



SOCIEDADE BRASILEIRA DE MASTOLOGIA

Regional São Paulo

**Impresso
Especial**

7220994390-DR/SPM
Soc. Bras. de
Mastologia

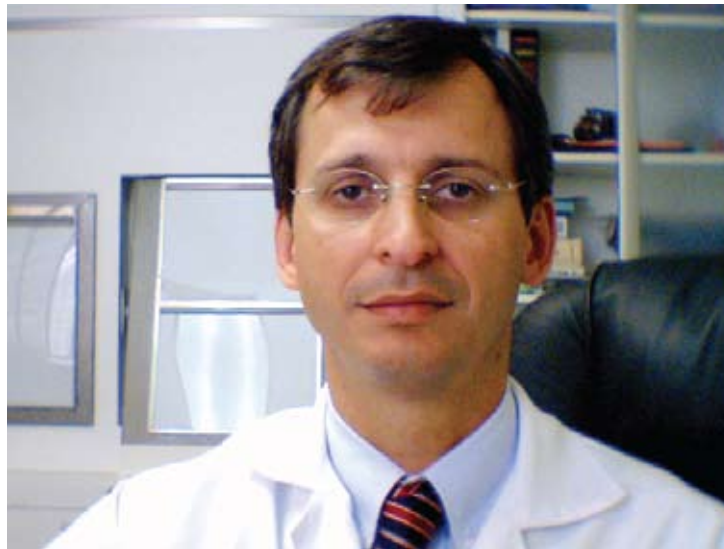
/// CORREIOS ///

FECHAMENTO AUTORIZADO
PODE SER ABERTO PELA ECT



ANO XV - Nº 88 - JUNHO 2010

Editorial



César Cabello dos Santos

Professor Associado Livre docente FCM-UNICAMP
Vice-Presidente da SBM-Regional São Paulo

Junho 2010

Quantas possibilidades de doenças poderemos estar nos deparando ao confirmar o diagnóstico de um BI-RADS ®5? Quais são os mecanismos ainda não totalmente conhecidos que desencadeiam o aparecimento e sobrevivência dos cânceres de mama? Que os tornam mais ou menos agressivos? Fatores que permitem que os tumores malignos se comportem quase como seres “pensantes”, “darwinianos” Capazes de resistir a drogas potentes e gerarem clones cada vez mais evoluídos? Responsáveis de forma paradoxal à imortalização de células malignas e a mortalização de nossas pacientes?

Estas perguntas, como muitas outras, fazem parte do motivo da biologia molecular dos tumo-

res. Entender o que esta dentro desta caixa de “Pandora “ é um dos maiores desafios de nos tempos... Para isto temos que ver além do microscópio óptico...

Novos alvos específicos devem vir para terapias revolucionárias e individualizadas. Terapias gênicas também para a prevenção primária...

Quem sabe a cura definitiva e não sobrevida?

De qualquer forma, temos que nos preparar para que seja cumprida a profecia do Prof. Veronesi; “ O que se espera do médico da mama (matologista) atualmente é um amplo conhecimento de cirurgia, radiologia, radioterapia, patologia, oncologia clínica e biologia molecular... “

Boa leitura....



SOCIEDADE BRASILEIRA DE MASTOLOGIA REGIONAL SÃO PAULO

Presidente: Dr. Ivo Carelli Filho; Vice – Presidente: Dr. César Cabello dos Santos; 1º Secretário: Dr. Afonso Celso Pinto Nazário;

2º Secretário: Dr. Vilmar Marques de Oliveira; 1º Tesoureiro: Dr. Rubens Murilo Athayde Prudência;

2º Tesoureiro: Dr. José Ricardo Paciência Rodrigues

Editores: Anastasio Berritini Jr., Carlos Ruiz, Fábio Bagnoli, Giuliano Mendes Duarte, Guilherme Novita, Gustavo Zucca Matthes, Renato Torresan Rogério Fenile

SEQUENCIAMENTO DOS GENES

Sequenciamento dos genes BRCAS – considerações sobre as variantes neutras ou indeterminadas.

Os genes BRCA1 e BRCA2 são os principais genes que, quando mutados, conferem alta susceptibilidade hereditária ao desenvolvimento de câncer, especialmente câncer de mama e ovário. Existem outros genes considerados de alto risco para câncer de mama, nos quais mutações são associadas com riscos relativos durante a vida maiores que 4, além do BRCA1 e BRCA2, como PTEN, TP53, LKB1/STK11 e CDH1 (Turnbull & Rahman, 2008). Mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 são responsáveis pela maior parte dos casos familiares de co-segregação de câncer de mama e ovário. Cerca de 95% das famílias com 4 ou mais tumores de mama e um tumor de ovário estão ligados a mutação nos genes BRCA1 e BRCA2 (Palacios et al., 2008).

A triagem de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 está se tornando parte importante da prática clínica. A American Society of Clinical Oncology recomenda que alguns parâmetros sejam observados em relação aos testes moleculares de susceptibilidade genética ao câncer. Segundo a ASCO, estes testes devem ser oferecidos somente quando é possível uma adequada interpretação dos resultados e quando o resultado auxiliará o diagnóstico ou influenciar a conduta do paciente ou de membros de sua família. Além disso, recomenda que o teste genético seja sempre acompanhado de aconselhamento genético pré e pós-teste, para esclarecimento dos benefícios e limitações do teste, discussão dos possíveis resultados e opções de manejo do risco, com assinatura de termo de consentimento informado livre e esclarecido (ASCO, 2003).

Já foram descritas centenas de mutações nos genes BRCA1 e BRCA2 associadas com aumento real do risco de câncer nos indivíduos portadores,



Fernanda Teresa de Lima

Médica Geneticista Clínica responsável pelo Serviço de Genética e Oncogenética do Hospital Israelita Albert Einstein, médica pesquisadora do Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein e médica do Centro de Genética Médica da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina

consideradas mutações patogênicas. Também foram descritas inúmeras variantes neutras, que sabidamente não causam nenhum impacto na proteína e não estão relacionadas com a gênese de tumores, podendo ser inclusive variações populacionais normais. No entanto, existem várias outras variações de sequência em ambos os genes cuja contribuição na patogênese do câncer permanece desconhecida. Estas variantes de significado desconhecido (em inglês, variants of unknown significance ou VUSs) consistem principalmente de mutações com troca de sentido (missense mutations, que levam a alteração de um aminoácido na proteína), variantes intrônicas e deleções e inserções que preservam a matriz de leitura. O Breast Cancer Information Core Database – BIC, que funciona como um repositório de alterações de seqüências dos genes BRCA1 e BRCA2, contem mais de 11 mil variações de seqüências classificadas como variantes de significado clínico desconhecido (Tavtigian et al., 2006; Easton et al., 2007). Cerca de 7 a 10% dos pacientes com alto risco hereditário para câncer de mama testados para mutações nos

genes BRCA1 e BRCA2 apresentam variantes de significado desconhecido (Spearman et al., 2008).

A classificação das variantes de significado clínico desconhecido nos genes BRCA1 e BRCA2 como alterações neutras ou predisponentes ao câncer é muito difícil e problemática, uma vez que não se sabe como estas alterações genéticas alteram a função da proteína de modo suficiente para predispor ao câncer. Isto acarreta grandes problemas clínicos, uma vez que pacientes e médicos não sabem seu significado real. Como resultados, portadores destas variantes de significado desconhecido e seus familiares não podem ser beneficiados pela avaliação de risco, prevenção e medidas terapêuticas disponíveis a portadores de mutações sabidamente deletérias. Além disso, alguns pacientes são aconselhados a realizar cirurgias redutoras de risco, por serem portadores de variações de significado desconhecido, sem qualquer evidência real de que estas variações têm relevância na etiologia do câncer. Esta é uma das principais razões pelas quais a determinação da relevância clínica das variações de significado desconhecido na prática clínica é fundamental (Tavtigian et al., 2006; Easton et al., 2007; Spearman et al., 2008).

Algumas das abordagens para auxiliar a definição do papel das variantes de significado desconhecido na gênese do câncer incluem a avaliação da co-segregação da variante em questão nos indivíduos da família, a ocorrência da variante em trans com mutações sabidamente deletérias e abordagens in silico que avaliam a conservação filogenética e o impacto da substituição do aminoácido na proteína (Tavtigian et al., 2006; Easton et al., 2007). Abekevich et al. (2004) desenvolveram um algoritmo preditivo que

combina uma medida de conservação inter-espécies com uma medida do grau de mudanças químicas nos aminoácidos para identificar 50 variações com mudanças de aminoácidos potencialmente deletérias. Outros estudos examinaram o efeito das variantes de significado desconhecido na proteína com o uso de estudos funcionais, ou através de estudos cristalográficos (Easton et al., 2007). Easton et al. (2007) avaliaram o significado clínico de cerca de 1400 seqüências de significado desconhecido nos genes BRCA1 e BRCA2 através de 3 medidas independentes: co-ocorrência em trans com uma mutação sabidamente deletéria, análise de regressão logística da história pessoal e familiar de câncer de mama e análise da co-segregação com doença na família. Todas estas abordagens requerem procedimentos laboratoriais ou in silico adicionais e expertise técnica, não estando disponíveis em laboratórios puramente comerciais.

