

**CARCINOMA DUCTAL IN SITU DE MAMA:
AVALIAÇÃO DE POTENCIAIS FATORES
PROGNÓSTICOS**

RENATO CAGNACCI NETO

**Dissertação apresentada à Fundação Antônio
Prudente para obtenção do título de Mestre
em Ciências**

Área de concentração: Oncologia

Orientador: Dr. Victor Piana de Andrade

Co-Orientadora: Dra. Maria do Socorro Maciel

São Paulo

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca da Fundação Antônio Prudente

Cagnacci Neto, Renato

Carcinoma ductal *in situ* de mama: avaliação de potenciais fatores prognósticos / Renato Cagnacci Neto – São Paulo, 2014.

66p.

Dissertação (Mestrado)-Fundação Antônio Prudente.

Curso de Pós-Graduação em Ciências - Área de concentração: Oncologia.

Orientador: Victor Piana de Andrade

Descritores: 1. CARCINOMA DUCTAL IN SITU DE MAMA. 2. MATRIZ EXTRACELULAR. 3. METALOPROTEINASES 4. CÉLULAS MIOEPITELIAIS.

DEDICATÓRIA

À minha família, meus colegas de trabalho e a meus pacientes, a quem espero ajudar com meu estudo.

AGRADECIMENTOS

A meu orientador, Dr. Victor Piana de Andrade, pelo inestimável auxílio prestado neste projeto, assim como pela resignação, pelo tempo e esforço despendido neste.

Ao Prof. Dr. Fernando Augusto Soares, diretor do Departamento de Patologia do A.C.Camargo Cancer Center, por ter tornado este projeto realidade.

À Dra. Maria do Socorro Maciel, por ter sido co-orientadora deste projeto, pelo auxílio e confiança na realização deste.

Ao Dr. Hugo Fontan Kohler, pelo auxílio na elaboração da análise estatística do projeto.

Aos colegas do Departamento de Mastologia do A.C.Camargo Cancer Center, pelo estímulo à publicação científica.

A meus pais e irmã, Berenice A. Mendes Cagnacci, Hilário Romanezi Cagnacci e Paula H. Cagnacci, pelo apoio e estímulo constante a minha aprimoração e estudo da medicina.

À minha esposa, Allyne Q. C. Cagnacci, por não só entender meus momentos de ausência como também me apoiar constantemente na realização deste projeto.

Aos funcionários do Departamento de Anatomia Patológica, pela disponibilização e preparação do material estudado.

Aos funcionários da Biblioteca do A.C.Camargo Cancer Center, em especial à Bibliotecária Chefe Suely, pelo auxílio na confecção desta dissertação.

Aos funcionários da Pós-Graduação do A.C.Camargo Cancer Center, pelo seu auxílio e constante esforço em manter o departamento entre os melhores do país.

A todos que ajudaram direta ou indiretamente na realização deste projeto.

RESUMO

Cagnacci Neto R. **Carcinoma ductal *in situ* de mama: avaliação de potenciais fatores prognósticos**. São Paulo; 2014. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Introdução: O carcinoma ductal *in situ* de mama, apesar de consistir em doença inicial e de bom prognóstico, tem na terapêutica a mesma agressividade utilizada em tumores invasivos. O tratamento geralmente é multimodal, trazendo impacto às pacientes. O presente estudo tem por objetivo avaliar características morfológicas e marcadores imuno-histoquímicos do carcinoma ductal *in situ* de mama, correlacionando-os com evolução e prognóstico dos pacientes. **Método:** Foram revisados 565 prontuários de pacientes com CDIS tratados no A.C.Camargo Cancer Center, no período de 2000 a 2008. Destes, selecionamos 12 casos de CDIS recidivados ou novos carcinomas ductais de mama, pareados com 24 controles. Realizamos avaliação de variáveis epidemiológicas e morfológicas tradicionais, além da análise imuno-histoquímica para marcadores de metaloproteinases (MMP 1, MMP 2 e MMP9) e marcadores de células mioepiteliais (CD 10, AML, P63, Calponina, CK 5/6), com objetivo de correlacioná-los com recorrência da doença. **Resultados:** Observamos a seguinte distribuição de variáveis imuno-histoquímicas nos 12 casos estudados: P63 2 negativos, 9 positivos focais, 0 positivos contínuos e 1 indeterminado; CK 5/6 3 negativos, 9 positivos focais, 0 positivos contínuos, CD10 2 negativos, 8 positivos focais e 2 positivos contínuos, AML 3 negativos, 3 positivos fracos, 3 positivos intermediários, 2 positivos fortes e 1 indeterminado, MMP1 0 negativos, 4 positivos fracos, 7 positivos intermediários e 1 positivo forte, MMP2 4 negativos, 7 positivos fracos, 1 positivo intermediário e 0 positivos fortes, MMP9 0 negativos, 7 positivos fracos, 4 positivos intermediários e 1 positivo forte. Não houve correlação estatisticamente significativa entre as variáveis estudadas com recorrência local ou novos eventos de câncer de mama. **Conclusão:** Os índices de recidiva nas pacientes com diagnóstico de CDIS no A.C.Camargo Cancer Center são baixos (5,98%), observando-se seguimento mínimo de 60 meses. Não foram identificados fatores clinico-patológicos associados com as recidivas locais de CDIS ou outros eventos de câncer de mama. A expressão de metaloproteinases e marcadores de CME no microambiente tumoral dos CDIS de mama não apresentou correlação estatisticamente significativa com índices de recorrência local e novos eventos de câncer de mama.

SUMMARY

Cagnacci Neto R. [Ductal carcinoma *in situ* of the breast: assessment of potential prognostic factors]. São Paulo; 2014. [Dissertação de Mestrado-Fundação Antônio Prudente].

Introduction: Ductal carcinoma (DCIS) of the breast has historically been treated as aggressively as invasive breast cancer, despite its good prognosis. Treatment is multimodal, which impacts the physical, psychological and social aspects of the patient. To date, there is no prognostic factor able to advocate for less morbid treatment in DCIS. The present study aims to assess the prognostic value of different markers for DCIS. **Methods:** We revised 565 medical records of DCIS patients treated at A.C.Camargo Cancer Center, from 2000 to 2008. We located 12 patients with local recurrence or other cancer events and paired them with 24 controls, according to age, nuclear grade, follow up duration, treatment type and prophylactic hormone therapy. The immunohistochemical staining targeted metalloproteinases (MMP 1, MMP 2 and MMP) and myoepithelial cell markers (CD 10, AML, P63, Calponin, CK 5/6). **Results:** We observed the following immunohistochemical distribution in our cases: P63 2 negative, 9 focal positive, 0 continuous positive and 1 indefinite; CK 5/6 3 negative, 9 focal positive and 0 continuous positive, CD10 2 negative, 8 focal positive and 2 continuous positive, AML 3 negative, 3 weak positive, 3 intermediate positive, 2 strong positive and 01 indefinite, MMP1 0 negative, 4 weak positive, 7 intermediate positive and 1 strong positive, MMP2 4 negative, 7 weak positive, 1 intermediate positive and 0 strong positive, MMP9 0 negative, 7 weak positive, 4 1 intermediate positive and 1 strong positive There was no statistically significant correlation between the immunohistochemical staining and local recurrence or new breast cancer events. **Conclusion:** The recurrence rates at A.C.Camargo Cancer Center are lower than literature results (5,98%, follow up 60 months). There were no identifiable clinicopathological factors related to local recurrence. The metalloproteinases and myoepithelial cell markers expression was not correlated with local recurrence or new breast cancer events.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Carcinoma ductal <i>in situ</i> cribriforme com necrose central.....	2
Figura 2	Fotomicrografias de CDIS em diferentes graus histológicos.....	3
Figura 3	Imunomarcção positiva para receptor de estrógenos no carcinoma ductal <i>in situ</i> de baixo grau.....	7
Figura 4	Imunomarcção negativa para receptor de estrógenos no carcinoma ductal <i>in situ</i> de baixo grau.....	7
Figura 5	Esquema mostrando o papel das metaloproteinases nos processos de invasão, angiogênese e metástase do câncer.....	11
Figura 6	Fotomicrografia do ducto mamário normal mostrando as duas camadas de células: luminal (interna) e mioepitelial (externa, com cabeça da seta).....	15
Figura 7	Fotomicrografia da imunomarcção das células mioepiteliais em camada contínua na periferia dos ductos com carcinoma <i>in situ</i>	16
Figura 8	Fotomicrografia da imunomarcção nuclear para células mioepiteliais utilizando o anticorpo p63.....	17
Figura 9	Fotomicrografia panorâmica da lâmina de <i>tissue microarray</i> com tecidos de 1mm de diâmetro separados por 0,2mm em cada eixo.....	22
Figura 10	Fotomicrografia do carcinoma <i>in situ</i> representado no cilindro de tecido incluído no <i>tissue microarray</i>	22
Figura 11	Fotomicrografias dos tipos morfológicos do estudo.....	23

Figura 12	Fotomicrografias dos tipos de estroma.....	23
Figura 13	Fotomicrografia da imunomarcação de calponina, considerada positiva contínua na periferia dos ductos com carcinoma <i>in situ</i>	25
Figura 14	Fotomicrografia do carcinoma <i>in situ</i> marcado para calponina, considerado positivo focal, 200x.....	26
Figura 15	Fotomicrografia do carcinoma <i>in situ</i> marcado para calponina, considerado negativo, 200x.....	26
Figura 16	Fotomicrografia do carcinoma <i>in situ</i> marcado para MMP 9, considerado positivo forte, 200x.....	27
Figura 17	Fotomicrografia do carcinoma <i>in situ</i> marcado para MMP 2, considerado positivo intermediário, 200x.....	27
Figura 18	Fotomicrografia do carcinoma <i>in situ</i> marcado para MMP 9, considerado positivo fraco, 200x.....	28
Figura 19	Fotomicrografia do carcinoma <i>in situ</i> marcado para MMP 2, considerado negativo, 200x.....	28
Figura 20	Distribuição de idade entre casos e controles.....	40
Figura 21	Presença de comedonecrose entre casos e controles.....	40
Figura 22	Distribuição do tamanho do tumor entre casos e controles, estratificados conforme grupos do critério de Van Nuys (VNPI).....	41
Figura 23	Distribuição dos tipos de estroma analisado nos casos, conforme definição adotada: tipo fibromatose, tipo inflamator�rio, tipo normal e tipo desmoplásico.....	41

Figura 24	Distribuição dos tipos de estroma analisado nos controles, conforme definição adotada: tipo fibromatose, tipo inflamatório, tipo normal e tipo desmoplásico.....	42
Figura 25	Distribuição do grau nuclear entre casos e controles (alto ou baixo/intermediário).....	42
Figura 26	Tipo morfológico entre casos, conforme definição adotada: tipo cribiforme, tipo sólido, tipos sólido e cribiforme, tipo papilar, tipos sólido e micropapilar, tipo cribiforme e micropapilar.....	43
Figura 27	Tipo morfológico entre controles, conforme definição adotada: tipo cribiforme, tipo sólido, tipos sólido e cribiforme, tipo papilar, tipos sólido e micropapilar, tipo cribiforme e micropapilar.....	43
Figura 28	Tratamento adotado entre casos, variando entre conservador ou mastectomia, com ou sem estadiamento axilar (linfonodo sentinela).....	44
Figura 29	Tratamento adotado entre controles, variando entre conservador ou mastectomia, com ou sem estadiamento axilar (linfonodo sentinela).....	44
Figura 30	Taxas de realização de quimioprofilaxia completa com tamoxifeno por 60 meses entre casos e controles.....	45
Figura 31	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa dos receptores de estrogênio nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	45
Figura 32	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa dos receptores de progesterona nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	45
Figura 33	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa dos receptores de HER2 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	46

Figura 34	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína P63 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	46
Figura 35	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa das citoqueratinas CK5/6 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	46
Figura 36	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína CD10 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	47
Figura 37	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína AML nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	47
Figura 38	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína MMP1 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	47
Figura 39	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína MMP2 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	48
Figura 40	Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína MMP9 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal <i>in situ</i> da mama.....	48
Figura 41	Curva de Kaplan-Meier demonstrando recorrência ao longo do tempo (em meses).....	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Relação de anticorpos utilizados, clone utilizado e fabricante.....	24
Quadro 2	Características da apresentação dos carcinomas ductais <i>in situ</i> com recidiva (in situ ou invasiva) incluídos no estudo.....	32
Quadro 3	Características da apresentação dos carcinomas ductais <i>in situ</i> com recidiva (in situ ou invasiva) incluídos no estudo, conforme morfologia e tratamento.....	32
Quadro 4	Características das lesões observadas nas recorrências dos 12 casos índices incluídos no estudo.....	33
Quadro 5	Características da imuno-histoquímica dos carcinomas ductais <i>in situ</i> com recidiva (avaliados no caso índice) incluídos no estudo, compreendendo receptores hormonais, HER2 e metaloproteinases.....	33
Quadro 6	Características da imuno-histoquímica dos carcinomas ductais <i>in situ</i> com recidiva (avaliados no caso índice) incluídos no estudo, compreendendo marcadores de CME.....	34
Quadro 7	Características gerais da apresentação dos carcinomas ductais <i>in situ</i> puros (controles sem recidiva) incluídos no estudo.....	35
Quadro 8	Características da apresentação dos carcinomas ductais <i>in situ</i> puros (controles sem recidivas) incluídos no estudo, conforme morfologia e tratamento.....	36
Quadro 9	Características da imuno-histoquímica dos carcinomas ductais <i>in situ</i> puros (controles sem recidiva) incluídos no estudo, compreendendo receptores hormonais, HER2 e metaloproteinases.....	38

Quadro 10	Características da imuno-histoquímica dos carcinomas ductais <i>in situ</i> puros (controles sem recidiva) incluídos no estudo, compreendendo marcadores de CME.....	39
------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Análise estatística tipo caso controle das variáveis morfológicas, <i>p</i> não significativo em todas variáveis.....	50
Tabela 2	Análise estatística tipo caso controle dos marcadores imunohistoquímicos, <i>p</i> não significativo em todas variáveis.....	50
Tabela 3	Análise estatística tipo de sobrevivência das variáveis morfológicas, <i>p</i> não significativo em todas variáveis.....	51
Tabela 4	Análise estatística tipo de sobrevivência das variáveis morfológicas, <i>p</i> não significativo em todas variáveis.....	51
Tabela 5	Comparação da casuística do estudo com o estudo NSABP B-17.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

BLS	Biópsia de Linfonodo Sentinela
CDI	Carcinoma Ductal Invasivo
CDIS	Carcinoma Ductal in Situ
CME	Células Mioepiteliais
DCIS	Ductal Carcinoma <i>In Situ</i> (carcinoma ductal <i>in situ</i>)
GH	Grau Histológico
GN	Grau Nuclear
IDC	Invasive Ductal Carcinoma (carcinoma ductal invasivo)
IHQ	Imuno-histoquímica
MMP	Metaloproteinases
MS	Mastectomia
Real time PCR	Polymerase Chain Reaction (reação de cadeia da polimerase)
RS	Ressecção Segmentar
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results Program (Programa de monitorização e epidemiologia)
TIMP	Tissue Inhibitor of Metalloproteinases (inibidor tecidual de metaloproteinases)
VNPI	Van Nuys Prognostic Index (Índice Prognóstico de Van Nuys)

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	OBJETIVOS.....	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
4	RESULTADOS	30
5	DISCUSSÃO.....	52
6	CONCLUSÕES.....	61
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

ANEXOS

Anexo 1 Ficha de coleta de dados

Anexo 2 Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do
A.C.Camargo Cancer Center

Anexo 3 Índice de prognóstico Van Nuys (VNPI)

1 INTRODUÇÃO

O carcinoma ductal *in situ* (CDIS) da mama representa um grupo heterogêneo de lesões neoplásicas, definido pela proliferação maligna de células contidas pela membrana basal dos ductos, o que pode variar desde lesões inócuas de baixo grau a lesões de alto grau com maior potencial invasivo. Atualmente, o CDIS é classificado conforme seu padrão arquitetural (sólido, cribriforme, papilar e misto), grau nuclear (avalia alterações de tamanho e forma do núcleo celular, classificado em alto, intermediário e baixo) e presença de comedonecrose; representados nas Figuras 1 e 2 (VIRNIG et al. 2010). Os fatores de risco são similares ao da doença invasiva, incluindo história familiar de câncer de mama, alta densidade do parênquima mamário, obesidade, nuliparidade e primeira gestação tardia (KERLIKOWSKIE et al. 1997). A mutação do gene BRCA também está associada aos CDIS, principalmente em pacientes jovens. A relação entre reposição hormonal e incidência de CDIS é incerta.



Figura 1 - Carcinoma ductal *in situ* cribriforme com necrose central. Os ductos mamários mostram expansão por células malignas. A lesão não alcança a margem cirúrgica representada pela tinta preta no extremo à direita. Coloração em hematoxilina-eosina, aumento 200x.

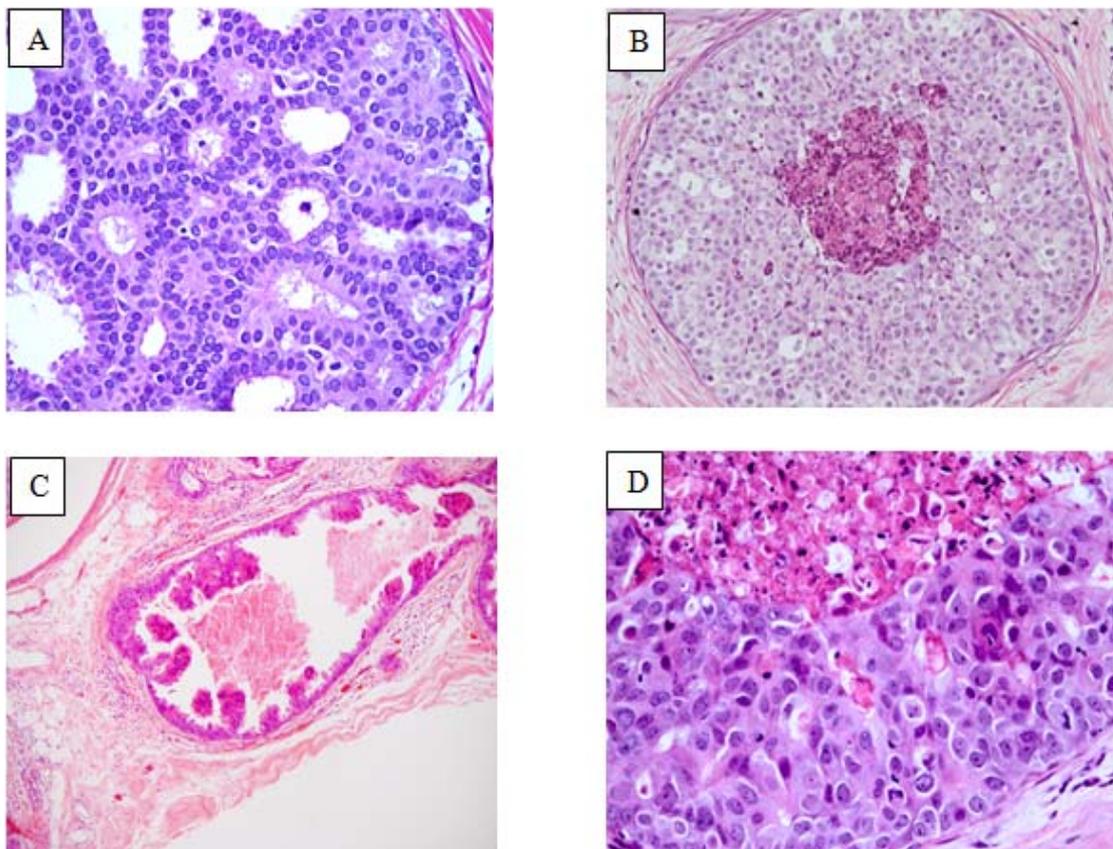


Figura 2 – Fotomicrografias de CDIS em diferentes graus histológicos. A - Carcinoma *in situ* cribriforme de baixo grau nuclear, sem necrose (Baixo Grau Histológico). Os núcleos são monótonos e as células polarizadas ao redor de espaços criados pelas bordas apicais das células. B – Carcinoma *in situ* sólido com necrose central (Grau Intermediário). C – Carcinoma *in situ* Micropapilar. D – Carcinoma *in situ* sólido de alto grau nuclear (Alto Grau Histológico). Coloração em hematoxilina-eosina.

Com o advento da mamografia e do rastreamento do câncer de mama a partir da década de 90, sua incidência cresceu significativamente. Em 1970 a incidência era de 5,8 em 100.000 mulheres passando a 32,5 em 100.000 mulheres em 2004, atingindo então um platô nesta marca (National Institutes of Health-NIH 2010). O risco aumenta com a idade, apresentando incidência de até 88 em 100.000 mulheres entre 50 a 64 anos de idade. A mortalidade em pacientes tratadas é baixa, em torno

de 1,9% em 10 anos de seguimento, de acordo com dados da SEER, ERNSTER et al. (2000).

O CDIS é identificado em sua maioria (90%) como microcalcificações suspeitas na mamografia de rastreamento (DERSHAW 1989). Agrupamentos lineares de microcalcificações pleomórficas são muito sugestivos de CDIS. A mamografia, entretanto, falha muitas vezes na identificação de lesões multifocais, comuns nos CDIS de graus intermediários e baixos (HOLLAND et al. 1990). A ressonância magnética de mama tem boa sensibilidade para diagnosticar lesões multifocais, mas por ser um método de imagem recente, ainda subestima e superestima lesões suspeitas mamárias, ainda é indicada apenas como exame complementar à mamografia KUHL et al. (2007).

