

RENATA DA SILVA ALMEIDA SANTOS

**SÍTIOS PRINCIPAIS DE METÁTASE DE CARCINOMA DE
MAMA: ANÁLISE DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO
MOLECULAR**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
para a conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

**Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2009**

RENATA DA SILVA ALMEIDA SANTOS

**SÍTIOS PRINCIPAIS DE METÁTASE DE CARCINOMA DE
MAMA: ANÁLISE DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO
MOLECULAR**

**Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
para a conclusão do Curso de Graduação em
Medicina.**

Presidente do Colegiado: Prof. Dr. Rogério Paulo Moritz

Professora Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rozany Mucha Dufloth

Professor Co-orientador: Prof. MSc. Carlos Gilberto Crippa

Florianópolis

Universidade Federal de Santa Catarina

2009

Santos, Renata da Silva Almeida.

Sítios Principais De Metástase De Carcinoma De Mama: Análise De Acordo Com A Classificação Molecular/ Renata da Silva Almeida Santos – Florianópolis: UFSC, 2009.

43p

Orientadora: Rozany Mucha Dufloth

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de Medicina, 2009.

1. Carcinoma de mama. 2. Classificação Molecular. 3. Metástase – Trabalho de Conclusão de Curso. I. Dufloth, Rozany Mucha. II. Universidade Federal de Santa Catarina, Curso de Medicina. III. Título

*Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!*

Mário Quintana

Apoio FUNPESQUISA 2009-2010

AGRADECIMENTOS

À Deus, dom da vida, abençoou minha caminhada, confortou-me nos momentos de angústia e solidão. Sei que estás ao meu lado.

Aos meus pais, Regina Fátima e Silvio Antonio de Almeida Santos, pelo imensurável amor. Agradeço por acreditarem no meu sonho e me apoiarem em todos os momentos. Vocês são meu exemplo de luta e perseverança. Esta vitória é nossa!

Aos meus queridos irmãos, Paulo Rodrigo e Pedro Henrique da Silva Almeida Santos, pela lembrança feliz de minha infância, pelos momentos maravilhosos, apoio e amizade. Amo vocês!

À minha orientadora, Dra Rozany Mucha Dufloth, por todo o carinho, dedicação, paciência. Compartilhou seus conhecimentos e instigou o meu interesse pela área da pesquisa. Agradeço pela oportunidade de trabalhar ao seu lado e poder conhecer esta profissional exemplar e ser humano incrível de sorriso sincero e delicado.

À professora Daniella Serafin Couto Vieira, pela generosidade em ceder seu banco de dados, pelas sugestões oportunas e pelo incentivo à pesquisa no Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário.

Ao professor Carlos Gilberto Crippa, por me apresentar à Mastologia e colaborar com o estudo.

Aos professores, Dr. Luiz Carlos Zeferino e Dr. Fernando Schmitt, pelas críticas essenciais no desenvolvimento deste estudo.

Aos funcionários do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário, especialmente ao Sr. Alvonir, à Eliete, Lilian e Marli. Agradeço a colaboração e amizade de todos.

Aos meus amigos, Bárbara, Paulo Henrique, Cláudia Carvalho, Natálie e Jorge Augusto. Muito obrigada pela companhia em todos esses anos de estudo, festas, choros e alegrias. Sempre me lembrarei de vocês.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O carcinoma de mama é a neoplasia maligna mais freqüente na mulher, compreende um grupo de tumores heterogêneos com marcadores biológicos distintos caracterizando diversos fenótipos. Em especial, ainda são poucos os estudos sobre os sítios de metástase do subtipo basal.

OBJETIVO: Avaliar os sítios de metástase nas pacientes diagnosticadas com carcinoma de mama, seguindo a atual classificação molecular.

MÉTODOS: Foram estudados carcinomas de mama invasores, através da técnica de *tissue microarray*, sendo classificados inicialmente em fenótipos luminal A e B, superexpressão de HER2 e basal, os quais foram agrupados para fins de análise estatística, totalizando 165 casos. Os blocos de parafina de tumores de carcinoma de mama e os dados clínicos foram obtidos no Serviço de Patologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. Foram excluídas as pacientes que não possuíam os dados clínicos essenciais para a realização deste estudo.

RESULTADOS: Observamos que os sítios de metástase mais freqüentes do carcinoma de mama foram: linfonodo (25,6%) e osso (5,4%). Sendo que o sítio de metástase para linfonodo foi proporcionalmente maior no subtipo superexpressão do HER2 (37,5%), o sítio de metástase para osso esteve presente apenas nos subtipos luminal A e superexpressão do HER2 em igual percentual (8,3%) e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,02$). Quando agrupados os fenótipos em duas categorias (basal e não-basal), constatamos que o sítio de metástase para linfonodo foi mais freqüente no subtipo basal (31,7%), correspondendo a 13 de 41 casos, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa ($p=0,22$).

CONCLUSÕES: O sítio de metástase para osso esteve presente nos subtipos luminal A e superexpressão de HER2. Embora o sítio de metástase para linfonodo ter sido o mais freqüente para o subtipo basal, o pequeno número de casos não permitiu avaliar as diferenças entre os subtipos. Futuros estudos serão necessários para o melhor conhecimento dos sítios de metástase do carcinoma de mama.

ABSTRACT

Background: Breast carcinoma is the most frequent malignancy in women and it represents a heterogeneous group of tumors. Breast carcinoma can be classified into phenotypes based on the expression of molecular markers, with distinct differences in prognosis. In special, there are few studies about the sites of metastasis of the basal subtype.

Objective: The aim of this study was evaluate the sites of metastasis in patients with the diagnostic of breast carcinoma, according to molecular classification.

Method: Invasive breast carcinomas were studied using the tissue microarray technique, being classified into phenotypes: luminal A and B, HER2 overexpression and basal. There were selected 165 patients with breast carcinoma in the Department of Anatomic Pathology of the University Hospital from Federal University of Santa Catarina. There were excluded patients with insufficient clinical data to evaluate the variables of this study.

Results: The most frequent sites of metastasis of breast carcinoma were: node (25,6%) and bone (5,4%). The site of metastase for node was proportionally increase in HER2 overexpression subtype (37,5%), the site of metastase for bone was present in luminal A subtype and HER2 overexpression subtype with the same proportion (8,3%) and this statistic difference was significant ($p=0,02$). When the subtypes basal and non-basal were evaluated, the site of metastase for node was the most frequent in basal subtype (31,7%), that corresponded a 13 of 41 cases, but this difference was not significant ($p=0,22$).

Conclusions: The site of metastase for bone was present in luminal A subtype and HER2 overexpression subtype. However the site of metastase for node has been the most frequent for the basal subtype, the small number of cases did not permit evaluate the differences between the subtypes. Futures studies will be necessary to know about the sites of metastasis of the breast carcinoma.

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

CAGIMA	Grupo de Pesquisa CNPq – câncer ginecológico e mamário
c - DNA	DNA complementar
CK	Citoqueratina
DNA	Ácido desoxirribonucléico
EGFR	<i>Epidermal growth factor receptor</i>
HER2	<i>Human epithelial receptor 2</i>
HU	Hospital Universitário
IHQ	Imunohistoquímica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IPATIMUP	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto
mRNA	RNA mensageiro
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	p valor
P-caderina	<i>Placental caderina</i>
RA	Receptor de androgênio
RA+	Receptor de androgênio positivo
RA-	Receptor de androgênio negativo
RE	Receptor de estrógeno
RE+	Receptor de estrógeno positivo
RE-	Receptor de estrógeno negativo
RH	Receptor hormonal
RH+	Receptor hormonal positivo
RH-	Receptor hormonal negativo
RP	Receptor de progesterona
RP+	Receptor de progesterona positivo
RP-	Receptor de progesterona negativo
SAP	Serviço de Anatomia Patológica
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1- Grupo de Pesquisa CAGIMA.....	32
ANEXO 2- Protocolo Otimizado e Estabelecido pelo Laboratório de Imunoistoquímica....	36
ANEXO 3- Ficha para Coleta de Dados.....	39
ANEXO 4- Certificado pelo Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos.....	41
ANEXO 5-Painel apresentado na Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina em 21 de outubro de 2009.....	43

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS	ix
LISTA DE ANEXOS	x
SUMÁRIO	xi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	6
2.1 Objetivo Geral.....	6
2.2 Objetivos Específicos.....	6
3 SUJEITOS E MÉTODOS	7
3.1 Desenho do Estudo	7
3.2 Seleção dos Sujeitos e Tamanho da Amostra	7
3.2.1 Critérios de Inclusão.....	7
3.2.2 Critérios de Exclusão.....	7
3.3 Variáveis	8
3.4 Conceitos	8
3.4.1 Idade	8
3.4.2 Classificação Molecular.....	8
3.4.3 Sítios de Metástase do Carcinoma de Mama.....	9
3.4.4 Tamanho do Tumor.....	9
3.5 Descrição dos Procedimentos Técnicos e Coleta de Dados.....	10
3.5.1 Construção dos <i>Tissue Microarray</i>	10
3.5.2 Método Imunoistoquímico	10
3.6 Descrição da Coleta de Dados.....	11
3.7 Análise Estatística	11

3.8 Aspectos Éticos.....	11
4 RESULTADOS	13
5 DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÕES	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24
NORMAS ADOTADAS	29
ANEXOS	30

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma de mama é considerado a neoplasia maligna não cutânea mais freqüente na mulher, o que corresponde a 23% de todos os tipos de carcinoma no sexo feminino¹. Anualmente, mais de um milhão de mulheres são diagnosticadas com carcinoma de mama no mundo^{2,3}.

Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), do Ministério da Saúde, no Brasil, o carcinoma de mama também representa a neoplasia maligna de maior incidência na população feminina⁴. Estimou-se para o ano de 2008, de acordo com as pesquisas do INCA, 49.000 casos novos de carcinoma de mama no País, esse número corresponde à taxa bruta de incidência de 50,71:100.000 mulheres⁴. Na região Sul, sem considerar os tumores de pele não-melanoma, o carcinoma de mama é o mais incidente entre as mulheres, com um risco estimado de 67,09 casos novos por 100 mil⁴. Particularmente, em Florianópolis, tem-se a estimativa de 130 casos novos para o ano de 2008⁴.

Em relação a esse carcinoma o que chama a atenção, segundo as mais diversas estatísticas, é a sua elevada taxa de mortalidade, com aproximadamente 400.000 mortes por ano no sexo feminino^{2,3}. Além disso, tem-se observado aumento no número de mortes decorrentes deste carcinoma^{1,2,5,6}. Esse fato foi evidenciado no Brasil desde 1979, data em que os dados de mortalidade passaram a ser produzidos e rotineiramente publicados pelo Ministério da Saúde^{5,6}.

De acordo com a classificação histológica para o carcinoma de mama estabelecida pela Organização Mundial da Saúde (OMS), há dois tipos histológicos mais freqüentes, o carcinoma ductal invasivo que corresponde a 50 a 75% dos casos e o carcinoma lobular invasivo com 5 a 15%⁷. Há também outros tipos histológicos de carcinoma de mama menos freqüentes, considerados tipos especiais, como carcinoma tubular, mucinoso, medular e metaplásico, entre outros⁷.

Tendo em vista as múltiplas formas de apresentação clínica e morfológica, os diferentes graus de agressividade tumoral e o potencial metastático, hoje, o carcinoma de mama tem sido considerado uma doença complexa e singular⁸⁻¹³. Assim, constitui um grupo heterogêneo de tumores caracterizado por um número variado de marcadores biológicos e conseqüentemente apresenta condutas clínicas distintas⁷⁻¹⁰.

Na última década, com o avanço do conhecimento e a introdução das técnicas em biologia molecular como, por exemplo, a análise de microarranjo de ácido desoxirribonucléico (DNA) foi desenvolvida a classificação molecular do carcinoma de mama⁹. O advento do microarranjo de DNA abriu a nova era da abordagem genômica da oncologia molecular, uma vez que possibilitou a análise do perfil de expressão gênica, não de centenas, mas de milhares de genes simultaneamente⁹. Esta técnica tem sido particularmente importante, visto que permitiu a investigação dos mecanismos moleculares da carcinogênese mamária e muitas pesquisas estão em desenvolvimento a fim de encontrar alvos terapêuticos específicos para essa neoplasia⁹⁻¹².

Perou *et al* publicaram o estudo pioneiro da classificação molecular do carcinoma de mama utilizando a análise de microarranjo de DNA. Foi estudada a expressão gênica de amostras de tecido mamário de 42 mulheres. Este trabalho mostrou que o carcinoma de mama pode ser classificado biológica e clinicamente de acordo com a presença de receptor hormonal (positivo ou negativo) e de acordo com a origem das células epiteliais (luminais ou basais). Assim, identificaram-se cinco subtipos, dois deles caracterizados pela presença de receptor hormonal, chamados receptor hormonal positivo (RH+) tendo origem de células epiteliais luminais A ou B. Há também três subtipos caracterizados pela ausência de receptor hormonal, chamados receptor hormonal negativo (RH-), são eles: *normal-like*, superexpressão do *human epidermal growth factor receptor 2* (HER2) e basal¹¹.

Os dois subtipos de carcinoma de mama RH+, luminal A e luminal B, que corresponderam a 70% dos carcinomas de mama invasivos foram caracterizados pela expressão de genes das células epiteliais luminais, como as citoqueratinas 7, 8, 18 e 19. Estes dois subtipos foram associados a melhor prognóstico e a melhor resposta à terapêutica endócrina com tamoxifeno (droga antiestrogênica) e inibidores da aromatase. No entanto, o que os diferenciou, e, por conseguinte hierarquizou o prognóstico entre os dois foi a intensidade da expressão desses genes específicos das células epiteliais luminais. Enquanto o subtipo luminal A foi caracterizado pela elevada expressão de tais genes, o subtipo luminal B os expressa baixa ou moderadamente. Além disso, o subtipo luminal B pode expressar HER2 em 30% a 50% dos casos. Todas essas características configuram ao subtipo luminal B pior prognóstico, maior taxa de recidiva tumoral e menor resposta à terapia antiestrogênica se comparado ao subtipo luminal A¹¹⁻¹³.

O subtipo superexpressão do HER2 (RH-) foi caracterizado pela superexpressão de uma molécula da família dos receptores de fator de crescimento epidérmico, o HER2^{11,12}. Cabe salientar que a presença de RH geralmente está relacionada com menor taxa de

crescimento do tumor e maior período livre da recidiva^{14,15}. Enquanto a superexpressão do HER2 está associada com maior agressividade do tumor, com taxa de recorrência e mortalidade elevadas^{14,15}. Estudos mostraram que a superexpressão de HER2 estava associado à pior diferenciação de células na linhagem terminal, grau histológico elevado, taxa de proliferação celular elevada e metástases para os linfonodos⁹⁻¹². Este subtipo de carcinoma tem terapia alvo-específica baseada no bloqueio da atividade do HER2, como o trastuzumab, que é um anticorpo monoclonal humanizado dirigido contra o domínio extra-celular deste receptor¹⁶.

O subtipo *normal-like* caracteriza-se pela expressão de genes do tecido adiposo e por outros tipos de células não epiteliais^{11,17}. Estes tumores também mostraram expressão elevada de genes do epitélio basal e menor expressão de genes do epitélio luminal^{11,17}. Apesar disso, atualmente ainda não está clara sua distinção nem seu valor clínico^{11,17}.

Com especial atenção, o subtipo basal, que corresponde em torno de 15% de todos os subtipos de carcinoma de mama, caracterizou-se pela presença de células neoplásicas que expressam os genes geralmente encontrados nas células basais/mioepiteliais dos ductos e lóbulos mamários^{10,16-19}. Estudos revelaram que a expressão de citoqueratinas 5, 6, 14 e 17 e outros marcadores característicos das células basais/mioepiteliais, como p63, P-caderina, maspina, proteína S100, actina de músculo liso, calponina, vimentina entre outros, constituem um fator prognóstico independente do tamanho do tumor, grau e *status* linfonodal¹⁹.

Morfologicamente, o carcinoma de mama subtipo basal foi caracterizado por grau histológico elevado, índice de mitose elevado, presença de zona central de necrose, bordas irregulares e infiltração linfocítica²⁰⁻²⁴. O subtipo basal apresenta também diferença dos outros subtipos quanto ao processo metastático, o qual se caracteriza por disseminação hematogênica com peculiar predileção para o desenvolvimento de sítio de metástase em cérebro e pulmões, atingindo com menos frequência os linfonodos axilares e os ossos²³⁻²⁸. Além disso, apresentou superexpressão do receptor para o fator de crescimento da epiderme (EGFR), negatividade para receptores hormonais e tampouco expressou HER2^{19,20,29,30}. Assim, se esses últimos fatores estiverem presentes no tumor teremos que considerar a possibilidade de serem de perfil triplo negativo,^{19,29-31} e justamente por isso, o subtipo basal é refratário à terapia com tamoxifeno e trastuzumab¹⁰.

Até a presente data, a literatura demonstrou que o carcinoma de mama subtipo basal encontra-se sem terapia alvo-específica, vários autores e o nosso grupo de pesquisa tem concentrado esforços nesse sentido (ANEXO 1)^{25,26,32-37}.

Dessa forma, para estabelecer uma conduta terapêutica específica, o conhecimento dos fatores prognósticos e a caracterização molecular são de fundamental importância^{9,11,12}. A história natural do carcinoma de mama, após o diagnóstico, tem atraído a atenção de vários pesquisadores na tentativa de estabelecer fatores relacionados ao prognóstico, que na prática clínica auxiliariam, tanto na escolha do tratamento adequado para cada paciente, como na predição de possíveis recidivas^{9,11,38}. Estudos recentes demonstraram que a terapia alvo-específica para o carcinoma de mama subtipo basal poderá estar baseada na expressão elevada do EGFR^{7,39-41}.

De acordo com o consenso de 2007 do Colégio Americano de Patologistas, os fatores prognósticos do carcinoma de mama são: *status* dos linfonodos axilares, tamanho do tumor, invasão linfática e vascular, idade da paciente, grau histológico, tipo histológico, resposta à terapia neoadjuvante, *status* do receptor de hormônio, amplificação e/ou superexpressão do HER2⁴².