Spearman et al. (2008) procuraram desenvolver um método de aplicação clínica que pudesse prever a patogenicidade das variáveis de significado desconhecido sem a necessidade de informação familiar ou análise de segregação. Os autores identificaram características dos tumores mamários e ovarianos que distinguiam tumores esporádicos dos tumores associados a mutações dos genes BRCA1 e BRCA2.

Segundo o National Comprehensive Cancer Network – NCCN, não é recomendado que se rastreie os familiares de um indivíduo com uma variante de significado desconhecido com propósitos clínicos e sim que este indivíduo seja encaminhado a um protocolo de pesquisa específico para elucidação do significado desse achado. Também orienta para que sejam realizadas recomendações particulares a este indivíduo, de acordo com sua história

pessoal e familiar e se possível que se faça nova análise mutacional completa de ambos os genes BRCA1 e BRCA2 em um outro indivíduo na família com alta probabilidade de ser portador de mutação.

Mesmo com estas orientações, a detecção de variantes de significado desconhecido traz muitos questionamentos. Os pacientes têm que ser informados, preferencialmente durante o aconselhamento genético pré-teste, sobre esta possibilidade. Nesta ocasião, pode-se discutir todos os possíveis resultados do teste molecular, incluindo a possível detecção de variantes de significado desconhecido e as várias alternativas de manejo após sua detecção. Como não se conhece o real significado dessas variantes, deve-se enfatizar que não há benefício em oferecer o rastreamento para esta variante específica para os outros membros da família, uma vez que não trará benefícios em relação ao conhecimento de seu risco de câncer e não fornecerá informações úteis para o manejo clínico, o que é corroborado pelas recomendações do NCCN. É importante enfatizar que, embora se trate de uma variante genética, existe tanto a possibilidade de esta variante tenha um impacto negativo na proteína, levando ao aparecimento de câncer, quanto existe a possibilidade de que seja uma variante normal, neutra, sem nenhum impacto negativo. O manejo do paciente e seus familiares deve ser baseado na história pessoal e familiar de câncer. Quando uma variante é reclassificada, o laboratório que realizou o teste geralmente enviará um relatório revisado para o médico explicando como e porque a variante foi reclassificada e qual o novo significado clínico (NCCN, 2010).

As variantes de significado desconhecido ainda trazem grandes desa-

fos para os geneticistas e médicos que acompanham os pacientes nas quais foram detectadas. Quanto maior o número de pacientes avaliados molecularmente, com história pessoal e familiar bem documentada e dados anatomopatológicos do tumor precisos, e maior o número de pesquisas clínicas e laboratoriais realizadas, maior a probabilidade de que, com o tempo, estas variantes tenham seu significado elucidado. Até lá, um acompanhamento personalizado, cauteloso e ponderado é recomendado para estes pacientes.

REFERÊNCIAS

American Society of Clinical Oncology. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 21(12): 2397-406, 2003.

Abkevich V, Zharkikh A, Deffenbaugh AM, Frank D, Chen Y, Shattuck D, Skolnick MH, Gutin A, Tavtigian SV. Analysis of missense variation in human BRCA1 in the context of interspecific sequence variation. *J Med Genet* 41:492-507, 2004.

Easton DF, Deffenbaugh AM, Pruss D, Frye C, Wenstrup RJ, Allen-Brady K, Tavtigian SV, Monteiro ANA, Iversen ES, Couch FJ, Goldgar DE. A Systematic Genetic Assessment of 1,433 Sequence Variants of Unknown Clinical Significance in the BRCA1 and BRCA2 Breast Cancer–Predisposition Genes. *Am J Hum Genet* 81: 873-883, 2007.

National Comprehensive Cancer Network – NCCN. NCCN clinical practice guidelines in oncology – Genetic/familial high-risk assessment: breast and ovarian cancer. V1.2010. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/genetics_screening.pdf, acessado em 27.05.2010.

Palacios J, Robles-Frías MJ, Castilla MA, López-García MA, Benítez J. The molecular pathology of hereditary breast cancer. *Pathobiology* 75:85-94, 2008.

Spearman AD, Sweet K, Zhou X-P, McLennan J, Couch FJ, Toland AE. Clinically applicable models to characterize BRCA1 and BRCA2 variants of uncertain significance. *J Clin Oncol* 26:5393-5400, 2008.

Tavtigian SV, Samollow PB, de Silva D, Thomas A. An analysis of unclassified missense substitutions in human BRCA1. *Fam Cancer* 5:77-88, 2006.

Turnbull C & Rahman N. Genetic predisposition to breast cancer: past, present, and future. *Annu Rev Genom Hum Genet* 9:321-45, 2008.

PARA SER PRECISO,
O DIAGNOSTICO
TEM QUE SER HUMANO.

DRA. CLAUDIA ACCIOLY
DR. CLAUDIO ROSSI
DRA. CRISTINA ROSSI LONGO
DR. GUILHERME ROSSI
DRA. PAULA SORIANO

DRA. LISANDRA STEIN BERNARDES
DR. FRANCISCO LAGES
DRA. ELIANA BOZZA
DR. LUIS RENATO M. DE CASTRO

NOVA
MEDICINA DIAGNÓSTICA

Patologia Molecular: a Fusão da Patologia com a Genética

O câncer de mama é uma doença complexa e heterogênea quanto a características morfológicas e comportamento biológico. Corresponde a uma das neoplasias mais desafiadoras, que vem motivando a pesquisa de fatores prognósticos e preditivos desde muito antes da era genômica. As tecnologias fundamentadas na avaliação da expressão gênica abriram as portas para a compreensão da diversidade clinicopatológica deste grupo de doenças e foram mais além, buscando entender os mecanismos envolvidos com todas as etapas da carcinogênese, desde a iniciação até a determinação dos sítios metastáticos.

Há quase um século se sabe que alterações cromossômicas estão relacionadas ao desenvolvimento do câncer, mas somente com a conclusão do sequenciamento do genoma humano em 2003 após 13 anos do início do seu projeto, e desenvolvimento de novas tecnologias de determinação da função gênica, pudemos, de fato, entrar na era genética. Hoje sabemos que os cânceres são doenças resultantes do acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas que determinam desregulação de genes, tanto codificadores de proteínas, como de RNAs não codificantes. Tais alterações permitem que as células neoplásicas criem seus próprios mecanismos de controle do ciclo celular, aumentando a atividade proliferativa e a sobrevivência celular com inibição da apoptose, interagindo com o microambiente no sentido de adquirir a capacidade de infiltração e metastatização, geralmente relacionados a aumento da angiogênese e resistência aos mecanismos inibidores do crescimento, dentre estes a transição epitélio-mesênquima. Neste cenário surgiu o conceito de células tronco neoplásicas e com ele algumas possíveis explicações para condições até então difíceis de compreender, como por



Filomena Marino Carvalho

*Professora Associada, Livre-docente, do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Patologista consultora da Clínica Ginecológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo*

exemplo, o armazenamento de fatores de risco ao longo de vários anos ou décadas até que o câncer se desenvolva, ou ainda, as bases das recorrências tardias.

A conjugação entre genética e fenótipo resultou em nova área de atuação: a Patologia Molecular. Neste momento, embora ainda não conheçamos o suficiente, já podemos utilizar um pouco deste conhecimento no cotidiano, seja para compreender os fenótipos das lesões precursoras e câncer, seja para prever seu comportamento biológico e permitir abordagens terapêuticas diferenciadas.

A era pré-genômica foi marcada pelo conhecimento de que os genes envolvidos com o câncer eram versões alteradas (oncogenes) de genes normalmente presentes nas nossas células (proto-oncogenes)(1). Muitos destes genes tinham atividade tirosino-quinase e entre eles destacamos o c-erbB2, um dos genes isolados mais importantes no câncer de mama. A hibridização “in situ” por fluorescência (FISH, do inglês Fluorescent In Situ Hybridization), assim como a expressão da proteína codificada pelo gene são os métodos mais utilizados para o diagnóstico da amplificação do gene c-erbB2 nos carcinomas de mama.

A transição da era pré-genômica para a pós-genômica foi marcada pela possibilidade de identificação de maior escala de genes envolvidos na gênese dos tumores e, mais recentemente, pela participação de genes não codificantes, estes identificados através de microRNAs, pequenos fragmentos de RNAs não codificantes que regulam negativamente a expressão de vários genes.