O tratamento atual do CDIS consiste principalmente em duas modalidades: mastectomia ou tratamento conservador (excisão local com margens livres e radioterapia adjuvante) e quimioprofilaxia com bloqueadores hormonais. Nos EUA, um terço das pacientes é submetido à mastectomia; as demais ao tratamento conservador. A mastectomia é bastante efetiva, apresenta o menor índice de recorrência local (1% vs 10% do tratamento conservador), mas sem benefício de sobrevida global VARGAS et al. (2005). Era inicialmente a principal modalidade de tratamento, tendo como racional a incidência de 30% de doença multicêntrica, 40% de doença residual após excisão local; confirmado por mastectomia completa posterior (LAGIOS et al. 1982). Atualmente, devido à sua seqüela estética, é utilizada somente quando não é possível obtenção de margem livre satisfatória no tratamento conservador.

O tratamento conservador, por sua vez, consiste em excisão completa da lesão com margens livres, seguida de radioterapia adjuvante. A distância das margens de segurança é controversa na literatura, variando entre serviços. Uma metanálise recente demonstrou não haver benefício de sobrevida ou recorrência após excisão com margens maiores que 2mm (se seguida de radioterapia adjuvante), permitindo menor impacto estético (DUNNE 2009). Após trabalhos recentes, os principais consensos de especialistas determinam margens livres para câncer de mama quando a lesão não toca as bordas da ressecção (MORAN 2014).

O sucesso do tratamento conservador foi demonstrado por dois grandes estudos randomizados, o NSABP B-17 e o EORTC 10853. Ambos demonstraram sobrevida global semelhante à mastectomia, com redução em 50% da recorrência local em comparação à excisão isolada após instituída radioterapia adjuvante (proporcionando taxas globais de recorrência em torno de 10%) (FISHER 1998; JULIEN 2000).

Embora de impacto muito menor que a mastectomia (estético, psicológico), o tratamento conservador ainda possui uma complexidade relativamente alta, justamente devido à radioterapia adjuvante. Este último consiste de tratamento longo, próximo a um mês, não isento de complicações (actínicas, estéticas etc). Com o objetivo de omitir este tratamento em lesões potencialmente de baixo grau, diversos pesquisadores estudaram possíveis fatores prognósticos para o CDIS, sem sucesso. O trabalho de maior relevância neste tema é o da University of Southern California (SILVERSTEIN 2003), que estabeleceu o índice de prognóstico Van Nuys (VNPI) (Anexo 3). Este índice leva em consideração quatro variáveis com pontuações

diferentes (tamanho do tumor, tamanho das margens, grau de diferenciação/comedonecrose e idade da paciente).

A pontuação total varia entre 4 a 12 pontos, sendo considerados os tumores de baixo risco quando a pontuação é menor ou igual a 6. Nestes casos, segundo o estudo, a taxa de recorrência é de 1% em 5 anos e 3% em 10 anos, possibilitando a omissão da radioterapia, segundo os autores. Entretanto, esses dados foram retirados de análises retrospectivas, não consistentes com demais ensaios clínicos presentes na literatura levando os principais consensos de tratamento a sempre sugerir radioterapia adjuvante, omitindo-a apenas em casos selecionados.

Finalmente, os CDIS de mama tem a opção de quimioprofilaxia com tamoxifeno ou inibidores de aromatase. Os mesmos alteram o funcionamento dos hormônios reprodutivos nas mulheres, agindo principalmente na doença com receptores hormonais positivos. Este tratamento para CDIS foi estudado em um importante ensaio prospectivo duplo-cego, o NSABP B24 (FISHER 1999a). As pacientes foram randomizadas para tratamento conservador (cirurgia local com radioterapia adjuvante) com ou sem quimioprofilaxia com tamoxifeno. A adição do tamoxifeno reduziu o risco de doença contralateral (3,2 vs 5,3%) e o risco de doença ipsilateral invasiva em 15 anos (32%), embora não tenha demonstrado benefício na sobrevida global em 15 anos. Apesar desta última, o tamoxifeno é uma opção bastante recomendada atualmente. Os principais consensos sugerem quimioprofilaxia para todas as mulheres que trataram CDIS com receptores hormonais positivos (Figuras 3 e 4) e que não tenham contraindicações para tal. O principal benefício ocorre nas pacientes submetidas a tratamento conservador, com lesões positivas para receptores hormonais, com queda significativa na recorrência ipsilateral (NIH 2009).

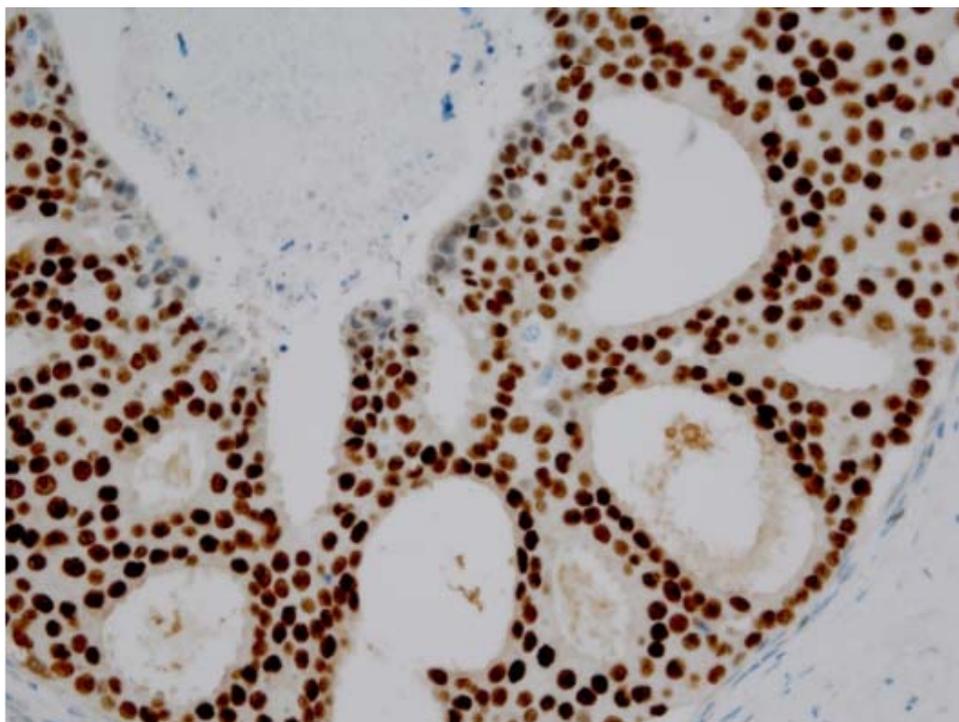


Figura 3 – Imunomarcção positiva para receptor de estrógenos no carcinoma ductal *in situ* de baixo grau. Aumento 400x

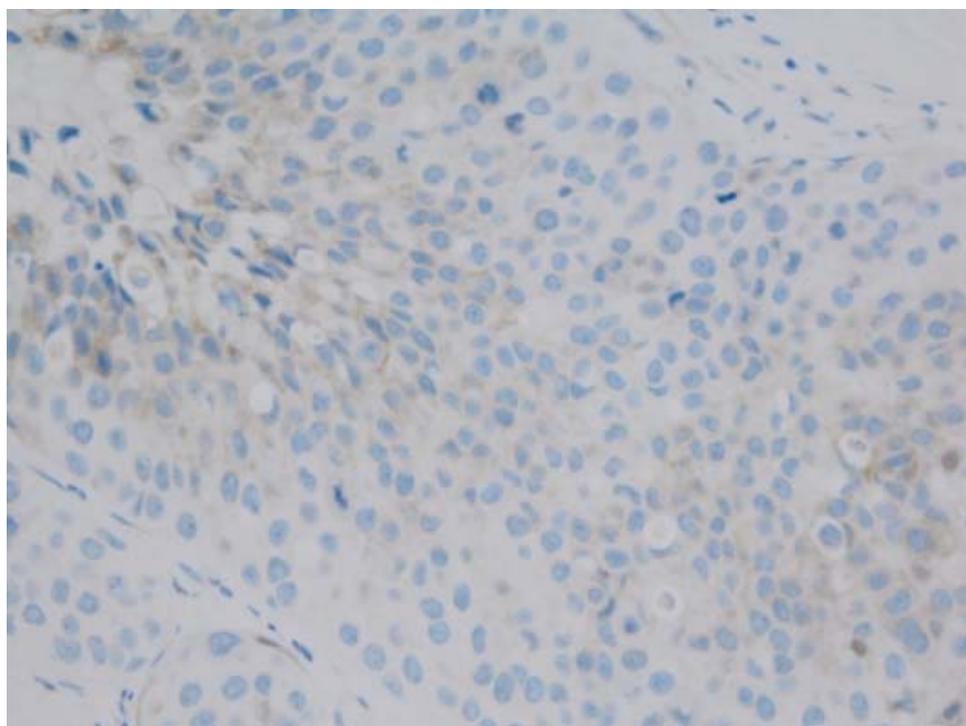


Figura 4 - Imunomarcção negativa para receptor de estrógenos no carcinoma ductal *in situ* de baixo grau. Aumento 400x.

Podemos ver que, apesar de ser uma doença de excelente prognóstico e de baixa mortalidade, seu tratamento possui uma morbidade significativa. O tratamento conservador, apesar do bom resultado de sobrevida e estético, tem como empecilho a radioterapia, modalidade terapêutica de execução longa, logística complicada (sessões diárias por 3 a 4 semanas) e efeitos colaterais não desprezíveis. A mastectomia, por sua vez, tem como problema o resultado estético, apesar da reconstrução imediata; além do impacto psicológico. Em ambas as modalidades, o quimioprofilaxia utilizada também tem seu impacto, a medicação deve ser utilizada diariamente durante 5 anos, com custo econômico ao paciente e possibilidade de efeitos colaterais (eventos tromboembólicos, neoplasia endometrial). A questão fundamental em relação ao CDIS é a identificação de lesões de baixo e alto potencial de recorrência ou invasividade, permitindo tratamento individualizado e com morbidade menor que o tratamento atual.

Inicialmente, as principais pesquisas sobre fisiopatologia do câncer de mama (principalmente sua possível progressão atipia > CDIS > CDI) focavam no estudo das células epiteliais ductais, tanto no aspecto genético quanto no morfológico. Um exemplo é o de CASTRO et al. (2008), que observou mudanças moleculares nas células epiteliais dos CDIS. Para tal, foram estudadas 41 amostras de tecidos, sendo 4 de tecido normal, 5 CDIS puros, 22 CDIS associados a CDI e 10 CDI. Através de análise molecular por *microarray* (microarranjo), observou-se que embora o CDIS puro e os CDIS associados a CDI sejam morfológicamente semelhantes, molecularmente eles não são, com significativa heterogeneidade molecular dentro do grupo CDIS puro. Em contrapartida, os CDIS com CDI foram molecularmente semelhantes ao CDI, embora morfológicamente distintos; o que sugere que no

momento que o CDIS puro adquire mutações comuns apresentadas nos grupos CDIS com CDI e CDI, inicia-se o caminho para a invasividade. Os genes SULF-1 e LOX foram os que mais provavelmente estariam relacionados com este mecanismo de progressão.

POLYAK (2010) revisou extensivamente sobre marcadores moleculares, células epiteliais e heterogeneidade genética dos CDIS, assim como seu mecanismo de progressão. Quanto aos marcadores moleculares, citou GAUTHIER et al. (2007) que demonstrou COX-2 e Ki67 associados a maior risco de invasividade e LU et al. (2009), que correlacionou HER2 com maior risco de invasividade. Em relação à genética das células epiteliais e sua heterogeneidade tumoral, a autora cita diversos trabalhos, com destaque a ALLRED et al. (2008) e PARK et al. (2010). O primeiro relata que mutação no TP53 acarreta em heterogeneidade celular, o segundo encontrou através de hibridização fluorescente in situ importante heterogeneidade clonal em CDIS avaliados. Este inclusive os compara ao esôfago de barret, no qual sabidamente em estudos da literatura, quanto maior a diversidade clonal intratumoral, maior o risco de progressão para invasão. Por fim, a autora refere também sobre a dificuldade na realização de trabalhos desta modalidade, tanto pela heterogeneidade clonal quanto pela dificuldade em obter grandes coortes de CDIS e suas recidivas, que trariam resultados estatísticos mais significativos. Sugere também um maior estudo também do microambiente tumoral, assim como seu estroma adjacente.

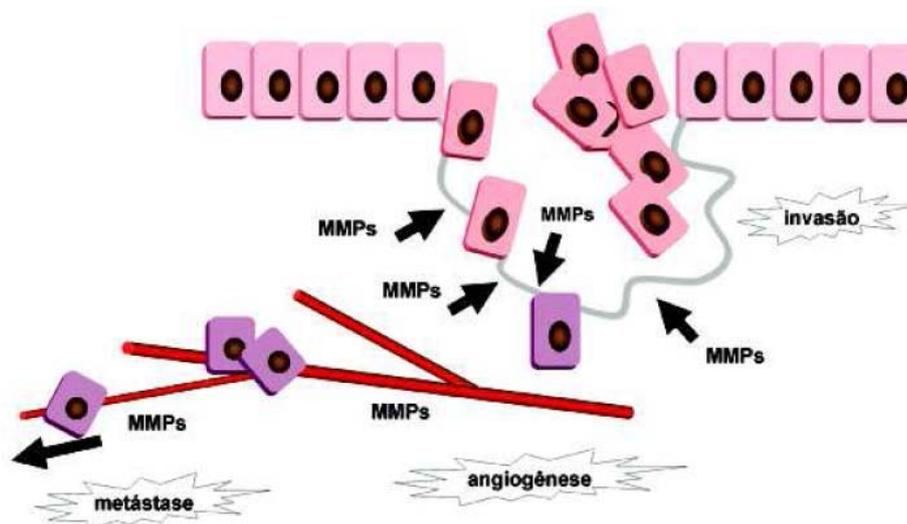
Existem na literatura algumas linhas de pesquisa voltadas para o estudo do microambiente tumoral, do estroma peritumoral e de sua fisiopatologia, tentando compreender a história natural da doença, principalmente a invasividade tecidual e a

metastatização. Diversas substâncias e marcadores imuno-histoquímicos presentes neste ambiente já foram estudadas nos carcinomas ductais invasivos de mama, mas foram pouco avaliadas nos CDIS. Dentre eles, os principais são as metaloproteinases (proteínases presentes na matriz extracelular) e os marcadores de células mioepiteliais. Estes fazem parte da fisiopatologia da invasividade tumoral e podem ser relevantes nas lesões in situ, possivelmente poderiam ajudar a determinar o momento do início da invasão tecidual destas lesões.

As metaloproteinases (MMP) são endopeptidases zinco-dependentes. Estão presentes em diversas funções do organismo (Figura 5), sejam fisiológicas (remodelamento tecidual, diferenciação celular, proliferação celular e apoptose) ou patológicas (inflamação, degeneração e invasividade tumoral). O grupo MMP é composto por diversos tipos de proteinases, capazes de interagir com praticamente todos os componentes da matriz extracelular (MEC), sendo cruciais na formação e progressão de neoplasias, principalmente na invasividade e metastatização. Estes dados sugerem que as metaloproteinases podem ser pesquisadas como marcadores tumorais (YAN e BOYD 2007). Em uma corrente oposta, evidências recentes sugerem também que algumas metaloproteinases podem ter efeito oposto, protegendo o hospedeiro, como no caso da MMP 8 (GUTIERREZ-FERNANDEZ et al. 2008).

Os seres humanos possuem 24 genes MMP, mas apenas 23 proteínas MMP incluindo 17 enzimas secretadas solúveis e 6 proteinases membrana-associadas. As MMP foram nomeadas conforme seus substratos de ação na MEC: colagenases (MMP 1 e MMP8, atuam no colágeno), gelatinases (MMP 2 e MMP 9, atuam nas

gelatinas – colágeno desnaturado), estromalinas (MMP 3 e MMP 10) e matrilisinas (MMP 7), ambas com ação ampla sobre diversas proteínas da MEC.



Fonte: Modificado de RUDEK et al. (2002).

Figura 5 - Esquema mostrando o papel das metaloproteinases nos processos de invasão, angiogênese e metástase do câncer.

Historicamente, a literatura propõe que o crescimento e a progressão do carcinoma ductal de mama era decorrente principalmente de alterações genéticas e funcionais progressivas das células epiteliais da mama. Este modelo vem sendo questionado recentemente, pois há evidências de que apenas através de um estroma patológico circunjacente podem existir as condições necessárias para a progressão tumoral. O microambiente tumoral do câncer de mama é bastante complexo, incluindo um mesênquima bastante variado (formado por fibroblastos, miofibroblastos, células endoteliais e células do sistema imune). A contribuição específica de cada uma destas células é pouco compreendida, mas supõe-se que os

fibroblastos associados à neoplasia de mama promovem o crescimento tumoral e a neoangiogênese através da produção de diversas substâncias, incluindo as metaloproteinases.

Dentre as colagenases, a MMP 1 já foi bastante estudada em diversos trabalhos da literatura. Ela está presente em grande quantidade no microambiente tumoral do câncer de mama e é responsável por facilitar a neoangiogênese e degradação da MEC; processos cruciais na invasão tumoral e metastatização. A mesma também já foi relacionada com a expressão de HER 2; quando presente este é responsável pelo aumento da expressão da MMP 1 e pode estar relacionada com o pior prognóstico desses tumores (MANNELLO 2011).

Em estudo retrospectivo recente BOSTRÖM et al. (2011), demonstrou correlação entre a expressão de MMP 1 e diversos marcadores de mau prognóstico nos carcinomas invasivos de mama, assim como determinou que a própria MMP 1 é um fator independente de pior prognóstico, com significância estatística.

Outro aspecto estudado das MMP foi a sua regulação, mediada pelos inibidores teciduais de MMP (TIMPs). São vários os tipos de TIMPs, incluindo o TIMP 1 (associado à MMP 1), cujas funções podem trazer informações novas quanto ao prognóstico dos carcinomas ductais mamários.

As gelatinases também são alvos de estudo, principalmente as MMP 2 e MMP 9. A primeira é responsável por degradar vários componentes da membrana basal (colágeno tipo I, II, III, IV e lamininas), assim como a segunda (colágeno tipo IV, V, XI, XVI, lamininas e elastinas). A produção da MMP 9 é regulada pela produção de TIMP 1; sua liberação depende da proporção TIMP 1: MMP 9, talvez correlacionando seu papel no microambiente tumoral com as MMP 1. Em estudo

recente (RANOGAJEC 2012), identificou-se em carcinomas ductais invasivos de mama níveis maiores de MMP 2 e MMP 9 em grandes lesões e lesões mais vascularizadas, com piora da sobrevida global nestes casos (estatisticamente significativo).

Um trabalho importante (HU et al. 2008) avaliou não só globalmente a fisiopatologia do estroma tumoral, assim como a metaloproteinase MMP 14, outros marcadores moleculares e mecanismos de adesão celular. Neste trabalho foi analisado, em xenoinxertos de CDIS, o papel dos fibroblastos e células mioepiteliais na progressão do CDIS. Para tal foram injetados xenoinxertos de CDIS (linhagem MCF10A) em camundongos, associados a células mioepiteliais imortalizadas, fibroblastos de tecidos mamários normais, fibroblastos de tecidos mamários tumorais e fibroblastos de tecidos com artrite reumatoide. Após 4 semanas, os xenoinxertos associados a fibroblastos patológicos (tumorais e artrite reumatóide) propiciaram um maior aumento dos CDIS, em contrapartida os associados às células mioepiteliais imortalizadas apresentaram uma diminuição de tamanho. A explicação deste acontecimento é que as células mioepiteliais impediram fisicamente o crescimento do tumor, por outro lado os fibroblastos “doentes”, inflamatórios, fornecem substrato favorável ao crescimento tumoral (maior vascularização etc). Quanto à MMP 14, através de *real time* PCR, os pesquisadores demonstraram nos xenoinxertos um aumento da expressão de MMP 14 nos fibroblastos de ambientes microtumoriais, corroborando sua função de proteinase e de degradação da membrana basal. Os autores, entretanto, relatam que talvez a função da MMP 14 não seja totalmente direta, pois acreditam que a mesma também participa na regulação de outras proteinases e fatores inflamatórios, como a MMP 2, MMP 9 e TGF β . Em relação à

adesividade celular, os autores perceberam, nos xenoenxertos, importante papel do TGF β 1 e P63 na manutenção da mesma e na diferenciação das células mioepiteliais. Assim, podemos verificar que as MMP são fatores importantes na fisiopatologia e na progressão dos carcinomas ductais de mama; através da estimulação da produção de fatores de crescimento, inativação de fatores inibidores e promoção da neoangiogênese. Possivelmente, inibidores de MMP poderiam inibir tanto o crescimento tumoral quanto sua invasão, podendo ser considerados para criação de novos tratamentos para lesões invasivas.

As células mioepiteliais (CME), por sua vez, envolvem os ductos mamários e ácinos lobulares, apresentando importante papel na fisiologia mamária e na supressão de tumores (Figura 6). Além de serem responsáveis pela integridade da membrana basal, criando uma barreira física entre o epitélio e o estroma elas também secretam fatores que possivelmente inibem o crescimento tumoral, angiogênese e invasão tumoral, de acordo com estudos experimentais (HILSON 2009).

