ROSALVO ZÓSIMO BISPO JÚNIOR

Fatores prognósticos e alterações da proteína *mdm2* no
lipossarcoma primário de extremidades

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Ortopedia e Traumatologia
Orientador: Prof. Dr. Olavo Pires de Camargo

SÃO PAULO
2006

DEDICATÓRIA

À **minha família** ainda pequena, não obstante suficiente.

Aos Mestres

Se compreenderes as dificuldades e com lucidez e interesse lutes para depô-las;
Se não desanimares quando teus esforços forem vistos com indiferença;
Se com hombridade e humildade assumires os teus erros;
Se fores capaz de estimular o senso e as opiniões próprias de teus alunos;
Se com afinco, dom e sabedoria conseguires transmitir teus conhecimentos aos
teus apóstolos;

E, com ímpar determinação fores capaz de retroceder e repetir teus feitos, teus
méritos;

Então poderás dizer: sou Mestre.

Rosalvo Zósimo Bispo Júnior

“Uns são homens; alguns são professores; poucos são mestres. Aos primeiros,
escuta-se; aos segundos, respeita-se; aos últimos, segue-se.”

Raquel Eckert

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Olavo Pires de Camargo**, que me acolheu e proporcionou as oportunidades na minha iniciação científica, sendo o esteio desta dissertação. Pai de muitos oncologistas ortopédicos e a quem devo grande parte da minha formação na especialidade. Agradeço ainda a sua amizade, humildade, e lições de dedicação e competência no exercício da medicina.

Especialmente ao **Ms. Sérgio Waly Pirajá Bispo**, meu irmão, que sempre me fez acreditar na busca do meu melhor.

Ao **Prof. Ms. Ivan Blume de Lima Domingues** pelo exemplo, apoio e estímulo na busca da desafiante jornada da oncologia ortopédica.

Ao **Prof. Dr. José Loureiro Lopes** pelo apoio e estímulo com sua inesgotável fonte de conhecimento e cultura.

À minha querida **Dda. Patrícia de Medeiros Loureiro Lopes** pela indispensável ajuda no levantamento bibliográfico e palavras de apoio, conforto e perseverança. Mulher ímpar, admirável pela sua força, dedicação e persistência.

Às patologistas **Dra. Cláudia R. G. C. M. de Oliveira e Renne Zon Filipi** pela importante participação na revisão anatomopatológica e preparo das lâminas, fundamentais para a realização deste estudo.

Aos colegas **André Mathias Baptista e Marcelo Tadeu Caiero**, pela amizade e por estarem sempre prontos para me orientar no aperfeiçoamento técnico em oncologia ortopédica.

À **Sra. Cláudia Adriana Ferreira Nobre** e **Sra. Claudete Aparecida Bernardes Mira** pela torcida, prestimosos auxílios e incentivos durante toda a jornada da pós-graduação.

À **Sta. Leide de Souza Salomão** pelas orientações e imprescindível auxílio nos diversos Projetos de Pesquisa em andamento.

Ao **Sr. Carlos Fernando Saito** pelo auxílio na busca e preparo das lâminas, confecção das fotografias, dedicando toda sua presteza e paciência.

LISTA DE SIGLAS

DNA	Ácido Desoxirribonucléico
FMUSP	Faculdade de Medicina da USP
HC	Hospital das Clínicas
IOT	Instituto de Ortopedia e Traumatologia
MDM2	Oncogene Murine Double Minute 2
<i>mdm2</i>	Proteína Murine Double Minute 2
OMS	Organização Mundial da Saúde
SLRL	Sobrevida Livre de Recidiva Local
SLM	Sobrevida Livre de Metástase
SG	Sobrevida Global
SPM	Sarcomas de Partes Moles
USP	Universidade de São Paulo
WHO	World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fotomicrografia mostrando o subtipo bem-diferenciado _____	25
Figura 2 - Fotomicrografia mostrando o subtipo mixóide/células redondas (alto grau) _____	25
Figura 3 - Fotomicrografia mostrando o subtipo mixóide/células redondas (baixo grau) _____	26
Figura 4 - Fotomicrografia mostrando o subtipo pleomórfico _____	26
Figura 5 - Fotomicrografia mostrando o resultado positivo para a reação imunohistoquímica para o marcador <i>mdm2</i> _____	27
Figura 6 - Fotomicrografia mostrando o resultado negativo para a reação imunohistoquímica para o marcador <i>mdm2</i> _____	27
Figura 7 - Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades _____	31
Figura 8 - Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o gênero _____	32
Figura 9 - Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o tipo histológico _____	32
Figura 10- Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o grau histológico _____	33
Figura 11- Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a expressão de <i>mdm2</i> _____	33
Figura 12- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades _____	36
Figura 13- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a idade _____	37
Figura 14- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o gênero _____	37

Figura 15- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o tipo histológico__	38
Figura 16- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o grau histológico__	38
Figura 17- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a expressão de <i>mdm2</i> _____	39
Figura 18- Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades_____	42
Figura 19- Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a idade_____	43
Figura 20- Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o gênero_____	43
Figura 21- Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o tipo histológico_____	44
Figura 22- Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o grau histológico_____	44
Figura 23- Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a expressão de <i>mdm2</i> _____	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição das variáveis epidemiológicas e clínicas para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	16
Tabela 2 – Distribuição das variáveis anatomopatológicas para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	16
Tabela 3 – Distribuição das variáveis terapêuticas para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	17
Tabela 4 – Distribuição das complicações terapêuticas para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	17
Tabela 5 – Distribuição da variável imunoistoquímica para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	18
Tabela 6 – Variáveis epidemiológicas e clínicas - Sobrevida livre de recidiva local (SLRL) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	30
Tabela 7 – Variáveis anatomopatológicas - Sobrevida livre de recidiva local (SLRL) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	30
Tabela 8 – Variáveis terapêuticas - Sobrevida livre de recidiva local (SLRL) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	31
Tabela 9 – Variável imunoistoquímica - Sobrevida livre de recidiva local (SLRL) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	31
Tabela 10 – Variáveis epidemiológicas e clínicas - Sobrevida livre de metástase (SLM) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	35
Tabela 11 – Variáveis anatomopatológicas - Sobrevida livre de metástase (SLM) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	35
Tabela 12 – Variáveis terapêuticas - Sobrevida livre de metástase (SLM) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	36

Tabela 13 – Variável imunoistoquímica - Sobrevida livre de metástase (SLM) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	36
Tabela 14 – Variáveis epidemiológicas e clínicas - Sobrevida global (SG) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	41
Tabela 15 – Variáveis anatomopatológicas - Sobrevida global (SG) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	41
Tabela 16 – Variáveis terapêuticas - Sobrevida global (SG) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	42
Tabela 17 – Variável imunoistoquímica - Sobrevida global (SG) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	42
Tabela 18 – Estudo da correlação entre a expressão imunohistoquímica de mdm2 e as variáveis anatomopatológicas nos 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades_____	46

RESUMO

RESUMO

Bispo Jr. RZ. **Fatores prognósticos e alterações da proteína *mdm2* no lipossarcoma primário de extremidades.** São Paulo, 2006. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

O objetivo deste trabalho foi estudar a expressão protéica de *mdm2* e avaliar a sua relação com alguns aspectos anatomopatológicos, visando também identificar fatores prognósticos no que diz respeito à sobrevida livre de recidiva local (SLRL), sobrevida livre de metástase (SLM) e sobrevida global (SG), em pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades. Vinte e cinco entre 50 pacientes admitidos no Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – IOT/HC/FMUSP, entre 1968 e 2004, foram eleitos para o estudo. As probabilidades de sobrevida acumuladas foram feitas pela técnica de Kaplan-Meier e as curvas de sobrevida comparadas pelo teste de Log Rank. A validade estatística foi estabelecida para valores de $p < 0,05$. As associações entre os índices positivo ou negativo para o *mdm2* com outras variáveis foram feitas utilizando-se o teste exato de Fischer. A expressão imunoistoquímica da proteína *mdm2* não foi considerada de valor prognóstico em nenhuma das sobrevidas estudadas (SLRL, SLM ou SG). Os fatores adversos que influenciaram o risco de recidiva local na análise univariada foram: o gênero masculino ($p=0,023$), subtipo histológico pleomórfico ($p=0,027$) e alto grau histológico ($p=0,007$). Em relação a SLM a idade inferior a 50 anos ($p=0,040$), o gênero masculino ($p=0,040$), o subtipo pleomórfico ($p<0,001$), o alto grau histológico ($p=0,003$) tiveram um pior prognóstico. Os fatores adversos para SG foram: idade

inferior a 50 anos ($p=0,040$); o gênero masculino ($p=0,040$); o subtipo pleomórfico ($p<0,001$) e o alto grau histológico ($p=0,003$).

SUMMARY

SUMMARY

Bispo Jr. RZ. **Prognostic factors and expression of protein *mdm2* in patients with primary extremity liposarcoma**. São Paulo, 2006. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

The purpose of this was to study the expression by imunohistochemistry of *mdm2* and your correlation with anatomopathological selected variables, aiming at identifying prognostic factors concerning to local recurrence free survival (LRFS), metastases free survival (MFS) and overall survival (OS) in patients with liposarcomas primary extremities. This study included 25 patients registred in the Instituto de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - Brazil, from 1968 to 2004. The accumulated survival probabilities were calculated by Kaplan-Meier method and survival curves were compared using the log-rank test. Statistical significance was defined as a p value less than 0,05. Associations between expression of *mdm2* and other variables were analyzed using Fischer's exact test. The expression by imunohistochemistry of *mdm2* was not significant factor for LRFS, MFS or OS. The adverse factors for LRFS in univariate analysis were male gender ($p=0,023$), pleomorphic histologic subtypes ($p=0,027$) and high grade tumor ($p=0,007$). For MFS age < 50 years ($p=0,040$), male gender ($p=0,040$), pleomorphic histologic subtypes ($p<0,001$) and high grade tumor ($p=0,003$) had worse prognostic. Negative prognostic factors for OS were age < 50 years ($p=0,040$), male gender ($p=0,040$), pleomorphic histologic subtypes ($p<0,001$) and high grade tumor ($p=0,003$).

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

SUMMARY

1.	INTRODUÇÃO _____	01
2.	OBJETIVOS _____	06
3.	REVISÃO DA LITERATURA _____	07
4.	CASUÍSTICA E MÉTODO _____	12
4.1	CASUÍSTICA _____	12
4.1.1	ESTUDO DA CASUÍSTICA _____	12
4.2	MÉTODO _____	19
4.2.1	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NO ESTUDO _____	19
4.2.2	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO DO ESTUDO _____	19
4.2.3	VARIÁVEIS ESTUDADAS _____	19
4.2.4	CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS _____	20
4.2.5	PREPARO DAS LÂMINAS _____	22
4.2.6	AVALIAÇÃO DA POSITIVIDADE IMUNOISTOQUÍMICA _____	23
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA _____	24
5.	RESULTADOS _____	28

5.1	FATORES PROGNÓSTICOS RELACIONADOS À SOBREVIVÊNCIA LIVRE DE RECIDIVA LOCAL_____	28
5.2	FATORES PROGNÓSTICOS RELACIONADOS À SOBREVIVÊNCIA LIVRE DE METÁSTASE_____	34
5.3	FATORES PROGNÓSTICOS RELACIONADOS À SOBREVIVÊNCIA GLOBAL_____	40
5.4	ANÁLISE DA CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO DA PROTEÍNA <i>mdm2</i> E AS VARIÁVEIS ANATOMOPATOLÓGICAS_____	46
6.	DISCUSSÃO _____	47
7.	CONCLUSÕES _____	58
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	59
9.	BIBLIOGRAFIA CONSULTADA _____	71

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

As neoplasias malignas que reproduzem os componentes das partes moles são denominadas, no seu conjunto, sarcomas de partes moles (SPM). As partes moles correspondem, anatomicamente, a um grupo de tecidos localizados entre a epiderme e as vísceras, excetuando-se os ossos. Esses tecidos constituem cerca de 50% do peso corporal do adulto e são representados por vasos sanguíneos, linfáticos, músculos lisos, estriados, tecido gorduroso, aponeuroses, tendões e outros (LOPES et al. 1999).

