

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

MARCELO BARBOSA RIBEIRO

**Análise imuno-histoquímica por Ki67 e IDH1 em pacientes com
condrossarcoma**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Olavo Pires de Camargo

**São Paulo
2022**

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

MARCELO BARBOSA RIBEIRO

**Análise imuno-histoquímica por Ki67 e IDH1 em pacientes com
condrossarcoma**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Olavo Pires de Camargo

**São Paulo
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ribeiro, Marcelo Barbosa
Análise imuno-histoquímica por Ki67 e IDH1 em
pacientes com condrossarcoma / Marcelo Barbosa
Ribeiro. -- São Paulo, 2022.
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.
Orientador: Olavo Pires de Camargo.

Descritores: 1. Condrossarcoma 2. Imuno-
histoquímica 3. Prognóstico 4. Epidemiologia 5. Tumor
ósseo 6. Tratamento

USP/FM/DBD-331/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

A Deus.

Aos meus pais Djalma (in memorium) e Maria, pela vida e pelo exemplo.

Aos meus segundos pais Adevaldo e Maria de Deus.

Aos meus filhos Amanda e Rodrigo.

A minha esposa Joselia e meus filhotes João e Joaquim.

Aos meus professores, especialmente, Olavo Pires de Camargo (FMUSP), Alberto Hamra (FAMECA) e Pedro P. de O. Pardal (UFPA), estimuladores da docência, sem estes não teria chegado aqui.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Titular da FMUSP Olavo Pires de Camargo, que, desde o primeiro encontro da minha prática profissionalizante de longa duração no IOT em 2006 até o presente momento, tem sido não somente um orientador, mas sim um “Paifessor”, que, mesmo com tanta importância e reconhecimento pelo mundo acadêmico, continua sempre ensinando, e ajudando pacientes e seus eternos estudantes. Meu muito obrigado por tudo.

Ao Dr. André Mathias Baptista, chefe do grupo de Oncologia Ortopédica do IOT HC FMUSP, “herdeiro do trono” que também, além do auxílio e orientação desde a prática profissionalizante, mestrado e agora doutorado, tem sido um grande amigo e exemplo de profissional e ser humano.

À Dra. Cláudia Regina Gomes Mendes Cardim de Oliveira, Chefe do Serviço de Anatomia Patológica do IOT HC FMUSP, pela aprovação e liberação no laboratório para nossa pesquisa.

À Dra Jerúsia Ibiapina, médica patologista da Associação Piauiense de Combate ao Câncer Alcenor Almeida em Teresina – Piauí, pela sugestão do tema, ajuda e orientação no preparo dos blocos de parafina e encaminhamento para imuno-histoquímica; pela paciência comigo e contribuição nos métodos desta tese. Muito obrigado!

À Sra. Leide Salomão, que, com muita paciência, teve uma importante contribuição no período inicial de preparo de documentos até a aprovação do projeto de pesquisa na comissão científica.

Às Sras. Tania Borges e Rosana Costa, secretárias da pós-graduação, pelo auxílio constante e pelas orientações até o presente momento.

Aos Srs. Sérgio Antônio Barbosa do Nascimento e Marcelo Bispo de Lacerda, pela ajuda do no Serviço de Anatomia Patológica do IOT HC FMUSP na separação de todos os blocos e orientação logística.

A todos os funcionários do Serviço Médico Estatístico e ambulatório do IOT HC FMUSP, que, com muita paciência, me ajudaram na busca e seleção dos prontuários.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. *Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP*; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora; Maria Claudia Pestana; Maria Cristina Cavarette Dziabas; Eliana Maria Garcia; Maria Fatima dos Santos, Maria Marta Nascimento; Suely Campos Cardoso. 3a ed. ed. amp. mod. São Paulo: SIBI/USP. 2016. (Caderno de estudos).

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

RESUMO

Ribeiro MB. Análise imuno-histoquímica por Ki67 e IDH1 em pacientes com condrossarcoma [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Introdução: Dentre os principais tumores ósseos, o condrossarcoma apresenta um largo espectro de achados clínicos e anatomopatológicos. Pode ser tanto primário, aparentemente originários de um osso normal, ou secundário a algum tumor cartilaginoso benigno pré-existente, muito frequentemente, a osteocondromatose hereditária múltipla e a encondromatose. O pico de incidência do condrossarcoma primário é da 5^a a 7^a décadas de vida. Já o secundário acomete indivíduos mais jovens entre 3^a e 4^a décadas de vida. O diagnóstico baseia-se na combinação de dados clínicos, imagem e histopatológico. O tratamento varia de acordo com o grau histológico, sendo predominantemente cirúrgico. **Objetivos:** Fazer uma avaliação imuno-histoquímica usando os marcadores IDH1 e Ki67 em pacientes que fizeram tratamento por condrossarcoma. **Metodos:** Estudo retrospectivo, analítico e observacional em prontuários de pacientes com diagnóstico de condrossarcoma. Além do perfil epidemiológico e clínico, foram avaliadas variáveis importantes para o prognóstico e a correlação com resultados da análise imuno-histoquímica com os marcadores Ki67 e IDH1. **Resultados:** Seguindo os critérios de inclusão ao final do levantamento dos prontuários, tivemos 83 casos, destes, 27 foram excluídos, restando 56 pacientes. Quanto ao gênero, 52% foram sexo feminino e a faixa etária entre 20 e 60 anos mais prevalente. Os subtipos histológicos graus 1 e 2 corresponderam a maioria. O fêmur, úmero e tibia foram os sítios anatômicos mais frequentes. A maioria dos tumores, 59%, tinham mais de 8 cm. O Ki67 teve muito baixa expressão (<10%) em 98% dos pacientes. Já a análise do IDH1 foi positiva em 43% dos casos. A correlação entre a positividade do IDH1 e o tamanho do tumor foi estatisticamente significativa, já em relação à sobrevida, não houve significância. **Conclusão:** A análise por imuno-histoquímica usando os marcadores IDH1 e Ki67 em pacientes com condrossarcoma convencional não é útil para orientação prognóstica.

Palavras-chave: Condrossarcoma. Imuno-histoquímica. Prognóstico.

ABSTRACT

Ribeiro MB. Immunohistochemical analysis by Ki67 and IDH1 in patients with chondrosarcoma [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

Introduction: Among the main bone tumors, chondrosarcoma has a wide spectrum of clinical and anatomopathological findings. It can be either primary, apparently originating from normal bone, or secondary to some pre-existing benign cartilaginous tumor, most commonly multiple hereditary osteochondromatosis and enchondromatosis. The peak incidence of primary chondrosarcoma is in the 5th to 7th decades of life. Secondary affects younger individuals between the 3rd and 4th decades of life. The diagnosis is based on a combination of clinical, imaging and histopathological data. Treatment varies according to histological grade, being predominantly surgical. **Objectives:** To perform an immunohistochemical evaluation using the markers IDH1 and Ki67 in patients who underwent treatment for chondrosarcoma. **Methods:** Retrospective, analytical and observational study in medical records of patients diagnosed with chondrosarcoma. In addition to the epidemiological and clinical profile, important variables for prognosis and correlation with immunohistochemical analysis results with Ki67 and IDH1 markers were evaluated. **Results:** Following the inclusion criteria at the end of the chart survey, we had 83 cases, of which 27 were excluded, leaving 56 patients. As for gender, 52% were female and the age group between 20 and 60 years was more prevalent. Grade 1 and 2 histological subtypes corresponded to the majority. The femur, humerus and tibia were the most frequent anatomical sites. Most tumors, 59%, were larger than 8 cm. Ki67 was very low expression (<10%) in 98% of patients. The analysis of IDH1 was positive in 43% of the cases. The correlation between IDH1 positivity and tumor size was statistically significant, while in relation to survival, there was no significance. **Conclusion:** Immunohistochemical analysis using IDH1 and Ki67 markers in patients with conventional chondrosarcoma is not useful for prognostic guidance.

Keywords: Chondrosarcoma; Immunohistochemistry; Prognosis.

LISTA DE TABELAS

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tabela 1 - | Correlação entre a positividade do IDH1 e o tamanho do tumor | 33 |
| Tabela 2 - | Correlação entre positividade do IDH1 e subtipo de condrossarcoma | 33 |
| Tabela 3 - | Correlação entre a positividade do IDH1 e a sobrevida livre de recidivas em 10 anos | 34 |
| Tabela 4 - | Correlação entre a positividade do IDH1 e o sítio anatômico do tumor..... | 34 |
| Tabela 5 - | Correlação entre o subtipo histológico e o sítio anatômico do tumor..... | 34 |
| Tabela 6 - | Correlação entre o subtipo histológico e a sobrevida livre de doença em anos | 35 |
| Tabela 7 - | Frequência quanto ao tipo de cirurgia realizada | 35 |
| Tabela 8 - | Correlação quanto ao tipo de cirurgia e resultado da análise de IDH1 | 36 |
| Tabela 9 - | Correlação quanto ao tipo de cirurgia e o tamanho do tumor..... | 36 |
| Tabela 10 - | Correlação quanto ao tipo de cirurgia e o óbito pela doença..... | 36 |
| Tabela 11 - | Correlação quanto ao resultado da análise da IDH1 e o óbito pela doença..... | 37 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1 - Distribuição quanto ao ano do diagnóstico..... | 30 |
| Gráfico 2 - Distribuição quanto ao gênero | 31 |
| Gráfico 3 - Distribuição quanto à faixa etária em anos | 31 |
| Gráfico 4 - Distribuição quanto ao subtipo histológico de condrossarcoma..... | 31 |
| Gráfico 5 - Distribuição quanto ao local anatômico..... | 32 |
| Gráfico 6 - Distribuição quanto ao tamanho do tumor..... | 32 |
| Gráfico 7 - Percentual de positividade do IDH1 total | 32 |
| Gráfico 8 - Percentual de Ki67 total..... | 33 |
| Gráfico 9 - Recidiva sistêmica em 10 anos | 33 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------|---|
| CSS | Sobrevivência ao Câncer |
| EMC | Condrossarcoma Mixoide Extraesquelético |
| IDH1 | Isocitrato Desidrogenase tipo 1 |
| IOT-HCFMUSP | Instituto de Ortopedia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo |
| LMA | leucemia mieloide aguda |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| OS | Sobrevida Global |
| RM | Ressonância Magnética |
| RT | Radioterapia |
| SEER | <i>Surveillance, Epidemiology and end Results</i> |
| SMC | Condrossarcoma Mixoide Esquelético |
| TC | Tomografia computadorizada |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 12 |
| 1.1 | O condrossarcoma | 12 |
| 1.2 | A imuno-histoquímica | 13 |
| 1.3 | A isocitrato desidrogenase- IDH1 | 13 |
| 1.4 | O Ki67 | 15 |
| 2 | OBJETIVOS | 17 |
| 2.1 | Objetivo primário | 17 |
| 2.2 | Objetivos secundários | 17 |
| 3 | REVISÃO DA LITERATURA | 19 |
| 4 | CASUÍSTICA E MÉTODOS | 25 |
| 4.1 | Critérios de inclusão | 25 |
| 4.2 | Critérios de exclusão | 25 |
| 4.3 | Levantamento de prontuário | 25 |
| 4.4 | Análise estatística | 25 |
| 4.5 | Método para avaliar o anticorpo IDH1 | 26 |
| 4.6 | Método para avaliar o anticorpo Ki67 | 27 |
| 5 | RESULTADOS | 30 |
| 6 | DISCUSSÃO | 39 |
| 7 | CONCLUSÃO | 45 |
| | REFERÊNCIAS | 47 |
| | ANEXOS | 52 |
| | ANEXO A - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP | 52 |
| | ANEXO B - Registros dos pacientes no laboratório de anatomia patológica do IOT com diagnóstico e condrossarcoma no período de 2000-2010 | 57 |
| | ANEXO C - Registro dos pacientes com diagnóstico e condrossarcoma no período de 2000-2010 no Serviço de Arquivo Médico Estatístico e ambulatório de IOT HC FMUSP com diagnóstico e condrossarcoma no período de 2000-2010 | 59 |

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 O condrossarcoma

O condrossarcoma é um tumor ósseo maligno caracterizado pela formação de cartilagem pelas células tumorais. Distingue-se do condroma pela sua alta celularidade e maior pleomorfismo, e pelo apreciável número de células pulposas com núcleos grandes ou duplos (Schajowicz et al., 2000).

