

Sáhlua Miguel Volc

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DA MUTAÇÃO ARG337HIS NO GENE *TP53* EM SARCOMAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos para obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Oncologia

Orientador: Profa. Dra. Edenir Inêz Palmero

Coorientador: Prof. Dr. Sérgio Vicente Serrano

Barretos, SP

2019

	Resumo	
1	Introdução	1-5
2	Caracterização da Síndrome de Li Fraumeni	6-12
3	Patogênese molecular da Síndrome de Li Fraumeni	13-15
3.1	Variante p.Arg337His no gene <i>TP53</i>	16-18
3.2	Hipótese do efeito fundador	18-19
3.3	Aspectos funcionais da mutação p.Arg337His	19-20
4	Sarcomas	21-32
4.1	Aspectos gerais dos sarcomas	21-22
4.2	Epidemiologia dos sarcomas	23-24
4.3	Sarcomas de Partes moles	24-25
4.4	Sarcomas cutâneos	25
4.5	Sarcomas ósseos	25-26
4.6	Subtipos histológicos de sarcomas	26-27
4.7	Estadiamento clínico dos sarcomas	27-28
4.8	Fatores de risco para desenvolvimento de sarcomas	29-31
4.9	Sarcomas e a Síndrome de Li Fraumeni	31-32
5	Marcadores de ancestralidade	32
5.1	Formação étnica da população brasileira	33-36
6	Justificativas	37
7	Objetivos	38
8	Material e métodos	39-44
8.1	Casuística	39-40
8.2	Critérios de inclusão	41
8.3	Critérios de exclusão	41
8.4	Coleta de dados clínicos, histopatológicos e de história familiar	41
8.5	Análises moleculares	42
8.5.1	Extração de DNA tumoral criopreservado	42
8.5.2	Análise da variante p.Arg337His	42-43
8.5.3	Confirmação dos resultados do RFLP	43
8.5.4	Confirmação dos resultados em DNA constitutivo	43

8.6	Perda de heterozigosidade no tecido tumoral	44
8.7	Análise de ancestralidade	44
9	Armazenamento de dados e análise estatística	45
10	Aspectos éticos	46
11	Resultados	47-79
11.1	Dados sociodemográficos	47-49
11.2	Histórico familiar de câncer	50-52
11.3	Subtipos Histológicos e Localização dos Sarcomas	53-54
11.4	Comportamento clínico	55-59
11.5	Análises moleculares	60
11.6	Associação entre a presença da variante p.Arg337His com características clínicas, histopatológicas e de história familiar	61-73
11.7	Ancestralidade	74-77
11.8	Pacientes que preencheram critérios para Síndrome de Li Fraumeni e não eram portadores da variante p.Arg337His	77-78
11.9	Avaliação social dos pacientes estudados	78-79
12	Discussão	80-84
13	Conclusões	85-86
14	Referências	87-94
15	Anexo 1 – Subtipos de sarcomas	95-140
16	Anexo 2 - Ficha de coleta de dados	141-43
17	Anexo 3 - Artigo aceito para publicação	144-60

Lista de Figuras.

Figura 1 - Dr. Li e Dr. Fraumeni em 1995.	Erro! Indicador não definido.
Figura 2 - Dra. Louise C. Strong.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 3 - Figura 3: H. Galvão, D. Malkin, E. Palmero e S. M. Volc Barretos- Brasil, 2013.	Erro! Indicador não definido.
Figura 4 - Dr. Raul Ribeiro.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 5 - Primeira família descrita com SLF.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 6 - Esquema simplificado da estrutura básica do gene TP53.....	14
Figura 7 - Distribuição dos códons germinativos mutados (TP53) no banco de dados do IARC (versão R19).....	15
Figura 8 - Porcentagem de tumores sólidos em crianças e adultos.	23
Figura 9 - Sarcomas de partes moles quanto ao local primário.....	25
Figura 10 - Fluxograma ilustrando as formas de contato que foram realizadas para aplicação do TCLE nos pacientes do HCB incluídos retrospectivamente no estudo	40
Figura 11 - Distribuição etária dos casos avaliados	48
Figura 12 -. Região de nascimento dos pacientes.....	49
Figura 13 - Região de procedência dos pacientes.....	49
Figura 14 - Localização dos tumores dos pacientes avaliados.....	53
Figura 15 - Estadiamento clínico dos 431 pacientes avaliados.....	55
Figura 16 - Presença da variante p.Arg337His.....	60
Figura 17 – Perfil de sequenciamento de sangue periférico e tumoral.....	60
Figura 18 - Presença da variante p.Arg337His por faixa etária.....	61
Figura 19 - Presença da variante p.Arg337His por sexo.	62
Figura 20 - Presença da variante p.Arg337His por faixa etária.....	62
Figura 21 - Subtipos histológicos em relação à variante p.Arg337His.....	63
Figura 22 - Ressecção cirúrgica em relação à variante p.Arg337His.....	72
Figura 23 - Sobrevida cumulativa dos pacientes.....	72
Figura 24 - Sobrevida cumulativa dos pacientes com gene selvagem e gene mutado.....	72
Figura 25 - Sobrevida cumulativa dos pacientes em relação à ressecção cirúrgica.....	73
Figura 26 - Perfil ancestral de todos os pacientes avaliados	74
Figura 27 - Região de nascimento dos pacientes portadores da variante p.Arg337His.....	75
Figura 28 - Região de procedência dos pacientes portadores da variante p.Arg337His.....	76
Figura 29 – Heredograma da família que migrou para Rondônia.....	76

Lista de Tabelas.

Tabela 1 - Critérios diagnósticos para Síndrome de Li Fraumeni	10
Tabela 2 - Neoplasias malignas em parentes próximos referidas nos prontuários.	50
Tabela 3 - Número de famílias que preenchem critérios para SLF..	52
Tabela 4 – Subtipos histológicos de sarcomas.....	54
Tabela 5 – Linhas de quimioterapia administradas.	56
Tabela 6 – Estadiamento clínico dos pacientes em relação à radioterapia	57
Tabela 7 – Episódio de recidivas tumoral e óbitos.....	58
Tabela 8 - Estado atual dos pacientes	59
Tabela 9 - Estado atual dos pacientes em relação à quimioterapia por estadiamento.	59
Tabela 10 - Pacientes mutados que apresentaram segundo tumor.....	63
Tabela 11 - Quantidade de famílias com a variante p.Arg337His que preenchem critérios para SLF/SLF like.....	64
Tabela 12 - Características dos pacientes portadores da variante p.Arg337His.....	65
Tabela 13 - Variante p.Arg337His em relação à radioterapia e ao estadiamento clínico.	69
Tabela 14 - Variante p.Arg337His em relação à quimioterapia e ao estadiamento clínico.....	70
Tabela 15 - Episódios de recidiva tumoral e óbitos nos portadores da variante p.Arg337His.....	71
Tabela 16 - Estado atual do paciente em relação à variante p.Arg337His.....	71
Tabela 17 - Escolaridade em relação à ancestralidade.....	78
Tabela 18 - Escolaridade em relação à variante p.Arg337His.....	79

V911a Volc, Sálhua Miguel.

Avaliação da presença da mutação ARG337HIS no gene *TP53* em sarcomas./ Sálhua Miguel Volc. - Barretos, SP 2019.
160 f. : il.

Orientadora: Dra. Edenir Inêz Palmero.

Coorientador: Dr. Sérgio Vicente Serrano.

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, 2019.

1. Síndrome de Li Fraumeni (SLF).
2. Sarcoma.
3. Mutação Brasileira p.Arg337His.
4. Efeito fundador.
5. Predisposição hereditária ao câncer.
6. Oncogenética. I. Autor. II. Palmero, Edenir Inêz. III. Serrano, Sérgio Vicente. IV. Título.

CDD 616.994

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada por Martins Fideles dos Santos Neto CRB 8/9570

Biblioteca da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

AGRADECIMENTOS

“Tu, porém, segue o teu caminho até ao fim; pois descansarás e, ao fim dos dias, te levantarás para receber a tua herança.” Daniel 12:13.

Agradeço ao único e eterno Deus pelo presente trabalho, pois a Ele pertence toda a honra e toda a glória.

Agradeço aos meus pais e avós, por terem me apoiado na escolha da carreira Médica.

Agradeço ao meu esposo, Dr. Jonas Paulo Volc, pelo amor e suporte nesses 22 anos de união.

E aos nossos filhos, João Lucas, Filipe e Miguel, presentes preciosos de Deus em nossas vidas.

Agradeço a toda equipe do CEPOM, em particular Dra. Edenir Inez Palmero, orientadora desse trabalho. Ao Dr. Rui Reis, que coordena com eficiência esse setor da Fundação Pio XII. Aos funcionários da Biblioteca, do NAP, da Estatística e das secretarias da instituição, que trabalham incansavelmente e com carinho para o melhor da ciência em nosso país.

Um agradecimento final, mas não menos especial, aos pacientes e familiares que concordaram em participar desse estudo, muitos dos quais eu tive o privilégio de conhecer.

RESUMO

Sarcomas são neoplasias mesenquimais que podem acometer qualquer parte do corpo, bem como surgir em qualquer idade. Em relação aos tumores pediátricos, os sarcomas ocupam a terceira colocação em incidência, ficando atrás das neoplasias hematopoiéticas e tumores de sistema nervoso central. Na fase adulta, os sarcomas correspondem a cerca de 1% das neoplasias malignas. O sarcoma faz parte do espectro fenotípico de uma síndrome de predisposição hereditária ao câncer denominada Síndrome de Li Fraumeni, onde 70 a 83% dos pacientes apresentam variantes germinativas patogênicas no gene *TP53*. No Brasil, existe uma variante patogênica específica no gene *TP53*, a variante p.Arg337His, que apresenta alta prevalência se comparada ao restante do mundo. Estudos realizados no Sul do Brasil (Paraná e Rio Grande do Sul) demonstraram prevalência de 0,3% dessa variante na população geral. Cabe, também, destacar o número crescente de estudos que relacionam o prognóstico de determinados tumores com a ancestralidade genética dos indivíduos em questão. Dessa forma, o presente estudo avaliou, de maneira ambiespectiva, a presença e frequência da variante p. Arg337His no gene *TP53* em sarcomas diagnosticados junto ao Hospital de Câncer de Barretos entre 2008 e 2016. De maneira adicional, o perfil ancestral dos participantes do estudo foi determinado, através da utilização de um painel de marcadores moleculares. Por fim, foi feita uma associação entre o perfil molecular com as características histopatológicas, étnicas e clínicas dos pacientes analisados. Para análise de ancestralidade, foi utilizado um painel de 46 AIM-INDELS. A análise da presença da variante p. Arg337His foi feita por PCR-RFLP e confirmada por sequenciamento bidirecional. Independentemente da história familiar, houve 8% de prevalência da variante p. Arg337His em nossa casuística. Verificamos que a faixa etária preferencial dos pacientes com sarcomas e com a variante foi a vida adulta. Nenhum paciente abaixo de 18 anos apresentou a variante p. Arg337His nesse estudo. Dentre os subtipos de sarcomas nos pacientes portadores, o leiomiossarcoma foi o mais encontrado. Como sarcomas em geral, e principalmente o leiomiossarcoma, são doenças cuja principal conduta curativa é a cirurgia precoce, identificarmos populações de risco e protocolos de prevenção são altamente desejáveis. Esperamos que esse trabalho seja um primeiro passo em direção a uma melhor caracterização e conseqüentemente um maior conhecimento sobre a população com diagnóstico de sarcoma, bem como da Síndrome de Li Fraumeni no Brasil.

1.INTRODUÇÃO

Um ponto de interrogação. O histórico da Síndrome de Li Fraumeni.

O ano de 2017 pode ser considerado um marco no terreno da Oncogenética. Nesse ano, Dr. Joseph F. Fraumeni Jr. recebe o título de cientista emérito e se aposenta, após 55 anos de serviços prestados ao setor de Epidemiologia do “National Cancer Institute” (NCI) nos Estados Unidos da América (EUA).

Nascido em 1933, Dr. Fraumeni iniciou sua vida acadêmica em renomadas Universidades americanas, onde sempre se interessou por doenças raras, incluindo o câncer. Em 1962, ao ser admitido no NCI, fez parte de importantes trabalhos na área, como, por exemplo, a definição do tabaco como fator de risco para o câncer de pulmão ¹.

Em uma entrevista concedida à revista *Epidemiology* em 2013, quando questionado sobre quais seriam suas principais realizações profissionais, relata, com carinho, o trabalho em conjunto com Dr. Li, na descrição da Síndrome de Li Fraumeni (SLF) ¹.

Dr. Frederick Pei Li nasceu na China em 1940 e imigrou com a família para os EUA aos sete anos de idade. Faleceu em 2015, aos 75 anos, por complicações da doença de Alzheimer. Por causa dessa doença, ele havia se aposentado do “Dana-Farber Cancer Institute” em 2008, após 30 anos de excepcionais serviços prestados.

Dr. Fraumeni e Dr. Li trabalhavam no setor de Epidemiologia do NCI na década de 1960, quando receberam, para investigação, quatro famílias com diferentes casos de câncer dentre seus membros. Eles se referiam àquela condição como devastadora, visto que acometia crianças e adultos jovens e nada se sabia sobre a causa desse mal. Conforme detalharam o heredograma de cada família, observaram um padrão de herança dominante.

Em 1969, descreveram essas famílias em um artigo denominado “Sarcoma de partes moles, câncer de mama e outras neoplasias. Uma Síndrome familiar?” ². Em uma entrevista concedida ao New York Times em 2015, Dr. Fraumeni relata que Dr. Li insistiu em manter o ponto de interrogação, considerando se tratar ainda de uma hipótese e não de um fato. Esse rigor científico, expresso através de um “ponto de interrogação”, marcou o nascimento da SLF, e esteve sempre presente, não somente no trabalho seminal desses dois desbravadores da ciência, mas nos sucessivos trabalhos que diferentes pesquisadores empreenderam sobre o tema, desde aquela época até os nossos dias.

Ainda no ano de 1969, Dr. Fraumeni e Dr. Li estudaram 418 atestados de óbito de crianças que haviam falecido por rhabdomyosarcoma de 1960 a 1964, bem como 280 prontuários médicos de 17 diferentes hospitais. Com essa força tarefa, identificaram 5 famílias que seguiam o padrão inicialmente descoberto pelos dois. A partir desse ponto, concordaram que se firmara uma nova síndrome de câncer familiar, que viria a receber a designação de Síndrome de Li Fraumeni³.



Figura 1 - Dr. Li e Dr. Fraumeni em 1995.¹

Porém, o ponto de interrogação permaneceu na história da SLF. Agora, não mais questionando a existência de uma entidade patológica, mas sim qual seria sua causa potencial. Dr. Fraumeni relata que, por muitos anos, guardaram material biológico dos pacientes identificados com a síndrome, na esperança de um dia esclarecer a base molecular do que clinicamente haviam descrito¹.

Tanto Dr. Li, quanto Dr. Fraumeni consideravam que fatores genéticos estariam envolvidos com essa síndrome. Entretanto, lembra Dr. Fraumeni na entrevista supracitada ao New York Times, a opinião deles foi recebida com ceticismo, afinal, naquela época, os fatores culpados pelo câncer eram os ambientais, ocupacionais, de dieta e os virais, em detrimento dos fatores genéticos. Foi somente na década de 1980 que a tecnologia necessária para pesquisar a susceptibilidade genética se tornou disponível.

Em 1990, outros pesquisadores, em colaboração com Dr. Li e Dr. Fraumeni, identificaram a base genética por trás dessa síndrome. Entram em cena Dr. Malkin (The Sick Children Hospital, Canadá) e Dra. Louise Strong (M.D. Anderson Cancer Hospital, EUA),

trazendo a confirmação da base genética que os pesquisadores iniciais inferiram, com o encontro de mutações germinativas no gene *TP53* em consecutivas famílias com a SLF ⁴.



Figura 2 - Dra. Louise C. Strong.



Figura 3 - Figura 3: H. Galvão, D. Malkin, E. Palmero e S. M. Volc Barretos- Brasil, 2013 (Arquivo pessoal).

Desde a década de 1990, muitos outros pesquisadores de renome têm dedicado esforços a uma melhor e maior compreensão dessa síndrome. Critérios diagnósticos e protocolos clínicos se seguiram com o tempo, contribuindo com o atendimento prestado aos portadores.

Logo após a descrição de mutações germinativas no gene *TP53*, um outro “ponto de interrogação” em relação a SLF surgiu, mas agora no hemisfério Sul, mais precisamente em nosso país, o Brasil. Para responder a essa nova interrogação, um outro importante

pesquisador grava definitivamente seu nome na história da SLF e na própria história da ciência brasileira, Dr. Raul Ribeiro.



Figura 4 - Dr. Raul Ribeiro.

Como Oncologista pediátrico em Curitiba, Paraná, Dr. Raul Ribeiro recebia um número anormal de crianças com tumores de córtex da adrenal (TCA) para tratamento. Há muitas décadas, sabe-se que esse tumor tem uma incidência maior no Sul do Brasil do que seria esperado. A causa provável mais aceita era o uso indiscriminado de agrotóxicos ⁵.

Dr. Raul Ribeiro, em 1989, atendeu uma família que despertou sua curiosidade científica, segundo seu próprio relato, autorizado pessoalmente a ser colocado nesse texto. Uma senhora trouxe dois filhos com carcinoma de córtex de adrenal para seu consultório, porém, um filho era do primeiro casamento e o outro do segundo. Dr. Raul inferiu que poderia haver alguma condição genética naquela senhora que pudesse conferir maior risco de ter um filho com aquele tipo raro de tumor. Então, em 1990, quando Dr. Malkin descreveu mutações no gene *TP53* na SLF, Dr. Raul levantou a questão: será que esse gene poderia estar mutado naquela família que o intrigara? Afinal, TCA faz parte do espectro de tumores que aparecem na SLF.

Dr. Raul enviou material dessa família para pesquisa dos éxons 2-8 do gene *TP53* no St Jude's Hospital, EUA. O resultado foi negativo, não havia mutações nesses éxons, que foram os alterados no trabalho do Dr. Malkin. Pensando em aumentar sua casuística e descrever que essa não seria a causa do número anormalmente aumentado de TCA no Sul do Brasil, Dr. Raul conseguiu material (sangue) de outras 36 crianças com TCA residentes na mesma região. Mas, desta vez, sequenciou todo o gene *TP53*, e não somente os éxons anteriores. Nesse momento,

descobriu que 35 dos 36 casos enviados apresentavam uma variante germinativa patogênica no éxon 10, ainda não descrita, a variante p.Arg337His, conhecida como R337H ⁶. Desde então, essa variante tem sido exaustivamente estudada e recebeu a alcunha de “brazilian mutation”, tamanha a importância que demonstrou ter em território nacional.

Ainda conforme Dr. Raul, “um médico deve observar cuidadosamente os pacientes e famílias. Deve contestar teorias não provadas. Ler muito e sempre textos de qualidade. Não desistir quando os resultados não forem elucidativos e, é claro, contar com a sorte”

Seguindo as premissas do Dr. Raul, essa pesquisadora encontrou um fenômeno interessante em sua prática clínica na cidade de Florianópolis, Sul do Brasil, no início do século XXI. Existiam muitas crianças com TCA sem história familiar expressiva de câncer, assim como no relato inicial do Dr. Raul Ribeiro, sugerindo haver a variante p.Arg337His também naquela região. Adicionalmente, muitos pacientes com sarcoma fora da infância preenchiam critérios para serem consideradas como tendo SLF, um fato ainda não descrito.

Havia trabalhos demonstrando que a variante p.Arg337His poderia ser encontrada em sarcomas na infância, mas em número reduzido de casos ⁷, gerando a impressão de que essa variante não seria de grande relevância em sarcomas. Entretanto, nenhum trabalho existia relacionando a variante p.Arg337His com sarcoma tanto na faixa pediátrica como adulta.

Esse trabalho é fruto da tentativa de responder a mais uma das várias interrogações que ainda estão pendentes sobre a questão iniciada na década de 1960 por Dr. Li e Dr. Fraumeni: Como se comporta a SLF no que se refere especificamente aos sarcomas não selecionados por história familiar ou idade ao diagnóstico?

2. Caracterização da SLF.

A descrição inicial da SLF ocorreu em 1969, entretanto, seus conceitos, definições e critérios vêm se desenvolvendo com o passar do tempo e com o acúmulo de conhecimento sobre suas bases moleculares e aspectos clínicos.

Interessante notar que o tumor inicialmente descrito como índice da SLF foi o sarcoma. Dr. Li e Dr. Fraumeni receberam uma família para investigação no NCI, onde dois primos de primeiro grau haviam recebido o diagnóstico de rhabdomyosarcoma na infância (Figura 5). Outras três famílias se juntaram a essa primeira para a publicação inicial ^{2,3}.

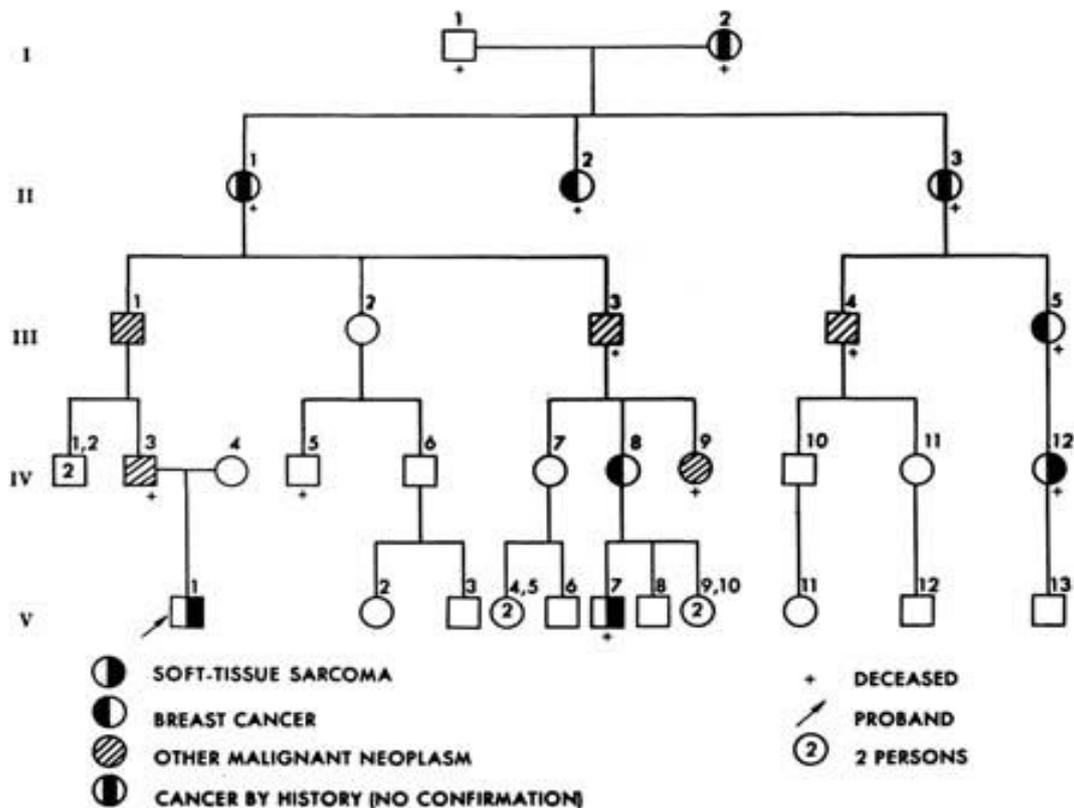


FIGURE 1. Pedigree of Family A.

Figura 5 - Primeira família descrita com SLF.

Foi somente em 1982 que o termo SLF passou a ser usado na literatura especializada, quando médicos do Reino Unido descreveram duas famílias semelhantes àquelas descritas por Dr. Li e Dr. Fraumeni anos atrás ⁸.

Posteriormente, em um artigo de 1988, Dr. Li e Dr. Fraumeni formularam a definição clínica original da síndrome, que é hoje denominada “SLF clássica” (OMIM#151623). Essa definição compreende um probando (caso índice) com sarcoma abaixo de 45 anos, que tenha um parente de primeiro-grau com câncer antes de 45 anos e um outro parente de primeiro ou segundo-grau também com câncer abaixo de 45 anos, ou apenas com sarcoma em qualquer idade⁹.

Esses critérios clássicos foram definidos a partir de 24 famílias identificadas nos registros de câncer do NCI. Perceberam que o tumor índice era mais frequentemente um sarcoma, sendo que desses, 91% dos afetados eram menores que 45 anos. Os sarcomas de partes moles predominavam sobre os ósseos³.

Outro tumor predominante foi o carcinoma de mama, sendo que 78% das pacientes afetadas eram menores de 45 anos também. Encontraram 10 (29%) mulheres com câncer de mama cujos descendentes desenvolveram sarcomas.

Nas famílias onde o caso índice não era um indivíduo com sarcoma ou um carcinoma de mama, os tumores identificados antes dos 45 anos foram casos de tumores de sistema nervoso central (SNC), leucemias e TCA. Em 11 das 24 famílias estudadas, 15 pacientes desenvolveram múltiplos tumores, sendo que em 73% dos casos os tumores estavam dentro do espectro anteriormente encontrado⁹.

Outro pesquisador, Dr. Birch, também observou que a incidência de carcinoma de mama era maior em mães de pacientes com sarcomas na infância¹⁰.

Portanto, baseados nos dados iniciais, os tumores contidos no espectro “clássico” da SLF são: sarcomas, carcinoma de mama, tumores de SNC, leucemias e TCA⁹.

Com o tempo, outras famílias passaram a ser descritas, onde os critérios “clássicos” não eram preenchidos, mas a mutação germinativa no gene *TP53* era encontrada. Dr. Birch, na década de 1990, passou a denominar essa condição como Síndrome Li Fraumeni - like (SLF like), criando outros critérios diagnósticos¹¹.

Para os critérios de Birch, não é necessário que o probando seja portador de sarcoma. Ele pode apresentar qualquer câncer na infância, ou sarcoma, ou tumores SNC, ou TCA abaixo de 45 anos. Sendo obrigatório haver um outro parente de primeiro ou segundo grau com tumor típico da SLF (sarcoma, carcinoma de mama, tumor SNC, leucemia ou TCA) diagnosticado em qualquer idade, e um outro parente de primeiro ou segundo grau com o diagnóstico de qualquer outro câncer abaixo de 60 anos¹¹.

Para criar seus critérios diagnósticos, Dr. Birch estudou 21 famílias. Por essa ocasião, ele observou que em nenhuma das famílias cujo probando era um adulto com sarcoma, ou uma criança com sarcoma de partes moles que não fosse rabdiossarcoma, houve mutações germinativas no gene *TP53* ¹¹.

Ainda na década de 1990, outro autor, Dr. Eeles, descreve critérios diagnósticos que permitiriam uma maior caracterização da SLF / SLF like. Para Eeles, não importava qual o tipo de tumor do probando, bastava que dois parentes de primeiro ou segundo-grau apresentassem qualquer tumor do espectro Li Fraumeni, em qualquer idade, para classificar uma família como tal. Considerava que os tumores do espectro Li Fraumeni seriam: sarcoma, câncer de mama na pré-menopausa, tumor de SNC, leucemias, TCA e carcinoma bronquioloalveolar de pulmão ¹².

Interessante notar que tanto para os critérios clássicos, como para os de Birch, se faz necessário que três indivíduos da mesma família desenvolvam câncer, enquanto para Eeles, bastam dois. Esses critérios, em conjunto, permitiram ampliar o reconhecimento de indivíduos e famílias com a condição SLF / SLF like.

Vários outros tipos de tumores passaram a ser identificados como potenciais participantes da SLF / SLF like, tais como tumores de células germinativas ¹³ e melanoma ¹⁴. Também, foram descritas situações onde uma segunda neoplasia aparecia em pacientes que sobreviveram a um sarcoma na infância e pertenciam a famílias que preenchiam critérios para SLF / SLF like ¹⁵.

Os critérios clínicos passaram a se tornar complexos na década de 1990. Quando Dr. Malkin e colaboradores descreveram a participação do gene *TP53* na SLF, houve um ponto de virada em relação aos critérios diagnósticos, englobando fatores que permitissem uma maior associação entre os dados clínicos e os moleculares.

Em 2001, Dra. Agnes Chompret estudando casos de câncer em crianças (da etnia caucasiana) da pediatria do Instituto Gustave Roussy e casos de câncer de mama em mulheres jovens do Instituto Curie na França, estabeleceu algumas condições que indicariam a realização de teste genético para avaliar o *TP53*, o que passou a ser denominado como critérios de Chompret. Correlacionou os critérios diagnósticos com a presença de mutações germinativas no gene *TP53*. Segundo trabalho publicado naquele ano, com os critérios de Chompret se espera encontrar 20% de mutações no gene *TP53* ¹⁶.

Dra. Chompret ressalta, em seu trabalho inicial, que o probando havia sido encontrado predominantemente na pediatria. Quando fora da pediatria, apenas havia avaliado casos de câncer de mama em mulheres jovens ¹⁶.

Os critérios iniciais de Chompret são:

- 1- Probando afetado por tumores do espectro Li Fraumeni antes dos 36 anos de idade, com pelo menos um parente de primeiro ou segundo-grau afetado por tumor do espectro Li Fraumeni, (exceto câncer de mama se for este o tumor do probando) antes dos 46 anos, ou múltiplos tumores primários.
- 2- Probando com múltiplos tumores primários, dois dos quais pertençam ao espectro Li Fraumeni, sendo que o primeiro tenha ocorrido antes dos 36 anos de idade, independentemente da história familiar.
- 3- Probando com TCA em qualquer idade, independentemente da história familiar.

Grupos de pesquisadores empreenderam esforços para validar os critérios de Chompret, com a intenção de refinar a indicação de teste genético em SLF / SLF like. Em um desses trabalhos, Gonzalez e colaboradores indicaram o valor preditivo do tumor de plexo coroide. Avaliaram 8 pacientes com esse tipo raro de tumor, sendo que todos apresentaram mutações germinativas no *TP53* e idade precoce ao diagnóstico. Porém, nenhum dos casos apresentava história familiar de câncer ¹⁷.

O grupo francês, então, em 2009, resolveu atualizar os critérios de Chompret, considerando como tumores do espectro Li Fraumeni os seguintes: sarcomas, tumores de SNC (particularmente o Carcinoma de plexo coroide), câncer de mama na pré-menopausa, TCA, leucemia e carcinoma bronquioloalveolar de pulmão ¹⁸.

Os critérios de Chompret atualizados em 2009 (conhecidos como critérios de Chompret revisados) são:

- 1- Probando com tumor no espectro Li Fraumeni antes dos 46 anos de idade e, pelo menos, um parente de primeiro ou segundo-grau com tumor também do espectro Li Fraumeni (exceto câncer de mama se o probando já tiver esse tipo de tumor) antes dos 56 anos, ou tumores múltiplos.
- 2- Probando com tumores múltiplos (exceto múltiplos de mama) dois dos quais devem pertencer ao espectro Li Fraumeni, sendo que o primeiro tumor deve ter aparecido antes dos 46 anos.

- 3- Pacientes com TCA ou Carcinoma de plexo coroide, independentemente da história familiar.

Recentemente, outros tumores demonstraram alta associação com mutações germinativas no gene *TP53*. Dentre eles temos o rhabdomiossarcoma anaplásico ¹⁹, a leucemia linfóide aguda hipodiploide ²⁰ e o câncer de mama em mulheres muito jovens (abaixo de 30 anos) ²¹.

A tabela 1 apresenta um compilado dos critérios clínicos disponíveis para identificação de famílias SLF / SLF like.

Tabela 1 - Critérios diagnósticos para SLF.

Critério	
Clássico ²	<p>Probando (caso índice) com sarcoma abaixo de 45 anos, que tenha um parente de primeiro-grau com câncer antes de 45 anos e um outro parente de primeiro ou segundo-grau também com câncer abaixo de 45 anos, ou apenas com sarcoma em qualquer idade.</p>
Birch ¹⁰	<p>O probando pode apresentar qualquer câncer na infância, ou sarcoma, ou tumores SNC, ou TCA abaixo de 45 anos. Sendo obrigatório haver um outro parente de primeiro ou segundo grau com tumor típico da SLF (sarcoma, carcinoma de mama, tumor SNC, leucemia ou TCA) diagnosticado em qualquer idade, e um outro parente de</p>

	<p>primeiro ou segundo grau com o diagnóstico de qualquer outro câncer abaixo de 60 anos.</p>
Eeles ¹²	<p>Probando com dois parentes de primeiro ou segundo-grau com qualquer tumor do espectro Li Fraumeni, em qualquer idade. Tumores do espectro Li Fraumeni seriam: sarcoma, câncer de mama na pré-menopausa, tumor SNC, leucemias, TCA e carcinoma bronquioloalveolar de pulmão.</p>
Chompret ¹⁶	<ul style="list-style-type: none">◦ Probando afetado por tumores do espectro Li Fraumeni antes dos 36 anos de idade, com pelo menos um parente de primeiro ou segundo-grau afetado por tumor do espectro Li Fraumeni, (exceto câncer de mama se for este o tumor do probando) antes dos 46 anos, ou múltiplos tumores primários◦ Probando com múltiplos tumores primários, dois dos quais pertençam ao espectro Li Fraumeni, sendo que o primeiro tenha ocorrido antes dos 36 anos de idade, independentemente da história familiar.◦ Probando com TCA em qualquer idade, independentemente da história familiar.

Chompret modificado ¹⁶

- Probando com tumor no espectro Li Fraumeni antes dos 46 anos de idade E, pelo menos, um parente de primeiro ou segundo-grau com tumor também do espectro Li Fraumeni (exceto câncer de mama se o probando já tiver esse tipo de tumor) antes dos 56 anos, ou tumores múltiplos.
 - Probando com tumores múltiplos (exceto múltiplos de mama) dois dos quais devem pertencer ao espectro Li Fraumeni, sendo que o primeiro tumor deve ter aparecido antes dos 46 anos.
 - Pacientes com TCA ou Carcinoma de plexo coroide, independentemente da história familiar.
-

3. PATOGÊNESE MOLECULAR DA SÍNDROME DE LI FRAUMENI.

Em 1987, Dra. Strong avaliou 159 sobreviventes de sarcoma de partes moles na infância e seus familiares para testar a hipótese de que a SLF teria uma etiologia genética. Observou maior incidência de sarcomas (partes moles e ósseos) e câncer de mama, bem como de segunda neoplasia nos sobreviventes, em relação à população geral. A idade preferencial de aparecimento dos tumores foi abaixo dos 35 anos. Trabalhando com análise de segregação, Dra. Strong demonstrou que a distribuição de casos de câncer nessas famílias seguia um modelo autossômico dominante ¹⁵.

A classe de genes mais associada com tumores familiares era a dos supressores de tumor. O gene do retinoblastoma foi o primeiro gene supressor tumoral a ser identificado, porém, as características clínicas dessas famílias não eram compatíveis com a SLF. Portanto, esse gene não seria o melhor candidato a ser pesquisado ²². À época, o segundo gene supressor de tumor identificado havia sido o *TP53*, localizado no braço curto do cromossomo 17 (17p13) ²³. Como alterações somáticas nesse gene já haviam sido descritas em osteossarcoma, tumores cerebrais, leucemias, carcinoma de pulmão e mama, pareceu ser o melhor candidato a ser testado do ponto de vista germinativo, o que se mostrou um raciocínio correto ⁴.

Camundongos transgênicos com mutações germinativas no gene *TP53* apresentavam alta incidência de osteossarcoma, sarcomas de partes moles, adenocarcinoma de pulmão e de adrenal, bem como neoplasias linfoides, pavimentando o caminho da associação do gene *TP53* com a SLF ²⁴.

Dr. Malkin e Dra. Strong, em 1990, através de reações de polimerase em cadeia (PCR), amplificaram os éxons 5 a 8 do gene *TP53* de pacientes de famílias com SLF, exatamente a localização das mutações mais frequentemente encontradas em tumores esporádicos. Encontraram, então, variantes germinativas patogênicas nas posições 245, 248, 252 e 258 em fibroblastos e em leucócitos desses indivíduos. Portanto, as variantes encontradas também eram germinativas e não somente somáticas (tumoriais). Foram avaliadas 5 famílias, sendo que as mutações germinativas estavam presentes nos pacientes e também em alguns familiares assintomáticos ⁴.

A partir de então, a SLF passou a ser associada com variantes germinativas patogênicas no gene *TP53*.

O gene *TP53* tem sua estrutura básica dividida em domínios, sendo o principal denominado “domínio de ligação do DNA”, contendo os resíduos de 100 a 300 (figura 6). A maioria das variantes patogênicas encontradas até o presente momento se encontram nesse domínio ²⁵.

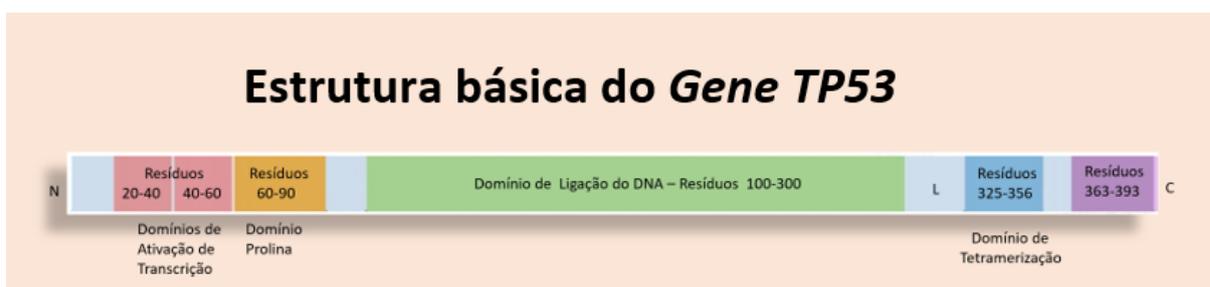


Figura 6 - Esquema simplificado da estrutura básica do gene *TP53*. (Arte de autoria de Miguel Volc.)

O domínio inicial (aminoácidos 1 a 60), ou amino-terminal, é o domínio de transativação, no qual se encontra o sítio de ligação à proteína MDM2 (*murine double minute 2*), um regulador negativo da atividade supressora do gene *TP53*. É seguido por um domínio rico em resíduos de prolina (aminoácidos 60 a 90) e pela região central da p53 (aminoácidos 100 a 300), que abriga o domínio de ligação ao DNA. Este domínio de ligação ao DNA é alvo de mais de 90% das mutações somáticas e germinativas encontradas. O domínio de oligomerização (aminoácidos 325 a 356) é fundamental na configuração espacial da proteína p53, responsável pela multimerização da proteína, que se unirá em tetrâmeros. O domínio final é o de regulação (aminoácidos 363 a 393).

O gene *TP53* é considerado o “guardião do genoma” devido ao seu papel fundamental no processo de carcinogênese através da regulação do ciclo celular e indução da apoptose, ou seja, da morte celular programada²³. Indivíduos com variantes germinativas patogênicas no gene *TP53* têm risco aumentado para desenvolver câncer. Estima-se que 73% dos homens e 93% das mulheres portadores de alterações germinativas patogênicas no gene *TP53* desenvolverão câncer durante o curso de suas vidas²⁶.

Algumas variantes do gene *TP53* levam à proteínas que preservam parcialmente as propriedades funcionais da proteína p53 e por isso são chamadas de baixa penetrância ¹¹. O

impacto que variantes de baixa penetrância têm na predisposição ao câncer, bem como o perfil familiar de câncer ainda não foram determinados com clareza.

Embora a grande maioria das alterações germinativas patogênicas do gene *TP53* estejam concentradas nos éxons 5 a 8, região que corresponde, na proteína, ao domínio de ligação ao DNA, existe uma alteração específica, localizada no éxon 10 do gene (domínio de tetramerização da proteína) que apresenta uma alta prevalência, conforme pode ser observado no banco de dados sobre *TP53* criado e mantido pelo IARC (*International Agency for Research on Cancer*) em Lyon, França. O IARC é uma agência intergovernamental que faz parte da Organização Mundial de Saúde das Nações Unidas. No banco de dados específico para o gene *TP53*, conforme demonstrado na figura 7, a variante germinativa patogênica mais frequentemente encontrada está fora do domínio de ligação do DNA, exatamente a mutação p.Arg337His²⁷.