Segundo REITAN et al. (1985), o lipossarcoma tem uma incidência anual de 0.12 por um milhão de habitantes.

Os sarcomas de partes moles são neoplasias raras, podendo incidir, entretanto, em todas as idades e locais do corpo onde existam os tecidos moles. Nos Estados Unidos, os SPM representam 0,7% dos cânceres de pacientes com idade acima de 16 anos (YANG e ROSEMBERG 1992). No Brasil, a real incidência dessas neoplasias é difícil de ser determinada pela falta de registros adequados.

Apesar de raros, os SPM possuem uma taxa de mortalidade relativamente alta. Alta mortalidade pode ser atribuída parcialmente à agressiva invasão local e em grande parte às freqüentes metástases (CHANG et al. 1990).

O termo lipossarcoma não implica que o tumor é derivado de gordura, mas que o tecido tumoral tem diferenciação em tecido adiposo (JELINEK et al. 1993). Lipossarcoma é um tumor maligno de origem mesenquimal (JELINEK et al. 1993) e um dos mais comuns sarcomas de partes moles (ENZINGER e WINSLOW 1962; HUEBERT 1981; DANIELL 1985; ENZINGER e WEISS 1988; BRENNAN et al. 1997;

PEARLSTONE et al. 1999) com predileção pelas extremidades (DANIELL 1985; REITAN et al. 1985; ENZINGER e WEISS 1988; CHANG et al. 1989). Primariamente é um tumor de adultos, com um pico de incidência entre 50 e 70 anos de idade (HUEBERT 1981; DANIELL 1985; GUSTAFSON et al. 1993; ROSEMBERG 1996; BRENNAN et al. 1997; KULHAVY et al. 1997; LEHNHARDT et al. 2004), embora, ocorra também em crianças (HUEBERT 1981; LA QUAGLIA et al. 1993; ROSEMBERG 1996), sendo raro abaixo dos 10 anos de idade (MENTZEL e FLETCHER 1995).

Rudolf Virchow (1857)* citado por HUEBERT em 1981, foi o primeiro autor a identificar esta neoplasia, descrevendo um tumor localizado na coxa.

O lipossarcoma pode ocorrer em qualquer localização anatômica, nas extremidades é mais freqüente na coxa (HUEBERT 1981; DANIELL 1985; REITAN et al. 1985; GUSTAFSON et al. 1993; BRENNAN et al. 1997; KULHAVY et al. 1997). Outros sítios comuns, em ordem decrescente de freqüência são o braço, cingulo escapular, fossa poplíteia, perna, nádega e antebraço (JELINEK et al. 1993).

Pouco se sabe sobre as causas dos lipossarcomas (LÍCIO e LOPES 1999). Não existem fatores etiológicos específicos conhecidos em sua patogênese (BARKHOF et al. 1991), porém, alguns autores responsabilizam os traumatismos, as transformações malignas lipomatosas e radiações ionizantes pela origem de alguns casos de lipossarcomas (ENZINGER e WEISS 1988; SIMON e SPRINGFIELD 1998; LÍCIO e LOPES 1999).

* Virchow R.: Ein Fall von Bosartigen, zum theil in der Form des Neuroms auftretenden Fettgeschwülsten. *Virchow Arch (Pathol Anat)* 11:281-8, 1857.

Os tumores de tecido adiposo representam um grupo de lesões cuja classificação é um assunto de debate contínuo (BOLTZE et al. 2001; FORUS et al. 2001). O lipossarcoma tem mostrado ter muitos modelos histológicos (EVANS 1979). Ao longo dos anos, muitas mudanças ocorreram quanto à classificação histológica deste sarcoma de partes moles. Atualmente, de acordo com a Classificação de Tumores de Partes Moles e Osso da Organização Mundial da Saúde, aceita-se que esse sarcoma se apresente como um dos seus cinco subtipos histológicos: bem-diferenciado, desdiferenciado, mixóide/células redondas, pleomórfico e misto (FLETCHER et al. 2002).

Clinicamente estes tumores manifestam-se como massas pouco dolorosas (JELINEK et al. 1993) que podem alcançar grandes volumes antes de serem diagnosticadas (REITAN et al. 1985; ENZINGER e WEISS 1988). O lipossarcoma é quase sempre encontrado em estruturas profundas e freqüentemente é visto em planos fasciais intermusculares ou estruturas similarmente profundas e ricamente vascularizadas (ENZINGER e WEISS 1988).

O diagnóstico precoce e tratamento apropriado são essenciais para a sobrevida, mas diagnóstico clínico pode não ser fácil (RIBUFFO et al. 1998).

Conforme observado na literatura e citado por REITAN et al. (1985), existem diferentes opiniões a respeito do melhor tratamento para pacientes portadores desta neoplasia, persistindo essas divergências até os dias atuais. Todavia, vários estudos enfatizam que a cirurgia é a principal modalidade de tratamento no manejo dos sarcomas de partes moles (COLLIN et al. 1988; SINGER et al. 1994) e, portanto, dos lipossarcomas (LEHNHADT et al. 2004).

Assim como nos outros subtipos de tumores mesenquimais, a taxa de metástases está intimamente relacionada com o grau de diferenciação histológica. Quanto menos diferenciado, maior a celularidade e o pleomorfismo, tanto maior a probabilidade de metastatizar (ENZINGER e WEISS 1988).

O câncer é uma doença causada por alterações no material genético da célula: o DNA. Estas transformações podem ser causadas por agentes ambientais (mutágenos) ou por erros intrínsecos da replicação celular.

As mutações responsáveis pelo desenvolvimento do câncer acontecem em dois tipos de genes: nos genes supressores de tumores e nos oncogenes. Alguns genes supressores de tumor e oncogenes são freqüentemente alterados em vários tipos de tumor e provavelmente têm um papel fundamental no processo de malignização (SIMPSON 1999).

O MDM2 é um oncogene que tem mostrado uma alta freqüência de sua amplificação em sarcomas de partes moles. A maior parte dos oncogenes conhecidos é alterada por amplificação, resultando em superexpressão e conseqüentemente níveis elevados dos seus produtos protéicos.

A região q 13-15 do cromossomo 12 é complexa e contém diversos genes que são amplificados ou reorganizados nos tumores lipomatosos como o MDM2 (FORUS et al. 1993) que podem ser demonstrados por imunoistoquímica (PILOTTI et al. 1997; DEI TOS et al. 2000).

É crescente o número de publicações sobre as características moleculares dos SPM, e o enfoque das pesquisas é para a procura de fatores prognósticos adicionais, com vistas a identificar aqueles relacionados ao risco de recidiva local, metástases e óbito pela

doença, e estudar a correlação dos mesmos para com variáveis clínicas e anatomopatológicas conhecidas (FERREIRA 1999).

A diferença de comportamento observada entre os subtipos de lipossarcoma sugere que características biológicas específicas sejam distintas em cada subgrupo. A diferença de evolução de acordo com o subtipo histológico pode ser explicada em parte pela caracterização das variantes bem-diferenciada e mixóide como de baixo grau e das demais como de alto grau (CHANG et al. 1989). No entanto, algumas vezes, características histológicas que permitem classificar o tumor como de baixo ou alto grau não necessariamente se correlacionam com o prognóstico. Por exemplo, a contagem das mitoses pode ser escassa, mesmo em tumores em que se comportam como lesões de alto grau, ou seja, a frequência de mitoses não necessariamente se correlaciona com o grau de malignidade, justificando-se a pesquisa de outros fatores implicados na proliferação celular (FERREIRA 1999).

A determinação de variáveis moleculares relacionadas a aspectos anatomopatológicos e ao prognóstico poderia permitir a identificação de subgrupos de pacientes de melhor ou pior prognóstico (FERREIRA 1999). Assim sendo, com uma maior identificação dos fatores prognósticos selecionamos pacientes de risco, nos permitindo então, trabalhar para melhoria dos resultados terapêuticos.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

1. Estudar a expressão protéica de *mdm2*;
2. Avaliar a sua relação com alguns aspectos anatomopatológicos;
3. Identificar fatores prognósticos no que diz respeito à sobrevida livre de recidiva local (SLRL), sobrevida livre de metástase (SLM) e sobrevida global (SG) em pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades.

REVISÃO DA LITERATURA

3. REVISÃO DA LITERATURA

DAUGAARD, em 2004, afirma que o diagnóstico original de uma série de sarcomas de partes moles foi mudado em 57% dos casos, observando que as principais razões para estes resultados seriam os recentes avanços na imunohistoquímica e as mudanças da nomenclatura. Entretanto, uma das melhores concordâncias foi encontrada no grupo dos lipossarcomas com 73% e, apesar das mudanças dos mais frequentes diagnósticos dos sarcomas de partes moles, após a revisão esta neoplasia permaneceu em segundo lugar.

Os lipossarcomas das extremidades incidem preferencialmente nos membros inferiores, com maior frequência na coxa (HUEBERT 1981; REITAN et al. 1985; GUSTAFSON et al. 1993; BRENNAN et al. 1997).

Na maioria dos casos a primeira manifestação da doença é uma massa caracteristicamente pouco dolorosa, de crescimento insidioso, localização profunda, que atinge grande volume até o momento do diagnóstico (REITAN et al. 1985; ENZINGER e WEISS 1988; JELINEK et al. 1993).

Entre os sarcomas de partes moles, o lipossarcoma é notável pela sua heterogeneidade histológica (PEARLSTONE et al. 1999).

Múltiplas classificações dos lipossarcomas têm sido propostas. O diagnóstico de lipossarcoma baseado nas características patológicas tem requerido redefinição nos últimos anos (ORSON et al. 1987).

A original classificação de STOUT (1944) foi modificada por ENTERLINE et al. (1960) e mais tarde por ENZINGER e WINSLOW (1962). Morfologicamente, os

lipossarcomas são classificados em quatro tipos histológicos: bem-diferenciado, mixóide, de células redondas e pleomórfico (ENZINGER e WINSLOW 1962; ENZINGER et al. 1969).

EVANS (1979) descreve o lipoma atípico, um tumor de partes moles com tecido mixóide e/ou fibroso, células atípicas dispersas com núcleo alargado hipercromático e células multinucleadas do tipo “*floret*”. Os tumores recidivavam frequentemente, mas não metastatizavam. Ainda em 1979, EVANS usa o termo “desdiferenciado” para aqueles tumores que se apresentavam em áreas não-lipogênicas, ilhotas bem e pouco diferenciadas coexistindo em um mesmo tumor.

Dez anos depois, EVANS (1988) agrupa no termo “tumores lipomatosos atípicos” ambos os tumores lipomatosos atípicos e os lipossarcomas bem-diferenciados, com similar prognóstico favorável.

Em 1994, a Organização Mundial da Saúde adicionara um quinto subtipo histológico aos lipossarcomas: o desdiferenciado (WEISS e SOBIN 1994).

Atualmente, a OMS reconhece cinco subtipos histológicos de lipossarcoma segundo a Classificação de Tumores de Partes Moles e Osso: bem-diferenciado/tumor lipomatoso atípico, desdiferenciado, mixóide/células redondas, pleomórfico e misto (FLETCHER et al. 2002).

O lipossarcoma bem-diferenciado e tumor lipomatoso atípico são sinônimos, descrevendo lesões que são idênticas morfológica e cariotipicamente e em termos de potencial biológico (DEI TOS e PEDEUTOUR 2002a). Esta variante consiste de células gordurosas de vários tamanhos, algumas com núcleo hipercromático, e lipoblastos (JELINEK et al. 1993).