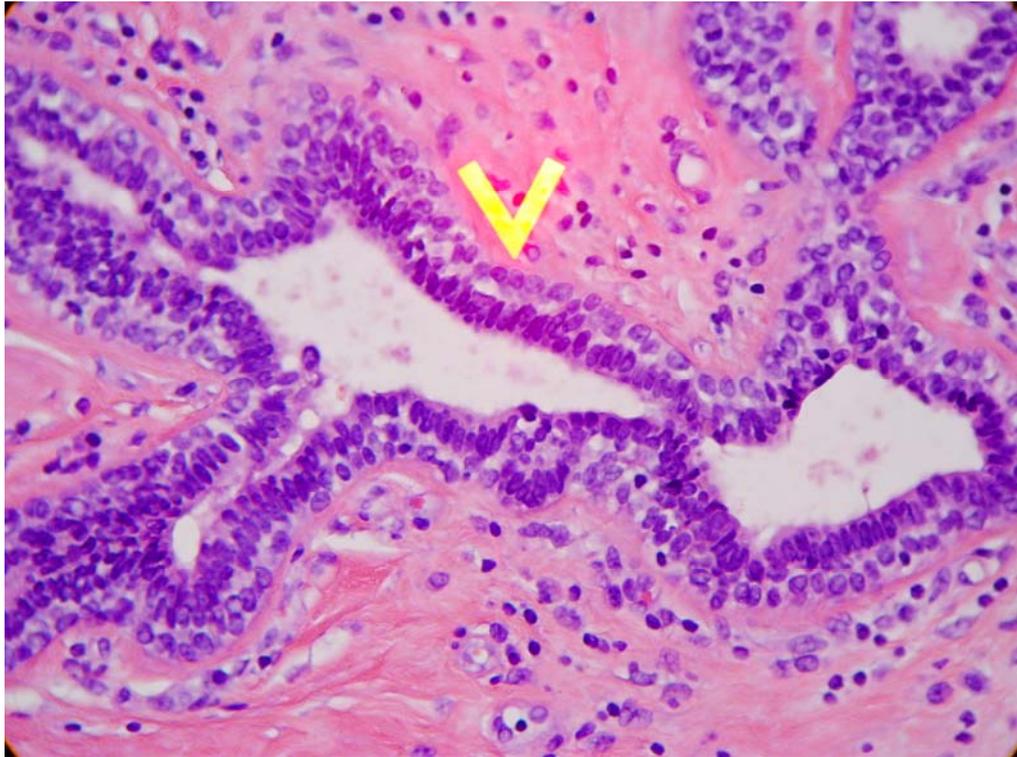


Figura 6 - Fotomicrografia do ducto mamário normal mostrando as duas camadas de células: luminal (interna) e mioepitelial (externa, com cabeça da seta). Hematoxilina & eosina, aumento 400x

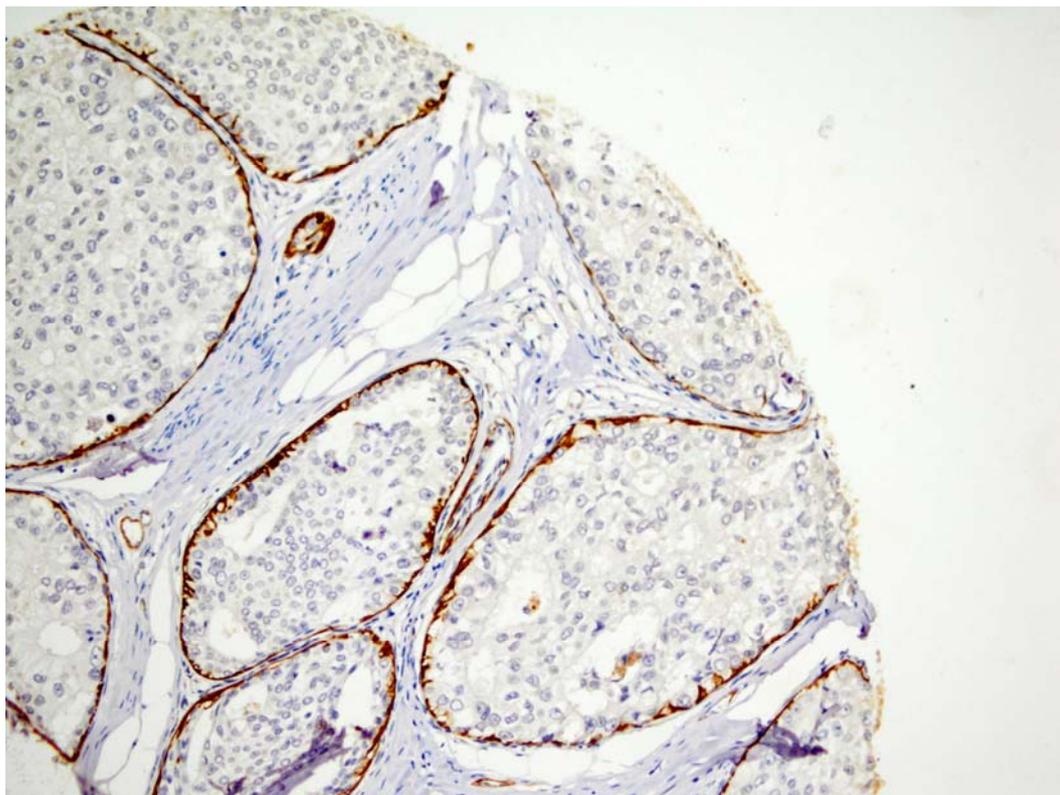


Figura 7 - Fotomicrografia da imunomarcagem das células mioepiteliais em camada contínua na periferia dos ductos com carcinoma *in situ*. Anticorpo anti-calponina. Aumento 200X

A análise imunohistoquímica de marcadores de CME é comum na rotina de avaliação dos CDIS (Figuras 7 e 8), principalmente na distinção entre tumores invasivos e *in situ*. Neste caso, a detecção de células mioepiteliais em amostras tumorais diagnostica lesões *in situ* (membrana basal íntegra), enquanto a ausência de células mioepiteliais indica um diagnóstico de lesão invasiva. Os marcadores utilizados são a actina de músculo liso (AML), miosina de músculo liso de cadeia pesada (SMMHC), calponina, p63, citoqueratina 5/6 (CK 5/6), CD 10 e p75.

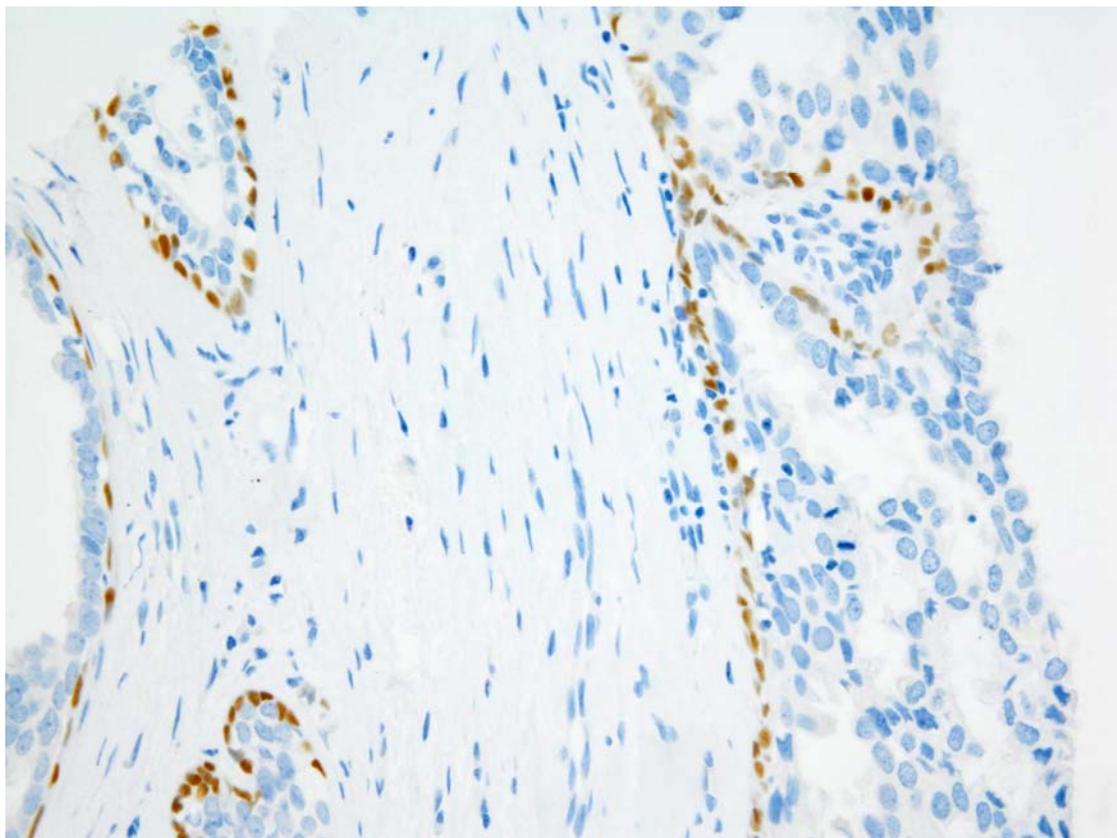


Figura 8 – Fotomicrografia da imunomarcagem nuclear para células mioepiteliais utilizando o anticorpo p63. Aumento 400x

Além da avaliação da invasividade, as citoqueratinas são muito utilizadas na definição dos imunofenótipos de câncer de mama utilizados hoje em dia. Dentre os grupos mais aceitos na literatura e na prática clínica atualmente, temos os tumores luminais, os HER2 superexpressos e os basalóides, que possuem positividade para citoqueratinas e EGFR. Diversos estudos tentaram aplicar estes grupos de imunofenótipos para os CDIS, com perspectiva de avaliação do prognóstico e tratamento, assim como nos tumores invasivos, mas sem sucesso na prática clínica. Atualmente, apenas os receptores hormonais têm alguma influência no tratamento dos CDIS (realização ou não da quimioprofilaxia).

Podemos então notar que a compreensão deste microambiente tumoral é de extrema valia, principalmente no contexto das lesões *in situ*, pois talvez através da identificação de lesões que estão próximas do momento de invasão tecidual poderíamos instituir um tratamento mais rigoroso; assim como eximir as lesões que estão longe do momento de invasão tissular de um tratamento igual ao das lesões já invasivas.

Neste estudo, avaliaremos a presença de MMP e os marcadores de CME em casos de CDIS recidivados, no intuito de correlacionarmos os mesmos com a recorrência e invasividade tumoral. A hipótese deste estudo é que os CDIS com recorrência (*in situ* ou invasivo) apresentem maior expressão de MMP e menor expressão de marcadores de células mioepiteliais em relação aos CDIS sem recorrência da doença.

2 OBJETIVOS

Os objetivos são:

- Avaliar os fatores clinico-patológicos já associados com recorrência de CDIS na literatura (idade, tamanho, presença de comedonecrose, margens cirúrgicas, grau nuclear, tipo de tratamento cirúrgico e quimioprevenção com tamoxifeno) com recidiva local e outros eventos de câncer de mama;
- Avaliar a expressão imuno-histoquímica de receptores hormonais (estrogênio e progesterona), receptores HER2, metaloproteinases (MMP 1, MMP 2, MMP 9) e a expressão de marcadores de CME (AML, calponina, p63, CK 5/6 e CD10) no microambiente tumoral dos CDIS de mama, correlacionando-os com recidiva local da doença e outros eventos de câncer de mama;
- Avaliar o tipo morfológico dos CDIS (cribriforme, sólido, micropapilar e mistos) e o tipo de estroma adjacente (fibromatose, inflamatório, normal e desmoplásico), correlacionando-os com recidiva local da doença e outros eventos de câncer de mama.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de estudo retrospectivo do tipo caso-controle. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do A.C.Camargo Cancer Center, conforme parecer número 20391, datado de 10 de abril de 2012 (Anexo 2). Realizamos uma revisão dos prontuários quanto a dados clínicos, diagnóstico inicial, tratamento realizado e evolução das pacientes. Foram revisados 565 prontuários de pacientes com CDIS tratados no A.C.Camargo Cancer Center, no período de 2000 a 2008, permitindo um intervalo mínimo de seguimento de 5 anos.

Os critérios de inclusão foram:

- Carcinoma ductal *in situ* com recorrência local após 6 meses.
- Outros eventos de câncer de mama após 6 meses (CDIS contralateral, CDI ipsilateral).

Os critérios de exclusão foram:

- Carcinoma ductal *in situ* ou invasivo prévio ao caso identificado no estudo
- Pacientes com outros tumores primários durante evolução;
- Pacientes com antecedente de carcinoma lobular *in situ* associado;

Foram avaliados os importantes fatores de recidiva dos carcinomas ductais *in situ* de acordo com a literatura, sendo tamanho do tumor, grau nuclear, comedonecrose, margens cirúrgicas, idade e realização de quimioprofilaxia.

A ficha de registro de dados (Anexo 1) contém informações diversas: aspectos gerais do paciente, quadro clínico inicial, tratamento, seguimento e resultado da avaliação anatomopatológica. Estratificamos as variáveis contínuas

(tamanho do tumor e idade) conforme subdivisões utilizadas nos critérios de Van Nuys (Anexo 3), com intuito de correlacioná-las com recorrência da mesma maneira que neste estudo. Definimos margens livres nestes casos como lesão não contígua às bordas da peça, não foi realizada quantificação da margem. Identificamos também a realização de quimioprofilaxia, considerando-a completa quando realizada por um mínimo de 60 meses. A avaliação do status pós-tratamento (óbito, vivo sem doença, vivo com doença) foi feita através de avaliação do prontuário até 12/2013.

Usando o critério inicialmente desejado de apenas recorrências locais, foram identificados apenas 08 pacientes com CDIS recidivado (1,41%). Devido à baixa taxa de recorrência, optamos por incluir pacientes com qualquer tipo de evento relacionado ao câncer de mama, como novos tumores *in situ* em mama contralateral e carcinomas ductais invasivos subsequentes, elevando a casuística para 18 pacientes (3,18%). Destes 18, foram excluídos 6 casos devido a ausência de material anatomopatológico (blocos de parafina) para reanálise no trabalho.

Pareamos estes 12 casos com 24 controles de CDIS não recidivados (1:2), levando em consideração idade, grau nuclear, tempo de seguimento, tipo de tratamento e realização de quimioprofilaxia.

As lâminas dos pacientes recidivados foram avaliadas por um único patologista, sendo reclassificadas quanto ao seu tipo histológico, grau nuclear, característica citológica, extensão e aspectos estromais, como grau de desmoplasia, celularidade e infiltrado linfóide (Figuras 11 e 12).

A análise imuno-histoquímica foi realizada no Departamento de Anatomia Patológica do A.C.Camargo Cancer Center. Para a mesma, foi montado um TMA

(*tissue microarray* ou microarranjo tecidual) com amostras em duplicata do material estudado para os casos onde o componente do CDIS era extenso (Figuras 9 e 10).

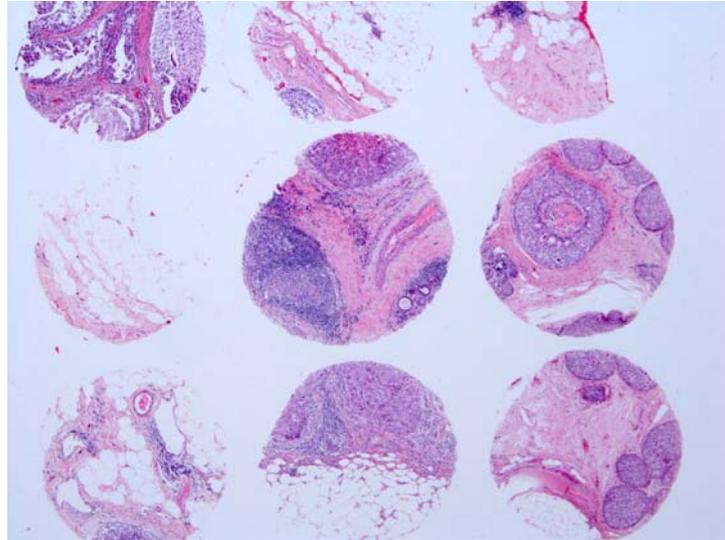


Figura 9 - Fotomicrografia panorâmica da lâmina de *Tissue Microarray* com tecidos de 1mm de diâmetro separados por 0,2mm em cada eixo. Hematoxilina & eosina, aumento 40x

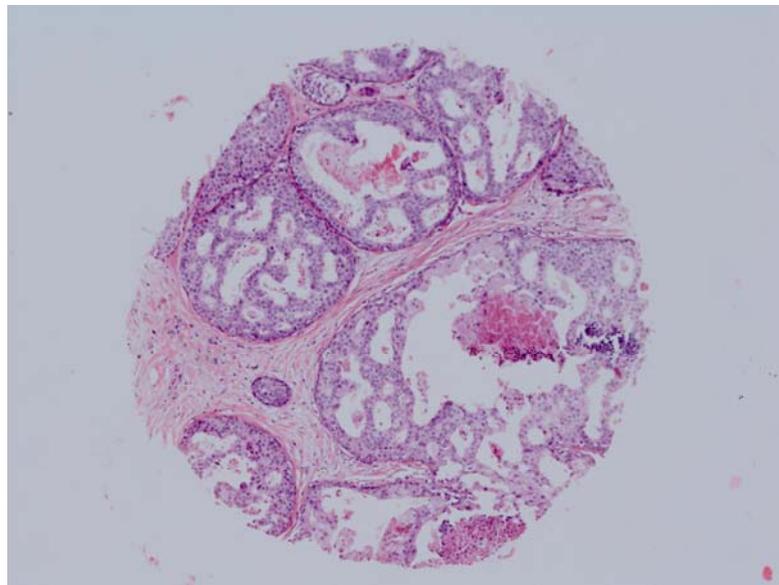


Figura 10 - Fotomicrografia do carcinoma *in situ* representado no cilindro de tecido incluído no *tissue microarray*. Exemplo de carcinoma *in situ* de baixo grau nuclear com necrose. A amostra é suficiente para a análise dos componentes epitelial e estromal. Hematoxilina & eosina, 200x

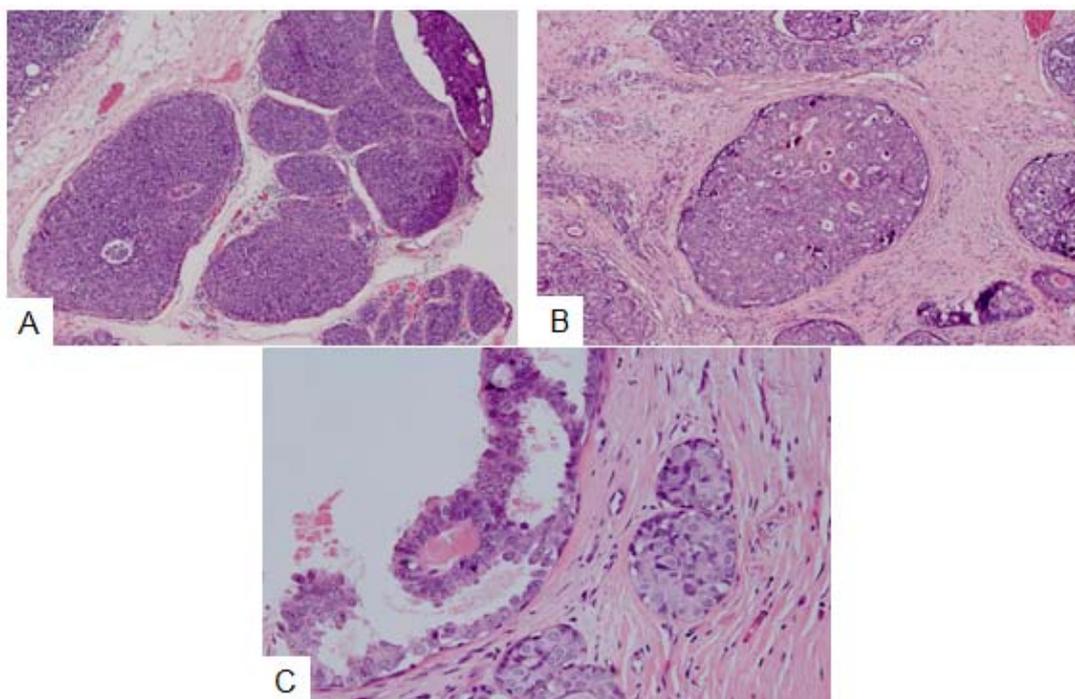


Figura 11 - Fotomicrografias dos tipos morfológicos do estudo. A – sólido, B- cribriforme, C- micropapilar. Hematoxilina-eosina, 400x

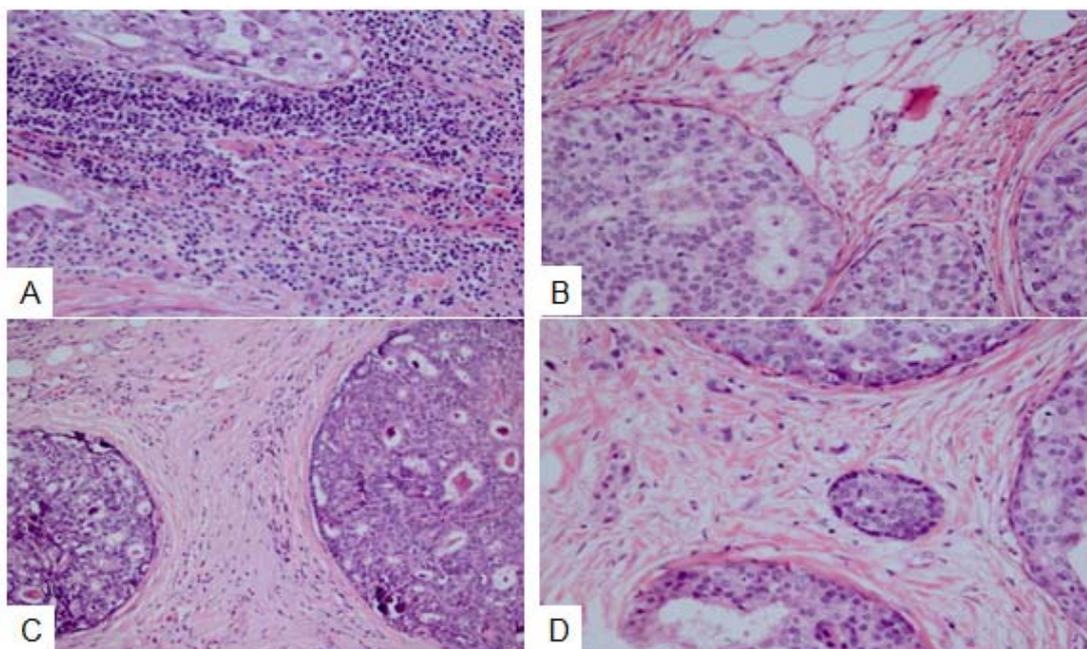


Figura 12 - Fotomicrografias dos tipos de estroma. A – inflamatório, B- normal, C- desmoplásico, D- fibromatose, Hematoxilina-eosina, 400x

Nos casos de CDIS de pequena extensão ou naqueles em que o TMA não representou bem a lesão, o corte completo foi utilizado para as análises.

