



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
LABORATÓRIO DE IMUNOPATOLOGIA KEIZO ASAMI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAÚDE

NANCY CRISTINA FERRAZ DE LUCENA FERREIRA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR DAS MICROCALCIFICAÇÕES
MAMÁRIAS BI-RADS® 4 e 5**

Recife
2018

NANCY CRISTINA FERRAZ DE LUCENA FERREIRA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR DAS MICROCALCIFICAÇÕES
MAMÁRIAS BI-RADS® 4 e 5**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada a Saúde do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami/LIKA da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Ciências Biológicas

Orientadora: Prof. Dra. Danyelly Bruneska Gondim Martins.

Recife

2018

Catálogo na fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia - CRB-4/1788

Ferreira, Nancy Cristina Ferraz de Lucena
Avaliação clínica e molecular das microcalcificações mamárias BI-RADS® 4 e 5 /
Nancy Cristina Ferraz de Lucena Ferreira. – 2018.

77 f. : il.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Danyelly Bruneska Gondim Martins.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia Aplicada à
Saúde, Recife, 2018.
Inclui referências e anexos.

1. Mamas – Câncer. 2. Mamografia. 3. Expressão gênica. I. Martins, Danyelly Bruneska Gondim (Orientadora). II. Título.

616.99465

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 - 454

NANCY CRISTINA FERRAZ DE LUCENA FERREIRA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR DAS MICROCALCIFICAÇÕES
MAMÁRIAS BI-RADS® 4 e 5**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada a Saúde do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami/LIKA da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em: 03/08/2018

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Danyelly Bruneska Gondim Martins

Departamento de Bioquímica, UFPE
Orientadora- Membro interno

Prof. Dr. Fabricio Oliveira Souto

Núcleo de Ciências da Vida - Centro Acadêmico do Agreste, UFPE
Membro titular interno

Prof. Dr. Alfredo Carlos Simões Dornellas de Barros

Livre-Docente de Ginecologia, FM-USP
Membro titular externo

Prof. Dr. João Ricardo Mendes de Oliveira

Departamento de Neuropsiquiatria, UFPE
Membro suplente interno

Dra. Francis Maria Báó Zambra

Pós-Doc, PPGBAS-UFPE
Membro suplente externo

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por me capacitar a cada dia e me livrar de todos os temores enfrentado durante a execução desse projeto. Foi minha maior fortaleza. Recebeu minhas orações e preces nos momentos de cansaço e angústia, tranquilizando o meu espírito. Quanta alegria, poder afirmar: Combati o bom combate, completei a corrida, guardei a Fé!

Aos Meus Pais, João Ismar de Lucena (*in memoriam*, que partiu durante o mestrado), e Maria Anunciada Ferraz de Lucena por sempre caminharem ao meu lado e serem exemplo de vida e ética. Um amor que transcende a vida humana.

Ao meu esposo, mestre e doutor em cirurgia, Darley de Lima Ferreira Filho e filhas Marina de Lucena Ferreira e Thaís Lucena Ferreira, por simplesmente existirem na minha vida e serem essa família que compartilha tudo, que incondicionalmente ama, que usa a verdade e sinceridade como melhor ferramenta para viver em harmonia. Com vocês sempre aprendo e cresço como ser humano.

A união dessa família foi muito importante para a conclusão dessa minha dissertação, o que será suporte muito relevante para o meu doutorado.

À Prof. Danyelly Bruneska, tenho muitos motivos para o agradecimento, desde o incentivo para seleção do mestrado até a sensibilidade de perceber que seria algo muito enriquecedor para minha vida e profissão, quando na verdade nem eu mesma pensava em fazer. Com ela não só aprendi como pesquisa deve ser feita, mas também a aceitar e trabalhar com positividade intercorrências de uma pesquisa. A Prof. é um exemplo de quem planta árvores e colhe alimentos, planta flores e colhe perfume, semeia trigo e colhe pão, planta amor e colhe amizades, e que semeando a verdade se colhe confiança e credibilidade.

A Minha Amiga Joana Darc Rozendo dos Santos. Num mundo de moral inversa, onde contam os pequenos sentimentos, incoerências do saber, e deslizes humanos, você é uma estrela rara. Participou ativamente com muito amor na construção desse projeto, entendendo minhas dificuldades e trazendo sempre um sorriso franco. Como diz um poeta: A experiência contou, a solidariedade despontou e o carinho pespontou.

A Prof. da UFPE Dra. Luciana Gurgel da Trindade Meira Henriques, mestre e doutora em anatomia patológica, a qual sou imensamente grata pelo incansável apoio, dedicação, e principalmente amizade.

As minhas amigas Ana Emília Medeiros, Bethânia Azevedo e Claudia Paixão pelas intensas orações e apoio em todos os momentos difíceis durante esse período.

A Minha Amiga Ananda Cristina Aguiar por seu envolvimento e dedicação nos experimentos de bancada. Não esquecerei das boas risadas e o quanto te aperreei durante os experimentos.

Aos Meus Amigos Oncologistas Dr. Glauber Leitão e Dr. Luiz Alberto Mattos, pelo carinho constante e incentivo ao meu crescimento profissional.

Ao Padre Damião Silva por valiosa amizade e ensinamentos. Agradeço sua disponibilidade e apoio durante a morte do meu pai. Com o senhor aprendo a ser verdadeira cristã e que por pior que a situação pareça, teremos sempre Deus à frente para nos guiar, do lado para sustentar, atrás para nos proteger, acima para abençoar e se cairmos Deus sempre nos levantará.