Apresenta um amplo espectro de características clínico-patológicas e comportamentos biológicos, e podem se observar diversas variantes distintas, além do condrossarcoma central convencional, mais comum. Podem ser tanto primários, aparentemente originários de um osso normal, ou secundários a algum tumor cartilaginoso benigno pré-existente, muito frequentemente, a osteocondromatose hereditária múltipla e a encondromatose (Schajowicz et al., 2000).

Segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) em 2020, os condrossarcomas foram divididos em 8 subtipos (Choi et al., 2021):

Tipo 1 - Tumor cartilaginoso atípico / condrossarcoma grau 1;

Tipo 2 - Condrossarcoma secundário periférico;

Tipo 3 - Condrossarcoma central, graus 2 e 3;

Tipo 4 - Condrossarcoma periférico secundário, graus 2 e 3;

Tipo 5 - Condrossarcoma periosteal;

Tipo 6 - Condrossarcoma de células claras;

Tipo 7 - Condrossarcoma mesenquimal;

Tipo 8 - Condrossarcoma indiferenciado.

O pico de incidência do condrossarcoma primário vai da 5ª a 7ª décadas de vida. Já o secundário acomete indivíduos mais jovens entre 3ª e 4ª décadas de vida. A clínica não se correlaciona com o grau ou o tamanho da lesão (Jesus-Garcia et al., 2013).

Radiologicamente a lesão é geralmente lítica e pode conter pontos de calcificação intralesional e espessamento da cortical. Histologicamente, se apresenta como uma das mais difíceis ao diagnóstico para o patologista, pois o critério de diferenciação entre o condrossarcoma de baixo grau e o condroma é incerto. O diagnóstico baseia-se na combinação de dados clínicos, imagem e histopatológico (Penna et al., 1996).

A biópsia, na maioria das vezes, só se presta para confirmar que se trata de uma lesão cartilaginosa. Não é totalmente confiável para definir o grau de malignidade das lesões in vivo, pois o tumor pode apresentar áreas com graus histológicos diferentes em alguns casos (Camargo et al., 2002).

Na análise anatomopatológica, a coloração de rotina empregada é a hematoxilina eosina, sendo a imuno-histoquímica pouco utilizada (Camargo et al., 2012).

O tratamento varia de acordo com o grau histológico, sendo, predominantemente, cirúrgico. São tumores resistentes à radioterapia e quimioterapia, usada somente nos casos de alto grau (Prospero, 2001).

1.2 A imuno-histoquímica

A imuno-histoquímica surgiu com as pesquisas em imunopatologia que começaram na década de 1940. Só a partir de 1974, quando foi possível demonstrar alguns antígenos tissulares pela técnica de imunoperoxidase em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina, é que a imuno-histoquímica foi aceita como um método simples e prático na rotina diagnóstica de patologia cirúrgica. O desenvolvimento de anticorpos monoclonais, que propiciaram uma enorme fonte de reagentes altamente específicos para a demonstração de vários antígenos tissulares ou celulares, e o advento da recuperação antigênica foram fatos marcantes na evolução da imuno-histoquímica (Werner et al., 2005).

As reações imuno-histoquímicas podem ser utilizadas nas mais diferentes situações dentro de um laboratório de patologia cirúrgica. As mais importantes são (Werner et al., 2005):

- 1) elucidação do tecido de origem de uma neoplasia indiferenciada;
- 2) determinação do órgão de origem de uma neoplasia diferenciada;
- 3) subclassificação de linfomas;
- 4) pesquisa de fatores prognósticos, terapêuticos e índices proliferativos de algumas neoplasias;
- 5) identificação de estruturas, organismos e materiais secretados pelas células;
- 6) detecção de células neoplásicas metastáticas.

1.3 A isocitrato desidrogenase – IDH1

Isocitrato desidrogenase é uma enzima que está incluída no ciclo do ácido cítrico, especificamente na terceira etapa do ciclo – a descarboxilação oxidativa do ácido isocítrico,

tendo como produto alfa-cetogluturato e dióxido de carbono, convertendo NAD para sua forma reduzida: NADH. Esse é um processo em duas fases em que ocorre primeiro a oxidação do isocitrato para oxalosuccinato seguida da descarboxilação do grupo carboxila da cetona, formando o alfa-cetogluturato momento (Dalpai; Barschak, 2018).

O ciclo de Krebs, também chamado de ciclo do ácido cítrico (ou ciclo dos ácidos tricarboxílicos), é uma via metabólica central que ocorre dentro da mitocôndria, cuja função principal é fazer a degradação oxidativa de metabólitos que fornecem energia para a célula, além de ter caráter anfibólico (tanto participa do catabolismo quanto do anabolismo). Significa que moléculas grandes são quebradas em outras menores para a liberação de energia na forma de ATP (CATABOLISMO). Ao mesmo tempo, o ciclo também fornece moléculas precursoras para a biossíntese de moléculas maiores, de acordo com a necessidade da célula em um determinado momento (Dalpai; Barschak, 2018).

O ciclo de Krebs é regulado, basicamente, em 3 pontos, quando as seguintes enzimas são ativadas ou inibidas:

- a) citrato sintase: inibida por citrato;
- b) isocitrato desidrogenase: inibida por NADH, e ativada por Ca^{2+} e ADP;
- c) alfa-cetogluturato desidrogenase: inibida por NADH e succinil-CoA; ativada por Ca^{2+} .

De uma forma geral, quando há atividade celular intensa, há mais ADP do que ATP e mais NAD^+ do que NADH na célula; então, há estímulo ao funcionamento de todo o ciclo de Krebs para mais produção de ATP, FADH_2 e NADH (Dalpai; Barschak, 2018).

As mutações no isocitrato enzimas desidrogenase 1/2 (IDH1/2) foram recentemente descritas em várias neoplasias, incluindo condrossarcomas convencionais e desdiferenciados. Essas mutações representam uma nova anormalidade genética no condrossarcoma, indicando um papel potencial para estudos na função IDH na patogênese dessa neoplasia. As mutações do IDH levam à incapacidade de IDH para converter isocitrato em α -cetogluturato (α -KG). Em vez disso, α -KG é reduzido em D 2-hidroxiglutarato (D-2HG), um oncometabolito. As mutações IDH demonstraram iniciar a tumorigênese por D-2HG atuando como um inibidor competitivo dos receptores dependentes de α -KG dioxygenases envolvidas no DNA e desmetilação das histonas. A hipermetilação resultante afeta a expressão gênica e a diferenciação celular, promovendo a formação de tumores. No entanto, até o momento, não há evidências fortes que impliquem alterações epigenéticas na tumorigênese por condrossarcoma (Li, 2019).

1.4 O Ki67

O Ki-67 é uma proteína nuclear e tem sua utilização como um marcador de proliferação celular. O percentual de células positivas para Ki67 pode ser usado para estratificar pacientes como de bom prognóstico ou grupos de mal prognóstico. O anticorpo monoclonal MIB-1 reconhece o Ki67, e pode ser usado em peças fixas em formalina ou em seções do tecido de blocos de parafina (Buitrago et al., 2011).

A proteína Ki67 é universalmente expressa entre as células em proliferação e ausente em células em repouso, o que levou à maior avaliação do Ki67 como um marcador de proliferação. Embora pouco se saiba sobre a função exata da proteína na divisão celular, Ki67 é expressa durante as fases do ciclo celular com um pico durante a mitose (Buitrago et al., 2011).

O Ki67 pode ser considerado como um fator de proliferação facilmente avaliado e reprodutível e pode ser uma alternativa ou um complemento ao grau histológico como uma ferramenta de prognóstico e para a seleção de tratamento adjuvante (Buitrago et al., 2011).

Existem muitos marcadores de proliferação, mas o Ki67 tem um preço acessível, uma técnica de fácil avaliação e reprodutível, e tem a vantagem de que ele pode ser avaliado em blocos de parafina de material do tumor (Buitrago et al., 2011).

A proteína Ki67 tem sido amplamente utilizada como marcador de proliferação de células tumorais humanas há décadas. Em estudos recentes, várias funções moleculares dessa grande proteína tornaram-se mais bem compreendidas. (Kaufman, 2018).

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS-

2.1 Objetivo primário

Fazer uma avaliação por imuno-histoquímica usando os marcadores IDH1 e Ki67 em pacientes que fizeram tratamento por condrossarcoma no serviço de Oncologia Ortopédica do Instituto de Ortopedia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (IOT HCFMUSP) no período de 2000 a 2010 para se verificar se estes marcadores são úteis na avaliação prognóstica desta doença.

2.2 Objetivos secundários

Correlacionar os subtipos de condrossarcoma com o perfil imuno-histoquímico tentando padronizar marcadores de maior risco em doença avançada, metástases e percentuais de expressão.

Verificar se existe correlação entre o resultado dos exames imuno-histoquímicos com o local anatômico, o tamanho do tumor, o subtipo histológico, a idade, o gênero, o tipo de cirurgia realizada, a recidiva sistêmica e o óbito.

Buscar estabelecer padrões de positividade dos marcadores que possam ser úteis para guiar estudos clínicos futuros para terapia alvo principalmente na presença de mutações IDH1.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

Vuong et al. (2021) em meta-análise recente, analisaram os principais artigos e mostram as características distintas dos condrossarcomas com mutação IDH1 em comparação com aqueles sem mutações. Essas mutações podem servir como biomarcadores de prognóstico independente ajudando a melhorar os resultados do tratamento dos pacientes, bem como, planos de terapia específica alvo.

Zhu et al. (2020) analisaram as mutações IDH1 e concluíram que estão associadas a uma maior sobrevida livre de recidivas e metástases em condrossarcomas de alto grau.

Li et al. (2020), em descobertas recentes, demonstram que o IDH1 mutante desempenha um papel vital na formação de condrossarcoma por meio da ativação aberrante de integrinas. Em estudo das mutações do IDH1, sugeriram que a aplicabilidade e identificação da mutação pode ser um novo modelo de alvo para a terapia em pacientes com condrossarcoma.

Cojocarú et al. (2020), em estudos genômicos, demonstraram que 50 a 80% dos condrossarcomas abrigam uma mutação no gene IDH1. Os inibidores da IDH1 estão, atualmente, sob investigação em ensaios clínicos.

Amer et al. (2020) analisaram as características demográficas, clínicas, de incidência e tumorais de todos os cinco subtipos conhecidos de condrossarcoma não convencional, as diferenças de sobrevida de 1,5 ano e mediana entre esses subtipos e as diferenças demográficas e variáveis clínicas são indicadores prognósticos significativos para cada subtipo de condrossarcoma.

Wang et al. (2019) analisam o prognóstico de pacientes com condrossarcoma em uma coorte especial e identificaram possíveis fatores prognósticos. Concluíram que, entre os pacientes com condrossarcoma primário de osso e metástase na apresentação; baixo grau tumoral, tratamento cirúrgico, tamanho do tumor < 10 cm e primeiro tumor primário predizem sobrevida prolongada.

Van Maldegem et al. (2019) coletaram dados retrospectivamente de pacientes em quatro centros de tratamento para sarcoma e compararam a sobrevida livre de progressão para os diferentes regimes de tratamento usados para os quatro subtipos de condrossarcoma. Concluíram que alguns regimes de tratamento parecem ter uma melhor sobrevida livre de progressão em comparação com outros, e que esses resultados também diferem entre os subtipos de condrossarcoma.

Lugowska et al. (2018) mostraram que o *status* de IDH1 é um biomarcador emergente no contexto de condrossarcomas. A presença de uma mutação IDH1 pode levar a um tratamento

personalizado em condrossarcomas e esse *status* estaria correlacionado com uma sobrevida livre de recidiva e sem metástases em condrossarcomas de alto grau, mas o impacto na sobrevida global requer uma avaliação mais aprofundada.

Nie et al. (2018) demonstraram em estudo que ano do diagnóstico, gênero, idade do diagnóstico, estágio, grau, local do tumor, cirurgia e radiação são fatores de risco independentes para sobrevivência. Embora os pacientes e os fatores relacionados ao tumor não possam ser alterados, o tratamento pode ser alterado ou adaptado para obter melhores resultados.

Fromm et al. (2018) mostraram que a base da terapia no condrossarcoma continua sendo a cirurgia. Fatores de risco, como classificação, doença metastática, idade e localização, influenciam significativamente a sobrevida global.

Polychronidou et al. (2017) mostraram que as pesquisas, atualmente, se concentram em elucidar os eventos moleculares subjacentes à patogênese dessa rara neoplasia óssea, com o objetivo de desenvolver novas terapias direcionadas molecularmente. Mutações no IDH1, presentes em mais de 50% dos condrossarcoma primários convencionais, tornam o desenvolvimento de inibidores do IDH uma opção de tratamento promissora.

