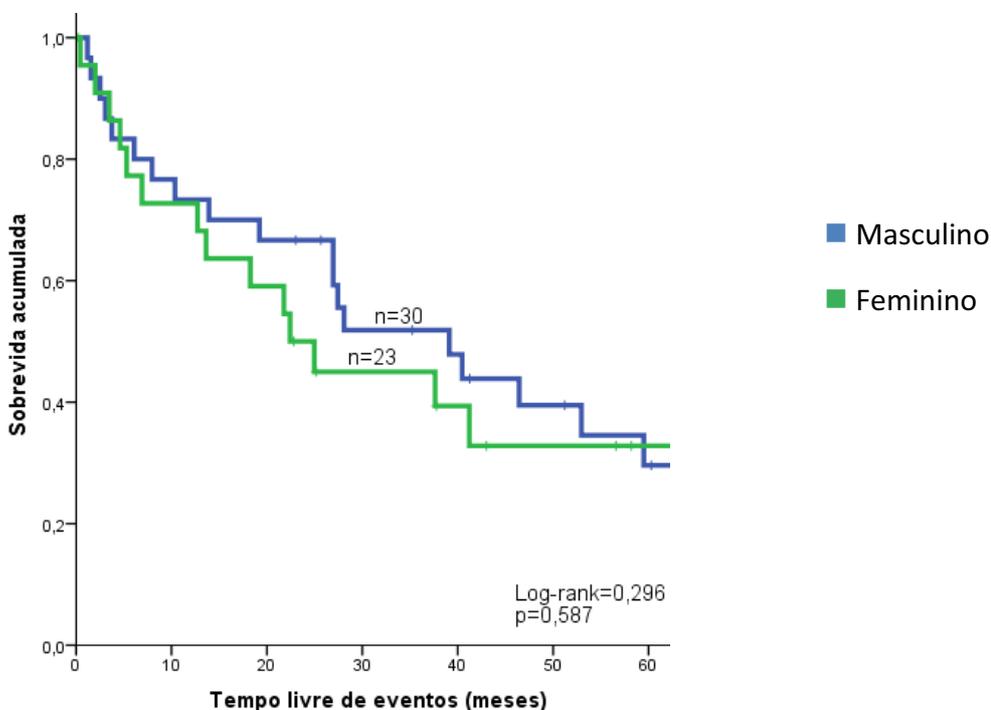


Figura 24 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE submetidos a tratamento no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável sexo, período 2003-2010.

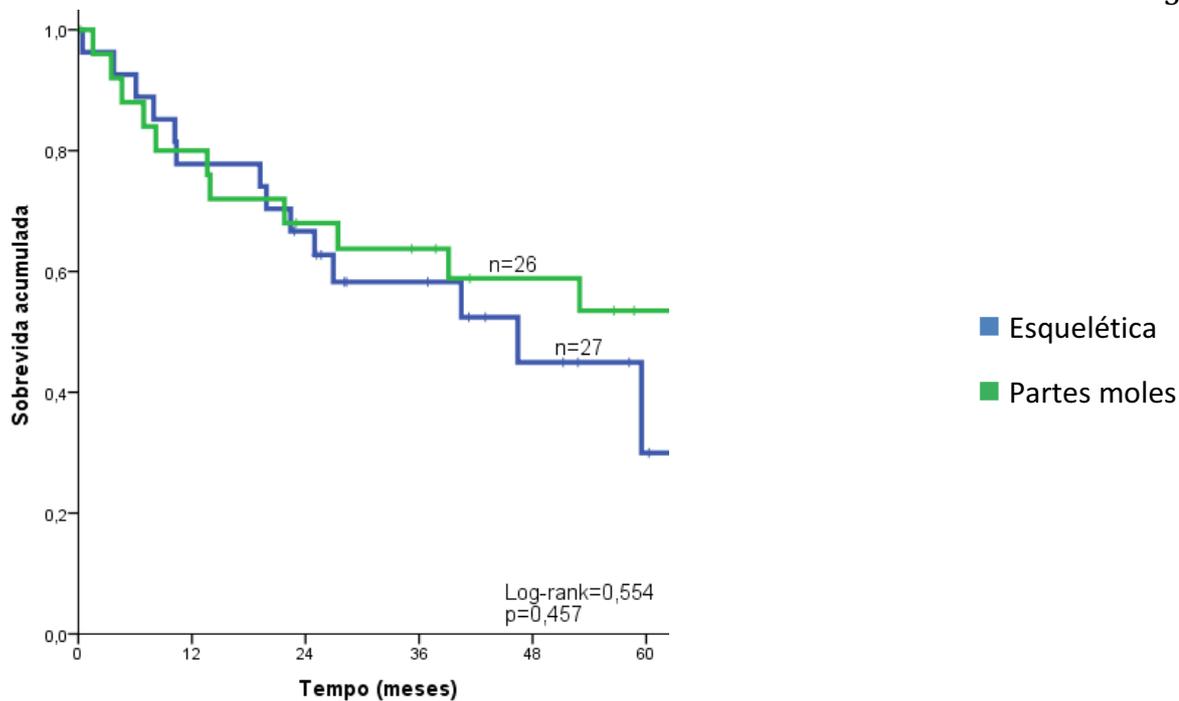


Figura 25 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização esquelética ou de partes moles do tumor, período 2003-2010.

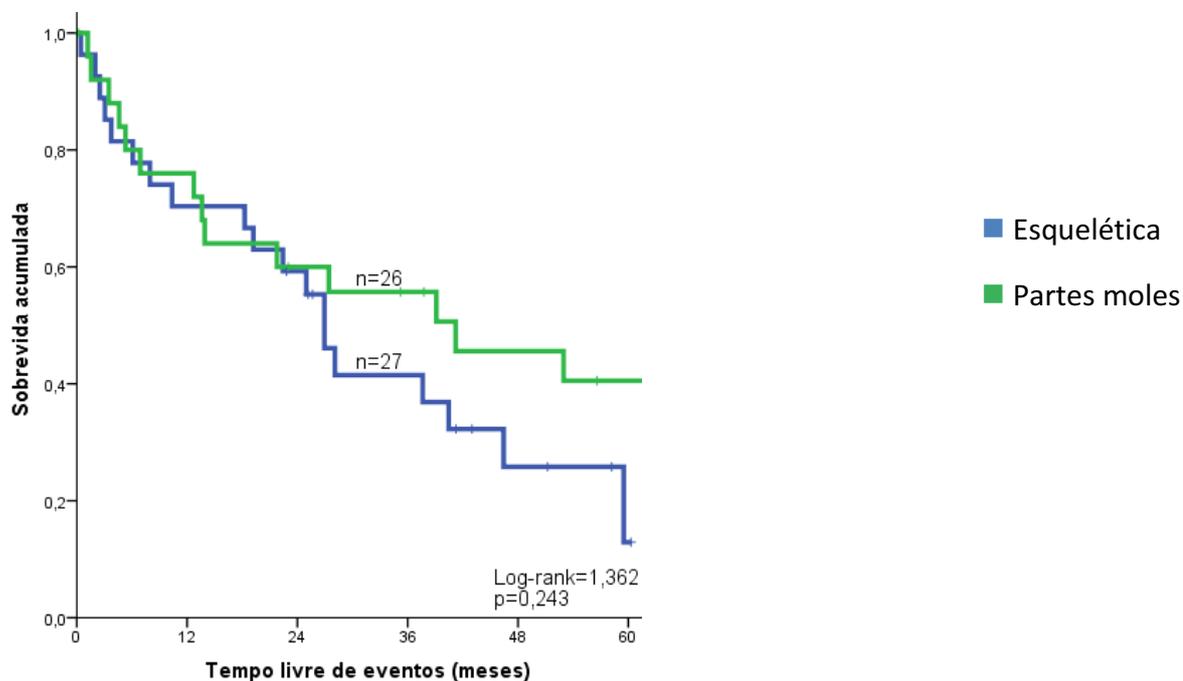


Figura 26 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização esquelética ou de partes moles do tumor, período 2003-2010 .

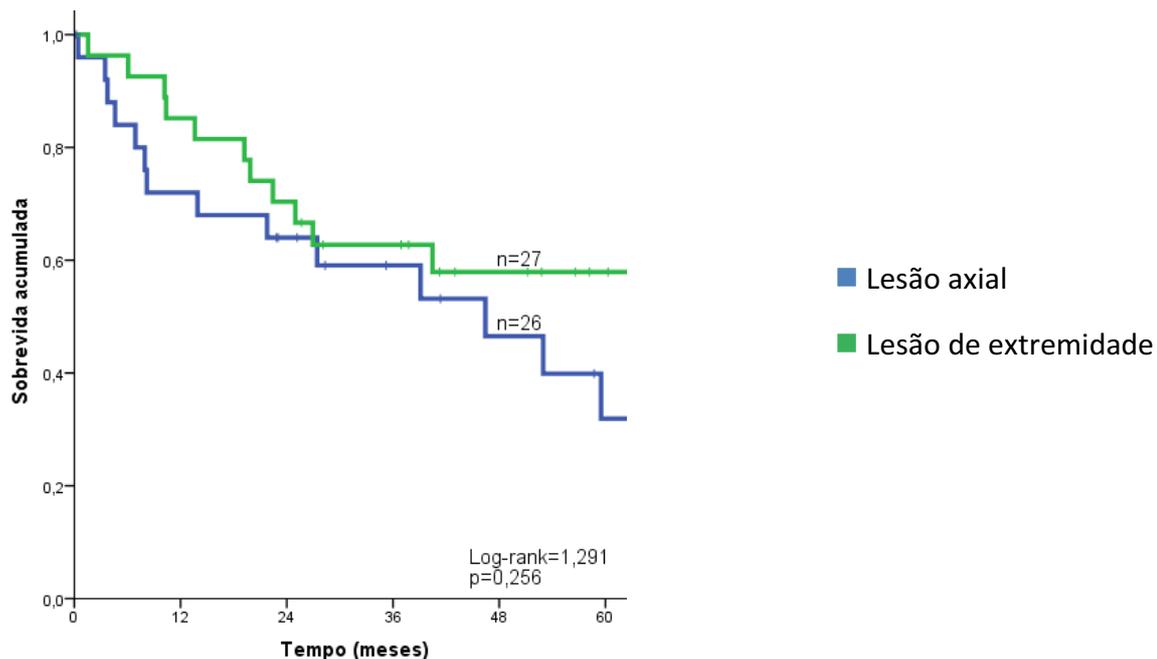


Figura 27 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização axial ou de extremidade do tumor, período 2003-2010.

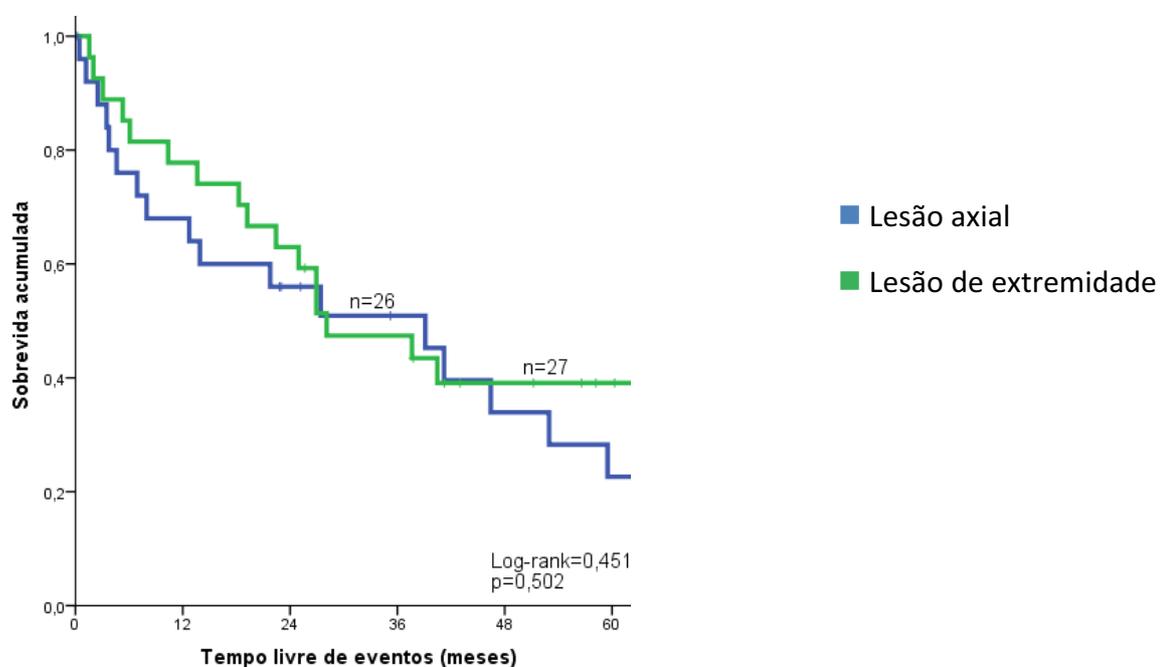


Figura 28 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização axial ou de extremidade do tumor, período 2003-2010.