No material estudado no qual não houve avaliação prévia dos receptores hormonais (estrogênio e progesterona) ou HER2, a mesma foi realizada, salvo exceções (casos sem material remanescente disponível para nova análise). Os receptores hormonais e HER2 foram utilizados para a classificação molecular do carcinoma in situ e suas avaliações seguiram os critérios recomendados pelo Colégio Americano de Patologistas. A coloração foi feita em equipamento automatizado (BenchMark XT™) com protocolo sugerido pelo fabricante (Ventana-Roche), com os devidos ajustes para as diluições dos anticorpos padronizados pelos controles positivos para cada reação. As características dos anticorpos utilizados estão resumidas no Quadro 1.

Quadro 1 – Relação de anticorpos utilizados, clone utilizado e fabricante

Anticorpo	Fabricante	Catálogo	Clone
Receptor de Estrógeno	Ventana	790-4324	SP1
Receptor de Progesterona	Ventana	790-2223	1E2
HER2	Ventana	790-2991	4B5
MMP 1	Neomarkers	RB9225P	policlonal
MMP 2	Neomarkers	RB9233P	policlonal
MMP 9	Neomarkers	RB-9234	policlonal
CD10	Ventana	790-4506	SP 67
AML	Cell Marque	760-2101	HHF-35
Calponina	Cell Marque	760-4376	EP7984
P63	Ventana	790-4509	4 A4
CK 5/6	Ventana	790-4554	D5/16B4

Abaixo, os critérios de positividade para todos os marcadores analisados no estudo, exemplificados as metaloproteinases e marcadores de CME também através de fotomicrografias da nossa casuística (Figuras 13 a 19):

- Receptor de estrogênio e progesterona: positivo (>1% marcação), negativo ou indeterminado (não realizado).
- HER2: 0, 1+, 2+, 3+ (este último o único considerado positivo) ou indeterminado (não realizado).
- Metaloproteinases e AML: negativo, positivo fraco, positivo intermediário e positivo forte.
- Demais marcadores de CME: negativo, positivo focal e positivo contínuo.

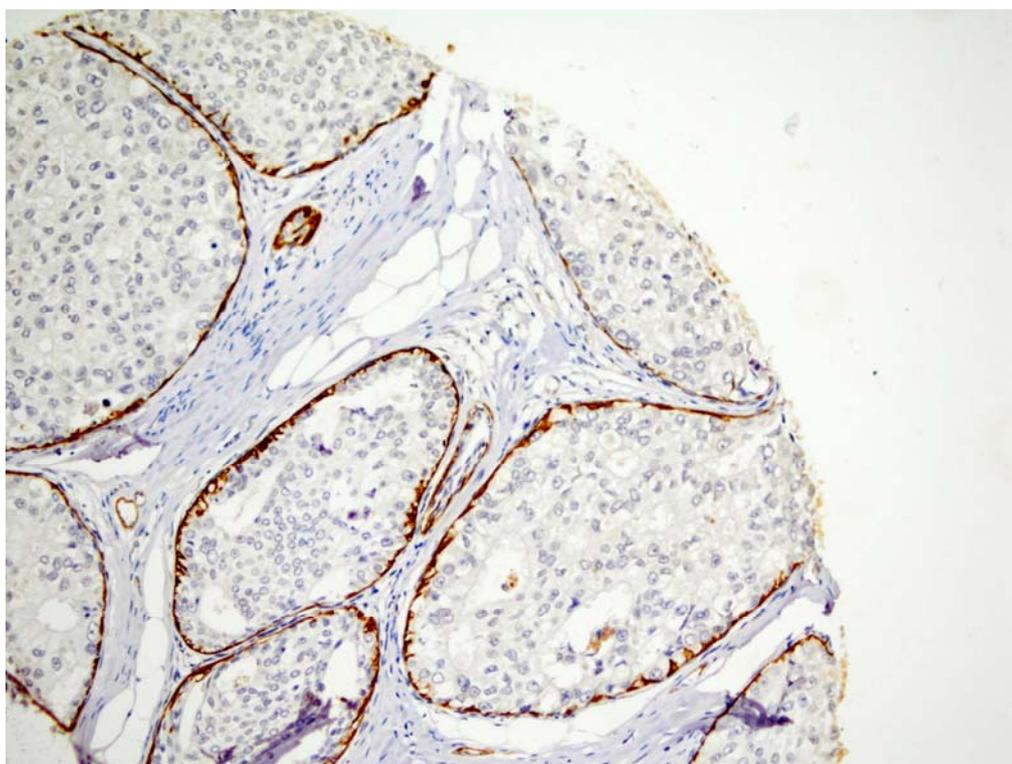


Figura 13 - Fotomicrografia da imunomarcagem de calponina, considerada positiva contínua na periferia dos ductos com carcinoma *in situ*. Anticorpo anti-calponina. Aumento 200X.

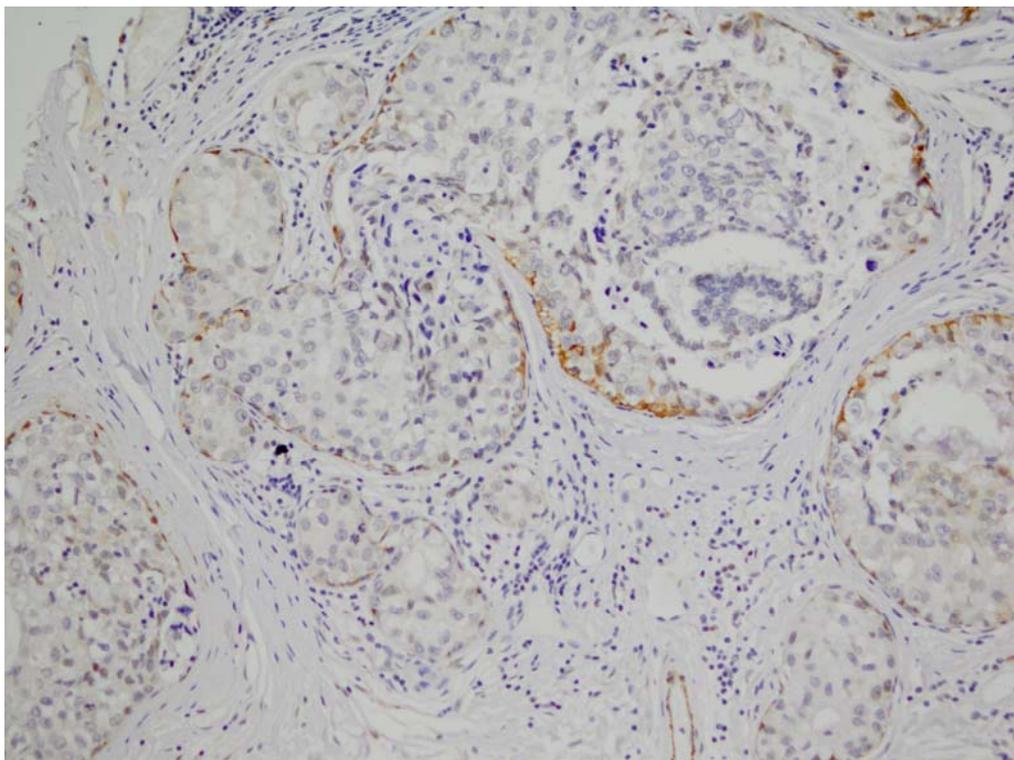


Figura 14 - Fotomicrografia do carcinoma *in situ* marcado para calponina, considerado positivo focal, 200x.

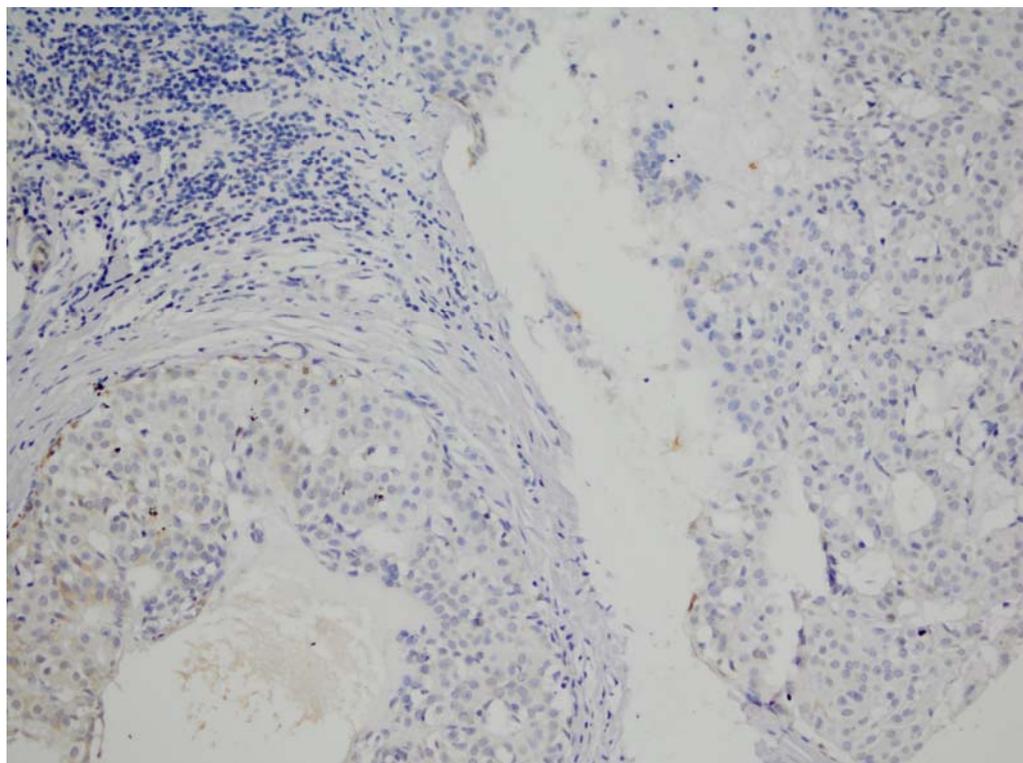


Figura 15 - Fotomicrografia do carcinoma *in situ* marcado para calponina, considerado negativo, 200x.

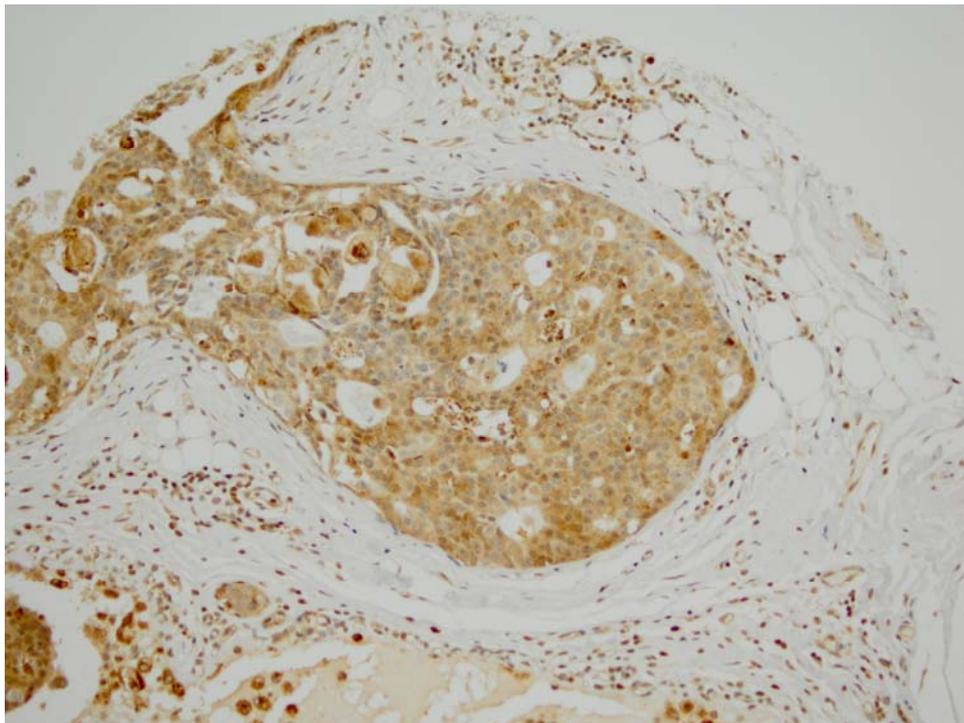


Figura 16 - Fotomicrografia do carcinoma *in situ* marcado para MMP 9, considerado positivo forte, 200x.

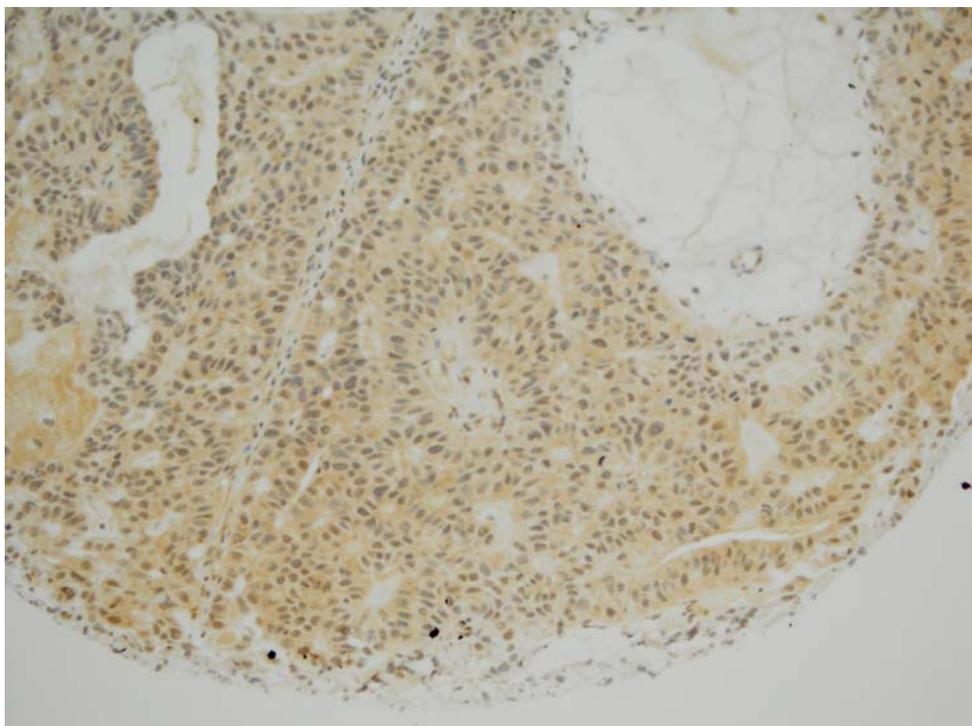


Figura 17 - Fotomicrografia do carcinoma *in situ* marcado para MMP 2, considerado positivo intermediário, 200x.

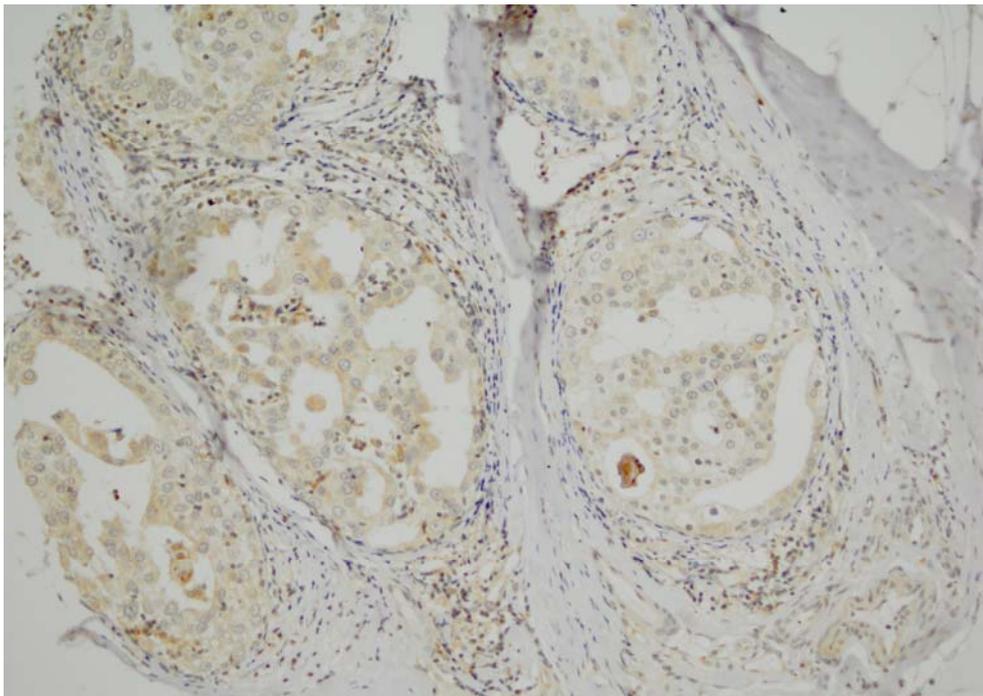


Figura 18 - Fotomicrografia do carcinoma *in situ* marcado para MMP 9, considerado positivo fraco, 200x

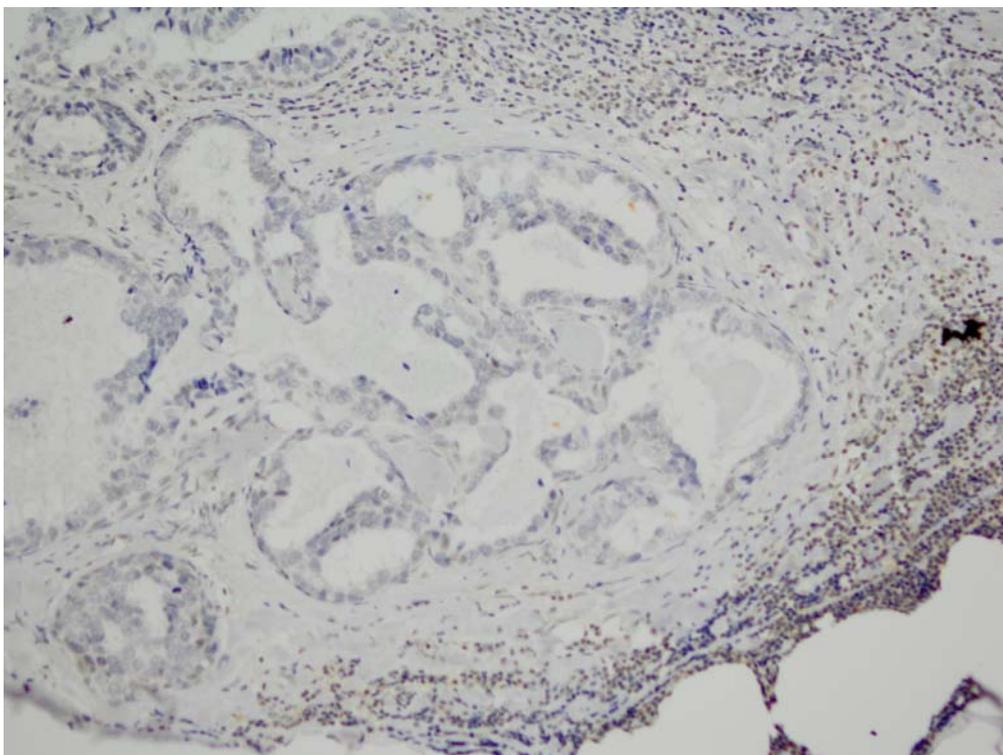


Figura 19 - Fotomicrografia do carcinoma *in situ* marcado para MMP 2, considerado negativo, 200x.