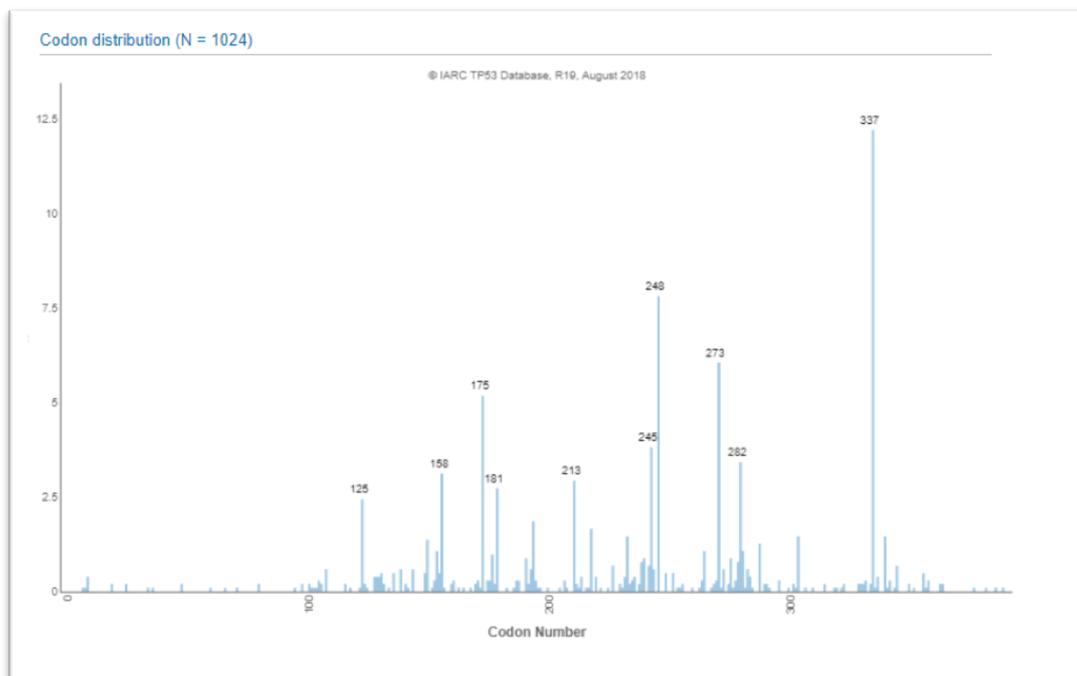


Figura 7 - Distribuição dos códons germinativos mutados (*TP53*) no banco de dados do IARC (versão R19).

3.1. Variante p.Arg337His no gene *TP53*.

No Brasil, uma variante germinativa no éxon 10 do gene *TP53* (situado na região correspondente ao domínio de oligomerização da proteína), mais precisamente na posição 337 (c.1010G>A, p.Arg337His), vem sendo descrita em várias famílias aparentemente não-relacionadas. A mutação foi primeiramente identificada em crianças com TCA na região de Curitiba, Paraná. Conforme descrito por Ribeiro e colaboradores, não havia qualquer relato de outros tipos de câncer nas 35 famílias das crianças identificadas com a variante p.Arg337His, sugerindo que essa variante fosse tumor-específica, isto é, estivesse relacionada com um aumento no risco de TCA, sem aumento de risco para outros tumores relacionados a SLF / SLF like ⁶.

Posteriormente, em estudo realizado por Achatz e colaboradores, 45 famílias brasileiras (das regiões Sul e Sudeste do Brasil) com critérios clínicos para SLF *like* foram testadas para a presença de variantes germinativas no gene *TP53* e, destas, 6 (13,3%) apresentavam a mutação descrita por Ribeiro, porém, diferentemente das famílias analisadas pelo grupo de Curitiba, nas famílias descritas por Achatz, o espectro tumoral referido era variado, com famílias com e sem a presença de TCA ²⁸.

Trabalho realizado por Assumpção e colaboradores analisou 123 mulheres da região Sudeste do Brasil com história pessoal de câncer de mama (45 com história familiar positiva para câncer de mama e 78 com câncer de mama esporádico), além de um grupo controle constituído por 223 mulheres sem câncer. O grupo identificou a variante p.Arg337His na linhagem germinativa de 3 das 123 (2,4%) pacientes afetadas por câncer de mama. Nenhuma das mulheres do grupo controle apresentava a variante em questão²⁹.

Estima-se que variantes germinativas patogênicas em *TP53* ocorram em aproximadamente 0,25% das mulheres com câncer de mama. Dessa forma, a frequência de 2,4% detectada por Assumpção e colaboradores representa um aumento de aproximadamente 10 vezes na frequência de variantes germinativas no gene *TP53* em mulheres com câncer de mama da região Sudeste do Brasil ³⁰. É interessante observar que em câncer de mama a variante p.Arg337His apresentava perda do alelo mutante e retenção do selvagem (*wild-type*), contrastando com os resultados encontrados no TCA, onde ocorre a perda do alelo selvagem e a retenção do alelo mutado, sugerindo, dessa forma, que os

mecanismos de carcinogênese atuando nesses dois tumores possam ser distintos, apesar de ambos apresentarem a mesma variante germinativa no gene *TP53* ³¹.

Estudo caso-controle publicado por Gomes e colaboradores analisou 390 casos com câncer de mama (não selecionados para história familiar positiva de câncer) e identificou 2 casos com a variante p.Arg337His (frequência de 0,5%). Nenhum dos 324 controles apresentou a variante ³⁰. Os autores mencionam que a frequência detectada no estudo é inferior à relatada por outros grupos que incluíram mulheres provenientes do Rio de Janeiro, São Paulo (capital) e Porto Alegre ²⁸.

No entanto, nenhum dos estudos avaliou a frequência da variante por cidade de procedência dos indivíduos afetados. Os autores ainda citam que apesar das similaridades das regiões geográficas nas quais a variante vem sendo detectada, os estudos em questão também diferem bastante quanto aos critérios de inclusão utilizados nos respectivos trabalhos, o que pode explicar, pelo menos em parte, as diferenças de frequências detectadas.

Análises do padrão de desenvolvimento tumoral das famílias portadoras da variante p.Arg337His sugerem uma grande variabilidade no espectro tumoral apresentado, com algumas famílias com o espectro típico de SLF, outras com características intermediárias (fenótipo SLF like) e outras com alguns casos isolados (famílias que apresentam apenas casos de TCA, famílias que apresentam apenas casos de câncer de mama em idade inferior a 50 anos), sugerindo fortemente que a mutação contribua para um amplo espectro de tumores e não apenas para o TCA como sugerido inicialmente, porém dificultando muito o processo de aconselhamento genético para as famílias identificadas com essa variante. Recentemente, pesquisadores identificaram, em portadores de variantes patogênicas germinativas do gene *TP53*, a ocorrência de moduladores de fenótipo (alelo *MIR605 rs2043556*) que estão fortemente associados ao aparecimento de múltiplos tumores primários nos indivíduos acometidos, indicando que outros fatores corroboram para a expressão fenotípica da síndrome ³².

Além disso, a variante p.Arg337His parece ser particularmente frequente na população das regiões Sul e Sudeste do Brasil. Estudo realizado por Palmero e colaboradores indicou que a frequência populacional da variante p.Arg337His na região Sul do Brasil é de 0,3%. Os pesquisadores analisaram a frequência da mutação em um grupo de 750 mulheres assintomáticas, com idade entre 40 e 69 anos, que realizavam rastreamento mamográfico e a mesma foi detectada em 2 das 750 participantes (frequência alélica de 0,0015) ³³.

Esse dado de frequência populacional é corroborado por uma estimativa recente feita em recém-nascidos do estado do Paraná, região Sul do Brasil, que também aponta para uma frequência populacional da mutação p.Arg337His de 0,3%³¹.

A frequência estimada para variantes germinativas patogênicas no gene *TP53* em famílias SLF / SLF like na população em geral é de 1:5.000 a 1:10.000. Dessa forma, considerando a frequência descrita para a variante p.Arg337His por alguns dos estudos realizados, haveria um grande aumento na frequência da variante p.Arg337His nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, gerando questionamento sobre uma possível origem comum para a variante em questão³⁴.

3.2. Hipótese do efeito fundador da variante p.Arg337His.

Considerando a elevada frequência da variante p.Arg337His nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, a presença de um efeito fundador foi investigada por vários pesquisadores. Inicialmente, Ribeiro e colaboradores baseados em uma análise de 4 *loci* hipervariáveis no braço curto do cromossomo 17, descartaram a possibilidade de uma origem comum para a variante⁶.

Posteriormente, Pinto e colaboradores, em uma estudo caso-controle que analisou 2 *loci* intragênicos hipervariáveis de *TP53*, sugeriram que um efeito fundador era estatisticamente provável³⁴.

Como uma confirmação da hipótese do efeito fundador associado à ocorrência da variante p.Arg337His nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, Garritano e colaboradores utilizaram um painel de 29 *Tag* SNPs e demonstraram que todos os portadores da variante p.Arg337His analisados possuíam o mesmo haplótipo, e que a variante estava segregando no mesmo alelo³⁵. Ainda, conforme os autores, a probabilidade de que esta variante tenha surgido de forma independente em todos os casos analisados é de $3,1 \times 10^{-9}$, comprovando, desta forma, a presença do efeito fundador e provendo um raro exemplo de persistência de uma variante patogênica em uma população miscigenada como a população brasileira. É interessante destacar que, fora do Brasil, essa variante foi descrita apenas em uma família de origem portuguesa, até o momento. Análise do haplótipo da família portuguesa revelou que esta apresenta o mesmo haplótipo raro encontrado nas famílias analisadas pelo grupo de Garritano e col³⁵.

Embora a história dessa família portuguesa seja desconhecida, os autores especulam que a variante p.Arg337His teria surgido há muitos anos e que teria como origem uma mutação fundadora portuguesa. Essa mutação teria “se espalhado” pelas regiões Sul e Sudeste do Brasil, exatamente o mesmo trajeto utilizado pelos tropeiros portugueses nos séculos XVIII e XIX, que desciam da região de São Paulo até Porto Alegre, no intuito de vender suas mercadorias, buscar gado no Sul do Brasil e trazê-los para a região de São Paulo. Sabe-se que ao longo da rota percorrida pelos tropeiros, vários povoados e cidades foram surgindo, e que os tropeiros estão entre os fundadores de várias delas. Dessa forma, fatores históricos e demográficos teriam auxiliado na disseminação da mutação e explicariam a alta frequência da alteração nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Ainda, segundo os autores, a persistência dessa mutação ao longo de vários séculos pode ser, em parte, explicada pelas suas peculiaridades bioquímicas³⁵.

3.3. Aspectos funcionais da variante p.Arg337His.

Estudos biofísicos e bioquímicos realizados demonstram que a substituição da Arginina (R) pelo aminoácido Histidina (H) na posição 337 desestabiliza a oligomerização do tetrâmero p53. A substituição da Arginina por Histidina na posição 337 na proteína mutada apresenta como consequências estruturais a perda de 3 ligações de pontes de hidrogênio (com Glutamina 349, Asparagina 352 e Asparagina 345) e, além disso, impacta profundamente a superfície hidrofóbica responsável pela estabilidade da estrutura³⁶.

Conforme hipótese sugerida por DiGiammarino e colaboradores³⁶, esse defeito na capacidade de formar o tetrâmero dependeria do pH intracelular. O aminoácido Arginina, na posição 337 de um monômero, forma uma ponte de Hidrogênio com o Ácido Aspártico de outro monômero estabilizando dessa forma a dimerização (que é um pré-requisito para a tetramerização – forma ativa). A substituição da Arginina pela Histidina (a qual apresenta menor pKa) possibilita que a ponte de Hidrogênio seja mantida em condições de pH neutro (pH 7.0), levando à proteína a adotar um comportamento “*wild type*”, ou seja, a proteína retém suas propriedades de supressora tumoral, na maioria dos ensaios funcionais realizados nessas condições. No entanto, se elevarmos o pH para 8.0, a Histidina se torna desprotonada, impedindo a formação de ponte de Hidrogênio e, conseqüentemente impossibilitando a dimerização e posterior tetramerização da proteína. Esse mecanismo de dependência de pH

pode ser uma das explicações para compreender a penetrância incompleta e a heterogeneidade de tumores associada à presença da variante p.Arg337His, já que a proteína poderia ser capaz de desempenhar suas funções corretamente em muitas situações fisiológicas. Por outro lado, a mesma proteína se tornaria inativa quando ocorresse alguma alteração fisiológica na célula que tivesse como consequência um aumento do pH intracelular. Um dos exemplos envolvendo variações no pH e o desenvolvimento do câncer proposto por alguns autores se refere ao aumento do pH que ocorre durante a apoptose, o que inativaria o p53 e contribuiria para a progressão tumoral, já que o p53 estaria inativo e não poderia desta forma desempenhar suas funções de “guardião do genoma”. Ainda segundo os autores, essa hipótese seria particularmente relevante para órgãos onde a apoptose desempenha uma função importante no remodelamento celular, como na glândula adrenal de recém-nascidos e na glândula mamária de jovens adultos. No entanto, ainda faltam dados experimentais que confirmem essa hipótese, explicando, por exemplo, por que isso não ocorreria em outros órgãos que também sofrem grande remodelação perinatal, como o timo, e que provem que o pH é realmente o fator crucial para a inativação da proteína gerada a partir da variante p.Arg337His³⁶.

Dessa forma, pelo modelo proposto por DiGiammarino e colaboradores, todos os processos celulares que levam a proteína p53 a adotar um comportamento dúbio (mutante versus selvagem), seriam conduzidos unicamente por mudanças de pH.

Estudos identificaram que danos oxidativos ocorrem em portadores da variante germinativa p.Arg337His e podem contribuir com os mecanismos de carcinogênese³⁷. Ainda, quais outros fatores estariam influenciando esse comportamento condicional, são questionamentos que não foram totalmente esclarecidos. Sendo assim, o desenvolvimento de ensaios funcionais que determinem a presença e intensidade da ativação de p.Arg337His após a célula ter sido submetida a diferentes formas de estresse e que elucidem em quais condições a proteína está na sua conformação ativa ou inativa são extremamente necessários³⁶.

4. SARCOMAS

4.1. Aspectos Gerais dos sarcomas

O termo sarcoma tem suas raízes na língua grega, onde “*sarkos*” significa “carne” e “*oma*” significa “tumor”. Por definição, sarcomas são neoplasias mesenquimais, ou seja, são derivadas do folheto mesenquimal embrionário, ou mesoderma. Com o crescimento do embrião, esse folheto dará origem a diferentes tecidos, dentre eles estão o tecido conectivo, os vasos sanguíneos, os ossos e os músculos. Portanto, essas neoplasias podem se desenvolver em qualquer região do organismo, desde o tronco e abdome, até a região de cabeça e pescoço, bem como nas extremidades³⁸.

Os tumores mesenquimais benignos superam, em muito, a incidência dos malignos. Cerca de 30% dos tumores benignos são lipomas, 30% são fibrohistiocitomas, 10% são de origem vascular e 5% de bainha neural³⁹.

Os tumores benignos são aqueles que não têm características de disseminação. Em contrapartida, os malignos são aqueles que têm o poder de disseminar a órgãos como pulmões, por exemplo⁴⁰.

Entre os dois comportamentos extremos, existem os tumores que não costumam disseminar, mas que apresentam um comportamento localmente agressivo, tornando o termo benigno inadequado à sua descrição. Para estes últimos, usamos o termo intermediário, ou “*borderline*”, cunhado da língua inglesa³⁹.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica os tumores de origem mesenquimal em grandes grupos: sarcomas de partes moles (que inclui os casos cutâneos) e sarcomas ósseos, cada qual com vários subtipos. Outra divisão é feita com base no grau de malignidade histológica: baixo, intermediário ou alto grau³⁹.

O grau de malignidade é um dos mais importantes fatores prognósticos. Em 1977, Russel propôs o primeiro sistema de graduação histológica para os sarcomas de partes moles, baseado em 4 diferentes estágios, que representou o ponto de partida nesse tema⁴¹.

Os sistemas de graduação mais utilizados atualmente para os sarcomas de partes moles são o sistema francês FNCLCC (*Federation Nationale des Centers de Lutte Contre le Cancer*) e o do NCI (*National Cancer Institute*). Ambos apresentam três estágios de malignidade⁴².

O sistema NCI se baseia no tipo e subtipo histológico, localização e quantidade de necrose tumoral. Entretanto, a quantificação da celularidade e do pleomorfismo nuclear são considerados para apenas alguns tipos tumorais, o que compromete a objetividade da classificação, tornando-a mais trabalhosa. O sistema francês FNCLCC apresenta fácil aplicação, sendo mais utilizado que o sistema anterior. Trata-se de um sistema de pontuação que avalia três itens específicos: a diferenciação tumoral, a contagem de mitoses presente em 10 campos no aumento de 400 vezes e a necrose tumoral. Dependendo da pontuação alcançada, o grau histológico será definido como grau 1 (2 -3 pontos), grau 2 (4-5 pontos) ou grau 3 (6-8 pontos)⁴³.

De maneira semelhante, os sarcomas ósseos também são graduados conforme a agressividade histológica, em de baixo (G1) e alto grau (G2) de malignidade. Importante ressaltar que o Sarcoma de Ewing é sempre considerado de alto grau⁴³.

O sistema de estadiamento da Sociedade Americana Muscoesquelética (MSTS) ou sistema Enneking ⁴⁴ está baseado no grau histológico, na extensão do tumor e na presença de metástases.

A extensão do tumor é classificada como intracompartimental (T1), quando está limitada ao osso e extracompartimental (T2), quando atinge estruturas adjacentes. Em relação às metástases, M0 são os casos não metastáticos e M1 os metastáticos.

Os estádios I e II são divididos em A (intracompartimentais) e B (extracompartimentais).

- I: G1, T1/T2, M0
- II: G2, T1/T2, M0
- III: G1/G2, T1/T2, M1

4.2. Epidemiologia dos sarcomas.

Sarcomas correspondem a cerca de 20% dos tumores sólidos na faixa pediátrica e a 1% na faixa adulta em todo o mundo, conforme exemplifica a figura 8 ⁴².

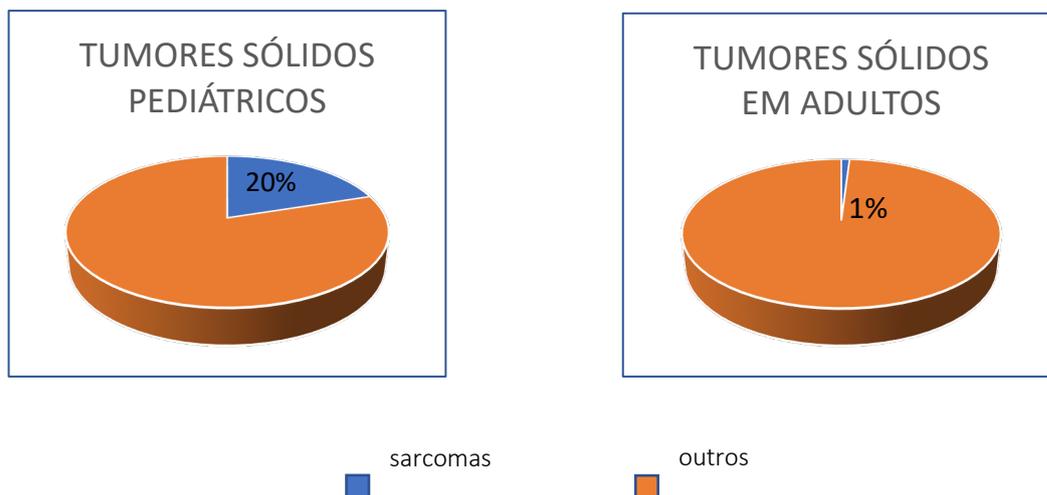


Figura 8 - Porcentagem de tumores sólidos em crianças e adultos.

A raridade desses tumores, bem como a diversidade de subtipos fazem com que sarcoma seja um tema de difícil abordagem epidemiológica. A incidência mundial dos sarcomas está em torno de 5 casos para cada 1.000.000 de pessoas ⁴².

Para 2019, há uma projeção de 12.750 casos novos de sarcomas de partes moles e 3.500 de sarcomas ósseos para a população norte-americana, dados oriundos do “*Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*” (SEER) dos Estados Unidos da América. O mesmo instituto, ainda, projetou cerca de 5.270 mortes para sarcomas de partes moles e 1.660 para os casos ósseos no mesmo ano ⁴⁵.

Ainda nesse mesmo país, dados epidemiológicos (SEER) descrevem que dentre os sarcomas, 87% são de partes moles, contra 13% ósseos. Os subtipos histológicos mais comuns são: leiomiossarcoma, sarcoma de Kaposi, fibrohistiocitoma maligno, lipossarcoma e fibrossarcoma ⁴². Não há dados compilados sobre sarcomas em território brasileiro até o momento.

Embora raros, os sarcomas apresentam comportamento muito agressivo em geral, o que lhes confere uma alta mortalidade. Como acometem uma parcela significativa de adolescentes e adultos jovens, geram alto prejuízo em anos potenciais de vida ⁴⁶.

Mesmo os sarcomas sendo mais frequentes na infância do que na vida adulta, como a incidência do câncer é diretamente proporcional à idade, em números absolutos, teremos mais adultos com sarcomas que crianças. Segundo SEER, em 2019, existe para sarcomas ósseos dois picos de incidência, o primeiro dos 15 aos 19 anos e o segundo dos 80 aos 84 anos, enquanto para sarcomas de partes moles, a incidência é diretamente proporcional à idade⁴⁵.

4.3. Sarcomas de partes moles.

A incidência de sarcomas de partes moles é de aproximadamente 3,4 para 100.000 habitantes segundo o SEER, porém, considera-se que esse levantamento pode estar subestimado, visto que alguns sarcomas viscerais são contados como parte do órgão de origem e não como sarcomas especificamente. A média das idades fica em torno de 59 anos⁴⁷.

Podem surgir em qualquer local do organismo, entretanto, aparecem predominantemente nas extremidades, conforme demonstra a figura 9. De todos os sarcomas de partes moles, 12% são de membros superiores e 28% são de membros inferiores, sendo que a coxa responde por 44% destes últimos. O subtipo histológico mais comum nas extremidades é o lipossarcoma⁴⁸.

Sarcomas de partes moles viscerais correspondem a 22% de todo o grupo, sendo que a maioria destes é formada por GISTs (*gastrointestinal stromal tumors*) e leiomiossarcomas uterinos⁴⁹.

Os sarcomas retroperitoneais compreendem 16% do total de sarcomas de partes moles, os de tronco 10% e os de outros sítios, incluindo cabeça e pescoço, correspondem a 12% dos casos⁴⁹.

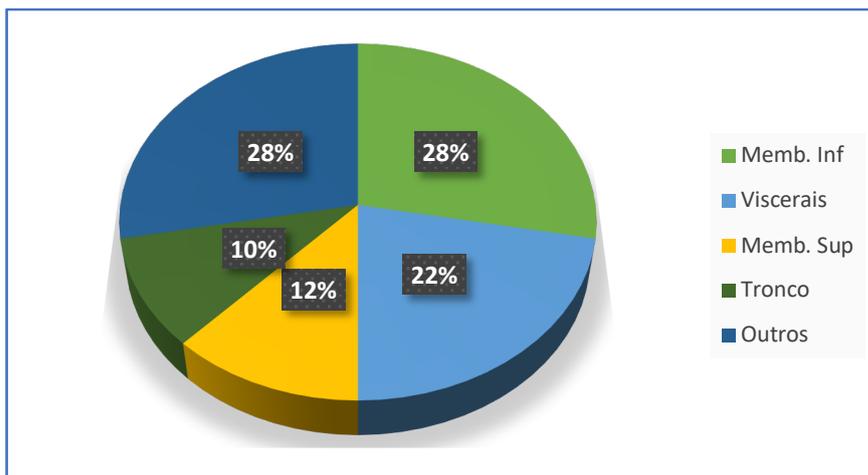


Figura 9 - Sarcomas de partes moles quanto ao local primário.

De uma maneira geral, o subtipo histológico mais frequente é o lipossarcoma (20%), seguido pelo leiomiossarcoma (14%) e o sarcoma pleomórfico indiferenciado (14%), antigamente conhecido pela designação de fibrohistiocitoma maligno ⁴⁷.

4.4. Sarcomas cutâneos.

A incidência de sarcomas cutâneos em geral é de 24 por milhão de pessoas, sendo que o sarcoma de Kaposi corresponde a cerca de 70% destes. O dermatofibrossarcoma protuberans é o segundo mais frequente, sendo responsável por 18% dos casos. Outros subtipos cutâneos mais raros são o leiomiossarcoma, o angiossarcoma e o sarcoma pleomórfico indiferenciado. Podem ser agrupados dentro dos sarcomas de partes moles ⁵⁰.

4.5. Sarcomas ósseos.

Os sarcomas ósseos são ainda menos frequentes que os de partes moles, correspondendo a 0,2% de todos os casos de câncer, afetando predominantemente a população mais jovem ⁴⁷.

O osteossarcoma é o subtipo mais frequente e costuma acometer adolescentes e adultos jovens em sua maioria. O segundo subtipo mais comum é o sarcoma de Ewing, com maior frequência na faixa etária pediátrica e também nos adultos jovens ⁴⁶.

Certos subtipos têm predileção pela população adulta, como é o caso do condrossarcoma, tipicamente diagnosticado dos 30 aos 60 anos e raramente visto na população pediátrica ⁴⁷.

Cordomas são primariamente ósseos, com incidência de 0,5 por 1 milhão de pessoas. Apresentam pico de incidência entre 50 e 60 anos e quase nunca são diagnosticados abaixo dos 40 anos. Podem acometer o sacro, crânio e coluna ³⁹.

4.6. Subtipos histológicos de sarcomas.

Dada a grande diversidade de subtipos histológicos, optou-se por fazer um detalhamento das principais características de cada um dos subtipos histológicos de sarcomas seguindo o preconizado pela última classificação da OMS ⁵¹.

Segundo a Organização Mundial da Saúde⁵¹, os sarcomas são classificados conforme abaixo:

Sarcomas de Partes moles (incluindo pele):

- Adipocíticos
- Fibroblástico/ miofibroblástico
- Fibrohistiocíticos
- Músculo liso
- Perivasculares
- Músculo-esquelético
- Vasculares
- Condro/ósseos
- GIST
- Bainha de nervo periférico
- Diferenciação incerta
- Indiferenciados

Sarcomas ósseos:

- Condrogênicos
- Osteogênicos
- Fibrogênicos
- Fibrohistiocíticos
- Sarcoma de Ewing
- Hematopoiéticos
- Osteoclásticos ricos em células gigantes
- Notocordais
- Vasculares
- Miogênico/lipogênico/epitelial
- Indefinidos
- Indiferenciados

Cada um desses subtipos histológicos está detalhado no anexo 1.

4.7. Estadiamento clínico dos sarcomas.

O sistema de estadiamento atual para os sarcomas é o sistema TNM, da *American Joint Committee on Cancer* (AJCC). O sistema TNM aponta três critérios para avaliar o estágio do câncer: o tumor, os linfonodos regionais ao redor do tumor, e se o tumor se disseminou para outras partes do corpo.⁵¹

TNM é abreviatura de tumor (T), linfonodo (N) e metástase (M):

T - Aponta o tamanho do tumor primário e se disseminou para outras áreas.

T (acompanhado de um número) é usado para indicar o tamanho do tumor primário. Pode ser atribuída uma letra minúscula "a" ou "b" com base na ulceração e taxa mitótica.

T1 - o tumor tem até 5 cm de diâmetro.

T1a - o tumor está localizado próximo a superfície do corpo.

T1b - o tumor está localizado mais profundamente no membro ou abdome.

T2 - o tumor tem mais de 5 cm de diâmetro.

T2a - o tumor está localizado próximo a superfície do corpo.

T2b - o tumor está localizado mais profundamente no membro ou abdome.

N - Descreve se existe disseminação da doença para os linfonodos regionais ou metástases em trânsito.

N0 - Ausência de linfonodo comprometido.

N1 – Linfonodos comprometidos.

M - Aponta se existe presença de metástase em outras partes do corpo.

M0 - Ausência de metástase à distância.

M1 - Metástase à distância.

A gradação histológica é levada em consideração para o estadiamento:

G - Aponta a probabilidade do tumor disseminar.

Grau de diferenciação celular, sendo o FNCLCC o mais utilizado.

GX - O grau não pode ser avaliado.

G1- O grau é 2 ou 3.

G2 - O grau é 4 ou 5.

G3 - O grau é 6 ou mais.

Por fim, podemos agrupar os tumores conforme abaixo:

Estágios do Câncer

Estágio IA - T1, N0, M0, G1 ou GX.

Estágio IB - T2, N0, M0, G1 ou GX.

Estágio IIA - T1, N0, M0, G2 ou G3.

Estágio IIB - T2, N0, M0, G2.

Estágio III - T2, N0, M0, G3 ou Qualquer T, N1, M0, qualquer G.

Estágio IV - Qualquer G, qualquer T, qualquer N, M1.

4.8. Fatores de risco para desenvolvimento de sarcoma.

Vários estudos têm acessado diferentes potenciais fatores de risco para o aparecimento de sarcomas, tais como exposição ocupacional, peso ao nascimento, fatores ambientais, dentre outros. Porém, os resultados são conflitantes e inconclusivos, não nos permitindo uma associação direta na maioria das vezes ³⁸.

4.8.1. Fatores de exposição.

Alguns fatores sabidamente conferem risco para sarcomas, como a exposição à radiação ionizante e os fatores genéticos.

A exposição à radiação ionizante é um fator fortemente associado ao desenvolvimento tanto de sarcomas de partes moles, quanto ósseos ⁵².

O uso de radioterapia terapêutica está associado ao desenvolvimento de sarcomas como segunda neoplasia, especialmente em pacientes com idade inferior a 55 anos⁴⁰. Conforme a dose cumulativa aumenta, também aumenta o risco de desenvolvimento de sarcomas ^{53,54}. Essa preocupação com a radiação é particularmente importante na população pediátrica, que é submetida à radioterapia em idade precoce e, tendo altas taxas de cura e sobrevida, acabam por desenvolver efeitos tardios do uso dessa modalidade terapêutica, inclusive o aparecimento de sarcomas radioinduzidos.

Outra população exposta ao risco de sarcomas radioinduzidos são as mulheres com câncer de mama que foram tratadas com mastectomia e linfadenectomia axilar seguida de radioterapia. Estão muito bem estabelecidos na literatura médica, casos de angiossarcoma secundários em áreas previamente irradiadas nessas pacientes ⁵⁵.

Denomina-se síndrome de Stewart-Treves a associação de angiossarcoma com linfedema crônico, tanto nos casos de mulheres tratadas por câncer de mama, quanto por outras situações que desenvolvam linfedema de maneira crônica, incluindo causas congênitas. Estudos demonstram que radiação proveniente do uso de bombas atômicas também aumentam a ocorrência de sarcomas, particularmente ósseos, mesmo que a dose recebida não tenha sido alta ⁵⁶.

4.8.2. Fatores genéticos.

Dentre os fatores genéticos, existem algumas síndromes de predisposição hereditária ao câncer que aumentam o risco de se desenvolver sarcomas, sendo as mais proeminentes a Neurofibromatose tipo 1 (NF1), a Polipose adenomatosa familiar (FAP), o Retinoblastoma hereditário e a Síndrome de Li Fraumeni (SLF).

A NF1, também conhecida como doença de von Recklinghausen, confere um risco cumulativo durante a vida de 10% para o desenvolvimento de Tumores malignos da bainha de nervo periférico (MPNST). Essa síndrome apresenta padrão de herança autossômico dominante devido à presença de variantes germinativas patogênicas no gene *NF1*, um gene supressor de tumor que participa da via do proto-oncogene Ras. Portanto, quando a ação do gene *NF1* está prejudicada, a atividade do gene Ras está liberada, promovendo o desenvolvimento do tumor ⁵⁷.

A ocorrência da forma hereditária do retinoblastoma é relativamente rara, porém predis põe o indivíduo ao desenvolvimento de uma segunda neoplasia, em particular o osteossarcoma, cujo risco é 500 vezes maior do que o da população em geral. Outros tumores podem aparecer, tais como sarcomas de partes moles, tumores cerebrais, tumores de fossas nasais, melanoma, câncer de pulmão, trato gastrointestinal e bexiga. Essa condição é devida à mutação germinativa no gene *RB1*, um gene supressor de tumor ^{58, 59}.

A polipose adenomatosa familiar (FAP) tem como base genética variantes germinativas no gene *APC* (*adenomatous polyposi coli*), que resultam no desenvolvimento de inúmeros adenomas colorretais, aumentando consideravelmente o risco de carcinoma dessa localização em algum momento. Cerca de 10% desses pacientes apresentam tumores desmoides, que são tumores mesenquimais histologicamente benignos, porém localmente agressivos. Podem aparecer em partes moles ou intra-abdominais principalmente ⁶⁰.

A SLF é objeto de descrição mais detalhada nesse trabalho, cabendo aqui comentar que também se deve a variantes germinativas em um importante gene supressor de tumor, o gene *TP53*.

Algumas outras condições genéticas podem favorecer o surgimento de osteossarcoma, como desordens autossômicas recessivas que cursam com alterações nas enzimas helicases que agem sobre o DNA: Síndrome de Rothmund Thompson (variantes patogênicas no gene *REQ4*); Síndrome Rapadilino (aplasia/hipoplasia RAdial, PATelar e de PALato, DIarréia, LImb de

malformações em membros e inteligência Normal, também com variantes em *REQ4*); Síndrome de Werner (variantes no *WRN*) e Síndrome de Bloom (variantes em *BLM*) ⁶¹.

Defeitos hereditários autossômicos dominantes em genes que codificam proteínas ribossomais também podem aumentar o risco de osteossarcomas, assim como na anemia de Blackfan-Diamond ⁶¹.

Tradicionalmente, o sarcoma de Ewing não está associado a síndromes de predisposição hereditária ao câncer, porém, recentemente, variantes nos genes *TARDBP* e *EGR2* têm sido associadas a uma maior probabilidade de desenvolvimento desse subtipo de sarcoma ⁶².

Em relação à raça, não há uma predileção expressa em geral, porém um subtipo tem sido descrito como apresentando diferença de incidência associada à etnia: o sarcoma de Ewing. Está bem estabelecido que a população caucasiana apresenta maiores taxas de incidência de sarcoma de Ewing, e que, em contrapartida, os asiáticos e africanos apresentam as menores taxas. Por outro lado, tem sido descrita uma maior incidência de sarcomas de partes moles em populações negras do que em caucasianos e asiáticos ⁶³.

4.9. Sarcomas e a Síndrome de Li Fraumeni.

Sarcoma é o tumor índice na descrição clássica original da SLF, que relata a ocorrência familiar de tumores de SNC, câncer de mama, TCA e leucemias. Dados publicados pelo IARC, oriundos do banco específico composto por 1.024 indivíduos portadores de variantes germinativas do gene *TP53*, demonstraram que sarcomas correspondem a cerca de 22% dos tumores registrados em portadores de variantes germinativas patogênicas nesse gene, sendo que destes casos, 95,6% acontecem antes dos 50 anos de idade ⁶⁴.

Quando se compara a idade de incidência de sarcoma na população em geral fornecida pelo banco de dados SEER, verifica-se que apenas 38,3% dos sarcomas aparecem antes dos 50 anos ²⁷, contrastando com os dados do banco *TP53* do IARC, ou seja, dados indicam que a presença de variantes germinativas no gene *TP53* podem fazer com que o sarcoma apareça em idades precoces. Segundo relato do próprio IARC, a população representada por este banco é majoritariamente norte-americana. Nesse banco de dados, os subtipos de sarcoma que não obtiveram representação foram GIST, tumores desmoides, sarcoma de Ewing e angiossarcoma ⁶⁵. Os subtipos mais associados a variantes no gene *TP53* nesse banco de dados foram rhabdomyosarcoma, osteossarcoma, lipossarcoma e leiomyosarcoma. A faixa etária dos

pacientes no banco do IARC foi semelhante ao da população em geral para o rabdomiossarcoma (crianças menores de 5 anos) e osteossarcoma (adolescentes). Entretanto, a faixa etária para os sarcomas da vida adulta (lipossarcoma e leiomiossarcoma) foi antecipada em relação à população geral, aparecendo entre 20 e 50 anos principalmente⁶⁵.

5. MARCADORES DE ANCESTRALIDADE.

A subestrutura étnica da população pode influenciar a incidência, o prognóstico e a mortalidade em oncologia.

No caso do câncer de mama, por exemplo, diversos relatos da literatura apontam para uma associação inversa entre a incidência de câncer de mama e a mortalidade entre mulheres afro-americanas, quando comparados aos mesmos indicadores entre caucasianas, pois o risco de morte por câncer de mama é 67% superior entre as afro-americanas. Nos Estados Unidos, a taxa de mortalidade por câncer de mama é de 28,3 mortes por 100.000 mulheres caucasianas e de 36,4 entre as afro-americanas⁶⁶.

A incidência de sarcoma de Ewing é 10 vezes maior entre os caucasianos do que entre os afrodescendentes, independentemente da localização geográfica de moradia do indivíduo, o que sugere uma influência genética específica⁶⁷.

A literatura médica advoga que a variante p.Arg337His apresenta uma distribuição geográfica peculiar no Brasil²⁸, concentrando-se nas regiões Sul e Sudeste do país. Para melhor entender esse fenômeno, vamos caminhar pela formação étnica da população brasileira, caracterizando diferenças históricas que possam ter contribuído com a distribuição da variante p.Arg337His encontrada hoje em solo nacional. Uma oportunidade única de revelar como condições históricas podem interagir com fatores biológicos, disseminando geograficamente condições genéticas de predisposição ao câncer.

Do ponto de vista molecular, marcadores informativos de ancestralidade (AIMS) demonstram alta frequência de divergência alélica entre populações geograficamente separadas. São, portanto, úteis para determinar a ancestralidade ou estimar componentes ancestrais de uma determinada população. Usaremos esse recurso, que será descrito detalhadamente na seção materiais e métodos.

5.1 Formação étnica da população brasileira.

No caso da população Brasileira, que é altamente miscigenada, pouco ou quase nada se sabe sobre a influência da ancestralidade na incidência, no prognóstico e na mortalidade do câncer. A ampla diversidade étnica e cultural da nossa população é um reflexo da sua história e dos diferentes graus de miscigenação entre os nativos, os imigrantes europeus e os escravos africanos ⁶⁸.

Imigrações e migrações no Brasil são fonte de estudos e debates principalmente nas áreas das ciências humanas e econômicas, mas pouca atenção se dá a esse fenômeno dentro das ciências biológicas e mesmo médicas. Com o desenvolvimento da genética e principalmente da oncogenética, a origem do indivíduo passa a ter importância, pois não somente os fatores ambientais podem ser responsabilizados pelo padrão de doença de uma comunidade, como também os fatores genéticos passam a adquirir importância inclusive epidemiológica. A complexa interação entre fatores extrínsecos e intrínsecos gera grande parte das doenças das quais a ciência se ocupa hoje, inclusive na área da oncologia. Portanto, o estudo das imigrações e migrações populacionais também se aplica às ciências biológicas e médicas.

A imigração em solo nacional começa muito antes da descoberta do país, pois existem indícios de que povos nômades de origem asiática iniciaram a ocupação das Américas há cerca de 10 a 12 mil anos atrás. Estima-se que antes da colonização portuguesa, cerca de quatro milhões de ameríndios ocupavam o atual território brasileiro. Denominam essa fase da ocupação territorial de pré-cabralina ⁶⁹.

Após o descobrimento oficial do Brasil em 1500 por Pedro Álvares Cabral, se inicia a ocupação moderna do território. A primeira onda de imigração, portanto, foi portuguesa, tanto para o norte como sul do país e se deu no século XVI ⁷⁰.

Como os índios brasileiros não suportaram o trabalho escravo vigente na época, foi necessário a introdução do tráfico de africanos para o Brasil. Estima-se que no século XVI desembarcaram no Brasil cerca de 50 mil portugueses e 50 mil africanos ⁷¹.

A entrada de escravos no Brasil iniciou na segunda metade do século 15 e continuou até meados de 1850. Durante esse período, aproximadamente 3,5 milhões de africanos foram introduzidos de forma não voluntária no Brasil ⁷².

No século XVII, desembarcam mais africanos que portugueses em solo nacional, visto que a cultura da cana-de-açúcar tomou força, demandando um número crescente de escravos para a agricultura ⁷¹.

No século XVIII, a imigração africana continuou tornando o Brasil o país com maior número de africanos fora da África. Entretanto, devido à mineração do ouro na região de Minas Gerais, houve a chegada de um número expressivo de colonos portugueses. Para o sul do Brasil, houve a imigração de muitos casais açorianos nessa época, o que marcou a cultura e a genética do local ⁷³.

Outros povos contribuíram expressivamente na formação do povo brasileiro. Os espanhóis, por exemplo, tiveram forte influência na formação do povo gaúcho, no sul do Brasil. Estudo sobre “genética histórica”, conduzido na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), evidenciou que a população do extremo sul do Brasil tem forte impacto espanhol, mais do que português. A história justifica esse achado, pois essa região sempre foi de conflito entre espanhóis e lusitanos, sendo integrada ao Brasil apenas em 1750, com o tratado de Madri ⁷⁰.

A imigração de outros povos somente se iniciou a partir de 1808, com a abertura dos portos do Brasil. O século XIX presenciou a entrada de muitas etnias em solo brasileiro, mas tomou força apenas quando terminou o tráfico negreiro em 1850 ⁷¹.

O sul do Brasil era uma questão delicada nessa época, pois sua baixa densidade demográfica era um risco para a coroa portuguesa, sendo alvo de cobiça de outras potências da época. A coroa não teve alternativa além de incentivar a vinda de imigrantes. Em 1824, chegaram os primeiros colonos alemães na região do Rio Grande do Sul. Várias ondas migratórias da Alemanha para o Brasil se seguiram por todo sul do Brasil, incluindo os estados de Santa Catarina e Paraná ⁷¹.