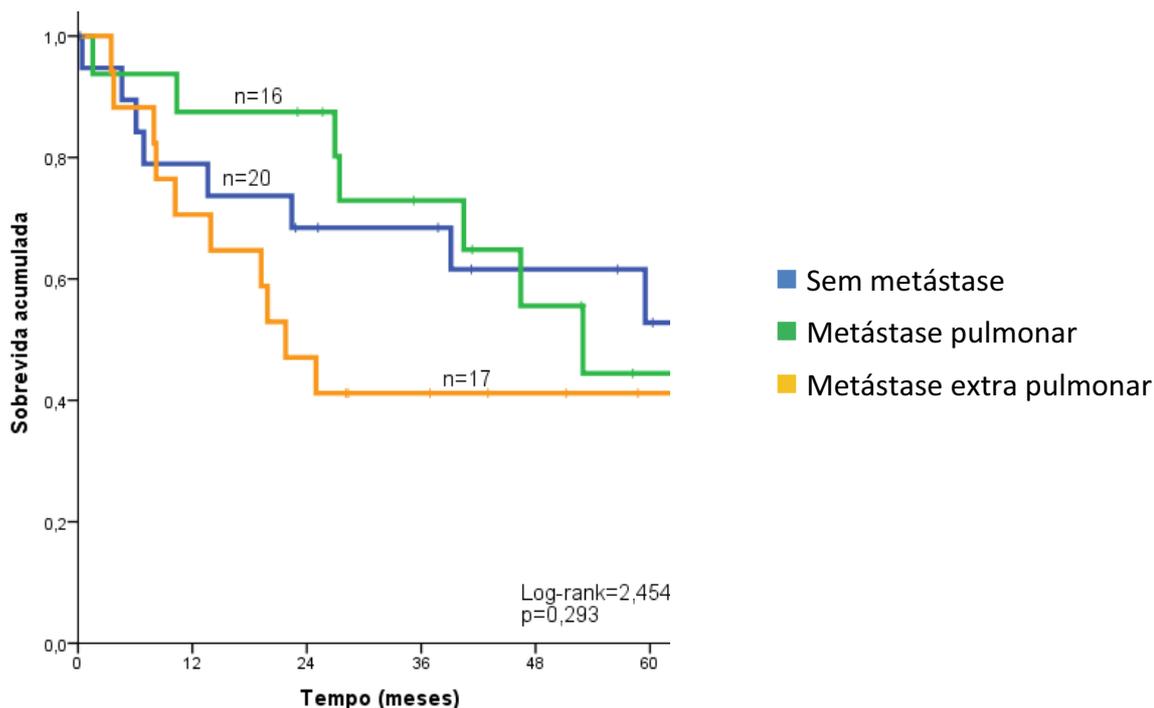


Figura 29 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável metástase em diferentes sítios e os não metastáticos, período 2003-2010.

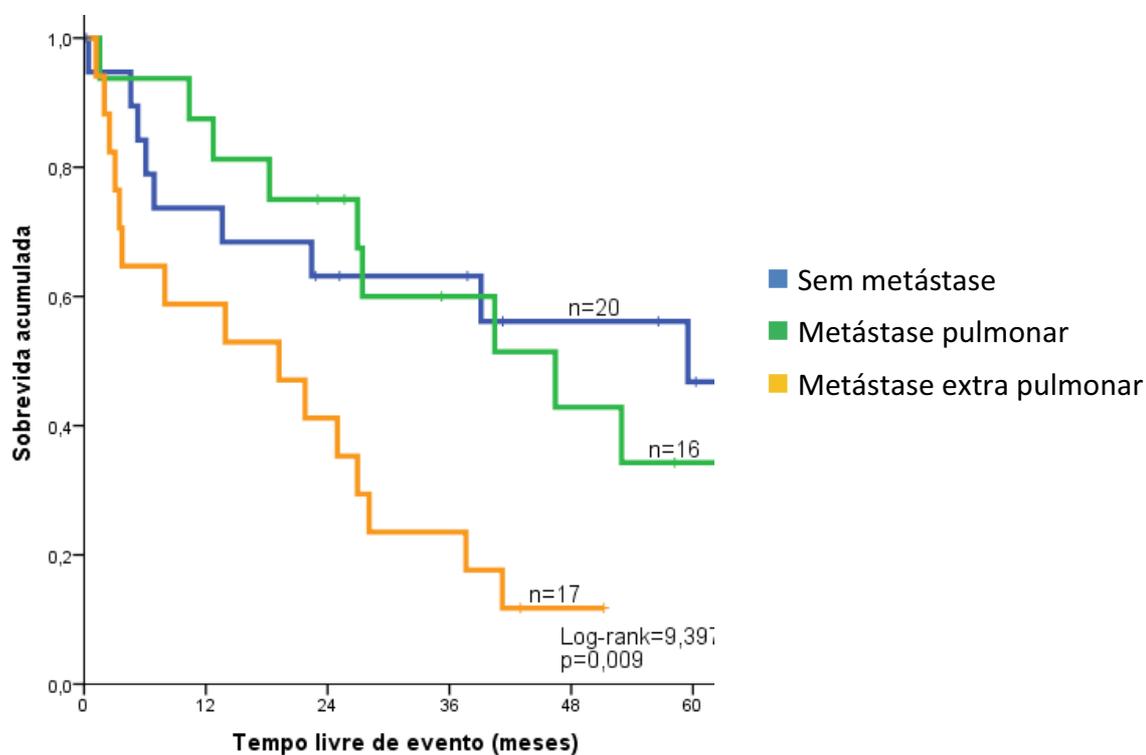


Figura 30 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável metástase em diferentes sítios e os não metastáticos, período 2003-2010.

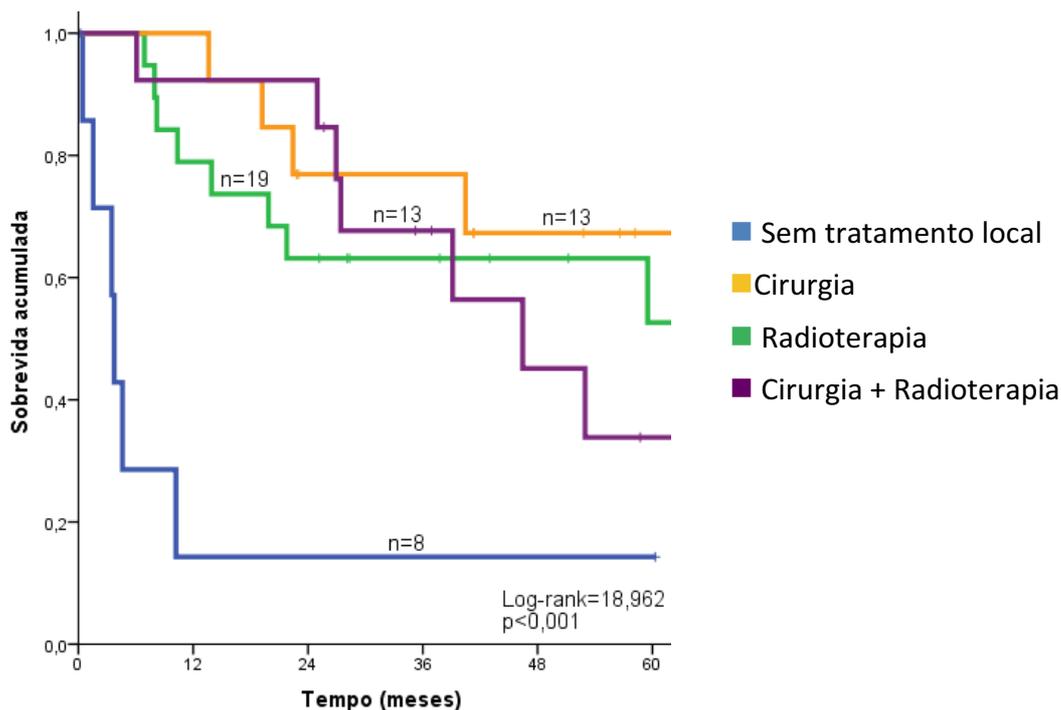


Figura 31 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando diferentes modalidades de tratamento local no período, período 2003-2010.

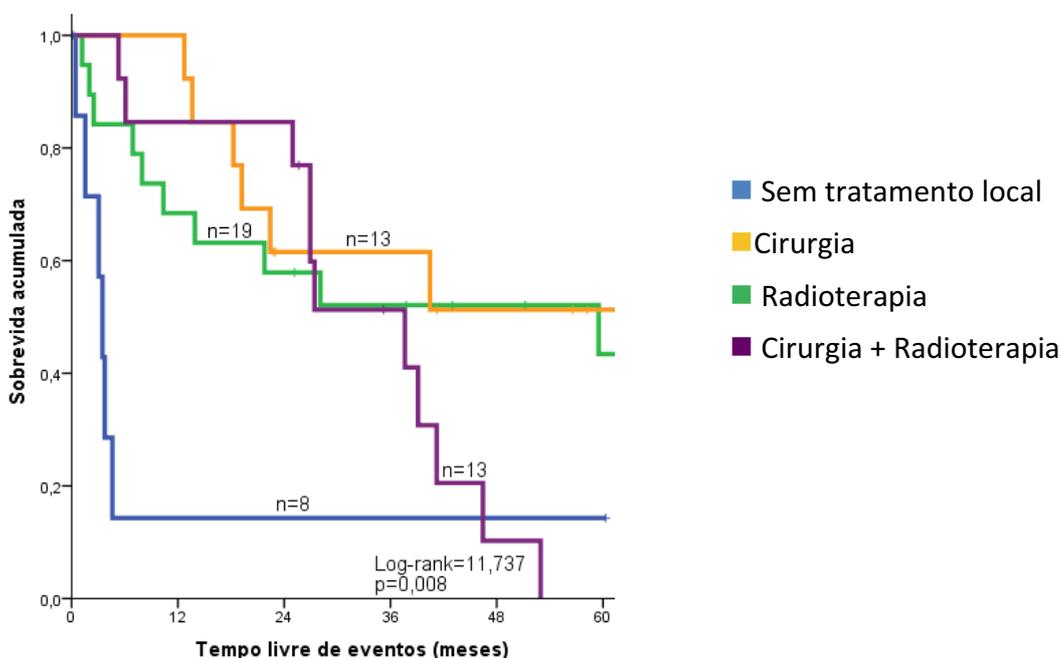


Figura 32 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando diferentes modalidades de tratamento local, período 2003-2010.

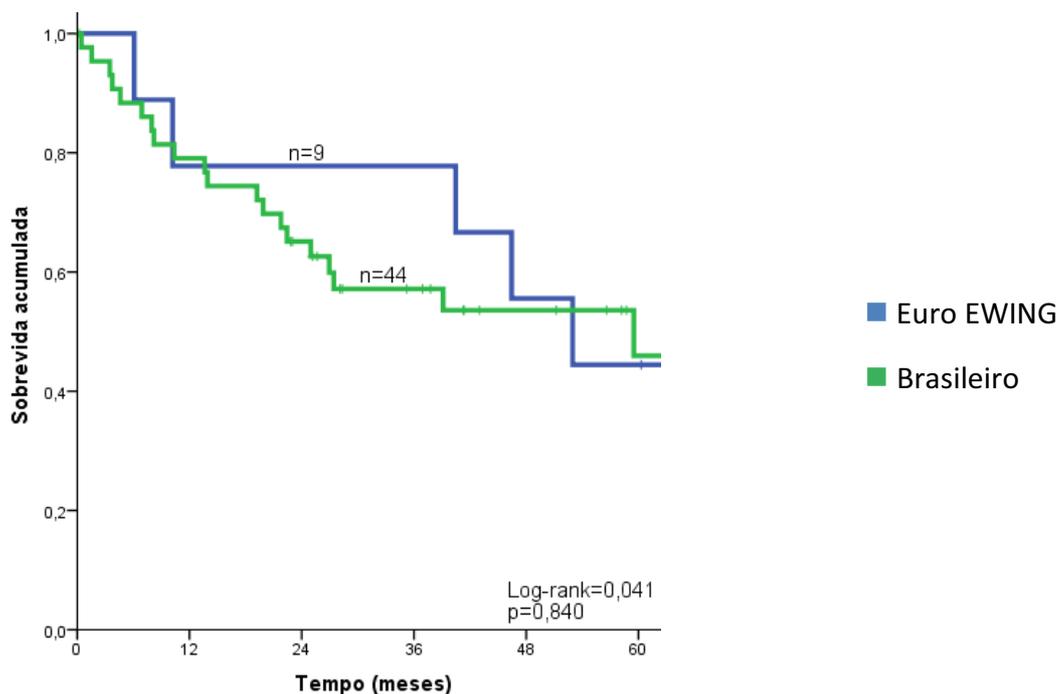


Figura 33 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando o protocolo utilizado no tratamento, período 2003-2010.

