

# Alterações Citogenético-Moleculares no Gene *FOXO1* em uma Criança com Rbdomiossarcoma Alveolar: Relato de Caso

doi: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2018v64n3.51>

*Cytogenetic-Molecular Alterations in FOXO1 Gene in a Child with Alveolar Rhabdomyosarcoma: Case Report*

Cambios Citogenético-Moleculares en el Gene FOXO1 en un Niño con Rbdomiossarcoma Alveolar: Relato de Caso

Nicolas Cabral Cunha<sup>1</sup>; Arissa Ikeda Suzuki<sup>2</sup>; Fernanda Ferreira da Silva Lima<sup>3</sup>; Priscila Valverde Fernandez<sup>4</sup>; Paulo Antônio Silvestre de Faria<sup>5</sup>; Teresa de Souza Fernandez<sup>6</sup>; Sima Esther Ferman<sup>7</sup>

## Resumo

**Introdução:** O rbdmiossarcoma (RMS) é o tumor de tecidos moles mais comum da infância. Pode ser classificado em dois subtipos principais: o rbdmiossarcoma alveolar (RMSa) e o embrionário (RMSe). No RMSa, o prognóstico é desfavorável quando comparado ao RMSe, necessitando de tratamento intensificado; dessa forma, a distinção entre ambos os subtipos é fundamental. Citogeneticamente, o RMSa apresenta translocações cromossômicas envolvendo o gene *FOXO1* em 80% dos casos. A metodologia de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) tem sido muito utilizada para caracterizar o RMSa. **Relato do caso:** Paciente do sexo feminino, com 7 anos de idade, apresentou ao diagnóstico RMSa parameningeo, sem metástase ao diagnóstico. A análise por meio de FISH mostrou a translocação envolvendo o gene *FOXO1* e uma cópia extra desse gene. A paciente foi incluída no protocolo de tratamento do E<sub>p</sub>SSG, classificada como grupo de alto risco e recebeu quimioterapia e radioterapia. No final do tratamento, foi observada resposta parcial e iniciada quimioterapia de segunda linha. Não houve resposta clinicorradiológica e a paciente evoluiu com progressão de doença local refratária ao tratamento e óbito após um ano do diagnóstico. **Conclusão:** De acordo com o nosso conhecimento, é a primeira descrição de um caso de RMSa apresentando a translocação do gene *FOXO1* e uma cópia extra desse gene em clones separados. São necessários ainda novos estudos, a fim de compreender melhor o significado prognóstico da presença dessas alterações.

**Palavras-chave:** Rbdomiossarcoma; Criança; Translocação Genética; Hibridização *in situ* Fluorescente; Proteína Forkhead Box O1.

## Abstract

**Introduction:** Rhabdomyosarcoma (RMS) is the most common soft tissue tumor of childhood. It can be classified into two main subtypes: alveolar rhabdomyosarcoma (aRMS) and embryonal (eRMS). In aRMS the prognosis is unfavorable when compared to eRMS, requiring intensified treatment, thus the distinction between both subtypes is fundamental. Cytogenetically, aRMS present chromosomal translocations involving the *FOXO1* gene in 80% of the cases. The fluorescence in situ hybridization methodology (FISH) has been widely used to characterize aRMS subtype. **Case Report:** A 7-year-old female patient presented with parameningeal aRMS, non-metastatic at diagnosis. FISH analysis showed translocation involving the *FOXO1* gene and an extra copy of this gene. The patient was enrolled in the E<sub>p</sub>SSG treatment protocol, classified as a high-risk group and received chemotherapy and radiotherapy. At the end of treatment a partial response was observed, and second line chemotherapy was started. There was no clinical-radiological response and the patient progressed with local disease, refractory to rescue treatment and died of disease one year after diagnosis. **Conclusion:** To our knowledge, this is the first case of aRMS presenting *FOXO1* gene translocation and an extra copy of this gene in separate clones. More studies are necessary to understand the prognostic significance of these alterations.

**Key words:** Rhabdomyosarcoma; Child; Translocation, Genetic; In Situ Hybridization, Fluorescence; Forkhead Box Protein O1.