Técnicas como hibridização genômica comparativa, microarranjos de DNA e reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) mudaram o conhecimento do câncer de mama e suas lesões precursoras. A hibridização genômica comparativa (CGH) permite a detecção de perdas e ganhos em múltiplos loci cromossômicos. Comparação com material genético de tecido normal e carcinomas tem permitido a identificação e caracterização de várias lesões precursoras, como as neoplasias lobulares e alterações colunares(2, 3).

Entretanto, o grande marco para o câncer de mama foi a determinação, através de estudos com microarranjos de DNA, dos subgrupos genéticos que compõem a doença. Pela análise do perfil de expressão gênica os carcinomas de mama foram categorizados nos tipos basal-símile; HER2; luminais A e B, e tipo mama normal(4, 5).

A determinação dos perfis genéticos e a análise dos principais genes de cada grupo permitiram que os carcinomas mamários fossem classificados em subgrupos moleculares baseado na expressão imunoistoquímica de receptores de estrogênio e progesterona, HER2, Ki-67, citoqueratinas basais e o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR ou HER1) (6-10).

Estes perfis genético-moleculares fazem um caprichoso paralelo com os diferentes estágios do desenvolvimento mamário normal a partir da célula

tronco, ou célula estaminal (11). Na sequência do processo diferenciação mamário pode ser reconhecida a expressão dos genes que caracterizam os tipos basal, HER-2, luminal B e luminal A. A capacidade de expressão de receptores de estrogênio é um evento tardio na linhagem epitelial e ocorre com a redução da capacidade proliferativa (12).

Estes subgrupos genéticos, embora apresentem composição gênica e molecular características, e cada um deles é originado em células progenitoras de níveis distintos, ainda não são biologicamente homogêneos. Os carcinomas triplo-negativos do tipo basal-símile, um dos grupos de prognóstico mais reservado, incluem neoplasias de baixo grau, como os carcinomas medular e adenóide-cístico(13). Os carcinomas luminais ou receptor de estrogênio positivos (RE+) constituem o maior grupo e também o mais heterogêneo. O grupo inclui neoplasias que são geneticamente classificadas nos subtipos A e B, este último com prognóstico mais reservado, com taxas significativas de recorrência. Portanto, diante de um carcinoma mamário RE+ devem ser avaliados a hormônio-sensibilidade e o benefício da quimioterapia, sobretudo nos casos com maior risco de recorrência.

O reconhecimento do subtipo luminal B através do perfil molecular aponta para alta atividade proliferativa e/ou co-expressão de HER-2 como critérios para definição do grupo(8, 10, 14). Pela frequência e heterogeneidade, o grupo dos carcinomas RE(+) se constitui no alvo de maioria dos testes genéticos disponíveis para avaliação do risco de recorrência, como os testes de 21-genes(15) (Oncotype Dx e MammaGene), o teste de 70 genes de Amsterdam(16) (Mammprint), a relação na expressão de dois genes:

HOXB13 e o gene do receptor da interleucina17B (IL17BR)(17)(H/I; Quest Diagnostics), e índice do grau genômico(18) (97 genes, MapQuant Dx). Os métodos utilizados são o de microarranjos de DNA (Mammprint) ou RT-PCR (demais testes), este último com possibilidade de estudo em material parafinado. Todos eles, embora tenham entre si poucos, ou mesmo nenhum gene em comum, estimam risco de recorrência através de genes de diferenciação celular e/ou de proliferação, tornando-se ferramentas úteis, sobretudo nos casos de prognóstico duvidoso. Enfatizamos que estes testes não fazem milagres e não mudam o prognóstico de casos sabidamente desfavoráveis através dos fatores prognósticos clássicos, mas podem auxiliar a individualizar o tratamento em casos limítrofes. De fato, pode-se observar uma concordância significativa entre alguns testes e as características morfológicas e imunoistoquímicas clássicas (19, 20).

Em suma, a união entre a Anatomia Patológica clássica e as ferramentas e conhecimentos da genética resulta nesta nova disciplina, chamada Patologia Molecular cujo objetivo é associar o genótipo ao fenótipo para identificar doenças e prever sua evolução .

Referências:

- [1] Bell DW. Our changing view of the genomic landscape of cancer. *J Pathol.* 2010;220: 231-43.
- [2] Simpson PT, Gale T, Reis-Filho JS et al. Columnar cell lesions of the breast: the missing link in breast cancer progression? A morphological and molecular analysis. *Am J Surg Pathol.* 2005;29: 734-46.
- [3] Mastracci TL, Shaddeo A, Colby SM et al. Genomic alterations in lobular neoplasia: a microarray comparative genomic hybridization signature for early neoplastic proliferation in the breast. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006;45: 1007-17.
- [4] Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;98: 10869-74.
- [5] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000;406: 747-52.

2000;406: 747-52.

[6] Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2004;10: 5367-74.

[7] Badve S, Nakshatri H. Oestrogen-receptor-positive breast cancer: towards bridging histopathological and molecular classifications. *J Clin Pathol.* 2009;62: 6-12.

[8] Bhargava R, Striebel J, Beriwal S et al. Prevalence, morphologic features and proliferation indices of breast carcinoma molecular classes using immunohistochemical surrogate markers. *Int J Clin Exp Pathol.* 2009;2: 444-55.

[9] Ross JS, Hatzis C, Symmans WF et al. Commercialized multigene predictors of clinical outcome for breast cancer. *Oncologist.* 2008;13: 477-93.

[10] Cheang MC, Chia SK, Voduc D et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2009;101: 736-50.

[11] Polyak K. Breast cancer: origins and evolution. *J Clin Invest.* 2007;117: 3155-63.

[12] Boecker W, Buerger H. Evidence of progenitor cells of glandular and myoepithelial cell lineages in the human adult female breast epithelium: a new progenitor (adult stem) cell concept. *Cell Prolif.* 2003;36 Suppl 1: 73-84.

[13] Moinfar F. Is 'basal-like' carcinoma of the breast a distinct clinicopathological entity? A critical review with cautionary notes. *Pathobiology.* 2008;75: 119-31.

[14] Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer.* 116: 1431-9.

[15] Paik S, Shak S, Tang G et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med.* 2004;351: 2817-26.

[16] van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med.* 2002;347: 1999-2009.

[17] Loi S, Haibe-Kains B, Desmedt C et al. Definition of clinically distinct molecular subtypes in estrogen receptor-positive breast carcinomas through wgenomic grade. *J Clin Oncol.* 2007;25: 1239-46.

[18] Liedtke C, Hatzis C, Symmans WF et al. Genomic grade index is associated with response to chemotherapy in patients with breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27: 3185-91.

[19] Flanagan MB, Dabbs DJ, Brufsky AM et al. Histopathologic variables predict Oncotype DX recurrence score. *Mod Pathol.* 2008;21: 1255-61.

[20] Gwin K, Pinto M, Tavassoli FA. Complementary value of the Ki-67 proliferation index to the oncotype DX recurrence score. *Int J Surg Pathol.* 2009;17: 303-10.



AmpliChip® CYP450

Exame com tecnologia *microarray* capaz de verificar 28 polimorfismos nos genes metabolizadores CYP2D6 e CYP2C19: genes que metabolizam 25% dos fármacos existentes. Inovação Salomão & Zoppi.



Mais informações:
www.lsz.com.br
Central de Atendimento: (11) 5576.7878

ASPECTOS MAMOGRÁFICOS

Aspectos Mamograficos em paciente com câncer de mama e mutações dilaterais no BRECA 1 e 2.

Embora o risco de câncer de mama na população geral seja de 13%, as mulheres que carregam mutações no gene BRCA1 ou BRCA2 têm um risco significativamente maior para o câncer de mama, que varia entre 40% -80%.

Essas mutações estão presentes em menos de 1% da população em geral, mas são responsáveis por aproximadamente 5% -10% dos pacientes com câncer de mama.

As opções de conduta da doença para as mulheres assintomáticas com estas mutações genéticas incluem a mastectomia profilática e / ou a salpingo-ooforectomia bilateral, quimioprevenção e aumento da vigilância.

Muitas mulheres jovens, especialmente aquelas em idade fértil, relutam em se submeter à cirurgia profilática, e os estudos de quimioprevenção até agora não demonstraram diminuição da mortalidade por câncer de mama.

Triagem com maior rigor, usando-se modalidades múltiplas (mamografia, ultrassonografia e ressonância magnética), intervalos de rastreamento mais curtos, e/ou início em idade precoce pode ser uma opção para muitas mulheres que carregam genes de susceptibilidade ao câncer de mama.

A mamografia é um exame rápido, não invasivo e relativamente barato para o rastreamento que ao longo das últimas décadas provou sua eficiência em diminuir a mortalidade do câncer de mama na população geral. Embora a sensibilidade da mamografia na população geral seja relativamente elevada (83% -95%), a sensibilidade da mamografia em portadores da mutação do gene BRCA é substancialmente menor, na faixa de 33% -56%.