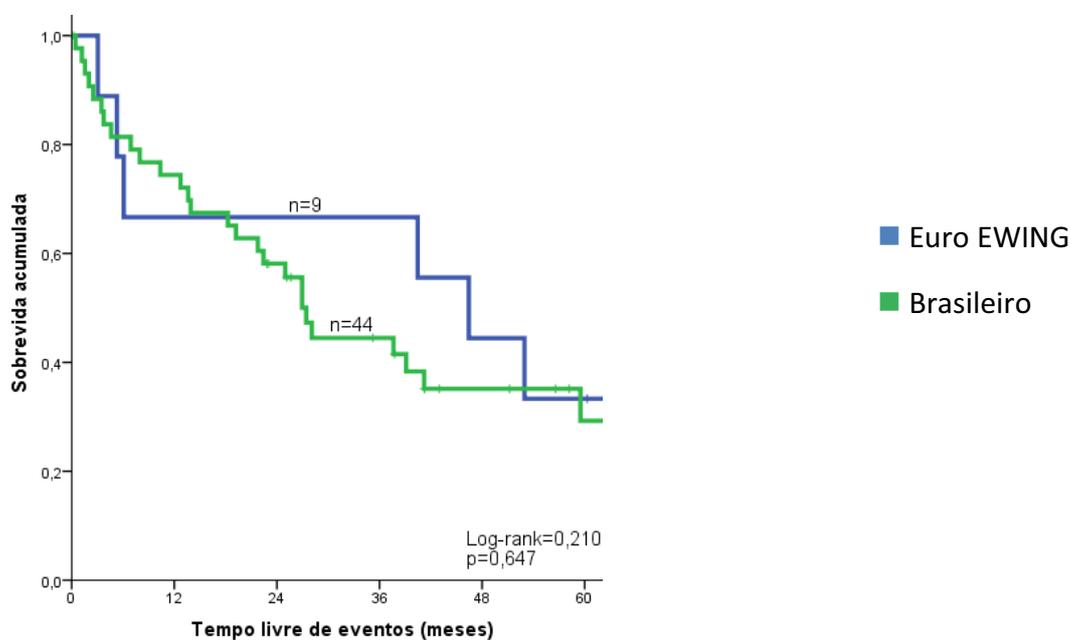


Figura 34 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando o protocolo utilizado no tratamento, período 2003-2010.

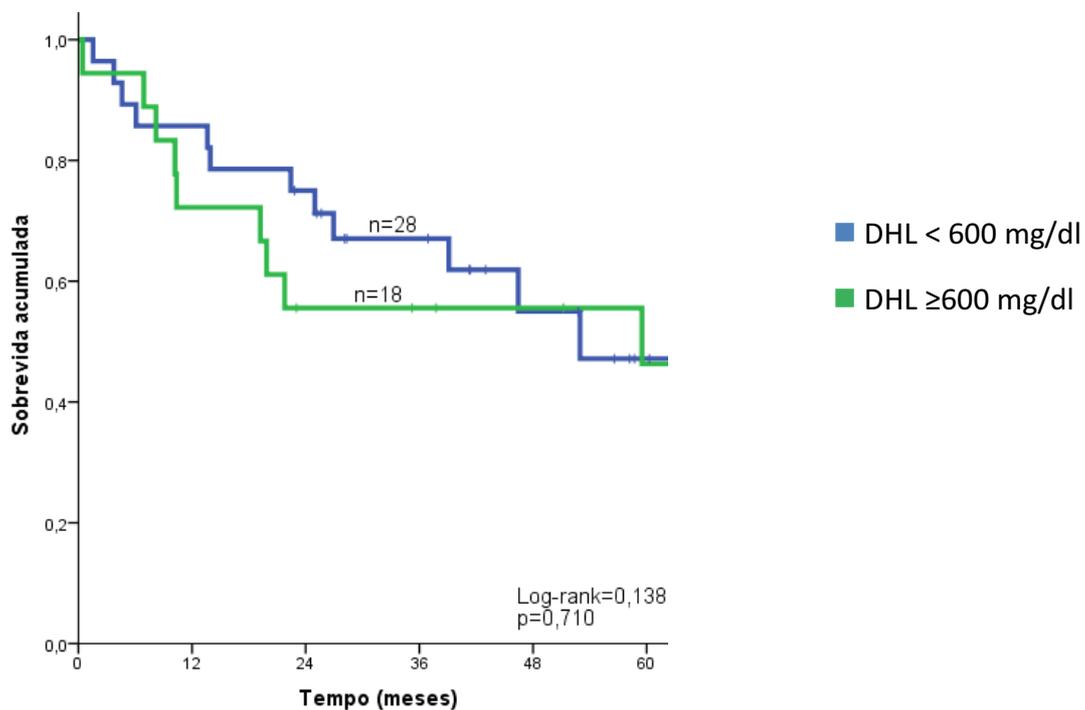


Figura 35 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável DHL, período 2003-2010.

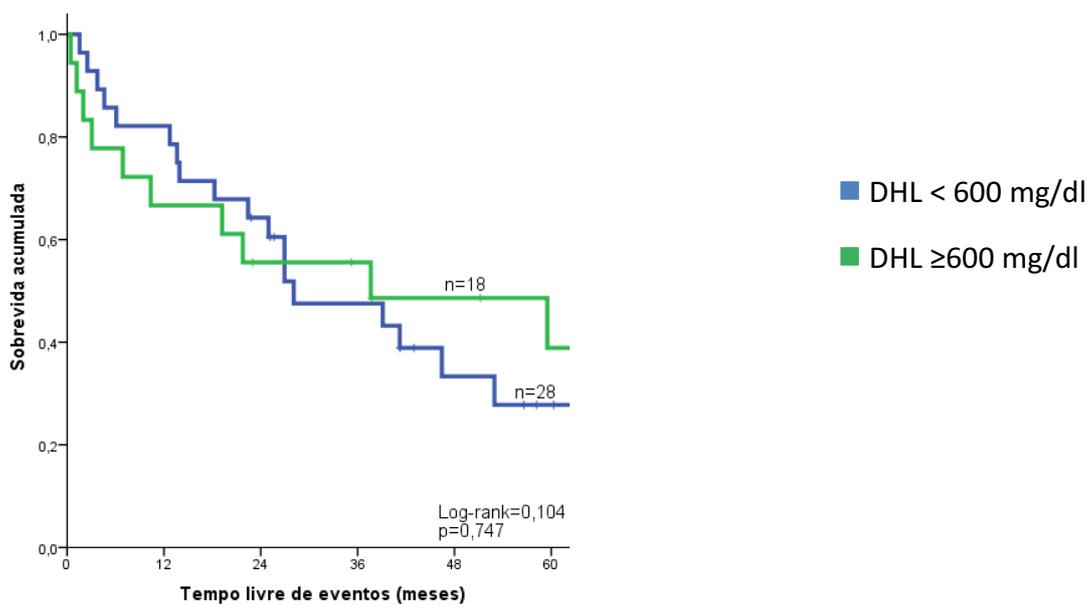


Figura 36 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável DHL, período 2003-2010.

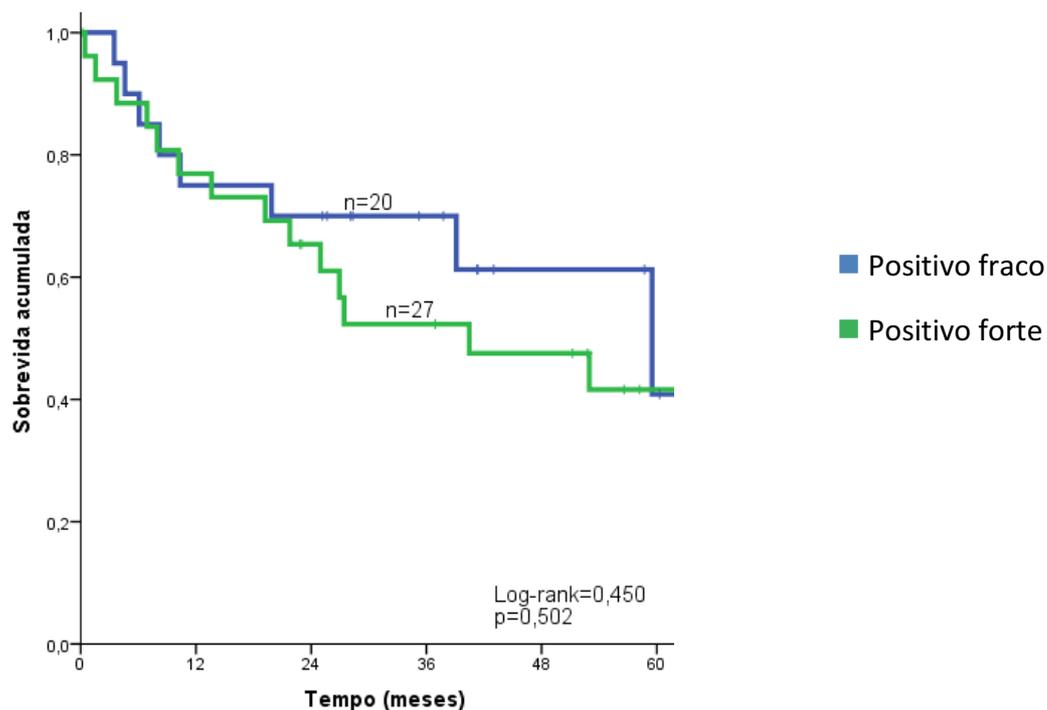


Figura 37 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a expressão de IGFR, período 2003-2010.

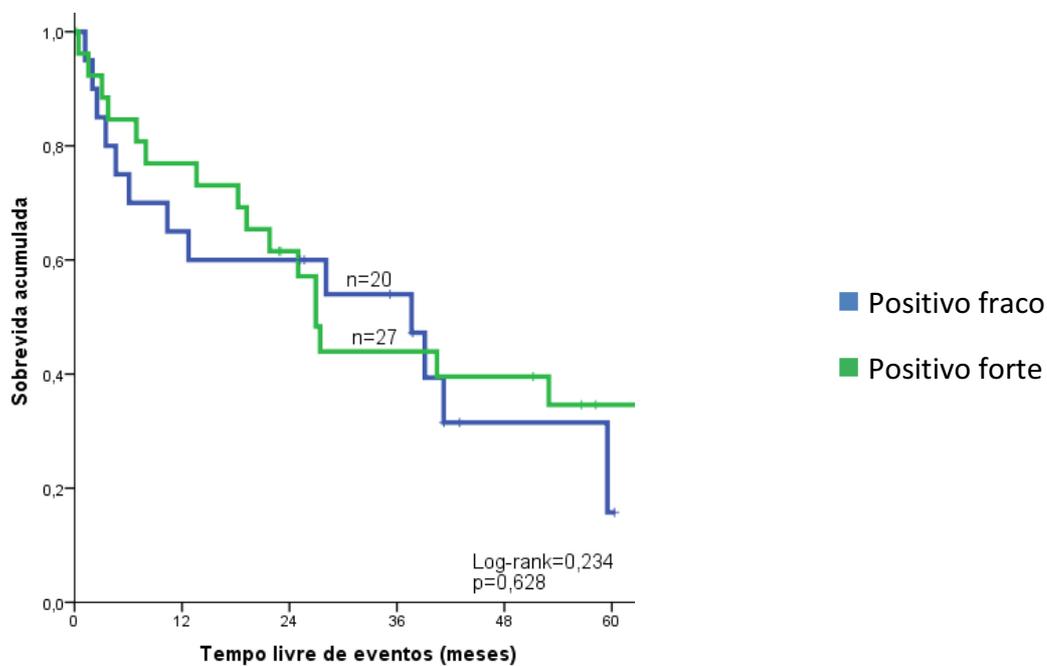


Figura 38 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a expressão de IGFR, período 2003-2010.

Tabela 4. Probabilidade de sobrevida acumulada e sobrevida acumulada livre de eventos segundo as características clínicas e variáveis de interesse prognóstico dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados nos HCB, período 2003-2010.

Variável	Sobrevida global			Sobrevida acumulada livre de eventos		
	2-anos	5-anos	valor de <i>p</i>	2-anos	5-anos	valor de <i>p</i>
Sobrevida geral	61%	45%		59%	30%	
Faixa etária			0,202			0,417
≤ 15 anos	72%	51%		69%	30%	
> 15 anos	47%	40%		48%	32%	
Sexo			0,555			0,587
Masculino	62%	37%		67%	30%	
Feminino	58%	58%		50%	32%	
Localização			0,457			0,243
Esquelética	58%	35%		59%	18%	
Partes moles	64%	53%		60%	40%	
Localização			0,256			0,502
Axial	59%	32%		59%	18%	
Extremidade	63%	58%		60%	40%	
Localização da metástase			0,293			0,009
Sem metástase	69%	53%		63%	48%	
Pulmão	88%	45%		75%	33%	
Extra pulmonar	47%	40%		41%	10%	
Tratamento local			<0,001			0,008
Sem tratamento	20%	20%		20%	20%	
Radioterapia	63%	53%		58%	44%	
Cirurgia	75%	64%		58%	48%	
Cirurgia + radioterapia	67%	33%		85%	0%	
Protocolo de tratamento			0,840			0,647
Euro Ewing	78%	44%		67%	33%	
Brasileiro	57%	47%		58%	30%	
Dosagem de DHL			0,710			0,747
<600 mg/dl	66%	46%		64%	15%	
≥600 mg/dl	55%	46%		61%	34%	
Expressão de IGFR			0,502			0,628
Positivo fraco	70%	43%		60%	15%	
Positivo forte	65%	42%		61%	34%	

Tabela 5 – Regressão univariada de Cox para SG e SLE das características clínicas e variáveis de interesse prognóstico dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados nos HCB, período 2003-2010.