## Resumen

**Introducción:** El rbdmiossarcoma (RMS) es el tumor de tejidos blandos más común de la infancia. El RMS puede clasificarse en dos subtipos principales, el rbdmiossarcoma alveolar (RMSa) y el embrionario (RMSe). El RMSa presenta un pronóstico desfavorable si se compara al RMSe, habiendo así necesidad de intensificación del tratamiento. De esta forma, la distinción entre RMSa y RMSe es fundamental. Citogénicamente, el RMSa presenta en cerca del 80% de los casos de translocación cromosómica que involucra el gen *FOXO1*. La metodología de Hibridación fluorescente *in situ* (FISH) ha sido muy utilizada para caracterizar el RMSa. **Caso de estudio:** Paciente del sexo femenino, de 7 años de edad presentada con un diagnóstico de RMSa parameningeo, sin metástasis. El análisis a través del FISH mostró la translocación envolviendo el gen *FOXO1* y una copia extra de este gen. La paciente fue incluída en el protocolo de tratamiento del E<sub>p</sub>SSG, clasificado como grupo de alto riesgo y recibió quimioterapia y radioterapia. Al final del tratamiento fue observada una respuesta parcial y se inició la quimioterapia de segunda línea. No hubo respuesta clínico-radiológica y la paciente evolucionó con progresión de enfermedad local, refractaria y óbito después de 1 año del diagnóstico. **Conclusión:** De acuerdo con nuestro conocimiento, este es el primer caso de un niño con RMSa presentando la translocación del gen *FOXO1* y una copia extra de este gen en clones separados. Se necesitan nuevos estudios para comprender mejor el significado pronóstico de la presencia de estos cambios.

**Palabras clave:** Rbdomiossarcoma; Niño; Translocación Genética; Hibridación Fluorescente *in Situ*; Proteína Forkhead Box O1.

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0001-7401-3670>

<sup>2</sup> INCA. Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0001-9689-5985>

<sup>3</sup> INCA. Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-6658-3101>

<sup>4</sup> INCA. Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-0196-4755>

<sup>5</sup> INCA. Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0003-1817-4888>

<sup>6</sup> INCA. Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0003-1299-4666>

<sup>7</sup> INCA. Rio de Janeiro (RJ), Brasil. Orcid iD: <https://orcid.org/0000-0002-7076-6779>

**Endereço para correspondência:** Sima Esther Ferman. Praça Cruz Vermelha, 23 - 5º andar. Serviço de Oncologia Pediátrica do INCA. Rio de Janeiro (RJ), Brasil. CEP 20230-130. E-mail: [sferman@uol.com.br](mailto:sferman@uol.com.br).



## INTRODUÇÃO

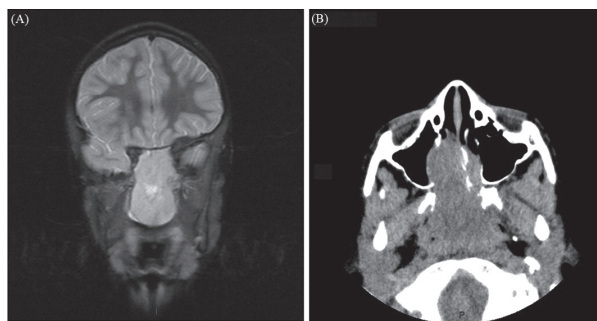
O rabdomyossarcoma (RMS) é o tumor de tecidos moles mais comum da infância e muito raro em adultos, com 4,7 novos casos/1 milhão de pessoas/ano nos Estados Unidos (EUA)<sup>1,2</sup>. Aproximadamente 25% das crianças apresentam doença metastática ao diagnóstico, e os principais locais de acometimento são pulmões, medula óssea, ossos e linfonodos. Em pacientes pediátricos, o RMS pode ser classificado em dois subtipos principais, o rabdomyossarcoma alveolar (RMSa) e o embrionário (RMSe), constituindo 20% e 80% dos casos, respectivamente<sup>3</sup>. O RMSa e o RMSe apresentam manifestações clínicas e biológicas distintas. O RMSa ocorre principalmente em crianças mais velhas e está associado com mau prognóstico. A distinção entre RMSa e RMSe é de extrema importância, já que o RMSa apresenta maior incidência de metástases e um prognóstico desfavorável se comparado ao RMSe, havendo assim necessidade de uma diferenciação no tratamento<sup>4</sup>. O correto diagnóstico do RMS pode representar um desafio na rotina histopatológica<sup>5</sup>.