No final do século XIX e início do século XX, os italianos foram estimulados a ocupar também o sul e sudeste do Brasil. A contribuição desse povo foi intensa e de grande impacto na cultura dessas duas regiões. Inicialmente foram dirigidos às fazendas de café, mas logo acabaram migrando para a zona urbana, contribuindo como mão-de-obra fundamental para a indústria que começava a crescer, principalmente no estado de São Paulo. Nessa mesma época, eslavos, em sua maioria poloneses, migraram para o estado do Paraná ⁷¹.

No século XX, a partir de 1930, com a “Marcha para o Oeste” promovida pelo Governo Vargas, com a crise da economia cafeeira e com a dinamização da indústria, o país assistiu a

um movimento populacional de dupla direção: de um lado, a população expulsa do campo dirigiu-se para o interior dos estados, especialmente para o oeste de São Paulo e, posteriormente, para o norte e oeste do Paraná e Santa Catarina; de outro lado, houve um deslocamento expressivo da população para as cidades, especialmente para o eixo Rio-São Paulo ⁶⁸.

A partir de 1950, um movimento migratório acontece dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina em direção ao Paraná e Mato Grosso do Sul. O fluxo migratório do sul para o centro-oeste se intensificou nas décadas de 1960 e 1970, incentivado pela propaganda do regime militar, que buscava expandir a fronteira econômica e agrícola do país ^{74, 75}.

A região sul do Brasil tem forte peso da agricultura familiar, e na década de 1970, com a fronteira agrícola dessa região totalmente ocupada, a região Amazônica passa a receber um movimento migratório dessas famílias, principalmente do Paraná e Santa Catarina. Atraídos por programas de governo, os habitantes do sul do Brasil, chamados em conjunto de “gaúchos”, tornam-se fundamentais na ocupação da via Transamazônica e ocupam a área rural do Norte do país das décadas de 1970 e 1980, sendo os estados de Rondônia e do Pará os que mais receberam essa corrente migratória ⁷⁶.

Os hábitos, costumes e estilos de vida moldados após esses movimentos migratórios passaram por um processo cultural de adaptação. Existem pesquisas evidenciando que a população do sul, proveniente dessas ondas migratórias, modificou inclusive a linguagem local do centro-oeste e norte do país ⁷⁵.

Apenas observando o mapa do estado do Mato Grosso, por exemplo, podemos ver a força da influência da migração, através dos nomes das cidades: Porto dos gaúchos, União do sul, Porto Alegre do Norte, Gaúcha do Norte e Sinop.

Emblemática é a cidade de Sinop, cujo nome original significa “Sociedade imobiliária noroeste do Paraná”, que na década de 1960 e 1970 agenciou a migração de muitas famílias sulinas para o centro-oeste ⁷⁷.

Podemos observar, então, que a população brasileira é altamente miscigenada, mas que existe uma heterogeneidade macrorregional que corresponde à história de cada parte do país. No Nordeste, por exemplo, a influência africana é muito mais expressiva que no sul do Brasil. Nesta última região, existe uma marcante influência europeia, além da portuguesa, sendo a influência africana muito menor⁷⁸.

Estima-se que entre 1800 e a metade do século 20, cerca de 4 milhões de indivíduos entraram no território brasileiro, oriundos principalmente de Portugal, Itália, Espanha e Alemanha ⁷⁹. Essa segunda onda migratória se estabeleceu predominantemente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Na região Nordeste do Brasil, a contribuição Africana é maior, enquanto que na região Norte a contribuição nativa é mais evidente. Com o passar dos anos, houve um elevado índice de miscigenação entre esses grupos, envolvendo principalmente homens europeus e mulheres nativas e africanas ⁸⁰.

Relacionar a prevalência de doenças com o padrão de ocupação territorial é importante, tanto do ponto de vista biológico, quanto de promoção de políticas de saúde pública.

No Brasil, como exemplo, temos a doença de Machado-Joseph, conhecida como ataxia espinocerebelar tipo 3, uma desordem neurodegenerativa grave. Apesar de rara, é a ataxia espinocerebelar autossômica dominante mais comum no mundo, sendo particularmente prevalente no sul do Brasil, Portugal e China, denotando a intrincada ligação entre os processos migratórios induzidos por condições históricas e as doenças. A doença de Machado-Joseph está diretamente relacionada à rota de navegação portuguesa-açoriana do período áureo da colonização ibérica ⁸¹.

Embora a variante p.Arg337His e os tumores que compõem o espectro Li Fraumeni estejam diretamente relacionadas a condições históricas e geográficas, até o momento, não há estudos sobre a influência da ancestralidade sobre a incidência da SLF no Brasil.

6. JUSTIFICATIVA

Como o sarcoma, uma patologia agressiva e de alta letalidade, pode ser resultado de uma síndrome de predisposição genética ao câncer, a SLF, geralmente ligada a variantes germinativas patogênicas no gene *TP53*, é pertinente conhecer o *status* mutacional de pacientes com essa neoplasia. Devido a incidência anômala de uma variante genética específica desse gene em solo brasileiro, a variante p.Arg337His, propomos estudá-la em casos de sarcomas diagnosticados junto ao Hospital de Câncer de Barretos.

De maneira adicional, a associação da presença e frequência da variante p.Arg337His no gene *TP53* com o perfil ancestral da população-alvo do estudo poderá nos auxiliar na compreensão de um possível efeito da ancestralidade sobre a frequência e prognóstico dos diferentes subtipos de sarcomas

A hipótese do estudo é de que encontraremos a variante p.Arg337His em pacientes com sarcoma atendidos no Hospital de câncer de Barretos numa frequência superior àquela que seria esperada para uma síndrome rara como a SLF.

7. OBJETIVOS.

7.1. Geral.

Avaliar a presença e frequência da variante patogênica p.Arg337His no gene *TP53* em pacientes diagnosticados com sarcomas no Hospital de Câncer de Barretos.

7.2. Específicos.

- Avaliar a presença da variante p.Arg337His, no período de 2008 a 2016, de maneira consecutiva, em todos os sarcomas com material biológico disponível no Biobanco institucional.
- Caracterizar os casos de sarcoma identificados quanto aos aspectos demográficos (idade, sexo, procedência e naturalidade), histopatológicos (subtipo histológico), de história familiar (subtipo de tumores na família e número de casos) e informações clínicas (estadiamento, tipo de tratamento oncológico)
- Determinar, para o caso dos indivíduos mutados e com material constitutivo disponível, a origem da variante p.Arg337His, se germinativa ou somática.
- Correlacionar a presença da variante p.Arg337His no gene *TP53* com o subtipo de sarcoma, quadro clínico e evolução do paciente.
- Determinar o perfil étnico dos pacientes com sarcomas atendidos no HCB.
- Correlacionar a presença da variante p.Arg337His com o local de nascimento, nível social, escolaridade e padrão de migração populacional.

8. MATERIAL E MÉTODOS.

Estudo de *coorte* de caráter ambiespectivo que foi conduzido conforme descrito detalhadamente a seguir.

8.1. Casuística.

PARTE I

Análise retrospectiva de material tumoral criopreservado. Foi avaliado material tumoral de pacientes com diagnóstico de sarcoma (todos os subtipos histológicos) que constavam no Biobanco da Fundação Pio XII de 2008 a 2014 e que consentiram em participar do estudo.

Existiam, no momento do levantamento das amostras, 430 espécimes de sarcomas criopreservadas e armazenadas junto ao Biobanco do HCB que correspondiam ao período que foi considerado no estudo (2008 a 2014). Para todos os casos foi feito o contato com o paciente para obtenção do consentimento para participar do estudo.

Seguindo as orientações prévias do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição, foram realizadas 5 tentativas de contato via ligação telefônica ao longo de 2 semanas em dias e horários alternados, conforme fluxograma descrito na figura 10. Exemplo: ligar no período da manhã, horário de almoço, período da tarde, após as 18h em diferentes dias da semana.

PARTE II

Pacientes com diagnóstico de sarcoma, atendidos junto ao HCB nos anos de 2015 a 2016, foram convidados a participar do estudo. Contamos com 105 casos incluídos prospectivamente.

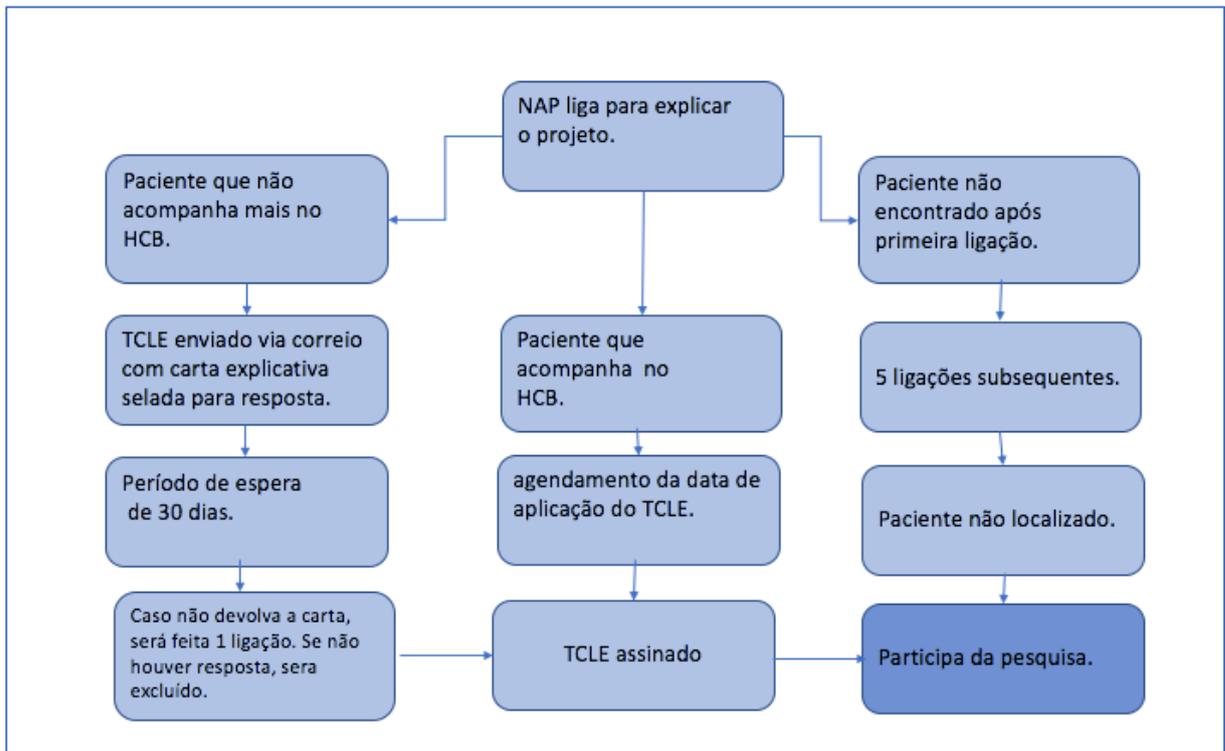


Figura 10 - Fluxograma ilustrando as formas de contato que foram realizadas para aplicação do TCLE nos pacientes do HCB incluídos retrospectivamente no estudo. NAP: núcleo de apoio à pesquisa; HCB: hospital de câncer de Barretos; TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido.

8.2. Critérios de inclusão.

- Ser portador de sarcoma de baixo ou de alto grau.
- Ter prontuário médico na Fundação Pio XII.
- Ter material criopreservado armazenado no Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos (casos retrospectivos).
- Preencher o TCLE concordando em participar do estudo.

8.3. Critérios de exclusão.

- Casos em que a quantidade ou qualidade do material biológico armazenado no Biobanco não permitisse a análise molecular requerida no estudo.
- Casos que, após revisão anatomopatológica, o diagnóstico de sarcoma não fosse confirmado.

8.4. Coleta de dados clínicos, histopatológicos e de história familiar.

Para a obtenção de dados sociodemográficos, clínicos e de sobrevida, os prontuários médicos dos pacientes incluídos no estudo foram devidamente revisados e as informações registradas em uma ficha de coleta (Anexo 2).

Para a obtenção da história familiar de câncer, nos casos em que os pacientes já haviam sido atendidos pelo Departamento de Oncogenética, os dados de história familiar e de resultados de teste genético foram obtidos a partir de revisão de prontuário do referido Departamento. Nos casos incluídos prospectivamente, assim como naqueles em acompanhamento junto ao HCB, a história familiar de câncer foi coletada (construção do heredograma) após o preenchimento do TCLE.

8.5. Análises moleculares.

Trata-se de um estudo da presença da variante p.Arg337His no gene *TP53*, bem como de análise de marcadores indicativos de ancestralidade (AIM-INDELS) em material tumoral criopreservado e armazenado junto ao Biobanco do HCB. A escolha de utilizar material tumoral e não material germinativo se deu pelo fato que o número de pacientes com material constitutivo no Biobanco institucional era bastante reduzido. Para a realização das análises moleculares as seguintes etapas foram realizadas:

8.5.1. Extração de DNA tumoral criopreservado.

Após a identificação do tumor a ser analisado, realizou-se macrodissecção da área contendo o tumor pelos médicos patologistas. Na sequência, o DNA tumoral criopreservado foi extraído pelo Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos. A extração foi realizada utilizando a plataforma QIASymphony (Qiagen) conforme protocolo padronizado e validado pelo Biobanco do HCB. O DNA extraído foi quantificado (*NanoDrop*) e armazenado à – 20°C até a sua utilização.

8.5.2. Análise da variante p.Arg337His.

A análise da presença da variante p.Arg337His no éxon 10 do gene *TP53* foi feita por PCR-RFLP. Para tanto, realizou-se inicialmente a amplificação do éxon correspondente (éxon 10) por PCR, utilizando oligonucleotídeos específicos. A sequência dos oligonucleotídeos para a reação de PCR encontra-se disponível no website do IARC, <http://p53.iarc.fr/p53Sequences.aspx>. O produto amplificado (238pb) era, então, analisado em gel de agarose 1% e, sem seguida digerido através de restrição enzimática (RFLP – *Restriction Fragment Length Polymorphism*) utilizando a enzima de restrição HhaI, a qual cliva, de maneira específica, sequências de DNA em sítios contendo a sequência GCGC. Dessa forma, no caso da variante p.Arg337His em que ocorre a substituição de CGC por CAC, teremos um padrão de bandas (visualizado em gel de agarose) que diferirá do padrão selvagem (conforme descrito pelo nosso grupo em Palmero et al., 2008)³³. Para a digestão, foram utilizados 2 ul

da enzima HhaI, 2 ul de buffer, 2 ul de BSA num volume total de 20 ul que era incubado a 37°C ON. A reação de RFLP era, na sequência, analisada através de eletroforese em gel de agarose 4%. Todos os casos positivos foram confirmados por sequenciamento bidirecional Sanger.

8.5.3. Confirmação dos resultados do RFLP.

Para a confirmação dos resultados do RFLP por sequenciamento *Sanger*, nos pacientes com a variante patogênica p.Arg337His, os DNAs tumorais em questão foram amplificados por PCR, purificados com a enzima *ExoSAP-IT* (USB) e Kit *BigDye XTerminator* (*Thermo Fisher Scientific*) e sequenciados bidirecionalmente, utilizando o Kit *BigDye Terminator v3.1* (*Thermo Fisher Scientific*). A eletroforese foi realizada no sequenciador automatizado modelo ABI 3500XL (*Applied Biosystems*).

8.5.4. Confirmação dos resultados em DNA constitutivo.

Dada a nossa suspeita de que essa alteração estivesse associada ao desenvolvimento de uma síndrome de predisposição hereditária (SLF), em todos os casos em que a variante p.Arg337His foi identificada em tecido tumoral, solicitou-se ao Biobanco (sempre que houvesse material disponível) uma amostra de material constitutivo (obtida de sangue periférico) para confirmação de que a referida alteração estava presente na linhagem germinativa e não apenas no tumor. Para esses casos, foi feita extração de DNA, amplificação por PCR e sequenciamento bidirecional do éxon 10.

Para o sequenciamento *Sanger*, os DNAs em questão foram amplificados por PCR, purificados com a enzima *ExoSAP-IT* (USB) e Kit *BigDye XTerminator* (*Thermo Fisher Scientific*) e sequenciados bidirecionalmente, utilizando o Kit *BigDye Terminator v3.1* (*Thermo Fisher Scientific*). A eletroforese foi realizada no sequenciador automatizado modelo ABI 3500XL (*Applied Biosystems*).

Além disso, conforme disposto nos aspectos éticos, sempre que a variante p.Arg337His foi identificada e o paciente havia optado por saber o resultado do teste realizado no presente estudo, solicitamos, em consulta junto ao Departamento de Oncogenética, uma coleta de sangue para confirmação da presença da variante identificada através desse projeto de

pesquisa. Esse segundo teste confirmatório foi realizado pelo Centro de Diagnóstico Molecular do Hospital de Câncer de Barretos.

8.6. Perda de heterozigidade no tecido tumoral.

A análise de perda de heterozigidade nos casos positivos para p.Arg337His e afetados por câncer foi inferida a partir da análise dos eletroferogramas dos casos positivos. Foram considerados casos com aqueles casos em que o único pico presente no eletroferograma era o pico representando o alelo mutado.

8.7. Análise de ancestralidade.

Para a análise da ancestralidade foi utilizado o painel de AIM-INDELS (Marcadores informativos de ancestralidade – inserções e deleções) desenhado e publicado recentemente por Pereira e colaboradores⁸². Para tal, 46 pares de primers foram amplificados em uma única reação de PCR (PCR multiplex) utilizando o Multiplex PCR kit (*Qiagen*) com as seguintes quantidades/concentrações: master mix 1X, 0.1 mM de todos os primers, 10 ng de DNA de cada um dos pacientes do estudo, em um volume final de 10ul. A reação de PCR aconteceu nas seguintes condições: denaturação inicial a 95°C por 15 min, seguida por 30 ciclos de 94° C por 30 segundos, 60°C por 90 segundos e 72°C por 45 segundos, finalizando com uma extensão de 60 minutos a 72°C. O produto de PCR foi então analisado através de eletroforese capilar (análise de fragmentos) em um sequenciador ABI 3500XL. Para a análise de fragmentos foram adicionados 1ul do produto de PCR e 10 ul de Formamida Hi-Di (*Applied Biosystems*). A matriz utilizada para a leitura dos fragmentos foi a DS-33, além do polímero POP-7 (*Applied Biosystems*) e do filtro virtual G5 (*Applied Biosystems*). Os resultados foram analisados com auxílio do *software* GeneMapper v4.0 (*Applied Biosystems*) e, na sequência os dados foram transferidos para o *software* Structure v2.3.3 para a inferência do perfil ancestral.

A avaliação de ancestralidade foi feita avaliando-se proporcionalmente a mistura entre os quatro continentes de origem étnica: África, Europa, Ásia e América nativa (ameríndios).

9. ARMAZENAMENTO DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.

Para a análise estatística foi utilizado o programa SPSS v.21.0 for Windows (Chicago, IL). As análises de ancestralidades foram realizadas com auxílio do software *Structure* v3.3.2. As variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas e frequências relativas percentuais. As variáveis quantitativas foram descritas pela média e desvio padrão quando tiveram distribuição simétrica e pela mediana e amplitude interquartil quando tiveram distribuição assimétrica. O nível de significância considerado em todos os testes foi de 5%.

Para comparação entre as características clínicas e moleculares foi utilizado o teste de Qui-quadrado (ou teste Exato de Fisher), sendo esta uma análise simples. Para verificar a relação conjunta entre as características clínica e moleculares foi utilizada a Regressão Logística Múltipla, porém selecionamos apenas as variáveis que obtiverem p-valor menor que 0,2 na análise simples.

Cada participante foi classificado em uma das seguintes opções de ancestralidade (caucasiana, africana, asiática e ameríndia). Em seguida, comparamos a ancestralidade com as características sociodemográficas, clínicas e moleculares utilizando o Teste de Qui-quadrado. Posteriormente, classificamos a ancestralidade em duas categorias (que foram definidas com base na distribuição encontrada desta variável) e realizamos a Regressão Logística Múltipla conforme descrito no parágrafo anterior.

Os tempos de sobrevivência Global e Livre de Doenças foram estimados pelo método não paramétrico de Kaplan-Meier, sendo a sobrevivência Global calculada considerando o tempo entre a data de diagnóstico e a data do óbito por qualquer motivo (sendo este o evento de interesse), ou a data da última informação objetiva. Enquanto o tempo livre de doença foi calculado considerando a diferença entre a data de diagnóstico até a data de recidiva, ou metástase (sendo estes os eventos), ou até a última informação. Para avaliar a influência das características do paciente, foi utilizado o teste de Log-Rank. Posteriormente, a relação conjunta das características (variáveis) com os tempos de sobrevivências, foram analisadas através da Regressão de Cox Múltipla, sendo selecionadas as características que obtiveram p-valor menor que 0,2.

Os dados referentes a este estudo ficarão arquivados no Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular do Hospital de Câncer de Barretos.

10. ASPECTOS ÉTICOS.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa institucional sob o número 866/2014.

Pelo fato de a variante avaliada na presente proposta (p.Arg337His) ser considerada patogênica, faz-se necessário que o indivíduo seja contatado previamente e consentido para sua inclusão no estudo. Dessa forma, apesar de possuir uma parte retrospectiva, considerando que o resultado da análise da variante p.Arg337His no gene *TP53* influenciará a conduta do paciente, um TCLE específico do estudo foi aplicado a todos os participantes.

Em todos os casos em que o paciente manifestasse, no TCLE, interesse em saber o resultado, o mesmo foi contatado e convidado para participar de uma consulta de Aconselhamento Genético no serviço de Oncogenética do HCB, momento em que o resultado foi transmitido ao paciente.

Aos pacientes portadores da variante p.Arg337His (confirmada em material constitutivo) no gene *TP53*, está sendo oferecido acompanhamento e aconselhamento genético no Serviço de Oncogenética do Hospital do Câncer de Barretos, cujas rotinas já estão estabelecidas e em andamento.

11. RESULTADOS.

Foram incluídos 701 pacientes neste estudo, todos pacientes do Hospital de câncer de Barretos entre os anos de 2008 e 2016. Este estudo é ambiespectivo, tendo início em 2014. Avaliamos retrospectivamente material de 2008 a 2014 e prospectivamente de 2015 a 2016.

Dos 701 casos incluídos inicialmente, 199 foram excluídos. O principal motivo de exclusão dos pacientes foi a insuficiência de material para análise (163 casos). Como material insuficiente entende-se a falta de áreas representativas do tumor ou a falta de condições adequadas para análise devido ao armazenamento do material. Em 36 casos, o diagnóstico, após a revisão por patologistas, demonstrou tratar-se de outros tipos tumorais que não sarcomas.

Devido ao fato de a maioria dos casos não contar com amostras de sangue periférico disponível, o material de escolha a ser analisado foi tecido tumoral. As amostras retrospectivas foram selecionadas do Biobanco institucional, macrodissecadas e revisadas por um grupo de patologistas. Estes últimos decidiam a melhor área a ser analisada.

Dados clínicos e histopatológicos, bem como todas as informações referentes ao histórico familiar de câncer foram coletados através de uma ficha clínica (Anexo 2).

11.1 Dados sociodemográficos

No que se refere à idade dos participantes, dividimos, para fins de análise, os 502 pacientes em 4 faixas etárias. Crianças (0 a 14 anos), adolescentes e adultos jovens (15 a 39 anos), adultos (40 a 59 anos) e idosos (60 anos ou mais). Importante ressaltar que em Oncologia, desde 2005, está bem firmada a faixa etária de adolescentes e adultos jovens compreendendo indivíduos de 15 a 39 anos⁸³.

A faixa etária predominante foi a de adolescentes e adultos jovens, contando com 186 casos (37%), seguida pelos adultos (29%), idosos (22%) e crianças (12%), conforme ilustra a figura 11. Ressaltamos que a maioria dos pacientes da instituição está acima dos 18 anos, devido às características administrativas e especificidades locais.

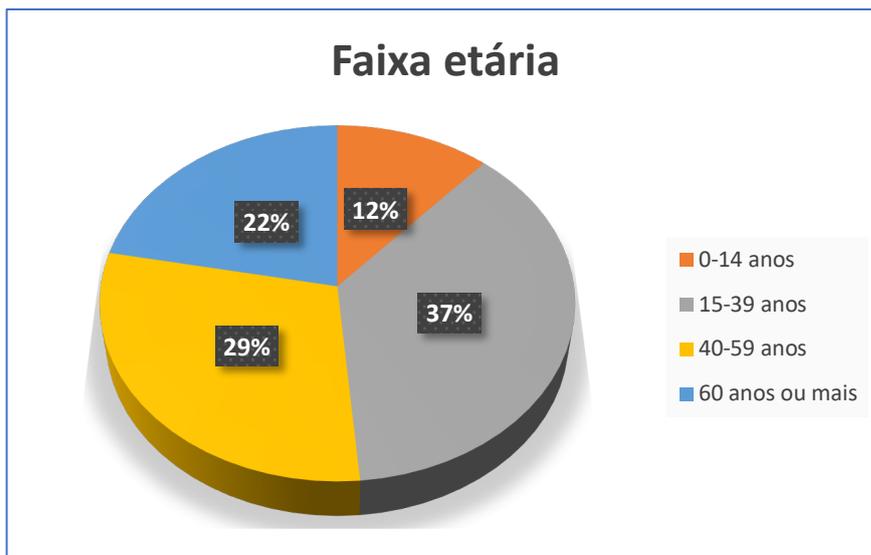


Figura 11 - Distribuição etária dos casos avaliados (n=502).

Em relação à etnia, 61% dos pacientes se autodeclararam brancos, 19% pardos, 5% negros e 1% orientais. Em 14% dos pacientes esse dado não estava disponível nos prontuários médicos.

Quanto ao nível de escolaridade, dividimos os pacientes conforme declarado no prontuário do hospital. Dos 502 pacientes avaliados, apenas 13 não apresentavam essa informação disponível, sendo esse grupo classificado como ignorado. Portanto, avaliamos essa variável de 489 pacientes. Quando avaliamos a escolaridade dos pacientes, percebemos que a grande maioria está dentro do grupo caracterizado como baixa escolaridade, declarando apenas o estudo fundamental incompleto. Esse dado concorda com a população de usuários do SUS, geralmente de baixa renda e de baixa escolaridade.

Em relação ao estado civil, a maioria encontra-se na categoria casado/amasiado, o que concorda com o fato de a maioria dos pacientes desse estudo estar na faixa etária adulta.

Ainda em relação aos dados demográficos, foi possível identificar a região de nascimento de 493 pacientes. Como seria esperado, a maioria dos pacientes pertence à região Sudeste, exatamente onde se encontra geograficamente a instituição que abriga essa pesquisa. Entretanto, as outras regiões do país estão representadas por se tratar de um hospital de referência. Esse dado está representado na figura 12.

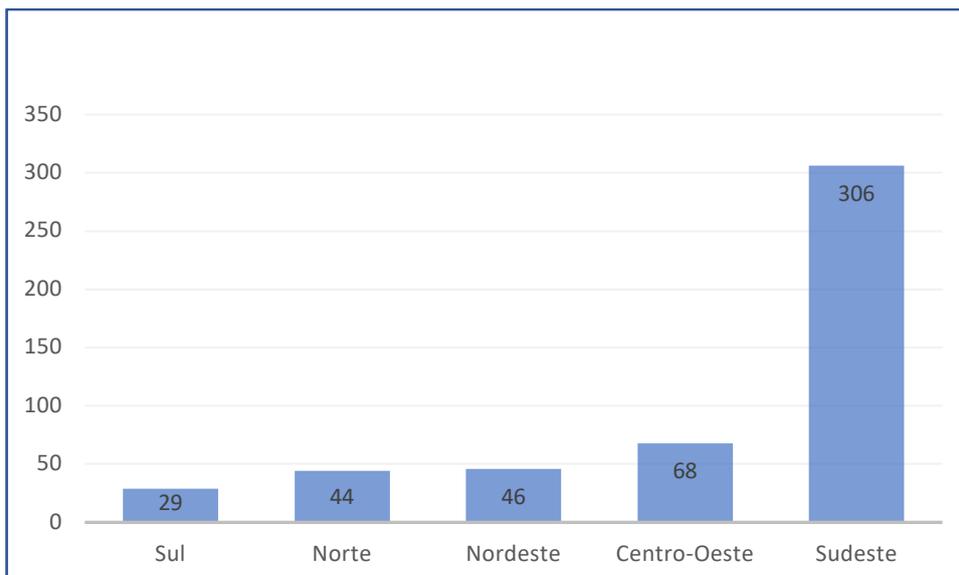


Figura 12 - Região de nascimento dos pacientes (n=493).

Tivemos ainda acesso a informações sobre a região de moradia atual, ou procedência, dos 502 pacientes avaliados. Verificamos, então, que as regiões Sudeste e Centro-Oeste lideram em número de pacientes (Figura 13). Dos 29 pacientes que nasceram no Sul do Brasil, 6 migraram para a região Norte (Rondônia), 6 para a região Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul), 7 para o Sudeste (São Paulo) e 1 para o Nordeste (Bahia), o que vem ao encontro a todas as informações históricas sobre a mobilidade populacional do Sul para o Centro-Oeste e Norte de país.

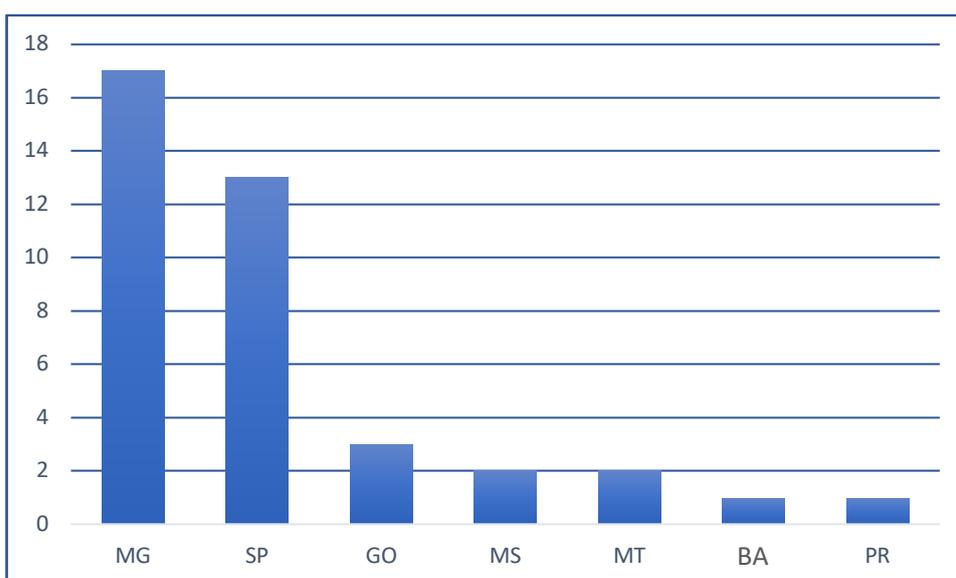


Figura 13 - Região de procedência dos pacientes (n=502).

11.2 Histórico Familiar de Câncer.

Ao avaliarmos os 502 pacientes desse estudo, verificamos que apenas 3 declararam ser adotivos. Essa variável não estava disponível para 20 pacientes, sendo classificados como “em situação ignorada”. O restante dos pacientes declarou não ser adotivo. 463 pacientes declararam conhecer seus antecedentes familiares, 13 declararam não conhecer e para 26 a informação não estava disponível. Consideramos como história familiar válida os dados de parentes até terceiro grau. Como primeiro grau consideramos pais, irmãos e filhos. Como segundo grau, tios, avós, sobrinhos e netos. E de terceiro grau, primos de primeiro grau e tios-avós.

Havia história familiar de câncer em 167 (36%) dos 463 pacientes cuja informação estava disponível, conforme tabela 2.

Tabela 2 - Neoplasias malignas em parentes próximos referidas nos prontuários.

<i>Tipo de câncer encontrado na família</i>	<i>Número total de famílias acometidas</i>	<i>Número de famílias com a variante p.Arg337His</i>
Câncer de Cabeça e pescoço	23	3
Leucemia	27	3
Sarcomas	20	4
T. SNC	16	2
Câncer de pulmão	37	6
Câncer pediátrico	12	5
Câncer de mama	45	6
Câncer gastrointestinal	71	11

i. História familiar de câncer de cabeça e pescoço (garganta).

Em 23 casos havia história familiar de câncer de cabeça e pescoço, referido nos prontuários geralmente como câncer de garganta. Em apenas 2 famílias havia 2 parentes acometidos por esse tipo de tumor. Em nenhum dos prontuários havia informação sobre etilismo ou tabagismo dos familiares acometidos.

ii. História familiar de leucemia.

Havia história familiar de leucemia em 27 casos. Todos com apenas 1 caso na família.

iii. História familiar de sarcomas.

Em 20 casos, havia história familiar de outro sarcoma na família. Seguindo-se os critérios clássicos, 12 probandos tinham 45 anos ou menos ao diagnóstico e, portanto, poderíamos enquadrá-los como *SLF* clássica. Entretanto, em apenas 4 dessas famílias encontramos a variante patogênica em questão.

iv. História familiar de tumor de Sistema Nervoso Central.

Em 16 pacientes havia história familiar de tumores de Sistema Nervoso Central. Apenas 1 caso em cada família descrita.

v. História familiar de câncer de pulmão.

Havia história familiar de câncer de pulmão em 37 famílias. Não havia informação no prontuário quanto a tabagismo nesse parente com câncer. Entretanto, após encaminhamento dos casos mutados para o serviço de Oncogenética, essa informação pôde ser complementada.

vi. História familiar de câncer pediátrico.

Em 12 famílias havia história familiar de câncer pediátrico, entretanto, não havia informação no prontuário quanto aos tipos tumorais ou idade, a não ser para os casos que foram encaminhados para o serviço de Oncogenética.

vii. História familiar de câncer de mama.

Em 45 famílias havia história familiar de câncer de mama, sendo que apenas 6 casos (13%) demonstraram ser portadores da variante patogênica p.Arg337His.

viii. História familiar de câncer gastrointestinal.

Em 71 famílias havia história familiar de câncer gastrointestinal, mas as informações de prontuário quanto ao tipo histológico e localização exata eram escassas. Esse foi o grupo tumoral mais representativo entre os familiares e também o que mais apresentou a variante patogênica em estudo.

Com as informações obtidas através da coleta de dados, verificamos que existiam 63 famílias que preenchiam critérios para SLF conforme detalhado na tabela 3. Entretanto, algumas famílias preencheram mais de 1 critério. Em 12 famílias foram satisfeitos os critérios clássico, Birch, Eeles e Chompret modificado.

Tabela 3 - Número de famílias que preenchem critérios para SLF.

Critério	Número de famílias
Clássico	14
Birch	15
Eeles	30
Chompret modificado	16

11.3 Subtipos histológicos e localização dos sarcomas.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica os tumores de origem mesenquimal em grandes grupos: sarcomas de partes moles (que inclui os casos cutâneos) e sarcomas ósseos, cada qual com vários subtipos. Os sarcomas ósseos costumam ser maioria quando não se leva em consideração os sarcomas retroperitoneais e viscerais. Como em nossa casuística incluímos todos os sarcomas, não apenas os de extremidades, a maioria estava localizada em partes moles (71%), conforme mostra a figura 14.

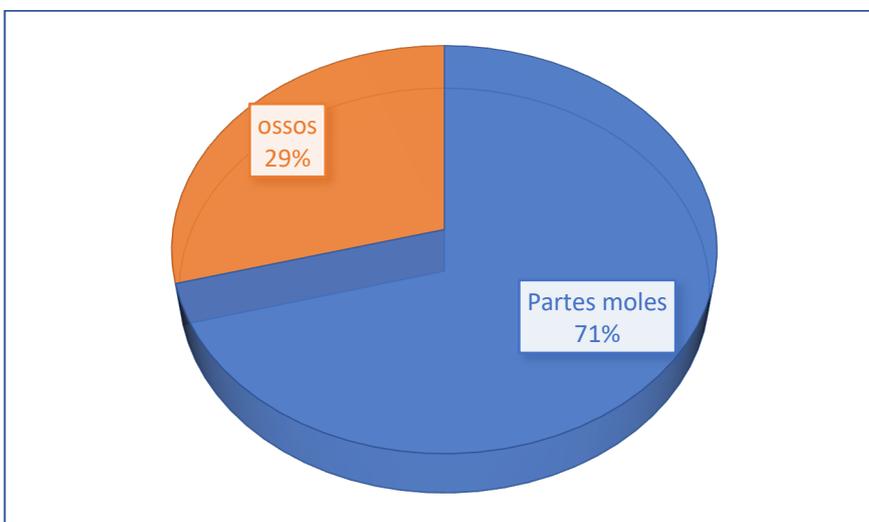


Figura 14 - Localização dos tumores dos 502 pacientes avaliados.

Após levantamento dos espécimes patológicos disponíveis dos pacientes e revisão por um grupo de patologistas especializados, obtivemos os seguintes subtipos histológicos e sua distribuição percentual, conforme a tabela 4.

Tabela 4 - Subtipos histológicos dos sarcomas.

Subtipo histológico	Número de pacientes (%)
Osteossarcoma	98 (19,6)
Lipossarcoma	67 (13,4)
Leiomiossarcoma	65 (12,9)
Sarcoma sinovial	55 (11,0)
Condrossarcoma	32 (6,4)
Sarcoma de Ewing	22 (4,4)
Rabdomiossarcoma	18 (3,6)
Dermatofibrossarcoma	17 (3,4)
Mixofibrossarcoma	15 (3,0)
Sarcoma pleomórfico	15 (3,0)
Sarcoma Fusocelular	14 (2,8)
Sarcoma indiferenciado	13 (2,6)
Angiossarcoma	10 (2,0)
T. maligno de bainha de nervo periférico	7 (1,4)
Outros	54 (10,5)
Total	502

11.4 Comportamento Clínico Dos Pacientes.

Quanto ao estadiamento clínico, o sistema de avaliação atual para os sarcomas é o sistema TNM (AJCC). Para fins de análise, os pacientes foram classificados em Estádios I, II, III e IV. Denominamos estádios iniciais os estádios I e II e avançados os estádios III e IV.

Obtivemos informações quanto ao estadiamento clínico de 431 pacientes, conforme a figura 15. Observamos, portanto, que a maioria dos pacientes (67%) pertencia ao grupo denominado avançado.

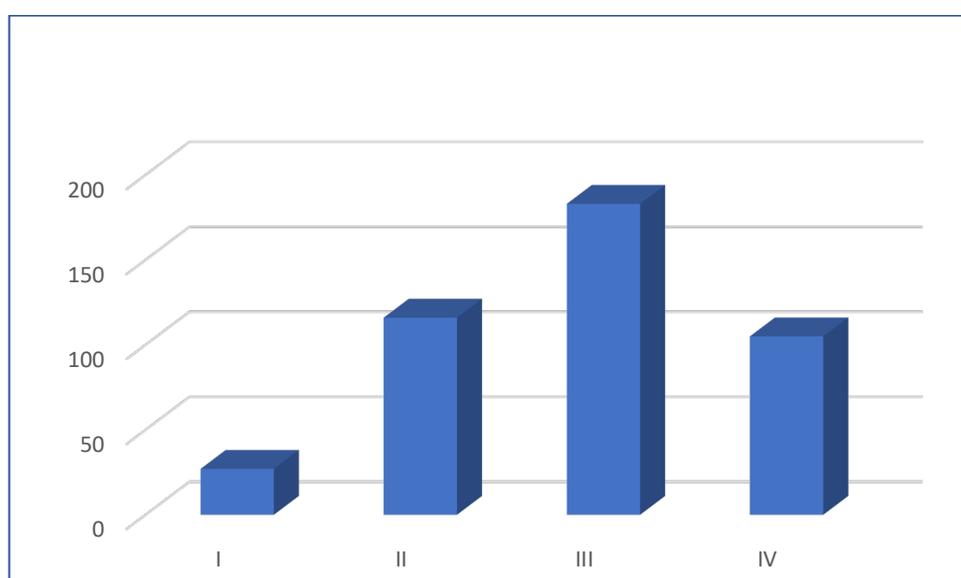


Figura 15 - Estadiamento clínico dos 431 pacientes avaliados.

Em relação ao tratamento, o tratamento cirúrgico ainda é a principal arma terapêutica do sarcoma. Em muitos casos, a sobrevida é diretamente proporcional ao grau de ressecção possível. A habilidade técnica é fator de suma importância, porém, a localização e o grau de infiltração das estruturas adjacentes podem impedir uma cirurgia curativa ideal. As comorbidades também podem ser fator decisivo, impossibilitando a conduta cirúrgica adequada. Neste último quesito, quanto maior a idade do paciente, maior propensão à comorbidades ele terá.

Obtivemos dados de 498 pacientes quanto à conduta cirúrgica. Desses, 469 (94%) foram submetidos ao tratamento cirúrgico e 29 (6%) não o foram. Destes últimos, as condições clínicas desfavoráveis foram a principal causa, seguida da recusa da conduta por parte do

paciente. Para fins deste trabalho, não diferenciamos o momento da cirurgia, se ao diagnóstico ou após quimioterapia neoadjuvante, considerando apenas se a conduta pôde ou não ser realizada. Essas informações foram suficientes para os objetivos deste presente estudo.

Quanto ao grau de ressecção, se total ou parcial, obtivemos dados de 464 pacientes. Ressecção total foi alcançada em 70% das vezes (326 pacientes) e ressecção parcial em 30% (138 pacientes). Esses dados são robustos e demonstram a habilidade da equipe de cirurgiões que se ocupam dos sarcomas na instituição.