Destes, o *status* dos linfonodos axilares, ou seja, a presença de células metastáticas nos linfonodos axilares, constitui o fator prognóstico mais importante no carcinoma de mama^{38,42}. Embora vários estudos tenham demonstrado que a sobrevida das pacientes relaciona-se mais ao número de linfonodos comprometidos do que ao nível anatômico de comprometimento dos linfonodos^{38,42}.

Outro fator prognóstico que junto ao *status* dos linfonodos axilares destacou-se como indicador prognóstico no carcinoma de mama foi o tamanho do tumor no momento do diagnóstico³⁸. Este fator prognóstico foi determinante quando da indicação do tratamento cirúrgico radical (mastectomia) ou conservador (segmentectomia), além de se constituir, nos casos de pacientes com ausência de comprometimento metastático dos linfonodos, no melhor preditor de recidiva da doença³⁸. Assim, o tamanho do tumor relaciona-se com o comprometimento metastático dos linfonodos loco-regionais^{38,42}.

Em relação à idade, pesquisas apresentaram diversas discordâncias para estabelecer a influência da idade no momento do diagnóstico do carcinoma de mama^{38,42}. De maneira geral, o pior prognóstico foi reservado, ao grupo de mulheres com idade igual ou inferior a 35 anos e àquelas com mais de 75 anos de idade³⁸. A melhor sobrevida foi verificada no grupo de mulheres com idade entre 45 e 49 anos³⁸.

No que se refere à graduação histológica, este fator prognóstico tem excelente correlação com sobrevida e período livre de doença, sendo obrigatória a sua referência nos laudos de carcinoma de mama³⁸.

Quanto ao tipo histológico, o carcinoma tubular, mucinoso e papilar foram os tipos que apresentaram o melhor prognóstico^{38,42}. Destes, o carcinoma tubular foi o que apresentou excelente prognóstico, mesmo nas pacientes com metástase para linfonodo, com sobrevida livre de doença em dez anos superior a 95%³⁸.

A resposta à terapia neoadjuvante tem se mostrado excelente fator prognóstico e vem sendo avaliada pela análise anátomo-patológica observando-se redução do tamanho tumoral do espécime cirúrgico tanto pós-quimioterapia ou terapia hormonal específica⁴².

A partir da segunda metade dos anos 70, o *status* do receptor hormonal (RH), tanto estrogênio quanto progesterona, passou a ter sua significância prognóstica estabelecida³⁸. Os carcinomas de mama RH+ mostraram maior sobrevida livre de doença e maior probabilidade de resposta à terapia hormonal⁴².

Por fim, tendo em vista o peculiar comportamento biológico do carcinoma de mama, é fundamental seu diagnóstico precoce e o reconhecimento dos fatores prognósticos para se estabelecer uma terapia adequada. No entanto, são poucas as informações a respeito dos sítios principais de metástase de acordo com a atual classificação molecular do carcinoma de mama, sendo este estudo pioneiro para as pacientes atendidas no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Identificar quais os sítios de metástase que se relacionam com os subtipos moleculares do carcinoma de mama, segundo a classificação molecular.

2.2 Objetivos específicos

1. Calcular a frequência de sítios de metástases nos subtipos luminal A, luminal B, superexpressão do HER2 e basal.
2. Calcular a frequência de sítios de metástases nos subtipos basal e não-basal (agrupados).
3. Calcular a média de tamanho do tumor ao diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de mama segundo os subtipos.
4. Calcular a média de idade em anos ao diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de mama segundo os subtipos.
5. Testar a associação dos sítios metastáticos com os subtipos do carcinoma de mama.

3 SUJEITOS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Este estudo foi do tipo observacional, analítico e retrospectivo, o qual fez parte de estudos colaborativos desenvolvidos em parceria com o Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (IPATIMUP), Portugal e com a Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) através da linha de pesquisa intitulada “Mecanismos celulares e moleculares envolvidos na patogênese e na progressão do carcinoma ginecológico e mamário” do grupo CAGIMA, cadastrado no CNPq (ANEXO 1).

3.2 Seleção dos sujeitos e tamanho da amostra

O tamanho da amostra foi de 165 mulheres que tiveram diagnóstico de carcinoma de mama e que já foram selecionadas e incluídas em estudos sobre a caracterização molecular do carcinoma de mama do grupo de pesquisa CAGIMA, cujos resultados foram apresentados em uma dissertação de mestrado e dois estudos de conclusão de curso da graduação de Medicina, cujos artigos foram publicados^{33,43,44,56,57}. Essas pacientes foram selecionadas sequencialmente no Serviço de Anatomia Patológica (SAP) do Hospital Universitário (HU) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) no período de janeiro de 1994 a dezembro de 2004 pela Professora Daniella Serafin Couto Vieira durante seu trabalho de mestrado⁴³.

Para o presente estudo, foram revistos os prontuários médicos, no Serviço de Arquivo Médico (SAME) do HU, das mulheres incluídas no estudo.

3.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídas no estudo pacientes com diagnóstico de carcinoma de mama.

3.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo pacientes que não possuíam os dados clínicos essenciais no prontuário médico.

Assim, foram selecionados 165 casos, sendo 36 excluídos. Dos casos excluídos, seis não possuíam informações sobre a presença ou ausência de sítio de metástase; 22 apresentaram classificação molecular inconclusiva; e oito não apresentaram dados sobre o tamanho do tumor ao diagnóstico.

3.3 Variáveis

As variáveis estudadas foram:

- Idade
- Classificação molecular
- Sítios de metástases do carcinoma de mama
- Tamanho do tumor

3.4 Conceitos

3.4.1 Idade

Idade da paciente, em anos completos, ao diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de mama, obtida do prontuário médico.

3.4.2 Classificação molecular

Os subtipos moleculares do carcinoma de mama seguiram a classificação de Perou *et al.*,¹¹ modificada por Sorlie *et al.*,¹² e a caracterização do subtipo basal foi de acordo com os critérios de Perou *et al.*,¹¹ modificada por Sorlie *et al.*^{12,34} Nielsen *et al.*,²² Matos *et al.*,³⁵ e Paredes *et al.*⁴⁵.

Classificação molecular do carcinoma de mama	Descrição
Luminal A	RE + e HER2 -
Luminal B	RE + e HER2 +
Superexpressão do HER2	RE - e HER2 +
Basal	RE -, HER2 - e EGFR + e/ou CK5 + e/ou P-caderina +

FONTE: Perou *et al.*¹¹, Sorlie *et al.*¹², Nielsen *et al.*²², Matos *et al.*³⁶ e Paredes *et al.*⁴⁵

3.4.2 Sítios de metástase do carcinoma de mama

O carcinoma de mama tem duas vias de disseminação metastática: hematogênica e linfática. Na via hematogênica, através dos vasos sanguíneos, as células tumorais atingem sítios onde se proliferam mais comumente para o pulmão, sistema nervoso central, osso e fígado. Na via linfática, as células tumorais percorrem os vasos linfáticos e atingem linfonodos.

De acordo com a literatura há diferença na via de disseminação metastática do carcinoma de mama quando comparados os subtipos basal e não basal, grupo formado pelos subtipos luminal A, luminal B e superexpressão do HER2^{16,46}. Enquanto o subtipo basal apresentou predileção pela via hematogênica, atingindo mais frequentemente sítios de metástase para pulmão, sistema nervoso central e fígado^{16,46}. O subtipo não-basal apresentou com maior frequência sítio de metástase para linfonodo e osso^{16,46}.

Os sítios de metástase do carcinoma de mama foram obtidos através do prontuário médico a partir de laudos anatomopatológicos ou de exames de imagem.

3.4.4 Tamanho do tumor

Tamanho do tumor, em centímetros, ao diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de mama, obtido do laudo anatomopatológico.

3.5 Descrição de procedimentos técnicos

3.5.1 Construção dos *Tissue Microarray* (TMA)

Este estudo fez parte de estudos colaborativos desenvolvidos em parceria com o Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (IPATIMUP), Portugal^{33,43,44,56,57}. Resumidamente, para a técnica de *Tissue Microarray* (TMA) foram obtidas lâminas dos blocos de tecidos doadores, nas quais foram selecionadas duas áreas morfológicamente significativas do carcinoma de mama. Tais lâminas foram sobrepostas aos blocos doadores, e em cada um destes foram marcadas as duas áreas para delimitar o local de extração do material. Dessa forma, de cada bloco doador foram extraídos dois cilindros de dois milímetros de diâmetro que foram depositados nos blocos receptores, previamente preparados. Os blocos receptores dos TMA foram construídos no *Tissue Microarray builder ab1802* (Abcam®, Cambridge, UK), composto por um molde de 24 cilindros e por uma “seringa extratora” (*punch-extractor*). Depois de depositados todos os cilindros, os blocos receptores foram os TMA.

Em cada bloco receptor foram colocados casos que serviram de controle interno (um fragmento de tecido testicular e três fragmentos de tecido mamário normal). Estas amostras foram processadas da mesma forma, uma vez que constituíram o TMA.