Variável	Hazard ratio (HR) para SG IC (95%)	Valor de p	Hazard ratio (HR) para SLE IC (95%)	Valor de p
Faixa etária	≤15 anos	1,00		
	>15 anos	1,67 (0,75-3,70)	1,33 (0,67-2,65)	0,207
Sexo	Masculino	1,00		
	Feminino	0,78 (0,35-1,77)	1,21 (0,61-2,43)	0,556
Localização do tumor	Ossos	1,00		
	Partes moles	0,74 (0,33-1,64)	0,66 (0,33-1,33)	0,458
Localização esquelética	Axial	1,00		
	Extremidade	0,64 (0,29-1,40)	0,79 (0,40-1,57)	0,260
Metástase	Não	1,00		
	Pulmão	0,98 (0,35-2,71)	1,17 (0,46-2,96)	0,966
	Extra pulmonar	1,88 (0,73-4,83)	3,13 (1,33-7,37)	0,193
Protocolo	Euro	1,00		
	Brasileiro	1,11 (0,41-2,98)	1,23 (0,50-3,01)	0,840
Controle local	Sem tratamento local	1,00		
	Radioterapia	0,17 (0,06-0,50)	0,23 (0,08-0,65)	0,001
	Cirurgia	0,11 (0,03-0,41)	0,19 (0,06-0,61)	0,001
	Radioterapia+cirurgia	0,20 (0,07-0,61)	0,38 (0,14-1,07)	0,005
DHL	<600mg/dl	1,00		
	≥600mg/dl	1,18 (0,49-2,83)	0,88 (0,40-1,92)	0,71
IGFR	+ fraco	1,00		
	+ forte	1,35 (0,56-3,21)	0,83 (0,40-1,74)	0,504

Segue abaixo as curvas da SG e SLE segundo as características clínicas dos pacientes metastáticos incluídos no estudo no período de 2003 a 2010.

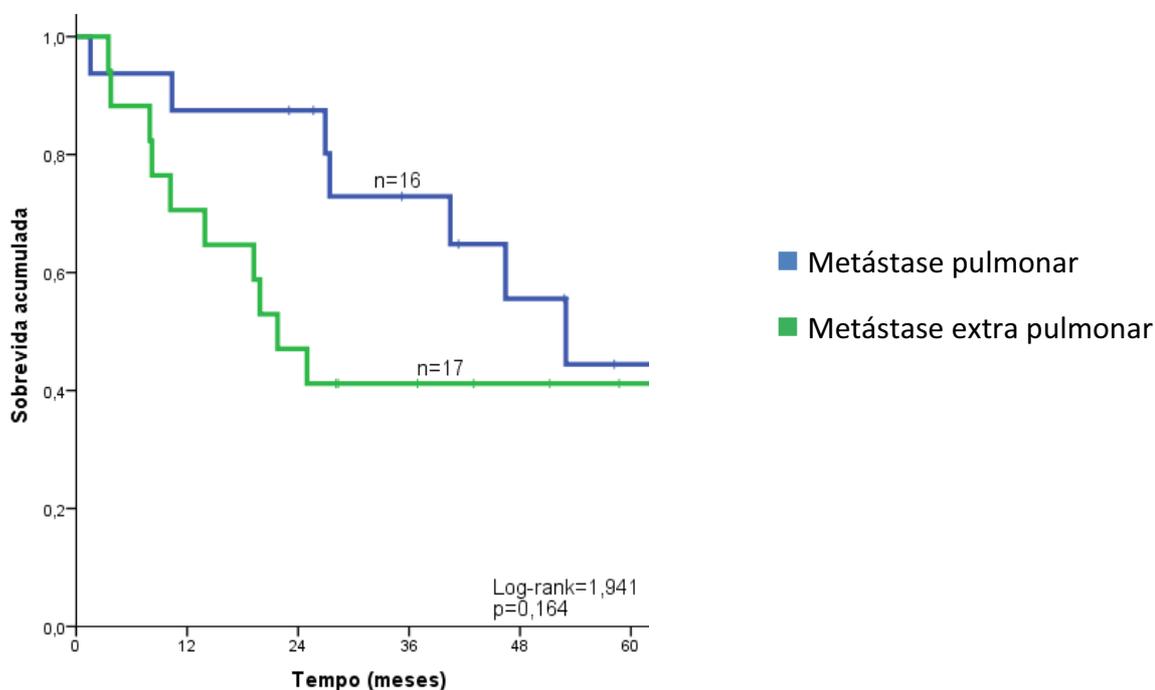


Figura 39 - Curva de SG dos pacientes com diagnóstico de TFE metastáticos tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização da metástase, período 2003-2010.

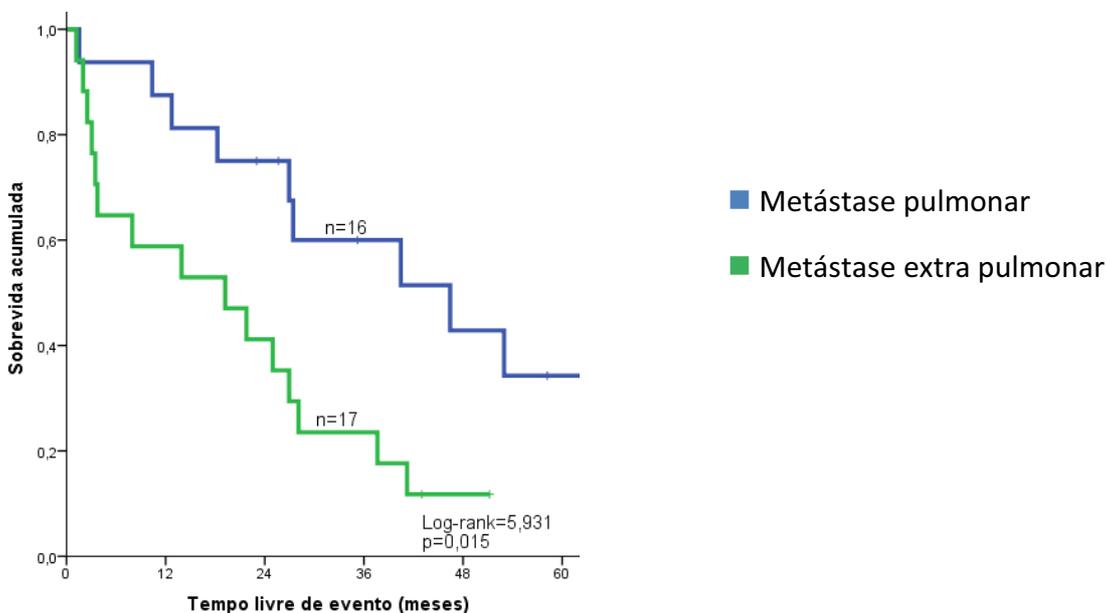


Figura 40 - Curva de SLE dos pacientes com diagnóstico de TFE metastáticos tratados no Hospital de Câncer de Barretos, considerando a variável localização da metástase, período 2003-2010.

Tabela 6 - Probabilidade de sobrevida acumulada e sobrevida acumulada livre de eventos segundo a variável localização da metástase dos pacientes com diagnóstico de TFE metastáticos tratados nos HCB, período 2003-2010.

Variável	Sobrevida global			Sobrevida livre de eventos		
	2-anos	5-anos	valor de p	2-anos	5-anos	valor de p
Metástases			0,164			0,015
Pulmão	88%	45%		75%	33%	
Extra pulmonar	47%	40%		41%	10%	

Tabela 7 – Regressão univariada de Cox para SG e SLE segundo a variável localização da metástase dos pacientes com diagnóstico de TFE metastáticos tratados nos HCB, período 2003-2010.

Variável	Hazard ratio (HR) para SG IC (95%)	Valor de p	Hazard ratio (HR) para SLE IC (95%)	Valor de p
Metástases				
Pulmão	1,00		1,00	
Extra pulmonar	1,98 (0,74-5,26)	0,171	2,82 (1,18-6,76)	0,020

Discussão

6. DISCUSSÃO

Este foi um estudo de coorte realizado no Hospital de Câncer de Barretos que avaliou retrospectivamente os dados clínicos dos pacientes com diagnóstico de TFE tratados na instituição, pela mesma equipe multidisciplinar, no período compreendido entre 2003 e 2012. Teve como objetivo, além de alimentar o registro hospitalar de câncer infanto-juvenil da instituição, traçar o perfil clínico dos pacientes por ela assistidos e conhecer a eficácia do tratamento por ela oferecido. Soma-se ainda ao estudo, a avaliação de marcadores de superfície celular que julgamos, a princípio, ser a chave para futuras terapias alvo específicas.

O HCB participa, desde o ano de 2000, de ensaios clínicos randomizados para tratamento dos TFE. No período compreendido entre 2003 e 2012, onde concentramos nossa casuística, a instituição participou de três protocolos distintos. O primeiro protocolo utilizado no período foi o Euro EWING com 13% dos pacientes incluídos no estudo submetidos a este regime de tratamento, o segundo ensaio clínico de tratamento foi o Protocolo Brasileiro para Tratamento dos TFE que contemplou 59,7% dos pacientes do estudo. Atualmente a instituição faz parte do Estudo Sulamericano para Tratamento dos TFE com 27,3% dos pacientes incluídos neste estudo submetidos ao regime de tratamento proposto. O HCB é responsável pelo maior número de inclusões, por instituição, neste estudo, demonstrando a importância do HCB no contexto de tratamento desta neoplasia na América do Sul.

A média de idade dos pacientes envolvidos no nosso estudo foi de 15 anos (desvio padrão [DP] = 5,42 anos). A literatura enfatiza sua maior incidência na segunda década de vida, sendo a maior parte dos pacientes acometidos jovens com menos de 20 anos de idade (Pizzo et al. 2005 & Lanzkowsky 2005).

Nossa amostra foi composta de 63,6% de pacientes do sexo masculino e 36,4% feminino, sendo que a literatura descreve a incidência dos TFE discretamente maior no sexo masculino. Estudo retrospectivo baseado no banco de dados do *National Cancer Institute's Surveillance*, envolvendo 725 casos no período compreendido entre 1989 e 2007 obteve uma relação de incidência entre o sexo masculino e feminino de 3:2 (Lee 2010). Outra

casuística com amostra de 300 pacientes, no período compreendido entre 1980 e 2005, demonstra uma frequência de 58% no sexo masculino (Pradhan 2011).

Apenas 2,6% de indivíduos negros participaram da nossa casuística. Nossa casuística é concordante com a literatura uma vez que os TFE são descritos como raros nos indivíduos negros (Pizzo et al. 2005). Estudo envolvendo 220 pacientes encontrou 93,2% de pacientes brancos e 6,8% de outras raças (Rodriguez-Galindo et al. 2007).

Os TFE podem se apresentar no esqueleto ou em tecidos moles. Dos pacientes incluídos no estudo, 58,4% apresentaram doença com localização esquelética e 41,6% localizados nas partes moles, ao passo que alguns estudos apresentam a localização nas partes moles com maior incidência. Estudo multicêntrico envolvendo 114 pacientes em diferentes centros de tratamento oncológico da Turquia demonstra uma taxa de 53,5% de tumores de localização em partes moles (Arpaci 2013). Em contrapartida, estudo realizado no *St. Jude Children's Research Hospital* encontrou em sua casuística 87,9% de pacientes com acometimento esquelético da neoplasia (Krasin 2005). Além da localização esquelética e de partes moles, a localização dos TFE pode ainda ser subdividida em axial e de extremidade, em nossa casuística, 48,0% dos pacientes apresentavam neoplasia de localização axial ao passo que 52,0% eram de localização esquelética. Dentre os localizados em partes moles, 75,5% eram axiais e nos esqueléticos, 71,1% acometiam a extremidade. Os principais sítios de acometimento esquelético foram o fêmur e os ossos da pelve (22,2% para cada região anatômica) e nos tumores de acometimento de partes moles, o gradeado costal (43,8%). A literatura infere que os principais sítios de acometimento esquelético dos TFE são ossos da pelve, fêmur, tíbia e úmero (Jedicka 2010). Nos TFE com acometimento de partes moles a localização mais frequente é a parede torácica (Arpaci et al. 2013). Em contrapartida, algumas séries de casos trazem a localização nas partes moles mais comumente nas extremidades (Kinsella et al. 1983; Rud et al. 1989; Siebenrock et al. 1996).

A avaliação de doença localizada ou metastática ao diagnóstico demonstrou que 44,2% dos pacientes apresentavam doença metastática, sendo o sítio pulmonar acometido em 46,8% seguido do sítio esquelético com 28,6%. Este dado pode sugerir e ser explicado pelo atraso diagnóstico em alguns destes pacientes devido a dificuldade de acesso aos centros especializados uma vez que, conforme a literatura cerca de 25 a 30% dos pacientes

com diagnóstico de TFE apresentam metástase ao diagnóstico (Esiashvili et al. 2008 & Grier 1997). Outros estudos trazem ainda uma taxa de metástase ao diagnóstico de 13% nos pacientes com tumor primário de localização em partes moles (Shannon 2012). O sítio preferencial de metástase descrito na literatura é condizente com os achados neste estudo, sendo o pulmão o principal (50% dos casos), seguido do acometimento ósseo (25%) e/ou medula óssea (20%) (Grier 1997). Em nosso estudo o pulmão foi o principal sítio de metástase com 52,9%. Observamos que 88,2% dos pacientes metastáticos ao diagnóstico eram do sexo masculino, havendo associação entre as variáveis sexo e metástase ao diagnóstico ($p < 0,001$). A literatura, a princípio, não contempla a associação entre essas duas variáveis.