A marca de autenticidade histológica do lipossarcoma desdiferenciado é representada pela transição de lipossarcoma bem-diferenciado para sarcoma não-lipogênico, que em muitos casos, é alto grau. Ele afeta, portanto, basicamente a mesma população de paciente com lipossarcoma bem-diferenciado (DEI TOS e PEDEUTOUR 2002b).

Lipossarcoma desdiferenciado de extremidades é raro (KRANSDORF et al. 1993). O risco final de desdiferenciação varia de acordo com o sítio e duração da lesão e é provavelmente menor que 2% nas extremidades (DEI TOS e PEDEUTOUR 2002a).

O lipossarcoma desdiferenciado, a despeito do alto grau morfológico, exibe um curso clínico pouco agressivo que outros tipos de sarcoma pleomórfico de alto grau, enquanto a base para esta diferença é desconhecida (DEI TOS e PEDEUTOUR 2002b).

O lipossarcoma de células redondas seria uma forma pobremente diferenciada do lipossarcoma mixóide segundo alguns autores (EVANS 1962; AZUMI et al. 1987; SMITH et al. 1996). Havia uma sobreposição das características clínico-patológicas e anormalidades citogenéticas (MENTZEL e FLETCHER 1995). Essa evidência é reforçada com base no fato de que ambos os subtipos apresentam a mesma translocação cromossômica $t(12;16)(q13;p11)$ (SMITH et al. 1996; DEI TOS et al. 1997). Então, inclusas nesta categoria foram as lesões antigamente conhecidas como lipossarcomas de células redondas (ANTONESCU e LADANYI 2002).

O lipossarcoma pleomórfico representa um raro subtipo, acometendo aproximadamente 5% de todos os lipossarcomas. Tende a ocorrer nas extremidades (mais nos membros inferiores), enquanto o tronco e retroperitônio são menos freqüentemente afetados (MENTZEL e PEDEUTOUR 2002a).

Os verdadeiros lipossarcomas tipo misto são extremamente raros e ocorrem predominantemente em pacientes idosos. Têm sido reportados, mais raramente, nos tecidos moles profundos das extremidades (MENTZEL e PEDEUTOUR 2002b). São tumores que mostram características combinadas: lipossarcoma mixóide/células redondas com lipossarcoma pleomórfico, por exemplo.

A Organização Mundial de Saúde divide os lipossarcomas em baixo e alto graus. Baixos graus são considerados os subtipos bem-diferenciado e o apenas mixóide; os altos graus englobam os tipos mixoide/células redondas, com componente maior que 5% dessas células; desdiferenciado (com mais de 25%) e pleomórfico (FLETCHER et al. 2002).

Devido às diferentes características clínicas e morfológicas, associadas a anormalidades citogenéticas, alguns autores acreditam que o lipossarcoma ocorre em três formas principais: bem-diferenciado/desdiferenciado, mixóide/células redondas e pleomórfico (MENTZEL e FLETCHER 1995; FLETCHER et al. 1996; EILBER et al. 2004).

O gene MDM2 mostrou ter um potencial gerador de tumor quando introduzido em células de roedores (FAKHARZADEH et al. 1991).

As recentes investigações de alterações moleculares dos genes nos sítios de alterações cromossômicas dos sarcomas têm direcionado o isolamento de novos genes, translocações de junções e caracterização de seus mecanismos de desregulação (SREEKANTIAH et al. 1994).

A análise genômica tem sido mais e mais importante no diagnóstico dos sarcomas de partes moles, especialmente com a demonstração de translocações recíprocas específicas em vários sarcomas (LADANYI e BRIDGE 2000).

Alguns achados indicam que o protooncogene MDM2 constitui o mais comum tipo de aberração molecular no lipossarcoma (BOLTZE et al. 2001).

A região q13-15 do cromossomo 12 é complexa e contém diversos genes como MDM2 (murine double minutes 2) que são responsáveis por um importante papel na carcinogênese humana (OLINER et al. 1992; FORUS et al. 1993; LEACH et al. 1993; SCHNEIDER-STOCK et al. 1998; DEI TOS et al. 2000; PILOTTI et al. 2000).

CASUÍSTICA E MÉTODOS

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 CASUÍSTICA

Foram revistos os prontuários de pacientes com diagnóstico anatomopatológico de lipossarcoma de extremidades, oriundos do Instituto de Ortopedia e Traumatologia (I.O.T.) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (F.M.U.S.P.) no período de 1968 a 2004. Partindo-se destes prontuários, após detalhada revisão anatomopatológica a partir dos blocos de parafina da biópsia original, foram selecionados 50 pacientes. Destes, 5 foram excluídos por apresentarem recidiva local na avaliação inicial e 3 por terem realizado apenas a biópsia, sem terapêutica. Outros 17 casos foram descartados por possuírem tempo de seguimento inferior a vinte e quatro meses. A análise das variáveis foi realizada, então, em 25 pacientes e seus respectivos prontuários submetidos a tratamento no I.O.T./H.C./F.M.U.S.P.. A revisão anatomopatológica foi feita a partir de blocos de parafina contendo fragmentos do tumor através da peça cirúrgica.

4.1.1 ESTUDO DA CASUÍSTICA

1. Variáveis epidemiológicas e clínicas

Gênero, idade e raça

Dos 25 pacientes estudados, 11 (44,0%) eram do sexo masculino e 14 (56,0%) do feminino, com uma proporção de 1 : 1,27.

A idade variou entre 20 e 86 anos, com uma média de $52,00 \pm 14,84$ anos (mediana de 53,00 anos). Onze pacientes apresentaram idade < 50 anos (44,0%) e 14 = 50 anos (56,0%).

Dentre as raças, a branca foi predominantemente afetada, com 22 (88,0%) pessoas do grupo.

Localização anatômica

Quinze (60,0%) dos pacientes apresentaram tumoração na coxa. Dos remanescentes, a perna foi afetada 4 (16,0%) vezes e o antebraço 2 (8,0%). Braço, axila, escápula e pé, 1 vez cada um. O dimídio corporal direito superou o contra-lateral na proporção de 1 : 1,5.

Quadro clínico e tempo para procura ao médico

A queixa clínica presente de forma unânime foi o surgimento insidioso de uma tumoração local, geralmente indolor. Dor foi sintoma secundário e ocorreu em apenas 3 (12,0%) casos.

O tempo entre o início do sinal e/ou sintoma e a procura ao médico, variou entre 2 e 120 meses, com uma média de $36,04 \pm 41,26$ meses (mediana de 24,00 meses), nos pacientes estudados.

Metástase à distância

Metástase foi identificada em 3 (12,0%) pacientes. Um de histologia mixóide/células redondas (de alto grau) e 2 pleomórficos. Todos desenvolveram metástases extrapulmonares, sendo um sítio comum a coluna lombar. Apenas um dos subtipos pleomórficos apresentou, também, metástases pulmonares. O paciente que apresentou metástase pulmonar foi a óbito, com menos de 7 meses de seguimento.

Tempo de acompanhamento

O tempo médio de acompanhamento dos portadores de lipossarcoma em nossa casuística foi de 68,29 meses (com desvio-padrão de 47,43 meses e mediana de 54,03 meses), variando de 8 a 184 meses.

2. Variáveis anatomopatológicas

Histologia e tamanho do tumor

Todos os pacientes foram submetidos a ressecção cirúrgica tumoral. A variante mixóide/células redondas representou o tipo histológico mais comum, acometendo 13 dos 25 (52%) casos (Tabela 2). A frequência de casos por subtipo histológico de lipossarcoma foi a seguinte: 9 bem diferenciado (36%), 13 mixóide/células redondas (52%) e 3 pleomórficos (12%) (Figuras 1, 2, 3 e 4). Com os critérios de seleção adotados, não encontramos casos de lipossarcomas desdiferenciado e misto.

Quanto ao grau histológico os casos selecionados foram divididos em baixo ou alto grau, correspondendo a 18 (72%) e 7 (28%) casos, respectivamente.

O tamanho do tumor variou de 3 a 37 centímetros, com uma média de $16,82 \pm 8,70$ cm (mediana de 18,00 cm), segundo mensurações da peça após ressecção cirúrgica. Posteriormente foram segregados conforme os grupos: menor que 5cm (8 %), de 5 a 10cm (20 %) e maior que 10cm (72 %) (Tabela 2).

3. Variáveis terapêuticas

Tratamento cirúrgico e adjuvante

Os tumores foram ressecados em todos os casos com ressecção ampla, segundo a classificação de ENNEKING et al. (1980). Cerca de 48 % desses pacientes foram submetidos exclusivamente à cirurgia.

Treze (52%) pacientes receberam radioterapia (RT) e/ou quimioterapia (QT) pós-operatória. Nenhum deles foi submetido a radioterapia (RT) e/ou quimioterapia (QT) seguida de cirurgia. Adjuvância (RT e/ou QT) anterior e posterior a cirurgia também não foi instituída em nenhum caso.

Recidiva local

Foi observada recidiva local em 3 (12,0%) casos, sendo 1 do subtipo bem diferenciado, 2 mixóide/células redondas (um de baixo e outro de alto grau de malignidade). Dois deles (baixo grau) apresentaram 2 recidivas locais cada um, não sofrendo adjuvância. O paciente portador da neoplasia de alto grau desenvolveu apenas um episódio de recidiva, após receber radioterapia pós-operatória. Nenhum dos pacientes que sofreram recidiva local apresentou metástase à distância.

Complicações do tratamento

As complicações pós-terapêuticas encontradas são mostradas na Tabela 3. Dos 25 pacientes tratados, 11 apresentaram complicações, perfazendo um índice de 44%. Houve no total 8 tipos de complicações. Alguns pacientes apresentaram mais de um tipo de forma associada. Das complicações mais frequentes, 4 foram infecções superficiais da ferida operatória, 4 lesões de nervos periféricos e 3 infecções profundas conforme mostra a Tabela 4.

4. Variável imunoistoquímica

Expressão de mdm2

Dentre os 25 casos avaliados para a expressão protéica de *mdm2*, 22 (88,0%) apresentaram índices = 10% (positivo) e 3 (12,0%) índices < 10% (negativo).

Tabela 1 – Distribuição das variáveis epidemiológicas e clínicas para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n (%)
Idade (anos)	< 50	11 (44,0)
	= 50	14 (56,0)
Gênero	Masculino	11 (44,0)
	Feminino	14 (56,0)
Localização	Membro Superior	05 (20,0)
	Membro Inferior	20 (80,0)
Dimídio Corporal	Direito	15 (60,0)
	Esquerdo	10 (40,0)
Tempo para procura ao médico (meses)	< 24	12 (48,0)
	= 24	13 (52,0)

Tabela 2 – Distribuição das variáveis anatomopatológicas para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n (%)
Subtipo Histológico	Bem-diferenciado	09 (36,0)
	Mixóide/células redondas	13 (52,0)
	Pleomórfico	03 (12,0)
	Desdiferenciado	00 (00,0)
	Misto	00 (00,0)
Tamanho da peça (cm)	< 5	02 (08,0)
	Entre 5 e 10	05 (20,0)
	> 10	18 (72,0)
Grau	Baixo	18 (72,0)
	Alto	07 (28,0)

Tabela 3 – Distribuição das variáveis terapêuticas para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Tratamento	n (%)
Cirurgia Exclusiva	12 (48,0)
Tratamento Combinado	
QT e/ou RT + Cirurgia	00 (00,0)
Cirurgia + QT e/ou RT	13 (52,0)
QT e/ou RT + Cirurgia + QT e/ou RT	00 (00,0)

Tabela 4 – Distribuição das complicações terapêuticas para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Complicações	n (%)
Infecção superficial	4 (16,0)
Lesão de nervo periférico	4 (16,0)
Infecção profunda	3 (12,0)
Deiscência cutânea	2 (08,0)
Necrose cutânea	2 (08,0)
Radiodermite	2 (08,0)
Trombose venosa profunda (MID)	1 (04,0)
Hematoma	1 (04,0)

Tabela 5 – Distribuição da variável imunoistoquímica para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n (%)
<i>mdm2</i>	< 10 %	03 (12,0)
	= 10 %	22 (88,0)

4.2. MÉTODO

4.2.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO NO ESTUDO

Todos os pacientes incluídos no presente estudo obedeceram aos seguintes critérios de elegibilidade:

- Os pacientes foram operados no I.O.T. para tratamento local do tumor primário.
- Confirmação anatomopatológica de lipossarcoma: todas as lâminas foram revisadas por uma mesma patologista, especializada em tecidos músculo-esqueléticos.
- Localização do tumor apenas nas extremidades: foi obtida de acordo com o local explicitado no prontuário médico.
- Para estudo do marcador da expressão nuclear de *mdm2*, foram selecionados os casos onde havia material conservado em blocos de parafina da época da biópsia, prévia a qualquer terapêutica utilizada, incluindo-se somente os tumores primários.