Informações dos programas de rastreamento em mulheres com mutação de BRCA indicam que, se a mamografia for utilizada isoladamente para a vigilância, até dois terços dos cânceres de mama serão diagnosticados como câncer de intervalo. Geralmente, estes cânceres já serão maiores e apresentar-se-ão com metástases linfoidais.

A sensibilidade limitada da mamografia em mulheres em situação de risco familiar aumentado é atribuído a vários fatores; alguns são "hospedeiro dependente", ou seja, a idade mais jovem destas pacientes; a alta densidade mamária, etc. Outros são "tumor relacionado" ou seja, causado por características específicas dos cânceres de mama familiar: cânceres de mama



Guilherme Rossi

Médico radiologista da NOVA - Medicina Diagnóstica

hereditário tendem a apresentar taxas de crescimento tão rápida que o tempo de duplicação médio é curto. Além disto as características patológicas e de imagem são muito distintas nesta população.

Em comparação com a mamografia, a ressonância magnética (RM) tem maior sensibilidade para a detecção do câncer de mama, particularmente em mulheres com risco aumentado, e pode ter um papel fundamental no rastreamento. As principais limitações da ressonância magnética de mama são o seu custo e especificidade relativamente baixa.

Os possíveis ganhos em termos de sensibilidade combinada com as vantagens da detecção precoce em lesões não palpáveis podem vir com riscos aceitáveis: aumento nos custos, aumento dos falsos positivos, maior número de biópsias, etc.

O uso associado da mamografia e da ressonância magnética têm maior probabilidade de ser razoável para aquelas mulheres que carregam mutações em genes de alto risco de susceptibilidade. No entanto, o rastreamento com RM como estratégias isolada, em combinação, ou alternada com a mamografia, ainda não foi completamente avaliado ou padronizado.

Tal como acontece com a mamografia, a detecção precoce com ressonância magnética, presumivelmente, diminui a mortalidade por câncer de mama, embora os resultados dos estudos até agora não confirmem isto.

Os resultados da literatura, associados com a experiência adquirida ao longo dos últimos anos, sugerem que o aspecto por imagem do câncer de mama, que surgiu em mulheres com risco familiar aumentado difere daquela dos cânceres encontrados em

mulheres com risco médio, e que também difere dos cânceres encontrados em mulheres em cada uma das diferentes categorias de risco (risco moderado, alto risco, e BRCA1 ou BRCA2 mutados).

Já foi sugerido que o câncer de mama familiar pode apresentar características morfológicas benigna (forma oval ou redondo, contornos regulares) mais frequentemente do que o câncer de mama esporádico. Vários autores relataram características morfológicas benignas em 23% -38% dos cânceres de mama familiares. Especialmente em mutações BRCA1 associado ao câncer de mama, estes tendem a imitar os fibroadenomas, ou mesmo cistos.

A alta prevalência de tumores com características morfológicas benignas é provavelmente devido a dois motivos: primeiro, é bem estabelecido que o câncer de mama hereditário tende a apresentar uma diferenciação medular (ou medular atípica). Um tipo de tumor que é freqüentemente associada a características morfológicas benignas (margens regulares).

Em segundo lugar, câncer de mama que surgem nas mulheres com risco genético elevado tendem a apresentar um alto grau nuclear. Está bem estabelecido que há uma correlação entre o grau do tumor e aparência morfológica do tumor: os tumores de alto grau são mais propensos a manifestar-se na mamografia, na ressonância magnética e na ultrassonografia como massas bem definidas, enquanto tumores intermediário e de baixo grau são mais susceptíveis de provocar uma reação desmoplastica no tecido circundante, dando origem às margens espiculadas. Uma outra característica do câncer familiar observada é a baixa prevalência de calcificações.

PONTOS IMPORTANTES

Densidade mamográfica da mama não é a principal razão para a baixa sensibilidade da mamografia no diagnóstico do câncer de mama familiar.

Câncer de mama familiar pode apresentar-se com achados de imagem atípicos em todas as modalidades de imagem, incluindo ressonância magnética.

Muitas vezes as lesões nestas pacientes têm características de cistos ou fibroadenomas.

Entre as mulheres com câncer de mama familiar, os fenótipos de imagem variam de acordo com as diferentes categorias de risco.

AMBIENTE EXTRACELULAR

Ambiente Extracelular no Câncer de Mama

Transformação Neoplásica

Organismos multicelulares são estruturas surpreendentes, do ponto de vista de engenharia de construção. São formados por células, que compõem uma sociedade na qual cada indivíduo (célula) tem o compromisso de colaborar com o organismo. Para isso, elas recebem, interpretam e respondem a um conjunto sofisticado e complexo de sinais, que dizem a cada uma se, e quando, ela deve ficar em repouso, crescer, proliferar, diferenciar ou morrer. É esse comportamento social de cada célula que define um organismo saudável.

No entanto, dentre as cerca de 3×10^{14} células que compõem o corpo humano, bilhões sofrem mutações todos os dias. As mutações mais perigosas são aquelas que conferem alguma vantagem seletiva à célula, permitindo que ela cresça e se reproduza mais, sobreviva por mais tempo e em condições em que suas vizinhas morrem, de modo que possa vir a ser a fundadora de um clone mutante. Nesse clone, ciclos repetidos de mutação, competição e seleção natural operando nessa população de células somáticas, podem levar à transformação neoplásica, gerando um tumor.

A transformação neoplásica pode ser induzida pela exposição do organismo a agentes químicos carcinogênicos, vírus oncogênicos ou radiação, mas in vivo é muito difícil distinguir os efeitos carcinogênicos dos tóxicos, ou da influência de inúmeros outros fatores, como o estado hormonal e



Yara M. Michelacci, PhD

Professora Associada Livre Docente Disciplina de Biologia Molecular,
Departamento de Bioquímica Escola Paulista de Medicina,
Universidade Federal de São Paulo São Paulo, SP, Brasil

nutricional ou a presença de microrganismos infectantes. Por isso, a maioria dos estudos sobre os eventos bioquímicos que acontecem na transformação neoplásica foram feitos em células em cultura, onde é possível utilizar um clone, colocado num ambiente definido e fácil de manipular.

In vitro, as células transformadas apresentam uma série de alterações fenotípicas:

1. Citológicas: aumento no volume e no número de núcleos, com consequente aumento na razão núcleo/citoplasma;

2. Crescimento e proliferação: imortalização, diminuição ou perda da inibição de proliferação por contato ou dependente de densidade, menor dependência de fatores de crescimento, perda de dependência de ancoragem e resistência a anoikis, perda de controle do ciclo celular e resistência à apoptose;

3. Estrutura e função da membrana: aumento de captação de aminoácidos, hexoses e nucleosídeos, e mudanças na composição dos glicoconjugados de superfície, levando ao surgimento dos antígenos tumorais;

4. Perda de interações célula-célula e célula-matriz;

5. Diferenciação celular: perda de resposta a agentes que induzem diferenciação e expressão alterada dos receptores para esses agentes;

6. Mecanismos de transdução de sinal: ativação constitutiva de receptores de fatores de crescimento, de cascatas de fosforilação e alterações nos mecanismos de defosforilação;

7. Capacidade de gerar tumor em animais: este é o critério definitivo da transformação neoplásica in vitro.

Essas alterações devem-se às mudanças genéticas induzidas por mutação, amplificação gênica ou translocação cromossômica, que levam à expressão aumentada de oncogenes, perda de proteínas supressoras de tumor, produção aumentada de fatores de crescimento e angiogênicos e mudanças no padrão de expressão de enzimas, tanto as envolvidas na síntese de ácidos nucleicos como as proteases, collagenases e glicosidases. Muitas dessas alterações também podem ser consequência de mudanças epigenéticas, com alterações nos padrões de metilação do DNA e de acetilação de histonas.