Nos casos de recidiva com carcinoma ductal invasivo, foram avaliadas as variáveis no componente *in situ* associado da lesão (presente em todas as recidivas invasivas).

A análise estatística teve como objetivo correlacionar a presença das metaloproteinases e marcadores de células mioepiteliais acima citados como fatores clínico-patológicos nos casos revisados.

Foi realizado um estudo caso-controle com pareamento 1:2. Os casos e controles tinham tempos com maior similaridade possível de seguimento a partir da data do término do tratamento. Foram utilizados para pareamento variáveis clínicas e patológicas, já citadas anteriormente. Realizou-se, com as mesmas pacientes, uma análise de sobrevivência utilizando o modelo de Cox de riscos proporcionais. A proporcionalidade dos riscos foi testada utilizando análise de residuais de Schönfeld e análise gráfica. Para realização desta análise foi utilizado o software Stata 13.1 para MacOS (StataCorp, College Station, TX, USA).

4 RESULTADOS

Um total de 565 pacientes diagnosticadas com CDIS no A.C.Camargo Cancer Center entre 2000 e 2008 foram selecionadas para revisão dos prontuários. Foram detectadas 1,41% recidivas ipsilaterais (8 casos) de CDIS e 3,18% de recidivas considerando-se casos de CDIS contralateral ou CDI em qualquer mama (18 casos). O seguimento médio de nossa casuística foi de 59,9 meses, com uma mediana de 60 meses. Os índices de recidiva, considerando uma análise limitada às pacientes com seguimento acima de 60 meses (301 pacientes), foi de 2,65%, considerando-se a proposta inicial de 8 recidivas locais *in situ*. Quando elevamos nossa casuística para 18 pacientes com novos eventos de câncer, o índice de recidivas subiu para 5,98%.

Nos Quadros 2 a 6, podemos observar todas as variáveis coletadas dos 12 casos de CDIS recidivados (ou com novo evento câncer de mama). As características gerais dos casos seguem abaixo no Quadro 2. A idade variou de 42 a 84 anos de idade com uma ampla maioria de pacientes entre 40 e 60 anos. O tamanho variou de 2mm a extenso, mas com a maioria (11 casos) menores ou iguais a 15mm. A maioriasdas pacientes não realizou quimioprofilaxia (8 pacientes) e o grau nuclear teve um predomínio de alto grau (7 casos).

No Quadro 3, continuamos a avaliação de características gerais e morfológicas. Quanto ao tipo de tratamento, 8 pacientes realizaram tratamento conservador (ressecções segmentares, com ou sem estadiamento axilar), versus 4 tratamentos radicais (mastectomias). A histologia foi predominantemente mista (7 casos), com uma maioria de casos com comedonecrose presente (8 casos). O tempo

médio de recorrência obtido foi de 48 meses, variando de 21 meses a 115 meses. Em relação ao estroma, observamos um predomínio de inflamatórios (5 casos) e desmoplásicos (4 casos)

As recidivas também foram avaliadas quanto a critérios morfológicos e histopatológicos, conforme descritos no Quadro 4. Apenas 2 casos foram considerados recidivas verdadeiras (recorrência como CDIS ipsilateral), sendo os demais outros eventos de câncer de mama (CDIS contralaterais ou lesões invasivas). Nos casos *in situ*, a maioria teve predomínio de graus nucleares baixos (5 de 6 casos), ao contrário dos invasivos, majoritariamente com graus histológicos altos (4 casos em 6).

Nos Quadros 5 e 6 temos a representação imuno-histoquímica de todos os 12 casos índices de CDIS recidivados. A maioria dos casos era hormônio positivo (estrogênio ou progesterona ou ambos), porém com alto número de casos indeterminados, devido a pouco material disponível para reanálise. O HER2 apresentou baixa positividade (2 casos 3+), ao contrário das metaloproteinases, que apresentaram uma maioria de casos positivos na nossa casuística (apenas 4 casos MMP2 negativos, nenhum MMP1 ou 9 negativos). O mesmo repete-se nos marcadores de CME (Quadro 6), com poucos casos negativos (2 casos negativos em todas, exceto AML e CK5/6 com 3 casos).

Quadro 2 - Características da apresentação dos carcinomas ductais *in situ* com recidiva (*in situ* ou invasiva) incluídos no estudo.

Número do Estudo	Ano Diagnóstico	Idade	Tamanho	QP	GN
1	2002	84	8mm	não	alto
2	2002	42	10mm	não	baixo
3	2003	42	12mm	não	alto
4	2003	51	extenso	sim	alto
5	2003	71	7mm	sim	baixo
6	2001	44	3mm	não	baixo
7	2005	51	2mm	não	alto
8	2005	50	6mm	não	baixo
9	2007	43	15mm	não	alto
10	2002	59	2mm	sim	alto
11	2004	47	8mm	não	alto
12	2007	56	4mm	sim	baixo

QP = quimioprofilaxia, GN = grau nuclear.

Quadro 3 - Características da apresentação dos carcinomas ductais *in situ* com recidiva (*in situ* ou invasiva) incluídos no estudo, conforme morfologia e tratamento.

Número do Estudo	Tratamento	Histologia	CN	Estroma	TR
1	RS + BLS	cribriforme	sim	fibromatose	48
2	MS + BLS	sólido	sim	inflamatório	115
3	RS	papilífero	não	inflamatório	76
4	MS	sólido + micropapilar	sim	normal	22
5	RS	sólido + cribriforme	não	inflamatório	24
6	RS	sólido + cribriforme	não	desmoplásico	30
7	RS + BLS	sólido	sim	desmoplásico	49
8	RS	cribriforme + micropapilar	sim	desmoplásico	24
9	MS + BLS	sólido	sim	normal	58
10	RS	cribriforme + micropapilar	não	inflamatório	21
11	MS + BLS	sólido + micropapilar	sim	inflamatório	32
12	RS	cribriforme + micropapilar	sim	desmoplásico	53

RS = ressecção segmentar, BLS = biópsia do linfonodo sentinela, MS = mastectomia, CN = comedonecrose, TR = tempo para recorrência em meses.

Quadro 4 - Características das lesões observadas nas recorrências dos 12 casos índices incluídos no estudo.

Número do Estudo	Tipo Recidiva	Lateralidade	GN	GH
1	invasiva	contralateral	-	baixo
2	invasiva	ipsilateral	-	alto
3	invasiva	ipsilateral	-	alto
4	invasiva	ipsilateral	-	alto
5	in situ	contralateral	baixo	-
6	in situ	contralateral	baixo	-
7	in situ	ipsilateral	baixo	-
8	in situ	contralateral	baixo	-
9	in situ	ipsilateral	alto	-
10	in situ	contralateral	baixo	-
11	invasivo	contralateral	-	alto
12	invasivo	contralateral	-	baixo

GN = grau nuclear, Gh = grau histológico, usado em lesões invasivas.

Quadro 5 - Características da imuno-histoquímica dos carcinomas ductais *in situ* com recidiva (avaliados no caso índice) incluídos no estudo, compreendendo receptores hormonais, HER2 e metaloproteinases.

Número do Estudo	RE	RP	HER2	MMP1	MMP2	MMP9
1	indeterminado	indeterminado	0	fraco	fraco	médio
2	indeterminado	indeterminado	indeterminado	fraco	negativo	fraco
3	positivo	positivo	2	médio	negativo	fraco
4	positivo	positivo	1	médio	fraco	fraco
5	positivo	positivo	3	fraco	negativo	fraco
6	indeterminado	indeterminado	indeterminado	médio	fraco	forte
7	positivo	positivo	0	forte	médio	médio
8	positivo	positivo	1	médio	fraco	médio
9	positivo	positivo	0	fraco	negativo	fraco
10	indeterminado	indeterminado	indeterminado	médio	fraco	fraco
11	positivo	indeterminado	3	médio	fraco	fraco
12	negativo	positivo	0	médio	fraco	médio

RE= receptor estrogênio, RP = receptor progesterona, MMP = metaloproteinase

Quadro 6 - Características da imuno-histoquímica dos carcinomas ductais *in situ* com recidiva (avaliados no caso índice) incluídos no estudo, compreendendo marcadores de CME.

Número do Estudo	CD10	AML	CK 5/6	P63
1	focal	intermediário	focal	focal
2	negativo	negativo	focal	focal
3	focal	negativo	focal	negativo
4	contínuo	fraco	focal	focal
5	focal	forte	focal	focal
6	negativo	indeterminado	negativo	indeterminado
7	focal	forte	negativo	negativo
8	contínuo	fraco	focal	focal
9	foca	fraco	negativo	focal
10	focal	negativo	focal	focal
11	focal	intermediário	focal	focal
12	focal	intermediário	focal	focal

A seguir, nos Quadros 7 a 10, demonstramos todas as variáveis avaliadas em nossos 24 controles (CDIS sem recidivas), dentre características gerais, morfológicas e imuno-histoquímicas.

No Quadro 7 observamos as características gerais dos controles. Devido a maior facilidade de avaliação de prontuários, a maioria dos controles foi obtida no período a partir de 2006. A idade variou de 40 a 81 anos, assim como os casos sem pacientes com menos de 40 anos. Novamente uma maioria de lesões pequenas, tendo apenas 2 controles com lesões maiores de 40mm. Em relação à quimioprofilaxia, também um predomínio de pacientes que não a fizeram (14 controles)

Quadro 7 – Características gerais da apresentação dos carcinomas ductais *in situ* puros (controles sem recidiva) incluídos no estudo

Número do Estudo	Ano Diagnóstico	Idade	Tamanho	QP
1	2007	61	6mm	não
2	2007	75	2mm	não
3	2007	47	3mm	não
4	2006	81	1mm	não
5	2007	52	3mm	não
6	2008	52	5mm	sim
7	2008	40	10mm	sim
8	2007	54	15mm	sim
9	2008	63	7mm	sim
10	2007	41	15mm	sim
11	2006	57	8mm	não
12	2007	43	22mm	sim
13	2003	60	3mm	não
14	2006	57	extenso	sim
15	2007	45	5mm	não
16	2003	54	3mm	não
17	2007	66	5mm	não
18	2004	66	4mm	sim
19	2004	68	10mm	não
20	2008	51	5mm	não
21	2006	46	4mm	não
22	2006	57	5mm	não
23	2007	46	9mm	sim
24	2008	46	4mm	sim

QP = quimioprofilaxia, GN = grau nuclear.

Continuamos as características gerais dos controles no Quadro 8. Neste podemos notar um grande número de mastectomias (11), quase a metade dos controles. Quanto ao tipo histológico, também 11 controles com tipos mistos. Em

relação à comedonecrose e grau nuclear, resultados similares aos casos: predomínio de comedonecrose (15 controles) e alto grau nuclear (20 controles).

Quadro 8 - Características da apresentação dos carcinomas ductais *in situ* puros (controles sem recidivas) incluídos no estudo, conforme morfologia e tratamento.

Número do Estudo	Tratamento	Histologia	CN	GN	Estroma
1	RS	sólido	sim	alto	desmoplásico
2	RS	sólido	não	alto	desmoplásico
3	MS + LNS	sólido	sim	alto	desmoplásico
4	RS + LNS	sólido + cribriforme	sim	baixo	normal
5	RS	micropapilar	não	alto	desmoplásico
6	RS	sólido + cribriforme	sim	alto	normal
7	MS + BLS	sólido + cribriforme	sim	alto	desmoplásico
8	MS	cribriforme + micropapilar	não	alto	desmoplásico
9	RS	sólido + cribriforme	não	baixo	normal
10	MS + BLS	sólido	sim	alto	desmoplásico
11	RS	sólido	não	alto	desmoplásico
12	MS + BLS	sólido + cribriforme	sim	alto	inflamatório
13	RS	sólido	sim	baixo	normal
14	MS + LNS	sólido + cribriforme	não	baixo	normal
15	RS	micropapilar	sim	alto	normal
16	MS + LNS	sólido	sim	alto	normal
17	MS + LNS	cribriforme	não	alto	normal
18	MS + LNS	sólido + micropapilar	não	alto	normal
19	RS	sólido	sim	alto	desmoplásico
20	RS + LNS	sólido	sim	alto	desmoplásico
21	MS + LNS	sólido + micropapilar	não	alto	normal
22	MS + LNS	sólido + micropapilar	sim	alto	desmoplásico
23	RS	sólido	sim	alto	normal
24	RS	sólido + cribriforme	sim	alto	normal

RS = ressecção segmentar, BLS = biópsia do linfonodo sentinela, MS = mastectomia, CN = comedonecrose, TR = tempo para recorrência em meses.

Por fim, os Quadros 9 e 10 demonstram o painel imuno-histoquímico completo dos 24 controles avaliados. No primeiro, observamos uma maioria de casos positivos para receptores de hormônio (estrogênio, progesterona ou ambos), ao contrário do HER2, com uma minoria positiva (8 casos 3+). Assim como nos casos, novamente ampla positividade de metaloproteinases, apresentando casos negativos apenas na análise de MMP2 (7 casos). No segundo, observamos também poucos casos com marcadores negativos para CME, chegando num máximo de 9 casos AML negativos.

Quadro 9 - Características da imuno-histoquímica dos carcinomas ductais *in situ* puros (controles sem recidiva) incluídos no estudo, compreendendo receptores hormonais, HER2 e metaloproteinases.

Estudo	RE	RP	HER2	MMP1	MMP2	MMP9
1	negativo	negativo	3	fraco	negativo	forte
2	negativo	negativo	0	fraco	fraco	forte
3	negativo	negativo	3	forte	fraco	médio
4	positivo	positivo	1	médio	fraco	fraco
5	negativo	negativo	2	fraco	negativo	fraco
6	positivo	positivo	0	médio	fraco	médio
7	positivo	positivo	0	médio	fraco	fraco
8	indeterminado	indeterminado	indeterminado	forte	médio	forte
9	positivo	positivo	0	forte	fraco	médio
10	positivo	positivo	indeterminado	médio	negativo	médio
11	negativo	negativo	3	forte	fraco	fraco
12	positivo	negativo	3	fraco	negativo	fraco
13	positivo	positivo	3	forte	negativo	fraco
14	positivo	positivo	1	médio	negativo	médio
15	positivo	positivo	1	indeterminado	indeterminado	indeterminado
16	positivo	positivo	3	médio	fraco	fraco
17	positivo	positivo	1	fraco	médio	forte
18	positivo	negativo	3	médio	negativo	médio
19	negativo	negativo	3	forte	fraco	médio
20	negativo	negativo	0	médio	fraco	fraco
21	positivo	positivo	0	médio	fraco	fraco
22	positivo	positivo	1	médio	fraco	médio
23	positivo	negativo	0	médio	negativo	fraco
24	positivo	positivo	1	fraco	fraco	médio

RE= receptor estrogênio, RP = receptor progesterona, MMP = metaloproteinase

Quadro 10 - Características da imuno-histoquímica dos carcinomas ductais *in situ* puros (controles sem recidiva) incluídos no estudo, compreendendo marcadores de CME.

Estudo	CD10	AML	CK 5/6	P63
1	contínuo	negativo	focal	focal
2	negativo	negativo	focal	indeterminado
3	focal	negativo	focal	contínuo
4	focal	negativo	focal	focal
5	negativo	fraco	focal	focal
6	focal	fraco	focal	focal
7	focal	médio	focal	contínuo
8	negativo	fraco	negativo	focal
9	focal	fraco	focal	focal
10	focal	negativo	focal	focal
11	focal	negativo	negativo	focal
12	focal	médio	focal	focal
13	focal	negativo	focal	focal
14	focal	fraco	focal	focal
15	indeterminado	indeterminado	indeterminado	indeterminado
16	focal	fraco	negativo	focal
17	indeterminado	indeterminado	indeterminado	focal
18	negativo	médio	focal	focal
19	focal	médio	focal	focal
20	negativo	negativo	focal	negativo
21	focal	médio	focal	focal
22	focal	fraco	focal	focal
23	contínuo	médio	focal	focal
24	contínuo	negativo	focal	focal

Abaixo (Figuras 20 a 40), representamos novamente a distribuição de todas as variáveis avaliadas nos 12 casos e 24 controles, porém em gráficos de proporcionalidade equiparados, com intuito de facilitar comparação entre as variáveis. Discutiremos estes valores com pormenores posteriormente.

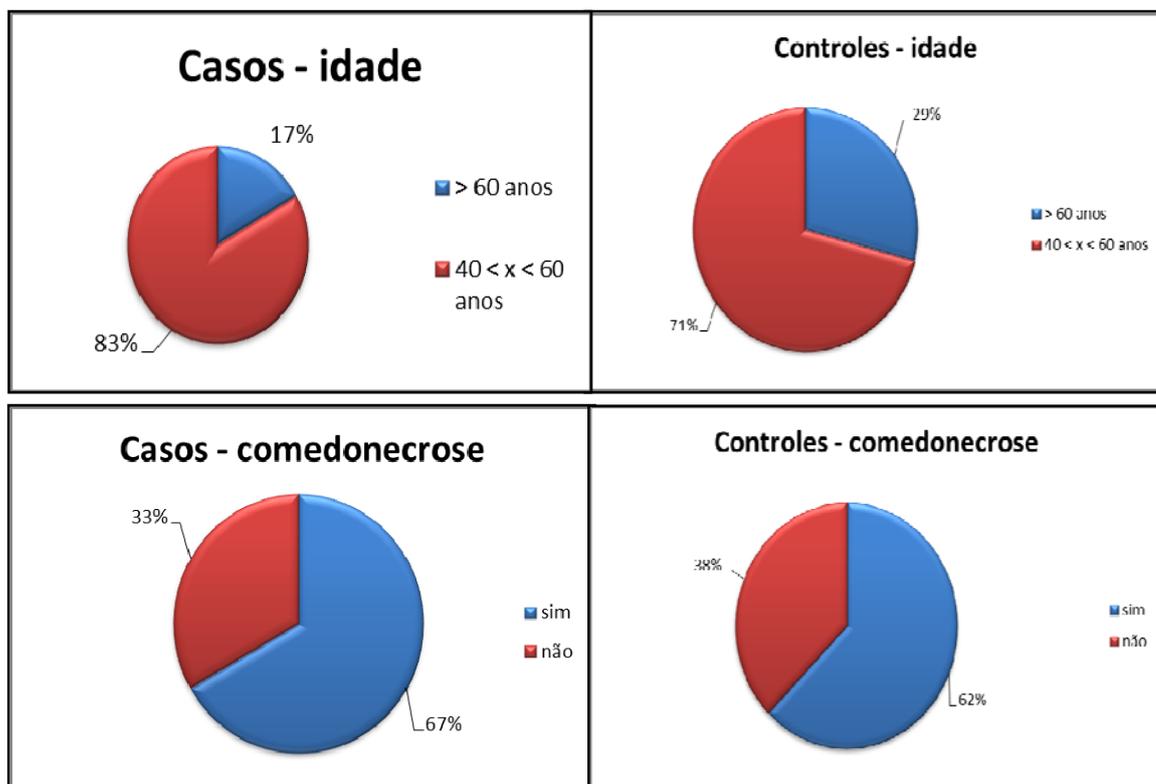


Figura 20 - Distribuição de idade entre casos e controles

Figura 21 - Presença de comedonecrose entre casos e controles

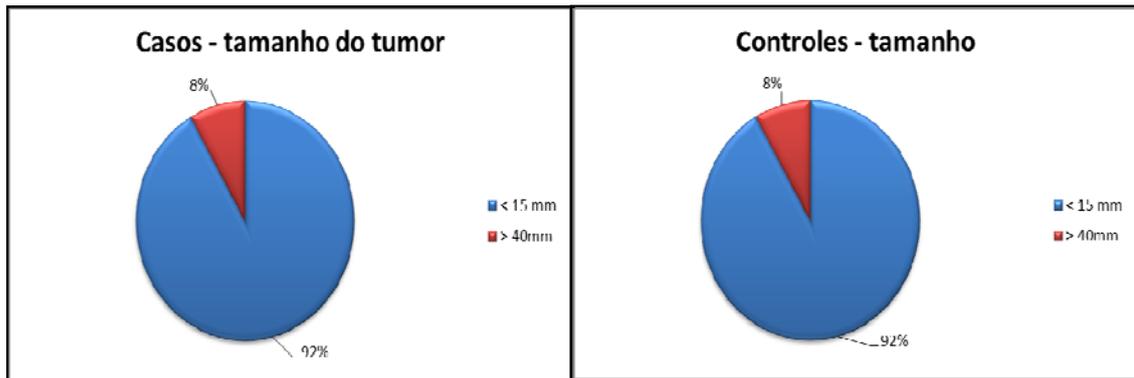


Figura 22 – Distribuição do tamanho do tumor entre casos e controles, estratificados conforme grupos do critério de Van Nuys (VNPI). Nota-se que não houveram lesões de tamanho entre 15mm e 40 mm.