4.2.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO DO ESTUDO

Foram excluídos os seguintes pacientes:

- Que apresentavam metástases e/ou recorrência local na avaliação inicial.
- Com menos de dois anos de seguimento após o ato cirúrgico.
- Submetidos a algum tratamento prévio à matrícula no I.O.T.

4.2.3. VARIÁVEIS ESTUDADAS

As seguintes variáveis foram estudadas, visando a identificação de fatores prognósticos:

1. Variáveis epidemiológicas e clínicas: em todos os casos foram analisados os registros referentes ao gênero, idade, raça, região anatômica e dimensão corporal afetados,

sinal e sintoma clínico mais freqüente e o tempo para procura ao médico, presença de metástase à distância e a evolução durante o tempo de seguimento desses pacientes.

2. Variáveis anatomopatológicas: todas as lâminas foram revisadas por um único investigador, sem conhecimento do curso clínico dos pacientes. O subtipo histológico e o grau histológico foram determinados em todos os casos. O tamanho do tumor foi determinado segundo mensuração da peça após sua exérese.

3. Variáveis terapêuticas: tratamento utilizado e suas complicações mais encontradas, assim como as recidivas locais.

4. Variável imunoistoquímica: neste estudo, a expressão da proteína *mdm2* foi retrospectivamente investigada, através das novas lâminas confeccionadas a partir dos blocos de parafina para estabelecer se diferentes subtipos histológicos de lipossarcoma exibem distintos comportamentos prognósticos.

4.2.4. CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS

1. Variáveis epidemiológicas e clínicas

- Gênero – masculino e feminino;
- Idade – os pacientes foram divididos em dois grupos: idade inferior ou igual e superior a 50 anos.
- Raça – foi dividida em branca, amarela ou negra.
- Região anatômica (Localização) – consideramos extremidades os membros superiores e inferiores, incluindo as regiões deltóidea e glútea, respectivamente.
- Dimídio corporal – lados direito e esquerdo.
- Tempo para procura ao médico – tempo desde o surgimento do primeiro sinal ou sintoma até a consulta ao médico.

- Quadro clínico – sinal e sintoma mais freqüente.

- Tempo de seguimento dos pacientes – todos os pacientes foram seguidos por no mínimo 24 meses, excetuando-se àqueles que foram a óbito pelo câncer em menor tempo.

2. Variáveis anatomopatológicas

- Subtipo histológico – a classificação dos lipossarcomas em subtipos foi realizada com base nos aspectos histológicos segundo os critérios da Classificação de Tumores de Partes Moles e Osso da Organização Mundial da Saúde (OMS)(FLETCHER et al. 2002). A subdivisão compreende cinco grupos: bem diferenciado, desdiferenciado, mixóide/células redondas, pleomórfico e misto.

- Grau histológico – os tumores foram classificados em baixo e alto graus, levando-se em conta o aspecto do subtipo histológico. Os lipossarcomas são considerados alto grau se eles mostram evidência de morfologia maior que 25% de desdiferenciação, maior que 5% de células redondas, ou com intenso pleomorfismo. Lipossarcomas bem-diferenciado e puramente mixóide são consideradas lesões de baixo grau.

- Tamanho do tumor – a peça cirúrgica foi mensurada nos três planos (dimensões), utilizando-se uma escala em centímetros, sendo registrada a maior medida. Após mensurado o tumor seria enquadrado em um dos intervalos a seguir: menor que 5 cm; entre 5 e 10 cm; maior que 10 centímetros.

3. Variáveis terapêuticas

- Tipo de tratamento – os pacientes foram divididos em dois grupos de acordo com o tratamento que receberam no Instituto de Ortopedia e Traumatologia: cirurgia exclusiva e tratamento combinado. Este segundo grupo foi subdividido da seguinte

forma: 1) Radioterapia (RT) e/ou quimioterapia (QT) seguido de cirurgia; cirurgia seguida de RT e/ou QT; RT e/ou QT, seguido de cirurgia, seguido de RT e/ou QT.

- Complicações terapêuticas – foram relacionadas todas as complicações inerentes à terapêutica cirúrgica utilizada (ressecção).

- Recidiva local – a recorrência local foi confirmada através de exame de imagem apurado (Ressonância Magnética) após suspeita clínica durante o seguimento ambulatorial.

4. Variável imunoistoquímica

- *mdm2* – o padrão da expressão nuclear da proteína *mdm2* foi classificado por estimativa do percentual de coloração dos núcleos das células tumorais, avaliadas em toda extensão da lâmina. A expressão protéica foi avaliada com aumento de 400 X, sendo considerados positivos aqueles núcleos com imuno-expressão de cor acastanhada (Figura 1).

4.2.5. PREPARO DAS LÂMINAS

As lâminas foram submetidas a preparos específicos para realização de reações para *mdm2*, a partir de cada bloco de parafina.

O estudo imunoistoquímico, realizado pelo método de imunoperoxidase, utilizou o anticorpo monoclonal *anti-mdm2* seguindo as reações:

Os tecidos foram desparafinizados inicialmente em um banho (quente) de 30 minutos em xilol a 60°C, sendo a seguir mergulhados em um banho (frio) de 01 minuto também em xilol à temperatura ambiente. Foram hidratados em dois banhos de álcool etílico absoluto, dois banhos de álcool etílico a 95% e um a 70%, sendo posteriormente mergulhadas em água corrente e destilada respectivamente.

O bloqueio da peroxidase endógena foi feito, mergulhando-se as lâminas em peróxido de hidrogênio (água oxigenada) a 3% a 20 volumes em oito banhos de cinco minutos cada. Procedeu-se à recuperação antigênica induzida pelo calor, aquecendo-se na panela de pressão por cinco minutos, mergulhando-se as lâminas em solução de ácido cítrico 0,01M, pH 6.0 e lavando-se a seguir em água corrente e destilada e três vezes em solução de fosfato tamponado (PBS 10mM pH 7,4).

As lâminas, na câmara úmida, foram incubadas por uma 18 horas (overnight) a 4°C com o anticorpo monoclonal específico diluído em solução de albumina bovina a 1% e lavadas três vezes em PBS, pH 7,4. Elas foram novamente colocadas em câmara úmida a 37°C por uma hora com anticorpo biotinilado anti-imunoglobulina de camundongo na diluição 1: 25 e depois banhadas três vezes em tampão PBS. Novas incubações dos cortes foram realizadas com o complexo Avidina-biotina-peroxidase (ABC/LSAB +) por 30 minutos a 37°C. Seguiu-se à revelação com substrato cromogênico (tetra-hidrocloreto de diaminobenzidina a 60% associada a 1,5ml de peróxido de hidrogênio a 20 volumes) por um tempo de cinco minutos. Realizou-se então, lavagem em água corrente e destilada.

Os tecidos foram contra-corados levemente com hematoxilina de Harris por três minutos. Procedeu-se, após lavagem em água corrente e destilada, a desidratação dos cortes uma vez em álcool etílico a 70%, duas vezes a 95%, duas vezes a 100%, respectivamente e por fim em xilol por três vezes. As lamínulas foram montadas com Entellan (Merck) e as lâminas identificadas.

4.2.6. AVALIAÇÃO DA POSITIVIDADE IMUNOISTOQUÍMICA

A proteína *mdm2* foi discriminada como presente ou ausente. Para análise imunoistoquímica os tumores foram classificados como positivos (positividade = 10% da amostra) ou negativos (Figuras 5 e 6).

A expressão protéica foi avaliada com aumento de 400 X, sendo considerados positivos aqueles núcleos com imuno-expressão castanha, característica inequívoca. Foram contados, pelo menos, 400 núcleos de células neoplásicas por caso.

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O banco de dados foi confeccionado em uma tabela do programa “Exel 2002 *for* Windows” após aplicação de um protocolo aos prontuários, e as análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico “SPSS 11.0”.

Foi feita a análise descritiva da amostra através de médias, medianas e porcentagens. Foram calculadas as freqüências simples de todas as variáveis estudadas. As probabilidades de sobrevida acumuladas foram feitas pela técnica de Kaplan-Meier (KAPLAN E MEIER 1958) e as curvas de sobrevida comparadas pelo teste de log rank.

Todas as variáveis foram analisadas quanto à sua importância em relação ao prognóstico para sobrevida livre de recidiva local, sobrevida livre de metástase e sobrevida global. Os índices positivo ou negativo para o *mdm2* foram avaliados como variáveis para determinação de seu valor prognóstico e de associação com outras variáveis (anatomopatológicas). As associações foram feitas utilizando-se o teste exato de Fischer.

Efetuamos a simplificação dos números utilizando técnicas de arredondamento padronizadas com eliminação das casas decimais para os valores das freqüências e taxas de sobrevida. A significância estatística foi definida para os valores de $p < 0,05$.

Figura 1 – Fotomicrografia mostrando o subtipo bem-diferenciado (200 X- HE)

Figura 2 – Fotomicrografia mostrando o subtipo mixóide/células redondas (alto grau)
(200 X- HE)

Figura 3 – Fotomicrografia mostrando o subtipo mixóide/células redondas (baixo grau)
(200 X- HE)

Figura 4 – Fotomicrografia mostrando o subtipo pleomórfico (200 X- HE)

Figura 5 – Fotomicrografia mostrando o resultado positivo para a reação imunoistoquímica de *mdm2* (400 X)

Figura 6 – Fotomicrografia mostrando o resultado negativo para a reação imunoistoquímica de *mdm2* (200 X)

RESULTADOS

5. RESULTADOS

O valor prognóstico de algumas importantes variáveis epidemiológicas e clínicas, anatomopatológicas e imunoistoquímica foi avaliado, também, com base nas curvas de sobrevida livre de recidiva local (SLRL), sobrevida livre de metástase (SLM) e sobrevida global (SG).

5.1 FATORES PROGNÓSTICOS RELACIONADOS À SOBREVIDA LIVRE DE RECIDIVA LOCAL

A curva de sobrevida livre de recidiva local para os 25 pacientes é apresentada na Figura 7. As taxas de SLRL para esses pacientes foram 84% , 75% e 75% respectivamente em 2, 5 e 10 anos. Os fatores que influenciaram o risco de recidiva local na análise univariada foram: o gênero ($p=0,023$), subtipo histológico ($p=0,027$) e grau histológico ($p=0,007$). O gênero masculino foi considerado fator adverso; o subtipo pleomórfico apresentou maior índice de recidiva local comparado aos outros; o alto grau histológico teve pior prognóstico. Os demais fatores estudados não atingiram níveis de significância estatística para valores de $p<0,05$ (idade, localização, dimensão corporal, tempo para procura ao médico, tamanho da peça e tipo de tratamento realizado).