Todos os pacientes incluídos no estudo foram submetidos a tratamento sistêmico previamente (quimioterapia neo adjuvante) ao tratamento local e os principais agentes quimioterápicos utilizados nos diferentes protocolos foram: vincristina, adreamicina, ifosfamida, doxorubicina, etoposide, ciclofosfamida e vimblastina. Dentre os pacientes incluídos no estudo, 18,3% foram a óbito antes do tratamento local. Dos pacientes submetidos a tratamento local, a cirurgia esteve presente de forma isolada em 22,6%, a radioterapia exclusiva em 39,4% e a associação da cirurgia com radioterapia em 19,7%. A completa excisão cirúrgica é tida como a melhor modalidade de tratamento local, apresentando menor taxa de recorrência local quando comparado com a radioterapia isolada para o tratamento do tumor primário (Cotterill et al. 2000). A baixa taxa de cirurgia isolada e/ou associada a radioterapia, encontrada no nosso estudo, pode ser explicada uma vez que obtivemos uma taxa de metástase ao diagnóstico de 44,2%. A metástase é considerada como o pior fator prognóstico para os pacientes com diagnóstico de TFE (Esiashvili et al. 2008). Nos pacientes metastáticos, com metástase irressecável, o tratamento cirúrgico, que muitas vezes pode envolver perda de segmentos corporais, dá espaço ao tratamento local com radioterapia. Dentre os pacientes metastáticos ao diagnóstico 71,9% foram submetidos a radioterapia como tratamento do sítio primário da neoplasia, existindo associação entre as variáveis doença metastática e tratamento radioterápico ($p = 0,048$). Ao avaliarmos a modalidade de tratamento local associado ao sítio primário da neoplasia observamos que nas lesões de acometimento axial o tratamento cirúrgico foi realizado em 29,7% e nas lesões de extremidade em 59,5% existindo associação

entre as variáveis modalidade de tratamento local e localização da neoplasia ($p=0,023$). Tal fato se explica pela dificuldade de acesso cirúrgico e obtenção de margens cirúrgicas adequadas nas lesões de comprometimento axial. A aparente superioridade da cirurgia pode representar viés de seleção, uma vez que lesões maiores e mais centrais frequentemente são tratadas com radioterapia (Shamberger 2000).

Encontramos 61,4% dos pacientes com a dosagem de DHL sérico abaixo de 600mg/dl e 38,6% com valores igual ou acima. Dentre os pacientes incluídos no estudo, sete não apresentavam dosagem de DHL sérico ao diagnóstico. Existe uma dificuldade do completo estadiamento das neoplasias tratadas no Sistema Único de Saúde, muitas vezes a falta de reagentes nos laboratórios das instituições que se prestam ao atendimento oncológico podem comprometer estudos futuros. A literatura destaca que os níveis séricos aumentados de DHL antes do tratamento pode guardar correlação com grandes tumores primários e metástase (Bacci et al. 2006).

Nas amostras biológicas dos TFE utilizadas neste estudo encontramos 51,5% dos espécimes com IGFR fortemente expressa e 48,5% com positividade fraca. Quando avaliamos a presença de metástase ao diagnóstico juntamente com a expressão de IGFR encontramos associação entre as variáveis ($p<0,001$). A literatura, a princípio, não contempla a associação entre expressão de IGFR e metástase ao diagnóstico. Talvez a positividade forte para a expressão de IGFR possa ser um fator preditor para metástase ao diagnóstico nos TFE.

Encontramos uma SG de 45% em 5 anos e uma SLE de 30% em 5 anos. A literatura evidencia uma SLE em torno de 70% com a compreensão do conceito de administração dos quimioterápicos em regime de intervalos, além do tratamento local (Pizzo 2005). Em contrapartida, estudos revelam que os casos avançados não têm apresentado respostas animadoras, quando submetidos a abordagem de tratamento padrão, no que diz respeito a melhorar as taxas de sobrevida, com as taxas em 5 anos, recentemente descritas como menos de 25% (Ross et al. 2013). Nosso estudo envolveu uma parcela de pacientes metastáticos ao diagnóstico maior que o descrito na literatura, uma vez sendo a metástase ao diagnóstico o pior fator prognóstico, justifica-se a SLE de eventos de 30% em 5 anos dos pacientes incluídos.

Diversos são os fatores prognósticos nos TFE, entretanto nota se divergência desses fatores entre alguns estudos.

A idade é fator prognóstico na literatura sendo que pacientes com idade inferior a 15 anos apresentam melhor prognóstico em relação aos pacientes adolescentes com idade superior a 15 anos e adultos (Cotterill et al. 2000; Rodríguez-Galindo et al. 2000; Bacci et al. 2006; Van Den Berg et al. 2008). Entretanto, revisão de dois ensaios clínicos alemães para tratamento do SE envolvendo pacientes com idade superior a 40 anos ao diagnóstico apresentaram sobrevida comparável aos adolescentes atendidos no mesmo ensaio (Pieper et al. 2008). Foi observado no nosso estudo que para os pacientes com idade inferior aos 15 anos, a curva evidencia melhor sobrevida nesse grupo quando comparado com os pacientes de idade superior, no entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as curvas de SG e SLE (respectivamente, $p=0,202$ e $p=0,417$).

Nossa casuística sugere melhor SG e SLE nos indivíduos do sexo feminino com SG de 58% em 5 anos e SLE de 32%, porém não foi encontrado significância estatística (respectivamente, $p=0,555$ e $p=0,587$). Estudos trazem a variável sexo como fator prognóstico nos TFE, referindo maior sobrevida nos indivíduos do sexo feminino (Bacci et al. 2006).

Nossos resultados favorecem maior SG e SLE nos pacientes com tumores de localização em partes moles quando comparado aos de sítio esquelético porém, não houve significância estatística na análise (respectivamente, $p= 0,457$ e $p=0,243$). Dados da literatura fazem inferência a pior prognóstico nos tumores localizados em partes moles (Angervall & Enzinger 1975). Estudo utilizando registro de câncer de base populacional não encontrou diferença no prognóstico no tocante a localização axial ou de extremidade do tumor (Lee 2010). Ao avaliarmos a SG e SLE no nosso estudo, os dados sugerem melhor SG e SLE nos pacientes com lesão na extremidade quando comparado com as lesões de comprometimento axial porém, não houve significância estatística (respectivamente, $p=0,256$ e $p=0,502$).

A SLE foi estatisticamente significativa quando analisamos a variável metástase ao diagnóstico, com taxa de 48% em 5 anos para os pacientes não metastáticos, 33% para os que apresentavam metástase pulmonar e 10% para metástase extra pulmonar ($p=0,009$).

Quando avaliamos esses dados em uma regressão univariada de Cox, encontramos pior prognóstico nos pacientes com metástase extra pulmonar (HR=3,13[1,33-7,37], $p=0,009$). Ao categorizarmos os pacientes metastático em dois subgrupos, metástase pulmonar e metástase extra pulmonar, observamos também pior prognóstico nos acometidos por metástase extra pulmonar, com SLE de 10% em 5 anos ($p=0,015$). A regressão univariada de Cox, demonstrou melhor prognóstico para os pacientes com metástase pulmonar quando comparado aos pacientes com metástase extra pulmonar (HR=2,82[1,18-6,76] $p=0,009$). A literatura evidencia um pior prognóstico para as metástases extra pulmonares (Cotterill et al. 2000; Rodríguez-Galindo et al. 2000; Miser et al. 2004). A presença de metástase óssea parece ter melhor prognóstico apenas em relação aos pacientes que, além do envolvimento extra pulmonar, apresentam também comprometimento pulmonar (Paulussen et al. 1998B).

A modalidade de tratamento local demonstra uma melhor SG e SLE para os pacientes submetidos apenas a cirurgia, sendo de 64% em 5 anos para SG e 48% para a SLE apresentando significância estatística (respectivamente, $p<0,001$ e $p=0,008$). A regressão univariada de Cox para o controle local com cirurgia apresentou significância estatística (HR=0,11[0,03-0,41], $p=0,001$). Conforme referido anteriormente essa superioridade da cirurgia pode representar viés de seleção, uma vez que lesões maiores e mais centrais frequentemente são tratadas com radioterapia (Shamberger 2000). Reforçamos a necessidade de ensaios clínicos randomizados para melhor avaliação da superioridade cirúrgica em relação as outras modalidades de tratamento local.

Para análise de sobrevida dos pacientes incluídos no estudo considerando a variável protocolo de tratamento, estratificamos nossa amostra em dois grupos: pacientes submetidos ao regime de tratamento do Euro Ewing e ao Protocolo Brasileiro para Tratamento dos TFE. A SG atingiu o valor de 47%, em 5 anos, nos pacientes submetidos ao regime proposto no Protocolo Brasileiro para Tratamento dos TFE e 44% nos pacientes assistidos com base no Euro Ewing ($p=0,840$). Para a SLE a sobrevida em 5 anos foi de 33% e 30% respectivamente ($p=0,657$). Não houve significância estatística na avaliação da sobrevida estratificada por protocolo de tratamento, tal fato pode ser explicado pelo pequeno número de pacientes incluídos no protocolo Euro Ewing (13%) quando comparado ao o Protocolo Brasileiro para Tratamento dos TFE que envolveu 59,7% da amostra.

A dosagem sérica de DHL foi categorizada em 2 grupos: <600mg/dl e ≥600mg/dl. A SG em 5 anos foi de 46% para os dois grupos em questão, não se evidenciando significância estatística para a variável ($p=0,710$). Sete pacientes não apresentavam dosagem sérica do DHL ao diagnóstico, tal fato pode ter sido responsável pelos resultados similares, uma vez que níveis séricos aumentados de DHL antes do tratamento estão associados com pior prognóstico, sendo que este aumento também pode guardar correlação com grandes tumores primários e metástase (Bacci et al. 2006).

A análise da sobrevida considerando a variável expressão de IGFR foi de 42% em 5 anos para SG para positividade forte e de 42% para os positivos fracos ($p=0,502$). Quando analisamos a SLE observamos uma sobrevida de 34%, em 5 anos, para os fortemente positivos e de 15% para os positivos fracos ($p=0,628$). Não houve significância estatística na análise de sobrevida considerando a variável expressão de IGFR. Tal fato pode ser explicado pelo tamanho da amostra. Nove pacientes não apresentavam amostras biológicas no Departamento de Anatomia Patológica. O uso de amostras biológicas nos estudos que envolvem a avaliação citogenética apresentam limitações. Grande parte desse material é constituído de fragmentos de tecidos obtidos por biópsia utilizando agulhas, sendo escassos. A substância utilizada para fixação desses materiais também pode ser fator determinante, principalmente nos estudos moleculares. A criação dos chamados bancos de tumores, com congelação de amostras a fresco talvez seja o caminho para otimização dos estudos que envolvem citogenética.

Diversos estudos buscando terapias alvo com foco no bloqueio da atividade do receptor de IGF tem sido realizadas. Recente revisão demonstra que em alguns tipos de tumores o uso de drogas bloqueadoras do receptor de IGF1 tem piorado a sobrevida desses pacientes. Em um ensaio clínico de Fase II, envolvendo tratamento com drogas bloqueadoras do receptor de IGF1 no câncer de mama pós menopausa, com receptor positivo, evidenciou piora da sobrevida global. Cita se ainda, que os mecanismos de resistência a terapia alvo com bloqueio do IGF1-R pode estar envolvido em associação com outros receptores como o EGFR e conclui que as vias de sinalização envolvidas no IGFR são mais complexas do que se pensava inicialmente (Guha 2013).

Ressaltamos que os TFE são neoplasias raras e as casuísticas institucionais são geralmente pequenas, o que dificulta sobremaneira os estudos clínicos. Há uma evidente dificuldade no estudo das neoplasias raras no Brasil em virtude da ineficiência dos registros hospitalares de câncer e registros de câncer de base populacional. Estes registros quando existentes encontram dificuldade para a sua manutenção, o que pode levar a vieses que se refletirão na análise dos dados das diferentes regiões do país (Guerra et al. 2005) A consolidação dos fatores prognósticos para os TFE depende não somente dos estudos multicêntricos, mas também de uma estrutura organizada de coleta e armazenamento dos dados obtidos.

Este estudo contempla a iniciativa de criação de um registro hospitalar de tumores pediátricos no HCB, que ajudará em futuras pesquisas para melhor entendimento do câncer e conseqüentemente na excelência do tratamento.

Conclusões

7 CONCLUSÕES

- Os pacientes com diagnóstico de TFE, tratados no HCB, apresentam uma maior incidência de metástase ao diagnóstico quando comparamos aos dados da literatura existente.
- A expressão forte de IGFR está mais presente em pacientes com metástase ao diagnóstico.
- Localização extra pulmonar da metástase foi associada com pior prognóstico.
- O controle cirúrgico exclusivo do sítio primário esteve associado ao melhor prognóstico comparado com as outras modalidades de tratamento local.
- A expressão de IGFR, a princípio, não se comportou como fator prognóstico nos TFE.