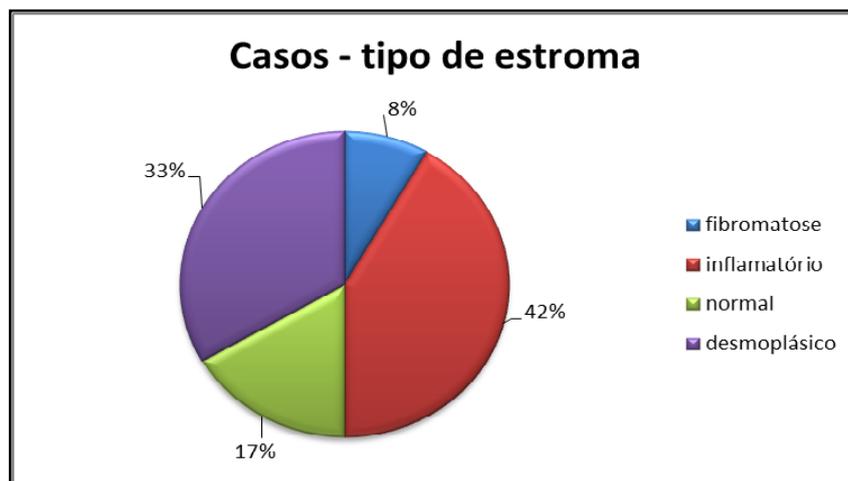


Figura 23 – Distribuição dos tipos de estroma analisado nos casos, conforme definição adotada: tipo fibromatose, tipo inflamatório, tipo normal e tipo desmoplásico

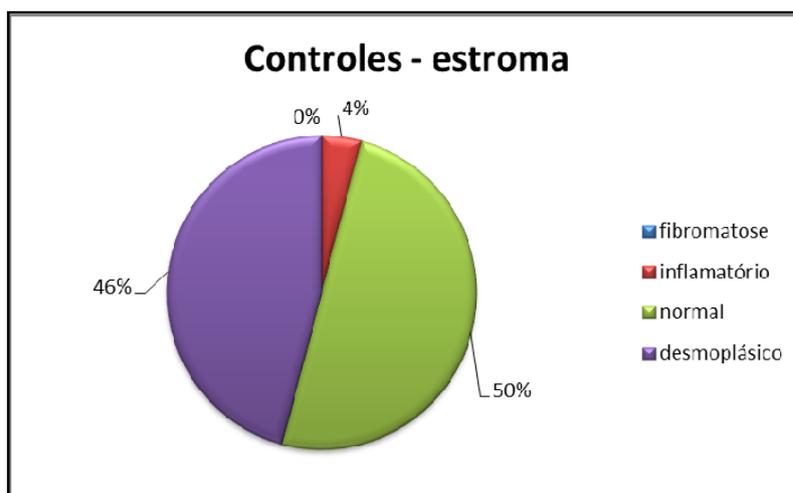


Figura 24 - Distribuição dos tipos de estroma analisado nos controles, conforme definição adotada: tipo fibromatose, tipo inflamatório, tipo normal e tipo desmoplásico

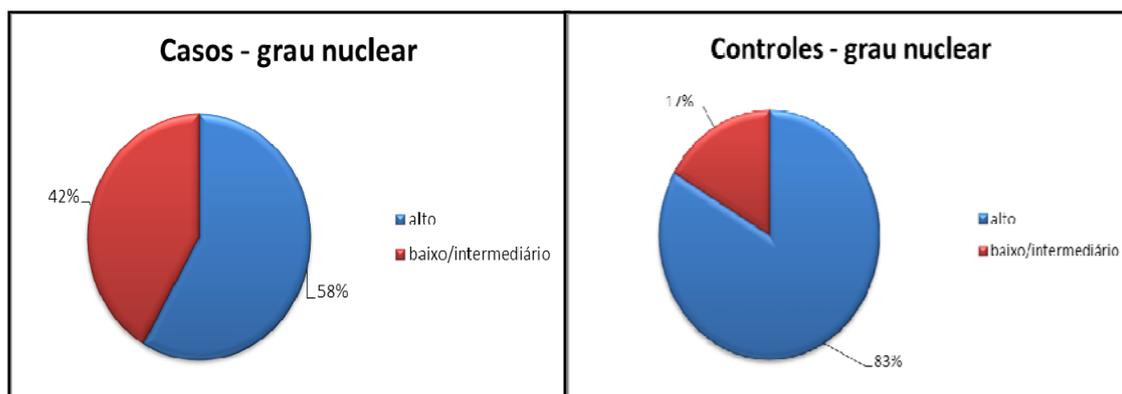


Figura 25 – Distribuição do grau nuclear entre casos e controles (alto ou baixo/intermediário)

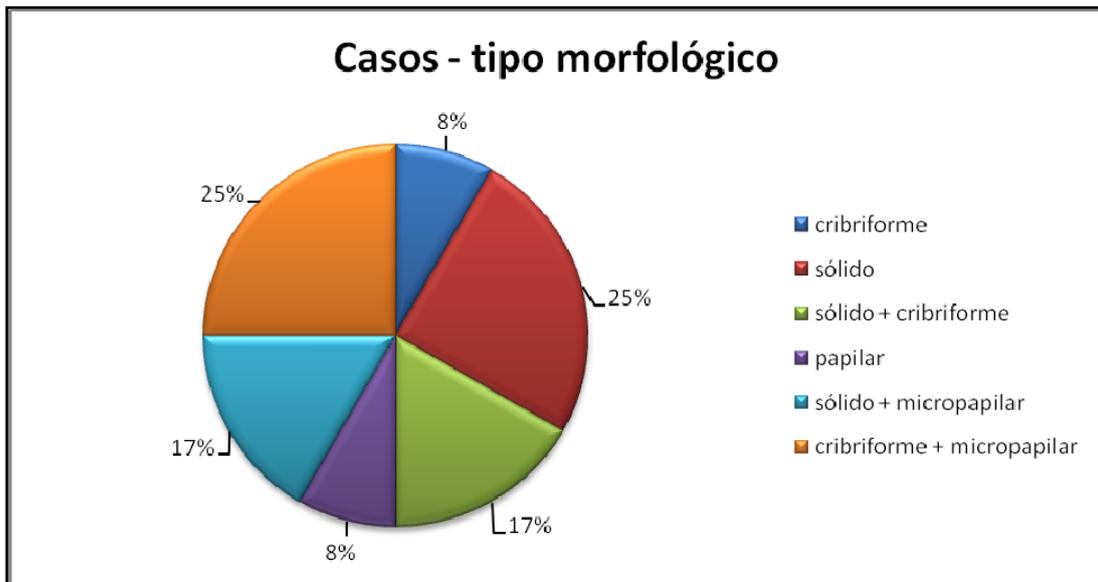


Figura 26 - Tipo morfológico entre casos, conforme definição adotada: tipo cribriforme, tipo sólido, tipos sólido e cribriforme, tipo papilar, tipos sólido e micropapilar, tipo cribriforme e micropapilar

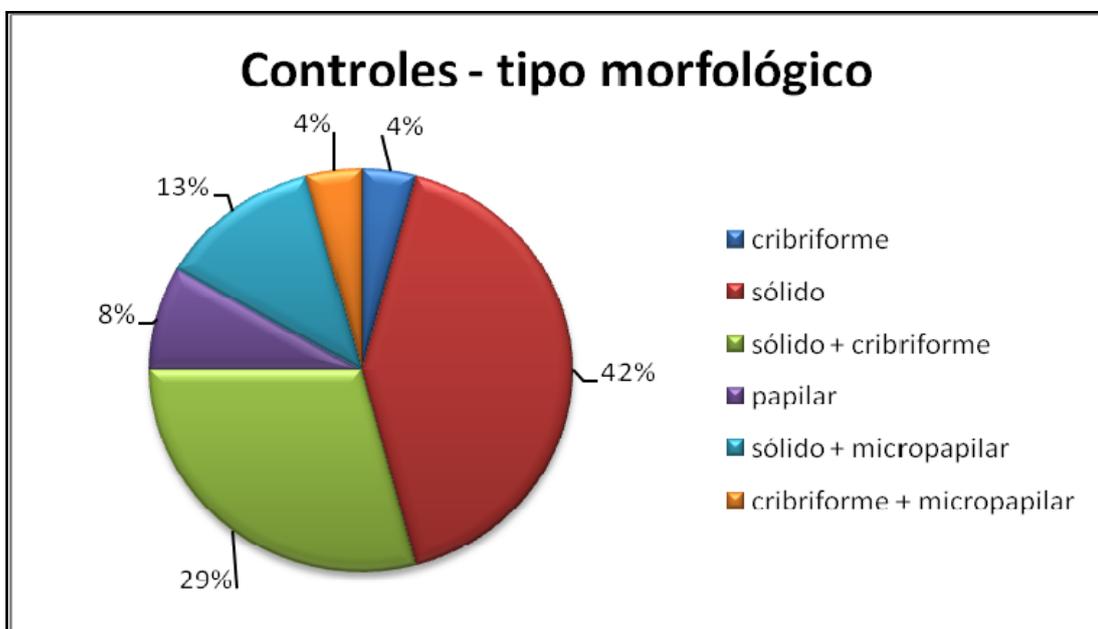


Figura 27 - Tipo morfológico entre controles, conforme definição adotada: tipo cribriforme, tipo sólido, tipos sólido e cribriforme, tipo papilar, tipos sólido e micropapilar, tipo cribriforme e micropapilar.

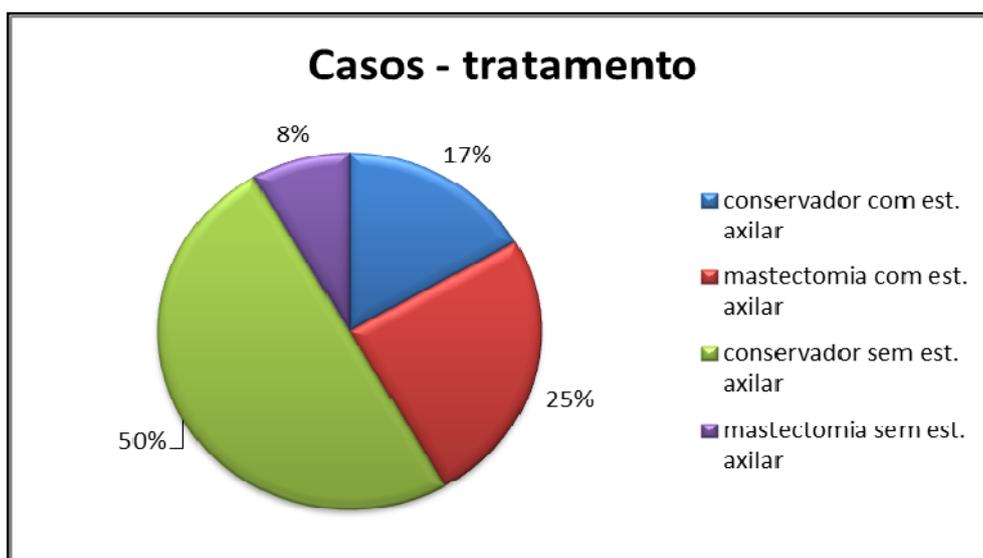


Figura 28 - Tratamento adotado entre casos, variando entre conservador ou mastectomia, com ou sem estadiamento axilar (linfonodo sentinela)

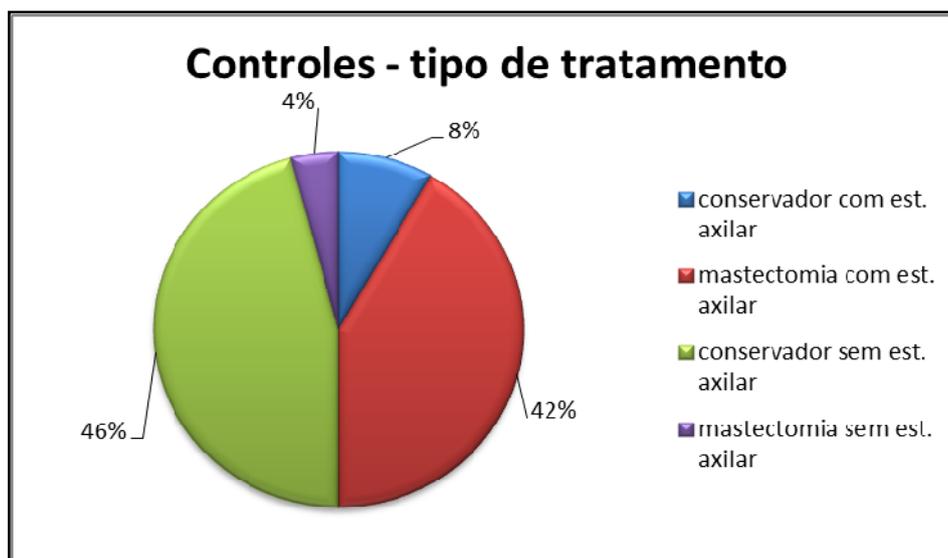


Figura 29 - Tratamento adotado entre controles, variando entre conservador ou mastectomia, com ou sem estadiamento axilar (linfonodo sentinela)

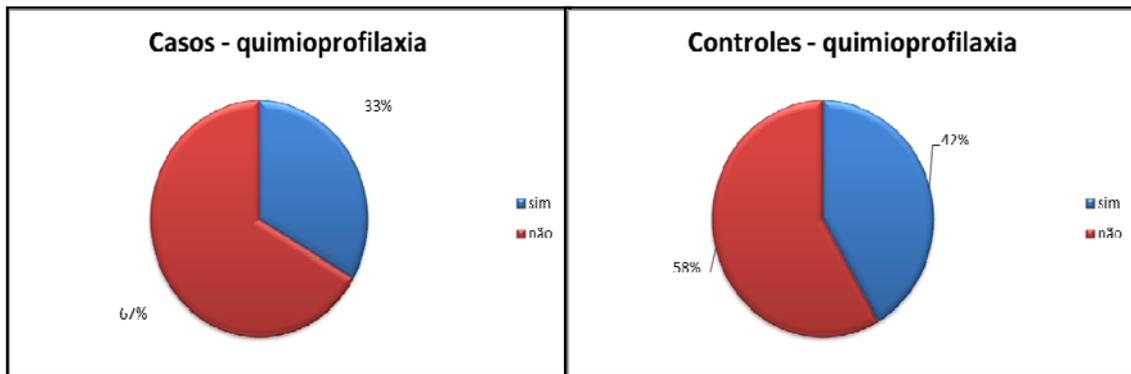


Figura 30 – Taxas de realização de quimioprevenção completa com tamoxifeno por 60 meses entre casos e controles

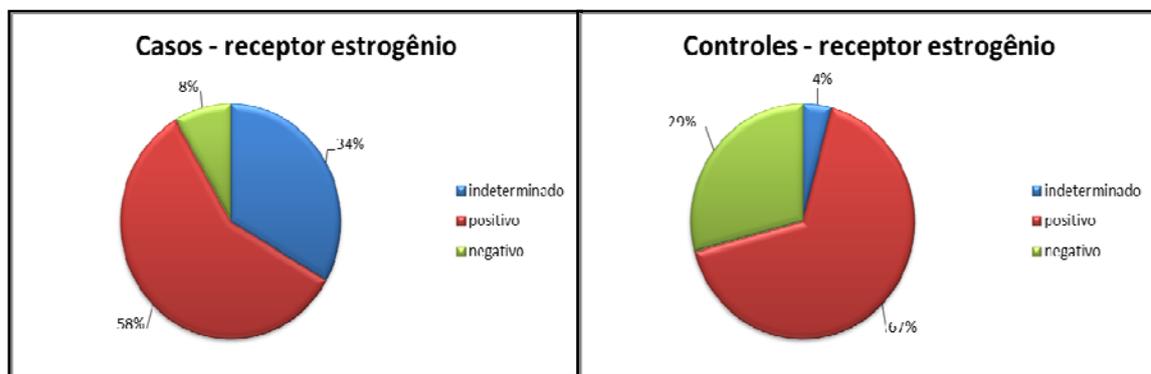


Figura 31 – Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa dos receptores de estrogênio nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

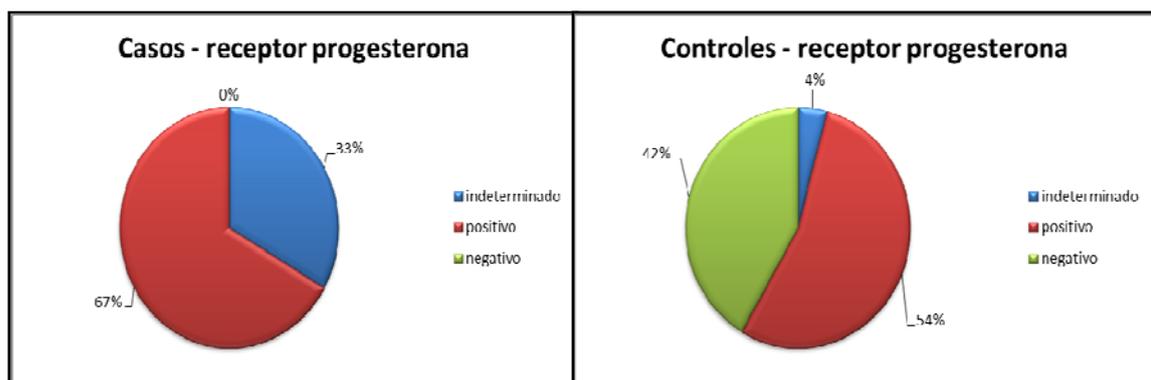


Figura 32 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa dos receptores de progesterona nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

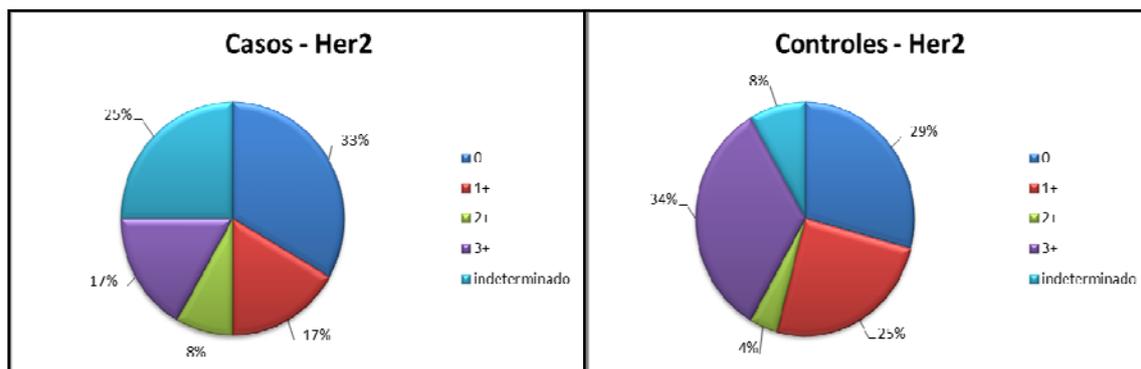


Figura 33 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa dos receptores de HER2 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

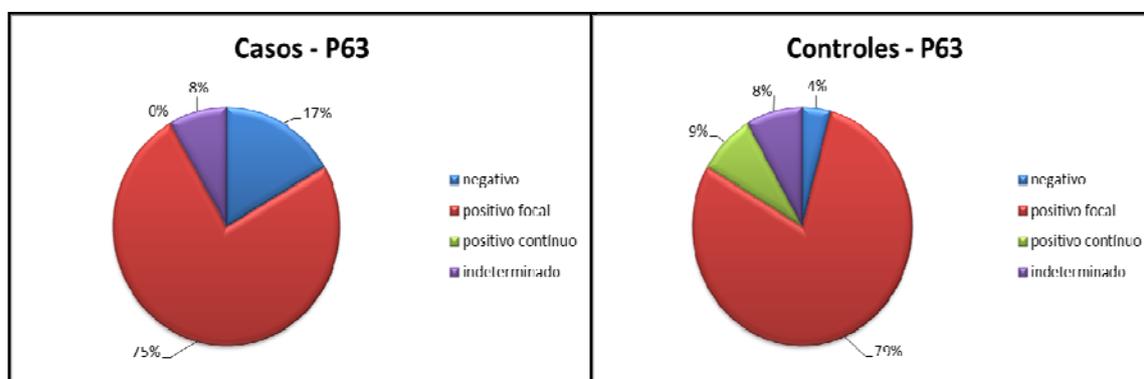


Figura 34 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína P63 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

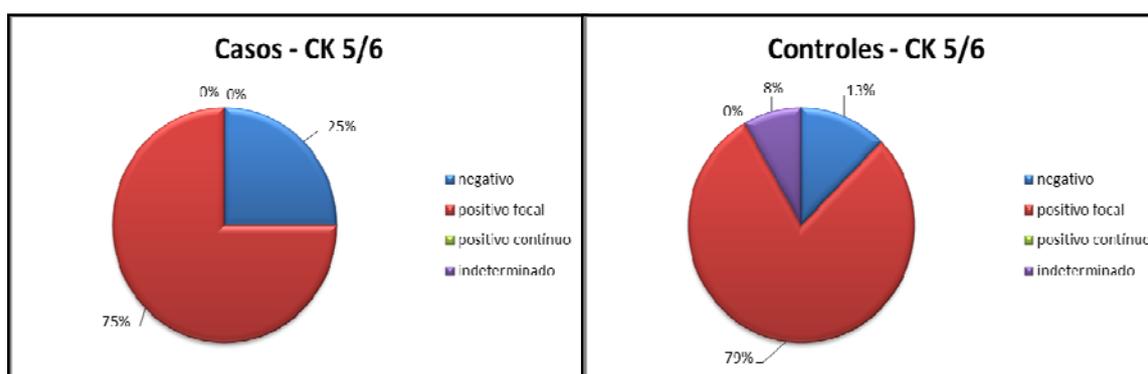


Figura 35 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa das citoqueratinas CK5/6 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