O tratamento clínico quimioterápico encontra lugar em sarcomas. Em algumas circunstâncias, principalmente em sarcomas ósseos e pediátricos, a quimioterapia está na base da conduta oncológica, na estratégia denominada neoadjuvância. Em sarcomas de partes moles, principalmente nos casos pediátricos, a quimioterapia é parte estruturante do tratamento clínico. Entretanto, para os adultos com sarcomas de partes moles, nem sempre há obrigatoriedade de quimioterapia como espinha dorsal do tratamento. Avaliamos este quesito para inferirmos a agressividade tumoral, traduzida pelas sucessivas linhas quimioterápicas com finalidades paliativas.

Obtivemos dados em prontuário médico de 497 pacientes quanto à realização ou não de quimioterapia. 207 pacientes não receberam quimioterapia e 290 receberam. Destes últimos, 100 receberam segunda linha. Sucessivamente, 42 realizaram terceira linha e apenas 10, quarta linha, conforme ilustrado na tabela 5.

Tabela 5 - Linhas de quimioterapia administradas.

LINHA DE QUIMIOTERAPIA	NÚMERO DE PACIENTES TRATADOS
PRIMEIRA LINHA	290
SEGUNDA LINHA	100
TERCEIRA LINHA	42
QUARTA LINHA	10

O tratamento radioterápico é parte integrante do tratamento dos sarcomas, que costumam ser sensíveis a essa modalidade terapêutica, à exceção dos osteossarcomas de alto grau.

Através da análise de prontuário médico, foi possível obter informações quanto à realização ou não da radioterapia de 473 pacientes. Destes, apenas 161 (34%) receberam esse tratamento. Conforme demonstrado na tabela 6, os pacientes com estadiamento avançado (III e IV) foram os que mais se submeteram à radioterapia, o que inclui os contextos curativos e paliativos.

Tabela 6 - Estadiamento clínico dos pacientes em relação à Radioterapia.

				pacientes
Radioterapia	Não	Estadiamento clínico	I	26
			II	76
			III	128
			IV	82
	Sim	Estadiamento clínico	I	4
			II	44
			III	66
			IV	47
Total				473

Adicionalmente, através dos prontuários dos pacientes, tivemos acesso à evolução clínica de 485 dos 502 casos. O comportamento clínico dos sarcomas é incerto, mesmo quando a conduta inicial é adequada e satisfatória. São tumores que caracteristicamente tendem a recidivar, quer localmente, quer à distância. A tabela 7 descreve o comportamento clínico em relação à recidiva tumoral. Observamos que 245 pacientes experimentaram primeira recidiva (local e/ou à distância). Destes, 50% apresentaram êxito letal. Nossa casuística comprova que o sarcoma é uma patologia altamente agressiva e que a mortalidade é importante após a primeira recidiva. Dos pacientes que sobreviveram à primeira recidiva,

62 vieram a apresentar um segundo episódio (local e/ou à distância). Terceira recidiva (local e/ou à distância) pode ser observada em 21 dos que sobreviveram ao episódio anterior. Dados quanto às recidivas posteriores não estavam claros na maioria dos pacientes. Para fins deste estudo, avaliar episódios de progressão de doença até a terceira vez se mostrou suficiente para que pudéssemos caracterizar a agressividade clínica do sarcoma, o que era compatível com nossos objetivos. Verificamos que a mortalidade após recorrência da doença foi alta, conforme demonstra a tabela 7.

Os locais de preferência para recidiva à distância foram os clássicos: pulmões, ossos, órgãos intra-abdominais (fígado principalmente) e linfonodos.

Tabela 7 - Episódios de recidiva tumoral e óbitos.

Recidiva local e/ou à distância	Número de pacientes	Óbitos
Primeira recidiva	245	124 (50%)
Segunda recidiva	62	25 (40%)
Terceira recidiva	21	8 (38%)

Ainda avaliamos a existência de segunda neoplasia para caracterizarmos o comportamento clínico oncológico dos pacientes. Obtivemos dados de 494 pacientes para este quesito. Em 449 deles não houve a incidência de nova neoplasia, entretanto, em 45 houve. Os tumores mais frequentes foram carcinoma de mama (8), carcinoma de próstata (7), sarcomas (4), meningioma (3), câncer de pele (3) e carcinoma de tireoide (2), dentre outros.

Em relação ao estado atual dos pacientes, obtivemos informações atualizadas sobre o estado de 455 dentre os 502 pacientes, pois houve perda de seguimento de 47 casos. Notamos que 56% dos pacientes estavam vivos no momento desse estudo. Porém, 16% dos pacientes estavam vivos e com doença. Em 34% dos casos o óbito se deu comprovadamente por sarcoma, denotando a agressividade dessa patologia (Tabela 8).

Tabela 8 - Estado atual dos pacientes.

Estado atual dos pacientes	Número de pacientes (%)
Vivo sem doença	198 (40%)
Vivo com doença	80 (16%)
Óbito por câncer	169 (34%)
Óbito por outras causas	8 (1,5%)
Perda de seguimento	47 (8,5%)
Total	502 (100%)

Avaliamos, ainda, o estado atual dos pacientes em relação à quimioterapia, conforme tabela 9. Obtivemos esses dados de 430 pacientes, sendo que 270 estavam vivos e 160 haviam falecido até a data de finalização da coleta de dados do estudo. Verificamos que quanto mais avançado era o estadiamento, maior era a chance de que o paciente tivesse recebido quimioterapia. Houve associação estatisticamente significativa entre quimioterapia e o óbito dos pacientes ($p=0,003$), o que era esperado, visto que os casos mais avançados e de maior malignidade histológica tendem a receber mais tratamento quimioterápico.

Tabela 9 - Estado atual dos pacientes em relação à quimioterapia por estadiamento.

			Óbito			
			Não		Sim	
Estadiamento			Número	%	Número	%
Clínico			pacientes		pacientes	
I	Quimioterapia	Não	18	85,7%	4	57,1%
		Sim	3	14,3%	3	42,9%
II	Quimioterapia	Não	65	75,6%	7	36,8%
		Sim	21	24,4%	12	63,2%
III	Quimioterapia	Não	37	29,4%	15	28,8%
		Sim	89	70,6%	37	71,2%
IV	Quimioterapia	Não	2	5,4%	24	29,3%
		Sim	35	94,6%	58	70,7%

11.5 Análise Molecular

Características gerais

Para verificarmos a presença e frequência da variante p.Arg337His analisamos DNA proveniente de tecido de 502 sarcomas e encontramos 8% (40 pacientes) de positividade para a variante p. Arg337His.

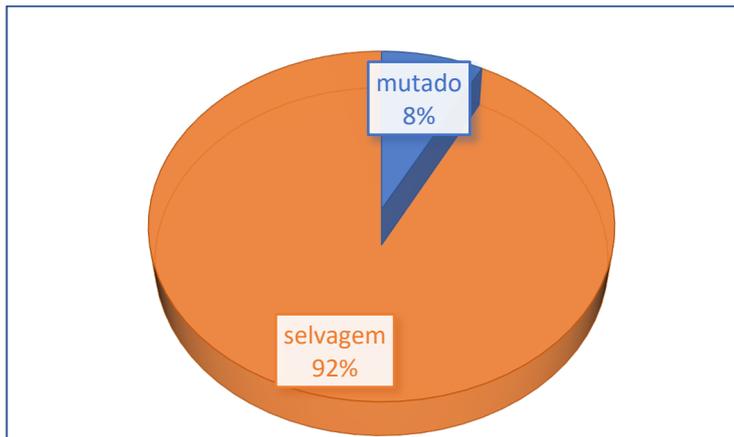


Figura 12 - Presença da variante p.Arg337His.

Em 90% dos casos (36/40), a origem da variante p.Arg337His pôde ser verificada, visto que o DNA germinativo de sangue periférico estava disponível. Todos os casos avaliados do ponto de vista germinativo apresentaram a mesma mutação somática, proporcionando 100% de concordância no material avaliado.

A perda da heteroziguidade dos 40 casos mutados foi inferida a partir dos dados de sequenciamento. Análise comparativa do perfil de sequenciamento entre DNA tumoral e germinativo sugeriu perda do alelo não-mutado em 80% dos casos, como exemplificado na figura 17.

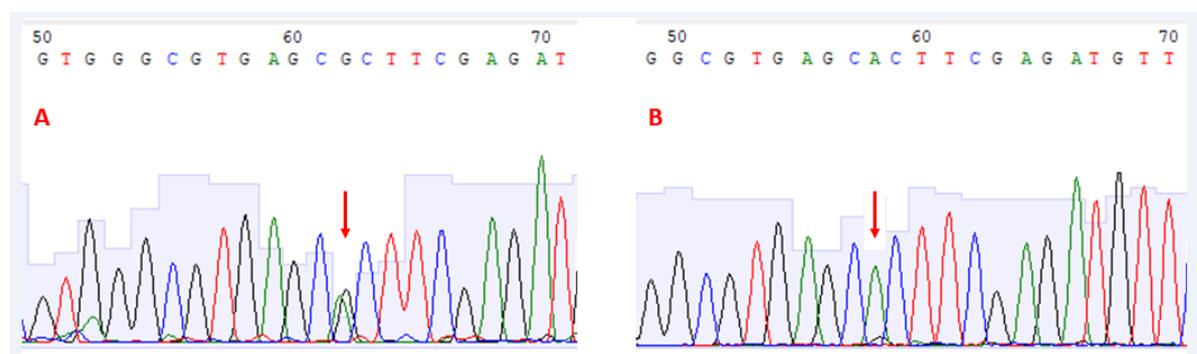


Figura 17 - Perfil de sequenciamento do DNA de sangue periférico (A) e tumoral (B).

11.6 Associação entre a presença da variante p.Arg337His com características clínicas, histopatológicas e de história familiar.

Em relação à faixa etária, não houve significância estatística na regressão logística de Cox. A variante p.Arg337His só foi encontrada em pacientes na faixa etária acima dos 15 anos de idade, particularmente, o paciente portador mais novo de nossa casuística tinha 18 anos ao diagnóstico e o mais idoso 84. Mesmo havendo pacientes pediátricos em nossa casuística (11,6%), todos os casos positivos eram adultos (Figura 18).

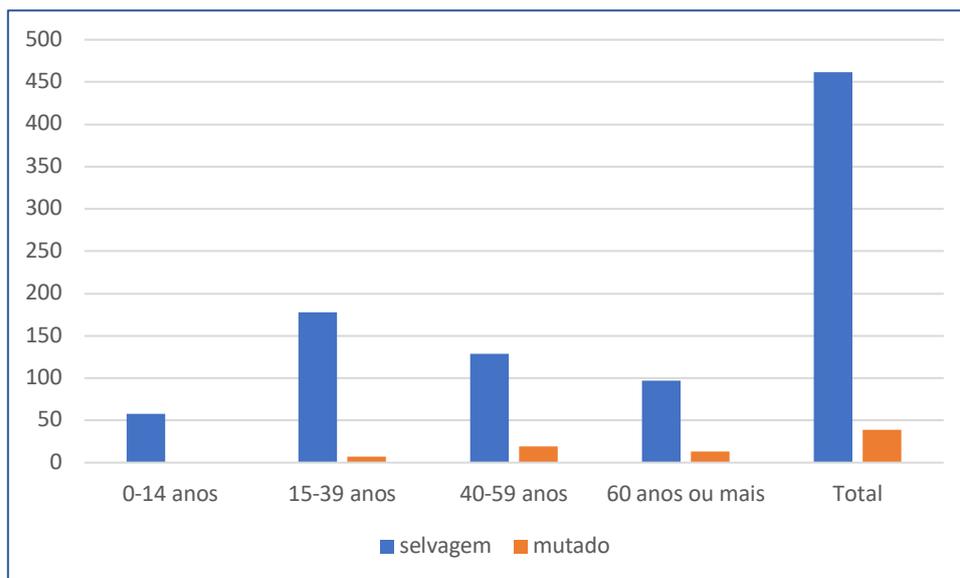


Figura 18 - Presença da variante p.Arg337His por faixa etária.

Observamos ainda uma distribuição similar da variante avaliada em ambos os sexos ($p=0,30$).

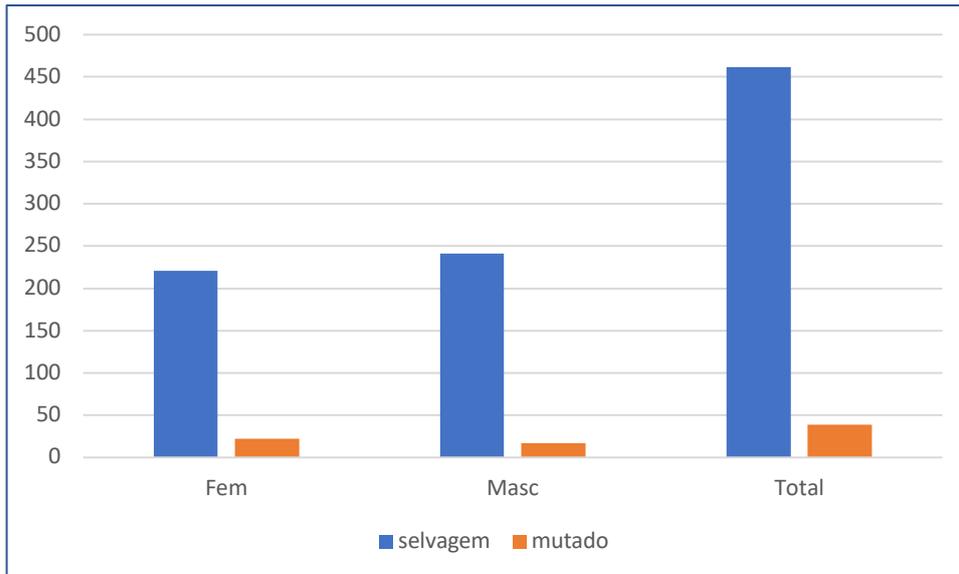


Figura 19 - Presença da variante p.Arg337His por sexo.

Em relação ao subtipo histológico de sarcoma, 71% dos casos estavam localizados em partes moles. No que se refere aos pacientes com a presença da variante p.Arg337His, 52,5% dos portadores pertenciam ao subtipo histológico leiomiossarcoma (21 casos), lipossarcoma (3 casos) e sarcoma indiferenciado (2 casos), conforme pode ser observado na figura 20.

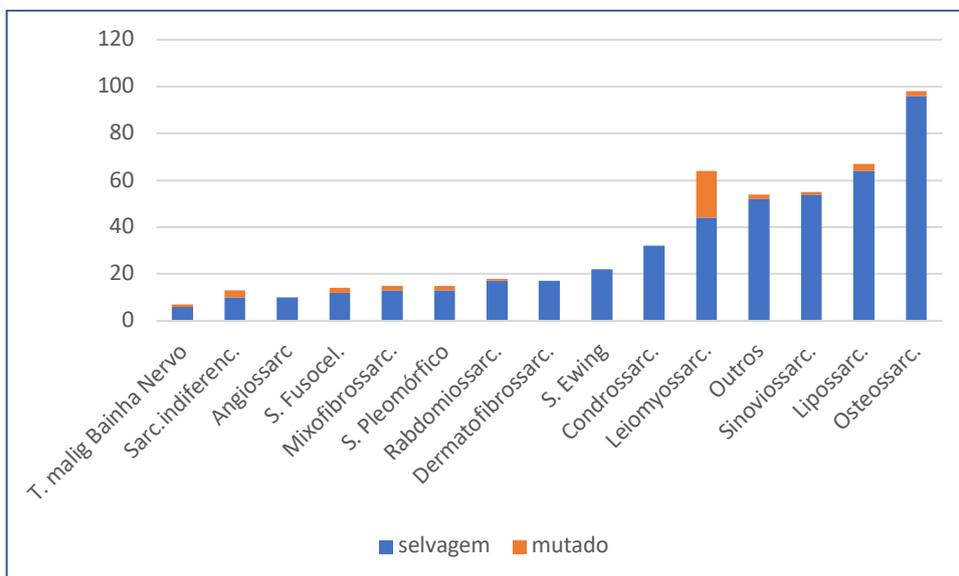


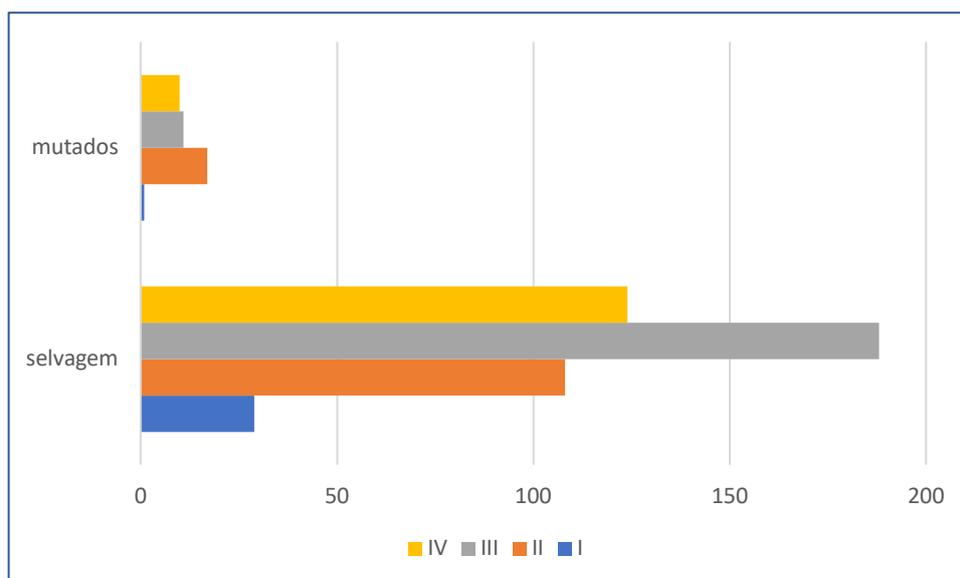
Figura 20 - Subtipos histológicos em relação à variante p.Arg337His.

Verificamos que alguns pacientes apresentaram um segundo tumor, conforme consta na tabela 10. Nestes pacientes, o sarcoma foi o segundo tumor na maioria dos casos, sendo o leiomiossarcoma o mais frequente também nessa circunstância.

Tabela 10 - Pacientes mutados que apresentaram segundo tumor.

ID	Primeiro tumor	Segundo tumor
2	Ca mama (Tumor filódes)	Mixofibrossarcoma
4	Ca renal	Leiomiossarcoma
10	Ca tireoide	Leiomiossarcoma
18	Ca mama	Leiomiossarcoma
20	Ca próstata	Sarcoma mixoide
26	Ca mama	Leiomiossarcoma
35	Ca tireoide	Leiomiossarcoma
36	Leiomiossarcoma	Ca mama

Observamos que, de maneira absoluta, o estadiamento II foi o mais frequente, entretanto, os estádios III e IV, denominados em conjunto como avançados, englobaram a maioria dos pacientes mutados. Esse perfil acompanha o dos não-mutados (Figura 21). Houve significância estatística entre estádios avançados e a variante estudada segundo o teste de Qui-quadrado ($p=0,028$).

**Figura 21** - Estadiamento clínico em relação à variante p.Arg337His.

Quando avaliamos a história familiar de câncer, pudemos observar que várias famílias preenchem critérios diagnósticos para SLF/SFL like, conforme tabela 11. Como alguns critérios têm itens que se sobrepõem, 7 famílias preencheram critérios clássicos, de Birch, Eeles e Chompret ao mesmo tempo, bem como 18 famílias com a mutação não preencheram critério algum. Como o critério Eeles é menos restritivo, maior número de famílias se encaixou. Expressiva tem sido a quantidade de famílias que preenchem critérios *SLF like* na literatura médica referente à variante p.Arg337His e na nossa casuística também.

Tabela 11 - Quantidade de famílias com a variante p.Arg337His que preenchem critérios para SLF e/ou SLF like.

Critério	Número de famílias portadoras
Clássico	7
Birch	7
Eeles	14
Chompret modificado	7

A tabela 12 traz as características dos pacientes portadores da variante p.Arg337His encontrados em nosso estudo, descrevendo a idade ao diagnóstico, a origem da variante (germinativa, somática ou não avaliada), o subtipo histológico, quais tumores foram encontrados nos familiares e o estado atual do paciente.

Tabela 12- Características dos pacientes portadores da variante p.Arg337His: idade ao diagnóstico, a origem da variante (germinativa, somática ou não avaliada), o subtipo histológico, tumores foram encontrados nos familiares e o estado atual do paciente.

ID	Idade	Origem	Subtipo histológico	Tumores em familiares (sexo, idade ao diagnóstico)	Estado atual
1	19	germinativo	leiomiossarcoma	Leiomiossarcoma de próstata (M,49), ca. pulmão não-tabagista (M, 60) 65	vivo
2	37	não testado	mixofibrossarcoma	ca mama (F,60)	vivo
3	28	germinativo	lipossarcoma	T. maligno SNC (F,28), ca colorretal (M,50), ca próstata (M,40)	vivo
4	46	germinativo	leiomiossarcoma	Nenhum caso	vivo
5	59	não testado	leiomiossarcoma	Nenhum caso	óbito
6	52	germinativo	mixofibrossarcoma	ca estômago (M,53), ca mama (F,51)	vivo
7	52	não testado	leiomiossarcoma	ca colorretal (F,60)	óbito
8	25	germinativo	mixofibrossarcoma	T. maligno SNC (F,45), leiomiossarcoma (M,64), melanoma (F,67)	óbito
9	47	não testado	Sarcoma pleomórfico indiferenciado	Nenhum caso	óbito
10	63	germinativo	leiomiossarcoma	ca mama (F,29; F,37; F,50; F,80, F,63), ca colorretal (M,58) ca esôfago (M,52)	vivo
11	60	não testado	Sarcoma pleomórfico indiferenciado	ca esôfago (M,70), ca pediátrico (F,12)	óbito
12	48	germinativo	Sarcoma sinovial	ca mama (F,35), ca. pulmão não-tabagista (F,20), ca colorretal (M,30)	vivo
13	46	não testado	fibrossarcoma	Ca cabeça e pescoço (F,50)	óbito
14	37	germinativo	lipossarcoma	ca mama (F,70; F,58), ca mama bilateral(F,50), sarcoma (M,49), ca colorretal (M,58), ca urotelial (F,66), tumores múltiplos em único indivíduo (F,60; F,58)	óbito
15	29	não testado	leiomiossarcoma	Ca próstata (M,?; M,?)	óbito
16	49	germinativo	leiomiossarcoma	Ca pediátrico (F,6), ca mama (F,30)	vivo

17	71	não testado	leiomiossarcoma	Nenhum caso	óbito
18	60	germinativo	leiomiossarcoma	leucemia (M,40), ca. pulmão não-tabagista (F,78), Ca cabeça e pescoço (M,25)	vivo
19	68	não testado	Sarcoma pleomórfico indiferenciado	Sem informação	óbito
20	52	germinativo	Sarcoma mixoide	Ca. pulmão (M,60), ca estômago (M,50; M,50)	vivo
21	35	não testado	Osteossarcoma	ca estômago (M,?)	óbito
22	53	não testado	Sarcoma pleomórfico indiferenciado	ca. pulmão não-tabagista (M,18), ca mama (F,44; F,50; F,50), ca colorretal (F,84), ca pancreas (F,?)	óbito
23	50	germinativo	leiomiossarcoma	leucemia (F,1), hepatocarcinoma (M,37)	vivo
24	50	germinativo	leiomiossarcoma	T. maligno SNC (F,28), TCA (F,31), ca. pulmão não-tabagista (F,45), ca estômago (M,60)	vivo
25	66	germinativo	Sarcoma fusocelular, NOS	T.maligno SNC (M,60; F,42;M,41), ca mama (F,50; F,40), ca mama bilateral (F,32) leucemia (M,12), ca. pulmão (M,50), ca estômago (F,45; M,45), tumores múltiplos em único indivíduo (F,32), melanoma (F,44)	vivo
26	50	germinativo	leiomiossarcoma	ca colorretal (W,70)	vivo
27	53	germinativo	leiomiossarcoma	sarcoma (F,68), TCA (M,23), ca. pulmão não-tabagista (M,44;F,73; F,49; F,54), ca estômago (M,61) , leucemia (F,40), ca renal (F,39), GIST (M,59)	vivo
28	49	germinativo	T. Malig. Nervo periférico	TCA (F,1; F,32), ca colorretal (F,35), ca estômago (F,55; F,?), ca. pulmão (M,55)	vivo

29	61	germinativo	leiomiossarcoma	T. maligno SNC (F,62), ca pulmão (M,65), sarcoma (F,76), ca colorretal (F,40)	óbito
30	75	não testado	lipossarcoma	Nenhum caso	vivo
31	60	germinativo	leiomiossarcoma	TCA(M,5), sarcoma (F,60)	vivo
32	18	não testado	osteossarcoma	Sem informação	óbito
33	64	germinativo	leiomiossarcoma	TCA (F,2), ca colorretal (F,45), leucemia (F,62)	óbito
34	58	não testado	leiomiossarcoma	Nenhum caso	vivo
35	59	germinativo	leiomiossarcoma	Ca próstata (M,83; M,75), ca. colorretal (F,50)	vivo
36	61	germinativo	leiomiossarcoma	ca mama (F,64; F,50; F,40; F,50), ca. pulmão não-tabagista (F,80)	vivo
37	42	não testado	leiomiossarcoma	Sem informação	vivo
38	41	não testado	rabdomiossarcoma	Sem informação	óbito
39	82	não testado	Sarcoma fusocelular, NOS	Sem informação	óbito
40	21	não testado	leiomiossarcoma	Ca. colorretal (F,60)	vivo

Associação entre a presença da variante p.Arg337His com o tratamento oncológico.

No que se refere à ressecção cirúrgica, não houve diferenças com significância estatística ($p=0,965$) entre o tipo de ressecção cirúrgica e a presença da variante p.Arg337His (Figura 22).

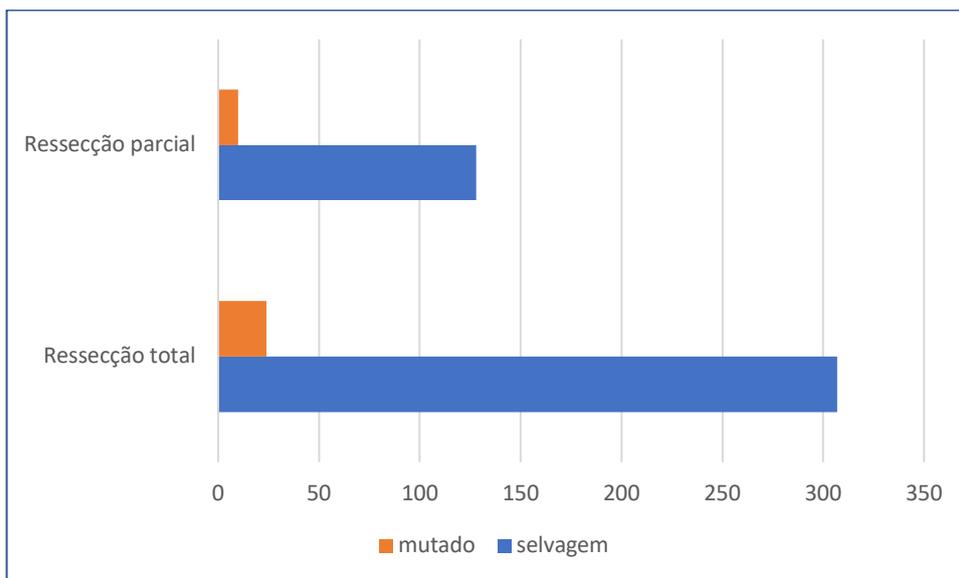


Figura 22 - Ressecção cirúrgica em relação à variante p.Arg337His.

Dos 464 pacientes avaliados, 161 (34%) receberam radioterapia como modalidade terapêutica. Os pacientes com estadiamento avançado (III e IV) foram os que mais se submeteram à radioterapia, tanto no contexto curativo quanto paliativo. Dos pacientes portadores da variante p.Arg337His, 16 receberam radioterapia como parte do tratamento e 22 não receberam (Tabela 13). Para 2 pacientes positivos não houve disponibilidade dessa informação. Não houve associação estatisticamente significativa entre as variáveis radioterapia e mutação p.Arg337His ($p=0,376$).

Tabela 13 - Variante p.Arg337His em relação à radioterapia e ao estadiamento clínico.

				Variante p.Arg337His	
				Selvagem	Mutado
				n	n
Radioterapia	Não	Estadiamento clínico	I	20	1
			II	59	1028)
			III	113	7
			IV	70	4
	Sim	Estadiamento clínico	I	4	0
			II	34	6
			III	59	6
			IV	41	4

Para avaliarmos a variante p.Arg337His em relação ao tratamento quimioterápico, levamos em consideração o estadiamento do paciente. Em 411 casos obtivemos essas variáveis para análise simultânea, conforme demonstra a tabela 14. Não houve associação estatisticamente significativa entre as variáveis quimioterapia por estadiamento e presença da variante patogênica ($p=0,194$).

Tabela 14 - Variante p.Arg337His em relação à quimioterapia e ao estadiamento clínico.

				Variante p.Arg337His	
				Selvagem	Mutado
				n	n
Quimioterapia	Não	Estadiamento clínico	I	19	1
			II	71	10
			III	52	8
			IV	27	2
	Sim	Estadiamento clínico	I	5	0
			II	25	6
			III	125	5
			IV	87	6

No que se refere à ocorrência de recidiva tumoral dos pacientes portadores da variante p.Arg337His, houve aqueles que experimentaram recidivas do sarcoma em questão, conforme tabela 15. Esta tabela também demonstra quantos casos positivos foram a óbito após cada um dos episódios de recidiva.

Verificamos que após o primeiro episódio de recidiva a mortalidade é alta, principalmente quando a recidiva é à distância. Fato que confere com o comportamento clínico dos pacientes com sarcoma e sem a mutação.

Verificamos não haver significância estatística entre recidiva tumoral e a presença da variante p.Arg337His pelo teste Qui-quadrado ($p=0,540$).

Tabela 15 - Episódios de recidiva tumoral e óbitos nos portadores da variante p.Arg337His.

Tipo de recidiva do sarcoma	Número de pacientes	Óbitos
	Mutados	N (%)
Primeira recidiva local	10	3 (30%)
Primeira recidiva à distância	12	6 (50%)
Segunda recidiva local	5	1 (20%)
Segunda recidiva à distância	6	2 (33%)
Terceira recidiva local	1	0 (-)
Terceira recidiva à distância	2	0

A tabela 16 demonstra o estado atual dos pacientes ao término do estudo em relação à presença da variante p.Arg337His. A maioria dos pacientes encontrava-se viva, mesmo que com doença. Quando avaliamos as variáveis óbito por câncer e a variante avaliada pelo teste Qui-quadrado, não observamos diferença estatisticamente significativa ($p=0,49$).

Tabela 16 - Estado atual do paciente em relação à variante p.Arg337His.

Estado atual pacientes	Variante p.Arg337His	
	Selvagem	Mutado
	n	n
Vivo sem doença	178	20
Vivo com doença	70	10
Óbito por câncer	161	8
Óbito por outras causas	6	2
Perda de seguimento	47	0
Total	462	40

Em relação à sobrevida, pudemos avaliar 487 pacientes com sarcomas em relação à morte especificamente por câncer. Observamos que a sobrevida em 10 anos foi de 40% para o grupo estudado como um todo.

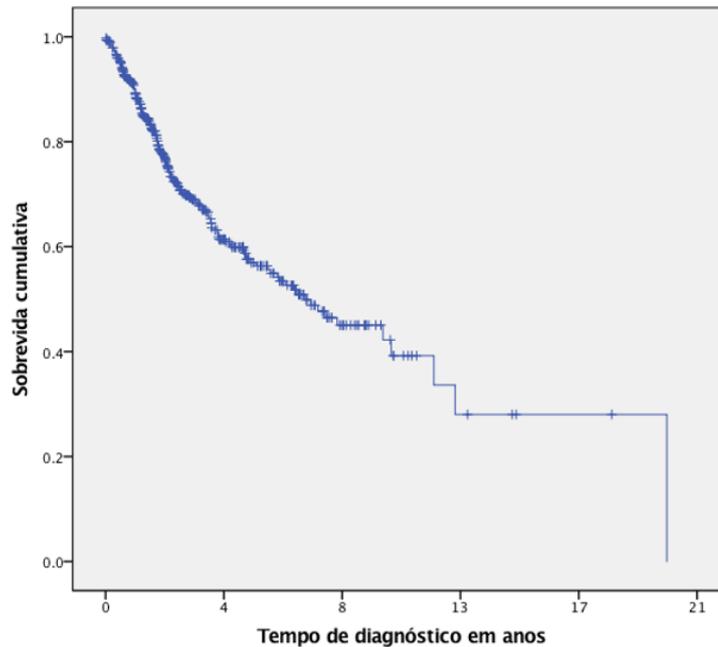


Figura 23 - Sobrevida cumulativa dos pacientes.

Na comparação entre a curva de sobrevida dos pacientes com o gene selvagem e a curva dos pacientes com a variante patogênica p.Arg337His não observamos diferença estatisticamente significativa ($p=0,49$).

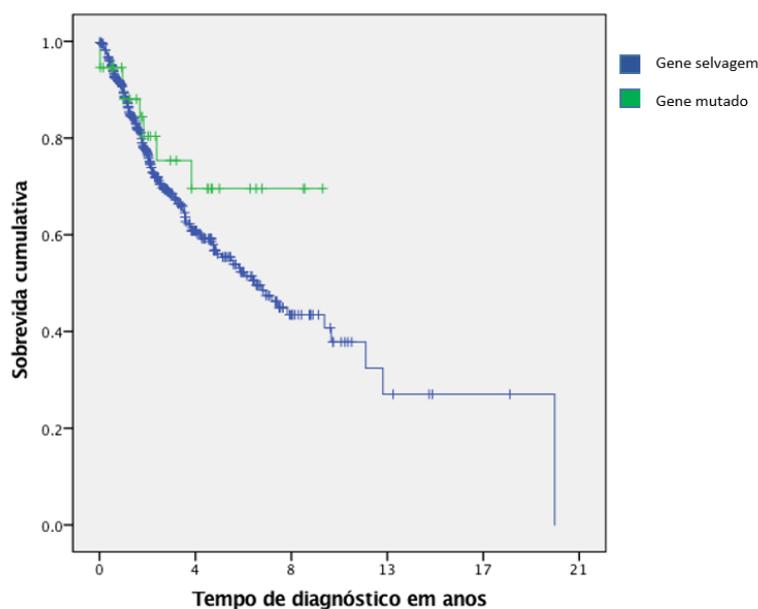


Figura 24 - Sobrevida cumulativa dos pacientes com gene selvagem e gene mutado.

Como a ressecção cirúrgica é um fator que influencia a sobrevida, dividimos os pacientes em dois grandes grupos: ressecção total e ressecção parcial. A Curva de Kaplan-Meier está representada na Figura 25.

Verificamos que houve diferença estatisticamente significativa entre as curvas ($p \leq 0,005$), favorecendo os pacientes que alcançaram ressecção total. Não houve diferença de sobrevida entre os pacientes portadores e os não-portadores da mutação p. Arg337His.

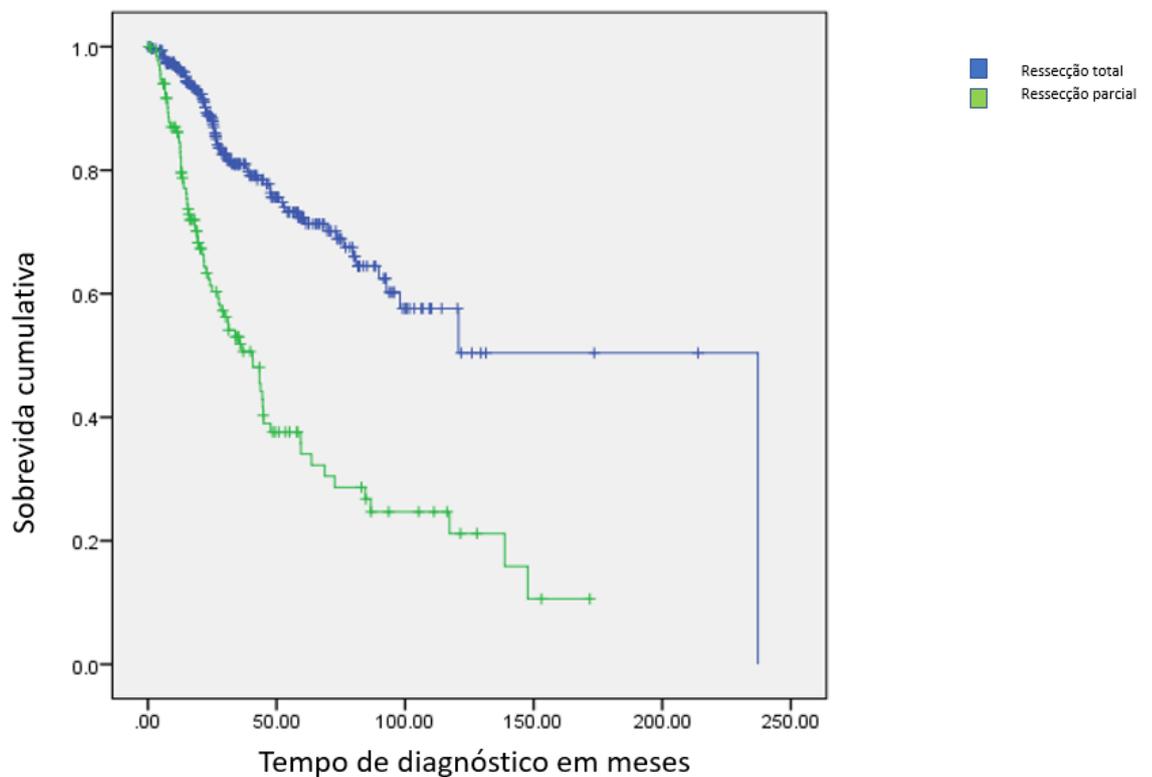


Figura 25 - Sobrevida cumulativa dos pacientes em relação à ressecção cirúrgica.

11.7 Ancestralidade.

Em relação à ancestralidade, analisamos pacientes portadores da variante p.Arg337His e não portadores (Figura 26). A proporção média de ancestralidade foi de 66,3% para os Europeus, seguidos dos Africanos com 15,6%, Asiáticos com 10,7% e Nativos americanos com 7,4%. O perfil ancestral dos mutados foi semelhante ao dos não mutados.

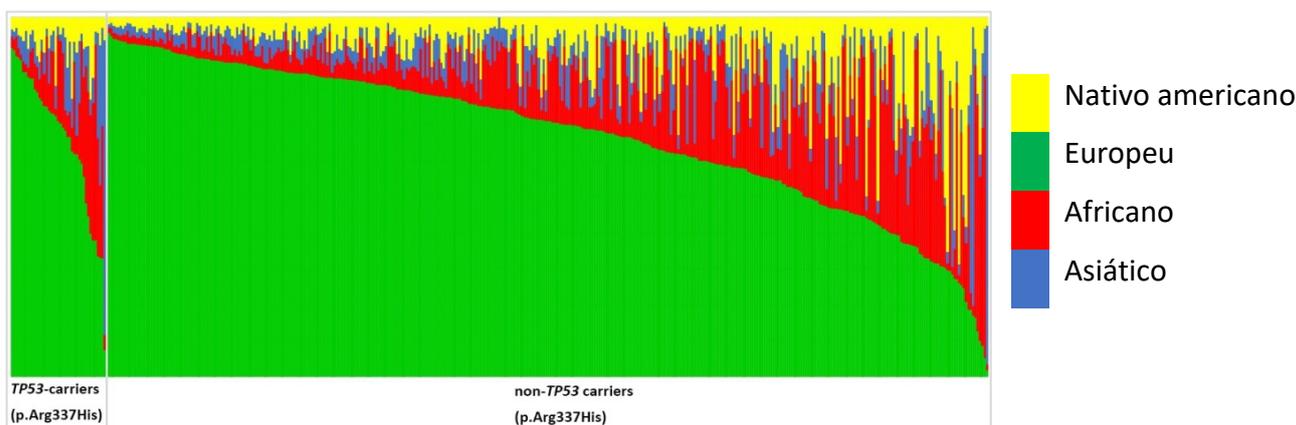


Figura 26 - Perfil ancestral de todos os pacientes avaliados. Na esquerda estão os pacientes mutados e na direita os não mutados.

No que se refere à etnia, o paciente declarou pertencer a uma das etnias a seguir: branca, negra, parda ou outra (principalmente oriental). Observamos que 14% dos pacientes não declararam sua etnia. A etnia branca foi a predominantemente declarada pelos pacientes, correspondendo a 61% dos casos, seguida pela parda (19%), negra (5%) e outra (1%).

Dentre os pacientes com a variante p.Arg337His, a maioria se declarou como branca (72,5%) e 27,5% afirmaram ser pardos. De maneira semelhante à população geral desse estudo.