Liu et al. (2017) em análise de prognóstico geral verificaram que o tempo médio de sobrevida geral foi de nove meses; 17,4% dos pacientes sobreviveram a cinco anos, a localização óssea axial, metástase pulmonar ao diagnóstico, margem cirúrgica inadequada, diagnóstico incorreto antes da cirurgia e fraturas patológicas estiveram relacionados à pior evolução.

Chen et al. (2017) identificaram mutações em IDH1 que se mostraram importantes para o diagnóstico diferencial do condrossarcoma desdiferenciado e do sarcoma pleomórfico do osso, além de fornecer algumas dicas sobre a patogênese dessas duas lesões.

Cleven et al. (2017) sugerem que as mutações de IDH1 e as mudanças epigenéticas resultantes são apenas importantes para o início do encondroma.

De Andrea et al. (2017) em análise de tumores cartilagosos do osso verificaram que os critérios para distinguir entre benigno e maligno são diferentes dependendo da idade, a presença de lesões múltiplas e a localização do tumor. Alterações moleculares que podem ser usadas para o diagnóstico incluem alterações de IDH1 (R132C; R132H) em encondromas, tumor cartilaginoso atípico/condrossarcoma central de grau 1, grau 2/3 condrossarcoma central e condrossarcoma desdiferenciado; e genes de fusão HEY-NCOA2 em condrossarcoma mesenquimal.

Nota et al. (2015) mostraram que há necessidade de estudos prospectivos e comparativos identificando fatores e tratamentos que possam influenciar a sobrevida destes pacientes. Pacientes com condrossarcoma central, condrossarcoma de alto grau e o condrossarcoma desdiferenciado parecem ser bons candidatos para estudos futuros explorando melhores opções de tratamento devido ao seu pior prognóstico.

Kim et al. (2015) mostram em estudo observacional que a idade mais avançada, no início da recorrência local, e o intervalo mais curto entre a primeira cirurgia e a recidiva identificam pacientes de alto risco para pior sobrevida, enquanto margens cirúrgicas amplas, na cirurgia inicial, reduzem o risco de recidiva local.

Bindiganavile et al. (2014) mostraram que o tipo histológico foi significativamente associado ao desfecho de condrossarcoma. Para o tipo convencional, o grau histológico e a localização anatômica previram o resultado, com o alto grau com a localização axial tendo o pior resultado.

Duchman et al. (2014) com a análise das estimativas de sobrevivência, forneceram informações valiosas e, com relação ao condrossarcoma, informações otimistas para o médico e o paciente igualmente. Embora cada ano de sobrevivência prenuncie uma melhoria no prognóstico, independentemente do estágio, do grau, da localização e da idade do paciente, o risco de mortalidade por causa específica ainda existe até 10 anos após o diagnóstico. Essas descobertas podem ajudar a aconselhar os pacientes sobre seu prognóstico de forma temporal, bem como orientar, em longo prazo, a vigilância em pacientes com condrossarcoma.

Angelini et al. (2012) analisam a sobrevida, recorrência local, taxas de metástase entre os três graus histológicos de condrossarcoma, e se o tipo de tratamento e o local do tumor influenciaram o prognóstico para cada grau histológico. Concluíram que o condrossarcoma central convencional com grau baixo/intermediário tem bom prognóstico, enquanto os tumores de alto grau têm pior evolução. As recidivas tumorais estão estritamente relacionadas com o grau histológico.

Amary et al. (2011), em descobertas na biologia, genética e epigenética dos condrossarcomas convencionais, avançaram significativamente nossa compreensão da patobiologia desses tumores e oferecem uma visão dos possíveis alvos terapêuticos, os quais são aguardados com grande expectativa. Mutações somáticas na isocitrato desidrogenase 1 ocorrem em gliomas e leucemia mieloide aguda (LMA). Uma vez que foi relatado ocasionalmente que pacientes com múltiplos encondromas apresentavam essas condições, formularam a hipótese de que as mesmas mutações ocorreriam em neoplasias cartilaginosas. As mutações foram detectadas em condrossarcomas centrais convencionais e desdiferenciados,

em pacientes com neoplasias solitárias e múltiplas. Nenhuma mutação foi detectada em condrossarcomas e osteocondromas periféricos. Concluíram que as mutações IDH1 e IDH2 representam as primeiras anormalidades genéticas comuns a serem identificadas em tumores cartilagosos centrais e periosteais convencionais.

Giuffrida et al. (2009) mostraram que apenas o grau histológico e o estadiamento são fatores prognósticos independentes para sobrevida em casos de condrossarcoma. Os algoritmos de tratamento atuais não melhoraram as taxas de sobrevivência de pacientes com condrossarcoma nos últimos trinta anos. A vigilância de rotina do paciente após o tratamento deve ser estendida para dez anos de acompanhamento.

Gelderblom et al. (2008) avaliaram por estudos recentes que os achados da genética molecular poderiam melhorar a compreensão da biologia do condrossarcoma. Novos alvos terapêuticos são desesperadamente necessários. Neste artigo de revisão, exploram ensaios clínicos em andamento avaliando novas maneiras de tratar condrossarcoma convencional avançado.

Etchebere et al. (2005) avaliaram a evolução oncológica de portadores de condrossarcomas grau I de acordo com o tipo de tratamento cirúrgico efetuado. Mostraram que existe controvérsia em relação à necessidade de ressecções agressivas para obtenção de uma evolução clínica favorável. Sugerem que os procedimentos cirúrgicos menos agressivos são seguros para o tratamento dos pacientes com condrossarcoma grau I.

Ahmed et al. (2003) mostraram que o risco de mudança sarcomatosa é baixo em pacientes com exostoses solitárias e múltiplas. O prognóstico parece ser melhor para os pacientes com condrossarcoma secundário do que com pacientes com condrossarcoma primário. O prognóstico é pior para pacientes com tumores de grau 2, tumores no tronco, exostoses múltiplas, locais recorrências e metástases. Os resultados do estudo mostraram que a excisão primária ampla é o tratamento de escolha para o condrossarcoma secundário. A excisão marginal leva a uma alta taxa de recorrência. A maioria das recorrências aparece nos primeiros cinco anos. Tumores recorrentes em o tronco podem se tornar inoperáveis e são os principais causadores de morte. A metástase é rara.

Brien et al. (1999) avaliaram as apresentações clínicas variadas, patogênese, achados histológicos, achados radiológicos e tratamento de lesões cartilaginosas intramedulares do osso. Enfatizaram que a patogênese em conjunto com os achados radiográficos e histológicos influenciaram no diagnóstico e tratamento, subsequentes armadilhas podem ser evitadas em tais casos.

Bjornsson et al. (1998) descreveram os perfis clínico-patológicos de 344 pacientes com condrossarcoma primário vistos em uma instituição por um período de 80 anos. O grau histológico do tumor foi um importante preditor de recorrência local e metástase. Com intervenção cirúrgica inicial adequada, o condrossarcoma é, principalmente, uma doença local com baixa taxa de metástase.

Antonescu et al. (1998) comentaram que o condrossarcoma mixoide esquelético é considerado um condrossarcoma típico com alterações mixoides proeminentes ou um tumor maligno de cartilagem totalmente único. Descobertas fundamentais foram observadas nos níveis ultraestrutural e molecular.

Nawa et al. (1996) analisaram Ki67 por coloração histoquímica mostrando que se tratou de um procedimento útil para avaliar o grau do tumor em condrossarcomas, especialmente para determinar o prognóstico de pacientes com condrossarcomas de grau II.

Scotlandi et al. (1995) analisaram tumores ósseos por Ki67, concluindo que parece estar relacionado à agressividade biológica e ao nível de malignidade, podendo ser útil para o diagnóstico e prognóstico destes pacientes. Em particular, no osteossarcoma de alto grau, o Ki67 pode representar um marcador útil para a previsão do resultado do paciente e, possivelmente, para a seleção de regimes terapêuticos diferenciais.

Evans et al. (1977) descreveram que o objetivo ideal para o planejamento cirúrgico inicial em condrossarcoma deve ser a remoção completa de o tumor primário. As descobertas apresentadas indicaram que o controle local é suficiente para a cura em condrossarcoma de grau I e na maioria dos casos de condrossarcoma de grau II. No entanto, Grau III condrossarcoma, muitas vezes, mata por metástase, mesmo que um procedimento operatório apropriadamente radical foi realizado e o controle local foi alcançado.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi cadastrado e aprovado pelo comitê de ética e pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina Universidade de São Paulo e devidamente inscrito na Plataforma Brasil e pela Comissão de Ética para análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq (Anexo A).

4.1 Critérios de inclusão

Todos os pacientes com diagnóstico anatomopatológico de condrossarcoma tratados no serviço de Oncologia Ortopédica do IOT HCFMUSP no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2010 (Anexo B).

Blocos de parafina disponíveis.

Seguimento clínico em 10 anos.

4.2 Critérios de exclusão

Prontuários de pacientes com perda de seguimento ambulatorial.

Blocos de parafina únicos no laboratório, não sendo possível usar pelo risco de perda.

Blocos de parafina apenas de biópsias.

4.3 Levantamento de prontuário

Com base nos livros do departamento de Anatomia Patológica do IOT HCFMUSP, foram selecionados todos os pacientes com diagnóstico de condrossarcoma no período mencionado. Anotados o número de lâmina, registro hospitalar e subtipo histológico. Após esta etapa, os dados clínicos foram coletados pelo prontuário hospitalar no SAME. A seguir, após exclusão daqueles pacientes sem dados suficientes no prontuário, iniciamos a nova etapa de seleção dos blocos de parafina para confecção de lâminas e coloração por imuno-histoquímica (Anexo C).

4.4 Análise estatística

Tratou-se de um estudo retrospectivo, analítico e observacional em prontuários de pacientes com diagnóstico de condrossarcoma. O “n” foi por conveniência.

Foram avaliados os seguintes dados: período do diagnóstico, idade, gênero, classificação histológica, tamanho do tumor, local no esqueleto, presença de metástases, sobrevida livre de doença a distância em dez anos, positividade para imuno-histoquímica IDH1 e Ki67.

As análises estatísticas foram realizadas no programa Epi Info versão 7.2.5.0. Foram calculadas as frequências simples de todas as variáveis estudadas. Todos do tipo categóricos e foram descritos por sua contagem e sua frequência relativa. Diversas associações foram realizadas para inferência estatística seguindo o objeto central nas associações com a IDH1 e o Ki67. Para a associação entre as variáveis categóricas, foi utilizado o teste Qui-quadrado de Pearson, e, quando adequados, os testes de Fisher ou de razão de verossimilhança para número de pequenos eventos observados e esperados menor (< 10). Foi aceito como erro do tipo I para diferenças estatisticamente significantes o valor de $p \leq 0,05$.

A positividade para do IDH1 (que marca a mutação desta enzima, neste estudo com clone R132H) foi correlacionada com o local anatômico, tamanho do tumor ($<$ ou $>$ que 8cm de acordo com **Amin et al., 2017**), gênero, faixa etária, subtipo histológico, tipos de cirurgia, recidiva sistêmica e óbito.

O percentual de Ki67 foi analisado tentando padronizar um *score* prognóstico a depender da significância estatística.

A análise da expressão de IDH1 e Ki67 foi realizada por duas patologistas de forma “cega”.

4.5 Método para avaliar o anticorpo IDH1

A pesquisa de IDH-1 foi realizada utilizando o kit Envision flex Dako® (K-800221) usado anticorpo IDH1-1 (clone: R132H) da marca Gene AB®.

Foi realizado processo de recuperação antigênica com o Pt-Link Dako® a 97°C durante 20 minutos e pH alto (1h 30 minutos para realizar aumento de temperatura e, depois, resfriamento), após serem retiradas do “Pt-Link”, as lâminas foram lavadas em solução “wash buffer” e colocadas no peróxido de hidrogênio 3% por 10 minutos seguindo para lavagem em solução “wash buffer” (3x) e deixadas repousar por 05 minutos. Após esse tempo, foi, então, realizada a vedação com a caneta hidrofóbica “Pap Pen, pingado (100ul) do anticorpo IDH-1 (clone: R132H) diluição 1/400 nas lâminas.