Referências

8 REFERÊNCIAS

- Ahmad R, Mayol BR, Davis M, Rougraff BT. *Extraskeletal Ewing's sarcoma*. **Cancer**. 1999;85(3):725-31.
- Angervall L, Enzinger FM. *Extraskeletal neoplasm resembling Ewing's sarcoma*. **Cancer**. 1975;36(1):240-51.
- Applebaum MA, Goldsby R, Neuhaus J, DuBois SG. *Clinical features and outcomes in patients with Ewing sarcoma and regional lymph node involvement*. **Pediatr Blood Cancer**. 2012;59(4):617-20.
- Armengol G, Tarkkanen M, Virolainen M, Forus A, Valle J, Böhling T, et al. *Recurrent gains of 1q, 8 and 12 in the Ewing family of tumours by comparative genomic hybridization*. **Br J Cancer**. 1997;75(10):1403-9.
- Arpaci E, Yetisyigit T, Seker M, Uncu D, Uyeturk U, Oksuzoglu B, et al. *Prognostic factors and clinical outcome of patients with Ewing's sarcoma family of tumors in adults: multicentric study of the Anatolian Society of Medical Oncology*. **Med Oncol**. 2013;30(1):469.
- Arvand A, Denny CT. *Biology of EWS/ETS fusions in Ewing's family tumors*. **Oncogene**. 2001;20(40):5747-54.
- Askin FB, Rosai J, Sibley RK, Dehner LP, McAlister WH. *Malignant small cell tumor of the thoracopulmonary region in childhood: a distinctive clinicopathologic entity of uncertain histogenesis*. **Cancer**. 1979;43(6):2438-51.
- Bacci G, Longhi A, Ferrari S, Mercuri M, Versari M, Bertoni F. *Prognostic factors in non-metastatic Ewing's sarcoma tumor of bone: an analysis of 579 patients treated at a single institution with adjuvant or neoadjuvant chemotherapy between 1972 and 1998*. **Acta Oncol**. 2006;45(4):469-75.
- Bellan, DG; Garcia Filho RJ;Garcia, JG; Petrilli, MT; Viola, DCM; Schoedl, MF; Petrilli, AS . *Ewing's Sarcoma: Epidemiology and Prognosis for Patients Treated at the Pediatric Oncology Institute, IOP-Graacc-Unifesp*. **Rev Bras Ortop**.2012;(47):446-450.
- Bendardaf R, Buhmeida A, Ristamäki R, Syrjänen K, Pyrhönen S. *MMP-1 (collagenase-1) expression in primary colorectal cancer and its metastases*. **Scand J Gastroenterol**. 2007;42(12):1473-8.
- Bertucci F, Borie N, Ginestier C, Groulet A, Charafe-Jauffret E, Adélaïde J, et al. *Identification and validation of an ERBB2 gene expression signature in breast cancers*. **Oncogene**. 2004;23(14):2564-75.
- Brisset S, Schleiermacher G, Peter M, Mairal A, Oberlin O, Delattre O, et al. *CGH analysis of secondary genetic changes in Ewing tumors: correlation with metastatic disease in a series of 43 cases*. **Cancer Genet Cytogenet**. 2001;130(1):57-61.
- Brownhill SC, Taylor C, Burchill SA. *Chromosome 9p21 gene copy number and prognostic significance of p16 in ESFT*. **Br J Cancer**. 2007;96(12):1914-23.

Chen L, Wang Q, Wang GD, Wang HS, Huang Y, Liu XM, et al. *miR-16 inhibits cell proliferation by targeting IGF1R and the Raf1-MEK1/2-ERK1/2 pathway in osteosarcoma.* **FEBS Lett.** 2013;587(9):1366-72.

Cotterill SJ, Ahrens S, Paulussen M, Jrgens HF, Vo'te PA, Gadner H, et al. *Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group.* **J Clin Oncol.** 2000;18(17):3108-14.

De Alava E, Antonescu CR, Panizo A, Leung D, Meyers PA, Huvos AG, et al. *Prognostic impact of P53 status in Ewing sarcoma.* **Cancer.** 2000;89(4):783-92.

De Alava E, Panizo A, Antonescu CR, Huvos AG, Pardo-Mind'n FJ, Barr FG, et al. *Association of EWS-FLI1 type 1 fusion with lower proliferative rate in Ewing's sarcoma.* **Am J Pathol.** 2000;156(3):849-55.

De Camargo B, de Oliveira Santos M, Rebelo MS, de Souza Reis R, Ferman S, Noronha CP, et al. *Cancer incidence among children and adolescents in Brazil: first report of 14 population-based cancer registries.* **Int J Cancer.** 2010;126(3):715-20.

Dei Tos AP, Dal Cin P. *The role of cytogenetics in the classification of soft tissue tumours.* **Virchows Arch.** 1997;431(2):83-94.

Delattre O, Zucman J, Melot T, Garau XS, Zucker JM, Lenoir GM, et al. *The Ewing family of tumors--a subgroup of small-round-cell tumors defined by specific chimeric transcripts.* **N Engl J Med.** 1994;331(5):294-9.

Dong XT, Yang XJ, Wang HM, Wang W, Yu L, Zhang B, et al. *Expression and Distribution Characteristics of Human Ortholog of Mammalian Enabled (hMena) in Glioma.* **Chin J Cancer Res.** 2011;23(4):312-6.

Dorfman H, Cerniak B. *Ewing sarcoma and related entities.* **St Louis: Mosby; 1998.** p. 607-642.

Durbin M, Randall RL, James M, Sudilovsky D, Zoger S. *Ewing's sarcoma masquerading as osteomyelitis.* **Clin Orthop Relat Res.** 1998(357):176-85.

El Weshi A, Allam A, Ajarim D, Al Dayel F, Pant R, Bazarbashi S, et al. *Extraskeletal Ewing's sarcoma family of tumours in adults: analysis of 57 patients from a single institution.* **Clin Oncol (R Coll Radiol).** 2010;22(5):374-81.

Esiashvili N, Goodman M, Marcus RB. *Changes in incidence and survival of Ewing sarcoma patients over the past 3 decades: Surveillance Epidemiology and End Results data.* **J Pediatr Hematol Oncol.** 2008;30(6):425-30.

Ewing J. *Classics in oncology. Diffuse endothelioma of bone. James Ewing. Proceedings of the New York Pathological Society, 1921.* **CA Cancer J Clin.** 1972;22(2):95-8.

Ferrari S, Sundby Hall K, Luksch R, Tienghi A, Wiebe T, Fagioli F, et al. *Nonmetastatic Ewing family tumors: high-dose chemotherapy with stem cell rescue in poor responder patients. Results of the Italian Sarcoma Group/Scandinavian Sarcoma Group III protocol.* **Ann Oncol.** 2011;22(5):1221-7.

Ferreira BI, Alonso J, Carrillo J, Acquadro F, Largo C, Suela J, et al. *Array CGH and gene-expression profiling reveals distinct genomic instability patterns associated with DNA repair and cell-cycle checkpoint pathways in Ewing's sarcoma.* **Oncogene.** 2008;27(14):2084-90.

Fletcher CDM. *Peripheral neuroectodermal tumors.* In: Fletcher, CDM.: *Diagnostic Histopathology of Tumors.* **Churchill Livingstone;** 2000, p. 1698-1700.

Fundação Oncocentro de São Paulo. [Internet] São Paulo: FOSP [cited 2012]; Available from: <http://www.fosp.saude.sp.gov.br>

Gatta G, van der Zwan JM, Casali PG, Siesling S, Dei Tos AP, Kunkler I, et al. *Rare cancers are not so rare: the rare cancer burden in Europe.* **Eur J Cancer.** 2011;47(17):2493-511.

Grier HE, Krailo MD, Tarbell NJ, Link MP, Fryer CJ, Pritchard DJ, et al. *Addition of ifosfamide and etoposide to Standard chemotherapy for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor of bone.* **N Engl J Med.** 2003;348(8):694-701.

Grier HE. *The Ewing family of tumors. Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumors.* **Pediatr Clin North Am.** 1997;44(4):991-1004.

Guerra MR; Gallo, CVM; Mendonça, GAS. *Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes.* **Revista Brasileira de Cancerologia, Rio de Janeiro.** 2005;51(3):227-234.

Guha M. *Anticancer IGF1R classes take more knocks.* **Nat Rev Drug Discov.** 2013;12(4):250.

Guise TA, O'Keefe R, Randall RL, Terek RM. *Molecular biology and therapeutics in musculoskeletal oncology.* **J Bone Joint Surg Am.** 2009;91(3):724-32.

Gurney JG, Swensen AR, Bulterys, M. *Malignant bone tumors.* In: Ries Lag S M, Gurney JG, et al. (Ed.). *Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975– 1995.* **Bethesda: National Institutes of Health;** 1999. p.99-110.

Gururangan S, Marina NM, Luo X, Parham DM, Tzen CY, Greenwald CA, et al. *Treatment of children with peripheral primitive neuroectodermal tumor or extraosseous Ewing's tumor with Ewing's-directed therapy.* **J Pediatr Hematol Oncol.** 1998;20(1):55-61.

Hawkins DS, Schuetze SM, Butrynski JE, Rajendran JG, Vernon CB, Conrad EU, et al. *[18F]Fluorodeoxyglucose positron emission tomography predicts outcome for Ewing sarcoma family of tumors.* **J Clin Oncol.** 2005;23(34):8828-34.

Heck RK. *General principles of tumors.* In: Canale ST, Beaty JH, editors. *Campbell's Operative Orthopaedics.* 11th ed. **Philadelphia: Mosby, Elsevier;** 2008. p. 775–854.

Hoffmann C, Ahrens S, Dunst J, Hillmann A, Winkelmann W, Craft A, et al. *Pelvic Ewing sarcoma: a retrospective analysis of 241 cases.* **Cancer.** 1999;85(4):869-77.

Hoos A, Urist MJ, Stojadinovic A, Mastorides S, Dudas ME, Leung DH, et al. *Validation of tissue microarrays for immunohistochemical profiling of cancer specimens using the example of human fibroblastic tumors.* **Am J Pathol.** 2001;158(4):1245-51.

Horowitz M, Malawer M, Woo S, Hicks M. *Ewing's sarcoma family of tumors: Ewing's sarcoma of bone and soft tissue and the peripheral primitive neuroectodermal tumors*. In: Pizzo PA, Poplack DG, editors. *Principles and practice of pediatric oncology*. 3rd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott; 1997. p. 831-863.

Huang HY, Illei PB, Zhao Z, Mazumdar M, Huvos AG, Healey JH, et al. *Ewing sarcomas with p53 mutation or p16/p14ARF homozygous deletion: a highly lethal subset associated with poor chemoresponse*. **J Clin Oncol**. 2005;23(3):548-58.

Jawad MU, Cheung MC, Min ES, Schneiderbauer MM, Koniaris LG, Scully SP. *Ewing sarcoma demonstrates racial disparities in incidence-related and sex-related differences in outcome: an analysis of 1631 cases from the SEER database, 1973-2005*. **Cancer**. 2009;115(15):3526-36.

Jedlicka P. *Ewing Sarcoma, an enigmatic malignancy of likely progenitor cell origin, driven by transcription factor oncogenic fusions*. **Int J Clin Exp Pathol**. 2010;3(4):338-47.

Kerbel R, Folkman J. *Clinical translation of angiogenesis inhibitors*. **Nat. Rev. Cancer**. 2002; 2:727-739.

Juergens H, Daw NC, Geoerger B, Ferrari S, Villarroel M, Aerts I, et al. *Preliminary efficacy of the anti-insulin-like growth factor type 1 receptor antibody figitumumab in patients with refractory Ewing sarcoma*. **J Clin Oncol**. 2011;29(34):4534-40.

Kinsella TJ, Triche TJ, Dickman PS, Costa J, Tepper JE, Glaubiger D. *Extraskeletal Ewing's sarcoma: results of combined modality treatment*. **J Clin Oncol**. 1983;1(8):489-95.

Kovar H, Aryee D, Zoubek A. *The Ewing family of tumors and the search for the Achilles' heel*. **Curr Opin Oncol**. 1999;11(4):275-84.

Krasin MJ, Davidoff AM, Rodriguez-Galindo C, Billups CA, Fuller CE, Neel MD, et al. *Definitive surgery and multiagent systemic therapy for patients with localized Ewing sarcoma family of tumors: local outcome and prognostic factors*. **Cancer**. 2005;104(2):367-73.

Lanzkowsky P. *Manual of pediatric hematology and oncology*. 4th edition. California, USA, Elsevier Inc; 2005. p.596-599.

Lee J, Hoang BH, Ziogas A, Zell JA. *Analysis of prognostic factors in Ewing sarcoma using a population-based cancer registry*. **Cancer**. 2010;116(8):1964-73.

Lessnick SL, Braun BS, Denny CT, May WA. *Multiple domains mediate transformation by the Ewing's sarcoma EWS/FLI-1 fusion gene*. **Oncogene**. 1995;10(3):423-31.

Lessnick SL, Dacwag CS, Golub TR. *The Ewing's sarcoma oncoprotein EWS/FLI induces a p53-dependent growth arrest in primary human fibroblasts*. **Cancer Cell**. 2002;1(4):393-401.

Mackintosh C, Madoz-Gúrpide J, Ordóñez JL, Osuna D, Herrero-Martín D. *The molecular pathogenesis of Ewing's sarcoma*. **Cancer Biol Ther**. 2010;9(9):655-67.

Matsunobu T, Tanaka K, Matsumoto Y, Nakatani F, Sakimura R, Hanada M, et al. *The prognostic and therapeutic relevance of p27kip1 in Ewing's family tumors*. **Clin Cancer Res**. 2004;10(3):1003-12.

Miser JS, Krailo MD, Tarbell NJ, Link MP, Fryer CJ, Pritchard DJ, et al. *Treatment of metastatic Ewing's sarcoma or primitive neuroectodermal tumor of bone: evaluation of combination ifosfamide and etoposide--a Children's Cancer Group and Pediatric Oncology Group study.* **J Clin Oncol.** 2004;22(14):2873-6.

Mountzios G, Kostopoulos I, Kotoula V, Sfakianaki I, Fountzilias E, Markou K, et al. *Insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) expression and survival in operable squamous-cell laryngeal cancer.* **PLoS One.** 2013;8(1):e54048.