Citogeneticamente, o RMSa apresenta, em cerca de 80% dos casos, translocações cromossômicas envolvendo o gene *FOXO1*, sendo a t(2;13)(q35;q14) em 60% dos pacientes e a t(1;13)(p36;q14) em 20%<sup>6,7</sup>. Essas translocações resultam na formação e aumento de expressão dos genes *quiméricos PAX3-FOXO1* (*FOXO1* também conhecido como *FKHR*) e *PAX7-FOXO1*, respectivamente. As proteínas de fusão são fatores de transcrição e determinantes da tumorigênese, sendo um preditor de pior prognóstico<sup>5</sup>. Dessa forma, a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) tem sido muito utilizada para a pesquisa do rearranjo envolvendo o gene *FOXO1*, como um biomarcador em RMS, caracterizando o subtipo alveolar da doença<sup>8</sup>. O objetivo deste estudo é relatar um paciente pediátrico que apresentou pelo FISH células com o rearranjo e células com uma cópia extra envolvendo o gene *FOXO1*, com o diagnóstico de RMSa e sua evolução clínica.

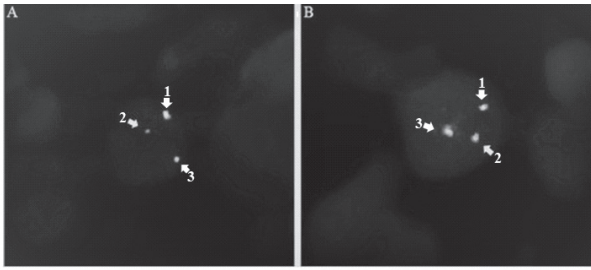
## RELATO DO CASO

Paciente do sexo feminino, com 7 anos de idade, apresentou queixa de obstrução nasal progressiva, tendo tido o diagnóstico de amigdalite e iniciado antibioticoterapia. Na tomografia computadorizada (TC) de face, foi evidenciada massa com densidade de partes moles ocupando todo o seio esfenoidal, com destruição da parede anteroinferior, cavidades nasais e extensão para a rinofaringe. A paciente apresentou emagrecimento, apatia e pouca aceitação da dieta e evoluiu com oftalmoparesia e ptose palpebral à esquerda. A matrícula no Serviço de

Oncologia Pediátrica foi em 19/5/2005. Na ressonância nuclear magnética (RNM) de crânio e face, foi evidenciada formação expansiva infiltrativa, de contorno lobulado, predominantemente hipointenso na sequência em T1, com realce irregular por meio de contraste e restrição à difusão, com isocentro na cavidade nasal bilateralmente, envolvendo o septo nasal. A lesão se estendia lateralmente aos seios maxilares, notadamente à direita, superiormente às células etmoidais médias e posteriores, e posteriormente ao seio esfenoidal e rinofaringe, determinando obliteração completa do cavum (Figura 1A). Havia rechaço inferior do palato mole. A paciente foi submetida à rinoscopia com biópsia. A histopatologia revelou a presença de RMSa, definido como sítio primário de localização parameningea, sem metástase ao diagnóstico (exame de líquido negativo). A análise imuno-histoquímica mostrou positividade citoplasmática para desmina e nuclear para miogenina em 90% das células, negatividade para pancitoqueratina, CD99 e NB84. A análise por meio da FISH, usando a sonda LSI FOXO1 (13q14) *dual color, break apart rearrangement probe* (Vysis, Abbott), segundo o Sistema Internacional de Nomenclatura de Citogenética Humana (ISCN)<sup>9</sup>, mostrou o seguinte resultado: nuc ish (FOXO1x2) (5'FOXO1 sep 3'FOXO1 x1)[132/200]/nuc ish (FOXO1x3)[64/200]/nuc ish (FOXO1x2) [4/200]. Portanto, foi possível detectar por intermédio dessa metodologia dois clones anormais envolvendo o gene *FOXO1*. O primeiro apresentando, em 66% do total de 200 células analisadas, a translocação envolvendo o gene *FOXO1* e o segundo clone apresentando, em 32% do total de 200 células analisadas, uma cópia extra do gene *FOXO1*. Também foi observada, em 2% do total de 200 células analisadas, a presença de células normais. As alterações citogenético-moleculares envolvendo o gene *FOXO1* podem ser observadas na Figura 2.