Ao compararmos a etnia declarada com o perfil de ancestralidade, observamos que houve concordância de dados em relação a etnia europeia. Verificamos, em prontuário, que 61% dos pacientes se declararam brancos e a proporção média de ancestralidade europeia foi de 66,3%. Entretanto, apenas 5% se declararam negros, enquanto houve 15,6% de ancestralidade predominantemente africana. Em relação à ancestralidade predominante dos

grupos Asiáticos (10,7%) e Nativos americanos (7,4%), houve total discrepância, pois apenas 1% se declaram como pertencentes a outras etnias.

A proporção de ancestralidade avaliada geneticamente demonstrou perfil predominantemente europeu, seguido pelo africano, não havendo diferença entre os portadores da variante patogênica p.Arg337His e os não portadores.

Ao relacionarmos a região de nascimento e de procedência dos pacientes em geral, pudemos observar o padrão de migração interno característico de nossa nação e períodos históricos. Quando associamos os casos portadores da variante p.Arg337His com a região de nascimento, verificamos uma maior concentração na região Sudeste. Maiores informações sobre essa distribuição podem ser observadas na figura 27.



Figura 27 - Região de nascimento dos pacientes portadores da variante p.Arg337His.

Ao associarmos os pacientes portadores da variante analisada com a região de procedência, verificamos migração entre Minas Gerais e São Paulo, mas mantendo o mesmo número final de pacientes por região. O paciente natural do Paraná migrou para Rondônia,

estabelecendo família numerosa naquela região, seguindo o padrão migratório típico do século XX (Figuras 28 e 29).



Figura 28 - Região de procedência dos pacientes portadores da mutação p.Arg337His

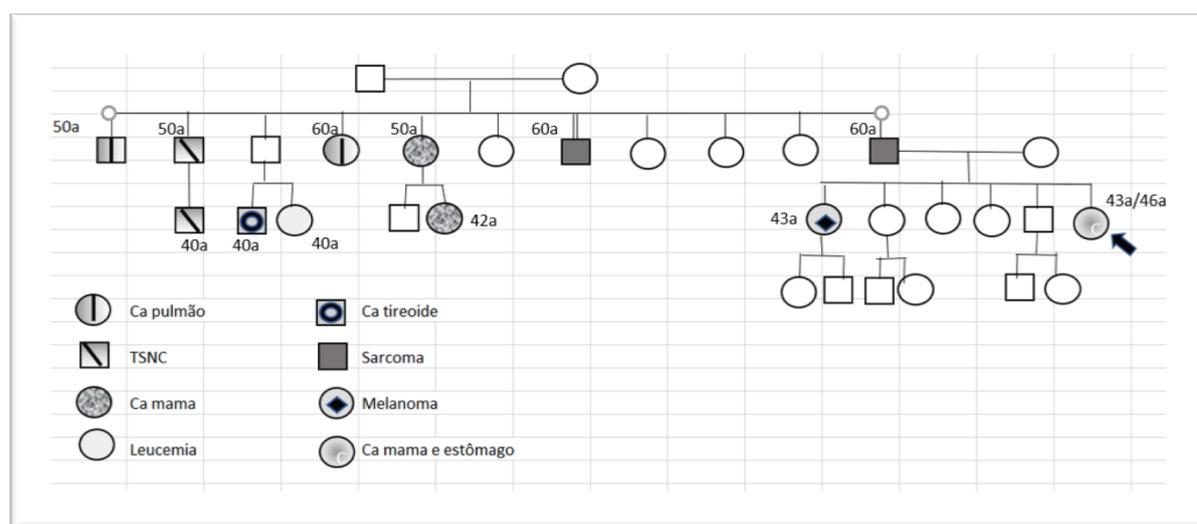


Figura 29 – Heredograma da família paranaense que migrou para Rondônia.

Na família exemplificada na figura 29, verificamos que o probando (apontado pela seta) nasceu em Rondônia, mas seu pai, portador de sarcoma, nasceu no Paraná. Portanto, este caso exemplifica bem o caminho percorrido, em solo nacional, pela variante patogênica p.Arg337His.

11.8 Pacientes que preencheram critérios para SLF e não eram portadores da variante p.Arg337His.

Durante o curso do projeto, encontramos alguns pacientes com sarcomas cujas famílias preenchiam critérios para SLF segundo Chompret modificado, porém a variante p.Arg337His não estava presente. Na entrega do laudo, 12 famílias aceitaram ser encaminhadas para o Serviço de Oncogenética para avaliação e conduta. Pudemos detectar variantes germinativas em 4 desses casos (outras que não a p.Arg337His), que passaram a ser acompanhadas segundo protocolos da instituição.

O primeiro caso tinha como probando um paciente do sexo masculino de 17 anos. Havia duas tias maternas com câncer de mama em idade jovem. Encontramos uma variante germinativa no gene *CHEK2* nessa família.

No segundo caso, o probando apresentava leiomiossarcoma de baixo grau renal na vida adulta, porém o caso de câncer pediátrico em sua filha tratava-se de um retinoblastoma. Foi confirmada variante germinativa no gene *RB1*.

O terceiro paciente apresentava sarcoma pleomórfico de ombro aos 37 anos. Uma de suas irmãs havia falecido por condrossarcoma de mandíbula aos 27 anos. Havia outra irmã com câncer de mama aos 30 anos e um sobrinho falecido por câncer pediátrico aos 13 anos (não souberam informar mais dados sobre este paciente). No sequenciamento do gene *TP53*, encontramos a variante germinativa p.Trp53Ter(c.158G>A) no éxon 4.

A quarta paciente era uma menina com múltiplos tumores. Apresentou Carcinoma de adrenal no primeiro ano de vida e rabdomiossarcoma embrionário paranasal aos 4 anos. Encontramos a variante germinativa p.Arg175His no éxon 5 do gene *TP53*. Entretanto, era uma mutação *de novo*, ou seja, não estava presente em seus genitores.

Interpretando os dados acima, dentro de nossa ampla casuística, tendo como probando um caso de sarcoma, houve a inclusão de duas famílias com mutações alheias ao gene *TP53*.

Uma delas com mutação no *CHEK2*, que pode estar presente na SLF.

A única outra com Síndrome de predisposição hereditária ao câncer que se sobrepôs à SLF em nosso estudo foi o Retinoblastoma familiar (gene *RB1* mutado).

11.9 Avaliação social dos pacientes estudados.

Em nossa casuística pudemos avaliar os pacientes com sarcomas do ponto de vista étnico. Classificamos os pacientes como sendo pertencente a cada um dos grandes grupos ancestrais caso tivesse mais de 30% de marcadores genéticos para um dos grupos.

Usamos a escolaridade declarada para traçarmos um perfil social desses pacientes.

Ao relacionarmos os grupos étnicos com a escolaridade, claramente observamos que os pacientes com predomínio de ancestralidade europeia alcançaram ensino superior em maior número que os com outros subtipos étnicos predominantes, o que foi estatisticamente significativo ($p=0,014$).

Tabela 17 - Escolaridade em relação à ancestralidade predominante.

Escolaridade	Africana	Europeia	Asiática	Ameríndea
	n	n	n	n
Analfabeto	3	14	1	1
Fundamental incompleto	3	140	1	3
Fundamental completo	2	25	0	2
Ensino médio incompleto	2	25	0	1
Ensino médio completo	2	40	1	0
Superior incompleto	1	12	0	0
Superior completo	0	27	1	0

Em relação aos pacientes com a variante p.Arg337His, a escolaridade se comportou de maneira semelhante ao ilustrado na tabela 17, predominando a escolaridade fundamental incompleta, o que é considerado insuficiente para uma população predominantemente adulta segundo padrões nacionais⁸⁴. Não houve correlação estatística entre as variáveis escolaridade e presença da variante patogênica ($p=0,48$). Esses dados podem ser visualizados na tabela 18.

Tabela 18 - Escolaridade em relação à variante p.Arg337His.

Escolaridade	Variante p.Arg337His	
	Selvagem	Mutado
	n	n
Analfabeto	23	2
Fundamental incompleto	194	19
Fundamental completo	44	0
Ensino médio incompleto	30	1
Ensino médio completo	67	8
Superior incompleto	19	2
Superior completo	38	6

12. DISCUSSÃO.

A população de estudo é composta por 502 pacientes portadores de sarcomas tratados em uma única instituição, o Hospital de Câncer de Barretos em São Paulo. A população foi selecionada a partir do diagnóstico, independentemente da idade, sexo, história familiar ou qualquer outra variável. Sendo assim, a distribuição etária respeitou o padrão da instituição, cuja maioria dos pacientes encontra-se acima de 18 anos de idade. Em relação ao sexo, a amostra se mostrou balanceada.

A nossa casuística, apesar de robusta, não conta com uma população expressiva de crianças (12%) tanto quanto de adultos e isso pode ter contribuído com o fato de não havermos encontrado a variante patogênica de estudo nessa faixa etária, sendo uma limitação deste trabalho.

Como o hospital recebe seus pacientes via Sistema Único de Saúde (SUS), que atende grande parcela da população de baixa renda e que não tem acesso ao sistema privado de saúde, a população de estudo respeitou essas características gerais. Pudemos demonstrar isso a partir do dado escolaridade, visto que o nível escolar que predominou em nossos pacientes foi o “fundamental incompleto”. Considerando que 88% dos pacientes avaliados tinham idade superior a 15 anos e que o ensino fundamental no Brasil idealmente finaliza aos 14 anos, a população estudada pôde ser caracterizada como de baixa escolaridade.

Por se tratar de uma população predominantemente adulta, nos dados demográficos, pudemos verificar que o estado civil “casado/amasiado” foi o mais frequente, o que corrobora com o perfil traçado pelos dados anteriormente discutidos.

O objetivo principal deste estudo foi avaliar a presença da variante p.Arg337His nos pacientes portadores de sarcoma atendidos na instituição de 2008 a 2016, e a partir deste dado, relacionar outras variáveis que pudessem lançar luz sobre esse fenômeno.

Nosso objetivo foi alcançado e encontramos 8% de casos com a variante patogênica p.Arg337His dentre a população de estudo. Deve ser ressaltado o fato de que essa porcentagem é expressiva, visto que para outros tumores do espectro Li Fraumeni já estudados para a mesma variante, os valores foram inferiores, como para o câncer de mama (2,4%), por exemplo ⁴⁷.

Ainda em relação ao câncer de mama, trabalho recente encontrou frequência de 2,2% de variantes patogênicas diversas do gene *TP53* em mulheres jovens com esse tipo de tumor na Holanda ⁸⁵. Portanto, para uma população de mulheres com câncer de mama, variantes patogênicas do gene *TP53*, incluindo a p.Arg337His, são encontradas em um valor menor quando comparado com a frequência de 8% encontrada para sarcomas em nosso estudo.

Por outro lado, alguns tumores estão fortemente relacionados com variantes patogênicas do gene *TP53*, como o carcinoma de córtex de adrenal, onde existe 50-97% de chance de desenvolvimento do tumor em crianças portadoras ⁸⁶.

O carcinoma de plexo coroide também tem forte associação com variantes patogênicas do gene *TP53*, incluindo a p.Arg337His, como demonstrado por Seidinger e colaboradores, onde 9 dentre 13 pacientes (69%) com esse diagnóstico eram portadores ⁷.

A mesma autora demonstrou que 3 dentre 41 pacientes (7,3%) com osteossarcoma eram portadores da variante p.Arg337His. Esse estudo ainda avaliou 25 casos de sarcoma de Ewing e 8 casos de rhabdomyosarcoma na infância, não encontrando a variante patogênica p.Arg337His em nenhum desses últimos subtipos tumorais. Nossos dados corroboram com essa frequência⁷, ratificando a importância dos sarcomas e da idade no contexto da SLF/SLF like. Pois, ao não limitarmos a idade apenas na faixa pediátrica, pudemos ter a chance de verificar que a mutação brasileira ocorre também em adultos e não somente em osteossarcoma.

Em nossa casuística, 71% dos casos estavam localizados em partes moles, visto que englobamos não somente os de extremidades, mas os de tronco e vísceras. Entretanto, o osteossarcoma foi o tumor de maior frequência em números absolutos, quando consideramos os subtipos de sarcomas em geral.

Dentre os tumores com a variante p.Arg337His, 52,5% pertenciam ao subtipo histológico leiomiiossarcoma, denotando a importância desse tumor no contexto da SLF no Brasil. Este dado ainda não havia sido descrito em relação a esta mutação específica do gene *TP53*. O leiomiiossarcoma é um dos subtipos mais comuns de sarcomas de partes moles, geralmente sendo superado pelo lipossarcoma estatisticamente. De uma maneira geral, dentre os subtipos histológico de sarcomas de partes moles, o mais frequente é o lipossarcoma (20%), seguido pelo leiomiiossarcoma (14%)⁴⁷, entretanto, em nossa casuística, a diferença entre os dois foi menor. Tivemos 67 casos de lipossarcoma (13,4%) e 65 de leiomiiossarcoma (12,9%).

Neste ponto específico, a epidemiologia dos sarcomas no Brasil difere da mundial e este dado também não havia sido documentado na literatura médica até o presente momento.

Em relação aos sarcomas de partes moles exclusivamente, podemos inferir que a presença da variante patogênica p.Arg337His pode ter propiciado o desenvolvimento desse subtipo específico de tumor, inclusive com impacto epidemiológico, demonstrado em nossos dados.

De acordo com o banco de dados sobre variantes patogênicas no *TP53* do IARC, o leiomiossarcoma corresponde a 9,1% dos sarcomas em portadores⁶⁵. Para esses pacientes, a média de idade foi de 44 anos. Ainda no banco do IARC, as variantes patogênicas mais encontradas em sarcomas estavam nas posições 125 (no domínio de ligação do DNA), 337 e 344 (no domínio de tetramerização do DNA).

Em relação aos sarcomas e a variante p.Arg337His, no banco de dados do IARC, os casos portadores apresentaram um risco significativamente elevado para leiomiossarcoma (OR:10,1;95%CI).⁶⁵

Tradicionalmente, o leiomiossarcoma é um tumor cuja cura está atrelada ao diagnóstico precoce e à ressecção completa. Não respondendo bem ao tratamento quimio e radioterápico atualmente disponíveis, a prevenção é peça chave no manejo dessa patologia.

Houve 100% de concordância entre alterações somáticas e germinativas, ou seja, sempre que encontramos a variante p.Arg337His em material tumoral e pudemos avaliar constitutivamente o sangue periférico do paciente, a mesma estava presente.

Ao encontrarmos 8% de tumores com a variante patogênica p.Arg337His e alta correlação com material germinativo, demonstramos a validade da triagem oncogenética para SLF/SLF like a partir de um tipo específico de neoplasia, no caso o sarcoma.

Ainda sob o ponto de vista da prevenção, nossos dados demonstram que o sarcoma pode vir como segundo tumor no mesmo indivíduo, sendo o leiomiossarcoma o subtipo mais frequente também nessa circunstância.

Trabalhos já demonstraram fartamente a relevância da variante patogênica p.Arg337His no Sul e Sudeste do Brasil, inclusive quantificando a prevalência da mesma em estudo populacional através da triagem neonatal no Paraná, onde encontraram 0,3% de frequência dessa alteração no gene *TP53*³¹. Essa alta prevalência corrobora com nossos dados, ratificando a necessidade de reconhecermos famílias portadoras com o intuito de lhes oferecer protocolos de prevenção clínica.

Observamos em nossa casuística que 67% dos pacientes avaliados encontravam-se em estadios avançados (III e IV), denotando tanto a malignidade da doença, quanto as dificuldades inerentes ao sistema de saúde brasileiro, principalmente público, em realizar o diagnóstico precoce do câncer.

Em relação à sobrevida dos pacientes analisados, após várias análises exploratórias, verificamos que apenas o grau de ressecção foi significativo ($p \leq 0,005$).

Sendo o sarcoma uma patologia altamente agressiva, nossos dados puderam demonstrar que a mortalidade foi importante após a primeira recidiva, como classicamente descrito⁴⁷.

O comportamento clínico foi mais agressivo nos portadores da variante p.Arg337His em relação ao estadiamento tumoral quando comparado aos casos não portadores da mutação ($p=0,028$). A presença dessa variante patogênica não tem sido relacionada à agressividade tumoral em sarcomas, entretanto, poucos estudos têm abordado especificamente esse tema. Como nossa casuística é robusta (502 pacientes com sarcoma) e avaliou pacientes independentemente da idade, esse dado também se torna relevante.

O perfil étnico dos pacientes foi concordante com a etnia declarada e seguiu o padrão populacional das regiões Sul e Sudeste do país, onde predomina a ancestralidade europeia. Historicamente, verificamos que a contribuição europeia para a formação da população do Brasil é mais expressiva na parte Meridional do país do que nos estados do Norte e Nordeste. Mesmo não havendo diferença de padrão étnico entre os pacientes portadores da mutação e os não-portadores, podemos afirmar que os mesmos seguem o padrão populacional, portanto, são predominantemente de origem europeia.

Ainda do ponto de vista histórico-geográfico, nossa casuística comprova que a variante p.Arg337His não se encontra restrita ao Sul do Brasil, seguindo a rota migratória interna Sul-Centro-Norte, estimulada por determinantes econômicos do século XX. Enfatizamos que para se compreender adequadamente as implicações epidemiológicas da SLF/SLF like no Brasil, precisamos valorizar a nossa história, ratificando que os movimentos populacionais internos modificam não somente a linguagem e costumes das populações, bem como o padrão de patologias a que estarão expostas.

Pudemos, ainda, verificar em nossa casuística baixo nível econômico e de escolaridade, conforme a população geral de nosso país. Verificamos que a maioria dos indivíduos com nível

superior incompleto ou completo pertenciam à etnia europeia, ratificando a diferença socioeconômica que existe entre as várias etnias em solo nacional.

No Brasil, caracteristicamente, os estadios avançados são os mais frequentes⁸⁷. A baixa renda e baixa escolaridade da população atendida pelo SUS contribuem para essa realidade.

Ao traçar um perfil social e econômico dos pacientes com sarcomas tratados pelo SUS no Brasil, também contribuimos com a melhor caracterização dessa patologia em nosso meio, visto que os dados são escassos.

CONCLUSÕES.

O presente trabalho alcançou sucesso ao contemplar adequadamente seus objetivos, tanto específicos quanto gerais.

Nossa casuística demonstrou a presença da variante p.Arg337His (8%) em uma população ampla (502 pacientes), cuja única seleção prévia foi ser portadora de sarcoma, independentemente de história familiar de câncer, idade, sexo ou qualquer outra variável. E houve 100% de concordância entre o material somático e o germinativo nos 36 casos investigados (36/40).

Um dos objetivos secundários do nosso trabalho era traçar um perfil social, econômico e étnico dos pacientes com sarcoma tratados no Brasil. Obtivemos êxito, ressaltando que a população estudada, embora ampla, era proveniente do sistema público de saúde (SUS) e, portanto, reflete apenas a realidade dessa parcela da população. Nossa casuística contou com predominância étnica europeia e de baixa escolaridade. O perfil ancestral dos pacientes portadores da variante patogênica estudada foi semelhante ao dos não portadores.

Ao detalharmos a história de ocupação do território nacional, particularmente a migração interna expressiva de indivíduos nativos do Brasil Meridional para o Centro-Oeste e Norte e não para o Nordeste, estamos embasando a importância epidemiológica que o caminho de uma variante patogênica pode ter em nosso país.

Conseguimos, inclusive, documentar uma numerosa família natural do Paraná, que migrou para Rondônia e levou consigo a variante patogênica (figura 29). Vários indivíduos dessa família, agora nascidos no Norte do Brasil, vieram a desenvolver câncer dentro do contexto da SLF. Reconhecer esse fenômeno pode facilitar políticas públicas de prevenção e melhorar o acesso da população ao diagnóstico precoce do câncer.

Ressaltamos que o sarcoma sempre foi componente importante da SLF, fazendo parte dos critérios clássicos descritos por Dr. Li e Dr. Fraumeni no século XX.

Nossa observação, entretanto, é original na literatura médica e coloca o sarcoma como um dos principais tumores que caracteristicamente podem acometer os portadores da variante patogênica p.Arg337His.

Verificamos, ainda, que dentre os subtipos histológicos dos sarcomas, os portadores da variante p.Arg337His apresentaram um em especial, o leiomiossarcoma, correspondendo a 52,5% dos casos.

Do ponto de vista clínico, o sarcoma tende a ser um tumor de prognóstico reservado, principalmente em casos avançados (estádios III e IV), como a maioria da nossa casuística. Nossos dados sugerem que a presença da variante tenha conferido maior agressividade tumoral aos pacientes portadores ($p=0,028$), embora não tenha apresentado impacto na curva de sobrevida. Ressaltamos que a alta letalidade característica dos sarcomas pode ter influenciado essa avaliação.

Por fim, nossos dados sugerem que o leiomiossarcoma deva ser considerado um tumor central (core tumor) na SLF associada à variante brasileira p.Arg337His.

Sugerem, também, que a investigação desta variante patogênica possa ser pesquisada em material tumoral de pacientes com sarcoma, como triagem para encaminhamento a aconselhamento genético e posterior confirmação em DNA germinativo.

REFERÊNCIAS

1. Fraumeni JF, Jr. *A conversation with Joseph F. Fraumeni, Jr. Interviewed by Robert N. Hoover.* **Epidemiology.** 2013;24(6):929-33.
2. Li FP, Fraumeni JF, Jr. *Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A familial syndrome?* **Ann Intern Med.** 1969;71(4):747-52.
3. Li FP, Fraumeni JF, Jr. *Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and identification of a familial cancer syndrome.* **J Natl Cancer Inst.** 1969;43(6):1365-73.
4. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF, Jr., Nelson CE, Kim DH, et al. *Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms.* **Science.** 1990;250(4985):1233-8.
5. Sandrini R, Ribeiro RC, DeLacerda L. *Childhood adrenocortical tumors.* **J Clin Endocrinol Metab.** 1997;82(7):2027-31.
6. Ribeiro RC, Sandrini F, Figueiredo B, Zambetti GP, Michalkiewicz E, Lafferty AR, et al. *An inherited p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical carcinoma.* **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2001;98(16):9330-5.
7. Seidinger AL, Mastellaro MJ, Paschoal Fortes F, Godoy Assumpcao J, Aparecida Cardinali I, Aparecida Ganazza M, et al. *Association of the highly prevalent TP53 R337H mutation with pediatric choroid plexus carcinoma and osteosarcoma in southeast Brazil.* **Cancer.** 2011;117(10):2228-35.
8. Pearson AD, Craft AW, Ratcliffe JM, Birch JM, Morris-Jones P, Roberts DF. *Two families with the Li-Fraumeni cancer family syndrome.* **J Med Genet.** 1982;19(5):362-5.
9. Li FP, Fraumeni JF, Jr., Mulvihill JJ, Blattner WA, Dreyfus MG, Tucker MA, et al. *A cancer family syndrome in twenty-four kindreds.* **Cancer Res.** 1988;48(18):5358-62.
10. Birch JM, Hartley AL, Marsden HB, Harris M, Swindell R. *Excess risk of breast cancer in the mothers of children with soft tissue sarcomas.* **Br J Cancer.** 1984;49(3):325-31.

11. Birch JM, Hartley AL, Tricker KJ, Prosser J, Condie A, Kelsey AM, et al. *Prevalence and diversity of constitutional mutations in the p53 gene among 21 Li-Fraumeni families.* **Cancer Res.** 1994;54(5):1298-304.
12. Eeles RA. *Germline mutations in the TP53 gene.* **Cancer Surv.** 1995;25:101-24.
13. Hartley AL, Birch JM, Kelsey AM, Marsden HB, Harris M, Teare MD. *Are germ cell tumors part of the Li-Fraumeni cancer family syndrome?* **Cancer Genet Cytogenet.** 1989;42(2):221-6.
14. Hartley AL, Birch JM, Marsden HB, Harris M. *Malignant melanoma in families of children with osteosarcoma, chondrosarcoma, and adrenal cortical carcinoma.* **J Med Genet.** 1987;24(11):664-8.
15. Strong LC, Stine M, Norsted TL. *Cancer in survivors of childhood soft tissue sarcoma and their relatives.* **J Natl Cancer Inst.** 1987;79(6):1213-20.
16. Chompret A, Abel A, Stoppa-Lyonnet D, Brugieres L, Pages S, Feunteun J, et al. *Sensitivity and predictive value of criteria for p53 germline mutation screening.* **J Med Genet.** 2001;38(1):43-7.
17. Gonzalez KD, Noltner KA, Buzin CH, Gu D, Wen-Fong CY, Nguyen VQ, et al. *Beyond Li Fraumeni Syndrome: clinical characteristics of families with p53 germline mutations.* **J Clin Oncol.** 2009;27(8):1250-6.
18. Tinat J, Bougeard G, Baert-Desurmont S, Vasseur S, Martin C, Bouvignies E, et al. *2009 version of the Chompret criteria for Li Fraumeni syndrome.* **J Clin Oncol.** 2009;27(26):e108-9; author reply e10.
19. Hettmer S, Archer NM, Somers GR, Novokmet A, Wagers AJ, Diller L, et al. *Anaplastic rhabdomyosarcoma in TP53 germline mutation carriers.* **Cancer.** 2014;120(7):1068-75.
20. Comeaux EQ, Mullighan CG. *TP53 Mutations in Hypodiploid Acute Lymphoblastic Leukemia.* **Cold Spring Harb Perspect Med.** 2017;7(3).
21. McCuaig JM, Armel SR, Novokmet A, Ginsburg OM, Demsky R, Narod SA, et al. *Routine TP53 testing for breast cancer under age 30: ready for prime time?* **Fam Cancer.** 2012;11(4):607-13.

22. Friend SH, Bernards R, Rogelj S, Weinberg RA, Rapaport JM, Albert DM, et al. *A human DNA segment with properties of the gene that predisposes to retinoblastoma and osteosarcoma.* **Nature.** 1986;323(6089):643-6.
23. Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. *The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation.* **Cell.** 1989;57(7):1083-93.
24. Lavigne A, Maltby V, Mock D, Rossant J, Pawson T, Bernstein A. *High incidence of lung, bone, and lymphoid tumors in transgenic mice overexpressing mutant alleles of the p53 oncogene.* **Mol Cell Biol.** 1989;9(9):3982-91.
25. Beckerman R, Prives C. *Transcriptional regulation by p53.* **Cold Spring Harb Perspect Biol.** 2010;2(8):a000935.
26. Malkin D. *Li-fraumeni syndrome.* **Genes Cancer.** 2011;2(4):475-84.
27. *International Agency for Research on Cancer. (Intenet).* [Internet] Lyon: IARC; 2018 [cited 2018/11/2018]; Available from: <http://p53.iarc.fr/TP53GermlineMutations>.
28. Achatz MI, Olivier M, Le Calvez F, Martel-Planche G, Lopes A, Rossi BM, et al. *The TP53 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in Brazilian families.* **Cancer Lett.** 2007;245(1-2):96-102.
29. Assumpcao JG, Seidinger AL, Mastellaro MJ, Ribeiro RC, Zambetti GP, Ganti R, et al. *Association of the germline TP53 R337H mutation with breast cancer in southern Brazil.* **BMC Cancer.** 2008;8:357.
30. Gomes MC, Kotsopoulos J, de Almeida GL, Costa MM, Vieira R, Filho Fde A, et al. *The R337H mutation in TP53 and breast cancer in Brazil.* **Hered Cancer Clin Pract.** 2012;10(1):3.
31. Custodio G, Komechen H, Figueiredo FR, Fachin ND, Pianovski MA, Figueiredo BC. *Molecular epidemiology of adrenocortical tumors in southern Brazil.* **Mol Cell Endocrinol.** 2012;351(1):44-51.
32. Bandeira IC, Vieira IA, Andreis TF, Brussa Reis L, Macedo GS, Vianna FSL, et al. *MIR605 rs2043556 is associated with the occurrence of multiple primary tumors in TP53 p.(Arg337His) mutation carriers.* **Cancer Genet.** 2020;240:54-8.
33. Palmero EI, Schuler-Faccini L, Caleffi M, Achatz MI, Olivier M, Martel-Planche G, et al. *Detection of R337H, a germline TP53 mutation predisposing to multiple cancers, in*

asymptomatic women participating in a breast cancer screening program in Southern Brazil. Cancer Lett. 2008;261(1):21-5.

34. Pinto EM, Billerbeck AE, Villares MC, Domenice S, Mendonca BB, Latronico AC. *Founder effect for the highly prevalent R337H mutation of tumor suppressor p53 in Brazilian patients with adrenocortical tumors. Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2004;48(5):647-50.

35. Garritano S, Gemignani F, Palmero EI, Olivier M, Martel-Planche G, Le Calvez-Kelm F, et al. *Detailed haplotype analysis at the TP53 locus in p.R337H mutation carriers in the population of Southern Brazil: evidence for a founder effect. Hum Mutat.* 2010;31(2):143-50.

36. DiGiammarino EL, Lee AS, Cadwell C, Zhang W, Bothner B, Ribeiro RC, et al. *A novel mechanism of tumorigenesis involving pH-dependent destabilization of a mutant p53 tetramer. Nat Struct Biol.* 2002;9(1):12-6.

37. Macedo GS, Lisboa da Motta L, Giacomazzi J, Netto CB, Manfredini V, Vanzin CS, et al. *Increased oxidative damage in carriers of the germline TP53 p.R337H mutation. PLoS One.* 2012;7(10):e47010.

38. Burningham Z, Hashibe M, Spector L, Schiffman JD. *The epidemiology of sarcoma. Clin Sarcoma Res.* 2012;2(1):14.

39. Jo VY, Doyle LA. *Refinements in Sarcoma Classification in the Current 2013 World Health Organization Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Surg Oncol Clin N Am.* 2016;25(4):621-43.

40. Karanian M, Coindre JM. *[Fourth edition of WHO classification tumours of soft tissue]. Ann Pathol.* 2015;35(1):71-85.

41. Suit HD, Russell WO. *Soft part tumors. Cancer.* 1977;39(2 Suppl):830-6.

42. Hui JY. *Epidemiology and Etiology of Sarcomas. Surg Clin North Am.* 2016;96(5):901-14.

43. Petersen I, Wardelmann E. *[Grading of soft tissue and bone sarcomas]. Pathologe.* 2016;37(4):320-7.

44. Hasley I, Gao Y, Blevins AE, Miller BJ. *The Significance of a "Close" Margin in Extremity Sarcoma: A Systematic Review. Iowa Orthop J.* 2018;38:123-30.

45. *Cancer Stat Facts: Soft Tissue including Heart Cancer* [database on the Internet]. 2019. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/soft.html>.
46. Barr RD, Ferrari A, Ries L, Whelan J, Bleyer WA. *Cancer in Adolescents and Young Adults: A Narrative Review of the Current Status and a View of the Future*. **JAMA Pediatr**. 2016;170(5):495-501.
47. Brennan MF, Antonescu CR, Moraco N, Singer S. *Lessons learned from the study of 10,000 patients with soft tissue sarcoma*. **Ann Surg**. 2014;260(3):416-21; discussion 21-2.
48. Group ESESNW. *Bone sarcomas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. **Ann Oncol**. 2014;25 Suppl 3:iii113-23.
49. Casali PG, Abecassis N, Bauer S, Biagini R, Bielack S, Bonvalot S, et al. *Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. **Ann Oncol**. 2018;29(Supplement_4):iv51-iv67.
50. Rouhani P, Fletcher CD, Devesa SS, Toro JR. *Cutaneous soft tissue sarcoma incidence patterns in the U.S. : an analysis of 12,114 cases*. **Cancer**. 2008;113(3):616-27.
51. Fisher SB, Chiang YJ, Feig BW, Cormier JN, Hunt KK, Torres KE, et al. *Comparative Performance of the 7th and 8th Editions of the American Joint Committee on Cancer Staging Systems for Soft Tissue Sarcoma of the Trunk and Extremities*. **Ann Surg Oncol**. 2018;25(5):1126-32.
52. Rubino C, Shamsaldin A, Le MG, Labbe M, Guinebretiere JM, Chavaudra J, et al. *Radiation dose and risk of soft tissue and bone sarcoma after breast cancer treatment*. **Breast Cancer Res Treat**. 2005;89(3):277-88.
53. Giacomazzi J, Graudenz MS, Osorio CA, Koehler-Santos P, Palmero EI, Zagonel-Oliveira M, et al. *Prevalence of the TP53 p.R337H mutation in breast cancer patients in Brazil*. **PLoS One**. 2014;9(6):e99893.
54. Villani A, Shore A, Wasserman JD, Stephens D, Kim RH, Druker H, et al. *Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: 11 year follow-up of a prospective observational study*. **Lancet Oncol**. 2016;17(9):1295-305.
55. Requena C, Sendra E, Llombart B, Sanmartin O, Guillen C, Lavernia J, et al. *Cutaneous Angiosarcoma: Clinical and Pathology Study of 16 Cases*. **Actas Dermosifiliogr**. 2017;108(5):457-65.

56. Samartzis D, Nishi N, Hayashi M, Cologne J, Cullings HM, Kodama K, et al. *Exposure to ionizing radiation and development of bone sarcoma: new insights based on atomic-bomb survivors of Hiroshima and Nagasaki*. **J Bone Joint Surg Am**. 2011;93(11):1008-15.
57. Pollack IF, Mulvihill JJ. *Neurofibromatosis 1 and 2*. **Brain Pathol**. 1997;7(2):823-36.
58. Wong FL, Boice JD, Jr., Abramson DH, Tarone RE, Kleinerman RA, Stovall M, et al. *Cancer incidence after retinoblastoma. Radiation dose and sarcoma risk*. **JAMA**. 1997;278(15):1262-7.
59. Hansen MF, Koufos A, Gallie BL, Phillips RA, Fodstad O, Brogger A, et al. *Osteosarcoma and retinoblastoma: a shared chromosomal mechanism revealing recessive predisposition*. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 1985;82(18):6216-20.
60. Burtenshaw SM, Cannell AJ, McAlister ED, Siddique S, Kandel R, Blackstein ME, et al. *Toward Observation as First-line Management in Abdominal Desmoid Tumors*. **Ann Surg Oncol**. 2016;23(7):2212-9.
61. Calvert GT, Randall RL, Jones KB, Cannon-Albright L, Lessnick S, Schiffman JD. *At-risk populations for osteosarcoma: the syndromes and beyond*. **Sarcoma**. 2012;2012:152382.
62. Postel-Vinay S, Veron AS, Tirode F, Pierron G, Reynaud S, Kovar H, et al. *Common variants near TARDBP and EGR2 are associated with susceptibility to Ewing sarcoma*. **Nat Genet**. 2012;44(3):323-7.
63. Worch J, Matthay KK, Neuhaus J, Goldsby R, DuBois SG. *Ethnic and racial differences in patients with Ewing sarcoma*. **Cancer**. 2010;116(4):983-8.
64. Cancer) IIAfRo. *IARC TP53 Database*. <http://p53iarcf/TP53GermlineMutations.aspx>. R19 Aug 2018.
65. Ognjanovic S, Olivier M, Bergemann TL, Hainaut P. *Sarcomas in TP53 germline mutation carriers: a review of the IARC TP53 database*. **Cancer**. 2012;118(5):1387-96.
66. Beck R, Monument MJ, Watkins WS, Smith R, Boucher KM, Schiffman JD, et al. *EWS/FLI-responsive GGAA microsatellites exhibit polymorphic differences between European and African populations*. **Cancer Genet**. 2012;205(6):304-12.
67. Koohbanani B, Han G, Reed D, Zhao Q, Yi D, Henderson-Jackson E, et al. *Ethnicity and age disparities in Ewing sarcoma outcome*. **Fetal Pediatr Pathol**. 2013;32(4):246-52.

68. George Martine JAMC. *Cenários demográficos para o século XXI e algumas implicações sociais Planejamento e Políticas Públicas*. Brasília; IPEA. 1989;2:61-91.
69. A C. *Brasil pré-cabralino: o Brasil antes dos portugueses*. <https://conhecimentocientificor7com/brasil-pre-cabralino-o-brasil-antes-dos-portugueses/>. 2018.
70. Zorzetto R. *O DNA dos Pampas. Além de espanhóis, índios guaranis e charruas estão entre os ancestrais dos gaúchos*. *revistapesquisafapespbr*. Abril, 2007;132:42.
71. IBGE CdDeDdl-RdJ. *Brasil: 500 anos de povoamento* 2007:232.
72. C. P. *The Atlantic slave trade: a census*. Madison. WI: University of Wisconsin Press 1969:457 pages.
73. Flores MBR. *Povoadores da Fronteira: Os casais açorianos rumo ao Sul do Brasil*. EdUFSC - Florianópolis. 2000.
74. Baeninger R. *Deslocamentos populacionais, urbanização e regionalização*. *Revista Brasileira de Estudos Populacionais*. 1998;15(2):70-81.
75. LSJ B. *Atitudes sociolinguísticas: Efeitos do processo migratório*. Pontes Editores, RG Editores. 2007.
76. Martine G. *A evolução espacial da população brasileira*. In: AFONSO & SILVA(orgs) *Desigualdades regionais e desenvolvimento Federalismo no Brasil São Paulo, FUND/UNESP*. 1995.
77. Romancini SR, Rodrigues CO. *Urbanização na Pré-Amazônia Mato-Grossense: o exemplo de Sinop*. *ACTA GEOGRÁFICA*. 2010;1(2):43-55.
78. Levy MSF. *O papel da migração internacional na evolução da população brasileira (1872 a 1972)*. *Revista de Saúde Pública*. 1974;8:49-90.
79. Seyferth G. *Colonização, imigração e a questão racial no Brasil*. *Revista usp*. 2002(53):117-49.
80. de Mesquita Samara E. *O que mudou na família brasileira?: da colônia à atualidade*. *Psicologia Usp*. 2002;13(2):27-48.

81. Mendonca N, Franca MC, Jr., Goncalves AF, Januario C. *Clinical Features of Machado-Joseph Disease*. **Adv Exp Med Biol**. 2018;1049:255-73.
82. Pereira R, Phillips C, Pinto N, Santos C, dos Santos SE, Amorim A, et al. *Straightforward inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative insertion deletion multiplexing*. **PLoS One**. 2012;7(1):e29684.
83. Smith AW, Keegan T, Hamilton A, Lynch C, Wu XC, Schwartz SM, et al. *Understanding care and outcomes in adolescents and young adult with Cancer: A review of the AYA HOPE study*. **Pediatr Blood Cancer**. 2019;66(1):e27486.
84. Duarte III MASPCGFAJMA. *O impacto da escolaridade sobre a distribuição de renda*. **Estud Econ São Paulo Oct/Dec 2010**. 2010;40.
85. Bakhuizen JJ, Hogervorst FB, Velthuis ME, Ruijs MW, van Engelen K, van Os TA, et al. *TP53 germline mutation testing in early-onset breast cancer: findings from a nationwide cohort*. **Fam Cancer**. 2019;18(2):273-80.
86. Ruijs MW, Verhoef S, Rookus MA, Pruntel R, van der Hout AH, Hogervorst FB, et al. *TP53 germline mutation testing in 180 families suspected of Li-Fraumeni syndrome: mutation detection rate and relative frequency of cancers in different familial phenotypes*. **J Med Genet**. 2010;47(6):421-8.
87. *Incidência, mortalidade e morbidade hospitalar por câncer em crianças, adolescentes e adultos jovens no Brasil: informações dos registros de câncer e do sistema de mortalidade*. [Internet] Rio de Janeiro: INCA; 2017 [cited 12 abr]; Available from: <http://www1.inca.gov.br/wcm/incidencia/2017/introducao.asp>.

ANEXO 1: SUBTIPOS HISTOLÓGICOS DE TUMORES MESENQUIMAIS.

Dada a grande diversidade de subtipos histológicos, optou-se por fazer um detalhamento das principais características de cada um dos subtipos histológicos de sarcomas seguindo o preconizado pela última classificação da OMS. ⁽¹⁾

Segundo a Organização Mundial da Saúde, os sarcomas são classificados conforma abaixo: ⁽¹⁾

Sarcomas de Partes moles (incluindo pele):

- Adipocíticos
- Fibroblástico/ miofibroblástico
- Fibrohistiocíticos
- Músculo liso
- Perivascularres
- Músculo-esquelético
- Vasculares
- Condro/ósseos
- GIST
- Bainha de nervo periférico
- Diferenciação incerta
- Indiferenciados

Sarcomas ósseos:

- Condrogênicos
- Osteogênicos
- Fibrogênicos
- Fibrohistiocíticos
- Sarcoma de Ewing
- Hematopoiéticos
- Osteoclásticos ricos em células gigantes
- Notocordais
- Vasculares
- Miogênico/lipogênico/epitelial

- Indefinidos
- Indiferenciados

1.2.1 Sarcomas de Partes moles (incluindo pele):

a. Adipocíticos

Lipoma

Definição: Tumor benigno composto por adipócitos maduros.

Epidemiologia: Tumor mesenquimal mais frequente no adulto, entre 40 e 60 anos. Pode ser superficial ou profundo, bem como aparecer na superfície de ossos (lipoma paraosteal).

Características patológicas: Aparência circunscrita e amarelada. Nódulos ósseos podem ser encontrados em seu interior (osteo-lipomas). Os intramusculares podem envolver os feixes musculares estriados. Quando aparecem em membranas sinoviais, podem se tornar arborescentes. Imunohistoquímica revela positividade para proteína S100, leptina e HMGA2.

Características clínicas: Massas indolores de partes moles, que podem comprimir outras estruturas, mas não invadir. Sintomatologia dependente da região acometida.