Para que as células transformadas sejam consideradas “malignas”, devem ter ainda a capacidade de migrar

• MAMOGRAFIA • BIÓPSIA PERCUTÂNEA • BIÓPSIA CORE • PESQUISA DE LINFONODO SENTINELA • LOCALIZAÇÃO RADIOGUIADA ROLL • AGULHAMENTO MAMÁRIO
• ULTRA-SONOGRAFIA • DENSITOMETRIA ÓSSEA

 **Central de agendamento:**
11 3254-6800 - www.uddo.com.br

Horário de atendimento: segunda à sexta-feira, das 8h às 18h / sábado, das 8h às 12h
Rua Itapeva, 366, c/jto 83/84 - e-mail: atendimento@uddo.com.br

 **UCD**
CENTRO DIAGNÓSTICO
Experiência e Atualização

• MAMÓGRAFO LORAD – ALTA RESOLUÇÃO
• MESA DIGITAL DEDICADA PARA ESTEREOTAXIA
• PUNÇÃO POR AGULHA FINA E AGULHA GROSSA
• CORE E MAMOTOMIA
• AGULHAMENTO PRÉ-OPERATÓRIO
• ULTRA SONOGRAFIA DE ALTA RESOLUÇÃO

FONE: (11) 5052-3900

AV. CHIBARÁS, 779 - CEP 04076-004 - MOEMA - SP www.ucd.com.br

e invadir os tecidos vizinhos, produzindo metástases. Nesse processo, interações das células tumorais com as células do tecido hospedeiro, bem como com os componentes da matriz extracelular, podem modular o comportamento invasivo e a sobrevivência das células tumorais¹. O presente artigo focaliza o impacto do microambiente sobre a progressão tumoral, abordando o papel das células estromais, da matriz extracelular, da adesão celular e de metaloproteinases na regulação da migração e da invasão celular, com especial atenção aos tumores mamários.

Células do Microambiente Tumoral

Embora num tumor existam, além das células tumorais, muitos outros tipos celulares, vamos citar apenas alguns dos mais abundantes: fibroblastos, células mioepiteliais e macrófagos. Estas células, ao contrário do que se poderia esperar, estão longe de ser “inocentes espectadores” no tumor. Ao contrário, existe intensa troca de informações e sinais (ou cross talk) entre as células tumorais e as células do estroma, como veremos.

Fibroblastos

Os fibroblastos normais exercem importantes funções na deposição de matriz extracelular, sendo responsáveis pela síntese da maioria dos seus componentes. Também são importantes reguladores da inflamação e da cicatrização. Quando há uma lesão tecidual, os fibroblastos invadem e são “ativados”, sintetizando grandes quantidades de macromoléculas componentes da matriz e ajudando no processo de cicatrização. Após a cicatrização, o número de fibroblastos ativados diminui drasticamente. No ambiente tumoral, entretanto, fibroblastos ficam permanentemente ativados, com altas taxas de proliferação e síntese de matriz². Na realidade, um tumor tem sido visto, algumas vezes, como uma ferida que não cicatriza³.

No carcinoma mamário, os fibroblastos associados ao carcinoma (CAFs, carcinoma-associated fibroblasts) são as células mais abundantes no estroma tumoral⁴. Essas células expres-

sam genes diferentes dos fibroblastos normais, alguns dos quais capazes de induzir a proliferação tumoral. Digna de nota é a expressão aumentada da quimiocina CXCL12, que se liga a receptores nas células epiteliais e aumenta sua proliferação, migração e invasão, agindo como um sinalizador parácrino⁵. Em experimentos in vitro, demonstrou-se que o meio condicionado de fibroblastos embrionários humanos MRC-5 estimula a motilidade e a invasão de células de câncer de mama⁶. Além disso, o inóculo em camundongos nude de células de câncer mamário humano MCF-7-ras juntamente com CAFs humanos aumentou o crescimento tumoral, originando tumores muito vascularizados, o que não aconteceu quando foram usados fibroblastos normais⁷. Estes dados mostram que os fibroblastos, especialmente os do microambiente tumoral, têm influência no desenvolvimento e na progressão do tumor.

Células Mioepiteliais

Já as células mioepiteliais (MECs, myoepithelial cells), que na mama normal localizam-se entre as células epiteliais lumbais e o estroma, são consideradas as células supressoras de tumor da glândula mamária⁸. Desempenham importantes funções no desenvolvimento da glândula, induzindo polaridade celular e morfogênese ductal, bem como na lactação e na formação da membrana basal, porque expressam receptores de ocitocina, actina de músculo liso, colágenos e laminina. Essas células são capazes de inibir o crescimento, a invasão e a angiogênese tumoral⁹, e perda da função das MECs está associada com o câncer de mama¹⁰. Porém, MECs associadas com câncer apresentam um comportamento diferente das células normais: não são capazes de induzir polaridade nas células epiteliais, o que é uma característica da progressão tumoral, e expressam menos lisil oxidase, uma enzima importante na estabilização do colágeno da matriz extracelular e que desempenha papéis um tanto paradoxais no câncer¹¹. Essas alterações se devem principalmente a padrões alterados de metilação do DNA, um controle epigenético¹².

Macrófagos

Outra célula bastante representada no microambiente do câncer de mama é o macrófago. Macrófagos são células fagocitárias, que atuam tanto na imunidade inata como na adaptativa de vertebrados, realizando muitas funções: são importantíssimas células apresentadoras de antígenos, um papel crucial na iniciação da resposta imune; produzem uma série de substâncias químicas, incluindo enzimas, proteínas do complemento e fatores regulatórios, como interleucina-1; têm receptores que permitem que sejam “ativados” para a perseguição de microrganismos e de células tumorais.

No câncer, entretanto, os macrófagos associados ao tumor (TAMs, tumor-associated macrophages) influenciam a angiogênese, liberando fatores tróficos como VEGF (vascular endothelial growth factor) e angiogeninas 1 e 2¹³. Existem muitas evidências que demonstram correlação entre o número de TAMs e o prognóstico do carcinoma mamário: quanto mais TAMs, pior o prognóstico (revisão em 14).

Matriz Extracelular

A matriz extracelular é uma complexa e dinâmica rede de proteínas e polissacarídeos, que são secretados pelas células e que dão sustentação a elas. A matriz extracelular desempenha importantes funções em muitos processos biológicos tais como adesão, migração, invasão, proliferação e diferenciação celular. A degradação e o remodelamento da matriz podem ter efeitos profundos sobre processos fisiológicos e patológicos.

Dois tipos de matriz extracelular são facilmente identificados: a matriz intersticial, que é muito abundante nos tecidos conjuntivos, e a membrana basal ou lâmina basal, uma camada fina que circunda as células musculares, adiposas e de Schwann e sustenta os epitélios e endotélios, separando-os do tecido conjuntivo subjacente.

Lâmina Basal

Embora a composição da lâmina basal varie de tecido para tecido, e até mesmo de uma região para outra da

mesma lâmina, os componentes principais da lâmina basal são sempre colágeno tipo IV, laminina, nidogênio/entactina e o proteoglicano perlecan¹⁵.

O colágeno tipo IV, que existe em múltiplas isoformas, gera uma trama ou rede de múltiplas camadas, flexíveis e planas. Lamininas são grandes glicoproteína formada por três cadeias polipeptídicas diferentes, que existem em mais de 15 isoformas em vertebrados. As lamininas, por meio de seus múltiplos domínios capazes de interagir com outras proteínas da matriz e com as integrinas da superfície celular, desempenham um papel central na organização da lâmina basal e na ancoragem das células. Perlecan é um proteoglicano de heparan sulfato, de alto peso molecular, com as cadeias de glicosaminoglicanos ligadas próximo à extremidade N-terminal da molécula. Nidogen/entactina é uma glicoproteína ubíqua na lâmina basal, formada por dois domínios globulares na porção N-terminal (G1 e G2) e um na C-terminal (G3), unidos por um domínio em forma de bastão. Estas moléculas se dispõem em uma rede interligada, que interage com receptores específicos na superfície das células (revisão em 16).

A célula tumoral maligna deve ser capaz de digerir a lâmina basal, invadir o tecido vizinho, migrar, quebrar a lâmina basal do endotélio, penetrar na circulação, sobreviver lá e invadir outro tecido, fazendo tudo isso de novo.

Matriz Intersticial

A matriz intersticial é formada por uma rede de fibras e moléculas multiadesivas, na qual ficam mergulhadas as células. Nos tecidos conjuntivos, o volume ocupado pela matriz é bem maior do que o ocupado pelas células.

Apesar das classes de moléculas que compõem toda matriz intersticial serem grosseiramente as mesmas, variações em suas proporções e arquiteturas geram tecidos com características surpreendentemente diferentes: a transparência da córnea, a resistência à tensão dos tendões, a elasticidade e resistência à pressão das cartilagens, a rigidez da matriz calcificada de ossos e dentes são apenas alguns exemplos.

Os principais componentes macromoleculares da matriz são: proteínas

fibrosas, proteoglicanos e glicoproteínas multiadesivas. Também está presente o hialuronam (ou ácido hialurônico), um heteropolissacarídeo.

As principais proteínas fibrosas são os colágenos, sendo majoritários os fibrilares, como os tipos I, II e III. Além desses, outros tipos de colágeno também estão presentes, com distribuição tecido-específica, bem como outras proteínas fibrosas, como elastina e fibrilina.

Dentre as glicoproteínas multiadesivas destaca-se a fibronectina, que é uma glicoproteína composta por duas subunidades grandes unidas por pontes dissulfato. Estas formam domínios com afinidade por integrinas da superfície celular e domínios para ligação com outros componentes da matriz extracelular, como colágeno e proteoglicanos.