A presença ou ausência de *mdm2* não atingiu nível de significância estatística e não foi considerado fator prognóstico para a SLRL (Figura 11).

As taxas de SLRL em 2, 5 e 10 anos para cada categoria das variáveis epidemiológicas e clínicas, anatomopatológicas, terapêuticas e molecular analisadas, como também o valor de **p** são mostrados nas Tabelas 6, 7, 8 e 9. As curvas de sobrevida

para as variáveis com significância estatística (gênero, tipo e grau histológicos) podem ser observadas nas Figuras 8, 9, 10.

Não realizamos a análise multivariada pelo modelo de regressão logística de riscos proporcionais de COX para avaliação do risco de recidiva local, em face do pequeno número de eventos ocorridos para as variáveis estudadas.

Tabela 6 – Variáveis epidemiológicas e clínicas - Sobrevida livre de recidiva local (SLRL) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SLRL			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Idade (anos)	< 50	11	82 (12)	60 (16)	-	0,185
	= 50	14	86 (9)	86 (9)	86 (9)	
Gênero	Masculino	11	73 (13)	51 (16)	-	0,023
	Feminino	14	93 (7)	93 (7)	93 (7)	
Localização	Membro Superior	5	80 (18)	80 (18)	-	0,774
	Membro Inferior	20	85 (8)	74 (10)	74 (10)	
Dimídio Corporal	Direito	15	80 (10)	73 (12)	73 (12)	0,631
	Esquerdo	10	90 (9)	79 (13)	79 (13)	
Tempo para procura ao médico (meses)	< 24	12	83 (11)	75 (13)	75 (13)	0,831
	= 24	13	85 (10)	76 (12)	76 (12)	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 7 – Variáveis anatomopatológicas - Sobrevida livre de recidiva local (SLRL) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SLRL			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Subtipo Histológico	Bem-diferenciado	9	89 (10)	89 (10)	89 (10)	0,027
	Mixóide/células redondas	13	92 (7)	75 (13)	-	
	Pleomórfico	3	33 (27)	-	-	
Tamanho da peça (cm)	< 5	2	100 (0)	100 (0)	-	0,708
	Entre 5 e 10	5	80 (18)	80 (18)	80 (18)	
	> 10	18	83 (9)	71 (11)	71 (11)	
Grau	Baixo	18	94 (5)	87 (8)	87 (8)	0,007
	Alto	7	57 (19)	43 (19)	-	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 8 – Variáveis terapêuticas - Sobrevida livre de recidiva local (SLRL) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SLRL			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Tipo de tratamento	Cirurgia Exclusiva	12	92 (8)	83 (11)	83 (11)	0,352
	Tratamento Combinado	13	77 (12)	69 (13)	-	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 9 – Variável imunoistoquímica - Sobrevida livre de recidiva local (SLRL) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SLRL			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
<i>mdm2</i>	< 10 % (negativo)	3	67 (27)	-	-	0,685
	= 10 % (positivo)	22	86 (7)	76 (9)	76 (9)	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Figura 7- Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades

Figura 8 - Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o gênero

Figura 9 - Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o tipo histológico

Figura 10 - Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o grau histológico

Figura 11 - Curva da sobrevida livre de recidiva local em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a expressão de *mdm2*

5.2 FATORES PROGNÓSTICOS RELACIONADOS À SOBREVIDA LIVRE DE METÁSTASE

A curva de sobrevida livre de metástase para os 25 pacientes é apresentada na Figura 12. As taxas de SLM para esses pacientes foram 88% , 88% e 88% respectivamente em 2, 5 e 10 anos. Influenciaram o risco de metástase na análise univariada os seguintes fatores: idade ($p=0,040$), gênero ($p=0,040$), subtipo histológico ($p<0,001$) e grau histológico ($p=0,003$). Foram considerados fatores adversos idade inferior a 50 anos; o gênero masculino; o subtipo pleomórfico que apresentou maior índice de recidiva local comparado aos outros; e o alto grau histológico. Os outros fatores estudados não atingiram níveis de significância estatística para valores de $p<0,05$ (localização, dimídio corporal, tempo para procura ao médico, tamanho da peça e tipo de tratamento realizado).

A presença ou ausência de imunoistoquímica para *mdm2* não atingiu nível de significância estatística, não sendo considerado fator prognóstico para a SLM (Figura 17).

As taxas de SLM em 2, 5 e 10 anos para cada categoria das variáveis epidemiológicas e clínicas, anatomopatológicas, terapêuticas e molecular analisadas, assim como o valor de **p** são mostrados nas Tabelas 10, 11, 12 e 13. As curvas de sobrevida para as variáveis com significância estatística (idade, gênero, tipo e grau histológicos) são expostas nas Figuras 13, 14, 15 e 16.

A análise multivariada pelo modelo de regressão logística de riscos proporcionais de COX, não foi realizada para avaliação do risco de metástase, devido ao pequeno número de eventos ocorridos para as variáveis estudadas.

Tabela 10 – Variáveis epidemiológicas e clínicas - Sobrevida livre de metástase (SLM) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SLM			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Idade (anos)	< 50	11	73 (13)	73 (13)	-	0,040
	= 50	14	100 (0)	100 (0)	100 (0)	
Gênero	Masculino	11	73 (13)	73 (13)	-	0,040
	Feminino	14	100 (0)	100 (0)	100 (0)	
Localização	Membro Superior	5	100 (0)	100 (0)	100 (0)	0,374
	Membro Inferior	20	85 (8)	85 (8)	85 (8)	
Dimídio Corporal	Direito	15	80 (10)	80 (10)	80 (10)	0,143
	Esquerdo	10	100 (0)	100 (0)	100 (0)	
Tempo para procura ao médico (meses)	< 24	12	75 (13)	75 (13)	75 (13)	0,059
	= 24	13	100 (0)	100 (0)	100 (0)	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 11 – Variáveis anatomopatológicas - Sobrevida livre de metástase (SLM) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SLM			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Subtipo Histológico	Bem-diferenciado	9	100 (0)	100 (0)	100 (0)	< 0,001
	Mixóide/células redondas	13	92 (7)	92 (7)	-	
	Pleomórfico	3	33 (27)	-	-	
Tamanho da peça (cm)	< 5	2	100 (0)	100 (0)	-	0,719
	Entre 5 e 10	5	80 (18)	80 (18)	80 (18)	
	> 10	18	89 (7)	89 (7)	89 (7)	
Grau	Baixo	18	100 (0)	100 (0)	100 (0)	0,003
	Alto	7	57 (19)	57 (19)	-	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 12 – Variáveis terapêuticas - Sobrevida livre de metástase (SLM) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SLM			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Tipo de Tratamento	Cirurgia Exclusiva	12	100 (0)	100 (0)	100 (0)	0,083
	Tratamento Combinado	13	77 (12)	77 (12)	-	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 13 – Variável imunoistoquímica - Sobrevida livre de metástase (SLM) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SLM			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
<i>mdm2</i>	< 10 % (negativo)	3	100 (0)	-	-	0,512
	= 10 % (positivo)	22	86 (7)	86 (7)	86 (7)	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Figura 12- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades

Figura 13- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a idade

Figura 14- Curva de sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o gênero

Figura 15- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o tipo histológico

Figura 16- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o grau histológico

Figura 17- Curva da sobrevida livre de metástase em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a expressão de *mdm2*

5.3 FATORES PROGNÓSTICOS RELACIONADOS À SOBREVIDA GLOBAL

A curva de sobrevida global para os 25 pacientes é apresentada na Figura 18. Em 2, 5 e 10 anos as taxas de sobrevida global para os 25 pacientes estudados foram 92% , 88% e 88%, respectivamente. Os seguintes fatores influenciaram o risco de óbito na análise univariada: idade ($p=0,036$), gênero ($p=0,043$), subtipo histológico ($p=0,001$) e grau histológico ($p=0,003$). Também foram considerados fatores adversos idade inferior a 50 anos; o gênero masculino; o subtipo pleomórfico que apresentou um pior prognóstico; e o alto grau histológico. Localização, dimídio corporal, tempo para procura ao médico, tamanho da peça e tipo de tratamento realizado não atingiram níveis de significância estatística para valores de $p<0,05$.

A presença ou ausência de expressão protéica do *mdm2* também não influenciou a SG (Figura 23).

As taxas de sobrevida global em 2, 5 e 10 anos para cada categoria das variáveis epidemiológicas e clínicas, anatomopatológicas, terapêuticas e molecular analisadas, assim como o valor de **p** são mostrados nas Tabelas 14, 15, 16 e 17. As curvas de sobrevida para as variáveis com significância estatística (idade, gênero, tipo e grau histológicos) podem ser visibilizadas nas Figuras 19, 20, 21 e 22.

Não foi realizada a análise multivariada pelo modelo de regressão logística de riscos proporcionais de COX para avaliação do risco de óbito, pelo pequeno número de eventos ocorridos para as variáveis estudadas.

Tabela 14 – Variáveis epidemiológicas e clínicas - Sobrevida global (SG) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SG			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Idade (anos)	< 50	11	82 (12)	72 (14)	-	0,036
	= 50	14	100 (0)	100 (0)	100 (0)	
Gênero	Masculino	11	82 (12)	73 (13)	-	0,043
	Feminino	14	100 (0)	100 (0)	100 (0)	
Localização	Membro Superior	5	100 (0)	100 (0)	100 (0)	0,369
	Membro Inferior	20	90 (7)	85 (8)	85 (8)	
Dimídio Corporal	Direito	15	87 (9)	79 (11)	79 (11)	0,137
	Esquerdo	10	100 (0)	100 (0)	100 (0)	
Tempo para procura ao médico (meses)	< 24	12	83 (11)	75 (13)	75 (13)	0,063
	= 24	13	100 (0)	100 (0)	100 (0)	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 15 – Variáveis anatomopatológicas - Sobrevida global (SG) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SG			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Subtipo Histológico	Bem-diferenciado	9	100 (0)	100 (0)	100 (0)	0,001
	Mixóide/células redondas	13	92 (7)	92 (7)	-	
	Pleomórfico	3	33 (27)	-	-	
Tamanho da peça (cm)	< 5	2	100 (0)	100 (0)	-	0,759
	Entre 5 e 10	5	80 (18)	80 (18)	80 (18)	
	> 10	18	94 (5)	89 (8)	89 (8)	
Grau	Baixo	18	100 (0)	100 (0)	100 (0)	0,003
	Alto	7	71 (17)	57 (19)	-	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 16 – Variáveis terapêuticas - Sobrevida global (SG) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SG			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
Tipo de Tratamento	Cirurgia Exclusiva	12	100 (0)	100 (0)	100 (0)	0,087
	Tratamento Combinado	13	85 (10)	77 (12)	-	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Tabela 17 – Variável imunoistoquímica - Sobrevida global (SG) em 2, 5 e 10 anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	SG			p **
			em 2 anos % *	em 5 anos % *	em 10 anos % *	
<i>mdm2</i>	< 10 % (negativo)	3	100 (0)	-	-	0,509
	= 10 % (positivo)	22	91 (6)	86 (7)	86 (7)	

* Valores em porcentagem $\pm$ o erro padrão.

** Valores de **p** pelo teste do log rank (curva de Kaplan-Meyer).

Figura 18 - Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades

Figura 19 - Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a idade

Figura 20 - Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o gênero

Figura 21 - Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o tipo histológico

Figura 22 - Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo o grau histológico

Figura 23- Curva da sobrevida global em anos para os 25 pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades segundo a expressão de *mdm2*

5.4 ANÁLISE DA CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO DA PROTEÍNA *mdm2* E AS VARIÁVEIS ANATOMOPATOLÓGICAS

Conforme demonstra a Tabela 18, não houve associação estatisticamente significativa entre a expressão ou não da proteína *mdm2* e as seguintes variáveis anatomopatológicas: subtipo, grau e tamanho dos tumores.