Foram, então, incubados por 60 minutos em temperatura ambiente. Após o período de 40 minutos, as lâminas foram lavadas com solução tampão (“wash buffer”) e pingados o “linker mouse” do kit da Dako® e incubado por 20 minutos. Após o período de 20 minutos, as lâminas

foram lavadas novamente com solução tampão (“wash buffer”) e pingado o polímero (HRP) Dako® por 25 minutos. Após o período de 25 minutos, foram lavadas com solução tampão (“wash buffer”), e, novamente, foi feita a revelação com DAB (1gt diamino-benzidino 01 ml de substrato) durante cinco minutos.

As lâminas foram lavadas com água deionizada ph 7,2 e contracoradas com Hematoxilina de Harris por 10 segundos. Após, foram mergulhadas na bateria de desidratação em 05 alcoóis absolutos e 05 xilóis.

As lâminas foram montadas utilizando meio de montagem resinoso da Dako® e lamínulas. Foi utilizado o IDH1 (clone: R132H), da marca Geneab®, e foi feita a diluição 1:400.

4.6 Método para avaliar o anticorpo Ki67

A pesquisa do Ki67 foi realizada automatizada, no equipamento Dako Omnis®, no qual o processo segue, inicialmente, com a remoção de parafina, a seguir, as lâminas são incubadas no “Clearify” a temperatura de 25°C durante 01 minuto e, após esse período, são lavadas com água deionizada, é feita, então, a recuperação antigênica em pH baixo a 97°C durante 30 minutos.

Após a recuperação antigênica, foi feita a lavagem com solução tampão (“wash buffer”) durante dois minutos e 40 segundos. As lâminas foram, então, incubadas no anticorpo primário Ki67 (MIB-1) da Dako® durante 30 min., após esse tempo, foi feita uma lavagem com “wash buffer” por dois minutos e aplicado o agente bloqueador com peroxidase e incubado por três minutos. Após os três minutos, foi feita outra lavagem com “wash buffer” por dois minutos e a aplicação do polímero (HRP); e as lâminas ficaram incubadas por 20 minutos. Foram, então, feitos dois ciclos de lavagem com “wash buffer” por dois minutos e de lavagem com água deionizada por 30 segundos. A seguir, foi feita mais uma lavagem com “wash buffer” por dois minutos e as lâminas foram incubadas na solução DAB (diamino Benzidino 01gt-01 ml de substrato) por cinco minutos, após o período de cinco minutos, foi feita uma lavagem com “wash buffer” por dois minutos e outra, com água deionizada por 30 segundos, e, depois, mais uma lavagem com “wash buffer” por dois minutos.

Depois, a lâminas foram contracoradas em hematoxilina Harris, no próprio equipamento, durante três minutos., lavadas com água deionizada por dois minutos e “wash buffer” também por dois minutos. Após, foram mergulhadas na bateria de desidratação em cinco alcoóis absolutos e cinco xilóis.

As lâminas foram montadas utilizando meio de montagem resinoso da Dako® e lamínulas.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Seguindo os critérios de inclusão, ao final do levantamento dos prontuários, tivemos 83 casos, destes, 27 foram excluídos, restando 56 pacientes.



Gráfico 1 - Distribuição quanto ao ano do diagnóstico

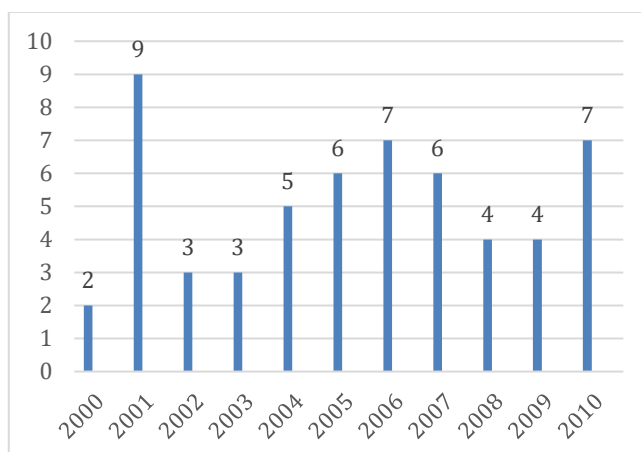


Gráfico 2 - Distribuição quanto ao gênero

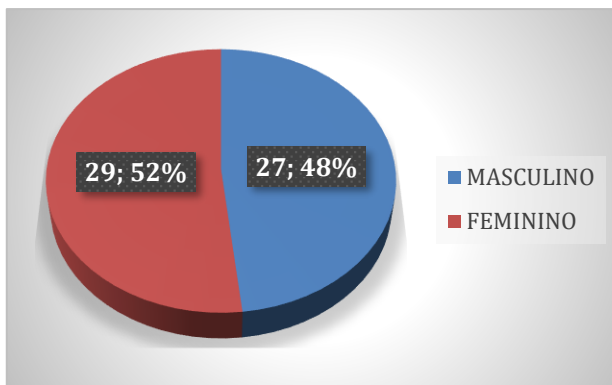


Gráfico 3 - Distribuição quanto à faixa etária em anos

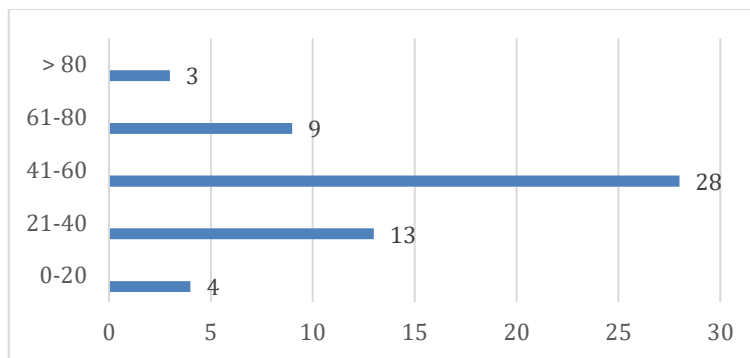


Gráfico 4 - Distribuição quanto ao subtipo histológico de condrossarcoma

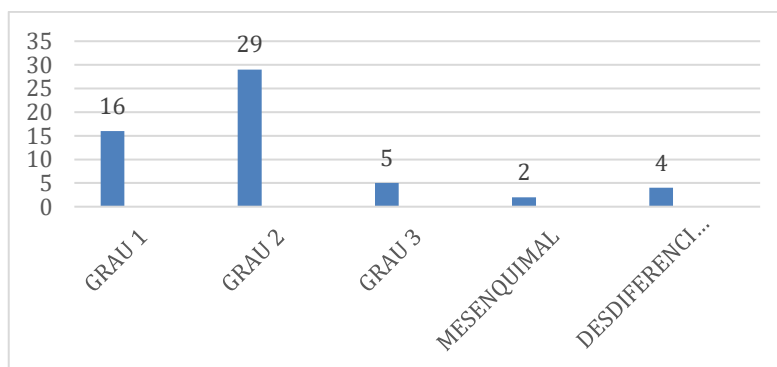


Gráfico 5 - Distribuição quanto ao local anatómico

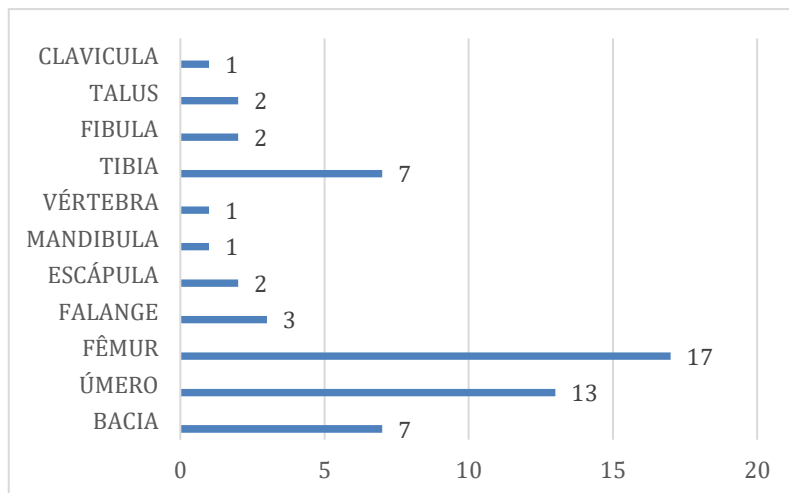


Gráfico 6 - Distribuição quanto ao tamanho do tumor

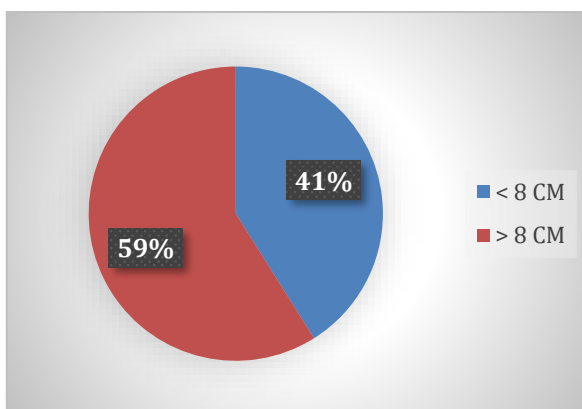


Gráfico 7 - Percentual de positividade do IDH1 total

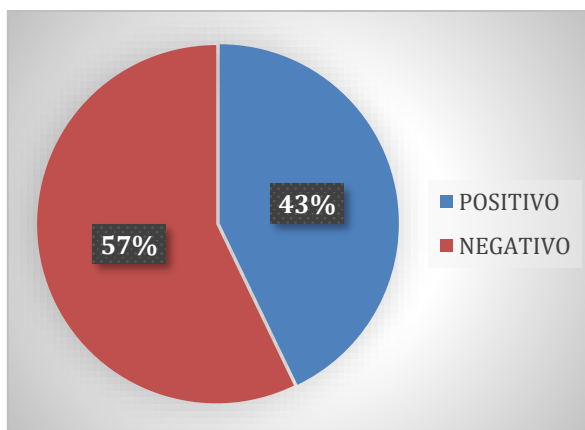
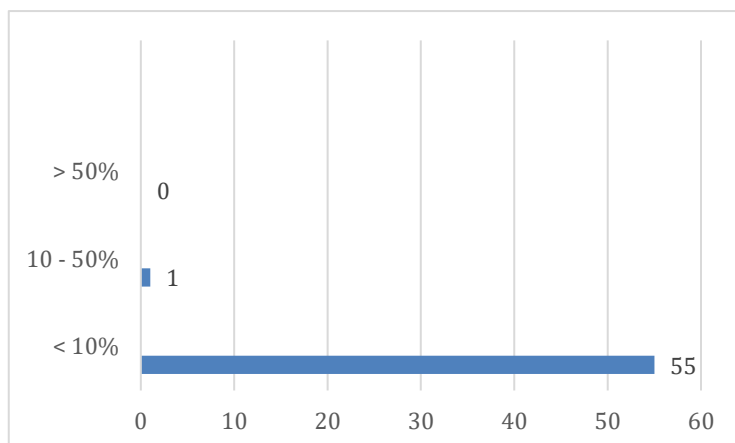
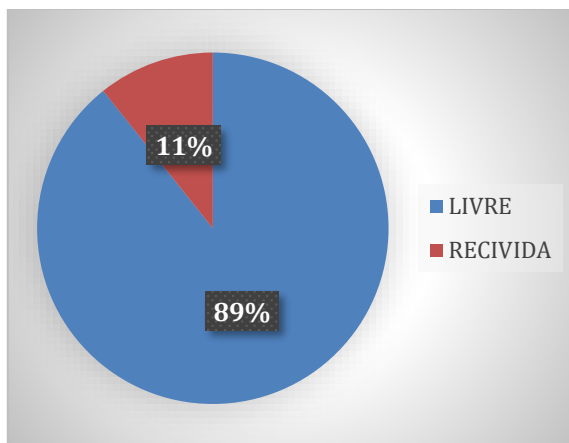


Gráfico 8 - Percentual de ki67 total**Gráfico 9 - Recidiva sistêmica em 10 anos****Tabela 1 - Correlação entre a positividade do IDH1 e o tamanho do tumor**

| IDH1 | Maior 8 | Menor 8 | Total |
|--------------|---------|---------|-------|
| Negativo | 13 | 19 | 32 |
| Positivo | 19 | 5 | 24 |
| TOTAL | 32 | 24 | 56 |