Os proteoglicanos são macromoléculas formadas por um esqueleto proteico com pelo menos uma cadeia de glicosaminoglicano covalentemente ligada. Os glicosaminoglicanos, por sua vez, são heteropolissacarídeos de natureza polianiônica, sendo os principais glicosaminoglicanos de mamíferos: heparan sulfato, que predomina na superfície celular e na lâmina basal; heparina, que ocorre dentro de grânulos de mastócitos; condroitim sulfato, dermatam sulfato e queratam sulfato, que são os principais glicosaminoglicanos da matriz intersticial.

As principais famílias de proteoglicanos de matriz intersticial são: (A) os hialectans, de alto peso molecular e que agregam com hialuronam, como o agregam e o versicam; e (B) os de baixo peso molecular, da família das SLRPs, que regulam a fibrilogênese (entre outras funções), como o decorim, o biglicam e o lumicam.

A maioria das células tem na sua superfície um glicocálice, composto por glicolipídeos, glicoproteínas e proteoglicanos da membrana plasmática. Estes podem ser elementos integrais da membrana ou podem interagir com ela, desempenhando funções importantíssimas na tumorigênese. Citamos apenas alguns exemplos: (A) gangliosídeos promovem a dimerização dos receptores ERBB2 e ERBB3 em microdomínios da membrana (ou lipid rafts), facilitando sua ativação; (B) a expressão de gli-

coconjugados sialilados ajuda as células tumorais se dissociarem do tumor e invadirem os tecidos vizinhos; (C) selectinas expressas na superfície de plaquetas e de linfócitos reconhecem os glicoconjugados correspondentes na superfície da célula tumoral, facilitando sua disseminação pela corrente sanguínea e embolização; (D) o heparan sulfato da superfície das células endoteliais interage com fatores de crescimento como VEGF e FGF, que são liberados pelas células tumorais e do estroma, favorecendo a angiogênese no tumor¹⁷.

O hialuronam também é um glicosaminoglicano, mas não é sulfatado e não forma proteoglicanos. Suas cadeias são muito longas, gerando soluções viscosas. Ao contrário dos demais glicosaminoglicanos, que são sintetizados sobre um esqueleto proteico no retículo endoplasmático rugoso e no Complexo de Golgi, o hialuronam é sintetizado na superfície celular, pelas hialuronam sintases (HAS).

O hialuronam, apesar de ser um componente típico da matriz extracelular, também faz parte do glicocálice das células, tanto durante o seu processo de biossíntese, quando as cadeias nascentes ainda estão ancoradas à superfície e os proteoglicanos já interagem com elas, como quando essas moléculas se ligam a seu receptor de superfície, a proteína CD44, e com os proteoglicanos¹⁸.

A concentração de hialuronam está aumentada no estroma de praticamente todos os tumores, em comparação com o parênquima vizinho. As células tumorais são capazes de induzir a síntese de hialuronam pelas células estromais. Em carcinoma mamário, concentrações mais altas de hialuronam estão associadas com menor tempo de sobrevida. Demonstrou-se que aumento de expressão de hialuronam por transfecção com HAS (hialuronam sintase), aumentou o crescimento e o potencial metastático de tumores. Por outro lado, redução da expressão de hialuronam usando mRNA antisense da HAS, levou à diminuição no crescimento do tumor. Poder-se-ia pensar que aumento na degradação de hialuronam tivesse o mesmo efeito, mas a superexpressão de hialuronidases (gene HYAL1) estimulou o crescimento

tumoral, ao invés de inibi-lo. De fato, tumores geralmente contêm concentrações elevadas de hialuronidas. Isso talvez ocorra porque os produtos de degradação parcial de hialuronam têm uma ação estimulatória sobre a angiogênese.

O hialuronam promove fortemente o crescimento independente de ancoragem. Hialuronam, ao ligar com seu receptor CD44, induz a formação de um complexo que contém ERBB2, PI3K e HSP90/CDC37 (um chaperone necessário à ação de ERBB2). Este complexo induz a fosforilação de BAD e a inativa, induzindo sobrevivência da célula. EMMPRIN (extracellular matrix metalloproteinase inducer) estimula a síntese de hialuronam e é expresso em muitos tipos de tumores malignos, incluindo o de mama.

Os componentes da matriz intersticial se ligam à superfície das células, por meio de integrinas e outros receptores e, através deles, podem transmitir sinais para as células.

Metaloproteinases da Matriz (MMPs) e a Invasão e Metástase

A degradação das macromoléculas da matriz se inicia pela ação de metaloproteinases, hialuronidas e heparanases, que atuam nas proximidades das células, liberando fragmentos ainda grandes. Estes são endocitados e completamente digeridos nos lisossomos, onde os aminoácidos e monossacarídeos constituintes são reciclados.

As metaloproteinases são uma família de proteases neutras que agem na matriz extracelular, cuja atividade depende de íons zinco e cálcio. Algumas são ligadas à membrana plasmática, com o sítio ativo no lado extracelular, e outras são enzimas solúveis, mas todas elas atuam no espaço pericelular¹⁹.

Sua ação, além de ser importante para a degradação e o turnover da matriz, pode: (A) afetar a adesão e a migração celular, por transformar o fenótipo das células de adesivas para não-adesivas; (B) modificar o microambiente celular, dando sinais que podem levar à proliferação, apoptose ou morfogênese; (C) modular a interação com fatores de crescimento ou citocinas; (D) regular a atividade de outras proteases, por degradação das enzimas ou de seus inibidores.

Na migração e invasão dos tumores, as metaloproteinases de matriz (MMPs) e seus inibidores (TIMPs), que são expressos tanto pelas próprias células tumorais como pelas células do estroma, têm relevante participação²⁰.

Adesão e Invasão Celular

A adesão célula-célula ajuda na organização e no funcionamento dos epitélios, permitindo que as células se comuniquem e respondam em conjunto a sinais, enquanto as proteínas de ancoragem célula-matriz facilitam a interação das células com a matriz extracelular. A expressão e a localização das proteínas de adesão é fundamental na manutenção da polaridade das células, para que possam desempenhar suas funções.

As moléculas de adesão são proteínas integrais de membrana (isto é, atravessam a bicamada lipídica) e estão envolvidas no reconhecimento e na adesão celular. As principais famílias de moléculas de adesão são as caderinas e as CAMs (cell adhesion molecules, moléculas de adesão celular), que fazem contato homofílico célula-célula, e as integrinas e selectinas, que fazem contato heterofílico na adesão célula-célula e célula-matriz.

As caderinas estão presentes em todos os animais, e devem seu nome à sua dependência de íons cálcio. São fundamentais durante o desenvolvimento embrionário. Por exemplo, no início do desenvolvimento embrionário de camundongos, as células ficam frouxamente ligadas entre si. Por volta do estágio de oito células, inicia-se a expressão de caderina-E, resultando em forte aderência entre as células²¹. Além disso, estão envolvidas no reconhecimento e na segregação celular. Uma linhagem de fibroblastos em cultura, chamada células L, não expressa caderinas e as células não aderem entre si. Quando essas células são transfectadas com DNA que codifica a caderina E, passam a aderir e essa adesão é inibida por anticorpos anti-caderina-E. Se células L expressando diferentes caderinas forem misturadas, elas se segregam e aderem separadamente, indicando que cada caderina liga preferencialmente seu próprio tipo e mimetizando o que acontece quando células derivadas de tecidos que expressam diferentes caderinas são misturadas. Uma segregação semelhante ocorre se células L expressando diferentes quantidades da mesma caderina forem misturadas²². Portanto, parece que diferenças qualitativas e quantitativas na expressão de caderinas influenciam a organização dos tecidos.

Na superfície celular existem ainda as junções de ancoragem, regiões especializadas em adesão e ancoragem. São exemplos de junções de ancoragem os contatos focais, o cinturão de adesão, os desmossomos e os hemidesmossomos, que ancoram os filamentos de actina ou os filamentos intermediários do citoesqueleto à superfície. Por intermédio de moléculas de adesão, essas junções conectam células vizinhas ou conectam as células

O LABORATÓRIO LOCUS ESTÁ FAZENDO 20 ANOS COM EXCELÊNCIA EM QUALIDADE E REALIZANDO OS SEGUINTE EXAMES:

- ▶ EXAME ANATOMOPATOLÓGICO
- ▶ PUNÇÃO ASPIRATIVA POR AGULHA FINA (PAAF OU BAAF)
- ▶ EXAME CITOLÓGICO
- ▶ EXAME INTRA-OPERATÓRIO POR CONGELAÇÃO
- ▶ IMUNO-HISTOQUÍMICA
- ▶ HIBRIDIZAÇÃO MOLECULAR "IN SITU" PARA HPV
- ▶ CISH (CHROMOGENIC IN SITU HIBRIDIZATION) PARA PESQUISA AMPLIFICAÇÃO DE HER2



à matriz extracelular, enviando sinais para o interior das células e permitindo que elas usem seu citoesqueleto de forma coordenada.