Tabela 18 – Estudo da correlação entre a expressão imunoistoquímica de *mdm2* e as variáveis anatomopatológicas nos 25 pacientes portadores de lipossarcoma primário de extremidades

Variável	Categoria	n	<i>mdm2</i>		p*
			Negativo n = 3	Positivo n = 22	
Subtipo Histológico	Bem-diferenciado	9	2 (66,7%)	7 (31,8%)	0,695
	Mixóide/Cel. Red.	13	1 (33,3%)	12 (54,6%)	
	Pleomórfico	3	0 (0,0%)	3 (13,6%)	
Tamanho da peça (cm)	< 5	2	0 (0,0%)	2 (9,1%)	1,000
	Entre 5 e 10	5	0 (0,0%)	5 (22,7%)	
	> 10	18	3 (100,0%)	15 (68,2%)	
Grau	Baixo	18	2 (66,7%)	16 (72,7%)	1,000
	Alto	7	1 (33,3%)	6 (27,3%)	

* Valores de **p** pelo teste exato de Fisher.

DISCUSSÃO

6. DISCUSSÃO

Ainda que existam mais de 30 tipos histológicos de sarcomas de partes moles, muitos deles são agrupados por serem diagnosticados, estadiados e tratados de modo similar (SINGER et al. 1994). Todavia, por consistirem de uma ampla série de tipos histológicos, o curso clínico de cada tipo de sarcoma pode ser extremamente diverso (CHANG et al. 1990).

Os sarcomas de tecidos moles compreendem menos de 1% de todos os tumores malignos (STOUT 1961). Desses, cerca de 10 a 20% são lipossarcomas, conforme diversos materiais (STOUT 1961; ENZINGER e WEISS 1988; MACK 1995; DAUGAARD 2004; LEHNHARDT et al. 2004; MOUREAU-ZABOTTO et al. 2004) sendo considerado o segundo tipo mais freqüente (ENZINGER e WEISS 1988; PATEL et al. 1994).

A própria freqüência reduzida dessa patologia explicaria a nossa pequena casuística, some-se a isso, diversos critérios de inclusão e exclusão utilizados neste estudo.

O clássico portador de lipossarcoma é do gênero masculino (HUEBERT 1981; REITAN et al. 1985; ENZINGER e WEISS 1988; GUSTAFSON et al. 1993; KULHAVY 1997) tem idade entre 50 e 70 anos (STOUT 1961; HUEBERT 1981; DANIELL 1985; REITAN et al. 1985; GUSTAFSON et al. 1993; ROSEMBERG 1996; BRENNAN et al. 1997) e apresenta cor branca.

DANIELL (1985), encontrou uma proporção maior do gênero feminino, concordante com o resultado da nossa série. Verificamos em nosso estudo, um pior

prognóstico para os pacientes do sexo masculino, assim como no trabalho de FERREIRA (1999).

Em relação à sobrevida global, REITAN et al. (1985) afirmaram que os pacientes mais jovens apresentaram melhor prognóstico, fato contrário ao encontrado em nosso estudo. Houve diferença com significância estatística ($p=0,036$), mostrando pior prognóstico para paciente com idade inferior a 50 anos.

Contrário a alguns estudos (CHANG et al. 1989; GUSTAFSON et al. 1993), as variáveis idade e gênero foram relevantes também para a sobrevida livre de recidiva local, neste trabalho.

Embora com a afirmação de alguns autores (ENZINGER e WEISS 1988) de que não há evidências de predileção do lipossarcoma por determinada raça, nós constatamos que a raça branca foi a mais afetada, assim como em outros estudos (CELIK et al. 1980; LA QUAGLIA et al. 1993).

Analisando a região anatômica mais afetada pelos lipossarcomas de extremidades, a literatura evidencia a coxa como sítio mais freqüente (HUEBERT 1981; REITAN et al. 1985; GUSTAFSON et al. 1993; BRENNAN et al. 1997). Aqui também, foi o local mais acometido, em 60 % (15) dos casos. ENZINGER e WEISS (1988) afirmam que, por razões ainda desconhecidas, o lado direito tende a ser mais comumente afetado que o esquerdo, em concordância do observado na nossa casuística.

O sinal clínico primário presente em todos os casos foi a tumoração seguido de dor, secundariamente em apenas três. Segundo ENZINGER e WEISS (1988), a dor ocorre em cerca de 10 a 15 % dos casos, fato similar observado em nosso trabalho (12%).

O tempo médio entre a percepção do aumento de volume local por parte dos

nossos pacientes e a procura ao médico foi $36,04 \pm 41,26$ meses (mediana de 24 meses), oscilando entre 2 e 120 meses. O tempo de evolução é freqüentemente variado (ORSON et. al. 1987; ENZINGER e WEISS 1988), conforme observado neste estudo. Devido ao crescimento lento e a localização profunda da maioria destes tumores, pode ocorrer em muitos anos (ENZINGER e WEISS 1988), ou em poucos casos, em meses quando diagnosticado precocemente.

Neste trabalho, apesar da sua elevada média, o tempo para procura ao médico não demonstrou um pior prognóstico nas sobrevidas estudadas.

Poucos pesquisadores afirmam que a forma mais comum de lipossarcoma seria o bem-diferenciado (DEI TOS e PEDEUTOUR 2002a). O tipo histológico mais encontrado em nosso estudo foi o mixóide/células redondas (52%) em concordância com citações atuais (WEISS e GOLDBLUM 2001; LEHNHARDT et al. 2004).

No passado, a maioria dos trabalhos evidenciou o subtipo mixóide como o mais freqüente utilizando diferentes classificações (HUEBERT 1981; DANIELL 1985; LA QUAGLIA et al. 1993; SREEKANTAIAH et al. 1994; ROSEMBERG 1996; BRENNAN et al. 1997). Fato é que antigamente o tipo de lipossarcoma mais encontrado era o mixóide, e hoje, associado ao de células redondas em uma fusão na atual classificação (mixóide/células redondas), parece continuar com sua hegemonia.

É bem conhecido que lipossarcomas mixóides podem variar na celularidade em diferentes áreas do mesmo tumor, com um espectro oscilando da típica baixa a intensa celularidade, incluindo área composta exclusivamente por células redondas. Observações clínicas e morfológicas, associadas a anormalidades citogenéticas, influenciaram na junção desses antes distintos subtipos histológicos em um só: mixóide/células redondas.

O tipo desdiferenciado não foi encontrado entre os 25 casos provavelmente pela nossa pequena casuística e certamente pela exclusão da amostra para revisão visto que alguns desses tumores não foram classificados como lipossarcoma inicialmente. Outro motivo significativo, assim como no tipo misto (também não encontrado), é a raridade desses subtipos histológicos.

Um dos fatores mais importantes de influência na taxa de sobrevida parece ser o tipo histológico do tumor. Em nossa série, verificamos que o subtipo histológico de lipossarcoma está relacionado à sobrevida de forma significativa, ou seja, pacientes portadores de lipossarcoma pleomórfico possuem maior risco de óbito se comparados aos de mixóide/células redondas e bem-diferenciado. Observamos também, significância estatística em relação ao risco de recidiva local e de desenvolver metástases à distância comparando os tipos histológicos, com o pleomórfico possuindo também um pior prognóstico.

O grau do tumor tem sido claramente reconhecido como um indicador de comportamento, com tumores de alto grau sendo associados a prognósticos adversos para sobrevida (COLLIN et al. 1988). Isto não é uma exceção nos lipossarcomas de extremidades (CHANG et al. 1990).

Com base em uma antiga classificação as variantes bem-diferenciado e mixóide eram relativamente indolentes; as variantes de células redondas e pleomórfico, no entanto, comportavam-se em geral agressivamente, tendendo a recidivar e apresentavam um prognóstico mais sombrio (ROSEMBERG 1996). Conforme observado, a taxa de sobrevida para estes quatro subtipos histológicos, resultou em dois padrões distintos: o tipo bem-diferenciado e mixóide que exibiu um melhor prognóstico comparado ao tipo de

células arredondadas e pleomórfico (REITAN et al. 1985; ROSEMBERG 1996). Fato similar mantendo uma dicotomia do padrão de comportamento é visto hoje, apesar das mudanças na classificação. Após classificados segundo a OMS, os subtipos tumorais podem ser divididos em baixo e alto grau. Baixos graus são considerados os subtipos bem-diferenciado e o apenas mixóide; os altos graus englobam os tipos mixóide/células redondas, com componente maior que 5% dessas células; desdiferenciado (com mais de 25%) e pleomórfico (FLETCHER et al. 2002).

Outros autores em diferentes estudos afirmam que o grau histológico do tumor foi um significativo preditor de sobrevida apesar de utilizarem diferentes nomenclaturas e graduações (CHANG et al. 1990; SINGER et al. 1994). No presente estudo, utilizando a atual classificação da OMS para lipossarcomas, observamos fato similar corroborando com esta afirmação de que o risco de óbito aumenta à medida que progride o grau de diferenciação (Figura 18). Outros riscos como o de recidiva local ($p=0,007$) e de metástase ($p=0,03$) também aumentaram de forma significativa.

O tamanho do tumor pode variar de poucos centímetros de diâmetro a enormes proporções (WONG et al. 1997). A dimensão tumoral parece ser um fator prognóstico dos lipossarcomas (REITAN et al. 1985; ORSON et al. 1987). Neste estudo os tamanhos dos tumores variaram de 3 a 37 cm, com a média de quase 17 e mediana de 18 centímetros. LA QUAGLIA et al. (1993) em seu trabalho sobre lipossarcoma em pacientes jovens, constataram que a lesão primária variou de 3 a 30 cm, com a média de 5 cm, já GUSTAFSON et al., no mesmo ano, obtiveram diâmetro médio dos tumores profundos de 12 cm, porém, afirmaram que o tamanho da neoplasia não foi um fator prognóstico em sua série.

A elevada média do tamanho tumoral parece estar diretamente relacionada ao grande tempo de evolução que estas neoplasias apresentam. Em contra partida, nesta série, não constatamos que a dimensão do tumor seja um fator prognóstico em nenhuma das sobrevidas estudadas.

Embora exista pouca informação precisa com relação à efetividade dos vários tipos de tratamento, a exérese cirúrgica, quando tecnicamente possível, parece ser uma unanimidade entre os autores. CAMPBELL et al. em 1980, concluem que o adequado procedimento cirúrgico inicial influencia a taxa de sobrevida. Cirurgia "adequada" definida por estes autores compreende amputação primária realizada no nível apropriado ou uma ressecção de partes moles realizada por dissecação em planos separados do tumor por uma estrutura anatômica intacta (margem ampla). Também em 1980, ENNEKING et al. propuseram um sistema para ressecção cirúrgica dos sarcomas músculo-esqueléticos, baseado nos compartimentos, com uma notável aplicação prática. A nossa série incluiu apenas um paciente tratado em 1968, anos antes da definição do melhor tipo de ressecção cirúrgica, como comentado anteriormente. Todavia, a descrição cirúrgica minuciosa define a abordagem operatória do tumor pela periferia através de tecidos saudáveis conforme determinado posteriormente por aqueles autores (CAMPBELL et al. 1980; ENNEKING et al. 1980). Todos os outros pacientes foram diagnosticados e, portanto tratados cirurgicamente, a partir da década de 80, seguindo os preceitos da época.

Apesar das tentativas de ressecção cirúrgica ampla em todos os casos, não especificamos o comprometimento ou não das margens cirúrgicas, por tratar-se de série retrospectiva e muitas vezes essa informação não foi registrada nos prontuários dos pacientes, tornando-se inverídicas quaisquer afirmações a este respeito. De qualquer

sorte, numerosas séries já enfatizam o impacto dessa remoção cirúrgica completa do tumor. O controle local é diretamente dependente da completa ou incompleta exérese cirúrgica (DUBOIS et al. 1995).