Após o corte seqüencial de dois micra (2µm) de espessura, as lâminas eram envolvidas em uma camada de parafina para serem utilizadas no processo de imunohistoquímica (IHQ). Foi feita a coloração Hematoxilina-Eosina (HE) do primeiro corte de cada TMA para controle morfológico da presença do carcinoma. Foi utilizada uma placa fria (Leica EG1130, Germany) e um micrótomo (Reichert-Jung 2030, Bicut, Germany) para a realização dos cortes histológicos. Foram usados dois tipos de lâminas, conforme os cortes histológicos eram destinados para coloração com HE (Marienfeld, Germany) ou para imunohistoquímica (Superfrost®Plus, Germany), apresentando estas um maior poder de adesão.

3.5.2 Método imunohistoquímico

A técnica foi realizada durante o estágio no período de desenvolvimento do trabalho de mestrado da Professora Daniella Serafin Couto Vieira no Instituto de Patologia e Imunologia Molecular (IPATIMUP) da Universidade do Porto, Portugal, segundo o protocolo

estabelecido e padronizado pelo laboratório de imunoistoquímica daquele Instituto (ANEXO 2).

3.6 Descrição de coleta de dados

1. Os casos incluídos receberam um número seqüencial.
2. Os dados de diagnóstico molecular foram obtidos de estudos prévios^{43,56,57}, cujas técnicas moleculares foram desenvolvidas no Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto, Portugal (IPATIMUP), seguindo protocolos específicos da referida Instituição e divulgados em artigos do grupo de pesquisa^{43,56,57}. Os resultados dos sítios de metástase e os demais dados clínicos necessários à pesquisa foram anotados em uma ficha pré-codificada, especialmente elaborada para este estudo (ANEXO 3).

3.7 Análise estatística

Foi realizada revisão manual das fichas pré-codificadas e as falhas ou inconsistências detectadas foram corrigidas. Posteriormente, os dados foram anotados numa ficha e foram digitados num banco de dados construído em software Excel[®]. Após a digitação foram realizadas tabelas descritivas para a avaliação da consistência dos dados e, em seguida, o arquivo gerado foi transportado para o programa Epidata (www.epidata.dk).

Para a realização da análise estatística os dados foram descritos por meio de frequências absolutas (n) e relativas (%).

A idade e o tamanho do tumor foram estudados quanto ao subtipo de tumor através dos testes de Kruskal-Wallis ou Mann-Whitney (para as comparações múltiplas ou basal versus não basal). A associação entre as demais variáveis foi avaliada através do teste de qui-quadrado ou exato de Fisher⁴⁷.

O nível de significância foi de 5% e o *software* utilizado para análise foi o SAS versão 9.1.3.

3.8 Aspectos Éticos

O projeto deste trabalho foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, de acordo com a Resolução n°. 196/96,

251/97 e 292/99, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde, com parecer consubstanciado – Projeto n° 355/2008, aprovado em reunião do dia 15 de dezembro de 2008 (ANEXO 4).

4 RESULTADOS

Os sítios de metástase mais freqüentes nos subtipos do carcinoma de mama foram linfonodo (25,6%) e osso (5,4%). Sendo que o sítio de metástase para linfonodo foi mais freqüente no subtipo superexpressão do HER2 (37,5%). Observa-se que, nenhum caso de carcinoma subtipo luminal B apresentou metástase. No que se refere ao sítio de metástase para osso, verifica-se que esteve presente nos subtipos luminal A e superexpressão do HER2 em igual percentual (8,3%) e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,02$) (Tabela 1).

Ao compararmos o subtipo basal ao subtipo não basal - grupo formado pelos subtipos luminal A, luminal B e superexpressão do HER2 – constatamos que o sítio de metástase para linfonodo foi mais freqüente no subtipo basal (31,7%), correspondendo a 13 casos. Contudo, a freqüência de sítios de metástases para linfonodos em relação ao subtipo basal e não-basal não apresentou significância estatística ($p=0,22$). Por outro lado, a freqüência de sítio de metástase para osso apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,01$) em relação aos subtipos basal e não basal. O subtipo basal não apresentou sítio de metástase para osso, enquanto o subtipo não-basal apresentou sete casos com sítio de metástases para osso (8,0%) (Tabela 2).

Tabela 1: Associação de sítios de metástases nas pacientes diagnosticadas com carcinoma de mama subtipo luminal A, luminal B, superexpressão de HER2 e basal.

Sítios de Metástase	Subtipo Molecular										p
	Luminal A		Luminal B		Superexpressão HER2		Basal		Total		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Osso											0,02
Sim	5	(8,3)	0	(0,0)	2	(8,3)	0	(0,0)	7	(5,4)	
Não, mas metástase em outro sítio	16	(26,7)	0	(0,0)	10	(41,7)	22	(53,7)	48	(37,2)	
Sem metástase	39	(65,0)	4	(100,0)	12	(50,0)	19	(46,3)	74	(57,4)	
Fígado											0,18
Sim	2	(3,3)	0	(0,0)	0	(0,0)	2	(4,9)	4	(3,1)	
Não, mas metástase em outro sítio	19	(31,7)	0	(0,0)	12	(50,0)	20	(48,8)	51	(39,5)	
Sem metástase	39	(65,0)	4	(100,0)	12	(50,0)	19	(46,3)	74	(57,4)	
Pulmão											0,25
Sim	3	(5,0)	0	(0,0)	1	(4,2)	2	(4,9)	6	(4,7)	
Não, mas metástase em outro sítio	18	(30,0)	0	(0,0)	11	(45,8)	20	(48,8)	49	(38,0)	
Sem metástase	39	(65,0)	4	(100,0)	12	(50,0)	19	(46,3)	74	(57,4)	
Linfonodo											0,22
Sim	11	(18,3)	0	(0,0)	9	(37,5)	13	(31,7)	33	(25,6)	
Não, mas metástase em outro sítio	10	(16,7)	0	(0,0)	3	(12,5)	9	(22,0)	22	(17,1)	
Sem metástase	39	(65,0)	4	(100,0)	12	(50,0)	19	(46,3)	74	(57,4)	
Sistema Nervoso Central											0,10
Sim	0	(0,0)	0	(0,0)	1	(4,2)	1	(2,4)	2	(1,6)	
Não, mas metástase em outro sítio	21	(35,0)	0	(0,0)	11	(45,8)	21	(51,2)	53	(41,1)	
Sem metástase	39	(65,0)	4	(100,0)	12	(50,0)	19	(46,3)	74	(57,4)	

* Teste de χ^2 ou exato de Fisher

—

Tabela 2: Associação de sítios de metástases nas pacientes diagnosticadas com carcinoma de mama subtipo não basal e basal.

Sítios de Metástase	Subtipo Molecular						<i>p</i>
	Não basal		Basal		Total		
	n	%	n	%	n	%	
Osso							
Sim	7	(8,0)	0	(0,0)	7	(5,4)	0,01
Não, mas metástase em outro sítio	26	(29,5)	22	(53,7)	48	(37,2)	
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)	
Fígado							
Sim	2	(2,3)	2	(4,9)	4	(3,1)	0,16
Não, mas metástase em outro sítio	31	(35,2)	20	(48,8)	51	(39,5)	
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)	
Pulmão							
Sim	4	(4,5)	2	(4,9)	6	(4,7)	0,21
Não, mas metástase em outro sítio	29	(33,0)	20	(48,8)	49	(38,0)	
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)	
Linfonodo							
Sim	20	(22,7)	13	(31,7)	33	(25,6)	0,22
Não, mas metástase em outro sítio	13	(14,8)	9	(22,0)	22	(17,1)	
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)	
Sistema Nervoso Central							
Sim	1	(1,1)	1	(2,4)	2	(1,6)	0,19
Não, mas metástase em outro sítio	32	(36,4)	21	(51,2)	53	(41,1)	
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)	

Teste χ^2 ou exato de Fisher

No que se refere ao tamanho do tumor ao diagnóstico de carcinoma de mama, o subtipo basal obteve a maior média de tamanho ao diagnóstico (Tabela 3).

Em relação à idade ao diagnóstico de carcinoma de mama, o subtipo luminal B apresentou a menor média de idade (44,8 anos).(Tabela 4).

Tabela 3: Relação entre os subtipos de carcinoma de mama e o tamanho do tumor ao diagnóstico.

Subtipo Molecular	Tamanho do Tumor					n
	Média	Desvio- Padrão	Median a	Mínim o	Máxim o	
Luminal A	2,8	1,8	2,3	0,3	10,0	60
Luminal B	3,1	2,4	2,5	1,0	6,5	4
Superexpressão HER2	3,4	2,1	3,0	0,5	9,0	24
Basal	4,2	3,1	3,0	0,9	14,0	41

Tabela 4: Relação entre o subtipo de carcinoma de mama e a idade ao diagnóstico.

Subtipo Molecular	Idade					N
	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo	
Luminal A	55,6	13,1	55,0	31,0	86,0	60
Luminal B	44,8	11,2	40,5	37,0	61,0	4
Superexpressão HER2	58,0	13,9	59,0	34,0	82,0	24
Basal	50,3	12,9	47,0	30,0	85,0	41

5 DISCUSSÃO

Neste estudo, verifica-se que o sítio de metástase para osso esteve presente nos subtipos luminal A e superexpressão do HER2 em igual percentual (8,3%) e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,02$). Em outro relato, o sítio de metástase para osso foi mais freqüente nos subtipos luminal A e B agrupados ($p=0,0031$)²⁷. Quando os subtipos luminal A e B foram analisados separadamente, somente o subtipo luminal A foi associado a maior presença de sítio de metástase para osso ($p=0,056$)²⁷.