Características genéticas: A t(3;12) é o rearranjo estrutural mais encontrado.

Prognóstico: Baixa taxa de recorrência local. Apresenta um bom prognóstico.

Lipoblastoma

Definição: Neoplasia benigna derivada do adipócito branco embrionário.

Epidemiologia: 90% dos casos acontecem antes dos 3 anos de idade.

Características patológicas: Arquitetura lobular com feixes de adipócitos separados por septos fibrovasculares. As células podem apresentar diferentes fases de maturação.

Imunohistoquímica revela positividade para proteína S100, CD34 e desmina.

Características clínicas: As áreas mais envolvidas são o tronco e as extremidades. Pode acometer áreas profundas. Pode apresentar forma difusa e mais severa.

Características genéticas: Casos familiares são descritos, com alterações de desenvolvimento, convulsões e malformações congênitas. Aberrações somáticas no cromossomo 8 quase sempre estão presentes.

Prognóstico: Excelente prognóstico após excisão completa. Não há risco de metástases ou transformações malignas.

Hibernoma

Definição: Neoplasia benigna rara, formada por diferentes proporções de adipócitos marrons e brancos.

Epidemiologia: Corresponde a cerca de 1,5% de todos os tumores Adipocíticos benignos. Acontece principalmente em adultos jovens.

Características patológicas: Tumor encapsulado e ricamente vascularizado. Mesmo havendo mitoses e atipias, a lesão é exclusivamente benigna. Imunohistoquímica revela positividade para proteína S100, mas não para CD34.

Características clínicas: Massa móvel, indolor e de crescimento lento. Pode gerar massas extensas que causem sinais e sintomas mais severos.

Características genéticas: Quase todos apresentam quebras no cromossomo 11.

Prognóstico: Lesão benigna com baixo potencial de recidiva após excisão completa.

Tumor lipomatoso atípico/ lipossarcoma bem diferenciado

Definição: Neoplasia mesenquimal localmente agressiva, composta pela proliferação de adipócitos maduros que contém focos de atipia tanto nos adipócitos como nas células estromais.

Epidemiologia: Correspondem a cerca de 40% de todos os lipossarcoma. Geralmente em adultos, com pico aos 60 anos.

Características patológicas: Os adipócitos podem ser uni ou multiloculados. Existem três formas distintas: adipocítico (lipoma-like), esclerosante e inflamatório. Os tumores retroperitoneais podem apresentar as três formas coexistindo na mesma lesão. Imunohistoquímica revela positividade para proteína S100, MDM2 e CDK4.

Características clínicas: Geralmente são profundos, predominando nas coxas, retroperitônio, mediastino e região paratesticular. Podem aparecer, também, em segmento cefálico, porém raramente na pele.

Características genéticas: Apresenta cromossomos supranumerários em anel.

Prognóstico: A localização é o principal fator prognóstico. Se a excisão puder ser completa, o prognóstico é favorável. Caso contrário, a lesão pode se desdiferenciar e metastatizar.

Lipossarcoma desdiferenciado

Definição: Progressão histológica de um lipossarcoma bem diferenciado primário ou recidivado, geralmente para uma linhagem não-lipogênica. Raramente, o componente de alto grau será lipogênico.

Epidemiologia: Forma comum de lipossarcoma, o mais frequente no retroperitônio. Desdiferenciação ocorre em 10% dos lipossarcoma bem diferenciados, embora o risco seja maior para os casos profundos, como no retroperitônio, por exemplo. É um fenômeno tempo-dependente, mais do que localização-dependente.

Características patológicas: A característica específica desse subtipo são as áreas de transição abrupta entre lipossarcoma bem diferenciado e desdiferenciado. As áreas desdiferenciadas lembram sarcoma pleomórfico indiferenciado. Pode haver áreas, inclusive, de baixo grau.

Características clínicas: Extensas massas indolores que apresentam um crescimento lento com um período de agudização, o que pode indicar a desdiferenciação histológica.

Características genéticas: Cromossomos em anel e cromossomos gigantes podem ser encontrados. Amplificação MDM2 (12q15). Alguns clones podem conter uma ou mais dessas alterações.

Prognóstico: Recorrência local em 40% dos casos. Cerca de 20% dos casos são metastáticos com alta mortalidade. A localização anatômica é o principal fator prognóstico, pois é diretamente proporcional ao grau de ressecabilidade. Múltiplas ressecções podem aumentar a sobrevida. Alguns casos menos agressivos parecem ter menos aberrações genéticas, o que explicaria esse melhor comportamento clínico.

Lipossarcoma mixóide

Definição: Neoplasia maligna composta por células redondas não adipocíticas e um variado número de lipoblastos em meio a um proeminente estroma mixóide, com uma vasta rede de capilares.

Epidemiologia: Corresponde a 15-20% dos lipossarcoma e a 5% de todos os sarcomas de partes moles do adulto. Pico de incidência entre 40-50 anos. Lipossarcomas são raros em pediatria, mas quando ocorrem, este é o tipo mais frequente.

Características patológicas: Massas intramusculares multinodulares bem delimitadas, com componente gelatinoso ao corte em lesões de baixo grau, e componente sólido em lesões de alto grau. Microscopicamente, apresenta crescimento nodular com hiper celularidade periférica. A vasculatura típica é denominada em “arame de galinheiro”. Mais de 5% de células redondas definem o alto grau de malignidade. O aspecto à microscopia ótica fecha o diagnóstico, não sendo necessária a Imunohistoquímica.

Características clínicas: Geralmente grandes massas indolores nos tecidos profundos das extremidades, principalmente em coxas. Raro no retroperitônio e no tecido celular subcutâneo. Tende a enviar metástases a locais pouco usuais, tais como retroperitônio, extremidade oposta, axila e ossos, mesmo antes dos pulmões.

Características genéticas: 95% dos casos apresentam t(12;16) que resulta na fusão FUS-DDIT3. No restante dos casos, a t(12;22) está presente.

Prognóstico: Alto grau de malignidade, bem como presença de necrose, alterações somáticas no TP53 e CDKN2A são considerados fatores de mau prognóstico.

Lipossarcoma pleomórfico

Definição: Neoplasia maligna de alto grau com quantidade variável de lipoblastos.

Epidemiologia: Corresponde a cerca de 5% dos lipossarcoma, geralmente na sétima década de vida.

Características patológicas: Lipoblastos pleomórfico em um fundo de sarcoma de alto grau. Imunohistoquímica revela positividade para proteína S100, SMA e CD34 em 50% dos casos. MDM2 é tipicamente negativo.

Características clínicas: Principalmente em extremidades, mas pode acontecer em locais menos comuns, como gordura subcutânea. Massas indolores de rápido crescimento.

Características genéticas: Pode apresentar aberrações complexas, porém a ausência de amplificação MDM2 ajuda a diferenciação em relação ao lipossarcoma desdiferenciado.

Prognóstico: sarcomas agressivos com altas taxas de recorrência e metástase.

b. Fibroblástico/ miofibroblástico

Fibromatose desmóide

Definição: Neoplasia miofibroblástica localmente agressiva, geralmente profunda, caracterizada por crescimento infiltrativo, com tendência à recidiva local, porém não para metástases.

Epidemiologia: Pode acometer tanto crianças como adultos. Não há sexo preferencial.

Características patológicas: Lesões pouco circunscritas que se assemelham a tecidos cicatriciais, com infiltração de áreas adjacentes.

Características clínicas: Massas indolores de crescimento lento e progressivo, muitas vezes multifocais.

Características genéticas: Trissomia do cromossomo 8 é encontrada em mais de 30% dos tumores. Pode fazer parte da Polipose adenomatosa familiar (mutação germinativa no gene APC).

Prognóstico: Devido à recorrência local e a agressividade das lesões, pode levar ao êxito letal.

Dermatofibrossarcoma protuberans

Definição: Neoplasia superficial fibroblástica de baixo grau de malignidade, porém com comportamento localmente agressivo. Uma variante que afeta a população pediátrica recebe o nome de Fibroblastoma de células gigantes.

Epidemiologia: Aparece em adultos e é o sarcoma cutâneo mais comum.

Características patológicas: Infiltração difusa da derme e subcutâneo, raramente invade tecidos mais profundos. Imunoexpressão de CD34 e EMA. As células tumorais expressam receptores PDGFB, o que se tornou o racional para o uso do mesilato de imatinibe como terapêutica eficaz.

Características clínicas: Massa cutânea indolor nodular ou multinodular. Lesões iniciais podem apresentar crescimento em placas. Apresentam altas taxas de recorrência local.

Características genéticas: Podem ser encontrados cromossomos supranumerários em anel, bem como translocações dos cromossomos 17 e 22.

Prognóstico: As lesões têm cerca de 20% de chance de recidiva. O prognóstico se torna mais reservado quando ocorre a transformação para a variante fibrossarcomatosa, que passa a apresentar potencial de metástases.

Tumor fibroso solitário extra pleural

Definição: Tumor fibroblástico mesenquimal que pode aparecer em qualquer localização. Era denominado hemangiopericitoma antigamente, por apresentar padrão vascular ramificado. Pode ser de baixo ou alto grau de malignidade.

Epidemiologia: Geralmente aparece dos 20 aos 70 anos e em qualquer localização, principalmente em tecido celular subcutâneo.

Características patológicas: Combinação de áreas hipo e hiper celulares septadas por grossas bandas hialinas, algumas vezes queloidais. Hipervascularizadas. Raramente se encontram células epitelioides ou rabioides, predominando células ovas.

Características clínicas: Massas indolores e bem delimitadas de crescimento lento

Características genéticas: Diversas aberrações cromossômicas podem ser encontradas.

Mutações somáticas no *TP53* são raras, porém estão associadas à malignidade celular.

Prognóstico: Embora a maioria seja celular mente benigna, a evolução é imprevisível muitas vezes, podendo recidivar mesmo muitos anos após a ressecção primária. As lesões malignas podem enviar metástases para pulmões, ossos e fígado.

Tumor miofibroblástico inflamatório

Definição: Neoplasia composta por miofibroblastos e fibroblastos fusiformes, acompanhado de intenso infiltrado inflamatório.

Epidemiologia: Principalmente em extremidades e vísceras de crianças e adultos jovens.

Características patológicas: Massa nodular circunscrita com variados níveis de necrose e hemorragia. Microscopicamente, além do intenso infiltrado inflamatório, apresenta hipervascularização.

Características clínicas: O local determinará a clínica, porém cerca de um terço dos pacientes apresentará uma síndrome clínica mediada por citocinas, com febre, mal-estar, perda de peso, anemia hipocrômica microcítica, trombocitose, hiperglobulinemia policlonal, VHS elevado e elevada proteína c-reativa.

Características genéticas: 60% dos casos apresentam reatividade para a proteína ALK que mantém correlação com rearranjos no gene ALK.

Prognóstico: Cerca de 25% dos casos apresentam recorrência, e uma parcela poderá desenvolver múltiplas metástases, principalmente para pulmões, cérebro, fígado e ossos.

Sarcoma miofibroblástico de baixo grau

Definição: Tumor miofibroblástico atípico com características de fibromatose. Não há critérios diagnósticos específicos.

Epidemiologia: Geralmente em adultos.

Características patológicas: Massa de crescimento infiltrativo dentre as células da musculatura estriada, composta por células fusiformes. A atipia é mandatória para o diagnóstico.

Características clínicas: Comuns em extremidades e segmento cefálico, porém podem aparecer em qualquer estrutura. Sintomatologia depende do local afetado, mas a apresentação mais comum é a de massas indolor de crescimento lento e progressivo.

Características genéticas: Aberrações cromossômicas foram descritas, mas nenhuma de importância diagnóstica ou prognóstica.

Prognóstico: Bom prognóstico. Tratamento geralmente apenas cirúrgico.

Sarcoma fibroblástico mixoinflamatório

Definição: Neoplasia fibroblástica localmente agressiva de extremidades principalmente.

Epidemiologia: Geralmente em adultos.

Características patológicas: Envolvimento de estruturas tenosinoviais é típica. Infiltrado inflamatório misto e deposição de hemossiderina estão presentes.

Características clínicas: 80% dos casos acontecem em mãos e o diagnóstico é retardado por se confundir com lesões benignas. Pode disseminar para linfonodos regionais em menos de 5% dos casos. Células gigantes do tipo Touton estão presentes e se assemelham às de Reed-Sternberg.

Características genéticas: Estão presentes algumas anomalias genéticas, porém não patognomônicas, tais como t(1;10).

Prognóstico: Alta taxa de recorrência local. O prognóstico depende do sucesso na ressecção. Apesar de raras, metástases podem ocorrer.

Fibrossarcoma infantil

Definição: Simula um fibrossarcoma de adulto, porém com alteração genética específica: fusão ETV6-NTRK3. A contrapartida renal recebe o nome de nefroma mesoblástico congênito.

Epidemiologia: Acontece em lactentes. Trata-se de condição congênita predominantemente.

Características patológicas: Lesão infiltrativa que comprime estruturas adjacentes formando uma pseudocápsula. Contém áreas de necrose, hemorragia e cistos. Lesão altamente celular

com arranjo em espinha de peixe e polimorfismo celular. Pode, ainda, apresentar focos de hematopoiese.

Características clínicas: Mais frequente em extremidades e segmento cefálico. Massa solitária de rápido crescimento que pode alcançar dimensões grotescas. Em geral, se apresenta com a formação de úlceras, devido ao rápido crescimento.

Características genéticas: A alteração característica é a t(12;15).

Prognóstico: Evolução relativamente favorável, dependendo da região acometida, com mortalidade menor que 5%. Regressão espontânea já foi relatada.

Fibrossarcoma de adulto

Definição: Neoplasia maligna com variada produção de colágeno.

Epidemiologia: Era considerado o subtipo mais frequente, porém, com o refinamento das técnicas laboratoriais e dos critérios diagnósticos, hoje, corresponde a menos de 1% dos sarcomas no adulto.

Características patológicas: Composto por células fusiformes monomórficas com atividade mitótica variável, em um estroma de colágeno.

Características clínicas: Envolve tecidos profundos das extremidades, tronco e segmento cefálico. Alguns casos cutâneos, na verdade, representam transformação maligna de um dermatofibrossarcoma protuberans. Casos de retroperitônio são raros e podem representar um lipossarcoma desdiferenciado.

Características genéticas: Múltiplas alterações, porém sem um locus específico.

Prognóstico: Quando de alto grau, apresentam evolução agressiva com múltiplas recidivas e metástases viscerais.

Mixofibrossarcoma

Definição: Compreende um espectro de neoplasias fibroblásticas malignas com estroma mixóide, pleomorfismo celular e um padrão curvulíneo vascular.

Epidemiologia: Geralmente dos 60 aos 80 anos, sendo o sarcoma mais comum na terceira idade.

Características patológicas: Apresenta grande variabilidade celular, pleomorfismo e atividade proliferativa. Com padrão multinodular e septos fibrosos incompletos, em uma matriz mixóide.

Características clínicas: Acontece predominantemente em extremidades. As lesões retroperitoneais são raras e podem representar um lipossarcoma desdiferenciado. Pode apresentar metástases para pulmões, ossos e linfonodos.

Características genéticas: Cariótipo complexo com intensa heterogeneidade intratumoral.

Prognóstico: Está diretamente relacionado ao grau de malignidade. Lesões de baixo grau costumam aumentar de grau quando recidivam.

Sarcoma fibromixóide de baixo grau

Definição: Neoplasia fibroblástica caracterizada pela mistura de áreas de colágeno e mixóide.

Epidemiologia: Casos raros, porém acredita-se serem subdiagnosticados.

Características patológicas: Mistura de áreas hipocelulares ricas em colágeno com áreas celulares mixóides formando nódulos. Vasos com esclerose perivascular.

Características clínicas: Cerca de 15% dos casos referem mais de 5 anos de massa indolor de crescimento lento.

Características genéticas: Apresenta alteração exclusiva, t(7;16). Cromossomos supranumerários em anel também podem ser encontrados.

Prognóstico: Baixas taxas de recorrência e metástases, porém, com o tempo, as lesões podem malignizar.

Fibrossarcoma epitelióide esclerosante

Definição: Neoplasia fibroblástica maligna caracterizada por fibroblastos epitelióides em cordões e ninhos em uma base densamente hialinizada.

Epidemiologia: Patologia da idade adulta.

Características patológicas: Lesão macroscopicamente delimitada, porém apresenta infiltração de tecidos vizinhos. O estroma densamente hialinizado é uma marca desse subtipo de tumor.

Características clínicas: Massas indolores de crescimento lento que apresentam um período de rápido crescimento.

Características genéticas: Rearranjos 10p11 podem estar presentes.

Prognóstico: Cerca de 40-80% dos casos apresentam metástases, principalmente para pulmões, pleura, ossos e cérebro.

c. Fibrohistiocíticos

Tumor de células gigantes tenosinovial

Definição: Família de tumores que nascem da membrana sinovial e tendões. Divididos quanto ao local (intra ou extra-articulares), e padrão de crescimento (localizado ou difuso).

Epidemiologia: Tumores caracteristicamente da vida adulta, entre 30 e 40 anos.

Características patológicas: Tumores encapsulados na forma localizada e infiltrativos na forma difusa. Existem células gigantes que são osteoclastos ativados que se unem, formando uma célula multinucleada característica.

Características clínicas: Como aparecem em articulações, podem causar desde massas indolores até quadros dolorosos com limitação de movimentos.

Características genéticas: Translocações envolvendo o cromossomo 1

Prognóstico: Com a excisão completa, os casos apresentam bom prognóstico. Se as margens não forem livres, a recidiva pode ocorrer. Nos casos difusos, ou não totalmente ressecados, pode ocorrer transformação sarcomatosa, inclusive com metástases.

Tumores de células gigantes de partes moles

Definição: Similar ao tumor de células gigantes ósseo, mas se localiza em partes moles.

Epidemiologia: Principalmente na vida adulta. Relativamente pouco frequente.

Características patológicas: Multinodulares com septos fibrosos delimitando os nódulos.

Presença de células gigantes multinucleadas que derivam de osteoclastos ativados.

Características clínicas: Massas subcutâneas pequenas e indolores. Metástases podem aparecer, mesmo em lesões consideradas benignas, embora seja este um evento raro.

Características genéticas: Alterações teloméricas são descritas.

Prognóstico: Com excisões completas, apresenta bom prognóstico. As taxas de recidiva são baixas.

Histiocitomas

Definição: Neoplasia benigna fibrosa que cresce no tecido celular subcutâneo ou em tecidos profundos.

Epidemiologia: Tumores raros que compreendem menos de 1% dos tumores fibrohistiocíticos.

Características patológicas: Lesões circunscritas hipercelulares, com padrão fusiforme em estroma hialino sendo o mais comum.

Características clínicas: A impressão clínica é de um cisto de crescimento lento.

Características genéticas: A t(16;17) foi descrita em apenas um caso.

Prognóstico: Pode recidivar em 20% das vezes. Curso geralmente benigno.

d. Músculo liso

Leiomioma

Definição: Lesão benigna derivada da musculatura lisa.

Epidemiologia: Pode acometer qualquer estrutura, sendo comum em útero. Existe uma forma profunda em retroperitônio e cavidade abdominal que é quase exclusiva do sexo feminino.

Características patológicas: Podem ser múltiplos e apresentarem calcificações no seu interior. Composto por fascículos de células fusiformes com citoplasma eosinofílico que se assemelha à célula muscular lisa. Não contém atipias ou atividade mitótica evidente.

Características clínicas: Depende da área acometida, porém, quando profundos, podem alcançar extensos volumes antes de gerar sintomatologia.

Características genéticas: Não são descritas alterações.

Prognóstico: Curso benigno quando totalmente ressecados.

Leiomiossarcoma (LMS)

Definição: Leiomiossarcomas são neoplasias malignas que se originam das células mesenquimais e apresentam diferenciação para músculo liso. Podem surgir em qualquer parte do corpo, mas predominam em útero e retroperitônio. Podem acometer primariamente a parede de vasos, particularmente a veia cava. Em sua grande maioria, aparecem em “partes moles”, porém podem ter como local primário o osso. O LMS primário de pele é uma apresentação menos frequente e de melhor prognóstico.

Epidemiologia: É um subtipo de sarcoma que aparece mais frequentemente na idade adulta, tendendo para a terceira idade. Enquanto os sarcomas correspondem a cerca de 1% dos tumores na fase adulta, o LMS responde por 10 a 24% dessa fatia, sendo que 40% deles terão como local primário o útero. ⁽⁶⁾ Em interessante trabalho epidemiológico realizado na Suécia, LMS foi associado ao desenvolvimento de câncer de mama materno. ^(27,28)

Características patológicas: O padrão histológico corresponde ao de células fusiformes arranjadas em grupos, com núcleos alongados e figuras de mitoses frequentes. A imunofenotipagem demonstra positividade para SMA, desmina, h-caldesmon, queratina, EMA, CD34 e S100. Importante notar que o CD117 (C-kit) é negativo. Tumores estromais gastrointestinais (GIST) historicamente contaminaram estudos sobre LMS, visto que são histologicamente superponíveis. A era da patologia molecular permitiu particularizar esta última entidade, diferenciando-a do LMS. Com o passar do tempo e a aquisição de novos métodos diagnósticos, torna-se possível esclarecer situações conflitantes. Relevante trabalho demonstrou que cerca de 20% dos tumores classificados como histiocitoma fibroso maligno, ou sarcoma pleomórfico, na verdade, apresentam características de diferenciação para músculo liso. ^(29,30)

Características clínicas: Será ditado pelo local de aparecimento primário. Como a maioria aparece em útero e retroperitônio, o diagnóstico muitas vezes é tardio e a ressecção difícil, o que compromete o prognóstico. A via principal de disseminação é hematogênica, enviando metástases para pulmões, fígado, ossos e partes moles preferencialmente. Os tumores de alto grau apresentam comportamento muito agressivo, conferindo mau prognóstico mesmo quando localizados e ressecados totalmente. Quando esse tipo de tumor acomete imunossuprimidos, como portadores de SIDA por exemplo, está geralmente associado à infecção por EBV e envolve vísceras, além de partes moles. Pode ser multicêntrico, devido a diferentes pontos de infecção por EBV e não por metástases.

Características genética: LMS é o maior exemplo de sarcoma com cariótipo complexo. Muito ainda tem que ser detalhado, entretanto, mutações no gene *TP53* têm sido identificadas. Estudos correlacionam casos que apresentam mutações no *TP53* com maior grau histológico e estadiamento avançado ao diagnóstico. Sequenciamento “*next-generation*” identificaram mutações frequentes no *TP53* e *ATRX* em casos de LMS. Tem sido associado à Síndrome de Li Fraumeni. ^(31,32,33)

Prognóstico: A principal modalidade terapêutica é a cirúrgica. Porém, muitos casos se apresentam metastáticos ao diagnóstico, impossibilitando a cura por esse método. A radioterapia confere um maior controle local, porém sem impacto na sobrevida global. Mesmo com controle local adequado, a sobrevida em 5 anos é de 40%. A quimioterapia ainda é controversa, mas trabalhos indicam uma tendência a melhor sobrevida usando-se essa modalidade terapêutica. ^(34,35)

e. Perivasculares

Tumor glômico

Definição: Neoplasia mesenquimal que se assemelha às células musculares lisas modificadas encontradas nos corpos glômicos.

Epidemiologia: Tumores raros que ocorrem geralmente em adultos jovens.

Características patológicas: Células glômicas são pequenas e redondas cercadas por uma lâmina basal. Para ser considerado maligno, deve apresentar intensa atipia e muitas figuras de mitose.

Características clínicas: A grande maioria aparece em extremidades distais, particularmente o leito ungueal. Caso raros acontecem em outros órgãos.

Características genéticas: Esses tumores são causados pela inativação do gene da glomulina no cromossomo 1. Alguns casos podem ser múltiplos e familiares.

Prognóstico: Os casos benignos têm evolução favorável, porém os malignos apresentam metástases ao diagnóstico e alta mortalidade.

Miopericitoma

Definição: Neoplasia mióide perivascular benigna que forma um espectro entre o hemangiopericitoma infantil e o angioleiomioma.

Epidemiologia: Pode acometer qualquer idade, porém predomina na vida adulta. Está associado ao vírus EBV em pacientes com SIDA.

Características patológicas: Lesões encapsuladas hipercelulares organizadas em camadas perivasculares concêntricas. Os miofibromas apresentam um estroma de colágeno mais intenso, enquanto os angioleiomiomas apresentam células musculares lisas em camadas ao redor de vasos.

Características clínicas: Geralmente aparece na derme ou tecido subcutâneo. Raramente acomete vísceras.

Características genéticas: Alguns casos são familiares e múltiplos, correspondendo a miofibromatose familiar, de herança autossômica dominante com penetrância variável. Alguns casos apresentam t(7;12).

Prognóstico: Geralmente têm curso benigno se totalmente ressecados.

f. Músculo-esquelético

Rabdomioma

Definição: Neoplasias benigna cuja forma adulta é composta por células com diferenciação para células musculares estriadas maduras; e cuja forma fetal apresenta diferenciação para células semelhantes a dos miotúbulos.

Epidemiologia: Geralmente em segmento cefálico. A forma adulta aparece geralmente aos 60 anos e a forma fetal em lactentes. Casos genitais são extremamente raros.

Características patológicas: Massas não encapsuladas lobulares que marcam para miogenina, MSA e desmina.

Características clínicas: Massas indolores cuja sintomatologia depende do sítio acometido.

Características genéticas: Apresentam alterações na via sonic-hedgehog e t(15;17) em alguns casos. Os casos fetais podem estar associados à síndrome de nevus de células basais.

Prognóstico: Evolução favorável com ressecção completa.

Rabdomiossarcoma embrionário ou botrióide

Definição: Tumor maligno primitivo cujas células apresentam fenótipo e características biológicas de células embrionárias de musculatura estriada.

Epidemiologia: É o subtipo de rabdomiossarcoma mais comum antes dos 15 anos de idade e também o mais frequente dos sarcomas de partes moles em pediatria.

Características patológicas: Os tumores botrióides tem aspecto em cachos de uva, que contém células embrionárias de músculo estriado em diferentes estágios de maturação, com a presença de rabdomioblastos. Apenas a vimentina marca as células mais primitivas, enquanto as mais diferenciadas marcam desmina e actina também. MyoD é um marcador de maior diferenciação que ajuda no diagnóstico diferencial. A miogenina é negativa, ou fracamente positiva, em contraste ao rabdomiossarcoma alveolar.

Características clínicas: Os locais mais acometidos são segmento cefálico e trato geniturinário. Uma minoria acontece em extremidades.

Características genéticas: Uma pequena parte está associada a mutações germinativas, como na síndrome de Costello (mutações no gene *HRAS*), neurofibromatose tipo 1, síndrome de Noonan, síndrome de Beckwith-Wiedemann e a síndrome de Li Fraumeni.

Prognóstico: A evolução dependerá do estágio, idade e local primário. Porém é sempre considerada uma doença sistêmica e deve ser tratada como tal. O subtipo botrióide costuma ter uma evolução favorável em relação aos outros subtipos.

Rabdomiossarcoma alveolar

Definição: Neoplasia maligna altamente celular que contém população monomorfa de células primitivas com núcleos redondos e fatores de interrupção da miogênese.

Epidemiologia: Pode acontecer em qualquer idade, mas aparece principalmente em adolescente e adultos jovens. Corresponde a menos de 20% dos casos pediátricos.

Características patológicas: Aparece principalmente em extremidades, seguido das regiões paraespinais e perineo, além de seios da face. Geralmente não coram para marcadores de diferenciação, como mioglobina e actina. O padrão de coloração para a miogenina geralmente é difuso.

Características clínicas: Lesões expansivas de crescimento rápido que podem gerar sintomatologia variada, dependendo do local acometido.

Características genéticas: A $t(2;13)$ ocorre em muitos casos, bem como a $t(1;13)$, o que promove a fusão dos genes *PAX3* ou *PAX7* (cromossomo 2 ou 1) com o gene *FOX1* no cromossomo 13.

Prognóstico: A evolução é menos favorável que a do subtipo botrióide, principalmente nos casos com a fusão *PAX-FOX1*.

Rabdomiossarcoma pleomórfico

Definição: Sarcoma de alto grau de malignidade composto por células poligonais, redondas e fusiformes com diferenciação para músculo estriado sem componente embrionário ou alveolar.

Epidemiologia: É um tumor de adultos, mais frequente na sexta e sétima décadas. Poucos casos acontecem em crianças.

Características patológicas: Expressam desmina, MyoD, D, miosina e miogenina. SMA e queratina variáveis

Características clínicas: Geralmente em partes profundas das extremidades, porém podem aparecer em qualquer localização. Massas dolorosas de rápido crescimento.

Características genéticas: Cariótipo complexo com alterações numéricas e desbalanços estruturais, porém sem translocações específicas.

Prognóstico: Evolução desfavorável pois são extremamente agressivas e acontecem em indivíduos de maior idade e com maior morbidade.

Rabdomiossarcoma esclerosante / de células fusiformes

Definição: Subtipo incomum de rabdomiossarcoma com morfologia fusiforme.

Epidemiologia: Afeta tanto crianças como adultos.

Características patológicas: Crescimento circular de células fusiformes com poucos rabdomioblastos. O estroma hialino pode apresentar aspecto esclerosante. Expressão difusa de desmina, SMA, miogenina e MyoD D.

Características clínicas: Em adultos aparece mais nas extremidades e em crianças na região paratesticular.

Características genéticas: Não há translocações específicas, mas algumas alterações no cariótipo das células tumorais.

Prognóstico: A sobrevida nos casos pediátricos é boa, contrastando com a dos adultos que é muito ruim. Pode apresentar metástases linfonodais, o que não é comum.

g. Vasculares

Sarcoma de Kaposi

Definição: Tumor endotelial localmente agressivo que pode envolver linfáticos e vísceras.

Epidemiologia: São reconhecidos quatro grupos distintos. 1) Clássico – Ocorre em homens idosos na região do Mediterrâneo. 2) Endêmico africano – Não relacionado ao HIV, pode acometer crianças e adultos 3) Iatrogênico – Ocorre em pacientes imunossuprimidos. 4) Associado à SIDA.

Características patológicas: Associado ao vírus HHV8. As quatro formas apresentam características patológicas semelhantes. Células ovais ou fusiformes rodeando vasos e cercadas por células inflamatórias, conforme a lesão se cronifica, o infiltrado se torna mais intenso.

Características clínicas: Manchas avermelhadas que evoluem para placas arroxeadas e depois nódulos confluentes. Linfedema pode acompanhar os casos.

Características genéticas: Nenhuma alteração relevante tem sido encontrada até o momento.

Prognóstico: A evolução clínica depende do padrão epidemiológico, sendo mais agressivo nos portadores de SIDA.

Hemangioendotelioma epitelióide

Definição: Neoplasia maligna vascular angiocêntrica composta por cordões de células endoteliais epitelióides em um estroma mixo-hialino.

Epidemiologia: Pode acometer qualquer idade, mas é mais comum na segunda década de vida.

Características patológicas: Tumores angiocêntricos expandem a parede dos vasos, obliterando o lúmen. Expandem centrifugamente aos tecidos vizinhos, gerando esclerose como resposta. O tumor é formado por cordões de células endoteliais epitelióides distribuídos em um estroma mixo-hialino. Vacúolos citoplasmáticos deformam as células (blister cells). Expressam CD34, CD31, FLI1 e ERG. Antígenos epiteliais podem estar expressos, como queratina 7, 8, 18 e EMA.

Características clínicas: Geralmente desenvolvem massas levemente dolorosas em partes moles, que podem obliterar a luz de vasos. Massas indolentes podem apresentar calcificações passíveis de serem vistas em radiografias.

Características genéticas: Caracterizado pela fusão WWTR1-CAMTA1, resultante da t (1;3)(p36;q23-25)

Prognóstico: A maioria dos casos é indolente, porém 20 a 30% dos casos apresentam metástases e 15% vão a óbito. Embora, seja menos agressivo que o angiossarcoma, alguns fatores têm sido identificados como de mau prognóstico: tumores maiores de 3 cm e com alta atividade mitótica. Séries tem identificado que na ausência desses critérios, a sobrevida em 5 anos é de 100%, enquanto que na presença desses, cai para 59%.

Angiossarcoma de partes moles

Definição: Neoplasia maligna que recapitula morfológica e funcionalmente a célula endotelial em vários níveis.

Epidemiologia: Raro na infância, pode se apresentar em qualquer faixa etária, com pico na sétima década de vida. Alguns casos podem estar associados ao uso de radiação prévia, linfedema crônico e a presença de material não biológico, como próteses, por exemplo.

Características patológicas: Amplo espectro de alterações patológicas, desde áreas bem diferenciadas, até cordões de células epitelioides de alto grau de malignidade.

Características clínicas: Ocorre predominantemente em tecidos profundos das extremidades, seguido de retroperitônio, mediastino e mesentério. Alguns casos podem apresentar coagulopatia, anemia ou hematoma persistente.

Características genéticas: Amplificação MYC é encontrada em casos radioinduzidos ou associados ao linfedema. Coamplificação FLT4 é encontrada em 25% dos angiossarcomas secundários.

Prognóstico: Neoplasias agressivas com alta mortalidade.

h. Condro/ósseos

Condroma de partes moles

Definição: neoplasia benigna composta por células de fenótipo condroide que secretam matriz cartilaginosa, mas ocorrem em partes moles.

Epidemiologia: Aparece geralmente em homens de 30-35 anos.

Características patológicas: Composto por lóbulos de cartilagem hialina madura, delimitados por tecido fibroso, contendo condrócitos maduros que residem em um espaço lacunar.

Características clínicas: Massas indolores próximas a articulações que podem apresentar calcificações centrais à radiografia simples.

Características genéticas: Algumas alterações genéticas já foram identificadas, mas nenhuma patognomônica.

Prognóstico: Boa evolução com excisão completa, com baixa taxa de recorrência local.

Osteossarcoma extraesquelético

Definição: Neoplasia maligna composta por células que secretam matriz osteóide. Podem apresentar diferenciação condrobástica ou fibroblástica.

Epidemiologia: Corresponde acerca de 1-2% de todos os sarcomas de partes moles e a menos de 5% de todos os osteossarcomas. Típico da fase adulta. Pode ser um sarcoma radioinduzido com aparecimento por volta de 2 anos após a radioterapia.

Características patológicas: Todos os subtipos de osteossarcoma de ossos podem aparecer em partes moles e histologicamente são indistintos.

Características clínicas: Massa de crescimento rápido e progressivo que pode estar associada à dor ou não. Por definição, não surgem nos ossos, mas podem envolvê-lo.

Características genéticas: As aberrações cromossômicas não são características.

Prognóstico: Cerca de 75% dos pacientes terão êxito letal em 5 anos, demonstrando a agressividade do tumor.

i. GIST

Definição: Neoplasia mesenquimal mais frequente no trato gastrointestinal, derivada das células de Cajal, caracteristicamente, têm mutações KIT (CD117) ou PDGFRA.

Epidemiologia: Cerca de 11-15/100.000 habitantes. 55% são primários do estômago.

Características patológicas: Amplo espectro morfológico, sendo a maioria de células fusiformes e cerca de 25% de células epitelioides. Pode apresentar-se como subtipo esclerosante com calcificações, ou como subtipo paliçada/vacuolizado.

Características clínicas: Sintomas de dor abdominal inespecífica são comuns, bem como sangramentos, massas e obstruções. Lesões malignas rapidamente se disseminam pela cavidade peritoneal e pelo retroperitônio. As metástases são mais comuns para o fígado. As metástases pulmonares são raras, o que difere, em muito, dos leiomiossarcomas.

Características genéticas: A maioria dos casos é esporádica, mas 10% são associados com uma variedade de síndromes, tais como deficiência na succinato desidrogenase, aparecendo em mulheres em idade precoce, ou na Tríade de Carney (GIST, condroma pulmonar e paraganglioma). NF1 está associada ao GIST intestinal múltiplo e indolente. Existe a síndrome do GIST familiar, onde os tumores são múltiplos ou difusos, tendo como base mutações germinativas nos genes *KIT* ou *PDGFRA*.

Prognóstico: Fatores prognósticos são tamanho do tumor, atividade mitótica e sítio anatômico. Esses fatores dividem os casos em grupos com prognóstico distinto. Não se pode usar a mesma graduação histológica dos sarcomas em geral para o GIST.

j. Bainha de nervo periférico

Schwannomas

Definição: Grupo composto por células tumorais diferenciadas em células de schwann, compreende duas apresentações distintas: schwannoma convencional (raramente maligniza) e o schwannoma melanótico (com potencial para malignização)

Epidemiologia: 90% dos casos são solitários e esporádicos. Múltiplos schwannomas são encontrados na Neurofibromatose tipo 2 (NF2), na schwannomatose e na síndrome de Gorlin-Koutlas. Os casos hereditários têm maior probabilidade de apresentarem o subtipo melanótico.

Características patológicas: A maioria dos tumores são bifásicos, compostos por áreas compactas de células fusiformes (tecido Antoni A), alternadas com áreas de focos difusos dessas células (tecido Antoni B). O subtipo melanótico tem esse nome porque as células tumorais produzem melanina. Expressam a proteína S100, HMB45 e Melan-A nos casos melanóticos.

Características clínicas: Tumores de crescimento lento, geralmente em extremidades. Podem gerar sintomas quando paraespinhais, principalmente na schwannomatose e na localização vestibular. Recebe o nome de schwannoma plexiforme quando envolve múltiplos fascículos nervosos ou todo um plexo.

Características genéticas: Completa ou parcial perda no cromossomo 22 é a alteração mais encontrada nos casos associados à *NF2*, onde está localizado o gene *NF2*, que é um supressor de tumor.

Prognóstico: Evolução costuma ser favorável se houver ressecção, porém, em locais de difícil acesso, a morbidade pode ser considerável. Alguns casos podem malignizar. Quando acontece, principalmente nos casos melanóticos, pode acometer várias vísceras, incluindo cérebro.

Neurofibroma

Definição: Tumor benigno derivado de células de schwann maduras, células perineurais, fibroblastos e mastócitos, bem como axônios embebidos em uma matriz extracelular.

Epidemiologia: A maioria dos casos é esporádica, porém, está fortemente associado à Neurofibromatose tipo 1 (*NF1*), onde se apresenta como múltiplos nódulos.

Características patológicas: Existem quatro apresentações macroscópicas: cutâneo localizado, cutâneo difuso, intraneural localizado e intraneural plexiforme. Ao contrário do schwannoma, as células são arranjadas difusamente e infiltram o nervo envolvido. Expressam a proteína S100 e se pode identificar neurofilamentos, principalmente nos casos plexiformes.

Características clínicas: Geralmente cutâneos, porém podem ser profundos, caracterizando os casos plexiformes.

Características genéticas: Associados à inativação do gene *NF1* no cromossomo 17.

Prognóstico: Geralmente benignos, porém podem malignizar, principalmente os casos plexiformes e profundos.

Perineuroma

Definição: Tumores benignos compostos por células perineurais

Epidemiologia: Tumores raros em partes moles, que podem acometer qualquer idade.

Características patológicas: Cresce em cordões concêntricos em uma matriz mixóide. Contém pouca ou nenhuma atividade mitótica. Não expressa S100, porém expressa EMA.

Características clínicas: Massas indolores quase sempre superficiais.

Características genéticas: Deleções no cromossomo 22 e monossomias já foram relatadas, porém não se prestam para diagnóstico.

Prognóstico: Evolução benigna. Mesmo os raros casos malignos não são muito agressivos.

Tumor de Triton

Definição: Massas intraneurais caracterizadas pela interposição de células musculares estriadas maduras entre as fibras nervosas.

Epidemiologia: Extremamente raro. Acontece na infância.

Características patológicas:

Características clínicas: Massas que envolvem o nervo ciático ou o plexo braquial geralmente, causando dor ou neuropatias periféricas.

Características genéticas: Sem descrição de alterações genéticas específicas.

Prognóstico: Embora benignos, podem gerar prejuízos consideráveis, devido à localização. Há descrições de formações desmóides após a ressecção cirúrgica, mantendo os déficits.

Tumor maligno de bainha de nervo periférico

Definição: Geralmente provém da malignização de um neurofibroma ou schwannoma, geralmente em um contexto de neurofibromatose, mas não exclusivamente. Se a neurofibromatose não estiver presente, as características patológicas sugerindo diferenciação para células de schwann podem fechar o diagnóstico.

Epidemiologia: Menos que 5% dos tumores de partes moles.

Características patológicas: Raramente, esse tipo de tumor pode aparecer a partir de um neuroblastoma/ganglioneuroma ou feocromocitoma. A apresentação mais comum é de células fusiformes com crescimento fascicular, com ramificações vasculares que se assemelham a um hemangiopericitoma. Quando apresenta diferenciação para músculo esquelético, é denominado tumor de Triton maligno.

Características clínicas: A maioria ocorre em extremidades, seguido de tronco e segmento cefálico. Massas extensas, muitas vezes oligossintomáticas são a principal apresentação clínica.

Características genéticas: 50% dos casos acontecem em um cenário de neurofibromatose e 10% são considerados radioinduzidos.

Prognóstico: Alguns fatores conferem pior prognóstico, tais como tumores de tronco, maiores que 5 cm, recorrentes e de alto grau. A associação com NF1 confere pior prognóstico. Tumor de Triton maligno é particularmente agressivo.