**Figura 1.** (A) Imagem de TC de crânio sem contraste evidenciando massa de partes moles ocupando todo o seio esfenoidal com destruição das paredes do seio com extensão para a rinofaringe; (B) Imagem de RNM de crânio AXI T2 apresentando volumosa formação expansiva e infiltrativa, ocupando o cavum e obliterando as coanas nasais, envolvendo o septo nasal na sua porção posterior, determinando espessamento mucoso e velamento parcial por secreção dos seios maxilares. A lesão rebaixa o palato fibroso e a base da língua. Há obliteração completa da coluna aérea da rinofaringe e parcial da orofaringe



**Figura 2.** A análise de alterações citogenético-moleculares no gene *FOXO1* em rbdmiossarcoma alveolar, mostrando em (A1) gene *FOXO1*, sinal de fusão normal do gene *FOXO1*, mostrando que este alelo está intacto (ao microscópio esse sinal é representado pela cor amarela, ocorre a sobreposição dos sinais verde e vermelho do gene) e (A2) e (A3) dois sinais separados mostrando o rearranjo deste gene (ao microscópio são observados dois sinais verde e vermelho separados); (B1), (B2), e (B3) são observados três sinais de fusão do gene *FOXO1*, sendo que um sinal representa uma cópia extra do gene (ao microscópio, esse sinal é representado pela cor amarela, ocorre a sobreposição dos sinais verde e vermelho do gene)

A paciente foi incluída no protocolo de tratamento do *EpSSG* como RMS não metastático, classificado como grupo de alto risco, e recebeu quimioterapia com ifosfamida, actinomicina e vincristina, e radioterapia na dose 50,4 Gy como tratamento local. Apresentou resposta parcial, mas, como mantinha lesão residual no sítio primário (Figura 1B) ao término do tratamento, foi iniciada quimioterapia de segunda linha, com carboplatina, doxorubicina e ciclofosfamida. Não houve resposta clinicorradiológica e a paciente evoluiu com progressão de doença local, refratária ao tratamento e óbito após um ano do diagnóstico. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) sob o número 119/07.

#### PESQUISA DE ALTERAÇÕES CITOGÊNETICO-MOLECULARES NO GENE *FOXO1* PELO MÉTODO DE FISH

A técnica de FISH para pesquisa de alterações citogenético-moleculares envolvendo o gene *FOXO1* foi realizada utilizando a sonda LSI *FOXO1* (13q14) *dual color, break apart rearrangement probe* (Vysis, Abbott) com o material em parafina, segundo as recomendações do fabricante. As amostras de tecido foram seccionadas em 4 micrômetros e aderidas em lâminas polarizadas. Foi realizado o pré-tratamento do material, em seguida foi dimensionado 10µl da mistura-sonda previamente desnaturada na amostra e realizada a hibridização. Uma solução de DAPI/Antiphade (125 ng/ml) foi aplicada sobre o tecido e a área foi coberta com uma lâmina de vidro. A análise foi realizada em microscópio de fluorescência (Olympus BX51) com filtros apropriados e o resultado obtido foi adquirido pelo Sistema de captura

*ISIS MetaSystems, Zeiss*. O valor do ponto de corte foi calculado por meio da função “beta inverso” (BETAINV) disponível no microsoft excel, capaz de determinar falsos positivos<sup>10</sup>. Utilizaram-se três amostras de linfonodos de pacientes com linfoma. A técnica de FISH foi realizada em material de parafina usando a sonda LSI *FOXO1* (13q14) *dual color, break apart rearrangement probe* (Vysis, Abbott), seguindo as recomendações do fabricante. O ponto de corte estabelecido foi de 6,2%. Considerou-se positividade para a presença de alteração um resultado acima do ponto de corte. A caracterização de alterações envolvendo o gene *FOXO1* seguiu as regras do ISCN<sup>9</sup>.