P < 0,004

Tabela 2 - Correlação entre positividade do IDH1 e subtipo de condrossarcoma

| IDH1 | Subtipos condrossarcoma | | | | | Total |
|--------------|-------------------------|----|----|----|----|-------|
| | DE | G1 | G2 | G3 | ME | |
| Negativo | 3 | 6 | 20 | 1 | 2 | 32 |
| Positivo | 1 | 10 | 9 | 4 | 0 | 24 |
| TOTAL | 4 | 16 | 29 | 5 | 2 | 56 |

P = 0,108 (G = GRAU 1, 2 ou 3; DE = Desdiferenciado; ME = Mesenquimal)

Tabela 3 - Correlação entre a positividade do IDH1 e a sobrevida livre de recidivas em 10 anos

| IDH1 | Sobrevida livre de doença 10 anos | | |
|----------|-----------------------------------|-----|-------|
| | Sim | não | Total |
| Negativo | 30 | 2 | 32 |
| Positivo | 20 | 4 | 24 |
| Total | 50 | 6 | 56 |

P = 0,233

Tabela 4 - Correlação entre a positividade do IDH1 e o sítio anatômico do tumor

| IDH1 | Sítio anatômico do condrossarcoma | | | | | | | | | | | | Total |
|----------|-----------------------------------|----------|---------|-------|--------|--------|-----------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|
| | Clavícula | Escápula | Falange | Fêmur | Fíbula | Ísqiio | Mandíbula | Pelve | Tálus | Tíbia | Úmero | Vértebra | |
| Negativo | 1 | 1 | 3 | 9 | 2 | 0 | 1 | 3 | 2 | 4 | 5 | 1 | 32 |
| Positivo | 0 | 1 | 0 | 8 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 3 | 8 | 0 | 24 |
| Total | 1 | 2 | 3 | 17 | 2 | 1 | 1 | 6 | 2 | 7 | 13 | 1 | 56 |

P = 0,445

Tabela 5 - Correlação entre o subtipo histológico e o sítio anatômico do tumor

| Subtipo Histológico | Sítio anatômico do tumor | | | | | | | | | | | | Total |
|---------------------|--------------------------|----------|---------|-------|--------|--------|-----------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|
| | Clavícula | Escápula | Falange | Fêmur | Fíbula | Ísqiio | Mandíbula | Pelve | Tálus | Tíbia | Úmero | Vértebra | |
| DE | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| G1 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 3 | 7 | 0 | 16 |
| G2 | 1 | 0 | 2 | 9 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 4 | 6 | 1 | 29 |
| G3 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| M | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| ME | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| TOTAL | 1 | 2 | 3 | 17 | 2 | 1 | 1 | 6 | 2 | 7 | 13 | 1 | 56 |

P < 0,0016 (G = GRAU 1, 2 ou 3; DE = Desdiferenciado; ME = Mesenquimal)

Tabela 6 - Correlação entre o local anatômico e a sobrevida livre de doença em anos

| Sítio Anatômico | Sobrevida livre de doença em 10 anos | | |
|-----------------|--------------------------------------|----------|-----------|
| | SIM | NÃO | Total |
| Clavícula | 1 | 0 | 1 |
| Escápula | 1 | 1 | 2 |
| Fêmur | 14 | 3 | 17 |
| Fíbula | 2 | 0 | 2 |
| Ísquio | 1 | 0 | 1 |
| Mandíbula | 1 | 0 | 1 |
| Pelve | 5 | 1 | 6 |
| Tálus | 2 | 0 | 2 |
| Tíbia | 6 | 1 | 7 |
| Úmero | 13 | 0 | 13 |
| Vértebral | 1 | 0 | 1 |
| Total | 50 | 6 | 56 |

P = 0,989

Tabela 7 - Frequência quanto ao tipo de cirurgia realizada

| Cirurgia | Frequência | Percentual |
|---|------------|----------------|
| Amputação | 4 | 7,14% |
| Ressecção ampla sem substituição | 4 | 7,14% |
| Ressecção intralesional com substituição | 24 | 42,86% |
| Ressecção ampla e substituição por endoprotese não convencional | 16 | 28,57% |
| Escapulectomia | 2 | 3,57% |
| Hemipelvectomy | 6 | 10,71% |
| Total | 56 | 100,00% |

Tabela 8 - Correlação quanto ao tipo de cirurgia e resultado da análise de IDH1

| Tipo de cirurgia | IDH1 | | Total |
|---|-----------|-----------|-----------|
| | Negativo | Positivo | |
| Amputação | 2 | 2 | 4 |
| Ressecção ampla Sem substituição | 4 | 0 | 4 |
| Ressecção intralesional com substituição | 14 | 10 | 24 |
| Ressecção ampla e substituição por endoprotese não convencional | 8 | 8 | 16 |
| Escapulectomia | 1 | 1 | 2 |
| Hemipelvectomy | 3 | 3 | 6 |
| TOTAL | 32 | 24 | 56 |

P = 0,60

Tabela 9 - Correlação quanto ao tipo de cirurgia e o tamanho do tumor

| TIPO DE CIRURGIA | TAMANHO DO TUMOR EM CM | | Total |
|---|------------------------|-----------|-----------|
| | > 8 CM | < 8 CM | |
| Amputação | 2 | 2 | 4 |
| Ressecção ampla sem substituição | 0 | 4 | 4 |
| Ressecção intralesional com substituição | 9 | 15 | 24 |
| Ressecção ampla e substituição por endoprotese não convencional | 14 | 2 | 16 |
| Escapulectomia | 2 | 0 | 2 |
| Hemipelvectomy | 5 | 1 | 6 |
| TOTAL | 32 | 24 | 56 |

P < 0,0025

Tabela 10 - Correlação quanto ao tipo de cirurgia e o óbito pela doença

| TIPO DE CIRURGIA | OBITO | | Total |
|---|-----------|----------|-----------|
| | NÃO | SIM | |
| Amputação | 2 | 2 | 4 |
| Ressecção ampla sem substituição | 4 | 0 | 4 |
| Ressecção intralesional com substituição | 23 | 1 | 24 |
| Ressecção ampla e substituição por endoprotese não convencional | 15 | 1 | 16 |
| Escapulectomia | 1 | 1 | 2 |
| Hemipelvectomy | 5 | 1 | 6 |
| TOTAL | 50 | 6 | 56 |

P < 0,03

Tabela 11 - Correlação quanto ao resultado da análise da IDH1 e o óbito pela doença

| IDH1 | Óbito pela doença | | Total |
|--------------|--------------------------|----------|--------------|
| | N | S | |
| Negativo | 30 | 2 | 32 |
| Positivo | 20 | 4 | 24 |
| TOTAL | 50 | 6 | 56 |

P = 0,65

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O “padrão ouro” atual para a estudo de mutações de IDH1 em condrossarcoma é pela análise genética dos clones como cita Amary, et al. (2011) sendo uma das limitações deste estudo. Contudo, trata-se de um método de alto custo e pouco disponível na maioria dos serviços de referência em Oncologia. A análise de IDH1 por imuno-histoquímica já faz parte da rotina em diversas neoplasias. Em tumores do sistema nervoso central, inclusive, a positividade mostra bom prognóstico (Amary, et al., 2011).

Quanto ao nosso “n”, que inicialmente eram 83 pacientes e após os critérios de exclusão ficaram 56, sendo por conveniência inicialmente, no trabalho de Vuong et al. (2021) podemos observar a casuística da maioria dos estudos selecionados, e, comparando com o mesmo período, verificamos que a quantidade de casos de nosso trabalho reflete o cenário mundial. Assim como Etchebehere et al. (2005) que tiveram casuística semelhante comparando os períodos.

Os dados epidemiológicos e clínicos corroboram com quase todos os estudos incluídos, principalmente com os trabalhos de Vuong et al. (2021) e Etchebehere et al. (1999). Bjornsson et al. (1998) em grande estudo descreveram os perfis clínico-patológicos de 344 pacientes em uma instituição por um período de 80 anos. A idade média de apresentação foi de 46 anos. Também obtiveram resultados semelhantes aos nossos.

O Ki67 foi sugerido como marcador para análise em nossa pesquisa devido a sua já consagrada importância para estratificação como índice de proliferação celular em sarcomas, principalmente em tumores ósseos, em que parece estar relacionado à agressividade biológica e ao nível de malignidade, e pode ter utilidade no diagnóstico e prognóstico, como, por exemplo, no osteossarcoma de alto grau. Contudo, das 56 lâminas, em apenas uma, o índice foi maior que 30% e menor que 10% em 98% dos casos, inviabilizando a análise estatística e já concluindo sua baixa expressividade em pacientes com condrossarcoma. Dois estudos tiveram resultados semelhantes aos nossos: Söderström et al. (2010) e Scotlandi et al. (1995).

A baixa expressão do Ki67 pode ser útil para o diagnóstico diferencial, principalmente com o osteossarcoma, visto que neste, com frequência, há índices de proliferação alta. Scotlandi et al. (1995) mostram que, em tumores ósseos, o Ki67 parece estar relacionado à agressividade biológica e ao nível de malignidade, e pode ter diagnóstico e prognóstico útil, em particular, no osteossarcoma de alto grau.

Uma análise genética realmente seria necessária para avaliar o prognóstico como citam também diversos outros estudos: Zhu et al. (2020), analisando as mutações IDH1, concluíram que estão associadas a uma maior sobrevida livre de recidivas e metástases em condrossarcomas de alto grau. Lugowska et al. (2018) mostram que o *status* do IDH estaria correlacionado com uma sobrevida livre de recidiva e sem metástases em condrossarcomas de alto grau, mas o impacto na sobrevida global requer uma avaliação mais aprofundada.

Os inibidores de IDH estão, atualmente, sob investigação em ensaios clínicos, depois de mostrar resultados promissores em estudos de fase 1 em cânceres com mutação de IDH. No condrossarcoma, as mutações de IDH representam um alvo atraente, no entanto, os resultados iniciais com inibidores de IDH em condrossarcomas mutados de IDH são modestos e os resultados finais dos ensaios em andamento são aguardados com ansiedade. Amary et al. (2011), em descobertas recentes na biologia, genética e epigenética dos condrossarcomas convencionais, avançaram significativamente nossa compreensão da patobiologia desses tumores e oferecem uma visão dos possíveis alvos terapêuticos, os quais são aguardados com grande expectativa.

Muitos estudos já confirmaram esta associação e terapêuticas específicas baseadas em ensaios clínicos futuros podem ser estabelecidas. Li et al. (2020) e Cojocararu et al. (2020), em estudos genômicos, demonstraram que 50 a 80% dos condrossarcomas abrigam uma mutação no gene IDH1. Essas mutações no IDH1 representam um objetivo atraente para ensaios clínicos, visto que já existem terapêuticas alvo. A base do tratamento atual da doença localizada é a ressecção cirúrgica em bloco com intenção curativa; sendo que o condrossarcoma metastático tem um prognóstico sombrio e, até o momento, não há terapias sistêmicas eficazes comprovadas no cenário avançado.

A correlação entre a positividade do IDH1 e o tamanho do tumor foi estatisticamente significativa. Já quanto ao subtipo, local anatômico e sobrevida livre de doença em 10 anos, não houve significância. Nie et al. (2018) demonstraram, em estudo, que ano do diagnóstico, gênero, idade do diagnóstico, estágio, grau, local do tumor, cirurgia e radiação são fatores de risco independentes para sobrevivência. Embora os pacientes e os fatores relacionados ao tumor não possam ser alterados, o tratamento pode ser alterado ou adaptado para obter melhores resultados. Por exemplo, a excisão pode ser recomendada para tratar condrossarcoma para a maioria dos pacientes, enquanto a amputação pode não ser. A amputação, uma medida de ressecção completa, não pode melhorar os resultados de sobrevivência, como evidenciado pelo pior resultado de sobrevivência do que a excisão local e excisão radical neste estudo. Novos estudos devem ser feitos para se obter uma melhor estratégia de tratamento. Apesar das

limitações, este estudo incorporou muitos casos de condrossarcoma, aumentando a precisão dos resultados. Evans et al. (1977) descreveram que o objetivo ideal para o planejamento cirúrgico inicial em condrossarcoma deve ser a remoção completa do tumor primário. As descobertas apresentadas indicaram que o controle local é suficiente para a cura em condrossarcoma de grau I e na maioria dos casos de condrossarcoma de grau II.