Ectomesenquimoma

Definição: Trata-se de um rabdomiossarcoma com componente neural. Podem tanto ser de origem da crista neural, como ser uma variante do rabdomiossarcoma.

Epidemiologia: Extremamente raro, afetando crianças menores de 5 anos geralmente.

Características patológicas: Células embrionárias ou fusiformes interpostas com componentes neuronais.

Características clínicas: Principais sítios são paratesticular, genitália externa, pelve, abdome e segmento cefálico.

Características genéticas: Alguns tumores com t(11;22) devem ser considerados como Sarcoma de Ewing

Prognóstico: Devem ser tratados como rabdomyosarcomas e o prognóstico favorável depende do tamanho inicial, localização superficial e ausência de componente alveolar.

k. Diferenciação incerta

Sarcoma sinovial

Definição: Neoplasia mesenquimal que apresenta graus variáveis de diferenciação epitelial.

Epidemiologia: Predomina em adolescentes e adultos jovens

Características patológicas: Podem se apresentar bifásicos ou monofásicos. Os bifásicos apresentam um componente epitelial sólido e um componente epitelial que simula estrutura glandular. Os monofásicos são, geralmente, compostos por ninhos de células epiteliais. Expressam EMA e queratinas, bem como a proteína S100 focalmente.

Características clínicas: Maioria em tecidos profundos das extremidades, porém podem aparecer em outros locais menos comuns, como cérebro e intestino. Massas de crescimento inicial lento, sendo confundido com tumores benignos, mas leva à instalação de extensas massas dolorosas. Em um terço dos casos, pode apresentar calcificações à radiografia simples.

Características genéticas: Translocação específica, $t(X;18)(p11;q11)$, que leva a fusão SS18-SSX (>95% dos casos).

Prognóstico: Metástases acontecem para pulmões e ossos e podem ser tardias, mesmo 20 anos após o diagnóstico. Por esse potencial é sempre considerada uma lesão maligna de alto grau.

Sarcoma epitelióide

Definição: Neoplasia mesenquimal maligna que exhibe citomorfologia epitelióide. São reconhecidos dois subtipos distintos, o clássico ou convencional, que é acral e de crescimento pseudogranuloso, e o subtipo proximal, que é composto por aglomerados de células epitelióides e acontece na raiz dos membros.

Epidemiologia: O subtipo clássico costuma acometer crianças e o proximal, adultos jovens.

Características patológicas: Nódulos de células fusiformes que podem apresentar necrose central de aspecto geográfico. Pode simular padrão de carcinoma, principalmente no subtipo

proximal. Positividade para antígenos epiteliais, principalmente queratinas e EMA. A perda de expressão INI1 ocorre em mais de 50% dos casos.

Características clínicas: Geralmente com nódulos superficiais que costumam ulcerar. Um dos poucos subtipos que pode se disseminar por via linfática.

Características genéticas: Demonstra complexos rearranjos somáticos, porém nenhum patognomônico.

Prognóstico: Cerca de 40-50% são metastáticos, o que prejudica substancialmente o prognóstico. O subtipo proximal costuma ser de pior prognóstico que o clássico.

Sarcoma alveolar de partes moles

Definição: Sarcoma raro composto por células epitelioides largas e uniformes em nódulos sólidos, ou estruturas alveolares.

Epidemiologia: Corresponde a menos de 1% dos sarcomas de partes moles. Geralmente dos 15 aos 35 anos. Predomina no sexo feminino.

Características patológicas: Forma aglomerados celulares separados por fino tecido conjuntivo, muitas vezes com necrose central, o que confere o aspecto alveolar típico. Imunorreatividade para TFE3 é comum. Desmina e S1100 podem estar positivas, porém HMB45 é negativo.

Características clínicas: Geralmente aparece em coxas e nádegas. Quando ocorre na criança, tem predileção pela língua e órbita. Locais incomuns como mama estômago também podem ser o sítio primário.

Características genéticas: Caracterizado pela fusão gênica ASPSCR1-TFE3, der(17)t(X;17)(p11.2;q25).

Prognóstico: Metástases são comuns e podem aparecer mesmo antes do diagnóstico do tumor primário.

Sarcoma de células claras

Definição: Neoplasia maligna que envolve tecidos profundos, geralmente de extremidades, perto de tendões ou estruturas aponeuróticas.

Epidemiologia: Tumor típico de adultos jovens.

Características patológicas: Aglomerados celulares com bandas de colágenos separando essas estruturas. Pode haver uma diferenciação melanocítica. Reatividade para S100, HMB45, MITF e outros antígenos encontrados em melanoma.

Características clínicas: Pé e tornozelo são as regiões mais comuns, porém, locais incomuns podem ser o sítio primário, como retroperitônio e estômago. Massas de crescimento lento, de meses a anos. Disseminação linfática é frequente.

Características genéticas: Apresenta translocação específica, $t(12;22)(q13;q12)$, resultando na fusão EWSR1-ATF1 em mais de 90% dos casos.

Prognóstico: Metástases são requentes e podem ser por via linfática, além da hematogênica. Pulmões e ossos são locais comuns de disseminação da doença.

Condrossarcoma mixóide extraesquelético

Definição: Neoplasia mesenquimal maligna que, apesar do nome, não existe evidência de diferenciação cartilaginosa.

Epidemiologia: Corresponde a menos de 3% dos sarcomas de partes moles. Acontece geralmente após os 50 anos de idade.

Características patológicas: Arquitetura multinodular definida por septos fibrosos que dividem o tumor em lóbulos hipocelulares, com matriz mixóide. Cartilagem hialina madura não é encontrada. As células contêm núcleos ovais uniformes, com citoplasma levemente vacuolizado. Positividade para proteína S100 e CD117(KIT). Tumores com características rabdóides são negativos para INI1.

Características clínicas: Massas profundas, extensas e dolorosas, que quando aparecem próximo a articulações, podem restringir movimentos.

Características genéticas: Caracterizada pela $t(9;22)(q22;q12)$, resultando em rearranjos NR4A3, tais como a fusão NR4A3-EWSR1.

Prognóstico: Cerca de metade dos casos apresenta metástases, mas apesar disso, pode apresentar sobrevida longa com tratamento com protocolos para Sarcoma de Ewing.

Tumor desmoplásico de pequenas células redondas

Definição: Neoplasia mesenquimal maligna composta de pequenas células redondas com proeminente estroma desmoplásico e diferenciação polifenotípica.

Epidemiologia: Afeta geralmente adultos jovens, principalmente do sexo masculino. Principal sítio acometido é a cavidade abdominal, principalmente retroperitônio, pelve, omento e mesentério. Múltiplos implantes serosos são comuns. Sítios primários fora da cavidade abdominal são incomuns.

Características patológicas: Grupos de células pequenas e redondas em um estroma desmoplásico, que é composto por fibroblastos ou miofibroblastos embebidos em material colágeno frouxo. Necrose central é comum, bem como degeneração cística. Pode haver diferenciação epitelial com padrão de glândulas e rosetas. Expressa queratinas, EMA, vimentina, desmina e NSE. Miogenina e MyoD1 são negativos.

Características clínicas: A apresentação clínica pode envolver dor abdominal, distensão abdominal, massas e ascite.

Características genéticas: Associação com a fusão EWSR1-WT1, devido 'a translocação t(11;22)(p13;q12).

Prognóstico: Prognóstico pobre independente da terapia. Doença com alta letalidade.

Tumor rabdóide extrarenal

Definição: Neoplasia altamente maligna característica da infância. Tumores semelhantes aparecem em rim e cérebro.

Epidemiologia: Aparece na infância, com alguns casos congênitos e disseminados.

Características patológicas: Caracterizado por células rabdóides com núcleos grandes, vesiculares e redondos. Frequentes figuras de mitose. O tumor demonstra perda da adesão celular. Coexpressão de vimentina e antígenos epiteliais, bem como CD99.

Características clínicas: Massas de rápido crescimento e múltiplos nódulos cutâneos.

Características genéticas: Associado a mutações SMARCB1 (INI1). Famílias com mutações germinativas nesse gene estão em risco para schwannomatose.

Prognóstico: Independente do local, o prognóstico não é bom. A sobrevida em 5 anos é menor que 15%.

PEComa

Definição: Neoplasia com diferenciação epitelióide perivascular que são tumores mesenquimais compostos por células com íntima associação com vasos sanguíneos que

expressam marcadores melanocíticos e musculares lisos. Incluem angiomiolipomas e linfangioleiomiomatose.

Epidemiologia: Tumores raros geralmente em adultos jovens.

Características patológicas: Células epitelióides em ninhos com abundante citoplasma eosinofílico e núcleos redondos, circundados por finos capilares

Características clínicas: Aparecem em cavidade abdominal. Alguns casos podem aparecer em ossos e pele. Massas indolores geralmente.

Características genéticas: Associados à esclerose tuberosa.

Prognóstico: Raros casos são malignos. Evolução benigna se totalmente ressecados.

Sarcoma intimal

Definição: Neoplasia mesenquimal maligna de grandes vasos.

Epidemiologia: Tumores raros da vida adulta.

Características patológicas: Células fusiformes atípicas com variada atividade mitótica, necrose e polimorfismo celular. Pode haver confusão diagnóstica com leiomiossarcoma.

Características clínicas: Crescimento tumoral intraluminal com obstrução da luz do vaso e posterior embolização de células neoplásicas, semeando os órgãos. A sintomatologia dependerá do local acometido, podendo se manifestar como tromboembolismo pulmonar, ou claudicação de membros inferiores, por exemplo. O diagnóstico é, muitas vezes, "*post mortem*".

Características genéticas: Amplificação VGEFR, PDGFRA e KIT (CD117) pelo FISH.

Prognóstico: Prognóstico ruim, com sobrevida média de 5 a 9 meses.

I. Indiferenciados

Definição: Sarcoma de partes moles cuja diferenciação não é passível de identificação pela presente tecnologia. Trata-se de um grupo heterogêneo e de um diagnóstico de exclusão. Não contempla os tumores de linhagem específica que se desdiferenciaram.

Epidemiologia: Por ser um grupo heterogêneo, pode aparecer em qualquer idade e localização.

Características patológicas: Não há morfologia específica, podendo ser pleomórfico, fusiforme, epitelióide ou de células redondas. A imunofenotipagem não consegue definir a linhagem.

Características clínicas: São tumores agressivos e de rápida evolução.

Características genéticas: Indistintas.

Prognóstico: Apesar de heterogêneo, o grupo compartilha o prognóstico reservado.

1.2.2 Sarcomas ósseos:

a. Condrogênicos

Osteocondroma

Definição: Neoplasia benigna caracterizada por projeções cartilagueas na superfície de ossos, contendo cavidade medular que é contínua com a do osso adjacentes.

Epidemiologia: É um dos tumores benignos mais comuns. Cerca de 15% dos casos são múltiplos, sendo condição hereditária autossômica dominante.

Características patológicas: A lesão tem três camadas: pericôndrio, cartilagem e osso. Não apresenta atipias.

Características clínicas: Aparece em ossos pré-formados por ossificação endocondral. As metáfises ósseas são o principal sítio acometido, principalmente o fêmur distal. Muitos são assintomáticos.

Características genéticas: Foram descritas aberrações envolvendo cromossomo 8.

Prognóstico: A cura é alcançada com ressecção completa e a recorrência, nessas circunstâncias, é incomum. O risco de malignização é de cerca de 1%.

Condroblastoma

Definição: Neoplasia benigna condroide composta por condroblastos que aparece em esqueleto imaturo.

Epidemiologia: A maioria dos pacientes tem entre 10 e 25 anos. Lesões de crânio costumam aparecer em pacientes mais velhos, por volta de 55 anos.

Características patológicas: Células uniformes redondas ou poligonais com bordas citoplasmáticas bem definidas, basofílicas e com núcleo redondo. São os chamados condroblastos. Células gigantes multinucleadas podem estar presentes. Costumam estar embebidos em material hialino condroide. Expressam proteína S100 e SOX9.

Características clínicas: O sintoma mais frequente é dor localizada, edema articular e limitação de movimento, muitas vezes de longa data.

Características genéticas: Nenhuma alteração genética relevante foi descrita.

Prognóstico: A grande maioria evolui bem com curetagem e enxerto ósseo. A recorrência ocorre mais em lesões de crânio devido às dificuldades de curetagem.

Condrossarcoma (Graus I-III)

Definição: Neoplasias malignas localmente agressivas que produzem matriz cartilaginosa com manifestações variadas. Pode ser primário, quando não deriva de uma lesão benigna preexistente, ou secundário, quando deriva de uma lesão condroide benigna prévia. É chamado periosteal ou justacortical, quando ocorre na superfície óssea. E periférico quando acontece na capa cartilaginosa de um encondroma.

Epidemiologia: O condrossarcoma central responde por 20% dos tumores malignos ósseos. Depois de mieloma e osteossarcoma, é o tumor ósseo mais comum. Acomete adultos geralmente. Os casos secundários podem ser a evolução de encondromas que fazem parte de síndromes genéticas, como Ollier e Malfucci. Os casos secundários aparecem em idade precoce, se comparados aos primários.

Características patológicas: A matriz cartilaginosa é abundante, com a presença de grupos celulares de tamanhos variados. Presença de atipias e figuras de mitose. Podem apresentar grau de malignidade variável, de I a III.

Características clínicas: Massas de crescimento lento e de longa data, que podem apresentar dor ou não. Tumores em crânio podem gerar sinais e sintomas neurológicos. As massas podem alcançar extensos volumes.

Características genéticas: Mutações *IDH1* e *IDH2* são encontradas em condrossarcomas centrais primários e secundários, bem como nos periosteais. Aberrações cromossômicas já foram descritas, mas sem poder diagnóstico ou prognóstico. Mutações somáticas *RB1* e *TP53* também podem estar associadas.

Prognóstico: A evolução é variável e depende do local acometido, bem como do grau de malignidade histológica.

Condrossarcoma desdiferenciado

Definição: Variante altamente maligna de condrossarcoma, caracterizada por histologia bimórfica com áreas distintas e de separação abrupta, com áreas de condrossarcoma de baixo grau com áreas de alto grau.

Epidemiologia: Desdiferenciação desenvolve em 10-15% dos condrossarcomas centrais. Os casos periféricos não costumam desdiferenciar, mas é possível. A desdiferenciação acontece geralmente na vida adulta.

Características patológicas: Existe uma transição abrupta da área de tumor de baixo grau para a desdiferenciada, que passa a ter um aspecto de sarcoma indiferenciado de alto grau, hipercelular, ou mesmo de osteossarcoma.

Características clínicas: Os locais mais acometidos são fêmur, pelve e úmero. Muitas vezes diagnosticado a partir de um crescimento abrupto de uma lesão antiga, ou uma fratura patológica. Apresenta resposta decepcionante com quimioterapia neoadjuvante.

Características genéticas: Mutações *IDH1* e *IDH2* são encontradas em ambos componentes da lesão. Não há descrição de alguma aberração cromossômica característica.

Prognóstico: Evolução desfavorável, devido à presença de metástases pulmonares e da irressecabilidade de algumas lesões.

Condrossarcoma mesenquimal

Definição: Neoplasia maligna bimórfica composta por áreas de tumor de células redondas pouco diferenciadas e cartilagem hialina bem diferenciada.

Epidemiologia: Corresponde a menos de 3% dos condrossarcomas primários. O pico de incidência é em adultos jovens.

Características patológicas: As áreas de células redondas pouco diferenciadas contrastam com as de cartilagem hialina bem diferenciada. As áreas de células redondas simulam um sarcoma de Ewing. Porém FLI1 é negativo.

Características clínicas: Pode acontecer em qualquer localização e se caracterizam, geralmente, por massa dolorosa que destrói o osso adjacente

Características genéticas: Fusão HEY1-NCOA2 é identificada em condrossarcoma mesenquimal e não o é no condrossarcoma clássico. Outro contraste é ausência de mutações IDH1 e IDH2.

Prognóstico: A evolução pode ser mais favorável que a do condrossarcoma clássico, porque o tumor responde à quimioterapia, geralmente com protocolos de tratamento para sarcoma de Ewing e também à radioterapia. Metástases pulmonares são o principal problema a longo prazo.

Condrossarcoma de células claras

Definição: Variante rara do condrossarcoma.

Epidemiologia: Correspondem a 2% de todos os condrossarcomas.

Características patológicas: Composta por células com núcleos grandes e ovais com nucléolo central, com citoplasma escasso e pálido. Células gigantes multinucleadas são frequentes. Fortemente positivo para proteína S100.

Características clínicas: Podem acometer qualquer região, sendo a dor o sintoma mais prevalente.

Características genéticas: As mutações IDH estão ausentes, enquanto mutações somáticas no TP53 são frequentes.

Prognóstico: A ressecção completa em bloco é geralmente curativa. Pode desenvolver metástases pulmonares, bem como apresentar desdiferenciação quando não ressecado completamente.

b. Osteogênicos

Osteoma

Definição: Tumor benigno composto por osso compacto que cresce na superfície óssea. Se acontece na medular óssea, recebe a denominação de enostose.

Epidemiologia: Achados incidentais geralmente.

Características patológicas: Composto por osso lamelar maduro.

Características clínicas: Aparece em ossos de ossificação membranosa, como calota craniana, face e mandíbula. Enostoses acontecem em vértebras, metáfises e ossos longos.

Características genéticas: Não há descrição de alterações genéticas.

Prognóstico: Evolução favorável. Conduta expectante.

Osteoma osteóide

Definição: Formação óssea benigna geralmente sintomática.

Epidemiologia: Geralmente afeta população pediátrica, porém pode ocorrer em indivíduos mais velhos.

Características patológicas: A característica essencial é a parte central da lesão, denominada “nidus”, caracterizada pela atividade osteoblástica diferenciada. Apresenta produção de osteóide e, muitas vezes, de osso maduro. Não há pleomorfismo, tampouco tecido cartilaginoso.

Características clínicas: São lesões pequenas e com limitado potencial de crescimento, porém com sintomatologia desproporcional, geralmente com dor que responde a anti-inflamatórios ou corticóides. A dor apresenta piora noturna. Pode simular monoartrite quando a lesão está próxima a uma articulação.

Características genéticas: Poucas alterações genéticas descritas, porém sem valor prognóstico ou diagnóstico.

Prognóstico: Evolução excelente com baixas taxas de recorrência.

Osteoblastoma

Definição: Neoplasia benigna formadora de osso, geralmente em vértebras ou ossos longos.

Epidemiologia: Tumor raro, correspondendo a menos de 1% dos tumores ósseos.

Características patológicas: Semelhante ao osteoma osteóide, porém apresenta espículas de tecido ósseo rodeadas por osteoblastos proeminentes.

Características clínicas: Pode gerar compressões radiculares, quando ocorre em vértebras. Uma apresentação rara se denomina osteoblastoma tóxico, com sintomas sistêmicos associados.

Características genéticas: Não há características genéticas relevantes.

Prognóstico: Evolução favorável com baixa taxa de recorrência com ressecção total.

Osteossarcoma central de baixo grau

Definição: Neoplasia de baixo grau formadora de osso que surge na medular dos ossos.

Epidemiologia: Corresponde a 1-2% dos osteossarcomas. Pico de incidência na terceira década de vida.

Características patológicas: Proliferação fibroblástica hipocelular ou moderadamente celular com variável produção de osteóide. Pode invadir o osso preexistente e invadir partes moles, o que o diferencia da displasia fibrosa.

Características clínicas: Dor e edema são os principais sinais e sintomas. São tumores extensos, líticos e trabeculados à radiografia simples.

Características genéticas: Amplificação MDM2 é frequente nesse tipo de osteossarcoma.

Prognóstico: Com a ressecção com margens livres, a evolução é favorável, com 90% de sobrevida em 5 anos. Desdiferenciação para alto grau pode ocorrer de 10 a 36% dos casos. Mais comum em recorrência. Nesta situação, a quimioterapia estaria indicada.

Osteossarcoma convencional

Definição: Neoplasia maligna de alto grau intraóssea produtora de osso. É considerado primário quando o osso adjacente é normal, e secundário quando o osso adjacente é alterado, como em radioterapia prévia, Doença de Paget e infartos ósseos.

Epidemiologia: É o subtipo de osteossarcoma mais comum. Distribuição de idade bimodal, sendo o primeiro dos 10 aos 15 anos e o segundo em adultos maiores de 50 anos. Apenas 1% dos pacientes com Doença de Paget sofrerão transformação para osteossarcoma.

Características patológicas: O tumor apresenta padrão infiltrativo, substituindo a medula e erodindo as trabéculas ósseas locais. As células apresentam severa anaplasia e pleomorfismo., podendo ser fusiforme, pequena e redonda, ou mesmo epitelióide. A característica patológica encontrada é a matriz não mineralizada denominada matriz osteóide, sendo esta extremamente eosinofílica. Uma matriz óssea mineralizada é basofílica. O osteossarcoma convencional é subdividido em osteoblástico (80%), condrobástico (15%) e fibroblástico (10%). A imunofenotipagem não é específica, e por isso, não é essencial ao diagnóstico.

Características clínicas: A grande maioria ocorre nas metáfises de ossos longos, principalmente fêmur distal e tíbia proximal. Manifesta-se como massa dolorosa de crescimento rápido que prejudica a mobilização do membro acometido.

Características genéticas: Associada a algumas síndromes genéticas como a síndrome de Li Fraumeni, Retinoblastoma hereditário e síndrome Rothmund-Thomson. Osteossarcoma convencional apresenta alterações cariotípicas complexas. Mutações IDH1 e IDH2 estão

ausentes em osteossarcoma, porém presentes em condrossarcomas, o que pode ajudar no diagnóstico diferencial entre osteossarcoma condroblástico e condrossarcoma desdiferenciado. Deleção ou Perda de heterozigozidade 3q13 está correlacionado à progressão de doença e pior prognóstico. Amplificação do gene RUNX2, que promove a diferenciação terminal dos osteoblastos, está associada a resposta ruim à quimioterapia.

Prognóstico: Crescimento rápido e metástases hematogênicas precoces comprometem o resultado final. Metástases pulmonares e ósseas são as principais. Ainda é um tumor de alta mortalidade, apesar de todos os progressos médicos.

Osteossarcoma telangectásico

Definição: Neoplasia maligna de alto grau intraóssea produtora de osso, caracterizada por amplos espaços septados repletos de sangue.

Epidemiologia: Corresponde a cerca de 4% dos osteossarcomas.

Características patológicas: Espaços preenchidos por sangue separados por septos simulando cisto ósseo aneurismático. Os septos são populados por células pleomórficas com hipercromasia nuclear. Mitoses atípicas são comuns. Osteóide é identificado. Células gigantes multinucleadas são encontradas nos septos.

Características clínicas: Ocorre em metáfises de ossos longos, sendo a apresentação clínica semelhante a do osteossarcoma convencional. Fratura patológica é mais comum, ocorrendo em cerca de 25% dos casos. Tumor intensamente lítico aos exames de imagem. Geralmente rompe a cortical e invade as partes moles.

Características genéticas: As alterações são menos complexas que as do osteossarcoma convencional, entretanto, não são específicas.

Prognóstico: Evolução semelhante a do osteossarcoma convencional. Considerado sensível à quimioterapia.

Osteossarcoma de pequenas células

Definição: Neoplasia maligna de alto grau composta por pequenas células com variado grau de produção osteóide.

Epidemiologia: Corresponde a cerca de 1,5% dos osteossarcomas. A maioria em adultos jovens.

Características patológicas: Aparece em metáfises de ossos longos. Composto por células com pouco citoplasma e núcleo arredondado, associado à produção de osteóide. Imunohistoquímica não é específica.

Características clínicas: Semelhante as do osteossarcoma convencional.

Características genéticas: Não há alterações genéticas relacionadas.

Prognóstico: A evolução é menos favorável que o osteossarcoma convencional.

Osteossarcoma paraosteal

Definição: Neoplasia maligna de baixo grau de malignidade produtora de osso que cresce na superfície óssea e não na medular.

Epidemiologia: Corresponde a cerca de 4% dos osteossarcomas.

Características patológicas: Composto por células fusiformes com atipia mínima, em trabéculas ósseas paralelas. O tumor tende a ser hipocelular.

Características clínicas: Cerca de 70% dos casos acontecem na fossa poplíteia, acometendo a face posterior do fêmur distal.

Características genéticas: Podem apresentar um ou vários cromossomos supranumerários em anel.

Prognóstico: Evolução boa com ressecção total, apresentando cerca de 90% de sobrevida em 5 anos. Lesões recorrentes podem apresentar alto grau de malignidade.

Osteossarcoma periosteal

Definição: Neoplasia maligna de grau intermediário formadora de osso e cartilagem que cresce na superfície óssea.

Epidemiologia: Menos de 2% dos osteossarcomas. Acontece em adultos jovens.

Características patológicas: Predomina o tecido cartilaginoso, com variado grau de atipia em uma matriz mixóide. Presença de osteóide é mandatória.

Características clínicas: Em contraste com o osteossarcoma paraosteal, que é metafisário, o periosteal é diafisário. Surge como massa séssil na face anterior de ossos longos que pode ter uma duração de mais de 1 ano. Essa característica pode, inclusive, permitir com que haja calcificação nas partes moles adjacentes ao tumor, vista à radiografia.

Características genéticas: Não há alterações genéticas consistentes.

Prognóstico: Evolução relativamente favorável, com sobrevida de mais de 80% em 5 anos. Porém, 15% dos pacientes podem desenvolver metástases, principalmente em casos recidivados. O tratamento é cirúrgico.

Osteossarcoma superficial de alto grau

Definição: Neoplasia maligna de grau alto grau de malignidade, formadora de osso, que cresce na superfície óssea.

Epidemiologia: Corresponde a menos de 1% dos osteossarcomas.

Características patológicas: Apresenta as mesmas características patológicas do osteossarcoma convencional, porém com extensas áreas de diferenciação espinhosa.

Características clínicas: O fêmur é o osso mais acometido, com a presença de massa dolorosa de crescimento rápido.

Características genéticas: Não há características genéticas específicas.

Prognóstico: Evolução semelhante ao osteossarcoma convencional, porém cuja resposta à quimioterapia neoadjuvante não costuma ser eficaz.

c. Fibrogênicos

Fibrossarcoma ósseo

Definição: Neoplasia maligna fusiforme de alto grau ou intermediário, desprovido de pleomorfismo e sem nenhuma linha de diferenciação, além da fibroblástica.

Epidemiologia: Menos de 5% dos casos de tumores ósseos.

Características patológicas: Células fusiformes em fascículos organizadas em “espinha de peixe”, com grau variável de produção de colágeno. Costuma ser um diagnóstico de exclusão, devendo-se afastar a presença de osteóide para afastar osteossarcoma fibroblástico e, também, a presença de cartilagem para afastar condrossarcoma desdiferenciado.

Características clínicas: O fêmur distal é o sítio mais comum. Dor, edema e fratura patológica estão geralmente presentes ao diagnóstico.

Características genéticas: Existe pouca informação genética para este tipo de tumor.

Prognóstico: Pode apresentar metástases para pulmão e ossos. A sobrevida em 5 anos é de cerca de 35%.

d. Fibrohistiocíticos

Fibroma não ossificante

Definição: Proliferação benigna fibroblástica com a presença de células gigantes multinucleadas que se estende até a cavidade medular. Quando confinado ao córtex ósseo, denomina-se “defeito fibroso cortical”.

Epidemiologia: Por ser a maioria dos casos assintomática, não existe uma estimativa epidemiológica concreta.

Características patológicas: Fibroblastos fusiformes em aglomerados com a presença de células gigantes multinucleadas, hemossiderina e histiócitos. Alterações císticas e necrose podem ser encontradas. O diagnóstico somente pode ser fechado em conjunto com a clínica e a radiologia.

Características clínicas: Acontece em esqueleto imaturo, predominando na segunda década de vida. Geralmente assintomática, porém pode acontecer fratura patológica.

Características genéticas: Não há alterações genéticas características.

Prognóstico: Evolução favorável. Raros casos de malignização foram descritos.

e. Sarcoma de Ewing

Definição: Neoplasia maligna de pequenas células redondas e azuis que apresentam alterações moleculares patognomônicas e graus variáveis de diferenciação neuroectodérmica.

Epidemiologia: É o segundo tumor ósseo mais frequente em crianças, adolescentes e adultos jovens.

Características patológicas: Imunohistoquímica demonstra diferenciação neural em graus variáveis. Sarcoma de Ewing clássico não apresenta marcadores neuronais, apenas CD99 membranoso difuso. Positividade FLI1 é encontrada frequentemente.

Características clínicas: Os locais mais acometidos são fêmur, tíbia e úmero. A dor é o sintoma mais frequente, mesmo precedendo o aparecimento de massas. Febre intermitente e anemia fazem parte da história natural da doença. Fratura patológica não é comum.

Características genéticas: Caracterizado pela translocação balanceada envolvendo gene EWSR1 no cromossomo 22 e um gene membro da família ETS, gerando fusões que são chaves na patogênese do tumor. Exemplos: $t(11;22)(q24;q12)$ – fusão EWSR1-FLI1 ; $t(21;22)(q22;q12)$ – fusão EWSR1-ERG.

Prognóstico: Com a terapia atual, cerca de um terço dos pacientes podem alcançar a cura. Porém, em casos metastáticos, o prognóstico é menos favorável. Pacientes com metástases ósseas têm pior prognóstico, com sobrevida menor que 15% em 5 anos.

f. Hematopoiéticos

Mieloma múltiplo

Definição: Proliferação clonal neoplásica de células plasmáticas derivadas da medula óssea. Doença multicêntrica que envolve vários órgãos, inclusive ossos.

Epidemiologia: Doença da sexta e sétima década, tem na invasão óssea uma das mais frequentes alterações. Raro antes dos 40 anos.

Características patológicas: Vários padrões de envolvimento de medula óssea podem acontecer, sendo intersticial, nodular, focal ou obliterativo. Expressam CD138, CD138 , MUM1 e imunoglobulina citoplasmática monotípica. Não expressa Imunoglobulina de superfície. A expressão tumoral monotípica de imunoglobulina de cadeias leves kapa e lambda firma o diagnóstico.

Características clínicas: Dor, fratura patológica, hipocalcemia e anemia aparecem frequentemente. Ossos do esqueleto axial são afetados e podem gerar sintomatologias neurológicas por compressão.

Características genéticas: Divide dois grupos distintos: 40% dos casos apresentam translocação recíproca balanceada sobre locus de imunoglobulinas de cadeia pesada. 60% dos casos são caracterizados por hiperdiploidia com polissomia de vários cromossomos 3,5,7,9,11, 15,19 e 21.

Prognóstico: Doença incurável com sobrevida média de 3 anos.

g. Osteoclásticos ricos em células gigantes

Cisto ósseo aneurismático

Definição: Neoplasia benigna destrutiva e expansiva do osso composta por espaços císticos repletos de sangue.

Epidemiologia: Podem acometer qualquer faixa etária, porém predominam nas duas primeiras décadas de vida.

Características patológicas: Áreas císticas delimitadas por septos fibrosos compostos de fibroblastos e células gigantes multinucleadas, com osteoblastos reativos circundando as bordas.

Características clínicas: Afeta geralmente metáfises de ossos longos. Queixas de dor e edema são as mais comuns. Alterações radiculares podem aparecer em lesões vertebrais. Observam-se áreas líticas à radiografia.

Características genéticas: Rearranjos USP6 ocorrem em cerca de 70% dos casos e estão associados a lesões primárias e não secundárias, porém não guardam valor prognóstico

Prognóstico: Evolução favorável, porém com altas taxas de recorrência local.

Tumores de células gigantes

Definição: Neoplasia benigna localmente agressiva composta pela proliferação de células mononucleares entremeadas por células gigantes multinucleadas.

Epidemiologia: Representam 4 a 5% de todos os tumores ósseos, principalmente em adultos jovens. Transformação maligna ocorre em menos de 1% dos casos.

Características patológicas: Aceita-se que as células gigantes multinucleadas não são tumorais, mas sim reativas. O estroma mesenquimal cujas células expressam RANKL é que são o componente neoplásico. Macrófagos e osteoclastos expressam RANK em sua superfície, e na presença de fatores de estimulação de colônias, as células estromais na ativação de osteoclastos através da ligação do RANKL ao receptor RANK. Expressam CD51 e marcadores de macrófagos, incluindo CD45, CD33 e CD68.

Características clínicas: A maioria dos casos é esporádica, porém, alguns são radioinduzidos. Dor e edema local são as principais alterações, seguidas de limitações de movimentos e fraturas patológicas. Envolve geralmente epífises e metáfises adjacentes.

Características genéticas: Apresentam redução do comprimento de algumas telomerasas, porém nenhuma alteração encontrada tem valor prognóstico.

Prognóstico: Alguns casos podem apresentar metástases, que na verdade, são resultado de embolização intravascular de componentes tumorais. Com o advento do Denosumabe, um

anticorpo monoclonal humanizado, casos inoperáveis têm apresentado melhor evolução. A cirurgia e curetagem continuam a gerar bons resultados em casos localizados de abordagem pouco mórbida.

h. Notocordais

Cordoma

Definição: Tumor maligno que apresenta diferenciação notocordial.

Epidemiologia: Doença da fase adulta, somente acontece em crianças em um cenário de esclerose tuberosa.

Características patológicas: Células gigantes com citoplasma eosinofílico, separadas em lóbulos por septos fibrosos. O citoplasma é vacuolizado, o que confere às células tumorais a denominação de células “falisifóricas”. Matriz extracelular abundante embebe as células.

Características clínicas: Aparecem na linha média, conferindo sintomatologia específica ao local primário. Se na base do crânio, propicia cefaleia, diplopia e paralisia facial. Se em coluna, pode gerar dor crônica.

Características genéticas: Monossomia do 1 e ganho de cromossomo 7 são comuns. Raros casos são considerados familiares, sendo que duplicação do gene T geralmente é encontrada. Esse gene é fundamental para o desenvolvimento da notocorda.

Prognóstico: A sobrevida média é de 7 anos. Cerca de 40% dos casos extracranianos apresentam metástases para pulmões, ossos, linfonodos e tecido subcutâneo. A recorrência local é muito frequente, mesmo após ressecção ampla.

i. Vasculares

Hemangioma

Definição: Neoplasia benigna composta por capilares sanguíneos.

Epidemiologia: Casos ósseos correspondem a menos de 1% dos tumores e a idade de pico de incidência é de 50 anos.

Características patológicas: Composta de vasos finos com células endoteliais maduras.

Características clínicas: Maioria assintomática, entretanto lesões extensas podem gerar sintomas compressivos.

Características genéticas: Não apresenta alterações genéticas específicas.

Prognóstico: Evolução favorável.

Hemangioma epitelióide

Definição: Neoplasia localmente agressiva composta por células com fenótipo endotelial e epitelióide.

Epidemiologia: A maioria dos pacientes são adultos.

Características patológicas: Tumores com arquitetura lobular substituem a cavidade medular e infiltram as trabéculas ósseas. O centro dos lóbulos é hiper celular e contem células epitelióides. Muitos tumores contêm vasos bem formados. O estroma é composto por tecido conectivo frouxo

Características clínicas: Geralmente acomete ossos tubulares longos e vértebras. A dor local é o sintoma mais frequente. À radiografia do osso acometido, a lesão se apresenta lítica e circunscrita, muitas vezes expansiva, podendo erodir a córtex.

Características genéticas: Não se encontra a fusão WWTR1-CAMTA1, o que torna possível o diagnóstico diferencial com hemangioendotelioma epitelióide, onde a fusão está presente.

Prognóstico: Evolução favorável com curetagem, ressecção completa, ou mesmo radioterapia para as lesões irrissecáveis. A recorrência local ocorre em menos de 10% dos casos.

Hemangioendotelioma epitelióide

Definição: Neoplasia maligna de malignidade baixa ou intermediária, composta por células com fenótipo endotelióide, em estroma condroide hialinizado ou basofílico.

Epidemiologia: O esqueleto pode ser o único órgão acometido e a idade mais atingida é a dos adultos jovens.

Características patológicas: Composta por células epitelióides e fusiformes com núcleos redondos ou alongados, nucléolos proeminentes e citoplasma eosinofílico abundante. Vacúolos citoplasmáticos são encontrados. Presença de proeminente estroma mixo-hialino. Expressa marcadores endoteliais: CD3, FLI1, CD34 e ERG. Também apresenta positividade alta para queratinas e EMA.

Características clínicas: Dor e edema localizados podem aparecer, porém, alguns casos são assintomáticos. Os ossos tubulares longos são os mais acometidos. As lesões são líticas e pobremente circunscritas, inclusive com ruptura de córtex.

Características genéticas: A fusão WWTR1-CAMTA1 é patognomônica desse subtipo tumoral.

Prognóstico: A mortalidade está em torno de 20%. O envolvimento de dois ossos já indica pior prognóstico.

Angiossarcoma

Definição: Neoplasia maligna de alto grau composta de células que demonstram diferenciação endotelial.

Epidemiologia: Compreende menos de 1% dos sarcomas ósseos. Mais frequente em adultos.

Características patológicas: Células epitelióides malignas, com núcleos vesiculares, nucléolos pequenos e citoplasma eosinofílico. Vacúolos citoplasmáticos podem estar presentes.

Expressam CD31, CD34, vWF, ERG e FLI1. Queratinas e EMA podem estar positivos também.

Características clínicas: Lesões osteolíticas múltiplas ou únicas que podem estar associadas a massas dolorosas. Ruptura de cortical e extensão para partes moles são comuns.

Características genéticas: A $t(1;14)(p21;q24)$ tem sido encontrada. Amplificação MYC pode estar presente em casos radioinduzidos.

Prognóstico: Tumor altamente agressivo, com prognóstico reservado. Sobrevida em 5 anos por volta de 33%.

j. Miogênico/lipogênico/epitelial

Leiomiossarcoma

Definição: Neoplasia maligna primária de osso com diferenciação para músculo liso.

Epidemiologia: Acontece na vida adulta, podendo estar associado à radioterapia prévia ou infecção pelo vírus EBV.

Características patológicas: Células fusiformes que se organizam em fascículos que se interceptam, crescendo em padrão infiltrativo. Pleomorfismo, atividade mitótica e necrose estão presentes.

Características clínicas: Mais comum nos ossos do joelho. Dor e fratura patológica podem estar associados. Metástases ósseas em leiomiossarcoma não são comuns, podem devem ser afastadas para se firmar como lesão primária do osso.

Características genéticas: Apresenta perdas genéticas e ausência de fosforilação do gene RB.

Prognóstico: O grau de malignidade tem relação direta com o prognóstico. Metástases podem ocorrer para pulmões, principalmente, nos casos de alto grau.

Lipossarcoma

Definição: Neoplasia maligna cujo fenótipo recapitula a linhagem adipocítica e crescem próximo a superfície dos ossos.

Epidemiologia: Tumor raro em ossos.

Características patológicas: Características histológicas semelhantes aos casos de partes moles.

Características clínicas: Acontecem em ossos tubulares, principalmente F6emur e tibia.

Características genéticas: Cromossomos supranumerários em anel. Alterações nos genes *HMGA2* e *MDM2* foram descritas em casos paraosteais.

Prognóstico: Casos de alto grau de malignidade apresentam pior evolução.

Adamantinoma

Definição: Neoplasia maligna bifásica caracterizada por uma variedade de padrões morfológicos, principalmente grupos de células epitelioides, rodeados por componente osteofibroso.

Epidemiologia: Compreende 0,4% dos tumores ósseos. Podem acontecer em qualquer idade, com média entre 25 e 35 anos.

Características patológicas: Componente epitelial e osteofibroso que se interceptam. Existem quatro subtipos: basalóide, tubular, fusiforme e escamoso.

Características clínicas: A tibia está acometida em até 90% dos casos. Cerca de 10% dos casos apresentam lesões múltiplas no osso acometido. A evolução cínica é lenta, edema e alterações radiológicas podem persistir por mais de 30 anos antes do diagnóstico. Recorrência local e metástases podem aparecer muitos anos após a lesão primária

Características genéticas: Cópias extras dos cromossomos 7,8,12, 19 e 21 têm sido identificadas. Alterações somáticas no gene TP53 foram identificadas principalmente no componente epitelial.

Prognóstico: Cerca de 30 % dos casos podem enviar metástases, com mortalidade comparável. Padrão de disseminação para linfonodos e pulmão, raramente para esqueleto, fígado e cérebro.

k. Indefinidos

Histiocitose de células de Langerhans

Definição: Proliferação clonal de células de Langerhans patológicas.

Epidemiologia: Responsável por menos de 1% dos tumores ósseos. 80% dos casos acontecem antes dos 30 anos de idade, principalmente na infância.

Características patológicas: O diagnóstico depende da presença das células de Langerhans na lesão, que são de tamanho médio com bordas citoplasmáticas pouco evidentes. O citoplasma é eosinofílico e o núcleo é oval ou riniforme. Essas células podem estar agregadas em um ambiente rico em histiócitos. As células de Langerhans têm imunofenotipagem característica: positividade de membrana para CD1a CD2017 e nuclear e citoplasmática para S100. Negatividade para CD45. À microscopia eletrônica, aparecem os grânulos de Birbeck, semelhantes à raquete de tênis, dentro do citoplasma.

Características clínicas: Os ossos mais envolvidos são os do crânio, fêmur e pelve. A doença monostótica é quatro vezes mais comum que a poliestótica. Doe e edema são os sinais mais comuns. Como a região da mastoide é muitas vezes afetada, mastoidite pode ser a apresentação inicial.