Células normais, geralmente dependem de ancoragem ao substrato para sobreviverem. Quando colocadas em cultura, formam uma monocamada, aderida ao substrato. Se essas células forem incapazes de aderir, sofrem um processo de apoptose ou morte celular programada chamada anoikis (apoptose que acontece quando as células dependentes de ancoragem se desligam da matriz extracelular).

Células transformadas, por outro lado, são muito menos dependentes de ancoragem e não sofrem anoikis, sobrevivendo em condições nas quais as células normais morreriam. Elas aderem muito menos ao substrato e, em cultura, crescem umas sobre as outras. Esta é uma característica marcante das células tumorais, que sofreram alterações genéticas ou epigenéticas, e apresentam um comportamento alterado.

Migração Celular e Transição Epitélio-Mesênquima

Os eventos que levam à migração celular podem ser resumidos em 4 etapas: (1) a célula emite protrusões na direção do movimento, em forma de agulhas finas, chamadas filopodia, e mais largas, em forma de lamelas, chamadas lamelipodia, controladas pelas vias de sinalização intracelular e realizadas por polimerização e despolimerização do citoesqueleto e por proteínas motores; (2) estabelecem-se contatos focais com a matriz extracelular; (3) ocorre contração da rede de actina; (4) a rede de actina se solta da parte posterior. In vivo, ainda é necessária uma etapa de recrutamento de metaloproteinases para digerir a matriz. Nesse caso, as projeções são também chamadas invadopodia.

Em células normais, há um equilíbrio entre estímulos pró-migratórios e antimigratórios. Nos tumores, há um predomínio dos estímulos pró-migratórios, com altos níveis de expressão de receptores de fatores de crescimento. Por exemplo, superexpressão do receptor de ERBB2 em carcinoma mamário levou ao desenvolvimento de Herceptina, um antagonista de ERBB2

(também chamado Her2), que inibe a migração celular. Quanto mais o fenótipo tumoral for migratório, maior seu potencial metastático.

Essa mudança de fenótipo das células tumorais – dissociação das junções aderentes, perda de polaridade, separação em células individuais e aquisição de motilidade – faz parte de um programa chamado transição epitélio-mesênquima (EMT), que ocorre durante a embriogênese. Um dos primeiros sinais dessa transição é a queda na expressão de caderina-E, e isso se dá por uma metilação do promotor (controle epigenético, portanto), sendo um dos primeiros sinais de progressão tumoral e de prognóstico desfavorável²³

Mudanças no Ambiente Extracelular também Ocorrem em Tumores Benignos

Essas mudanças no ambiente extracelular não acontecem apenas em tumores malignos, mas também em tumores benignos, como o leiomioma e fibroadenoma mamário. No leiomioma, em comparação com o miométrio normal, ocorre uma mudança na expressão e na organização do colágeno. Além disso, a expressão de decorin, principal proteoglicano de miométrio, muda: aumenta a sua síntese e ele passa a ser glicosilado com duas cadeias de glicosaminoglicanos, cadeias estas que são mais longas e com menos resíduos de ácido -L-idurônico²⁴, o que indica alterações no processo de biossíntese dessas macromoléculas²⁵.

Alterações semelhantes foram observadas em fibroadenoma mamário. A concentração de proteoglicanos é mais alta no fibroadenoma do que na mama normal, tanto na fase proliferativa quanto na fase secretória do ciclo menstrual. No tecido normal, o conteúdo de proteoglicanos é mais alto na fase secretória, enquanto o tumor parece menos sensível ao controle hormonal. Os principais glicosaminoglicanos da mama normal e do fibroadenoma são heparan sulfato e dermatam sulfato. A concentração de ambos aumenta no tumor, mas o dermatam sulfato aumenta mais, e sua estrutura também se modifica, com uma proporção menor de ácido -L-idurônico no fibroadenoma. Além disso, versican, que não está presente na mama normal, é expresso na matriz extracelular do fibroadenoma²⁶.

Referências

- Lin H-J, Zuo T, Chao JR, Peng Z, Asamoto LK, Yamashita SS, Huang TH-M (2009) Seed and soil, with an epigenetic view. *Biochim. Biophys. Acta* 1790:920-924.
- Kalluri R, Zeisberg M (2006) Fibroblasts in cancer. *Nat. Rev. Cancer* 6, 392-401.
- Dvorak HF (1986) Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing. *N. Engl. J. Med.* 315, 1650-1659.
- Micke P, Ostman A (2005) Exploring the tumour environment: cancer-associated fibroblasts as targets in cancer therapy. *Expert Opin. Ther. Targets* 9, 1217-1233.
- Allinen M, Beroukhi R, Cai L, Brennan C, Lahti-Domenici J, Huang H, Porter D, Hu M, Chin L, Richardson A et al. (2004) Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer. *Cancer Cell* 6, 17-32.
- Heylen N, Baurain R, Remacle C, Trouet A (1998) Effect of MRC-5 fibroblast conditioned medium on breast cancer cell motility and invasion in vitro. *Clin. Exp. Metastasis* 16, 193-203.
- Orimo A, Gupta PB, Sgros DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, Carey VJ, Richardson AL, Weinberg RA (2005) Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell* 121, 335-348.
- Gudjonsson T, Adriance MC, Sternlicht MD, Petersen OW, Bissell MJ (2005) Myoepithelial cells: their origin and function in breast morphogenesis and neoplasia. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 10, 261-272.
- Barsky SH (2003) Myoepithelial mRNA expression profiling reveals a common tumor-suppressor phenotype. *Exp. Mol. Pathol.* 74, 113-122.
- Adriance MC, Inman JL, Petersen OW, Bissell MJ (2005) Myoepithelial cells: good fences make good neighbors. *Breast Cancer Res.* 7, 190-197.
- Payne SL, Hendrix MJC, Kirschmann DA (2007) Paradoxical roles for lysyl oxidases in cancer – a prospect. *J. Cell. Biochem.* 101:1338-1354.
- Hu M, Yao J, Cai L, Bachman KE, van den Brule F, Velculescu V, Polyak K (2005) Distinct epigenetic changes in the stromal cells of breast cancers. *Nat. Genet.* 37, 899-905.
- Bingle L, Brown NJ, Lewis CE (2002) The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J. Pathol.* 196, 254-265.
- McSherry EA, Donatello S, Hopkins AM, McDonnell S (2007) Molecular basis of invasion in breast cancer. *Cell. Mol. Life Sci.* 64, 3201-3218.
- Kalluri R (2003) Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nature Reviews Cancer* 3:422-433.
- Kramer JM (2005) Basement membranes, Worm-Book, ed. The C. elegans Research Community, Worm-Book, doi/10.1895/wormbook.1.16.1, <http://www.wormbook.org>.
- Fuster MM, Esko JD (2005) The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets. *Nature Reviews Cancer* 5:526-542.
- Toole BP (2004) Hyaluronan: from extracellular glue to pericellular cue. *Nature Reviews Cancer* 4:528-539.
- Vu TH, Werb Z (2000) Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev.* 14:2123-2133.
- Egeblad M, Werb Z. (2002) New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nature Reviews Cancer* 2:161-174.
- Calarco P, Epstein CJ (1973) Cell surface changes during preimplantation development in the mouse. *Dev. Biol.* 32:208-213.
- Nose A, Nagafuchi A, Takeichi M (1988) Expressed recombinant cadherins mediate cell sorting in model systems. *Cell* 54:993-1001.
- Wheelock MJ, Soler AP, Knudsen KA (2001) Cadherin junctions in mammary tumors. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 6, 275-285.
- Berto AGA, Oba SM, Michelacci YM, Sampaio LO (2001) Galactosaminoglycans from normal myometrium and leiomyoma. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 34: 633-637
- Berto AGA, Sampaio LO, Franco CRC, Cesar Jr, RM, Michelacci YM (2003) A comparative analysis of structure and spatial distribution of decorin in human leiomyoma and normal myometrium. *Biochim. Biophys Acta* 1619:98-112.
- De Lima CR (2009) Proteoglicanos de estroma mamário e fibroadenoma humanos em diferentes condições hormonais. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular da UNIFESP (Michelacci, Y.M. Orientadora).

Rastreamento do Câncer de Mama

Responsável: AFONSO CELSO PINTO NAZÁRIO

Co-responsável: ROGÉRIO FENILE

Debatedores: GILBERTO UEMURA, JOSÉ BEVILACQUA, LUCIANO CHALA, MARIA ANTONIETA GALVÃO, MAIRIANE PINOTTI, RENE GARCIA, SELMA BAUAB, SIMONE ELÍAS

Foram apresentados 3 casos com objetivo de gerar discussão a respeito do tema da reunião.