Duchman et al. (2014), por análise das estimativas de sobrevivência, puderam fornecer informações valiosas e, com relação ao condrossarcoma, informações otimistas para o médico e o paciente igualmente. As altas taxas de sobrevivência do condrossarcoma de baixo grau implicam que os resultados funcionais de longo prazo são extremamente importantes porque a probabilidade de falha oncológica é baixa. Embora cada ano de sobrevivência prenuncie uma melhoria no prognóstico, independentemente do estágio, grau, localização e idade do paciente, o risco de mortalidade por causa específica ainda existe até 10 anos após o diagnóstico. Essas descobertas podem ajudar a aconselhar os pacientes sobre seu prognóstico de forma temporal bem como orientar, em longo prazo, a vigilância em pacientes com condrossarcoma.

Quanto aos objetivos secundários deste trabalho algumas variáveis mostraram significância estatística e resultados importantes quando se correlacionou com a literatura. Angelini et al. (2012) analisaram a sobrevida, recorrência local e taxas de metástase entre os três graus histológicos de condrossarcoma. Söderström et al. (2010) mostraram que, embora o grau histológico seja o fator prognóstico mais importante, o comportamento biológico do condrossarcoma não necessariamente se correlaciona com o histológico apenas, e pacientes diagnosticados como tendo tumores do mesmo grau podem ter diferentes cursos clínicos e respostas ao tratamento; concluindo que o tipo de tratamento e local do tumor influenciaram o prognóstico para cada grau histológico. Isso corrobora com nossos resultados quando comparamos o sítio anatômico e o tamanho dos tumores.

Em 11 % dos pacientes analisados em nosso estudo, houve recidiva da doença e óbito em média cinco anos após o diagnóstico. Van Maldegem et al. (2019) coletaram dados retrospectivamente de pacientes em quatro centros de tratamento para sarcoma e compararam a sobrevida livre de doença para os diferentes regimes de tratamento usados para os quatro subtipos de condrossarcoma. Neste estudo, os dados de 112 pacientes foram coletados. Concluiu-se que alguns regimes de tratamento parecem ter uma melhor sobrevida livre de progressão em comparação com outros, e que esses resultados também diferem entre os subtipos de condrossarcoma. Estudos prospectivos precisam ser conduzidos com base em trabalho pré-clínico para desenvolver um regime uniforme para tratar pacientes com condrossarcoma avançado de acordo com o subtipo histológico diagnosticado para melhorar

sua sobrevida. Nie et al. (2018) demonstram em estudo que gênero, idade no diagnóstico, grau histológico, local do tumor e tipo de cirurgia são fatores de risco independentes para sobrevivência.

A maioria dos pacientes foi submetida à cirurgia preservadora do membro: ressecção intralesional 42% e ressecção com substituição por próteses não convencionais 28%, as amputações corresponderam a 7% dos casos. Amer et al. (2020) determinaram as características demográficas, clínicas, de incidência e tumorais de todos os cinco subtipos conhecidos de condrossarcoma não convencional, as diferenças de sobrevida de 1.5 ano e mediana entre esses subtipos e as diferenças demográficas e variáveis clínicas que são indicadores prognósticos significativos para cada subtipo de condrossarcoma. A única variável prognóstica que demonstrou ter impacto significativo na sobrevida de cada subtipo de condrossarcoma não convencional foi a doença metastática no momento do diagnóstico.

A classificação por subtipos do condrossarcoma deve ser feita sempre que possível, dadas as diferenças na sobrevida e fatores prognósticos entre os subtipos de condrossarcoma. Angelini et al. (2012) analisaram: a sobrevida, recorrência local, taxas de metástase entre os três graus histológicos de condrossarcoma, e se o tipo de tratamento e o local do tumor influenciaram o prognóstico para cada grau histológico. Concluíram que o condrossarcoma central convencional com grau baixo/intermediário tem bom prognóstico, enquanto os tumores de alto grau têm pior evolução. As recidivas tumorais estão estritamente relacionadas com o grau histológico. Bindiganavile et al. (2014) mostraram que o tipo histológico foi significativamente associado ao desfecho de condrossarcoma. Para o tipo convencional, o grau histológico e a localização anatômica previram o resultado, com o alto grau com a localização axial tendo o pior resultado

Quando correlacionamos o tipo de cirurgia e recidiva sistêmica (todos evoluíram para óbito), houve significância estatística, provavelmente pelo pequeno “n” de pacientes que tinham tumores maiores e foram submetidos a cirurgias como amputação, escapulectomia e hemipelvectomy (esses totalizaram quatro dos seis pacientes que tiveram recidiva sistêmica e óbito). Angelini et al. (2012) analisam a sobrevida, taxas de metástase, entre os três graus histológicos de condrossarcoma, e se o tipo de tratamento e o local do tumor influenciaram o prognóstico para cada grau histológico. O tipo de cirurgia foi relacionado com o grau histológico. Concluíram que o condrossarcoma central convencional com grau baixo/intermediário tem bom prognóstico, enquanto os tumores de alto grau têm pior evolução. As recidivas tumorais estão estritamente relacionadas com o grau histológico.

A positividade para IDH1 mostra a importância da continuidade desta pesquisa em nosso País, visto que inúmeros outros estudos indicam que terapias sistêmicas poderão vir a partir destas análises. Polychronidou et al. (2017) mostraram que as pesquisas atualmente se concentram em elucidar os eventos moleculares subjacentes à patogênese dessa rara neoplasia óssea, com o objetivo de desenvolver novas terapias direcionadas molecularmente. Mutações no IDH1, presentes em mais de 50% dos condrossarcoma primários convencionais, tornam o desenvolvimento de inibidores do IDH1 uma opção de tratamento promissora. A presente revisão discute os dados clínicos pré-clínicos e precoces sobre novas abordagens terapêuticas direcionadas ao condrossarcoma.

Os casos com diagnóstico de condrossarcoma desdiferenciado e mesenquimal foram deixados nesta pesquisa para facilitar a análise em próximos estudos com nossa casuística, usando método de isolamento genético. Chen et al. (2017) identificaram mutações em IDH 1 que se mostraram importantes para o diagnóstico diferencial do condrossarcoma desdiferenciado e do sarcoma pleomórfico do osso. De Andrea et al. (2017) em análise de tumores cartilagosos do osso verificaram que as alterações moleculares que podem ser usadas para o diagnóstico incluem alterações de IDH1 (R132C; R132H) em encondromas, condrossarcomas convencionais e condrossarcoma desdiferenciado. E pelos genes de fusão HEY-NCOA2 em condrossarcoma mesenquimal. Nota et al. (2015) mostraram pacientes com condrossarcoma central, condrossarcoma de alto grau e o condrossarcoma desdiferenciado parecem ser bons candidatos para estudos futuros explorando melhores opções de tratamento devido ao seu pior prognóstico.

A análise da IDH1 em pacientes com condrossarcoma é um tema de extrema importância, a literatura atual mostra resultados que indicam necessidade de mais estudos prospectivos e comparativos identificando fatores e tratamentos que possam influenciar a sobrevida de pacientes com condrossarcoma. Mais evidências com pesquisas poderiam, eventualmente, levar a tratamentos baseados em evidências, evitando a exposição abundante de pacientes a terapias potencialmente prejudiciais, como radiação e quimioterapia.

Uma maior centralização dos cuidados para pacientes com condrossarcoma seria desejável, podendo gerar oportunidades para os pesquisadores estabelecerem estudos prospectivos e comparativos.

Com estes resultados uma nova análise pode ser realizada usando métodos de isolamento dos clones, estudos multicêntricos com casos sabidamente metastáticos e outras análises de com maior poder estatístico.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

A análise por imuno-histoquímica usando os marcadores IDH1 e Ki67 em pacientes com condrossarcoma não é útil para orientação prognóstica.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Ahmed AR, Tan TS, Unni KK, Collins MS, Wenger DE, Sim FH. Secondary chondrosarcoma in osteochondroma: report of 107 patients. *Clin Orthop Relat Res*. 2003 Jun;(411):193-206. doi: 10.1097/01.blo.0000069888.31220.2b.
2. Amary MF, Bacsı K, Maggiani F, Damato S, Halai D, Berisha F, Pollock R, O'Donnell P, Grigoriadis A, Diss T, Eskandarpour M, Presneau N, Hogendoorn PC, Futreal A, Tirabosco R, Flanagan AM. IDH1 and IDH2 mutations are frequent events in central chondrosarcoma and central and periosteal chondromas but not in other mesenchymal tumours. *J Pathol*. 2011 Jul;224(3):334-43. doi: 10.1002/path.2913.
3. Amer KM, Munn M, Congiusta D, Abraham JA, Basu Mallick A. survival and prognosis of chondrosarcoma subtypes: SEER database analysis. *J Orthop Res*. 2020 Feb;38(2):311-19. doi: 10.1002/jor.24463.
4. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, Meyer L, Gress DM, Byrd DR, Winchester DP. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017 Mar;67(2):93-99. doi: 10.3322/caac.21388. Epub 2017 Jan 17. PMID: 28094848.
5. Angelini A, Guerra G, Mavrogenis AF, Pala E, Picci P, Ruggieri P. Clinical outcome of central conventional chondrosarcoma. *J Surg Oncol*. 2012 Dec;106(8):929-37. doi: 10.1002/jso.23173.
6. Antonescu CR, Argani P, Erlandson RA, Healey JH, Ladanyi M, Huvos AG. Skeletal and extraskeletal myxoid chondrosarcoma: a comparative clinicopathologic, ultrastructural, and molecular study. *Cancer*. 1998 Oct 15;83(8):1504-21. doi: 10.1002/(sici)1097-0142(19981015)83:8<1504::aid-cnrc5>3.0.co;2-b.
7. Bindiganavile S, Han I, Yun JY, Kim HS. Long-term outcome of chondrosarcoma: a single institutional experience. *Cancer Res Treat*. 2015 Oct;47(4):897-903. doi: 10.4143/crt.2014.135.
8. Brien EW, Mirra JM, Luck JV Jr. Benign and malignant cartilage tumors of bone and joint: their anatomic and theoretical basis with an emphasis on radiology, pathology and clinical biology. II. Juxtacortical cartilage tumors. *Skeletal Radiol*. 1999 Jan;28(1):1-20. doi: 10.1007/s002560050466.
9. Buitrago S, Uemura G, Sena MCS. Fatores prognósticos em câncer de mama. *Com Ciências Saúde*. 2011;22(Sup 1):S69-S82.
10. Camargo OP, Baptista AM, Caiero MT, Camargo AF. Condrossarcoma. In: Barros Filho TEP, Camargo OP, Camanho GL. *Clínica ortopédica*. 1ª ed. São Paulo: Manole, 2012. p. 587-90.

11. Chen S, Fritchie K, Wei S, Ali N, Curless K, Shen T, Brini AT, Latif F, Sumathi V, Siegal GP, Cheng L. Corrigendum to "Diagnostic utility of IDH1/2 mutations to distinguish dedifferentiated chondrosarcoma from undifferentiated pleomorphic sarcoma of bone" [Hum Pathol 2017;65:239-46]. Hum Pathol. 2017 Nov;69:143. doi: 10.1016/j.humpath.2017.10.001.
12. Choi, Joon & Ro, Jae. (2021). The 2020 WHO Classification of Tumors of Bone: An Updated Review. Advances in Anatomic Pathology. Publish Ahead of Print. 10.1097/PAP.000000000000293.
13. Cleven AHG, Suijker J, Agrogiannis G, Briaire-de Bruijn IH, Frizzell N, Hoekstra AS, Wijers-Koster PM, Cleton-Jansen AM, Bovée JVMG. *IDH1* or -2 mutations do not predict outcome and do not cause loss of 5-hydroxymethylcytosine or altered histone modifications in central chondrosarcomas. Clin Sarcoma Res. 2017 May 4;7:8. doi: 10.1186/s13569-017-0074-6.
14. Cojocar E, Wolging C, Engelman B, Huang P, Jones RL. Is the *IDH* mutation a good target for chondrosarcoma treatment? Curr Mol Bio Rep. 2020;6:1-9.
15. Dalpai D, Barschak AG. Bioquímica médica para iniciantes [recurso eletrônico - ilustrações de Raphael Sales Cerqueira]. Porto Alegre: Ed. da UFCSPA, 2018. 133p.
16. De Andrea CE, San-Julian M, Bovée JVMG. Integrating morphology and genetics in the diagnosis of cartilage tumors. Surg Pathol Clin. 2017 Sep;10(3):537-52. doi: 10.1016/j.path.2017.04.005.
17. Duchman KR, Lynch CF, Buckwalter JA, Miller BJ. Estimated cause-specific survival continues to improve over time in patients with chondrosarcoma. Clin Orthop Relat Res. 2014 Aug;472(8):2516-25. doi: 10.1007/s11999-014-3600-3.
18. Etchebehere M, Camargo OP, Croci AT, Oliveira CRCM, Baptista AM. O papel da biópsia percutânea prévia no diagnóstico histológico definitivo na suspeita de lesões cartilaginosas malignas do esqueleto. Rev Bras Ortop. 1999;34(1):77-80.
19. Etchebehere M, Camargo OP, Croci AT, Oliveira CRCM, Baptista AM. Relationship between surgical procedure and outcome for patients with grade I chondrosarcomas. Clinics. 2005;60(2):121-6. doi: 10.1590/S1807-59322005000200007.
20. Etchebehere M, Camargo OP. Tumores cartilaginosa malignos: condrossarcomas. In: Pardini Jr AG, Souza JMG. Clínica ortopédica: tumores do sistema musculoesquelético. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. p. 753-9.
21. Evans HL, Ayala AG, Romsdahl MM. Prognostic factors in chondrosarcoma of bone: a clinicopathologic analysis with emphasis on histologic grading. Cancer. 1977 Aug;40(2):818-31. doi: 10.1002/1097-0142(197708)40:2<818::aid-cncr2820400234>3.0.co;2-b.
22. Fromm J, Klein A, Baur-Melnyk A, Knösel T, Lindner L, Birkenmaier C, Roeder F, Jansson V, Dürr HR. Survival and prognostic factors in conventional central chondrosarcoma. BMC Cancer. 2018 Aug 24;18(1):849. doi: 10.1186/s12885-018-4741-7.