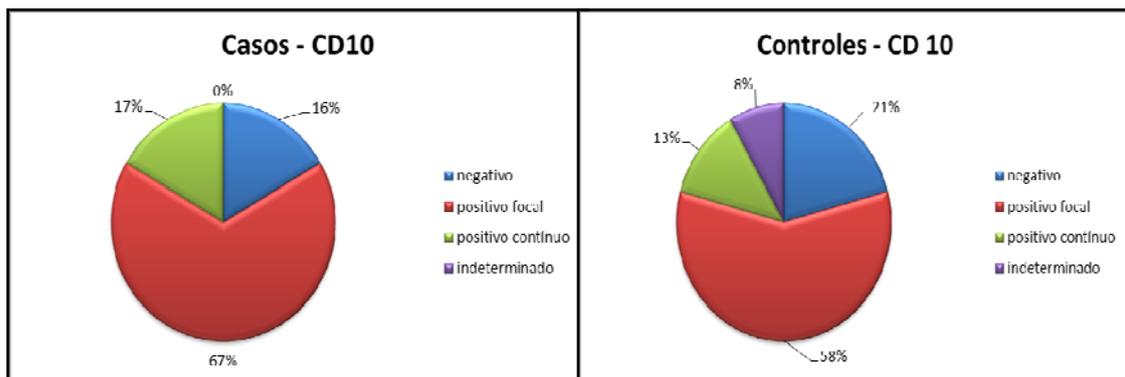


Figura 36 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína CD10 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

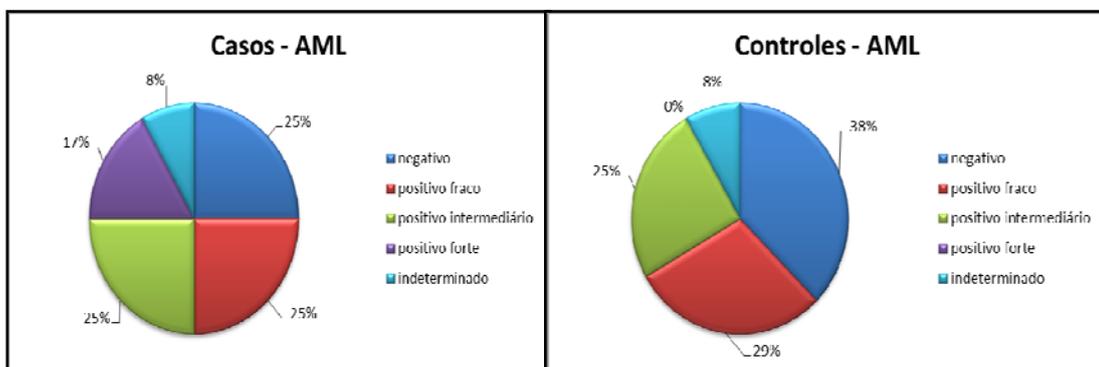


Figura 37 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína AML nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

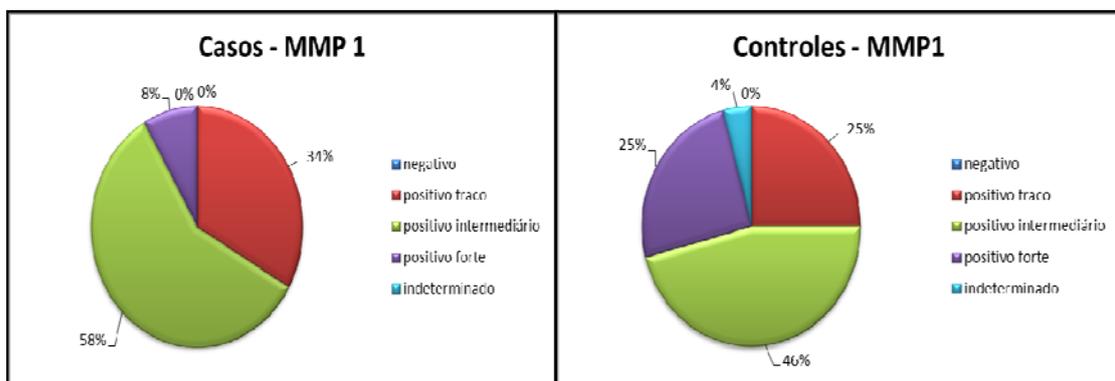


Figura 38 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína MMP1 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

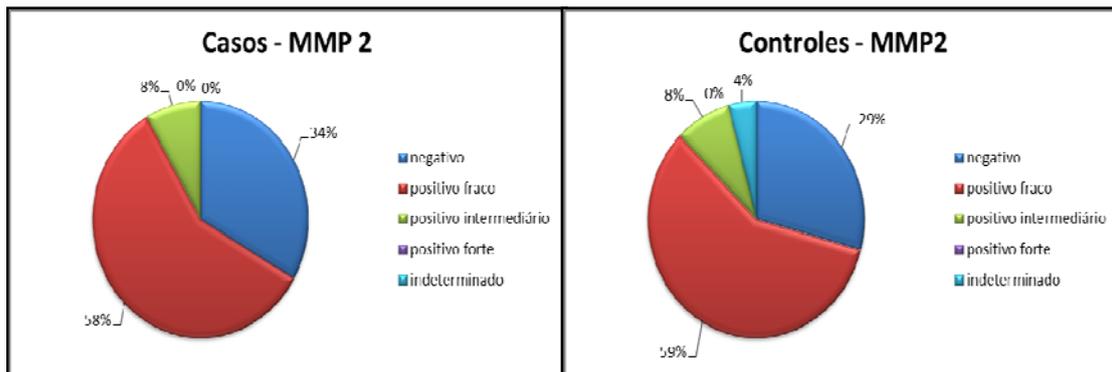


Figura 39 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína MMP2 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

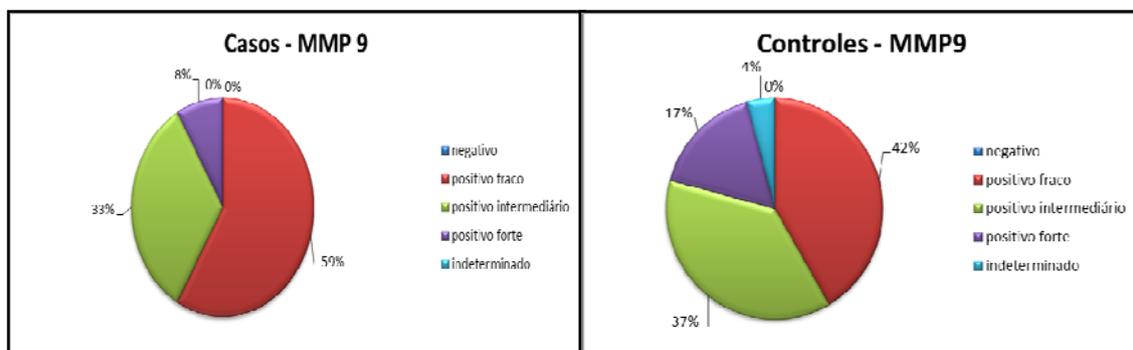


Figura 40 - Expressão imuno-histoquímica semiquantitativa da proteína MMP9 nos casos com e sem recidiva após diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama

Realizamos avaliação das recorrências através de curva de Kaplan-Meier, como demonstrado a seguir (Figura 41).

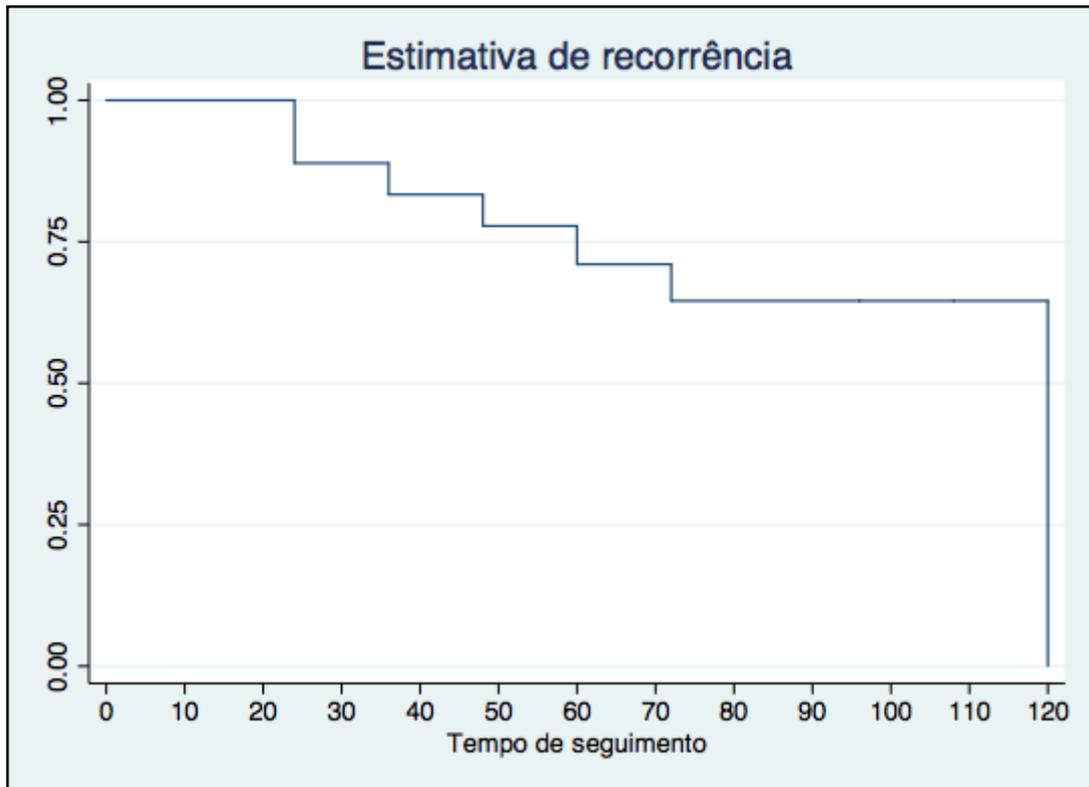


Figura 41 - Curva de Kaplan-Meier demonstrando recorrência dos CDIS na casuística estudada ao longo do tempo (em meses).

Abaixo as tabelas demonstrando a análise caso controle e de sobrevivência de todas as variáveis investigadas (Tabelas 1 a 4). Nota-se que não houve significância estatística em nenhuma das variáveis avaliadas, demonstradas pela ausência de $p < 0,05$ e de amplos intervalos de confiança em todas as variáveis.

Tabela 1 - Análise estatística tipo caso controle das variáveis morfológicas, *p* não significativo em todas variáveis.

	Odds Ratio	Chi ²	<i>p</i>	Intervalo de confiança 95%
Tamanho	1,000000	0,00	1,0000	0,078649 – 12,714705
Comedonecrose	1,200000	0,06	0,8088	0,273405 – 5,266909
Grau nuclear	0,280000	2,59	0,1074	0,053437 – 1,467143
Quimioprofilaxia	0,280000	2,59	0,1074	0,053437 – 1,467143
Idade	0,485714	0,65	0,4208	0,080570 – 2,928107
Estroma	0,956735	0,01	0,9034	0,468522 - 1,953676
Tipo histológico	1,425077	2,24	0,1342	0,896463 - 2.265396

Tabela 2 - Análise estatística tipo caso controle dos marcadores imunohistoquímicos, *p* não significativo em todas variáveis

	Odds Ratio	Chi ²	<i>p</i>	Intervalo de confiança 95%
Receptor estrogênio	3,062500	0,96	0,3259	0,291627 – 32,160657
Receptor progesterona	---	4,97	0,0258	---
HER2	0,810705	0,46	0,4975	0,442165 – 1,486417
P63	0,231445	2,44	0,1183	0,036884 – 1,452310
CK 5/6	0,473684	0,67	0,4132	0,075865 – 2,957594
CD10	1,287208	0,18	0,6729	0,398640 – 4,156391
AML	1,737246	2,03	0,1547	0,811902 – 3,717229
Calponina	1,442603	0,53	0,4674	0,536940 – 3,875855
MMP 1	0,601891	1,00	0,3171	0,222620 – 1,627312
MMP 2	0,634716	0,86	0,3545	0,242468 - 1,661516
MMP 9	0,634716	0,86	0,3545	0,242468 - 1,661516

Tabela 3 - Análise estatística tipo de sobrevivência das variáveis morfológicas, *p* não significativo em todas variáveis

	Hazard Ratio	Erro Padrão	z	p	Intervalo de confiança 95%
Tamanho	1,08841	0,571	0,16	0,872	0,3890756 - 3,044743
Comedonecrose	1,014192	0,637	0,02	0,982	0,296014 - 3,474785
Grau nuclear	0,5477789	0,345	-0,95	0,340	0,1591791 - 1,885058
Quimioprofilaxia	1,006802	0,635	0,01	0,991	0,2919229 - 3,47232
Idade	0,6421196	0,502	-0,57	0,571	0,1387098 - 2,972519
Estroma	0,943	0,298	-0,18	0,855	0,5082007 - 1.753344
Tipo histológico	1,44017	0,284	1,85	0,065	0,9775289 - 2.121767

Tabela 4 - Análise estatística tipo de sobrevivência das variáveis morfológicas, *p* não significativo em todas variáveis

	Hazard Ratio	Erro Padrão	z	p	Intervalo de confiança 95%
Receptor estrogênio	2,711021	2,90	0,93	0,352	0,3319436 - 22,14121
Receptor progesterona	---	---	---	---	---
HER2	0,7845693	0,223	-0,85	0,395	0,4486968 - 1,37186
P63	0,3531356	0,254	-1,44	0,149	0,0859804 - 1,450386
CK 5/6	0,6017716	0,407	-0,75	0,453	0,1595743 - 2,269344
CD10	1,905359	1,04	1,18	0,238	0,6534933 - 5,555363
AML	1,920796	0,680	1,84	0,065	0,9590785 - 3,846875
Calponina	1,793711	0,930	1,13	0,260	0,6491494 - 4,956328
MMP 1	0,7712388	0,336	-0,59	0,552	0,3275565 - 1,815898
MMP 2	1,263778	0,627	0,47	0,637	0,4774062 - 3,345442
MMP 9	0,8011476	0,361	-0,49	0,623	0,3312442 - 1,937657

5 DISCUSSÃO

O CDIS é uma lesão heterogênea e tratada tão agressivamente como o carcinoma invasor da mama, através de cirurgia, quimioprofilaxia e radioterapia. Devido a sua indolência, baixas taxas e longo tempo para recidiva em muitas pacientes, muitos acreditam que exista um subgrupo de CDIS que mereça ser poupada de algumas das modalidades terapêuticas atualmente utilizadas. Não existem, entretanto, fatores prognósticos ou preditivos úteis nesta identificação.

Nosso estudo foi retrospectivo, tipo caso-controle pareado por idade, grau histológico, tipo de cirurgia e receptores hormonais e teve o objetivo de estudar fatores relacionados com destruição e a reposição da membrana basal como fatores de predição da recorrência do CDIS. Revisamos 565 casos com diagnóstico de CDIS e identificamos uma taxa de recorrência de 2,65% para CDIS e 5,98% quando consideramos também recorrências com componente invasor ipsilaterais ou contralaterais, em pacientes com seguimento mínimo de 60 meses. Estes valores são baixos quando comparados aos estudos mais importantes da literatura, como o NSABP B-17 (FISHER 1998), que observou 8% de recorrência após cirurgia conservadora e radioterapia; o NSABP B-24 (FISHER 1999a) também com 15% de recorrência global e 8% de recorrência no grupo tratado com cirurgia conservadora, radioterapia e tamoxifeno. Em publicação recente, o Memorial Sloan Kettering Cancer Center observou 7% de recorrência local não invasiva e 11% de eventos câncer de mama após tratamento CDIS (RUDLOFF et al. 2010). Deve-se observar, entretanto, que em nosso estudo houve perda de seguimento da casuística

(seguimento médio de 58 meses, mediana de 60 meses), fato que provavelmente ocultou possíveis recidivas que não foram contempladas.

As variáveis analisadas apresentaram pontos de concordância e discordância em relação à literatura científica, os quais discutiremos a seguir.

Quanto à idade, a maioria dos casos e controles tiveram CDIS entre os 40 e 60 anos de idade, em porcentagem similar, como observado na literatura. Calculado com dados do SEER (KERLIKOWSKA 2010), a incidência de CDIS é de 88 casos em 100.000 entre os 50 a 64 anos de idade (faixa de maior incidência), versus menos de 10 em 100.000 em pacientes abaixo dos 50 anos de idade. Uma pequena parcela de pacientes teve CDIS acima dos 60 anos. Nenhum caso ou controle teve CDIS abaixo dos 40 anos de idade. O tempo médio de recorrência foi em torno de 48 meses, com um valor máximo de 115 meses, denotando o caráter mais indolente do CDIS.

Ao correlacionarmos com o tipo de tratamento, podemos observar que a opção por mastectomias foi acima da relatada na literatura para a população estudada, sendo utilizada em 33% dos casos e em 46% dos controles. Em estudo das principais modalidades terapêuticas para CDIS nos EUA, BAXTER (2004) observou taxa de 28% de mastectomias para tratamento em mulheres americanas, no ano de 1999. Em nossa casuística, houve uma alta taxa de mastectomias, principalmente considerando-se o tamanho pequeno da maioria das lesões estudadas. A diferença nos índices de mastectomias entre os dois grupos não esteve estatisticamente relacionada com a recorrência, mas não se pode excluir que isto se deva ao pequeno número de indivíduos em cada categoria.

Em referência aos dados histológicos, comparamos nossa casuística com um importante trabalho da literatura (FISHER 1999b). Neste, após a publicação inicial dos dados do NSABP B-17 (FISHER 1998), os autores realizaram um estudo epidemiológico separado, apenas com achados patológicos detalhados de parte da casuística estudada no NSABP B-17, publicada no ano seguinte. Não foi utilizada a casuística completa do estudo, nas características abaixo os autores avaliaram apenas 623 casos (com exceção do tamanho, n= 917). Abaixo veremos uma comparação direta entre os nossos dados e os dados do NSABP B-17.

Tabela 5 - Comparação da casuística do estudo com o estudo NSABP B-17.

	Casuística do estudo (n = 36)	Casuística NSABP B-17 (n=623)
Comedonecrose	Ausente ou leve – 36%	Ausente ou leve – 55%
	Presente – 64%	Presente - 45%
Tipo histológico	Cribriforme – 5,5%	Cribriforme – 18%
	Sólido – 36,1%	Sólido – 22%
	Outros – 58,4%	Outros – 60%
Margens	Livres – 100%	Livres – 82%
	Comprometidas – 0%	Comprometidas – 18%
Grau nuclear	Baixo – 25%	Baixo – 48,5%
	Alto – 75%	Alto – 51,5%
Tamanho	<15mm – 91%	<10mm – 59,3%
	Outros – 9%	Outros – 40,7%

O achado de comedonecrose nos casos índices foi alto (presente em torno de 2/3 dos casos e controles), em relativa concordância com o grau nuclear, que foi alto na maioria dos casos e controles. Já no NSABP B-17 a casuística foi mais balanceada, tendo uma presença de comedonecrose e alto grau nuclear pouco maior que a metade dos casos. A comedonecrose, quando associada a alto grau nuclear, foi

correlacionada com maiores índices de recorrência no trabalho de SILVERSTEIN (2003), fato que não se repetiu no NSABP B-17 (FISHER 1998).

Quanto ao tamanho, 92% dos casos e controles eram de tumores pequenos, menores que 15 mm. Também nesta variável o NSABP B-17 teve casuística mais balanceada, embora também presentes uma grande quantidade de tumores pequenos (próximos a 10mm) na categoria “outros”. Considerando-se que o tamanho da lesão está relacionada com índices de recorrência (SILVERSTEIN 2003), inclusive fazendo parte do VNPI, poderíamos associar este achado com os baixos índices de recorrência, apesar de nossa análise estatística não ter demonstrado isso.

Quanto ao tipo morfológico, tivemos uma distribuição homogênea destes nos casos, com uma maioria de tumores sólidos e sólidos com micropapilares; assim como uma distribuição mais heterogênea nos controles, embora ainda relativamente similar aos casos, com um predomínio de tumores sólidos, seguidos dos sólidos com cribriformes. O NSABP B-17, por sua vez, teve um maior índice de lesões com padrão histológico sólido, sem correlação com índices de recorrência (FISHER 1999b).

Em relação aos receptores hormonais, pudemos observar um predomínio de casos estrogênio e progesterona positivos, em torno de 60%; valores similares ao número de pacientes que realizaram quimioprofilaxia. Não era esperado que os controles tivessem feito menos quimioprofilaxia, considerando-se o valor protetor desta, porém não podemos inferir que houve relação com os índices de recidiva dada a falta de significância estatística nas análises.

Quanto ao HER2, pudemos observar 17% de positividade (3+) nos casos e 34% de positividade nos controles. Em revisão sistemática recente (LARI e

KUERER 2011), observou-se 40,1% de positividade para o marcador HER2, em 36 trabalhos analisados. Entretanto, a literatura é conflitante em relação ao seu significado prognóstico para os CDIS, sendo mais comumente aceito seu papel prognóstico e terapêutico apenas para as lesões invasivas.

Os demais marcadores, por sua vez, apresentaram distribuições muito similares entre os casos e os controles. O P63, CK 5/6 e CD 10 tendo uma maioria de casos e controles positivos focais, em porcentagens similares, o AML com uma distribuição pouco mais heterogênea, mas com casos positivos fracos e intermediários predominando nos casos e controles e as metaloproteinases com um predomínio de casos positivos fracos e intermediários, em porcentagens similares entre casos e controles.