Oberlin O, Le Deley MC, Bui BN, Gentet JC, Philip T, Terrier P, et al.: *Prognostic factors in localized Ewing's tumours and peripheral neuroectodermal tumors: the third study of the French Society of Paediatric Oncology (EW88 study).* **Brit J Cancer.** 2001;85(11):1646-54

Ozaki T, Paulussen M, Poremba C, Brinkschmidt C, Rerim J, Ahrens S, et al. *Genetic imbalances revealed by comparative genomic hybridization in Ewing tumors.* **Genes Chromosomes Cancer.** 2001;32(2):164-71.

Paulussen M, Ahrens S, Craft AW, et al.: *Ewing's tumors with primary lung metastases: survival analysis of 114 (European Intergroup) Cooperative Ewing's Sarcoma Studies patients.* **J Clin Oncol** 1998;16(9):3044-52.

Paulussen M, Ahrens S, Burdach S, Craft A, Dockhorn-Dworniczak B, Dunst J, et al. *Primary metastatic (stage IV) Ewing tumor: survival analysis of 171 patients from the EICESS studies. European Intergroup Cooperative Ewing Sarcoma Studies.* **Ann Oncol.** 1998;9(3):275-81. (B)

Paulussen M, Craft AW, Lewis I, Hackshaw A, Douglas C, Dunst J, et al. *Results of the EICESS-92 Study: two randomized trials of Ewing's sarcoma treatment--cyclophosphamide compared with ifosfamide in standard-risk patients and assessment of benefit of etoposide added to standard treatment in high-risk patients.* **J Clin Oncol.** 2008;26(27):4385-93.

Pieper S, Ranft A, Braun-Munzinger G, Jurgens H, Paulussen M, Dirksen U. *Ewing's tumors over the age of 40: a retrospective analysis of 47 patients treated according to the International Clinical Trials EICESS 92 and EURO-E.W.I.N.G. 99.* **Onkologie.** 2008;31(12):657-63.

Pizzo PA, Poplack DG. *Principles and practice of pediatric oncology.* 5th ed. **Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins;** 2005.

Pradhan A, Grimer RJ, Spooner D, Peake D, Carter SR, Tillman RM, et al. *Oncological outcomes of patients with Ewing's sarcoma: is there a difference between skeletal and extra-skeletal Ewing's sarcoma?* **J Bone Joint Surg Br.** 2011;93(4):531-6.

Quezado M, Benjamin DR, Tsokos M. *EWS/FLI-1 fusion transcripts in three peripheral primitive neuroectodermal tumors of the kidney.* **Hum Pathol.** 1997;28(7):767-71.

Ramasamy A, Raj MR, Radhakrishna RP, Veeramani TS, Chinniah SM. *Askin's Tumour in an Adult, with a Varied Clinical Presentation.* **J Clin Diagn Res.** 2013;7(2):383-5.

Rodriguez-Galindo C, Poquette CA, Marina NM, Head DR, Cain A, Meyer WH, et al. *Hematologic abnormalities and acute myeloid leukemia in children and adolescents*

administered intensified chemotherapy for the Ewing sarcoma family of tumors. J Pediatr Hematol Oncol. 2000;22(4):321-9.

Rodriguez-Galindo C, Liu T, Krasin MJ, Wu J, Billups CA, Daw NC, et al. *Analysis of prognostic factors in ewing sarcoma family of tumors: review of St. Jude Children's Research Hospital studies. Cancer.* 2007;110(2):375-84.

Ross KA, Smyth NA, Murawski CD, Kennedy JG. *The biology of ewing sarcoma. ISRN Oncol.* 2013;2013:759725.

Rud NP, Reiman HM, Pritchard DJ, Frassica FJ, Smithson WA. *Extraosseous Ewing's sarcoma. A study of 42 cases. Cancer.* 1989;64(7):1548-53.

Shamberger RC, Laquaglia MP, Krailo MD, Miser JS, Pritchard DJ, Gebhardt MC, et al. *Ewing sarcoma of the rib: results of an intergroup study with analysis of outcome by timing of resection. J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000;119(6):1154-61.

Shannon Orr W, Denbo JW, Billups CA, Wu J, Navid F, Rao BN, et al. *Analysis of prognostic factors in extraosseous Ewing sarcoma family of tumors: review of St. Jude Children's Research Hospital experience. Ann Surg Oncol.* 2012;19(12):3816-22.

Sharrocks AD. *The ETS-domain transcription factor family. Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001;2(11):827-37.

Siebenrock KA, Nascimento AG, Rock MG. *Comparison of soft tissue Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumor. Clin Orthop Relat Res.* 1996(329):288-99.

Tural D, Molinas Mandel N, Dervisoglu S, Oner Dincbas F, Koca S, Colpan Oksuz D, et al. *Extraskelatal Ewing's sarcoma family of tumors in adults: prognostic factors and clinical outcome. Jpn J Clin Oncol.* 2012;42(5):420-6.

Van Den Berg H, Dirksen U, Ranft A, Jürgens H. *Ewing tumors in infants. Pediatr Blood Cancer.* 2008;50(4):761-4.

Van Maldegem AM, Hogendoorn PC, Hassan AB. *The clinical use of biomarkers as prognostic factors in Ewing sarcoma. Clin Sarcoma Res.* 2012;2(1):7.

Völker T, Denecke T, Steffen I, Misch D, Schönberger S, Plotkin M, et al. *Positron emission tomography for staging of pediatric sarcoma patients: results of a prospective multicenter trial. J Clin Oncol.* 2007;25(34):5435-41.

Widhe B, Widhe T. *Initial symptoms and clinical features in osteosarcoma and Ewing sarcoma. J Bone Joint Surg Am.* 2000;82(5):667-74.

Yaw DM: *Pediatric bone tumors. Semin Surg Oncol.* 1999;16(Pt2):173-183.

Zagar TM, Triche TJ, Kinsella TJ. *Extraosseous Ewing's sarcoma: 25 years later. J Clin Oncol.* 2008;26(26):4230-2.

Anexos

ANEXO 1 – INFORMAÇÕES DO PROTOCOLO SULAMERICANO PARA TRATAMENTO DE PACIENTES COM TFE.

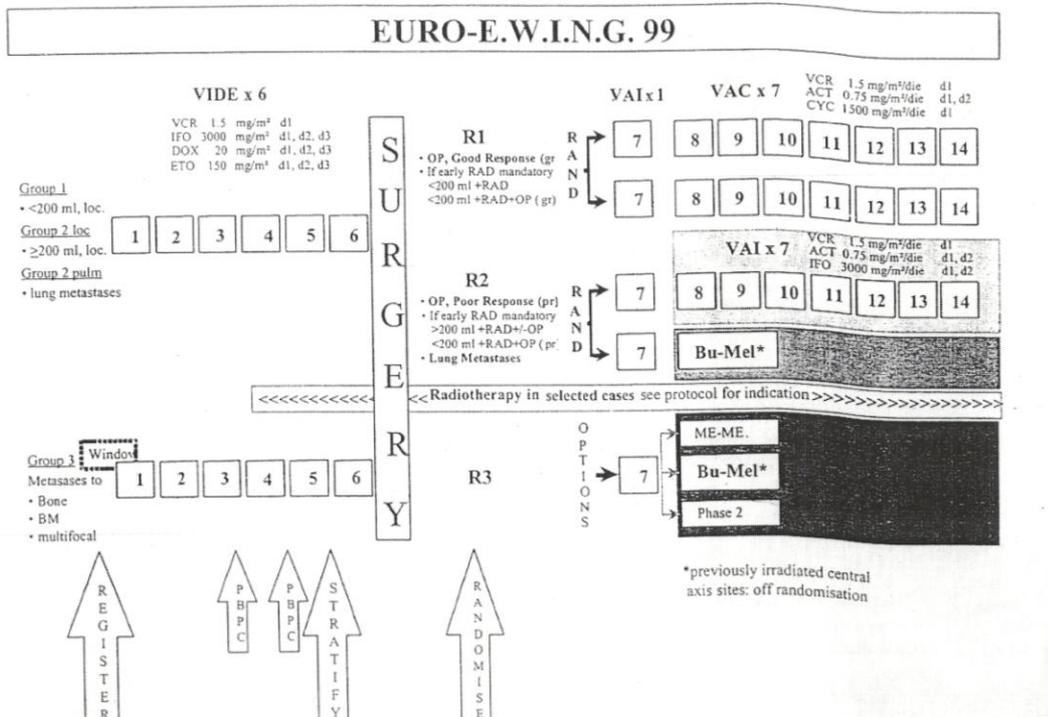
ESTUDO SULAMERICANO PARA O TRATAMENTO DE PACIENTES COM TUMORES DA FAMÍLIA EWING

A seguir se detalham as informações sobre a evolução do protocolo até 3 de julho de 2012.

1. PACIENTES POR INSTITUIÇÃO - Até 3 de julho de 2012

INSTITUIÇÃO	Nº PACIENTES	%
Hospital de Câncer de Barretos – HCB - BRA	12	14,63
Hospital de Pediatria Juan Garrahan - ARG	10	12,19
Hospital de Clínicas de Porto Alegre – HCPA - BRA	9	10,97
Centro Hospitalario Pereira Rossel – URU	8	9,75
Instituto de Oncologia Pediátrica – IOP - BRA	8	9,75
Hospital São Lucas - PUC - RS - BRA	5	6,09
PINDA - Hospital Exequiel González Cortés - CHI	5	6,09
Hospital do Câncer AC Camargo – SP - BRA	4	4,87
Hospital Calvo Mackena - CHI	3	3,65
Instituto do Câncer de Ceara - BRA	3	3,65
Hospital de Clínicas Pediátricas Bolivar Rizzo - GRENDACC	3	3,65
Hospital Amaral Carvalho - Jau - BRA	2	2,43
Hospital da Criança Santo Antonio	2	2,43
Santa Casa Misericórdia de São Paulo - BRA	2	2,43
Hospital de Niños Ricardo Gutierrez - ARG	2	2,43
PINDA - Sótero del Río	1	1,21
PINDA - San Borja Arriarán	1	1,21
Instituto Nacional de Cancer	1	1,21
Hospital Conceição Porto Alegre - RS _ BRA	1	1,21
TOTAL	82	99,85

ANEXO 2- ESQUEMA DE TRATAMIENTO PARA TFE CONFORME PROTOCOLO EURO-EWING.

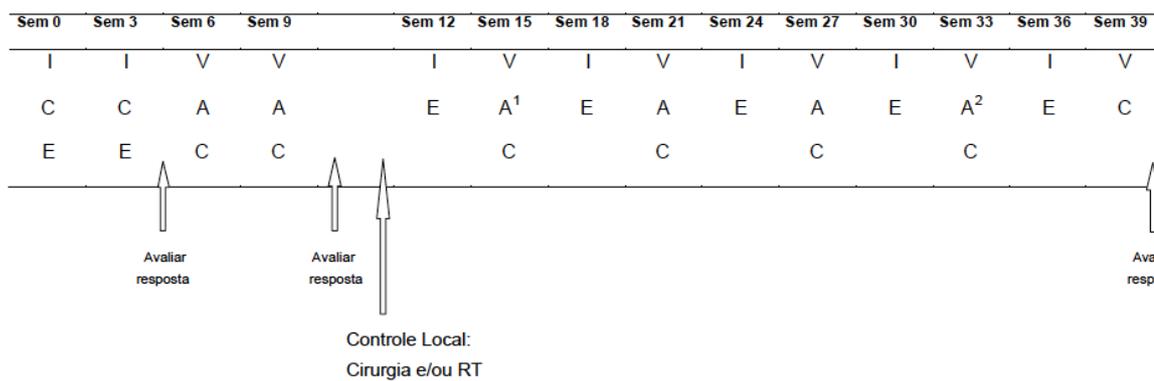


ANEXO 3 - ESQUEMA DE TRATAMENTO PARA TFE BAIXO RISCO CONFORME PROTOCOLO BRASILEIRO.

Esquema de tratamento para os pacientes portadores de tumor da Família Ewing, Grupo de BAIXO RISCO.

Critérios:

- DHL ao diagnóstico $\leq 1.5x$ o limite superior da normalidade, e;
- Tumores ressecáveis de localização não pélvica.



Obs.:

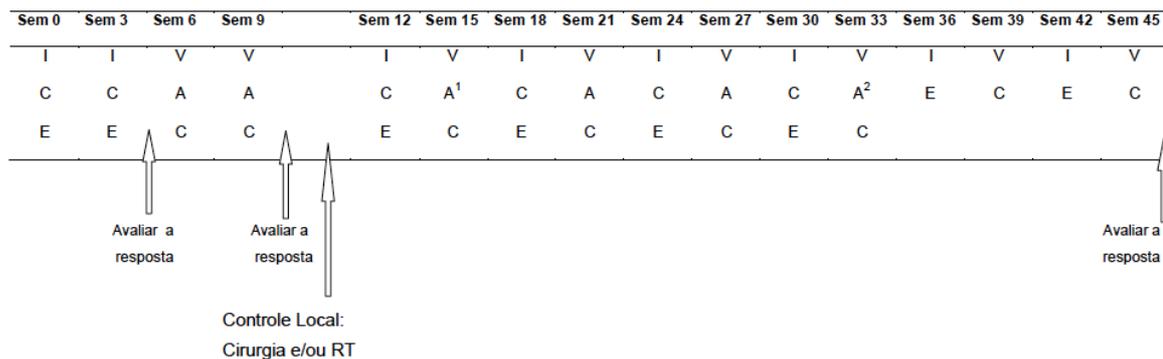
1. Durante a radioterapia omitir adriamicina (doxorubicina). Por exemplo, como a radioterapia geralmente é realizada entre as semana 12 a 15, usar somente vincristina e ciclofosfamida na semana 15; transferindo a dose de adriamicina para semana 39. Se, por alguma razão a radioterapia for realizada em outro período, proceder da mesma maneira, evitando a concomitância da radioterapia com a administração da adriamicina;
2. Usar somente 6 ciclos de adriamicina (dose máxima = 360 mg/m²).