23. Gelderblom H, Hogendoorn PC, Dijkstra SD, van Rijswijk CS, Krol AD, Taminiou AH, Bovée JV. The clinical approach towards chondrosarcoma. *Oncologist*. 2008 Mar;13(3):320-9. doi: 10.1634/theoncologist.2007-0237.
24. Giuffrida AY, Burgueno JE, Koniaris LG, Gutierrez JC, Duncan R, Scully SP. Chondrosarcoma in the United States (1973 to 2003): an analysis of 2890 cases from the SEER database. *J Bone Joint Surg Am*. 2009 May;91(5):1063-72. doi: 10.2106/JBJS.H.00416.
25. Jesus-Garcia R. Diagnóstico e tratamento de tumores ósseos. 2ª ed. São Paulo: Elsevier, 2013. 560p.
26. Kim HS, Bindiganavile SS, Han I. Oncologic outcome after local recurrence of chondrosarcoma: analysis of prognostic factors. *J Surg Oncol*. 2015 Jun;111(8):957-61. doi: 10.1002/jso.23925.
27. Li L, Hu X, Eid JE, Rosenberg AE, Wilky BA, Ban Y, Sun X, Galoian K, DeSalvo J, Yue J, Chen XS, Blonska M, Trent JC. Mutant IDH1 depletion downregulates integrins and impairs chondrosarcoma growth. *Cancers (Basel)*. 2020 Jan 6;12(1):141. doi: 10.3390/cancers12010141.
28. LI L. Understanding the role of IDH mutation in chondrosarcoma [Dissertation]. Doctor of Philosophy. Florida: University of Miami. 2019. Available from: <https://scholarship.miami.edu/esploro/outputs/doctoral/Understanding-the-Role-of-IDH-Mutation/991031447192702976>.
29. Liu C, Xi Y, Li M, Jiao Q, Zhang H, Yang Q, Yao W. Dedifferentiated chondrosarcoma: Radiological features, prognostic factors and survival statistics in 23 patients. *PLoS One*. 2017 Mar 16;12(3):e0173665. doi: 10.1371/journal.pone.0173665. PMID: 28301537; PMCID: PMC5354284.
30. Lugowska I, Teterycz P, Mikula M, Kulecka M, Kluska A, Balabas A, Piatkowska M, Wagrodzki M, Pienkowski A, Rutkowski P, Ostrowski J. IDH1/2 Mutations Predict Shorter Survival in Chondrosarcoma. *J Cancer*. 2018 Feb 28;9(6):998-1005. doi: 10.7150/jca.22915.
31. Milchgrub S, Hogendoorn PCW. Dedifferentiated chondrosarcoma: In: World Health Organization classification of tumours. Lyon: IARC Press: Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone. Edited by: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F; 2002. p. 252-4.
32. Nawa G, Ueda T, Mori S, Yoshikawa H, Fukuda H, Ishiguro S, Funai H, Uchida A. Prognostic significance of Ki67 (MIB1) proliferation index and p53 over-expression in chondrosarcomas. *Int J Cancer*. 1996 Apr 22;69(2):86-91. doi: 10.1002/(SICI)1097-0215(19960422)69:2<86::AID-IJC3>3.0.CO;2-R.
33. Nie Z, Lu Q, Peng H. Prognostic factors for patients with chondrosarcoma: A survival analysis based on the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) database (1973-2012). *J Bone Oncol*. 2018 Sep 18;13:55-61. doi: 10.1016/j.jbo.2018.09.003.

34. Nota SP, Braun Y, Schwab JH, van Dijk CN, Bramer JA. The identification of prognostic factors and survival statistics of conventional central chondrosarcoma. *Sarcoma*. 2015;2015:623746. doi: 10.1155/2015/623746.
35. Penna V, Chung WT, Tanaka MH, Alves LA, Chiferi AC, Mansano RT, Haddad F, Ferreira FB, Lopes A, Russi BM. Condrossarcoma: experiência do Hospital A.C. Camargo nos últimos 42 anos. *Rev Bras Ortop*. 1996;31(11):888-90.
36. Polychronidou G, Karavasilis V, Pollack SM, Huang PH, Lee A, Jones RL. Novel therapeutic approaches in chondrosarcoma. *Future Oncol*. 2017 Mar;13(7):637-48. doi: 10.2217/fo-2016-0226.
37. Prospero JD. Tumores ósseos. 1ª ed. São Paulo: Roca; 2001. 298p.
38. Schajowicz F. Neoplasias ósseas e lesões pseudotumorais. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2000. 650p.
39. Scotlandi K, Serra M, Manara MC, Maurici D, Benini S, Nini G, Campanacci M, Baldini N. Clinical relevance of Ki-67 expression in bone tumors. *Cancer*. 1995 Feb 1;75(3):806-14. doi: 10.1002/1097-0142(19950201)75:3<806::aid-cnrcr2820750310>3.0.co;2-s.
40. Söderström M, Palokangas T, Vahlberg T, Böhling T, Aro H, Carpen O. Expression of ezrin, Bcl-2, and Ki-67 in chondrosarcomas. *APMIS*. 2010 Oct;118(10):769-76. doi: 10.1111/j.1600-0463.2010.02656.x.
41. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*. 2018 Jun;127(2):175-86. doi: 10.1007/s00412-018-0659-8.
42. van Maldegem A, Conley AP, Rutkowski P, Patel SR, Lugowska I, Desar IME, Bovée JVMG, Gelderblom H. Outcome of first-line systemic treatment for unresectable conventional, dedifferentiated, mesenchymal, and clear cell chondrosarcoma. *Oncologist*. 2019 Jan;24(1):110-116. doi: 10.1634/theoncologist.2017-0574.
43. Vuong HG, Ngo TNM, Dunn IF. Prognostic importance of IDH mutations in chondrosarcoma: an individual patient data meta-analysis. *Cancer Med*. 2021 Jul;10(13):4415-23. doi: 10.1002/cam4.4019.
44. Wang Z, Chen G, Chen X, Huang X, Liu M, Pan W, Yan X, Lin N, Ye Z. Predictors of the survival of patients with chondrosarcoma of bone and metastatic disease at diagnosis. *J Cancer*. 2019 Jun 2;10(11):2457-63. doi: 10.7150/jca.30388.
45. Werner B, Campos AC, Nadji M, Torres LFB. Uso prático da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica. *J Bras Patol Med Lab*. 2005;41(5):353-64.
46. Zhu GG, Nafa K, Agaram N, Zehir A, Benayed R, Sadowska J, Borsu L, Kelly C, Tap WD, Fabbri N, Athanasian E, Boland PJ, Healey JH, Berger MF, Ladanyi M, Hameed M. Genomic profiling identifies association of *IDH1/IDH2* mutation with longer relapse-free and metastasis-free survival in high-grade chondrosarcoma. *Clin Cancer Res*. 2020 Jan 15;26(2):419-27. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-4212. (Na citação no texto da tese estava Guo et al, 2019, corrigi)

ANEXOS

ANEXO A - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

IOT 1422
SGR 12454

HC USP - HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - HCFMUSP **PlataForma Brasil**

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação do prognóstico de pacientes com diagnóstico de condrossarcoma pela análise da enzima Isocitrato Desidrogenase tipo 1 (IDH 1) e Ki67 por imunohistoquímica

Pesquisador: OLAVO PIRES DE CAMARGO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30240520.9.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

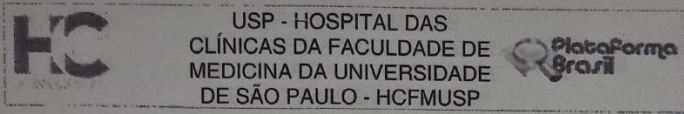
Número do Parecer: 3.974.954

Apresentação do Projeto:
ESTUDO RETROSPECTIVO, ANALÍTICO E OBSERVACIONAL EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE CONDRROSSARCOMA ATENDIDOS NO IOT HCFMUSP NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2000 A DEZEMBRO DE 2009. APÓS CONCLUSÃO DO BANCO DE DADOS, SERÃO REALIZADAS COLORAÇÕES POR IMUNO-HISTOQUÍMICA NAS LÂMINAS USANDO OS MARCADORES Ki67 E IDH 1. CORRELACIONANDO OS RESULTADOS DA IQ COM O PROGNÓSTICO DESTES PACIENTES E ANÁLISES ESTATÍSTICAS. SERÃO 100 PACIENTES.

Objetivo da Pesquisa:
Após coletas de dados e localização dos espécimes cirúrgicos em blocos de parafinas, as amostras serão submetidas ao exame de imuno-histoquímica dando ênfase aos marcadores: Ki67 e IDH 1. Como já há evidências genéticas da importância de se estudar IDH 1 em pacientes com lesões cartilaginosas, esperamos que os nossos resultados mostrem que com o uso da IDH 1 em pacientes com diagnóstico de condrossarcoma poderemos ter noção do prognóstico, podendo inclusive sugerir mudanças na terapêutica. Já a análise do Ki67 e sua graduação em percentual nos traria uma noção de

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5ª andar
Bairro: Cerqueira Cesar **Cep:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.acfm@hc.fm.usp.br

Página 01 de 04



Continuação do Parecer: 3.974.954

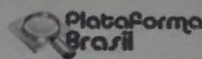
SAO PAULO, 16 de Abril de 2020

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Carqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 3.974.954

e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|------------------------|------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1508124.pdf | 25/03/2020 21:07:28 | | Aceito |
| Outros | cartadigitalassinada.pdf | 25/03/2020 21:07:07 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Outros | dotiot.pdf | 25/03/2020 14:29:17 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Outros | decchefeddisciplina.pdf | 23/03/2020 11:03:10 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco | decchefedlaboratorio.pdf | 23/03/2020 11:01:45 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Declaração de concordância | decchefedgrupo.pdf | 23/03/2020 11:01:26 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Orçamento | deccustos.pdf | 23/03/2020 11:00:53 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | deccomissaocientifica.pdf | 23/03/2020 11:00:21 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Cronograma | cronogramaatual.pdf | 23/03/2020 10:58:57 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Folha de Rosto | folhaderosto.pdf | 20/03/2020 09:14:00 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | brochuracorrigido.docx | 17/03/2020 10:39:39 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | tcle.docx | 12/02/2020 18:18:00 | OLAVO PIRES DE CAMARGO | Aceito |

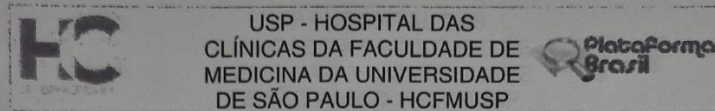
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Ovidio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappeaq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.974.954

proliferação celular indicando quais tumores poderiam ter crescimento lento ou rápido. O tamanho do tumor (< 15 e > 15 cm), a presença de metástase ao diagnóstico e o tratamento cirúrgico usado (radical e salvador) serão avaliados como variáveis para determinação de seu valor prognóstico, em relação às sobrevidas, usando-se o teste Log-Rank.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O trabalho de pesquisa proposto implicará em mínimos riscos de constrangimento para o participante e de perda da confidencialidade dos dados pessoais e institucionais. Para minimizar isso, os pesquisadores assumem o compromisso de que em nenhum momento de publicação ou apresentação dos dados poderá haver a identificação dos participantes da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Poderá ser proposto um novo protocolo de diagnóstico e avaliação prognóstica para pacientes com diagnóstico de condrossarcoma podendo melhorar a terapêutica futura.