#### DISCUSSÃO

O RMS é o sarcoma de partes moles mais comum que afeta crianças e adolescentes<sup>11</sup>. O RMSa é caracterizado pelas translocações cromossômicas t(2;13)(q35;q14) ou t(1;13)(p36;q14), nas quais resulta na fusão de gene *PAX3-FOXO1* ou *PAX7-FOXO1* em 70% a 80% dos casos. As proteínas de fusão são consideradas fatores de transcrição, determinantes da tumorigênese<sup>3,5,12</sup>

A análise citogenético-molecular, isto é, a aplicação da FISH, tem sido utilizada como uma importante ferramenta diagnóstica para os casos de RMS de difícil diferenciação dos subtipos em nível histopatológico. A sonda mais frequentemente utilizada é a *FOXO1 gene dual color break-apart* que pode detectar ambas as translocações envolvendo o gene *FOXO1*<sup>6,13</sup>. Atualmente, existe a proposta para a inclusão dessa alteração molecular como um dos fatores de prognóstico da doença<sup>14</sup>.

Neste relato de caso, empregou-se a metodologia de FISH utilizando-se a sonda *FOXO1 gene dual color break-apart* e foram observadas a presença de células com a translocação envolvendo o gene *FOXO1* e células apresentando um sinal extra desse gene. A paciente era portadora de RMSa, um subtipo de pior prognóstico e o tumor primário definido como localização parameningea. Essa localização é considerada desfavorável e representa um grupo distinto, com controle da doença local pior do que os outros sítios, apresentando uma sobrevida global em dez anos de 66%<sup>8</sup>. A localização parameningea e o subtipo alveolar são fatores prognósticos independentes para morte, seguindo uma recaída da doença<sup>15</sup>.

O achado da translocação envolvendo o gene *FOXO1* com a associação de uma cópia extra desse gene sugere uma evolução molecular da doença com clones distintos. Os estudos que utilizaram o FISH para investigação da presença de rearranjos no gene *FOXO1* em RMSa mostraram principalmente casos positivos para a translocação desse gene. Os sinais verde e vermelho separados indicam a translocação e o outro sinal de fusão



na mesma célula; verde e vermelho justapostos indicam o alelo normal do gene *FOXO1*. Outra alteração bastante relatada é a amplificação, com a região centromérica do gene apresentando (10-20) cópias extras do sinal verde, podendo ter uma frequência em até 50% dos casos de RMSa<sup>16,17</sup>. A amplificação do gene *FOXO1* foi descrita pelo grupo cooperativo americano *Children's Oncology Group* (COG) e foi associada com um possível fator de bom prognóstico para o RMSa<sup>8</sup>. Ao fazer uma revisão da literatura, verificou-se que este estudo corresponde ao primeiro caso de uma criança com RMSa apresentando a translocação do gene *FOXO1* e uma cópia extra desse gene em células distintas, correspondendo a clones separados.

## CONCLUSÃO

A paciente relatada apresentou evolução desfavorável, com progressão de doença e óbito. Entretanto, são necessários ainda novos estudos, a fim de compreender melhor o significado prognóstico da presença de clones com as alterações citogenético-moleculares envolvendo a translocação e uma cópia extra do gene *FOXO1*.

## CONTRIBUIÇÕES

Nicolas Cabral Cunha participou da execução da técnica FISH, no desenvolvimento do manuscrito e na revisão do artigo na sua parte final para envio do manuscrito para publicação. Arissa Ikeda Suzuki contribuiu com a pesquisa, interpretação, desenho e análise crítica do conteúdo intelectual e na aprovação da versão enviada para publicação. Fernanda Ferreira da Silva Lima participou na interpretação dos resultados e descrição do caso e elaboração do manuscrito para envio para publicação. Priscila Valverde Fernandes contribuiu com a seleção e processamento do material histopatológico do caso analisado. Paulo Antônio Silvestre de Faria contribuiu com a identificação, revisões e reanálise dos laudos anatomopatológicos, essencial para análise do caso, computação e análise dos resultados. Teresa de Souza Fernandez participou do desenho do estudo, foi responsável pela análise e interpretação do resultado da FISH, no desenvolvimento do manuscrito, bem como na análise e revisão do artigo na sua parte final para envio do manuscrito para publicação. Sima Esther Ferman participou do desenho do estudo, na elaboração do manuscrito, assim como na análise e revisão do artigo para envio para publicação.

## DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Nada a declarar.

## FONTES DE FINANCIAMENTO

Não há.