Neste estudo também houve diferença estatisticamente significativa quando comparada a freqüência de sítios de metástases para osso nos subtipos basal e não basal ($p=0,01$), não sendo encontrados sítios de metástases para osso no subtipo basal. Esses resultados estão em concordância com outros estudos, que demonstraram correlação estatisticamente significativa entre a maior freqüência de sítio de metástase para osso no subtipo não-basal em relação ao subtipo basal²⁸. No entanto, outro estudo ao avaliar 105 carcinomas de mama, não encontrou diferença estatística ao comparar a presença de sítio de metástase para osso nos subtipos basal e não basal⁴⁸.

Outro aspecto a considerar em relação ao sítio de metástase para osso é a expressão de receptores hormonais, como receptor de estrogênio (RE), receptor de progesterona (RP) e receptor de androgênio (RA). Quando avaliados RE e RP em relação ao sítio de metástase para osso, verificou-se que 83% dos carcinomas de mama com sítio de metástase para osso eram RE+ e RP+⁴⁹. No estudo de Bing *et al*, foi constatado que o sítio de metástase para osso foi mais freqüente em carcinomas de mama RE+ (85%) e RA+ (95%), o que demonstrou diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$)⁴⁸. Além disso, carcinomas de mama com sítio de metástase para osso foram fortemente associados com RE+ e RP- quando comparados com carcinomas de mama com ausência de sítio de metástase para osso ($p=0,0001$)⁴⁸. A expressão de RA, além de estar mais relacionada a sítio de metástase para osso ($p<0,05$), também foi relacionado a melhor prognóstico no carcinoma de mama⁴⁸. Outro estudo com 1944 casos de carcinoma de mama invasivo verificou que RA+, tamanho do tumor e sítio de metástase para linfonodos foram melhores fatores prognósticos do carcinoma de mama invasivo se comparados à expressão de RE, RP, HER2, EGFR e p53¹⁰.

Este estudo mostrou que o sítio de metástase do carcinoma de mama mais freqüente foi linfonodo constituindo o maior percentual de sítio de metástase para os subtipos luminal A (18,3%), superexpressão do HER2 (37,5%) e basal (31,7%). Quando comparado o subtipo basal ao subtipo não basal, o sítio de metástase para linfonodo foi mais freqüente no subtipo basal (31,7%), entretanto sem significância estatística ($p=0,22$).

Estes dados se aproximaram aos encontrados por Fulford *et al.*²⁵ que, ao estudar as vias de disseminação metastática do carcinoma de mama, constatou a prevalência de sítio de metástase do carcinoma de mama para linfonodo em 17,5% dos casos²⁵. Outro estudo ressaltou a importância da avaliação do sítio de metástase para linfonodo como fator prognóstico, aliado à avaliação do tamanho do tumor e do grau de diferenciação histológica com o intuito de estabelecer o risco de desenvolver metástase em outros sítios e identificar as pacientes que mais se beneficiariam com uma terapia adjuvante sistêmica²⁶. Entretanto estes estudos não avaliaram o sítio de metástase para linfonodo em relação à classificação molecular.

Ao utilizar o perfil triplo negativo, ou seja, ausência de RE, RP ou HER2, para caracterizar o carcinoma de mama subtipo basal, verificou-se maior tendência para via hematogênica de disseminação metastática do que a via linfática. Entretanto o sítio de metástase para linfonodo esteve presente em 40% das 180 mulheres com carcinoma de mama triplo negativo, apesar de não existir relação com o tamanho do tumor³¹.

Alguns trabalhos ao analisarem a expressão de proteínas como as citoqueratinas 5/6, 14 e 17, vimentina, laminina, fascina e EGFR nos carcinomas de mama triplo negativo e subtipo basal constataram naqueles carcinomas que expressavam tais proteínas maior tendência para desenvolver sítio de metástase para SNC, pulmão e fígado^{34,31}. Ou ainda, a expressão dessas proteínas no carcinoma de mama triplo negativo e subtipo basal esteve associada à menor tendência das células malignas infiltrarem o tecido ósseo, caracterizando um sítio de metástase para osso^{34,31}.

Em relação à frequência de sítios de metástase para SNC do carcinoma de mama, os valores na literatura diferem bastante, variando 10 a 40%⁵⁰. Esta significativa diferença de incidência de sítio de metástase para SNC nos diversos estudos se deve ao desenvolvimento e a possibilidade de terapia alvo-específica para as pacientes com metástase fora do SNC o que

lhes garante maior sobrevida, além de métodos mais eficazes na detecção de sítio de metástase para SNC^{50,51}.

O presente estudo mostrou que o sítio de metástase para SNC do carcinoma de mama esteve presente em maior proporção no subtipo superexpressão do HER2 (4,2%) do que no subtipo basal (2,4%); e não houve presença de sítio de metástase para SNC nos outros subtipos. Por outro lado, em outro estudo foram encontrados sítios de metástase para o SNC para os mesmos subtipos, porém com frequência maior, sendo para o carcinoma de mama subtipo basal de 11,1%; e do carcinoma subtipo superexpressão do HER2 de 2,9 %²⁷.

Ainda cabe destacar que a presença de sítio de metástase para SNC esteve relacionado com mulheres mais jovens, negatividade de receptor hormonal, superexpressão de HER2 e positividade de citoqueratinas características das células basais/mioepiteliais (CK5, CK6, CK17)^{25,50}. Em estudo de base populacional, 64% dos carcinomas de mama com presença de sítio de metástase para SNC eram RE- e RP- e 27% apresentaram superexpressão do HER2⁵⁰. Outro estudo mostrou que 82% dos carcinomas de mama com sítio de metástase para SNC expressaram receptor hormonal²⁵. Ainda não está claro se a associação entre a ausência de receptor hormonal no carcinoma de mama e o desenvolvimento de sítio de metástase para SNC reflete algum aspecto biológico inerente do carcinoma de mama receptor hormonal negativo, ou se isto está relacionado com o fato de que estes carcinomas de mama são HER2 positivo e/ou fenótipo basal positivo²⁵.

O presente estudo, ao avaliar o sítio de metástase para pulmão, encontrou maior frequência deste sítio no carcinoma de mama subtipo basal (4,9%) do que no subtipo não basal (4,5%), porém estes dados não foram estatisticamente significantes ($p=0,21$). Por outro lado, outro estudo verificou que o sítio de metástase para pulmão foi mais frequente no subtipo basal (52%) do que no subtipo não basal (23%), e este resultado foi estatisticamente significativo ($p=0,001$)²⁸.

Outra linha de pesquisa conduzida recentemente analisou a expressão de fascina, proteína envolvida na estrutura de motilidade celular, com o intuito de avaliar sua influência na capacidade do carcinoma de mama desenvolver sítios de metástase para pulmão^{52,53}. A proteína fascina foi identificada como sendo um gene envolvido na capacidade do carcinoma de mama desenvolver sítio de metástase para pulmão⁵². No entanto, em outro estudo não houve associação entre a expressão da proteína fascina e este sítio de metástase⁵³.

Quando estudamos a média de idade ao diagnóstico de carcinoma de mama foi observado que as pacientes com diagnóstico de carcinoma de mama subtipo basal tiveram em média 50,3 anos, sendo próxima à média de idade encontrada em outro estudo que foi de 51,5

anos²⁸. Há evidências de que mulheres com menos de 50 anos ao diagnóstico de carcinoma de mama RE- têm risco de 53 a 55% de chance para desenvolver sítio de metástase para SNC^{28,50}.

Outro estudo mostrou que 58% das mulheres com carcinoma de mama com perfil triplo-negativo possuíam menos de 50 anos ao diagnóstico de carcinoma de mama. Ainda, 40% daquelas com carcinoma de mama subtipo luminal A eram mais jovens que 50 anos⁵⁴.

Em relação a outro resultado deste estudo que foi o tamanho do tumor ao diagnóstico, observamos que o carcinoma de mama subtipo basal foi o que apresentou o maior tamanho, correspondendo a 4,2 centímetros. Foulkes *et al*⁵⁵ mostrou que o tamanho do tumor ao diagnóstico de carcinoma de mama subtipo basal não mostrou ser um fator prognóstico relevante de sobrevida, diferente do subtipo não-basal em que o tamanho do tumor associado à presença de sítio de metástase para linfonodo corresponde a um prognóstico desfavorável⁵⁵.

Em resumo, dentre os resultados mais importantes de nosso estudo está que os subtipos luminal A e superexpressão de HER2 tiveram associação com a presença de metástase óssea. Este resultado está de acordo com os atuais conhecimentos da literatura vigente, e acreditamos que de alguma forma possamos ter contribuído para a abordagem diagnóstica complementar dos pacientes com carcinoma de mama.

6 CONCLUSÕES

Respostas aos objetivos específicos

1. A frequência de sítios de metástases nos subtipos de carcinoma de mama foi:
 - Osso: 8,3% luminal A; 0,0% no luminal B; 8,3% no superexpressão do HER2; 0,0% no basal.
 - Fígado: 3,3% no luminal A; 0,0% no luminal B; 0,0% no superexpressão do HER2; 4,9% no basal.
 - Pulmão: 5,0% no luminal A; 0,0% no luminal B; 4,2% no superexpressão do HER2; 4,9% no basal.
 - Linfonodo: 18,3% no luminal A; 0,0% no luminal B; 37,5% no superexpressão do HER2; 31,7% no basal.
 - SNC: 0,0% no luminal A; 0,0% no luminal B; 4,2% no superexpressão do HER2; 2,4% no basal.