O lipossarcoma, como um grupo, apresenta taxa de recidiva local após cirurgia, em torno de 50%. Porém, estes índices são inferiores considerando-se apenas as lesões nas extremidades (CHANG et al. 1989; NASCIMENTO e OLIVEIRA 1999). Em nossa casuística, dos 25 pacientes submetidos à ressecção cirúrgica ampla, 3 apresentaram recorrência local durante o seguimento, sendo 1 da variante bem-diferenciada e 2 da mixóide/células redondas (um de baixo e outro alto grau). Recorrência local é um problema significativo com todas as variantes de lipossarcomas (EVANS 1979). No passado, DANIELL (1985) reportou episódios de recorrência local dos lipossarcomas mixóide com maior frequência; todavia, HUEBERT (1981) encontrou recorrência mais comumente em tumores de células arredondadas e pleomórficos que no tipo mixóide. Porém esses dados são considerados prejudicados devido às diversas re-classificações ocorridas ao longo dos anos.

Os tumores bem-diferenciados que ocorrem em sítios anatômicos profundos, tendem a recidivar repetidamente na proporção que eles podem causar a morte do paciente como resultado do descontrole dos efeitos locais ou podem desdiferenciar e metastatizar (DEI TOS e PEDEUTOUR 2002a).

Analisando a importância do tipo histológico do lipossarcoma no risco de recidiva local, esse fator foi considerado significativo para o prognóstico conforme a Figura 9.

Radioterapia pós-operatória é um acessório valioso no tratamento, sendo capaz não apenas de retardar o posterior crescimento, mas também de reduzir a recorrência

local e necessidade de amputação (ENZINGER e WEISS 1988). Todavia, essa adjuvância terapêutica cujo objetivo é melhorar o controle local pode em alguns casos ser limitado pela intolerância de certos tecidos irradiados ou pela resistência relativa do tipo de tumor (DUBOIS et al. 1995). Os lipossarcomas são considerados mais radiosensíveis que outros sarcomas de tecidos moles (DANIELL 1985). Treze dos 25 pacientes do nosso grupo foram submetidos à radioterapia pós-operatória. Um dos 3 pacientes que apresentou recorrência local possuía lipossarcoma tipo mixóide/células redondas (alto grau) e fez radioterapia.

No presente estudo, dos pacientes portadores de lipossarcoma, três foram submetidos à quimioterapia adjuvante. Na década de 80 não havia estudos suficientes com relação à eficácia da quimioterapia, sendo necessário mais estudos controlados de seguimento para comprovar sua verdadeira eficácia, segundo ENZINGER e WEISS (1988). Na atualidade, para pacientes com sarcoma primário de extremidades, como lipossarcoma, o impacto da quimioterapia na sobrevida continua controversa e não tem evoluído sistematicamente (EILBER et al. 2004). No entanto, esses autores concluem que o tratamento quimioterápico à base de ifosfamida pode ser considerado em pacientes com lipossarcomas primários de extremidades de alto grau e grande volume.

Os sarcomas de partes moles usualmente metastatizam por via hematogênica (GAAKEER et al. 1988), mais freqüentemente para os pulmões (HUEBERT 1981; REITAN et al. 1985). Em nossa série houve 3 casos de metástases, 1 de histologia mixóide/células redondas (de alto grau) e 2 pleomórficos. Alguns autores citam que a metástase está mais associada a tumores pleomórficos (HUEBERT 1981; DANIELL 1985).

Tem sido observado que lipossarcoma metastático pode ser visto em sítios não usuais de tecidos moles (CHENG et al. 1995). Todos os nossos casos que desenvolveram metástase, inicialmente apresentaram-na em tecidos extrapulmonares, com a coluna lombar uma localização em comum. Destes, apenas um, do subtipo pleomórfico, desenvolveu metástases pulmonares.

Baixo grau de malignidade tem sido reportado com um baixo potencial metastático (REITAN et al. 1985). Lipossarcoma bem-diferenciado, a menos que diferenciem, nunca metastatizam (DEI TOS et al. 2000). Inversamente, as metástases são mais freqüentes nos tumores de alto grau de malignidade (COLLIN et al. 1987; ORSON et al. 1987; BRENNAN 1989). Similarmente, dentro do grupo de pacientes com tumores de alto grau, existem subgrupos que apresentam um pior prognóstico.

A incidência de metástase para linfonodos regionais é muito pequena (1/64), segundo GAAKEER et al. (1988).

Dentre as complicações terapêuticas relacionadas na Tabela 3, alguns pacientes apresentaram mais de um tipo de forma associada. Houve no total 8 tipos de complicações em 11(44%) dos 25 pacientes tratados. Destas, as mais freqüentes foram infecções superficiais das feridas operatórias (16%), lesões de nervos periféricos (16%) e infecções profundas (12%). Nas referências bibliográficas citadas não observamos nenhum estudo relativo às complicações terapêuticas dos pacientes portadores de lipossarcoma de extremidades.

As alterações genéticas têm sido responsabilizadas pela carcinogênese através basicamente da ativação, amplificação e rearranjos de protooncogenes e inativação de genes supressores de tumores. Todos esses genes, se ativados ou não, são responsáveis

pela desregulação do ciclo maquinário da célula afetando o crescimento, proliferação e diferenciação (SCHNEIDER-STOCK et al. 1998).

O gene MDM2 (murine double minutes 2) tem mostrado uma alta frequência de sua amplificação em diversos estudos nos sarcomas de partes moles. O produto do MDM2 interage com a proteína p53 e inibe sua habilidade em estimular a expressão gênica como fator de transcrição. Assim, a amplificação (e superexpressão subsequente) do MDM2 pode ter o mesmo efeito de mutações em p53 (SIMPSON 1999).

As alterações do gene MDM2 são conhecidas como sendo um mecanismo comum na gênese do lipossarcoma (SCHNEIDER-STOCK et al. 1998). Amplificação deste gene e sua superexpressão de mRNA podem conduzir à superprodução de proteína *mdm2* (NAKAYAMA et al. 1995).

A análise imunoistoquímica revela localização nuclear e superexpressão de *mdm2* nesses tumores com amplificação do gene MDM2 (LEACH et al. 1993).

Apesar da imunoistoquímica poder ser usada para demonstrar superexpressão de *mdm2*, a correlação direta entre a amplificação do gene e superexpressão protéica não é a regra (HOSTEIN et al. 2004). Ainda assim, mutações ocasionam aumento irregular de proteínas estáveis que podem ser detectadas por imunoistoquímica (BODNER et al. 1992).

Nos lipossarcomas, a amplificação do gene MDM2 é observada em apenas tumores bem-diferenciados com alta frequência, mas não em outros subtipos tumorais (NAKAYAMA et al. 1995). Outro autor menciona que a amplificação do gene MDM2 também não é vista nos lipossarcomas mixóides: o maior subtipo deles (NILBERT et al. 1994). Em contraste, SCHNEIDER-STOCK et al. (1998) encontra amplificação do gene

MDM2 nas variantes mixóide e pleomórfico, apesar do lipossarcoma bem-diferenciado ser caracterizado por uma já conhecida alta frequência.

Em nossa casuística a imunoistoquímica mostrou expressão proteica de *mdm2* em 22 dos 25 casos (88%). Destes, 7 (77,7 %) eram do subtipo bem-diferenciado, 12 (92,3%) do mixóide/células redondas, 3 (100%) do tipo pleomórfico. Estes dados indicam uma alta frequência da presença da proteína *mdm2* nos diversos subtipos histológicos de lipossarcoma, traduzindo preliminarmente, uma grande sensibilidade deste marcador (*anti-mdm2*) nesta patologia. Ainda assim, atualmente, o estudo do aspecto morfológico é predominante no diagnóstico desta neoplasia em detrimento dos exames imunocitoquímicos.

CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

1. Não há correlação entre as expressões protéicas de *mdm2* observadas pela imunistoquímica e as variáveis anatomopatológicas estudadas. Assim como, não houve relação entre aquelas e os diversos fatores prognósticos nos lipossarcomas primário de extremidades.

2. São fatores adversos para a sobrevida livre de recidiva local o gênero masculino, o subtipo histológico pleomórfico, e o alto grau de malignidade.

3. Os fatores adversos para a sobrevida livre de metástase e sobrevida global são o gênero masculino, a idade inferior a 50 anos, o subtipo pleomórfico e o alto grau histológico.

4. A imunoexpressão da proteína *mdm2* mostrou-se um evento freqüente nos diversos subtipos de lipossarcomas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antonescu C, Ladanyi M. Myxoid liposarcoma. In: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editores. *Pathology and genetics of tumours of the soft tissues and bones*. Lyon: IARC Press; 2002. p.40-43.

Azumi N, Curtis J, Kempson RL, Hendrickson MR. Atypical and malignant neoplasms showing lipomatous differentiation. A study of 111 cases. *Am J Surg Pathol*. 1987;11(3):161-183.

Brennan MF, Casper ES, Harrison LB. Sarcomas of the soft tissue and bone. In: Devita VT, Hellman S, editores. *Cancer: principles and practice of oncology*. 5a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997. p.1738-1788.

Bodner SM, Minna JD, Jensen SM, D'Amico D, Carbone D, Mitsudomi T, et al. Expression of mutant p53 proteins in lung cancer correlates with the class of p53 gene mutation. *Oncogene*. 1992;7(4):743-749.

Boltze C, Schneider-Stock R, Jager V, Roessner A. Distinction between lipoma and liposarcoma by MDM2 alterations: a case report of simultaneously occurring tumors and review of the literature. *Pathol Res Pract*. 2001;197(8):563-568.

Campbell DA Jr, Eckhauser FE, Oehler JR, O'Leary T, Hart WR. Liposarcoma of the lower extremity. *Surgery*. 1980;88(4):453-460.

Celik C, Karakousis CP, Moore R, Holyke ED. Liposarcomas: prognosis and management. *J Surg Oncol*. 1980;14(3):245-249.

Chang HR, Hajdu SI, Collin C, Brennan MF. The prognostic value of histologic subtypes in primary extremity liposarcoma. *Cancer*. 1989;64(7):1514-1520.

Chang HR, Gaynor J, Tan C, Hajdu SI, Brennan MF. Multifactorial analysis of survival in primary extremity liposarcoma. *World J Surg*. 1990;14(5):610-618.

Collin CF, Friedrich C, Godbold J, Hajdu S, Brennan MF. Prognostic factors for local recurrence and survival in patients with localized extremity soft-tissue sarcoma. *Semin Surg Oncol*. 1988;4(1):30-37.

Daniell SJ. Liposarcoma: a ten year experience. *Int Orthop*. 1985;9(1):55-58.

Daugaard S. Current soft-tissue sarcoma classifications. *Eur J Cancer*. 2004;40(4):543-548.

Dei Tos AP, Doglioni C, Piccinin S, Sciò R, Furlanetto A, Boiocchi M, et al. Coordinated expression and amplification of the MDM2, CDK4, and HMGI-C genes in atypical lipomatous tumours. *J Pathol*. 2000;190(5):531-536.

Dei Tos AP, Pedetour F. Atypical lipomatous tumour/well differentiated liposarcoma. In: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editors. *Pathology and genetics of tumours of the soft tissues and bones*. Lyon: IARC Press; 2002a. p.35-37.

Dei Tos AP, Pedetour F. Dedifferentiated liposarcoma. In: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editors. *Pathology and genetics of tumours of the soft tissues and bones*. Lyon: IARC Press; 2002b. p.38-39.

Dubois JB, Debrigode C, Hay M, Gely S, Rouanet P, Saint-Aubert B, Pujol H. Intra-operative radiotherapy in soft tissue sarcomas. *Radiother Oncol*. 1995;34(2):160-163.