ANEXO 4 - ESQUEMA DE TRATAMENTO PARA TFE ALTO RISCO CONFORME PROTOCOLO BRASILEIRO.

Esquema de tratamento para os pacientes portadores de tumor da Família Ewing, Grupo de ALTO RISCO.

Critérios:

- DHL \geq 1.5x LSN ao diagnóstico, ou;
- Tumores de localização pélvica, ou;
- Tumores irresssecáveis, ou;
- Presença de metástase pulmonar, óssea e/ou medula óssea (MO).



Obs.:

1. Durante a radioterapia omitir adriamicina (doxorubicina). Por exemplo, como a radioterapia geralmente é realizada entre as semanas 12 a 15, usar somente vincristina e ciclofosfamida na semana 15; transferindo a dose de adriamicina para semana 39. Se, por alguma razão a radioterapia for realizada em outro período, proceder da mesma maneira, evitando a concomitância da radioterapia com a administração da adriamicina;
2. Usar somente 6 ciclos de adriamicina (dose máxima = 360 mg/m²).

ANEXO 5 - ESQUEMA DE TRATAMENTO PARA TFE CONFORME PROTOCOLO SULAMERICANO.

Indução

Ciclo 1	2	3	4	5	6	7	
Sem 0	2	4	6	8	10	12	13
V	I	V	I	V	I	V	Aval Resp
D	E	D	E	D	E	D	
C		C		C		C	

Continuação - Tratamento Local: Cirurgia

Tto Local	Ciclo 8	9	10	11	12	13	14
Sem 14	15	18	21	24	27	30	33
Cirurgia	I	V	I	V	I	V	I
	E	D	E	C	E	C	E
		C					
	Tto metronômico: vimblastina 6 mg/m2 ev semanal + Ciclofosfamida 25 mg/m2 VO diária						

Continuação - Tratamento Local: Radioterapia

Tto Local	Ciclo 8	9	10	11	12	13	14
Sem 14	15	18	21	24	27	30	33
	V	I	V	I	V	I	V
	C	E	D	E	C	E	C
RADIOTERAPIA		C		Tto metronômico			

Continuação - Tratamento Local: Cirurgia e Radioterapia

Tto Local	Ciclo 8	9	10	11	12	13	14
Sem 14	15	18	21	24	27	30	33
Cirurgia	I	V	I	V	I	V	I
	E	D	E	C	E	C	E
		C	RADIOTERAPIA				
						Tto Metronômico	

Continuação - Tratamento: Local Radioterapia e Cirurgia

Tto Local	Ciclo 8	9	10	11	12	13	14
Sem 14	15	18	21	24	27	30	33
	V	I	V	I	V	I	V
	C	E	D	E	C	E	C
RADIOTERAPIA		C			Cirurgia pós 27	Tto Metronômico	

Manutenção:
Ciclofosfamida 25 mg/m2/dia VO, vimblastina 6 mg/m2/semana EV durante 104 semanas.

Legenda: V, vincristina, D, doxorubicina, C, ciclofosfamida, I, ifosfamida, E, etoposide

ANEXO 6: FICHA DE CATALOGAÇÃO DE DADOS.

1	Identificação		1
2	Nome		2
3	Registro Hospitalar		3
4	Data de nascimento	DD/MM/AAAA	4
5	Categoria	1- SUS; 2- Convênios; 3- Outros	5
6	Raça	1- Branco; 2- Negro; 3- Pardo; 4- Amarelo; 99- Ignorado	6
7	Naturalidade - Cidade	DESCREVER	7
8	Naturalidade - UF	DESCREVER	8
9	Estado Civil	1- Solteiro; 2- Casado / União estável; 3- Separado; 4- Viúvo; 99- Ignorado	9
10	Atividade profissional	DESCREVER	10
11	Departamento que o atende na nossa instituição	DESCREVER	11
12	Origem do paciente	1- Clínica particular; 2- Rede pública; 3- Por conta própria; 99- Ignorado	12
13	Data do primeiro atendimento em nosso serviço	DD/MM/AAAA	13
14	Data do diagnóstico	DD/MM/AAAA	14
15	Hemograma ao diagnóstico		15
TRATAMENTO ANTES HCB			
16	Biópsia	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	16
17	Diagnóstico inicial	DESCREVER	17
18	Tipo histológico	DESCREVER	18
19	Estadiamento utilizado		19
20	Quimioterapia	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	20
21	Radioterapia	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	21
22	Cirurgia	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	22
TRATAMENTO HCB			
23	Revisão diagnóstica	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	23
24	AP Revisão	DESCREVER	24
25	Modificação diagnóstica	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	25
26	Biópsia	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	26
27	Data em que recebeu o primeiro tratamento	DD/MM/AAAA	27
28	Quimioterapia neoadjuvante	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	28
29	Protocolo quimioterapia neoadjuvante	DESCREVER	29
30	Mudança protocolo quimioterapia neoadjuvante	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	30
31	Motivo da interrupção / Não seguimento no protocolo – Quimioterapia neoadjuvante	1- Crescimento do tumor após indução; 2- Ulceração / Sangramento do tumor; 3- Dor intratável; 4- Outros	31
32	Quimioterapia adjuvante	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	32
33	Protocolo quimioterapia adjuvante	DESCREVER	33
34	Mudança protocolo quimioterapia adjuvante	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	34
35	Motivo da interrupção / Não seguimento no protocolo – Quimioterapia adjuvante	1- Crescimento do tumor após indução; 2- Ulceração / Sangramento do tumor; 3- Dor intratável; 4- Outros	35
36	Radioterapia	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	36

37	Cirurgia	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	37
38	Tipo de Cirurgia	1- Urgente; 2- Eletiva; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	38
39	Tipo de ressecção	1- Com preservação do membro; 2- Sem preservação do membro (amputação); 88- Não se aplica; 99- Ignorado	39
40	Se realizou cirurgia, qual resultado?	1- Completamente ressecado com margens livres; 2- Completamente ressecado com margens comprometidas; 3- Ressecção incompleta	40
41	Reconstrução	1- Biológica; 2- Mecânica; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	41
42	Complicações cirúrgicas	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	42
43	Infecção de ferida operatória	0- Não; 1- Sim, precoce (até 30 dias); 2- Sim, tardia; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	43
44	Eventos tromboembólicos	0- Não; 1- TVP; 2- TEP	44
45	Deiscência de ferida operatória	0- Não; 1- Sim, sem necessidade de reabordagem; 2- Sim, com necessidade de reabordagem; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	45
46	Tipo histológico	DESCREVER	46
47	Estadiamento utilizado		47
48	Metástases	0- Ausentes; 1- Presentes	48
49	Data da metástase	DD/MM/AAAA	49
50	Local da metástase - Pulmão	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	50
51	Local da metástase - Ossos	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	51
52	Local da metástase - Medula Ossea	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	52
53	Local da metástase - SNC	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	53
54	Local da metástase – Outro local	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	54
55	DHL		55
56	Data da última informação / óbito	DD/MM/AAAA	56
57	Status	1- Vivo sem doença; 2- Vivo com doença; 3- Óbito por câncer; 4- Óbito por outra doença	57
58	Perdeu seguimento (tempo do retorno x 2)	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	58
59	Localização	Descrever	59
60	Grau de Necrose	1 – grau IV; 2 – grau III; 3 – grau II; 4 – grau I; 88 – não se aplica; 99 - Ignorado	60
61	Febre ao diagnóstico	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	61
62	Sexo	1 – feminino; 2 - Masculino	62

ANEXO 7: CARTA DE APROVAÇÃO DO CEP

**Comitê de Ética em Pesquisa
CEP**

Para: Valter Penna

De: Dr. Sergio Vicente Serrano
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Data: 17/08/2011

Projeto de Pesquisa: **517/2011**

Prezado (a) Senhor (a),

Vimos, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos analisou em reunião ordinária de 21/07/2011 o projeto de pesquisa **517/2011 “Catalogação dos pacientes com diagnóstico de Sarcoma de EWING tratados no Hospital de Câncer de Barretos”**, decidindo que o mesmo encontra-se: **“Aprovado”**.

Solicitamos que sejam encaminhados ao CEP, relatórios semestrais e final, bem como possíveis emendas e novos termos de consentimento livre e esclarecido, notifique qualquer evento adverso sério ocorrido no centro e novas informações sobre a segurança do estudo a fim de se fazer o devido acompanhamento.

Atenciosamente,

*Dr. Sergio Vicente Serrano
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Barretos*

**ANEXO 8: CARTA DE APROVAÇÃO DO CEP PARA ALTERAÇÃO DO TÍTULO DO ESTUDO,
MUDANÇA DE ORIENTADOR E INCLUSÃO DA ANÁLISE DE IMUNOISTOQUÍMICA**



**Comitê de Ética em Pesquisa
CEP**

Para: Luiz Fernando Lopes

De: Ednise Woyciechowski
Coordenadora Adjunta do Comitê de Ética em Pesquisa

Data: 17/05/2013

Projeto de Pesquisa: **517/2011**

Prezado (a) Senhor (a),

Venho, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos analisou os seguintes documentos do projeto **517/2011** “CATALOGAÇÃO DOS PACIENTES COM DIAGNOSTICO DE SARCOMA DE EWING TRATADOS NO HOSPITAL DE CÂNCER DE BARRETOS”, e:

- Aprovou o Adendo ao Estudo Supracitado, submetido em 10/05/2013;

Atenciosamente,

Ednise Woyciechowski
Coordenadora Adjunta do Comitê de Ética em Pesquisa
Fundação Pio XII - Hospital de Câncer de Barretos

Anexo 9: MABIN

MABIN (Material Biológico / NAP)

FORMULÁRIO DE REQUISIÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO E DE AUXÍLIO DO NÚCLEO DE APOIO AO PESQUISADOR

ATENÇÃO: Não deixe **NENHUM** campo em branco!

Projeto de pesquisa: "Catalogação, análise de sobrevida e expressão de IGFR dos pacientes com diagnóstico dos tumores da família Ewing tratados no Hospital de Câncer de Barretos"

Pesquisador: Adriano Jander Ferreira

FINALIDADE

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> TCC – Graduação | <input checked="" type="checkbox"/> Mestrado |
| <input type="checkbox"/> Iniciação Científica | <input type="checkbox"/> Doutorado |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Pós-graduação (Latu Sensu) | <input type="checkbox"/> Pós-Doutorado |
| <input type="checkbox"/> PDAC | <input type="checkbox"/> UPC – Unidade de Pesquisa Clínica |
| <input type="checkbox"/> Projeto regular | <input type="checkbox"/> Outros: |

- Projeto de pesquisa envolve seres humanos? Não Sim
- Verificou disponibilidade e quantidade de amostra biológica?
(Em caso do uso de amostra criopreservada favor anexar relatório de levantamento de amostras) Não Sim NA
- Coleta prospectiva de material biológico? Não Sim NA
- Encaminhamento de amostra biológica para outra instituição? Não Sim NA

AMOSTRA BIOLÓGICA

- | | | |
|--------------------------------|--|----------------|
| Tecido congelado | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Bloco de parafina | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim | 80 Nº amostras |
| Bloco de TMA | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Lâmina (histopatologia) | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Lâmina (citologia) | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Citologia (base líquida) | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Células (cultura estabelecida) | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº linhagens |
| Células (cultura primária) | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Sangue Total | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Plasma | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Soro | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Medula Óssea | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| BuffCoat | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim | Nº amostras |
| Outros: | | |

SUPORTE AO PROJETO DE PESQUISA (NAP)

- | | |
|--------------------------------|--|
| Discussão do projeto | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Orientação metodológica | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Cálculo do tamanho da amostra | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Confecção de ficha de coleta | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Montagem banco de dados | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Digitização de ficha de coleta | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Consistência do banco de dados | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Análise estatística | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Randomização | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Discussão de resultados | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Outros: | |

COORDENADORIA DE PROJETOS

- | | |
|------------------------------------|--|
| Aplicação TCLE | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Coleta de material biológico | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Gerenciamento de agenda | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Processo regulatório | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Correspondência | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Aplicação de questionário | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Preenchimento de CRF | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Submissão de CRF | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Busca ativa de pacientes (Seleção) | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Outros: | |

PROCESSAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO

- | | |
|-------------------|--|
| Extração de DNA | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Extração de RNA | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Imunohistoquímica | <input type="checkbox"/> Não <input checked="" type="checkbox"/> Sim |
| Confecção de TMA | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| FISH | <input checked="" type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim |
| Outros: | |

MÉTODO

Especifique:

Observações adicionais:

Barretos

Barretos, 18 de janeiro de 2013

Pesquisador Principal

NAP - Coordenadoria

Adriano Jander Ferreira
NAP - Suporte

[Assinatura]
Biobanco*

*Para simples constatação de existência de amostras no banco. A disponibilização das mesmas para o estudo está sujeita a aprovação do projeto junto ao CEP.