2. Quando agrupados em subtipo não basal e basal a frequência dos sítios de metástase foram:
 - Osso: 8,0% no não-basal e 0,0% no basal.
 - Fígado: 2,3% no não-basal e 4,9% no basal.
 - Pulmão: 4,5% no não-basal e 4,9% no basal.
 - Linfonodo: 22,7% no não-basal e 31,7% no basal.
 - SNC: 1,1% no não-basal e 2,4% no basal.

3. A média de tamanho do tumor ao diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de mama, segundo os subtipos foi:
 - Luminal A: 2,8 centímetros.
 - Luminal B: 3,1 centímetros.
 - Superexpressão do HER2: 3,4 centímetros.

- Basal: 4,2 centímetros.
4. A média de idade em anos ao diagnóstico anatomopatológico de carcinoma de mama, segundo os subtipos foi:
- Luminal A: 55,6 anos.
 - Luminal B: 44,8 anos.
 - Superexpressão do HER2: 58,0 anos.
 - Basal: 50,3 anos.
5. No que se refere ao sítio de metástase para osso, verifica-se que esteve presente nos subtipos luminal A e superexpressão do HER2 em igual percentual (8,3%) e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,02$).

O subtipo basal não apresentou sítio de metástase para osso, enquanto o subtipo não-basal apresentou sete casos com sítio de metástases para osso (8,0%).

Considerações finais

A presença de sítios de metástases ósseas nos subtipos luminais mostra que a classificação molecular dos casos estudados estava correta, pois é exatamente este o comportamento que tem se observado para estes tumores segundo a literatura. Embora o sítio de metástase para linfonodo tenha sido o mais freqüente para o subtipo basal quando comparado ao subtipo não-basal, o pequeno número de casos não permitiu avaliar as diferenças entre os subtipos. Muito provavelmente não foi encontrado um maior número de metástases viscerais nos basais (especialmente pulmão e SNC) devido ao pequeno número de casos. Futuros estudos serão necessários para o melhor conhecimento dos sítios de metástase do carcinoma de mama.

Sugestões para o futuro

Como o tamanho amostral foi pequeno, somente foi possível mostrar grandes diferenças entre os subtipos de carcinoma de mama. Assim, pretendemos ampliar esta amostra para demonstrar se o subtipo basal terá maior freqüência de metástases viscerais e linfonodais e menor freqüência de metástases ósseas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005 Mar-Apr; 55(2):74-108.
2. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2008 [homepage da Internet]. Atlanta: American Cancer Society; 2008. [acesso em 02 de outubro de 2009]. Disponível em: <http://www.cancer.org/>.
3. World Health Organization [homepage na Internet]. WHO Global InfoBase Online. Cancer Review. The impact of Cancer. [acesso em 25 de setembro de 2009]. Disponível em: <http://www.who.int/research/en>.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativas 2008: Incidência de câncer no Brasil [homepage na Internet]. Rio de Janeiro: INCA; 2007. [acesso em 25 de setembro de 2009]. Disponível em: <http://www.inca.org.br/epidemiologia/estimativa2008>.
5. Hallal ALC, Gotlieb SLD, Latorre MRDO. Evolução da mortalidade por neoplasias malignas no Rio Grande do Sul, 1979-1995. *Rev. bras. epidemiol.* 2001 Nov; 4(3):168-77.
6. Gonçalves ATC, Jobim PFC, Vanacor R, Nunes LN, Albuquerque IM, Bozzetti MC. Câncer de mama: mortalidade crescente na Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002. *Cad. Saúde Pública.* 2007 Ago;23(8):1785-90.
7. Tavassoli FA, Devilee P, editores. World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. Lyon: IARC; 2003.
8. Simpson PT, Reis-Filho JS, Gale T, Lakhani SR. Molecular evolution of breast cancer. *J. Pathol.* 2005; 205(2):248-54.
9. Lakani SR, Ashworth A: Microarray and histopathological analysis of tumours: the future and the past? *Nat Rev Cancer.* 2001 Nov;1(2):151-7.
10. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AH, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007 Jan 1;109(1):25-32.

11. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000 Aug 17;406(6797):747-52.
12. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jul 8;100(14):8418-23.
13. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 2006 Jun 7;295(21):2492-502.
14. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol*. 2006 Feb;19(2):264-71.
15. Tsuda H, Takarabe T, Hasegawa F, Fukutomi T, Hirohashi S. Large, central acellular zones indicating myoepithelial tumor differentiation in high-grade invasive ductal carcinomas as markers of predisposition to lung and brain metastases. *Am. J. Surg. Pathol*. 2000 Feb; 24(2):197-202.
16. Sotiriou C, Neo S-Y, McShane LM, Korn E, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci* 2003 Sep 2; 100(18):10393-8.
17. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, Hernandez-Boussard T, Livasy C, Cowan D, Dressler L, Akslen LA, Ragaz J, Gown AM, Gilks CB, van de Rijn M, Perou CM. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004 Aug 15;10(16):5367-74.
18. Gusterson BA, Ross DT, Heath VJ, Stein T. Basal cytokeratins and their relationship to the cellular origin and functional classification of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2005 May 5; 7(4): 143-8.
19. Jones C, Mackay A, Grigoriadis A et al. Expression profiling of purified normal human luminal and myoepithelial breast cells: identification of novel prognostic markers for breast cancer. *Cancer Res*. 2004 May 1; 64(9): 3037-45.
20. Lakani SR, O'Hare MJ. The mammary myoepithelial cell – Cinderella or ugly sister? *Breast Cancer Res*. 2001 Nov 2; 3(1): 1-4.
21. Page MJ, Amess B, Townsend RR et al. Proteomic definition of normal human luminal and myoepithelial breast cells purified from reduction mammoplasties. *Proc. Natl Acad. Sci*. 1999 Oct 26; 96(22):12589-94.

22. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2004 Aug 15;10(16):5367–74.
23. Fulford LG, Easton DF, Reis-Filho JS et al. Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast *Histopathology* 2006 Jul; 49(1): 22-34.
24. Lakani SR, Reis –Filho JS, Fulford et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype. *Clin. Cancer Rs.* 2005 Jul15;11(14):5175-80.
25. Fulford LG, Reis-Filho JS, Ryder K et al. Basal-like grade III invasive ductal carcinoma of the breast: patterns of metastasis and long-term survival. *Breast Cancer Res* 2007; 9(1):R4.
26. Weigelt B, Peterse JL, van 't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models. *Nat Rev Cancer.* 2005 Aug;5(8):591-602.
27. Smid M, Wang Y, Zhang Y, Sieuwerts AM, Yu J, Klijn JG, Foekens JA, Martens JW. Subtypes of breast cancer show preferential site of relapse. *Cancer Res.* 2008 Maio1;68(9):3108-14.
28. Luck AA, Evans AJ, Green AR, Rakha EA, Paish C, Ellis IO. The influence of basal phenotype on the metastatic pattern of breast cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2008 Fev;20(1):40-5.
29. Liu ZB, Wu J, Ping B, Feng LQ, Di GH, Lu JS, Shen KW, Shen ZZ, Shaol ZM. Basal cytokeratin expression in relation to immunohistochemical and clinical characterization in breast cancer patients with triple negative phenotype. *Tumori.* 2009 Jan-Feb;95(1):53-62.
30. Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, Weigelt B, Peterse H, Bartelink H, van de Vijver MJ. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res.* 2007;9(5):R65.
31. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2009 Maio;115(2):423-8.
32. Vieira DSC, Dufloth RM, Schmitt FCL, Zeferino LC. Carcinoma de mama: novos conceitos na classificação: [revisão] / Breast cancer: new concepts in classification: *Rev. bras. ginecol. obstet.* 2008 Jan;30(1):42-7.
33. Dufloth RM, Alves JM, Martins D, Vieira DSC, Chikota H, Zeferino LC, Schmitt F. Cytological criteria to predict basal phenotype of breast carcinoma. *Diagnostic Cytopathology.* 2009 Nov;37(11):809-14.

34. Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci*. 2001 Sep 11;98(19):10869–74.
35. Matos I, Dufloth R, Alvarenga M, Zeferino LC, Schmitt F. p63, cytokeratin 5, and P-cadherin: three molecular markers to distinguish basal phenotype in breast carcinomas. *Virchows Arch*. 2005 Oct;447(4):688-94.
36. Dufloth RM, Matos I, Schmitt F, Zeferino LC. Tissue microarrays for testing basal biomarkers in familial breast cancer cases. *Sao Paulo Med J*. 2007 Jul 5;125(4):226-30.
37. Paredes J, Albergaria A, Carvalho S, Schmitt FC. "Basal-like" breast carcinomas: identification by P-cadherin, P63 and EGFR basal cytokeratins expression. *Appl. Cancer Res*. 2006 Apr-Jun;26(2):41-55.
38. Eisenberg A, Koifmann S. Fatores prognósticos do câncer de mama. *Rev Bras Mastol* 2000; 10(2):75-87.
39. Mosesson Y, Chetrit D, Schley L, Berghoff J, Ziv T, Carvalho S, Milanezi F, Admon A, Schmitt F, Ehrlich M, Yarden Y. Monoubiquitinylation regulates endosomal localization of Lst2, a negative regulator of EGF receptor signaling. *Dev Cell*. 2009 May;16(5):687-98.
40. Siziopikou KP, Cobleigh M. The basal subtype of breast carcinomas may represent the group of breast tumors that could benefit from EGFR-targeted therapies. *Breast*. 2007 Feb;16(1):104-7.
41. Banerjee S, Reis-Filho JS, Ashley S, Steele D, Ashworth A, Lakhani SR. Basal-like breast carcinomas: clinical outcome and response to chemotherapy. *J Clin Pathol*. 2006 Jul;59(7):729-35.
42. Kyle T. B. et al. Prognostic and predictive factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 2007.
43. Vieira DSC. Desempenho dos marcadores EGFR, CK5, CK14, p63 e P-caderina para identificar o fenótipo basal do carcinoma de mama [dissertação]. Florianópolis (SC):Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.
44. Schmitt PA, Mucha DR, Vieira DSC, Zeferino LC, Schmitt FCL. Possible Relationship between Basal-Like Breast Carcinoma and Age. *Breast Care* 2009 Jun;(4):183-7.
45. Paredes J, Lopes N, Milanezi F, and Schmitt FC. P-cadherin and cytokeratin 5: useful adjunct markers to distinguish basal-like ductal carcinomas in situ. *Virchows Arch*. 2007 Jan;450(1):73-80.

46. Tsuda H, Takarabe T, Hasegawa T, Murata T, Hirohashi S. Myoepithelial differentiation in high-grade invasive ductal carcinomas with large central acellular zones. *Hum Pathol.* 1999 Oct;30(10):1134-9.
47. Altman, DG. *Practical statistics for medical research.* 1 ed. London: Chapman & Hall;1991.
48. Wei B, Wang J, Bourne P, Yang Q, Hicks D, Bu H, Tang P. Bone metastasis is strongly associated with estrogen receptor-positive/progesterone receptor-negative breast carcinomas. *Hum Pathol.* 2008 Dez;39(12):1809-15.
49. Maki DD, Grossman RI. Patterns of disease spread in metastatic breast carcinoma: influence of estrogen and progesterone receptor status. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2000 Jun-Jul;21(6):1064-6.
50. Hicks DG, Short SM, Prescott NL, Tarr SM, Coleman KA, Yoder BJ, Crowe JP, Choueiri TK, Dawson AE, Budd GT, Tubbs RR, Casey G, Weil RJ. Breast cancers with brain metastases are more likely to be estrogen receptor negative, express the basal cytokeratin CK5/6, and overexpress HER2 or EGFR. *Am J Surg Pathol.* 2006 Sep;30(9):1097-104.
51. Miller KD, Weathers T, Haney LG, Timmerman R, Dickler M, Shen J, Sledge GW Jr. Occult central nervous system involvement in patients with metastatic breast cancer: prevalence, predictive factors and impact on overall survival. *Ann Oncol.* 2003 Jul;14(7):1072-7.
52. Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM, Bos PD, Shu W, Giri DD, Viale A, Olshen AB, Gerald WL, Massagué J. Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. *Nature.* 2005 Jul 28;436(7050):518-24.
53. Rodríguez-Pinilla SM, Sarrió D, Honrado E, Hardisson D, Calero F, Benitez J, Palacios J. Prognostic significance of basal-like phenotype and fascin expression in node-negative invasive breast carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2006 Mar 1;12(5):1533-9.
54. Hugh J, Hanson J, Cheang MC, Nielsen TO, Perou CM, Dumontet C, Reed J, Krajewska M, Treilleux I, Rupin M, Magherini E, Mackey J, Martin M, Vogel C. Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of an immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *J Clin Oncol.* 2009 Mar 10;27(8):1168-76.
55. Foulkes WD, Grainge MJ, Rakha EA, Green AR, Ellis IO. Tumor size is an unreliable predictor of prognosis in basal-like breast cancers and does not correlate closely with lymph node status. *Breast Cancer Res Treat.* 2009 Set;117(1):199-204.
56. Alves J. Critérios citológicos para predizer o fenótipo basal do carcinoma de mama. Florianópolis 2008. [Trabalho de conclusão de curso - Graduação Medicina - Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC].

57. Polidoro, A.S. Perfil fenotípico do carcinoma de mama em dois grupos etários distintos. Florianópolis, 2007. [Trabalho de conclusão de curso de graduação em Medicina – Universidade Federal de Santa Catarina/UFSC].

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi realizado seguindo a normalização para trabalhos de conclusão do Curso de Graduação em Medicina, aprovada em reunião do Colegiado do Curso de Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, em 27 de novembro de 2005.

ANEXOS

ANEXO 1



Diretório dos Grupos de Pesquisa no B

Grupo de Pesquisa Cagima



Identificação	Recursos Humanos	Linhas de Pesquisa	Indicadores do Grupo
-------------------------------	----------------------------------	------------------------------------	--------------------------------------

Identificação

Dados básicos

Nome do grupo: Cagima

Status do grupo: **certificado pela instituição**

Ano de formação: 2000

Data da última atualização: 04/09/2006 11:01

Líder(es) do grupo: Luiz Carlos Zeferino - lczeferino@terra.com.br

Sophie Françoise Mauricette Derchain - derchain@supernet.com.br

Área predominante: Ciências da Saúde; Medicina

Instituição: Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP

Órgão: Faculdade de Ciências Médicas Caism

Unidade: Departamento de Tocoginecologia

Endereço

Logradouro: AV. ALEXANDER FLEMING, 101

Bairro: CIDAD. UNIV. ZEFERINO VAZ

CEP: 13083881

Cidade: Campinas

UF: SP

Telefone: 37889516

Fax: 37889302

E-mail: zeferino@caism.unicamp.br

Home page: <http://www.caism.unicamp.br>

Repercussões dos trabalhos do grupo

Aumentar o conhecimento sobre a carcinogênese e a fisiopatologia, que inclui os mecanismos celulares e moleculares envolvidos na defesa, progressão e patogenicidade das neoplasias ginecológicas e mamárias, em busca de avanços na orientação e aprimoramento das ações preventivas, de rastreamento, diagnósticas e terapêuticas; contribuir para o

conhecimento do processo de invasão tumoral, em especial a transformação da neoplasia intra-epitelial em carcinoma invasivo; aprimorar o conhecimento sobre a epidemiologia e história natural da neoplasia do colo uterino em busca de novos parâmetros para a definição de estratégias e normas, visando a aumentar o desempenho do rastreamento desta doença; identificar marcadores de prognóstico e testar novas técnicas terapêuticas que auxiliem no planejamento terapêutico e no seguimento dos pacientes tratados.

Recursos humanos	
Pesquisadores	Total: 13
Cecilia Maria Roteli-Martins	Maria Salete Costa Gurgel
Glauce Aparecida Pinto	Rita Goreti Amaral
Jose Vassallo	Rozany Mucha Dufloth
Julio Cesar Teixeira	Silvia Helena Rabelo dos Santos
Liliana Aparecida Lucci De Angelo Andrade	Sophie Françoise Mauricette Derchain
Luís Otávio Zanatta Sarian	Sylvia Michelina Fernandes Brenna
Luiz Carlos Zeferino	
Estudantes	Total: 15
Adriana Cássia Paiva Santos	Nathalia Ellovitch
Amanda Olivia de Arruda	Raphael Augusto Pioli de Freitas
Anne Melina Ambrósio Avelar	Renata Clementino Gontijo
Claudia Cristina Camisão	Rosana Franco
Eliana Borin Lopes Montemor	Sabas Carlos Vieira
Joana Froes Bragança Bastos	Tatiane Fernandes
Karen Vicência Pingarilho Lombardelli	Vera Lúcia Rezende
Marcela Ponzio Pinto Silva	
Técnicos	Total: 10
Cristiano Aparecido Chagas - Ensino Médio (2o grau) - Técnico de Laboratório	
Deise Regina Giuliette Voltani - Graduação - Técnico de Laboratório	
Douglas Munhoz Montis - Graduação - Médico	
Elisabete Aparecida Campos - Graduação - Biólogo	
Érika Simone Lopes - Graduação - Bioquímico	
Gislaine Aparecida F Carasan - Graduação - Estatístico	
Julia Kawamura Tambascia - Graduação - Médico	
Lucia Maria F de Carvalho - Graduação - Biólogo	
Maria Cristina do Amaral Westin - Graduação - Médico	
Sirlei Siani Moraes - Graduação - Estatístico	

Linhas de pesquisa	Total: 3
---------------------------	-----------------

- [Avaliação dos Procedimentos Diagnósticos e Terapêuticos do Câncer Ginecológico e Mamário](#)
- [Epidemiologia e Prevenção do Câncer Ginecológico e Mamário](#)
- [Mecanismos Celulares e Moleculares Envolvidos na Patogênese e na Progressão do Câncer Ginecológico e Mamário.](#)

Relações com o setor produtivo	Total: 0
---------------------------------------	-----------------

Indicadores de recursos humanos do grupo	
---	--

	Integrantes do grupo	Total
Pesquisador(es)		13
Estudante(s)		15
Técnico(s)		10

ANEXO 2

Protocolo otimizado e estabelecido pelo Laboratório de Imunoistoquímica

TÉCNICA DE IMUNOISTOQUÍMICA (KIT LABVISION)

Caso as lâminas estejam protegidas com uma camada de parafina, devem ser colocadas numa cuvette de vidro, imersas em *Clear-Rite* (agente desparafinante, MICROM International) e colocadas posteriormente na estufa a 60°C. Após aproximadamente 30 minutos, deve-se proceder à desparafinação e hidratação dos cortes no aparelho Leica AutoStainer XL.