## REFERÊNCIAS

1. Siegel DA, King J, Tai E, Buchanan N, Ajani UA, Li J. Cancer incidence rates and trends among children and adolescents in the United States, 2001-2009. *Pediatrics*. 2014 Oct;134(4):e945-955.
2. Ward E, DeSantis C, Robbins A, Kohler B, Jemal A. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. *Ca Cancer J Clin*. 2014;64(2):83-103.
3. Gallego Melcón S, Sánchez de Toledo Codina J. Molecular biology of rhabdomyosarcoma. *Clin Transl Oncol*. 2007;9(7):415-419.
4. Missiaglia E, Williamson D, Chisholm J, Wirapati P, Pierron G, Petel F, et al. PAX3/FOXO1 fusion gene status is the key prognostic molecular marker in rhabdomyosarcoma and significantly improves current risk stratification. *J Clin Oncol*. 2012 May;30(14):1670-1677.
5. Parham DM, Barr FG. Classification of Rhabdomyosarcoma and its molecular basis. *Adv Anat Pathol*. 2013;20(6):387-397.
6. Davicioni E, Finckenstein FG, Shahbazian V, Buckley JD, Triche TJ, Anderson MJ. Identification of a PAX-FKHR gene expression signature that defines molecular classes and determines the prognosis of alveolar rhabdomyosarcomas. *Cancer Res*. 2006;66(14):6936-6946.
7. Williamson D, Missiaglia E, Reyniès A, Pierron G, Thuille B, Palenzuela G, et al. Fusion gene-negative alveolar rhabdomyosarcoma is clinically and molecularly indistinguishable from embryonal rhabdomyosarcoma. *J Clin Oncol*. 2010;28(13):2151-2158.
8. Duan F, Smith LM, Gustafson DM, Zhang C, Dunlevy MJ, Gastier-Foster JM, et al. Genomic and clinical analysis of fusion gene amplification in rhabdomyosarcoma: a report from the Children's Oncology Group. *Genes, Chromosomes Cancer*. 2012 Jul;51(7):662-674.
9. International Standing Committee on Human Cytogenomic Nomenclature. ISCN: an international system for human cytogenomic nomenclature (2016). Basel: Karger; 2016.
10. Saxe DF, Persons DL, Wolff DJ, Theil KS. Validation of fluorescence in situ hybridization using an analyte-specific reagent for detection of abnormalities involving the mixed lineage leukemia gene. *Arch Pathol Lab Med*. 2012;136(1):47-52.
11. Noone AM, Howlader N, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, et al. (editor). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2015. [Internet]. Bethesda, MD: National Cancer Institute; April 2018. [cited 2018 Nov 13]. Available from: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2015/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/)

12. Shern JF, Chen L, Chmielecki J, Wei JS, Patidar R, Rosenberg M, et al. Comprehensive genomic analysis of rhabdomyosarcoma reveals a landscape of alterations affecting a common genetic axis in fusion-positive and fusion-negative tumors. *Cancer Discov.* 2014 Feb;4(2):216-231.
13. Mehra S, de la Roza G, Tull J, Shrimpton A, Valente A, Zhang S. Detection of FOXO1 (FKHR) gene break-apart by fluorescence in situ hybridization in formalin-fixed, paraffin-embedded alveolar rhabdomyosarcomas and its clinicopathologic correlation. *Diagn Mol Pathol.* 2008;17(1):14-20.
14. Gallego S, Zanetti I, Orbach D, Ranchère D, Shipley J, Zin A, et al. Fusion status in patients with lymph node-positive (N1) alveolar rhabdomyosarcoma is a powerful predictor of prognosis: experience of the European Paediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group (EpSSG). *Cancer.* 2018;124(15):3201-3209.
15. Chisholm JC, Marandet J, Rey A, Scopinaro M, de Toledo JS, Merks JHM, et al. Prognostic factors after relapse in nonmetastatic rhabdomyosarcoma: a nomogram to better define patients who can be salvaged with further therapy. *J Clin Oncol.* 2011;29(10):1319-1325.
16. Matsumura T, Yamaguchi T, Seki K, Shimoda T, Wada T, Yamashita T, et al. Advantage of FISH analysis using FKHR probes for an adjunct to diagnosis of rhabdomyosarcomas. *Virchows Arch.* 2008;452(3):251-258.
17. Papp G, Mihály D, Sági Z. Unusual Signal Patterns of Break-apart FISH Probes Used in the Diagnosis of Soft Tissue Sarcomas. *Pathol Oncol Res.* 2017;23(4):863-871.

Recebido em 6/9/2018  
Aprovado em 14/11/2018