Eilber FC, Eilber FR, Eckardt J, Rosen G, Riedel E, Maki RG, Brennan MF, Singer S. The impact of chemotherapy on the survival of patients with high-grade primary extremity liposarcoma. *Ann Surg*. 2004;240(4):686-695.

Enneking WF, Spanier SS, Goodman MA. A system for the surgical staging of musculoskeletal sarcoma. *Clin Orthop*. 1980;(153):106-120.

Enterline HT, Culberson JD, Rochlin DB, Brady LW. Liposarcoma. A clinical and pathological study of 53 cases. *Cancer*. 1960;13:932-950.

Enzinger FM, Lattes R, Torloni H. *Histological typing of soft tissue tumours*. Geneva: World Health Organization; 1969.

Enzinger FM, Weiss SW. *Soft tissue tumors*. 2a ed. St. Louis: Mosby; 1988.

Enzinger FM, Winslow DJ. Liposarcoma. A study of 103 cases. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med*. 1962;335:367-388.

Evans HL. Liposarcoma: a study of 55 cases with a reassessment of its classification. *Am J Surg Pathol*. 1979;3(6):507-523.

Evans HL. Liposarcomas and atypical lipomatous tumors: a study of 66 cases followed for a minimum of 10 years. *Surg Pathol*. 1988;1:41-54.

Fakharzadeh SS, Trusko SP, George DL. Tumorigenic potential associated with enhanced expression of a gene that is amplified in a mouse tumor cell line. *EMBO J*. 1991;10(6):1565-1569.

Ferreira FO. *Estudo de fatores prognósticos e da expressão histoquímica de AgNOR e imunohistoquímica de Ki-67 e p53 em pacientes adultos portadores de lipossarcomas de extremidades* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1999.

Fletcher CDM, Akerman M, Dal Cin P, Wever I, Mandahl N, Mertens F, et al. Correlation between clinicopathological features and karyotype in lipomatous tumors. A report of 178 cases from the Chromosomes and Morphology (CHAMP) Collaborative Study Group. *Am J Pathol*. 1996;148(2):623-630.

Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editores. *Pathology and genetics of tumors of soft tissue and bone*. Lyon: IARC Press; 2002.

Forus A, Bjerkehagen B, Sirvent N, Meza-Zepeda LA, Coindre JM, Berner JM, Myklebost O, Pedetour F. A well-differentiated liposarcoma with a new type of chromosome 12-derived markers. *Cancer Genet Cytogenet*. 2001;131(1):13-18.

Gaakeer HÁ, Albus-Lutter CE, Gortzak E, Zoetmulder FAN. Regional lymph node metastases in patients with soft tissue sarcomas of the extremities, what are the therapeutic consequences? *Eur J Surg Oncol*. 1988;14(2):151-156.

Gustafson P, Rydholm A, Willen H, Baldetorp B, Ferno M, Akerman M. Liposarcoma: a population-based epidemiologic and prognostic study of features of 43 patients, including tumor DNA content. *Int J Cancer*. 1993;55(4):541-546.

Hostein I, Pelmus M, Aurias A, Pedetour F, Mathoulin-Pelissier S, Coindre JM. Evaluation of MDM2 and CDK4 amplification by real-time PCR on paraffin wax-embedded material: a potential tool for the diagnosis of atypical lipomatous tumours/well-differentiated liposarcomas. *J Pathol*. 2004;202(1):95-102.

Huebert HT. Liposarcoma: the Manitoba experience. *Can J Surg*. 1981;24(4):391-396.

Jelinek JS, Kransdorf MJ, Shmookler BM, Aboulafia AJ, Malawer MM. Liposarcoma of the extremities: MR and CT findings in the histologic subtypes. *Radiology*. 1993; 186(2):455-459.

Kransdorf MJ, Meis JM, Jelinek JS. Dedifferentiated liposarcoma of the extremities: imaging findings in four patients. *AJR Am J Roentgenol*. 1993;161(1):127-130.

Kulhavy M, Uijs RR, Sur RK, Donde B, Nayler S, Sur M, Giraud A. Symmetrical multifocal liposarcoma. *S Afr J Surg*. 1997;35(2):68-69.

Ladanyi M, Bridge JA. Contribution of molecular genetic data to the classification of sarcomas. *Hum Pathol*. 2000;31(5):532-538.

La Quaglia MP, Spiro SA, Ghavimi F, Hajdu SI, Meyers P, Exelby PR. Liposarcoma in patients younger than or equal to 22 years of age. *Cancer*. 1993;72(10):3114-3119.

Leach FS, Tokino T, Meltzer P, Burrell M, Oliner JD, Smith S, Hill DE, Sidransky D, Kinzler KW, Vogelstein B. p53 Mutation and MDM2 amplification in human soft tissue sarcomas. *Cancer Res*. 1993;53(10 Suppl):2231-2234.

Lehnhardt M, Kuhn C, Drucke D, Homann HH, Joneidi Jafari H, Steinau HU. Liposarkome der extremitäten. Aktuelle aspekten zur chirurgischen therapie-eine analyse Von 167 patienten. *Chirurg*. 2004;75(12):1182-1190.

Lício A, Lopes A. Lipossarcoma. In: Lopes A. *Sarcomas de partes moles*. Rio de Janeiro: Medsi; 1999. p.511-516.

Lopes A, Rossi BM, Mello CA. História natural e diagnóstico clínica. In: Lopes A. *Sarcomas de partes moles*. Rio de Janeiro: Medsi; 1999. p.83-91.

Mack TM. Sarcomas and other malignancies of soft tissue, retroperitoneum, peritoneum, pleura, heart, mediastinum, and spleen. *Cancer*. 1995;75(1 Suppl):211-244.

Mentzel T, Fletcher CD. Lipomatous tumours of soft tissues: an update. *Virchows Arch*. 1995;427(4):353-363.

Mentzel T, Pedeutour F. Mixed-type liposarcoma. In: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editores. *Pathology and genetics of tumours of the soft tissues and bones*. Lyon: IARC Press; 2002a. p.46.

Mentzel T, Pedeutour F. Pleomorphic liposarcoma. In: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editores. *Pathology and genetics of tumours of the soft tissues and bones*. Lyon: IARC Press; 2002b. p.44-45.

Moureau-Zabotto L, Thomas L, Bui BN, Chevreau C, Stockle E, Martel P. Management of soft tissue sarcomas (STS) in first isolated local recurrence: a retrospective study of 83 cases. *Radiother Oncol*. 2004;73(3):313-319.

Nakayama T, Toguchida J, Wadayama B, Kanoe H, Kotoura Y, Sasaki MS. MDM2 gene amplification in bone and soft-tissue tumors: association with tumor progression in differentiated adipose-tissue tumors. *Int J Cancer*. 1995;64(5):342-346.

Nascimento AG, Oliveira AM. Patologia geral. In: Lopes A. *Sarcomas de partes moles*. Rio de Janeiro: Medsi; 1999. p.41-68.

Nilbert M, Rydholm A, Willen H, Mitelman F, Mandahl N. MDM2 gene amplification correlates with ring chromosome in soft tissue tumors. *Genes Chromosomes Cancer*. 1994;9(4):261-265.

Oliner JD, Kinzler KW, Meltzer PS, George DL, Vogelstein B. Amplification of a gene encoding a p53-associated protein in human sarcomas. *Nature*. 1992;358(6381):80-83.

Orson GG, Sim FH, Reiman HM, Taylor WF. Liposarcoma of the musculoskeletal system. *Cancer*. 1987;60(6):1362-1370.

Patel SR, Burgess MA, Plager C, Papadopoulos NE, Linke KA, Benjamin RS. Myxoid liposarcoma. Experience with chemotherapy. *Cancer*. 1994;74(4):1265-1269.

Pilotti S, Della Torre G, Lavarino C, Di Palma S, Sozzi G, Minoletti F, et al. Distinct mdm2/p53 expression patterns in liposarcoma subgroups: implications for different pathogenetic mechanisms. *J Pathol*. 1997;181(1):14-24.

Pilotti S, Della Torre G, Mezzelani A, Tamborini E, Azzarelli A, Sozzi G, Pierotti MA. The expression of MDM2/CDK4 gene product in the differential diagnosis of well differentiated liposarcoma and large deep-seated lipoma. *Br J Cancer*. 2000;82(7):1271-1275.

Reitan JB, Kaalhus O, Brennhovd IO, Sager EM, Stenwig AE, Talle K. Prognostic factors in liposarcoma. *Cancer*. 1985;55(10):2482-2490.

Ribuffo D, Onesti MG, Elia E, Cucchiara V, Valeriani M, Scuderi N. Controversial issues in diagnosis of liposarcomas of the thigh. A report of 18 cases. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1998;32(3):323-330.

Rosemberg AE. *Patologia estrutural e funcional*. 5a ed. Rio de janeiro: Guanabara Koogan AS; 1996.

Sarkar K, Buckley C, Uhthoff HK. Liposarcoma simulating a Baker's cyst: a case study. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1986;105(5):316-319.

Schneider-Stock R, Walter H, Radig K, Rys J, Bosse A, Kuhnen C, Hoang-Vu C, Roessner A. MDM2 amplification and loss of heterozygosity at Rb and p53 genes: no simultaneous alterations in the oncogenesis of liposarcomas. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1998;124(10):532-540.

Simon MA, Springfield D. *Surgery for bone and soft tissue tumors*. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins; 1998.

Simpson AJG. A genética molecular de sarcomas de partes moles e sua aplicação à clínica. In: Lopes A. *Sarcomas de partes moles*. Rio de Janeiro: Medsi; 1999. p.19-30.

Singer S, Corson JM, Gonin R, Labow B, Eberlein TJ. Prognostic factors predictive of survival and local recurrence for extremity soft tissue sarcoma. *Ann Surg*. 1994 ;219(2):165-173.

Smith TA, Easley KA, Goldblum JR. Myxoid/round cell liposarcoma of the extremities. A clinicopathologic study of 29 cases with particular attention to extent of round cell liposarcoma. *Am J Surg Pathol*. 1996;20(2):171-180.

Sreekantaiah C, Ladanyi M, Rodriguez E, Chaganti RS. Chromosomal aberrations in soft tissue tumors. Relevance to diagnosis, classification, and molecular mechanisms. *Am J Pathol*. 1994;144(6):1121-1134.

Sreekantaiah C, Leong SP, Karakousis CP, McGee DL, Rappaport WD, Villar HV, et al. Cytogenetic profile of 109 lipomas. *Cancer Res*. 1991;51(1):422-433.

Stout AO. Sarcomas of the soft tissues. *CA Cancer J Clin*. 1961;11:210-231.

Stout AP. Liposarcoma: the malignant tumor of lipoblasts. *Ann Surg*. 1944;119:86-107.

Yang JC, Rosenberg SA. Surgical treatment of soft tissue sarcomas of the extremities. In: Sugarbaker PH, Malaw MM, editores. *Musculoskeletal surgery for cancer*. New York: Thieme; 1992. p.1-11.

Weiss SW, Goldblum RJ. *Enzinger e Weiss's soft tissue tumors*. 4a ed. St. Louis: Mosby; 2001.

Weiss SW, Sobin LH. *Histological typing of soft tissue tumors*. Berlin: Spring Verlag; 1994.

Wong CK, Edwards AT, Rees BI. Liposarcoma: a review of current diagnosis and management. *Br J Hosp Med*. 1997;58(11):589-591.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

9. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Costeira O. *Termos e expressões da prática médica*. Rio de Janeiro: Farmoquímica; 2001.

Ferreira A B H. *Novo dicionário da língua portuguesa*. 2ª. ed. rev. aum. Rio de Janeiro: Nova Fronteira; 1986.

Kaplan E, Meier P. Non-parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc*. 1958; 8: 423-46.

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. São Paulo; 2004.