1. Recuperação Antigênica

Solução Retrieval

Diluir a solução retrieval (VectorR) 1/100 em água desionizada. Acertar o pH da solução a 6.00 (6.00-6.02). Pré-aquecer a solução em banho-maria a 98°C durante 5 minutos (numa cuvette de plástico). Colocar as lâminas durante 20 minutos (ou 30, conforme o anticorpo) na solução dentro do banho-maria e deixar arrefecer a solução a temperatura ambiente durante 5 minutos. Colocar as lâminas em PBS.

Solução de EDTA

Diluir a solução EDTA (Labvision) 1/100 em água destilada. Acertar o pH da solução a 8.00 (8.00-8.02). Pré-aquecer a solução em banho-maria a 98°C durante 5 minutos (numa cuvette de plástico). Colocar as lâminas durante 20 minutos na solução dentro do banho-maria e deixar arrefecer a solução a temperatura ambiente durante 5 minutos. Colocar as lâminas em PBS.

2. Bloqueio da Peroxidase Endógena

Para bloqueio da peroxidase endógena, coloca-se sobre a área delimitada (com caneta hidrofóbica) 100ul de solução de peróxido de hidrogênio a 3% diluído em metanol durante 10 minutos.

Lavagem em PBS 2-5 minutos (todas as lavagens podem ser feitas diretamente na lamina a fim de evitar demasiados movimentos das cores do array).

3. Bloqueio de Reações Inespecíficas

Incubação das lâminas com 100ul de UltraVisonBlock durante 15 minutos. Após a incubação, retirar o excesso de reagente escorrendo as lâminas e não lavar.

4. Anticorpo Primário

Incubação de 100ul de anticorpo primário durante 30 minutos a temperatura ambiente ou overnight a 4°C. Lavagem em PBS 2-5 minutos.

5. Anticorpo Secundário Biotinilado

Incubação das lâminas com 100ul de anticorpo secundário biotinilado anti-polivalente durante 15 minutos. Lavagem em PBS 2-5 minutos.

6. Complexo Streptavidina Peroxidase

Incubação das lâminas com 100ul do complexo streptavidina peroxidase durante 15 minutos. Lavagem em PBS 2-5 minutos.

7. Cromogênio: Diaminobenzidina (DAB)

Preparar uma solução de diaminobenzidina: 2 gotas de cromogênio DAB para cada mililitro de substrato. Incubar durante 6-7 minutos. Lavagem em água corrente durante 5 minutos.

8. Contraste Nuclear

Contrastar os núcleos com Hematoxilina de Mayer, mergulhando as lâminas neste corante durante 30 segundos. Lavagem em água corrente (ter o cuidado para que a água não caia diretamente nas lâminas). A diferenciação é realizada por imersão repetida (cerca de 10

vezes) em água amoniaca 1%. Lavagem em água corrente. Após o contraste, desidratam-se as lâminas numa série crescente de alcoóis (70%, 95% e absoluto).

ANEXO 3

Ficha para coleta de dados

Informação das pacientes com carcinoma de mama

Número do caso no estudo _____

Número do registro no SAP _____

Número do prontuário do HU _____

1º Parte

Data do diagnóstico _____

Data da última consulta _____

Idade ao diagnóstico _____

2º Parte

Metástase

 Não Sim

Sítio de metástase

 Sistema nervoso Central Fígado Osso Linfonodo Pulmão

3º Parte

Tamanho tumoral _____

Classificação do subtipo tumoral _____

ANEXO 4



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos

CERTIFICADO Nº 320

O Comitê de Ética na Pesquisa em Seres Humanos (CEPSH) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão da Universidade Federal de Santa Catarina, instituído pela PORTARIA N.º 0584/GR/99 de 04 de novembro de 1999, com base nas normas para a constituição e funcionamento do CEPSH, considerando o contido no Regimento Interno do CEPSH, **CERTIFICA** que os procedimentos que envolvem seres humanos no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

APROVADO

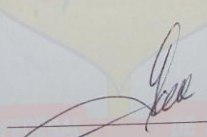
PROCESSO: 355/08 FR- 232884

TÍTULO: Análise dos sítios metastáticos do subtipo basal do carcinoma de mama..

AUTOR: Rozany M. Dufloth e Renata da S. Almeida Santos.

DPTO.: Saúde Pública/CCS/UFSC

FLORIANÓPOLIS, 15 de dezembro de 2008.


Coordenador do CEPSH/UFSC - Prof.º Washington Portela de Souza

ANEXO 5

ANÁLISE DOS SÍTIOS METASTÁTICOS DO SUBTIPO BASAL DO CARCINOMA DE MAMA

Renata da Silva Almeida Santos, MS¹; Daniella Serafin Couto Vieira, MD, MSc¹; Carlos Gilberto Crippa, MD, MSc²; Fernando Schmitt, MD, PhD³; Luiz Carlos Zeferino, MD, PhD⁴ e Rozany Mucha Dufloth, MD, PhD¹

1. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC
2. Departamento de Tocoginecologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC
3. Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto, Portugal
4. Departamento de Tocoginecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP

Contato: rozany.ufsc@gmail.com

INTRODUÇÃO: O carcinoma de mama é a neoplasia maligna mais freqüente na mulher, compreende um grupo de tumores heterogêneos com marcadores biológicos distintos caracterizando diversos fenótipos. Embora ainda são poucos os estudos sobre os sítios de metástase do subtipo basal.

OBJETIVO GERAL: Avaliar os sítios de metástase nas pacientes diagnosticadas com carcinoma de mama, seguindo a atual classificação molecular.

MÉTODOS: Foram estudados carcinomas de mama invasores, através da técnica de *tissue microarrays* (Fig.1), sendo classificados inicialmente em fenótipos luminal A e B, superexpressão de HER2 e basal, os quais foram agrupados para fins de análise estatística, totalizando 196 casos. Os blocos de parafina de tumores de carcinoma de mama e os dados clínicos foram obtidos no Serviço de Patologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina. Foram excluídas as pacientes que não possuíam os dados clínicos essenciais para a realização deste estudo.

RESULTADOS: Observamos que os sítios de metástase mais freqüentes do carcinoma de mama foram: linfonodo (25,6%) e osso (5,4%). Sendo que o sítio de metástase para linfonodo foi proporcionalmente maior no subtipo superexpressão do HER2 (37,5%), o sítio de metástase para osso esteve presente apenas nos subtipos luminal A e superexpressão do HER2 em igual percentual (8,3%) e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p=0,02$). Quando agrupados os fenótipos em duas categorias (basal e não-basal), constatamos que o sítio de metástase para linfonodo foi mais freqüente no subtipo basal (31,7%), correspondendo a 13 de 41 casos, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa ($p=0,22$).

Fig 1. Técnica de *Tissue microarray*

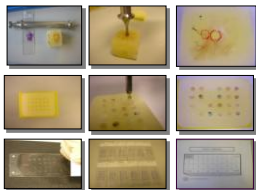


Tabela: Análise de sítios de metástases nas pacientes diagnosticadas com carcinoma de mama subtipo não basal e basal

	Subtipo Molecular				Total	p
	Não basal		Basal			
	n	%	n	%		
Sítios de Metástases						
Osso						0,01
Sim	7	(8,0)	0	(0,0)	7	(5,4)
Não, mas metástase em outro sítio	26	(29,5)	22	(53,7)	48	(37,2)
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)
Fígado						0,16
Sim	2	(2,3)	2	(4,9)	4	(3,1)
Não, mas metástase em outro sítio	31	(35,2)	20	(48,8)	51	(39,5)
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)
Pulmão						0,21
Sim	4	(4,5)	2	(4,9)	6	(4,7)
Não, mas metástase em outro sítio	29	(33,0)	20	(48,8)	49	(38,0)
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)
Linfonodo						0,22
Sim	20	(22,7)	13	(31,7)	33	(25,6)
Não, mas metástase em outro sítio	13	(14,8)	9	(22,0)	22	(17,1)
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)
Sistema Nervoso Central						0,19
Sim	1	(1,1)	1	(2,4)	2	(1,6)
Não, mas metástase em outro sítio	32	(36,4)	21	(51,2)	53	(41,1)
Sem metástase	55	(62,5)	19	(46,3)	74	(57,4)

CONCLUSÃO: O sítio de metástase para linfonodo foi o mais freqüente para o subtipo basal. O melhor conhecimento dos sítios de metástase do carcinoma de mama subtipo basal tem importância clínica devido ao fato destes tumores apresentarem comportamento biológico peculiar e prognóstico reservado, cuja terapia alvo-específica está em desenvolvimento.