O primeiro caso foi sobre paciente de 66 anos com alteração mamográfica de difícil visualização devido a mamas densas. Gerando discussão a respeito de realizar a ultrassonografia como rastreamento. Dr. Luciano Chala relata que a ultrassonografia realizada na população geral é capaz de detectar pequenos tumores em mamas densas, no entanto não se sabe se isso tem impacto sobre a mortalidade. Por outro lado, a ultrassonografia tem mais falsos-positivos. Nenhuma instituição ou organização orienta o USG como rastreamento mesmo em mamas densas. Em população de alto risco, como as portadoras de mutação do BRCA 1, como a RNM está contemplada para esse tipo de paciente, não existe espaço para o USG, a não ser que a RNM não possa ser realizada. Quanto à população de moderado a alto risco (hiperplasia atípica), a realização de RNM ainda é debatida e dessa forma alguns preconizam o uso da ultrassonografia. Dr. Rene confirma opinião que rastreamento se faz com mamografia somente. Dr. Afonso Nazário conclui, então, que existe consenso entre radiologistas e mastologistas quanto ao USG não servir para rastreamento.

O segundo e terceiro casos foram a respeito de pacientes mastectomizadas submetidas a reconstrução. No segundo caso a paciente apresentou, durante o seguimento, nódulo axilar palpável e mamografia sem alterações, e no terceiro caso, durante o seguimento, foi detectado nódulo à ultrassonografia, realizada mesmo com exame físico normal. Sendo que no segundo caso, o achado clínico sinalizou um carcinoma lobular invasivo e, no terceiro caso, o achado de imagem, diagnosticou esteatonecrose.

A principal discussão advinda dos casos foi a respeito de como realizar o seguimento de pacientes submetidas a mastectomia e reconstrução mamária.

Dra. Mariane Pinotti refere acompanhar tais pacientes com mamografia e biópsia se necessário.

Dr. Rene relata que realiza mamografia de base seis meses após a reconstrução e se mama densa, associa à ultrassonografia. No entanto, admite que existe limitação técnica nesse grupo de pacientes, sendo o aspecto clínico o mais importante.

Dr. Gilberto Uemura refere que o exame físico é importante e que a mamografia também é importante. Por isso realiza as duas coisas.

Dr. José Luiz Bevilacqua também realiza mamografia nessas pacientes, chamando atenção que tal exame pode mostrar casos em que o retalho da mastectomia é grosso, aumentando o risco de recidiva.

E finalmente, Dr. Luciano Chala refere que o seguimento dessas pacientes depende do tipo de reconstrução. Naquelas reconstruídas com TRAM, faço mamografia, apesar de não existirem dados suficientes para concluir seu benefício. Em pacientes com implantes, não faço mamografia. E em pacientes com reconstrução mista, depende de cada caso. O exame físico, sem dúvida, é importante em todos os casos. E o USG detecta mais lesões malignas que a mamografia.

Após apresentação do terceiro caso, Dra. Simone Elias relata que independente do exame reali-

zado no seguimento de pacientes reconstruídas, a taxa de falsos-positivos é alta. Dessa forma, os exames se mostram como fator complicador, a exemplo do caso apresentado.

Em seguida foi realizada apresentação de temas relacionados a rastreamento por Dra. Simone Elias:

1.) Com que idade iniciar e suspender o rastreamento mamográfico?

A revisão das evidências induz a apoiar vigorosamente a triagem mamográfica de mulheres entre 50 e 69 anos com um intervalo nunca superior a dois anos - impacto real sobre a mortalidade. Sendo razoável realizar triagem em mulheres acima de 70 anos que tenham uma expectativa de vida favorável e condições clínicas que permitam a adequada realização do exame já que a incidência aumenta com a idade. Sobre o rastreamento em mulheres mais jovens, entre 40 e 49 anos, o impacto é menor, porém significativo na taxa de mortalidade por câncer de mama (20-25%) caso a triagem seja realizada anualmente.

2.) A ultrassonografia mamária está indicada no rastreamento de mamas densas?

O acréscimo da ultrassonografia no rastreamento mamográfico de mulheres de alto risco detectaram 1,1 a 7,2 cânceres a cada 1000 mas aumentaram significativamente resultados falsos-positivos. (Combined Screening With Ultrasound and Mammography vs Mammography Alone in Women at Elevated Risk of Breast Cancer JAMA. 2008;299(18):2151-2163 (doi:10.1001/jama.299.18.2151)

3.) Quando indicar a ressonância magnética no rastreamento?

RECOMENDAÇÃO DE RASTREAMENTO ANUAL (BASEADO EM EVIDÊNCIAS):

mulheres com mutação dos genes BRCA1 ou 2
mulheres com parentes de 1º grau com mutação dos genes BRCA1 ou 2
risco durante a vida de desenvolver câncer de mama estimado em $\geq 20\%$

RECOMENDAÇÃO DE RASTREAMENTO ANUAL (CONSENSO DE ESPECIALISTAS):

mulheres submetidas à radioterapia torácica entre 10 - 30 anos de idade;
mulheres com síndrome de Li-Fraumeni ou parentes de 1º grau;
mulheres com Síndromes de Cowden e Bannayan-Riley-Ruvalcaba ou parentes de 1º grau
EVIDÊNCIAS INSUFICIENTES PARA RECOMENDAR OU CONTRA-INDICAR:
risco durante a vida de desenvolver câncer de mama estimado entre 15 - 20%
mulheres com diagnóstico prévio de CLIS, HLA e HDA mamas densas na mamografia
mulheres com antecedente pessoal de câncer de mama, incluindo CDIS

CONTRA-INDICAÇÕES (CONSENSO ENTRE OS ESPECIALISTAS):

risco durante a vida de desenvolver câncer de mama estimado em $< 15\%$
(American Cancer Society, 2007. Diretrizes para o rastreamento do câncer de mama com ressonância magnética complementar a mamografia)

4.) Quais exames de imagem solicitar no rastreamento de recidivas em mamas reconstruídas (próteses e retalhos miocutâneos)?

Não se observam benefícios e não existem evidências suficientes. A decisão de implementar uma rotina de vigilância imagiológica deve avaliar ainda o impacto dos efeitos adversos sobre a qualidade de vida dessas mulheres, decorrentes dos resultados falsos-positivos e ansiedade provocados. (Application of screening principles to the reconstructed breast. JCO. 2010; 28(1):173-180)

5.) Quais são os fatores clínicos que predis põem o padrão mamográfico denso?

Idade, Menarca > 13 anos, Paridade $< 2-3$ filhos e IMC < 25 .

6.) Quais são os fatores anatomopatológicos e genéticos que predis põem o padrão mamográfico denso?

Polimorfismos dos genes dos receptores de estrogênio.

Para o polimorfismo XBAl foi observada maior frequência de homozigotos mutados nas mulheres com mamas densas e maior frequência de homozigotos selvagens e heterozigotos naquelas com mamas não densas.

Não se observou relação entre densidade mamográfica e polimorfismos dos genes HaeIII, MspI e PVUII.

7.) Perspectivas no rastreamento: tomossíntese e cintilografia mamária

As maiores vantagens desses métodos é que independem da densidade mamária, então seu principal papel é suprir a deficiência da mamografia nas mamas densas. Na cintilografia, os resultados atuais mostram sensibilidade de 83% e especificidade de 75%, porém a detecção de lesões menores que 1 cm ainda não é boa.

A tomossíntese elimina o efeito da sobreposição de tecido evitando a somação de imagens, porém a radiação aplicada na paciente ainda é superior à utilizada na mamografia.

Encerrando a reunião, Dr. René ... apresenta aula "Como planejar um programa de rastreamento mamográfico populacional". Ele inicia sua apresentação ressaltando a importância de definir a faixa etária a ser incluída no rastreamento, em sua experiência pessoal (Fundação Pio XII) foram incluídas pacientes de 40 a 69 anos moradoras de 3 áreas (Barretos, Jales e Juazeiro do Norte-BA, totalizando 167.305 mulheres. Em seguida, ele fala da importância da conversa e parceria com os gestores (definição do teto financeiro) e da importância da conscientização da população (através de PSF, mídia e igrejas) e educação dos profissionais. Passa então a falar a respeito da realização do exame propriamente dito, que depende de equipe treinada e de infraestrutura para isso. Relatou sua experiência com unidade móvel de mamografia (ônibus ou carreta que carregam 2 mamógrafos podendo realizar até 100 exames por dia) que vai até a paciente aumentando a adesão. Por fim, a importância de equipe de suporte que irá receber e liberar os exames e da unidade de suporte para onde possam ser encaminhadas as pacientes que necessitem de biópsia ou tratamento. Dr. René termina sua apresentação ressaltando a importância da força de vontade de toda equipe envolvida.

Autor: Fabio Bagnoli