O condrossarcoma metastático tem um prognóstico sombrio e, até o momento, não existem terapias sistêmicas eficazes comprovadas no cenário avançado. Estudos genômicos demonstraram que 50 a 80% dos condrossarcomas abrigam uma mutação no gene IDH1 ou IDH2.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Será garantido por parte do pesquisador o custeamento dos deslocamentos dos pacientes e acompanhamento para a assinatura do TCLE. Apesar deste compromisso, caso haja algum dano que possa ser vinculado aos procedimentos de pesquisa, os pesquisadores se comprometem em repará-lo.

Recomendações:

É um estudo retrospectivo, analítico e observacional.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Está de acordo com as solicitações desta CAPESQ.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 226 1º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br

DEPARTAMENTO DE ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

COMISSÃO CIENTÍFICA

IDENTIFICAÇÃO

Protocolo IOT nº 1422

SGP: 12454

Pesquisador Responsável: Prof. Olavo Pires de Camargo

Pesquisador Executante: Dr. Marcelo Barbosa Ribeiro

Título: Avaliação do prognóstico de pacientes com diagnóstico de condrossarcoma pela análise da enzima Isocitrato Desidrogenase tipo 1 (IDH 1) e KI67 por imuno-histoquímica..

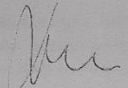
Grau de Pesquisa: Doutorado

PARA USO EXCLUSIVO DA COMISSÃO CIENTÍFICA

Parecer da Comissão Científica do IOT:

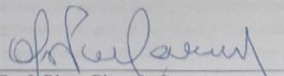
- Aprovado
 Aprovado com restrições (corrigir e/ou completar)
 Aprovado o mérito, porém apresenta aspectos éticos complexos e/ou discutíveis (à CAPPesq)
 Não aprovado

São Paulo, 13 de março de 2020


Prof. Raphael Martus Marcon
Presidente
Comissão Científica - DOT

APROVAÇÃO DO DEPARTAMENTO

São Paulo, 16 de março de 2020


Prof. Olavo Pires de Camargo
Vice-Chefe do Departamento
Ortopedia e Traumatologia
FMUSP

ANEXO B - Registros dos pacientes no laboratório de anatomia patológica do IOT com diagnóstico e condrossarcoma no período de 2000 – 2010

| Paciente | BLOCO | ANO | RG IOT |
|-----------------|---------------------|------------|--------------------|
| 1) | C00-577 | 2000 | 4087409C |
| 2) | C00-766 | 2000 | 44203036 A |
| 3) | C01-6501001710 | 2001 | 44203596 G |
| 4) | C01-5711001779 | 2001 | 3311466 |
| 5) | C01-5461001949 | 2001 | 44205145 |
| 6) | C01-2701002368 | 2001 | 4084012 |
| 7) | C01-1991002740 | 2001 | 44203562 |
| 8) | C01-1581003356 | 2001 | 44204228 |
| 9) | C01-1071100564 | 2001 | 40787906 A |
| 10) | C01-851107968 | 2001 | 44203596 |
| 11) | C01-781107968 | 2001 | 44203562 I |
| 12) | C02-6981105060 | 2002 | 44100020 J |
| 13) | C02-5101109480 | 2002 | 44207859 E |
| 14) | C02-8971111078 | 2002 | 44100389 D |
| 15) | C03-10241119176 | 2003 | 44104301 E |
| 16) | C03-9571120999 | 2003 | 4084012 E |
| 17) | C03-812 | 2003 | 44103907 B |
| 18) | C04-5091125028 | 2004 | 4087409 C |
| 19) | C04-114 /3581116342 | 2004 | 44105246 I |
| 20) | C04-8371126539 | 2004 | 44106533 I |
| 21) | C04-6111126806 | 2004 | 44107059 A |
| 22) | C04-5271129236 | 2004 | 44106533 I |
| 23) | C05-5171131931 | 2005 | 44110761 G |
| 24) | C05-1311135015 | 2005 | 4422425 D |
| 25) | C05-957113540 | 2005 | 44112162 |
| 26) | C05-6741135333 | 2005 | 44110121 J 1135015 |
| 27) | C05-5551136330 | 2005 | 44110791 G |
| 28) | C05-52005-14 | 2005 | 44108589 K |
| 29) | C06-1531140345 | 2006 | 44112162 I |
| 30) | C06-671140400 | 2006 | 44102329 A |
| 31) | C06-601141120 | 2006 | 44110031 K |
| 32) | C06-7951144650 | 2006 | 44114287 F |
| 33) | C06-713 | 2006 | 13750563 |
| 34) | C06-203/204 | 2006 | 44104820 |
| 35) | C06-567 | 2006 | 44114633 I |
| 36) | C07-26 | 2007 | 6108335K |
| 37) | C07-445 | 2007 | 44117628 |
| 38) | C07-643 | 2007 | 44117775 |
| 39) | C07-623 | 2007 | 44117089 H |
| 40) | C07-37 | 2007 | 44116031 C |

| | | | |
|-----|---------|------|------------|
| 41) | C07-519 | 2007 | 4027802 H |
| 42) | C08-279 | 2008 | 44118350 |
| 43) | C08-407 | 2008 | 6148269 K |
| 44) | C08-455 | 2008 | 44119501 J |
| 45) | C08-748 | 2008 | 44112162 I |
| 46) | C09-43 | 2009 | 13842042 |
| 47) | C09-477 | 2009 | 44124522 K |
| 48) | C09-566 | 2009 | 44124691 I |
| 49) | C09-727 | 2009 | 4029992 K |
| 50) | C10-142 | 2010 | 44107059 A |
| 51) | C10-252 | 2010 | 44114170 I |
| 52) | C10-385 | 2010 | 44127015 E |
| 53) | C10-390 | 2010 | 15027164 H |
| 54) | C10-557 | 2010 | 44127099 J |
| 55) | C10-748 | 2010 | 44127690 F |
| 56) | C10-765 | 2010 | 44128259 I |

ANEXO C - Registro dos pacientes com diagnóstico e condrossarcoma no período de 2000 – 2010 no Serviço de Arquivo Médico Estatístico e ambulatório de IOT HC FMUSP com diagnóstico e condrossarcoma no período de 2000 – 2010

| Paciente | Local Anatômico | Classificação histológica | Tamanho em cm | Gênero | Idade | IDH1 | Sobrevida livre |
|----------|----------------------------|---------------------------|---------------|--------|-------|------|-----------------|
| 1. | Isquio | G 2 | 5 | M | 29 | POS | 10 |
| 2. | Segmento distal do fêmur | G 1 | 8 | F | 35 | NEG | 10 |
| 3. | Segmento proximal do úmero | G 2 | 4 | M | 50 | NEG | 10 |
| 4. | Segmento distal do fêmur | G 2 | 18 | M | 31 | POS | 10 |
| 5. | Escápula | G 3 | 14 | M | 42 | NEG | SIM 4a |
| 6. | Segmento distal do fêmur | G 2 | 12 | M | 41 | NEG | 10 |
| 7. | Segmento proximal da tíbia | G 2 | 8 | F | 64 | NEG | 10 |
| 8. | Segmento proximal do úmero | G 2 | 6 | F | 55 | POS | 10 |
| 9. | Falange quirodáctilo | G 2 | 4 | M | 83 | NEG | 10 |
| 10. | Segmento proximal do úmero | G 1 | 10 | F | 50 | POS | 10 |
| 11. | Segmento proximal da tíbia | G 2 | 8 | F | 64 | NEG | 10 |
| 12. | Segmento distal do fêmur | G 2 | 12 | F | 46 | NEG | 10 |
| 13. | Segmento distal do fêmur | G 2 | 10 | M | 27 | NEG | 10 |
| 14. | Segmento proximal do úmero | G 1 | 8 | F | 57 | NEG | 10 |
| 15. | Falange pododáctilo | Desdiferenciado | 3 | M | 21 | NEG | 10 |
| 16. | Segmento proximal da tíbia | G 2 | 12 | F | 50 | POS | 10 |
| 17. | Segmento proximal do fêmur | G 2 | 10 | M | 58 | NEG | 10 |
| 18. | Íliaco | G 1 | 20 | M | 29 | NEG | 10 |
| 19. | Segmento proximal da tíbia | G 1 | 10 | F | 19 | POS | 10 |
| 20. | Tálus | G 2 | 6 | M | 58 | NEG | 10 |
| 21. | Segmento distal do fêmur | G 1 | 8 | F | 54 | POS | 10 |
| 22. | Segmento proximal da tíbia | G 1 | 10 | M | 58 | POS | SIM 4ª |
| 23. | Segmento distal do fêmur | G 2 | 10 | M | 80 | NEG | 10 |
| 24. | Segmento distal do fêmur | G 2 | 16 | F | 67 | POS | 10 |

| | | | | | | | |
|------------|-----------------------------|-----------------|----|---|----|-----|-----------|
| 25. | Segmento proximal do úmero | G 2 | 12 | F | 50 | POS | 10 |
| 26. | Segmento proximal do fêmur | G 3 | 20 | M | 58 | POS | SIM 4 |
| 27. | Segmento distal do fêmur | G 3 | 14 | M | 51 | POS | 10 |
| 28. | Segmento proximal da tíbia | G 2 | 10 | M | 77 | NEG | 10 |
| 29. | Segmento proximal do úmero | G 2 | 9 | F | 50 | POS | |
| 30. | Segmento distal do fêmur | G 2 | 12 | M | 46 | NEG | SIM 6a |
| 31. | Segmento proximal do úmero | G 1 | 10 | M | 74 | POS | 10 |
| 32. | Íliaco | G 2 | 20 | M | 30 | NEG | 10 |
| 33. | Mandíbula | Mesenquimal | 8 | F | 29 | NEG | 10 |
| 34. | Segmento proximal do úmero | G 1 | 6 | F | 50 | POS | 10 |
| 35. | Segmento proximal do úmero | G 1 | 12 | F | 72 | POS | 10 |
| 36. | Segmento proximal da tíbia | G 1 | 6 | F | 9 | NEG | 10 |
| 37. | Segmento distal do fêmur | Desdiferenciado | 12 | F | 81 | NEG | 10 |
| 38. | Íliaco | G 2 | 20 | F | 37 | POS | 10 |
| 39. | Falange quirodactilo | G 2 | 6 | F | 79 | NEG | 10 |
| 40. | Iliaco | G 3 | 18 | M | 74 | POS | 10 |
| 41. | Segmento proximal do fêmur | Desdiferenciado | 16 | M | 56 | POS | 10 |
| 42. | Segmento proximal do úmero | G 1 | 12 | M | 7 | POS | 10 |
| 43. | Segmento proximal do úmero | G 1 | 6 | F | 17 | NEG | 10 |
| 44. | Vértebra | G 2 | 4 | M | 48 | NEG | 10 |
| 45. | Clavícula | G 2 | 4 | F | 50 | NEG | 10 |
| 46. | Segmento distal do fêmur | Mesenquimal | 12 | F | 21 | NEG | 10 |
| 47. | Segmento proximal do úmero | G 2 | 8 | F | 41 | NEG | 10 |
| 48. | Segmento proximal do úmero | G 2 | 6 | M | 51 | NEG | 10 |
| 49. | Íliaco | G 3 | 20 | F | 57 | POS | SIM 6A |
| 50. | Tálus | G 2 | 6 | F | 34 | NEG | 10 |
| 51. | Segmento proximal da fíbula | G 2 | 6 | F | 22 | NEG | 10 |
| 52. | Segmento proximal do fêmur | G 1 | 10 | M | 50 | POS | 10 |

| | | | | | | | |
|-----|-----------------------------|-----------------|----|---|----|-----|-----------|
| 53. | Íliaco | G 1 | 12 | M | 30 | NEG | 10 |
| 54. | Segmento proximal da fíbula | Desdiferenciado | 6 | F | 48 | NEG | 10 |
| 55. | Segmento distal do fêmur | G 2 | 16 | M | 46 | POS | SIM 5a |
| 56. | Escápula | G 1 | 14 | F | 43 | POS | 10 |