Em relação aos marcadores de CME, por sua vez, AGUIAR et al. (2013) analisaram retrospectivamente marcadores imuno-histoquímicos em 236 pacientes com carcinoma ductal *in situ* de mama, tratados no período de 2000 a 2009. Destes, 90 pacientes tinha CDIS puros e 146 tinham CDI associado à CDIS. Foram avaliados marcadores pertinentes aos imunofenótipos de câncer de mama mais utilizados atualmente (receptor de estrógeno, progesterona, HER2, CK 5/6 e EGFR), sendo estes os subtipos luminais, HER2 superexpressos e basalóides (este caracterizado pela positividade do CK 5/6 e EGFR, marcadores de CME). Após análise multivariada, observou-se que a positividade para CK 5/6 e Her 2 foram negativamente relacionados com invasão tumoral, com significância estatística. Ao dividirem os casos de CDIS em alto e baixo grau, os autores também observaram novamente que a positividade para CK 5/6 novamente foi um preditor negativo de invasividade, com significância estatística, independente do grau. Sugerem, inclusive

após análise, que talvez pacientes de baixo grau associados à positividade para CK 5/6 possam ser incluídos em protocolos de tratamentos menos agressivos, colocando em evidência a utilidade deste marcador de CME nos casos de CDIS. Observar, entretanto, que as citoqueratinas foram avaliadas nas células epiteliais neste estudo, e não nas células mioepiteliais, como na nossa análise.

HILSON et al. (2009), entretanto, tiveram resultados diferentes. Os autores compararam células mioepiteliais mamárias normais com células associadas a CDIS, demonstrando que, quando associadas a CDIS, estas apresentam menor expressão para marcadores imuno-histoquímicos típicos de CME (principalmente miosina de músculo liso, CD 10, CK 5/6, com alterações menores nos outros, com significância estatística), sugerindo uma possível alteração imunofenotípica patológica. A maior redução de expressão foi na miosina de músculo liso (76,5%) e a redução foi mais importante em casos de CDIS de alto grau. Foram estudados 101 casos, sendo 56 CDIS puros e 45 CDI com CDIS associados. Neste trabalho, os grupos de imunofenótipos não foram utilizados, apenas os marcadores de CME.

Recentemente, temos o surgimento de pesquisas que estudam as CME e seu possível papel na progressão do CDIS para CDI de mama. Dados atuais sugerem que as CME associadas ao CDIS apresentam alterações genéticas patológicas, levando a alterações no funcionamento celular e talvez possibilitando um ambiente favorável ao surgimento de CDIS e sua progressão.

Já em relação às metaloproteinasas, houve ampla taxa de positividade para os três marcadores estudados tanto em casos quanto controles. O menor índice de positividade foi em relação ao MMP2, que apresentou até 34% de negatividade, nos

casos. Assim como os demais marcadores, não houve correlação estatística com recorrência dos CDIS.

Quando observamos os estudos relacionados às metaloproteinases na literatura, especificamente em relação aos CDIS, podemos observar resultados diferentes do nosso estudo. Quanto às proteinases, NIELSEN et al. (2001), estudaram a MMP 13 (colagenase 3). Esta colagenase é superexpressa em diversas neoplasias, sendo responsável pela degradação de diversas substâncias da matriz extracelular. Acredita-se que sua principal função é a degradação do colágeno tipo II, embora tenha função proteolítica sobre diversas outras, *in vitro*. Utilizando este racional, os autores observaram sua expressão em 47 pacientes com câncer de mama, sendo 21 com carcinoma ductal invasivo, 9 com carcinoma lobular invasivo e 17 com CDIS extenso. Foi utilizada imuno-histoquímica combinada com hibridização *in situ* para avaliação dos mesmos. Os autores, após reanálise dos casos, descobriram que 8 dos 17 casos de CDIS tinha focos de microinvasão não detectados antes; e 7 destes 8 casos tinha positividade para expressão de MMP 13, principalmente em células estromais periductais. Este resultado contrasta com a avaliação dos CDIS de baixo grau e sem microinvasão da amostra daquele estudo, que apresentaram frequente negatividade da expressão de MMP 13 (9 casos, 6 negativos e 3 positivos).

GONZÁLEZ et al. (2010), por sua vez, avaliaram as metaloproteinases e suas TIMP, comparando-as com casos de carcinoma ductal *in situ* e com microinvasão. Foram avaliados 50 casos de CDIS puros e 12 casos de CDIS com microinvasão, tratados no período de 1995 à 2006. Os pesquisadores estudaram a presença de metaloproteinases MMP 1, 2, 7, 9, 11, 13, 14 e as TIMP 1, 2 e 3, nos ductos com CDIS e separadamente no estroma periductal. Seus achados foram de maior

expressão (com significância estatística) dos marcadores MMP 1, MMP 14 e TIMP 1 nas células intraductais dos CDIS puros, assim como aumento da MMP 11 nas células intraductais dos CDIS com microinvasão. Os mesmos observaram que nos casos com microinvasão, os componentes CDIS apresentavam queda da expressão de MMP 1, MMP 14 e TIMP 3 (tanto no componente intraductal como no estroma, de 82% de expressão nos casos até 16,7% nos casos, $p < 0,05$) e que, nos focos de microinvasão, a expressão do MMP 13 e MMP 14 estavam significativamente aumentadas no estroma peritumoral (em até 75% dos casos, versus até 38% nos CDIS puros, $p < 0,05$). Os pesquisadores consideraram como evento mais importante o aumento da MMP 13 no estroma peritumoral dos focos microinvasivos, pois este achado corroboraram os de estudo anterior de NIELSEN et al. (2001). Os mesmos acreditam que a MMP 13 tem um papel central na cascata de ativação das metaloproteinases, interagindo, ativando e bloqueando principalmente a MMP 14, MMP 2 e MMP 3. Também referem importância dos resultados referentes à MMP 14, pois a sua diminuição, conforme aumento invasão tecidual nos CDIS corrobora a teoria de que sua função é de ativar o funcionamento da MMP 13 e MMP 2, sendo que a MMP 13 aumenta de maneira diretamente proporcional com a invasão tecidual. Nenhum destes trabalhos, entretanto, correlacionou os dados com prognóstico dos casos.

Como podemos observar no presente estudo, não houve correlação com significância estatística entre as variáveis epidemiológicas, histológicas e marcadores imuno-histoquímicos estudados com os índices de recidiva local. Tal fato provavelmente deve-se ao pequeno número de recidivas tumorais no banco de dados obtido no serviço estudado, bem como a dificuldade de pareamento dos mesmos.

Esta dificuldade no estudo do CDIS já foi reportada por POLYAK (2010). Houve importante heterogeneidade nas variáveis pareadas, mais notadamente o tempo de seguimento em meses.

Como já bem demonstrado na literatura, embora o CDIS de mama seja uma morbidade de bom prognóstico, ela demanda tratamento multimodal complexo e agressivo. Ainda são necessários estudos que identifiquem com clareza a progressão de lesão atípica para CDIS e eventualmente CDI, como já ocorre em neoplasias de outros sítios. Através da compreensão deste caminho fisiopatológico, talvez possamos no futuro identificar com mais precisão as pacientes que demandem tratamento menos agressivo.

6 CONCLUSÕES

Através de análise de nossos dados, obtivemos as seguintes conclusões:

- Os fatores clinico-patológicos já associados com recorrência na literatura (idade, tamanho, presença de comedonecrose, margens cirúrgicas, grau nuclear, tipo de tratamento cirúrgico e quimioprofilaxia com tamoxifeno) não apresentaram correlação estatisticamente significativa com recidiva local e outros eventos de câncer de mama na casuística avaliada.
- A expressão imuno-histoquímica de receptores hormonais (estrogênio e progesterona), HER2, metaloproteinases (MMP 1, MMP 2, MMP 9) e a expressão de marcadores de CME (AML, calponina, p63, CK 5/6 e CD10) no microambiente tumoral dos CDIS de mama não apresentaram correlação estatisticamente significativa com recidiva local e outros eventos de câncer de mama na casuística avaliada.
- O tipo morfológico dos CDIS (cribriforme, sólido, micropapilar e mistos) e o tipo de estroma adjacente (fibromatose, inflamatório, normal e desmoplásico) não apresentou correlação estatisticamente significativa com recidiva local e outros eventos de câncer de mama na casuística avaliada.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar FN, Mendes HN, Cirqueira CS, Bacchi CE, Carvalho FM. Basal cytokeratin as a potential marker of low risk of invasion in ductal carcinoma in situ. **Clinics (São Paulo)** 2013; 68:638-43.

Allred DC, Wu Y, Mao S, et al. Ductal carcinoma in situ and the emergence of diversity during breast cancer evolution. **Clin Cancer Res** 2008; 14:370-8.

Baxter NN, Virnig BA, Durham SB, Tuttle TM. Trends in the treatment of ductal carcinoma in situ of the breast. **J Natl Cancer Inst** 2004; 96:443-8.

Boström P, Söderström M, Vahlberg T, et al. MMP-1 expression has an independent prognostic value in breast cancer. **BMC Cancer** 2011; 11:348.

Castro NP, Osório CA, Torres C, Bastos EP, Mourão-Neto M, Soares FA, Brentani HP, Carraro DM. Evidence that molecular changes in cells occur before morphological alterations during the progression of breast ductal carcinoma. **Breast Cancer Res** 2008; 10:R87.

Dershaw DD, Abramson A, Kinne DW. Ductal carcinoma in situ: mammographic findings and clinical implications. **Radiology** 1989; 170:411-5.

Dunne C, Burke JP, Morrow M, Kell MR. Effect of margin status on local recurrence after breast conservation and radiation therapy for ductal carcinoma in situ. **J Clin Oncol** 2009; 27:1615-20.

Ernster VL, Barclay J, Kerlikowske K, Wilkie H, Ballard-Barbash R. Mortality among women with ductal carcinoma in situ of the breast in the population-based surveillance, epidemiology and end results program. **Arch Intern Med** 2000; 160:953-8.

Fisher B, Dignam J, Wolmark N, et al. Lumpectomy and radiation therapy for the treatment of intraductal breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-17. **J Clin Oncol** 1998; 16:441-52.

Fisher B, Dignam J, Wolmark N, et al. Tamoxifen in treatment of intraductal breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-24 randomised controlled trial. **Lancet** 1999a; 353:1993-2000.

Fisher ER, Dignam J, Tan-Chiu E, et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (NSABP) eight-year update of Protocol B-17: intraductal carcinoma. **Cancer** 1999b; 86:429-38.

Gauthier ML, Berman HK, Miller C, et al. Abrogated response to cellular stress identifies DCIS associated with subsequent tumor events and defines basal-like breast tumors. **Cancer Cell** 2007; 12:479-91.

González LO, González-Reyes S, Junquera S, et al. Expression of metalloproteases and their inhibitors by tumor and stromal cells in ductal carcinoma in situ of the breast and their relationship with microinvasive events. **J Cancer Res Clin Oncol** 2010; 136:1313-21.

Gutiérrez-Fernández A, Fueyo A, Folgueras AR, et al. Matrix metalloproteinase-8 functions as a metastasis suppressor through modulation of tumor cell adhesion and invasion. **Cancer Res** 2008; 68:2755-63.

Hilson JB, Schnitt SJ, Collins LC. Phenotypic alterations in ductal carcinoma in situ-associated myoepithelial cells: biologic and diagnostic implications. **Am J Surg Pathol** 2009; 33:227-32.

Holland R, Hendriks JH, Vebeek AL, Mravunac M, Schuurmans Stekhoven JH. Extent, distribution, and mammographic/histological correlations of breast ductal carcinoma in situ. **Lancet** 1990; 335:519-22.

Hu M, Yao J, Carroll DK, et al. Regulation of in situ to invasive breast carcinoma transition. **Cancer Cell** 2008; 13:394-406.

Julien JP, Bijker N, Fentiman IS, et al. Radiotherapy in breast-conserving treatment for ductal carcinoma in situ: first results of the EORTC randomised phase III trial 10853. EORTC Breast Cancer Cooperative Group and EORTC Radiotherapy Group. **Lancet** 2000; 355:528-33.

Kerlikowske K, Barclay J, Grady D, Sickles EA, Ernster V. Comparison of risk factors for ductal carcinoma in situ and invasive breast cancer. **J Natl Cancer Inst** 1997; 89:76-82.

Kerlikowske K. Epidemiology of ductal carcinoma in situ. **J Natl Cancer Inst Monogr** 2010; 2010:139-41.

Kuhl CK, Schrading S, Bieling HB, et al. MRI for diagnosis of pure ductal carcinoma in situ: a prospective observational study. **Lancet** 2007; 370:485-92.

Lagios MD, Westdahl PR, Margolin FR, Rose MR. Duct carcinoma in situ. Relationship of extent of noninvasive disease to the frequency of occult invasion, multicentricity, lymph node metastases, and short-term treatment failures. **Cancer** 1982; 50:1309-14.

Lari SA, Kuerer HM. Biological markers in DCIS and risk of breast recurrence: a systematic review. **J Cancer** 2011; 2:232-61.

Mannello F. What does matrix metalloproteinase-1 expression in patients with breast cancer really tell us? **BMC Med** 2011; 9:95.

Moran MS, Schnitt SJ, Giuliano AE, et al. Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in stages I and II invasive breast cancer. **Ann Surg Oncol** 2014; 21:704-16.

[NIH] National Institutes of Health. State-of-the-Science Conference Statement. **Diagnosis and management of ductal carcinoma in situ (DCIS)**. Available from: <URL:<http://consensus.nih.gov/2009/dcis.htm>> [2014 nov 12].

Nielsen BS, Rank F, López JM, et al. Collagenase-3 expression in breast myofibroblasts as a molecular marker of transition of ductal carcinoma in situ lesions to invasive ductal carcinomas. **Cancer Res** 2001; 61:7091-100.

Park SY, Gonen M, Kim HJ, Michor F, Polyak K. Cellular and genetic diversity in the progression of in situ human breast carcinomas to an invasive phenotype. **J Clin Invest** 2010; 120:636-44.

Polyak K. Molecular markers for the diagnosis and management of ductal carcinoma in situ. **J Natl Cancer Inst Monogr** 2010; 2010:210-3.

Ranogajec I, Jakić-Razumović J, Puzović V, Gabrilovac J. Prognostic value of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and aminopeptidase N/CD13 in breast cancer patients. **Med Oncol** 2012; 29:561-9.

Rudek MA, Venitz J, Figg WD. Matrix metalloproteinase inhibitors: do they have a place in anticancer therapy? **Pharmacotherapy** 2002; 22:705-20.

Rudloff U, Jacks LM, Goldberg JI, et al. Nomogram for predicting the risk of local recurrence after breast-conserving surgery for ductal carcinoma in situ. **J Clin Oncol** 2010; 28:3762-9.

Silverstein MJ. The University of Southern California/Van Nuys prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. **Am J Surg** 2003; 186:337-43.

Vargas C, Kestin L, Go N, et al. Factors associated with local recurrence and cause-specific survival in patients with ductal carcinoma in situ of the breast treated with breast-conserving therapy or mastectomy. **Int J Radiat Oncol Biol Phys** 2005; 63:1514-21.

Virnig BA, Tuttle TM, Shamliyan T, Kane RL. Ductal carcinoma in situ of the breast: a systematic review of incidence, treatment, and outcomes. **J Natl Cancer Inst** 2010; 102:170-8.

Yan C, Boyd DD. Regulation of matrix metalloproteinase gene expression. **J Cell Physiol** 2007; 211:19-26.

Anexo 1 - Ficha de coleta de dados

PACIENTE

NOME- _____

RGH- _____

IDADE (1) ≤ 40 anos (2) $40 < x < 60$ anos (3) ≥ 60 anos

DATA DA ADMISSÃO

TRATAMENTO

Tipo de tratamento inicial: (0) não realizado (1)tratamento conservador (cir + RT) com estadiamento axilar (2) tratamento conservador (cir + RT) sem estadiamento axilar (3) mastectomia sem estadiamento axilar (4) mastectomia com estadiamento axilar (5)outro – qual?

Quimioprofilaxia completa: (0) não (1) sim

Data do tratamento inicial: _____

ANATOMIA PATOLÓGICA

Tamanho da lesão: (1) ≤ 15 mm (2) $15\text{mm} < x < 40\text{mm}$ (3) $\geq 40\text{mm}$ (9) indeterminado

Margens: (0) livres (1) comprometidas

Tipo: (1) cribriforme (2) sólido (3) sólido + cribriforme (4) papilar (5) sólido + micropapilar (6) cribriforme + micropapilar

Grau nuclear : (0) 1 ou 2 (1) 3

Classificação do estroma: (1) desmoplásico (2) inflamatório (3) normal (4) tipo fibromatose

Receptor de estrogênio: (0) negativo (1) positivo (9) indeterminado

Receptor de progesterona: (0) negativo (1) positivo (9) indeterminado

Her 2/neu: (0) negativo (1) 1+ (2) 2+ (3) 3+ (9) indeterminado

Expressão de MMP 1: (0) negativo (1) positivo fraco (2) positivo intermediário (3) positivo forte (9) indeterminado

Expressão de MMP2: (0) negativo (1) positivo fraco (2) positivo intermediário (3) positivo forte (9) indeterminado

Expressão de MMP 9: (0) negativo (1) positivo fraco (2) positivo intermediário (3) positivo forte (9) indeterminado

Expressão de AML: (0) negativo (1) positivo fraco (2) positivo intermediário (3) positivo forte (9) indeterminado

Expressão de Calponina: (0) negativo (1) positivo focal (2) positivo contínuo (9) indeterminado

Expressão de P63: (0) negativo (1) positivo focal (2) positivo contínuo (9) indeterminado

Expressão de CD10: (0) negativo (1) positivo focal (2) positivo contínuo (9) indeterminado

Expressão de CK 5/6: (0) negativo (1) positivo focal (2) positivo contínuo (9) indeterminado

EVOLUÇÃO

Recidiva: (0)nao (1)sim

Data da recidiva: _____

Tipo de recidiva: (0) in situ (1) invasiva

Local da recidiva: (0) ipsilateral (1) contralateral (2) outros locais _____

TRATAMENTO DA RECIDIVA

(0) não realizado (1)quimioterapia (2) radioterapia (3)cirurgia (4)quimioterapia e radioterapia

(5) cirurgia e quimioterapia (6)cirurgia e radioterapia (7) hormonioterapia (8) outros

Status após tratamento: (0) óbito (1) viva sem doença (2) viva com doença

Anexo 2 - Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do A.C. Camargo
Cancer Center



Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP

São Paulo, 14 de Maio de 2012.

Ao
Dr. Fernando Augusto Soares

Aluno: Renato Cagnacci Neto (Mestrado).

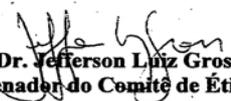
Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1659/12
“Estudo da matriz extracelular do carcinoma ductal in situ de mama: avaliação de potenciais fatores prognósticos”.

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 24/04/2012, **aprovaram** a realização do projeto do estudo em referência (Versão 1.0, datado de março de 2012) e tomaram conhecimento dos seguintes documentos:

- Folha de Rosto para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos;
- Termo de Compromisso do Pesquisador com as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde;
- Termo de Dispensa do Consentimento Livre e Esclarecido;
- Declaração sobre os Dados Coletados, Publicação dos Dados e Propriedade das Informações Geradas;
- Declaração Sobre o Uso e Destino do Material Biológico, Publicação dos Dados e Propriedades das Informações Geradas;
- Declaração de Infraestrutura e Instalações do Departamento de Anatomia Patológica do Hospital A. C. Camargo;
- Orçamento Financeiro Detalhado;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Anatomia Patológica;
- Declaração de Ciência e Comprometimento do Departamento de Mastologia.

Informações a respeito do andamento do referido projeto deverão ser encaminhadas à assistente do CEP dentro de 12 meses.

Atenciosamente,


Dr. Jefferson Luiz Gross

1º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

1/1



**A.C. Camargo
Cancer Center**

**Comitê de Ética em
Pesquisa - CEP**

São Paulo, 05 de fevereiro de 2014.

**Ao
Dr. Victor Piana de Andrade**

**Ref.: Projeto de Pesquisa nº. 1659/12
“Estudo da matriz extracelular do carcinoma ductal in situ de mama: avaliação de
potenciais fatores prognósticos”.**

Os membros do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Fundação Antonio Prudente – Hospital do Câncer - A.C. Camargo/SP, em sua última reunião de 21/01/2014, **tomaram conhecimento e aprovaram** o seguinte documento:

- Solicitação de troca de pesquisador responsável do projeto de Dr. Fernando Augusto Soares para Dr. Victor Piana de Andrade, datada de 30 de Outubro de 2013.

Atenciosamente,


Dr. Jefferson Luiz Gross

1º Vice-Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Anexo 3 - Índice de prognóstico Van Nuys (VNPI)

<u>Nota</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>
<u>Tamanho (mm)</u>	≤ 15	16-40	≥41
<u>Margem (mm)</u>	≥ 10	1-9	<1
<u>Classificação patológica</u>	Baixo grau nuclear sem comedonecrose	Baixo grau nuclear com comedonecrose	Alto grau nuclear com ou sem necrose
<u>Idade (anos)</u>	> 60	40-60	<40

Fonte: SILVERSTEIN (2003).