Características genéticas: Não há alteração genética recorrente. Cerca de metade dos casos apresenta a mutação somática V600E no gene BRAF. Apenas um tipo de mutação no gene TP53 foi encontrada nessa patologia, a mutação R175H.

Prognóstico: A evolução é favorável nos casos sem envolvimento visceral. Existe risco de 10% de recorrência em casos monostóticos e 25% nos poliestóticos.

Doença de Rosai- Dorfman

Definição: Doença rara caracterizada pela proliferação de histiócitos.

Epidemiologia: Menos de 10% dos pacientes com essa doença apresentam lesões ósseas.

Características patológicas: Histiócitos grandes com citoplasma abundante em um estroma inflamatório. Esses histiócitos fagocitam os leucócitos, o que se denomina emperipolesis. Os histiócitos expressam S100, CD68 e Cd163, sendo negativos para CD1a.

Características clínicas: As regiões metafisárias de ossos longos são as mais acometidas seguidas dos ossos do crânio. Massas dolorosas que se apresentam líticas à radiografia simples.

Características genéticas: Não há características genéticas identificadas.

Prognóstico: Boa evolução com curetagem da lesão. Porém, 40% dos pacientes desenvolvem doença extra-óssea.

I. Indiferenciados

Definição: Neoplasia maligna de alto grau caracterizada por células com pleomorfismo difuso na ausência de uma diferenciação celular específica.

Epidemiologia: Menos de 2% das neoplasias ósseas, sendo mais encontrada em adultos.

Características patológicas: É um diagnóstico de exclusão, por isso, amostras grandes de tumor devem ser avaliadas. Como as células apresentam-se altamente pleomórficas, deve se afastar a presença de osteóide, o que pode afastar o diagnóstico de osteossarcoma. A imunofenotipagem não se mostra específica.

Características clínicas: Predomina em ossos longos de extremidades. Dor e edema são encontrados.

Características genéticas: Não há alteração específica. Cerca de 20% dos casos podem apresentar mutações somáticas no gene TP53.

Prognóstico: Evolução desfavorável, visto que são lesões altamente agressivas e que se mostram metastáticas ao diagnóstico em cerca de 50% dos casos.

ANEXO 2: FICHA DE COLETA DE DADOS.

Nome do projeto: Avaliação retrospectiva da presença e frequência de modificadores genéticos em sarcomas provenientes do Hospital de Câncer de Barretos			
Pesquisadora: Dra.Sáhlua Miguel Volc			
Identificação			
1	Classificação do estudo	1- Retrospectivo; 2- Prospectivo	1
2	Identificação		2
3	Prontuário	_____	3
4	Nome do paciente		4
5	Data de nascimento	DD/MM/AAAA	5
6	Sexo	1-Feminino; 2- Masculino	6
7	Raça	1- Branca; 2- Negra; 3- Parda; 4- Outra; 99- Ignorado	7
8	Estado civil	1- Solteiro; 2- Casado/Amasiado; 3- Divorciado; 4- Viúvo; 5- Outros; 99- Ignorado	8
9	Escolaridade	1- Analfabeto; 2- Fundamental incompleto; 3- Fundamental completo; 4- Ensino médio incompleto; 5- Ensino médio completo; 6- Superior incompleto; 7- Superior completo; 99- Ignorado	9
10	Profissão	Descrever; 99- Ignorado	10
11	Cidade de nascimento	Descrever; 99- Ignorado	11
11	Estado de Nascimento	Descrever; 99- Ignorado	12
12	Cidade de procedência	Descrever; 99- Ignorado	13
13	Estado de procedência	Descrever; 99- Ignorado	14
Histórico familiar de câncer			
15	É adotivo?	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	15
16	Conhece o histórico familiar de câncer?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	16
17	História familiar de câncer?	0- Não; 1- Sim	17
Caso não haja história familiar de câncer, ir para "Informações quanto ao tumor", (item 58) - preencher do item 28 ao 57 com 88 (não se aplica)			
18	Mama	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	18
19	Caso haja histórico de câncer de mama, quantos parentes?	Número; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	19
20	Grau de parentesco (mama) - 1	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	20
21	Grau de parentesco (mama) - 2	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	21
22	Grau de parentesco (mama) - 3	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	22
23	Trato gastrointestinal	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	23
24	Caso haja histórico de câncer no trato gastrointestinal, quantos parentes?	88- Não se aplica; 99- Ignorado	24
25	Grau de parentesco (Trato gastrointestinal) - 1	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	25
26	Grau de parentesco (Trato gastrointestinal) - 2	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	26
27	Grau de parentesco (Trato gastrointestinal) - 3	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	27
28	Garganta	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	28
29	Caso haja histórico de câncer de garganta, quantos parentes?	88- Não se aplica; 99- Ignorado	29
30	Grau de parentesco (Garganta) - 1	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	30
31	Grau de parentesco (Garganta) - 2	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	31
32	Grau de parentesco (Garganta) - 3	Descrever; 88- Não se aplica, 99- Ignorado	32
33	Se histórico de câncer de Garganta, parente era etilista?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	33

34	Leucemia	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	34	
35	Grau de parentesco (Leucemia)	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	35	
36	Sarcoma	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	36	
37	Grau de parentesco (Sarcoma)	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	37	
38	SNC	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	38	
39	Grau de parentesco (SNC)	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	39	
40	Pulmão	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	40	
41	Grau de parentesco (Pulmão)	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	41	
42	Se histórico de câncer de pulmão, parente era fumante?	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	42	
43	Câncer pediátrico	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	43	
44	Caso haja histórico de câncer de garganta, quantos parentes?	88- Não se aplica; 99- Ignorado	44	
45	Grau de parentesco (Câncer pediátrico) - 1	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	45	
46	Grau de parentesco (Câncer pediátrico) - 2	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	46	
47	Tipo histológico do câncer pediátrico	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	47	
Informações quanto ao tumor				
48	Data da primeira consulta	DD/MM/AAAA	48	___/___/____
49	Data de diagnóstico	DD/MM/AAAA	49	___/___/____
50	Localização	1- Partes moles; 2- Osso; 3- Outros	50	
51	Tipo histológico 1- Sarcoma de Ewing; 2- Osteossarcoma; 3- Sarcoma sinovial; 4- Lipossarcoma; 5- Leiomiossarcoma; 6- Dermatofibrossarcoma; 7- Angiossarcoma; 8- Outros; 99- Ignorado		51	
52	Especificar outros tipos histológicos	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	52	
53	Estadiamento clínico	1- I; 2- II; 3- III; 4- IV; 99- Ignorado	53	
54	Cirurgia	0- Não; 1- Sim	54	
55	Data da cirurgia	DD/MM/AAAA	55	___/___/____
56	Ressecção	1- Total; 2- Parcial; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	56	
57	Quimioterapia	0- Não; 1- Sim	57	
58	Esquema de 1ª linha de Quimioterapia 1- CDDP + DOXO; 2- CDDP + DOXO + MTX; 3- VAC/IE; 4- IFO + DOXO; 5- TAXANOS; 6- DOXO; 7- IFO; 8- Outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		58	
59	Especificar outro esquema 1ª linha	88- Não se aplica; 99- Ignorado	59	
60	Esquema de 2ª linha de Quimioterapia 1- Gencitabina + Docetaxel; 2- Gencitabina + DTIC; 3- DTIC; 4- TOPO + CICLO; 5- irinotecan + CICLO; 6- TAXANOS; 7- Outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		60	
61	Especificar outro esquema 2ª linha	88- Não se aplica; 99- Ignorado	61	
62	Esquema de 3ª linha de Quimioterapia 1- Gencitabina + Docetaxel; 2- Gencitabina + DTIC; 3- DTIC; 4- TOPO + CICLO; 5- irinotecan + CICLO; 6- TAXANOS; 7- Outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		62	
63	Especificar outro esquema 3ª linha	88- Não se aplica; 99- Ignorado	63	
64	Esquema de 4ª linha de Quimioterapia 1- Gencitabina + Docetaxel; 2- Gencitabina + DTIC; 3- DTIC; 4- TOPO + CICLO; 5- irinotecan + CICLO; 6- TAXANOS; 7- Outro; 88- Não se aplica; 99- Ignorado		64	
65	Especificar outro esquema 4ª linha	88- Não se aplica; 99- Ignorado	65	
66	Radioterapia	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	66	

67	Recidiva local	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	67	
68	Data da recidiva local	DD/MM/AAAA	68	___/___/____
69	Recidiva à distância	0- Não; 1- Sim; 99- Ignorado	69	
70	Data da recidiva à distância	DD/MM/AAAA	70	___/___/____
71	Local da recidiva à distância	88- Não se aplica; 99- Ignorado	71	
72	Segunda recidiva local	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	72	
73	Data da segunda recidiva local	DD/MM/AAAA	73	___/___/____
74	Segunda recidiva à distância	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	74	
75	Data da segunda recidiva à distância	DD/MM/AAAA	75	___/___/____
76	Local da segunda recidiva à distância	88- Não se aplica; 99- Ignorado	76	
77	Terceira recidiva local	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	77	
78	Data da terceira recidiva local	DD/MM/AAAA	78	___/___/____
79	Terceira recidiva à distância	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	79	
80	Data da terceira recidiva à distância	DD/MM/AAAA	80	___/___/____
81	Local da terceira recidiva à distância	88- Não se aplica; 99- Ignorado	81	
Informações genéticas				
82	Arg 337 His	1- Negativo; 2- Positivo	82	
83	BRCA1	0- Não realizado; 1- Negativo; 2- Positivo; 3- Indeterminado; 99- Ignorado	83	
84	BRCA2	0- Não realizado; 1- Negativo; 2- Positivo; 3- Indeterminado; 99- Ignorado	84	
85	CHEK2	0- Não realizado; 1- Negativo; 2- Positivo; 3- Indeterminado; 99- Ignorado	85	
86	TERT	0- Não realizado; 1- Negativo; 2- Positivo; 3- Indeterminado; 99- Ignorado	86	
Informações adicionais				
87	Outros tumores	0- Não; 1- Sim; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	87	
88	Se sim, qual:	Descrever; 88- Não se aplica; 99- Ignorado	88	
89	Status	1- Vivo sem doença; 2- Vivo com doença; 3- Óbito por câncer; 4- Óbito por outras causas; 5- Perda de seguimento	89	
90	Data de óbito/última informação	DD/MM/AAAA	90	___/___/____

ANEXO 3: ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO.

1 **The Brazilian *TP53* mutation (R337H) and sarcomas**2 Sahlua Miguel Volc^{1¶}, Cíntia Regina Niederauer Ramos^{2¶}, Henrique de Campos Reis3 Galvão¹, Paula Silva Felício², Aline Silva Coelho², Gustavo Noriz Berardineli³, Natalia4 Campacci², Cristina da Silva Sabato³, Lucas Faria Abrahao-Machado⁴, Iara Viana Vidigal5 Santana⁴, Nathalia Campanella², André van Helvoort Lengert^{2,7}, Daniel Onofre Vidal², Rui6 Manuel Reis^{2,3,5,6}, Caio F Dantas⁸, Robson C Coelho⁸, Erica Boldrini⁷, Sergio Vicente7 Serrano⁸, Edenir Inêz Palmero^{2,3,9*}

8

9 ¹Oncogenetics Department, Barretos Cancer Hospital, Barretos, São Paulo, Brazil10 ²Molecular Oncology Research Center, Barretos Cancer Hospital, Barretos, São Paulo,

11 Brazil

12 ³Center of Molecular Diagnosis, Barretos Cancer Hospital, Barretos, São Paulo, Brazil13 ⁴Pathology Department, Barretos Cancer Hospital, Barretos, São Paulo, Brazil14 ⁵Life and Health Sciences Research Institute (ICVS), Health Sciences School, University of

15 Minho, Braga, Portugal

16 ⁶ICVS/3B's-PT Government Associate Laboratory, Braga/Guimarães, Portugal17 ⁷Barretos Children's Cancer Hospital, Barretos, São Paulo, Brazil18 ⁸Clinical Oncology Department, Barretos Cancer Hospital, Barretos, São Paulo, Brazil19 ⁹Barretos School of Health Sciences, Dr. Paulo Prata-FACISB, São Paulo, Brazil

20

21 ***Corresponding author:**

22 Edenir Inêz Palmero, PhD

23 Molecular Oncology Research Center, Barretos Cancer Hospital

24 Rua Antenor Duarte Villela, 1331

25 CEP 14784-400, Barretos, São Paulo, Brazil

26 Telephone: +551733216600 ext 7057

27 E-mail: edenirip@yahoo.com.br

28

29 [¶] These authors contributed equally to this work.

30

31 **Manuscript type:** Article.

32 Tables: 3

33 Figures: 5

34

35 **Key words:**

36 Li-Fraumeni Syndrome, TP53-R337H Brazilian mutation, founder mutation, sarcoma

37

38 **Abstract**

39 Sarcomas represent less than 1% of all solid neoplasms in adults and over 20% in
40 children. Their etiology is unclear, but genetic susceptibility plays an important role in
41 this scenario. Sarcoma is central in Li-Fraumeni Syndrome (LFS), a familial predisposition
42 cancer syndrome. In Brazil, the high prevalence of p.Arg337His mutations in the *TP53*
43 gene brings about a unique condition: a cluster of LFS. In the present work, we studied
44 502 sarcoma patients not selected by age or family history in an attempt to assess the
45 impact of the so-called "Brazilian germline *TP53* mutation" (p.Arg337His) on this tumor
46 type. We found that 8% of patients are carriers, with leiomyosarcoma being the main
47 histologic type of sarcoma, corresponding to 52.5% of the patients with the mutated

48 *TP53* gene. These findings emphasize the importance of genetic counseling and can
49 better guide the management of sarcoma patients.

50 **Introduction**

51 Sarcomas are malignant neoplasms of mesenchymal origin [1]. Considered rare,
52 they comprise less than 1% of all tumors in adults [2]. In children, sarcomas account for
53 over 20% of solid tumors [3]. The etiology of sarcoma is not well-known, but some risk
54 factors are well described, such as the association of HHV8 and Kaposi's sarcoma in HIV-
55 positive individuals, previous radiation therapy, chemical exposure (such as vinyl
56 chloride) and lymphedema [4].

57 One of the most studied risk factors for sarcoma is genetic susceptibility. Several
58 different conditions may be involved, such as neurofibromatosis (*NF1*), mutations in the
59 *RB* gene (retinoblastoma) and Li-Fraumeni syndrome (LFS, involving mutation of the
60 *TP53* gene). Sarcoma has been known to be involved in LFS since the first description in
61 1969 [5] and remains in all subsequent categorizations, denoting its importance in that
62 context [6].

63 In Brazil, LFS has a high prevalence, mainly due to a specific point mutation in the
64 *TP53* gene, p.Arg337His, also known as R337H [7,8]. Since the first description of this
65 mutation, named "the Brazilian germline *TP53* mutation" [9], researchers have been
66 trying to establish its clinical behavior [10,11,12]. Families are heterogeneous, and
67 despite having the same mutation, tumor patterns are quite different. Some families
68 have adrenocortical tumors (ACT) and no other tumors, and some have many different
69 tumor types. The background of this behavior has yet to be defined. In addition,
70 regarding the clinical management of these R337H families, clinical surveillance

71 protocols have been designed to organize patients' follow-up in LFS. However, each
72 tumor type has its own characteristics, hindering an application of these protocols in
73 such heterogeneous families as those with "Brazilian germline *TP53* mutation" [13].

74 Populational ancestry may influence epidemiology, and it is an important factor
75 to be considered in regard to pathogenic mutations. Brazil is the largest country in South
76 America, and its population is the product of Native Americans, Europeans and Africans
77 that intermixed over the centuries, placing Brazil as a classical model of human
78 admixture. Recent studies have characterized Brazilian ancestry [14]; however, to the
79 best of our knowledge, no ancestry study on Brazilian LFS patients has been conducted
80 so far.

81 To clarify this issue, we evaluated the frequency of the *TP53* p.Arg337His
82 mutation in sarcoma patients not selected by family history in a Brazilian cancer
83 reference center. We intend to add information that contributes to the state of the art
84 in sarcoma, a highly lethal tumor, as well as improves our understanding of frequency
85 of the R337H mutation among sarcoma cases not selected based on clinical criteria. In
86 addition, we also defined the ancestral substructure for all participants.

87

88 **Materials and methods**

89 **Study subjects**

90 A total of 701 patients treated at the Barretos Cancer Hospital between 2008 and
91 2016 were included in the study. Because a large proportion of the cases did not have
92 blood samples available, frozen tumor tissue was analyzed for the purposes of this
93 study. Samples were selected from the Institutional Biobank, macrodissected and
94 revised by a board of pathologists who decided the best area to be analyzed (areas with
95 tumor content higher than 60% and necrosis lower than 20%). A total of 199 cases were
96 excluded due to different issues, mainly because of insufficient material, leading to a
97 total of 502 sarcomas analyzed. In cases where the R337H mutation could be identified
98 in the tumor, DNA from blood or normal tissue was analyzed when available.

99 Clinical and histopathological data as well as information regarding the family
100 history of cancer were collected from the patient's clinical chart. This study was
101 approved by the local institutional ethical committee (approval number 866/2014). All
102 patients provided written informed consent.

103 **Genotyping**

104 Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes or tumor tissue
105 using a DNA Blood and Tissue kit (*Qiagen*), following the manufacturer's instructions.
106 For the detection of *TP53* p.Arg337His, samples were PCR-amplified and analyzed by
107 RFLP using the HhaI enzyme as described elsewhere [15]. Samples with a PCR-RFLP
108 profile suggestive of positivity were confirmed by bidirectional Sanger sequencing.
109 Moreover, in cases where the mutation was identified in tumor DNA, available blood or

110 normal tissue samples were used to confirm the mutation by bidirectional Sanger
111 sequencing.

112 **Ancestry analysis**

113 A panel of 46 AIM-INDELs was performed to evaluate the population admixture
114 proportions considering four continental origins (Africa, Europe, East Asia and Native
115 South America) [16,17,18]. Primer sequences and PCR conditions were obtained
116 according to Pereira et al [16]. For that purpose, a 46-multiplex PCR followed by capillary
117 electrophoresis was performed on an ABI 3500 xL Genetic Analyzer (*Applied Biosystems*)
118 according to the manufacturer's instructions. The electropherograms were evaluated,
119 and genotypes were automatically assigned with GeneMapper v4.1 (*Applied*
120 *Biosystems*).

121 Structure v2.3.3 software [19] was used to estimate the ancestry proportions of
122 each patient. Considering the historical formation of Brazil's population, we assumed
123 the four major population groups (Native Americans, Europeans, Africans and East
124 Asians, $K=4$) applied to the genetic makeup of the Brazilian population. The structure
125 consisted of 100,000 burn-in steps followed by 100,000 Markov Chain Monte Carlo
126 (MCMC) iterations. The option 'Use population information to test for migrants' was
127 used with the Admixture model, taking into account the allele frequencies that were
128 correlated, and allele frequencies were updated using only individuals with POPFLAG=1.
129 (HGDP-CEPH samples were used as references).

130 **Statistical analysis**

131 The data were described by means, standard deviations, minima and maxima for
132 the quantitative variables and by the absolute and relative frequencies for the
133 qualitative variables.

134 The relationship between the clinical characteristics and the R337H status was
135 verified by chi-square or Fisher's exact test. The combined relationship of the variables
136 was evaluated through multiple logistic regression, considering all the variables that
137 were significant at a level of 20% in the univariate analysis.

138 A significance level of 5% was utilized, and the analyses were performed with
139 SPSS v21.

140 **Results**

141 Among the 701 cases included, 502 were analyzed. Exclusions were mostly due
142 to insufficient material. All sarcomas were classified according to the latest WHO (World
143 Health Organization) classifications [20] and were distributed among the patients as
144 described in Table 1.

145 **Table 1:** Patients' classification according to histologic subtypes.

Tumor subtype	Number of patients (%)
Osteosarcoma	98 (19.6)
Liposarcoma	67 (13.4)
Leiomyosarcoma	65 (12.9)
Synovial Sarcoma	55 (11.0)
Chondrosarcoma	32 (6.4)
Ewing Sarcoma	22 (4.4)
Rhabdomyosarcoma	18 (3.6)
Dermatofibrosarcoma	17 (3.4)

Myxofibrosarcoma	15 (3.0)
Undifferentiated Pleomorphic Sarcoma	15 (3.0)
Spindle Cell Sarcoma, NOS	14 (2.8)
Undifferentiated Pleomorphic Sarcoma	13 (2.6)
Angiosarcoma	10 (2.0)
Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor (MPNST)	7 (1.4)
Other	54 (10.5)
Total	502 (100%)

146 NOS: Not Otherwise Specified

147

148 In the entire group, the sex distribution was balanced: 48.5% were women and
149 51.5% were men. The ages ranged from 1 month to 91 years, with a mean age of 40
150 years (median age of 43 years). It should be emphasized that, in the hospital where the
151 study was conducted, the majority of patients were adults; however, we analyzed 58
152 patients under 14 years of age.

153 The patients' clinical analysis revealed advanced cancer stages (stages III and IV)
154 in the vast majority of the group: 27.2% with stage IV (n=132) and 40.9% (n=199) with
155 stage III, followed by 25.7% and 6.2% with stages II and I, respectively. When we
156 evaluated the clinical stage in relation to age, there was no statistical significance by Cox
157 logistic regression analysis ($p = 0.030$).

158 We found that 40 cases (8%) carried the p.Arg337His mutation. In 90% of the
159 cases (36/40), the origin of the mutation could be verified (DNA from the blood or
160 normal tissue was available), with all of them being germline. Comparative analysis of
161 the sequencing profile between tumor and germline DNA suggested loss of the wild-

162 type allele in 80% of the cases (Supplementary Figure 1). Among the four cases with only
163 tumor available for testing, loss of the wild-type allele was observed in two cases. Table
164 2 provides a detailed description of the 40 mutated cases.

165 When patients were stratified according to the mutational status, it was found
166 that adulthood is the principal age group for mutation, considering those of 40 years of
167 age or more (Figure 1). Although pediatric patients constituted 11.6% of the cohort, we
168 did not find any R337H-positive cases in this group. The youngest patient with the *TP53*
169 mutation was 18 years old, and the oldest was 84 years old. The age distribution
170 according to mutational status is shown in Figure 1.

171 **Figure 1:** Age distribution according to mutational status.

172 Information regarding cancer history in families positive for the mutation was
173 available for 87.5% of the cases. Among those, 85.7% reported a positive family history,
174 as shown in Table 2. In 83% of the families, there were tumors that constituted part of
175 the LFS spectrum, although the R337H status was not verified in the relatives.

176

177 **Table 2:** Characteristics of patients with p.Arg337His mutations.

ID	Age at diagnosis	Mutation origin	Histologic subtype	Families' tumors (gender, age at diagnosis)	Vital status
1	19	germline	leiomyosarcoma	prostate leiomyosarcoma (M, 49), non-smoking lung cancer (M, 60)	alive
2	37	germline	myxofibrosarcoma	breast cancer (F, 60)	alive
3	28	germline	liposarcoma	malignant CNS (F, 28), colorectal cancer (M, 50), prostate cancer (M, 40)	alive
4	46	germline	leiomyosarcoma	None	alive
5	59	germline	leiomyosarcoma	None	dead
6	52	germline	myxofibrosarcoma	stomach cancer (M, 53), breast cancer (F, 51)	alive
7	52	germline	leiomyosarcoma	colorectal cancer (F, 60)	dead
8	25	germline	myxofibrosarcoma	malignant CNS (F, 45), leiomyosarcoma (M, 64), melanoma (F, 67)	dead
9	47	not tested	Undifferentiated Pleomorphic Sarcoma	None	dead
10	63	germline	leiomyosarcoma	breast cancer (F, 29; F, 37; F, 50; F, 80, F, 63), colorectal cancer (M, 58), esophagus cancer (M, 52)	alive
11	60	germline	Undifferentiated Pleomorphic Sarcoma	esophagus cancer (M, 70), pediatric cancer (F, 12)	dead
12	48	germline	Synovial sarcoma	breast cancer (F, 35), non-smoking lung cancer (F, 20), colorectal cancer (M, 30)	alive
13	46	germline	fibrosarcoma	head and neck cancer (F, 50)	dead
14	37	germline	liposarcoma	breast cancer (F, 70; F, 58), bilateral breast cancer (F, 50), sarcoma (M, 49), colorectal cancer (M, 58), urothelial cancer (F, 66), multiple tumors in one individual (F, 60; F, 58)	dead
15	29	germline	leiomyosarcoma	prostate cancer (M, ?; M, ?)	dead
16	49	germline	leiomyosarcoma	pediatric leukemia (F, 6), breast cancer (F, 30)	alive
17	37	not tested	leiomyosarcoma	Sarcoma (M, 34)	dead
18	60	germline	leiomyosarcoma	leukemia (M, 40), non-smoking lung cancer (F, 78), head and neck cancer (M, 25)	alive
19	68	germline	undifferentiated pleomorphic sarcoma	no information	dead
20	52	germline	myxoid sarcoma	lung cancer (M, 60), stomach cancer (M, 50; M, 50)	alive
21	35	not tested	Osteosarcoma	stomach cancer (M, ?)	dead
22	53	germline	Undifferentiated Pleomorphic Sarcoma	non-smoking lung cancer (M, 18), breast cancer (F, 44; F, 50; F, 50), colorectal cancer (F, 84), pancreas (F, ?)	dead
23	50	germline	leiomyosarcoma	leukemia (F, 1), hepatocellular carcinoma (M, 37)	alive
24	50	germline	leiomyosarcoma	malignant CNS (F, 28), adrenal cancer (F, 31), non-smoking lung cancer (F, 45), stomach cancer (M, 60)	Alive
25	66	germline	spindle cell sarcoma, NOS	malignant CNS (M, 60; F, 42; M, 41), breast cancer (F, 50; F, 40), bilateral breast cancer (F, 32), leukemia (M, 12), lung cancer (M, 50), stomach cancer (F, 45; M, 45), multiple tumors in one individual (F, 32), melanoma (F, 44)	Alive
26	50	germline	leiomyosarcoma	colorectal cancer (W, 70)	Alive
27	53	germline	leiomyosarcoma	sarcoma (F, 68), adrenal tumor (M, 23), non-smoking lung cancer (M, 44; F, 73; F, 49; F, 54), stomach cancer (M, 61), leukemia (F, 40), renal cancer (F, 39), GIST (M, 59)	Alive
28	49	germline	Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor	adrenal cancer (F, 1; F, 32), colorectal cancer (F, 35), stomach cancer (F, 55; F, ?), lung cancer (M, 55)	Alive
29	61	germline	leiomyosarcoma	malignant CNS (F, 62), lung cancer (M, 65), sarcoma (F, 76), colorectal cancer (F, 40)	Dead
30	75	germline	liposarcoma	None	Alive
31	60	germline	leiomyosarcoma	adrenal cancer (M, 5), sarcoma (F, 60)	Alive
32	18	germline	osteosarcoma	no information	Dead
33	64	germline	leiomyosarcoma	adrenal cancer (F, 2), colorectal cancer (F, 45), leukemia (F, 62)	Dead
34	58	germline	leiomyosarcoma	None	Alive
35	59	germline	leiomyosarcoma	prostate cancer (M, 83; M, 75), colorectal cancer (F, 50)	Alive
36	61	germline	leiomyosarcoma	breast cancer (F, 64; F, 50; F, 40; F, 50), non-smoking lung cancer (F, 80)	Alive
37	42	germline	leiomyosarcoma	no information	Alive
38	41	germline	rhabdomyosarcoma	no information	Dead
39	82	germline	spindle cell sarcoma, NOS	no information	Dead
40	21	not tested	leiomyosarcoma	colorectal cancer (F, 60)	Alive

10

11

178 Legend: CNS: central nervous system; GIST: gastrointestinal stromal tumor; NOS: not
179 otherwise specified; F: female; M: male.

180 When analyzing tumor types in mutated cases, leiomyosarcoma was the
181 predominant subtype (Figure 2).

182 **Figure 2:** Mutational status according to sarcoma subtype.

183 Among the 40 patients positive for the *TP53* mutation, 8 presented with more
184 than one tumor. In almost all patients, sarcoma was the second tumor diagnosed (Table
185 3).

186 **Table 3:** Patients with multiple tumors.

Patient	Sex	First tumor (age at diagnosis)	Second tumor (age at diagnosis)
2	F	Phyllodes breast Tumor (36)	Myxofibrosarcoma (37)
4	F	Renal cancer (38)	Leiomyosarcoma (46)
10	M	Thyroid tumor (58)	Leiomyosarcoma (63)
18	F	Breast cancer (49)	Leiomyosarcoma (60)
20	M	Prostate cancer (42)	Myxoid sarcoma (52)
26	F	Breast cancer (42)	Leiomyosarcoma (50)
35	F	Thyroid cancer (61)	Leiomyosarcoma (59)
36	F	Leiomyosarcoma (61)	Breast cancer (68)

187 F= female; M= male;

188 The vast majority of our cohort (68%) had advanced clinical stages (III and IV)
189 of cancer. There was no statistically significant difference when comparing the clinical
190 stages between mutated and wild-type cases ($p=0.30$) (Figure 3).

191 **Figure 3:** Clinical stages among wild-type and mutated cases.

192 Considering the declared ethnicity, 60% of the patients from our cohort were
193 white. Ancestry analysis was performed for 411 patients, and the results are compatible
194 with the declared data, reporting that the median value for European ancestry was
195 67.1%, followed by African (15.9%), East Asian (7.2%) and Native American (9.8%)
196 (Figure 4). Among the mutated cases, a total of 39 patients with the Brazilian founder
197 pathogenic variant in *TP53* (c.1010G>A; p.Arg337His) were analyzed (Figure 4). For these
198 39 individuals, the average ancestry proportions were 66.3% for European, followed by
199 African (15.6%), East Asian (10.7%) and Native American (7.4%). Using the Mann-
200 Whitney test, we did not find any correlation between the ancestral profile and the
201 presence/absence of the pathogenic variant in *TP53* (p.Arg337His).

202

203 **Figure 4:** Ancestral profile of all patients analyzed. Left: Patients with the R337H
204 mutation. Right: Patients with the WT phenotype.

205

206 It is known that the “Brazilian germline *TP53* mutation” occurs predominantly
207 in southern Brazil [7,8,10,15,21]. However, the institution where this study took place
208 receives patients from outside of southern Brazil. Therefore, our study could identify
209 mutations in the northern and central-western regions, as depicted in Figure 5.

210

211 **Figure 5:** Brazilian map depicting the birthplace of patients with the R337H mutation
212 (numbers in the map describe the number of patients with the R337H mutation who
213 came from that specific state).

214

215 Discussion

216 Since its first description, the “Brazilian germline *TP53* mutation” has been an
217 intriguing point of discussion in oncogenetics. Garritano and cols. proved a founder
218 effect for this particular mutation [22]. It has a preferential geographical localization and
219 a peculiar clinical behavior. This mutation was first described in southern Brazil [9]. Our
220 data demonstrate that the mutation is no longer geographically restricted, as some of
221 our cases are from the central-west and northern regions, emphasizing the national
222 importance of this condition. This spread reflects the internal migration within Brazil and
223 has a direct impact on public health care since the mutation predisposes carriers to
224 multiple cancer types.

225 We found that 8% of a nonselected, random sarcoma population are carriers of
226 the R337H – *TP53* pathogenic variant. Sarcoma is the lead tumor type in the original
227 description of LFS and appeared in our study as an important issue. Previous Brazilian
228 studies have found an unexpectedly high prevalence of this mutation in other types of
229 LFS tumors, for instance, adrenocortical and plexus choroid carcinoma [10].

230 A review of the IARC *TP53* database analyzed the types of mutations in and ages
231 of sarcoma patients and demonstrated an age-dependent variation in these patients.
232 They concluded that for *TP53* mutation carriers, 67% of sarcomas appeared before 20
233 years of age [23]. However, our data demonstrate quite different behavior, with 95% of
234 the sarcomas being diagnosed after the age of 20 and 77.5% after 40 years of age. A
235 possible explanation for these differences comes from our institution’s characteristics,
236 where the Clinical Oncology service is bigger and older than the Pediatric Oncology

237 service. However, we analyzed 58 sarcoma patients under 14 years of age, which is a
238 robust number compared to those of previous Brazilian studies [10].

239 Regarding histopathology, following the latest WHO sarcoma classification, our
240 data show a regular distribution pattern [1]. When only patients with the R337H
241 mutation were analyzed, a particular subtype, leiomyosarcoma, was revealed,
242 accounting for 52.5% of the sarcomas. According to the IARC *TP53* database,
243 leiomyosarcoma corresponds to 9.1% of the sarcomas in *TP53* mutation carriers,
244 showing once again the particular behavior of the p.Arg337His pathogenic variant [23].

245 It is important to highlight that leiomyosarcomas have a poor prognosis. They do
246 not respond well to chemotherapy and radiotherapy [24]. If resected, cure might be
247 possible, but if this approach is not possible, mortality could be high. Therefore, early
248 diagnosis is crucial for a better outcome.

249 Family history is an important indicator of hereditary cancer identification. In our
250 registry, 75% of the patients with the *TP53* mutation had family members with cancer
251 (85.7% of those whose information regarding cancer history in families was available).
252 Among the cancer subtypes in relatives, some were more frequent, such as lung cancer,
253 breast cancer, malignant central nervous system tumor, colorectal and stomach cancer,
254 leukemia and adrenal tumor. However, in approximately 15% of the mutated cases,
255 there was no cancer family history. This emphasizes that, in Brazil, leiomyosarcoma
256 should be considered a core LFS tumor and that the mutation should be accessed even
257 in the absence of cancer in family history. Such a diagnosis might benefit these patients,
258 offering specific preventive protocols to avoid second tumors.

259 Some positive patients had multiple malignant tumors, which could suggest
260 details to improve surveillance protocols. Since sarcomas appeared as a second tumor

261 in 7 of 8 patients with multiple tumors in our data, cancer patients who carried the
262 p.Arg337H mutation should continue to be monitored with clinical cancer surveillance
263 protocols.

264 Ancestry was also analyzed, and no correlation with the mutation could be
265 demonstrated. The declared ethnicity and the molecular ancestry profile analysis were
266 similar, and no significant differences were found. Brazil was colonized by different
267 ethnicities, resulting in a highly mixed population, and we found this phenomenon in
268 our study population as well.

269 In terms of the limitations of this study, it is important to note that, although our
270 goal was to analyze a germline mutation, due to lack of availability of normal samples
271 (blood/normal tissue), tumor samples were evaluated instead. However, all mutated
272 cases with germline material available had the alteration confirmed (36/40 cases), and
273 in all cases, the germline origin of the alteration was confirmed. In addition, somatic
274 R337H mutations in the IARC TP53 database (R19) occurred in 4 tumors among 29895
275 investigated (0.013%). These findings allow us to infer that the mutation was also
276 germline in the remaining cases where germline DNA was unavailable for analysis.

277 In conclusion, we highlight that our data contribute to a better understanding of
278 the “Brazilian germline *TP53* mutation” and its clinical behavior, which can help to
279 improve surveillance protocols.

280

281 **Acknowledgments**

282 The authors would like to thank Barretos Cancer Hospital Research Support Department
283 (NAP) for sample collection and Barretos Cancer Hospital Biobank for sample processing.

284 This work was supported by the Barretos Cancer Hospital. EIP and RMR are recipients of
 285 CNPq Productivity Grants. There was no additional external funding received for this
 286 study.

287

288 References

- 289 1. Fletcher CDM (2013) World Health Organization., International Agency for Research on
 290 Cancer. WHO classification of tumours of soft tissue and bone. (4th) IARC Press, Lyon
 291 2. Casali PG, Abecassis N, Bauer S, Biagini R, Bielack S, et al. (2018) Soft tissue and visceral
 292 sarcomas: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and
 293 follow-up. *Ann Oncol* 29: iv51-iv67.
 294 3. Alaggio R, Coffin CM (2015) The Evolution of Pediatric Soft Tissue Sarcoma Classification in
 295 the Last 50 Years. *Pediatr Dev Pathol* 18: 481-494.
 296 4. Hui JY (2016) Epidemiology and Etiology of Sarcomas. *Surg Clin North Am* 96: 901-914.
 297 5. Li FP, Fraumeni JF, Jr. (1969) Rhabdomyosarcoma in children: epidemiologic study and
 298 identification of a familial cancer syndrome. *J Natl Cancer Inst* 43: 1365-1373.
 299 6. Schiavi A, Lavigne J, Turcotte R, Kasprzak L, Dumas N, et al. (2015) Using a family history
 300 questionnaire to identify adult patients with increased genetic risk for sarcoma. *Curr*
 301 *Oncol* 22: 317-325.
 302 7. Achatz MI, Olivier M, Le Calvez F, Martel-Planche G, Lopes A, et al. (2007) The TP53
 303 mutation, R337H, is associated with Li-Fraumeni and Li-Fraumeni-like syndromes in
 304 Brazilian families. *Cancer Lett* 245: 96-102.
 305 8. Achatz MI, Zambetti GP (2016) The Inherited p53 Mutation in the Brazilian Population. *Cold*
 306 *Spring Harb Perspect Med* 6.
 307 9. Ribeiro RC, Sandrini F, Figueiredo B, Zambetti GP, Michalkiewicz E, et al. (2001) An inherited
 308 p53 mutation that contributes in a tissue-specific manner to pediatric adrenal cortical
 309 carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 9330-9335.
 310 10. Seidinger AL, Mastellaro MJ, Paschoal Fortes F, Godoy Assumpcao J, Aparecida Cardinali I,
 311 et al. (2011) Association of the highly prevalent TP53 R337H mutation with pediatric
 312 choroid plexus carcinoma and osteosarcoma in southeast Brazil. *Cancer* 117: 2228-
 313 2235.
 314 11. Gomes MC, Kotsopoulos J, de Almeida GL, Costa MM, Vieira R, et al. (2012) The R337H
 315 mutation in TP53 and breast cancer in Brazil. *Hered Cancer Clin Pract* 10: 3.
 316 12. Giacomazzi J, Graudenz MS, Osorio CA, Koehler-Santos P, Palmero EI, et al. (2014)
 317 Prevalence of the TP53 p.R337H mutation in breast cancer patients in Brazil. *PLoS One*
 318 9: e99893.
 319 13. Villani A, Shore A, Wasserman JD, Stephens D, Kim RH, et al. (2016) Biochemical and
 320 imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome:
 321 11 year follow-up of a prospective observational study. *Lancet Oncol* 17: 1295-1305.
 322 14. Kehdy FS, Gouveia MH, Machado M, Magalhaes WC, Horimoto AR, et al. (2015) Origin and
 323 dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious
 324 mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 112: 8696-8701.
 325 15. Custodio G, Taques GR, Figueiredo BC, Gugelmin ES, Oliveira Figueiredo MM, et al. (2011)
 326 Increased incidence of choroid plexus carcinoma due to the germline TP53 R337H
 327 mutation in southern Brazil. *PLoS One* 6: e18015.

- 328 16. Pereira R, Phillips C, Pinto N, Santos C, dos Santos SE, et al. (2012) Straightforward
 329 inference of ancestry and admixture proportions through ancestry-informative
 330 insertion deletion multiplexing. *PLoS One* 7: e29684.
- 331 17. Saloum de Neves Manta F, Pereira R, Vianna R, Rodolfo Beuttenmuller de Araujo A, Leite
 332 Goes Gitai D, et al. (2013) Revisiting the genetic ancestry of Brazilians using autosomal
 333 AIM-Indels. *PLoS One* 8: e75145.
- 334 18. Campanella NC, Berardinelli GN, Scapulatempo-Neto C, Viana D, Palmero EI, et al. (2014)
 335 Optimization of a pentaplex panel for MSI analysis without control DNA in a Brazilian
 336 population: correlation with ancestry markers. *Eur J Hum Genet* 22: 875-880.
- 337 19. Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2007) Inference of population structure using
 338 multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes* 7: 574-
 339 578.
- 340 20. Karanian M, Coindre JM (2015) [Fourth edition of WHO classification tumours of soft
 341 tissue]. *Ann Pathol* 35: 71-85.
- 342 21. Palmero EI, Schuler-Faccini L, Caleffi M, Achatz MI, Olivier M, et al. (2008) Detection of
 343 R337H, a germline TP53 mutation predisposing to multiple cancers, in asymptomatic
 344 women participating in a breast cancer screening program in Southern Brazil. *Cancer*
 345 *Lett* 261: 21-25.
- 346 22. Garritano S, Gemignani F, Palmero EI, Olivier M, Martel-Planche G, et al. (2010) Detailed
 347 haplotype analysis at the TP53 locus in p.R337H mutation carriers in the population of
 348 Southern Brazil: evidence for a founder effect. *Hum Mutat* 31: 143-150.
- 349 23. Ognjanovic S, Olivier M, Bergemann TL, Hainaut P (2012) Sarcomas in TP53 germline
 350 mutation carriers: a review of the IARC TP53 database. *Cancer* 118: 1387-1396.
- 351 24. Serrano C, George S (2013) Leiomyosarcoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 27: 957-974.

352

353

354 **Supporting information**

355 **Supplementary Figure 1:** Comparative analysis of the sequencing profile between

356 tumor and germline DNA