A equipe de professores, funcionários e alunos do mestrado e doutorado do LIKA (Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami), representados pelo Prof. Dr. José Luiz Lima Filho, diretor da instituição. Tive oportunidade única e prazerosa de conviver com alguns da instituição e perceber que os pesquisadores têm se dedicado à estudos em várias áreas com objetivo maior de contribuir para saúde pública.

Ao Prof. Dr. José Luiz Lima Filho em especial, por suas incansáveis conversas durante a disciplina que chamamos “Pensando fora da caixa”, na qual tive como maior ensinamento ter sempre perspectivas de vida.

A comissão examinadora, agradeço a participação e excelentes contribuições para melhoria do meu trabalho. Que foi composta pelos seguintes professores: Prof. Dr. Fabricio Oliveira Souto, do Núcleo de Ciências da Vida - Centro Acadêmico do Agreste, da UFPE, membro titular interno, ao Prof. Dr. Alfredo Carlos Simões Dornellas de Barros Livre-Docente de Ginecologia, FM-USP, membro titular externo, o Prof. Dr. João Ricardo Mendes de Oliveira, Departamento de Neuropsiquiatria, UFPE, membro suplente interno, a Dra. Francis Maria Bão Zambra, da Pós-Doc, PPGBAS-UFPE, membro suplente externo.

A Vinícius Tigre por colaborar e empenhar-se na belíssima ilustração.

As minhas pacientes do Hospital Barão de Lucena do Recife -Pernambuco, envolvidas no estudo, as quais tiveram paciência para participarem desse estudo, agradeço de todo coração entrega e confiança. Pensando em vocês tenho me aperfeiçoado com propósito de uma medicina de melhor qualidade e oferecer a essas pacientes do sistema único de saúde um tratamento mais adequado, com baixo risco de complicação e melhor qualidade de vida para essa população carente e que não têm acesso a uma medicina de grande tecnologia . Com isso podemos evitar um maior sofrimento e menos cirurgias para essas pacientes.

RESUMO

Câncer de mama é o mais frequente entre as mulheres, com redução da mortalidade em lesões iniciais. Radiologicamente, microcalcificações suspeitas podem estar associadas a achados histológicos como lesões proliferativas com e sem atipias, e Carcinoma Ductal *In Situ*. Na atualidade, biopsias percutâneas e a vácuo permitem correlação anatomoradiológica e identificação de lesões precursoras, a as de risco para câncer. Nenhum biomarcador foi estabelecido para prever o câncer em mulheres diagnosticadas com doença benigna mamária e identificá-los poderia melhorar a capacidade de estratificar o risco individual das lesões benignas para câncer. O receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas A (PDGFRA) tem papel em oncogênese, angiogênese e metástases tumorais, e sua ativação é encontrada em alguns tipos de câncer. Por outro lado, padrões de metilação do DNA são modificações iniciais no desenvolvimento do câncer que podem ser úteis para detecção precoce do câncer, sendo regulado por uma família de enzimas conhecidas como DNMTs (DNA metiltransferases). O objetivo desse estudo foi avaliar o perfil clínico e molecular das mulheres portadoras de microcalcificação mamária BI-RADS® 4 e 5. Para tanto, foram realizadas análises estatísticas em relação ao perfil de 37 pacientes com microcalcificações mamárias; e determinados os níveis de expressão gênica do PDGFRA, DNMT1 e DNMT3a em tecido parafinado. Os dados de expressão gênica foram comparados com os dados de 26 pacientes com câncer de mama (tecido fresco em RNAlater), todas atendidas no ambulatório de mastologia do Hospital Barão de Lucena. Aspectos anatomoradiológico foram avaliados juntamente com achados clínicos e calculadas as frequências percentuais. Os níveis de expressão gênica do PDGFRA e das DNMTs (DNMT3a) foram determinados por PCR quantitativa (qPCR), utilizando a β -actina como gene de referência. Entre as pacientes com microcalcificação mamária, a média de idade das pacientes foi 55,9 anos, com etnia branca predominante ($p < 0,014$). A maioria tinha filhos ($p < 0,001$), amamentou ($p < 0,001$) e a média de idade da menarca foi de 13 anos. Os subgrupos que apresentaram maior significância estatística foram pacientes com a classificação BI-RADS® na categoria 4 (67,6%) e achados histológicos de lesão não proliferativa ($p < 0,001$). As lesões do tipo Carcinoma Ductal *In Situ* (100%) apresentavam Receptor de Estrógeno e Receptor de Progesterona positivos, e 94,6% foram submetidas à cirurgia de setorectomia por agulhamento prévio ($p < 0,001$). A mama mais acometida foi a esquerda (62,2%) e o quadrante mais afetado foi o superior lateral 59,5% ($p < 0,001$). Não havia história familiar em 83,8%. Nas amostras de microcalcificação testadas, não foi possível observar a expressão de PDGFRA e DNMT1. Em contrapartida, 15 dos 37

pacientes com microcalcificações avaliados apresentaram expressão de DNMT3a, com níveis maiores do que aqueles encontrados em tecidos de câncer de mama Luminal e Triplo Negativo. Os dados do presente estudo demonstram a necessidade de melhoria na descrição dos subgrupos do BI-RADS® 4 para permitir uma melhor conduta clínica. O presente estudo demonstrou o potencial de estudo das DNMTs em amostras de calcificação como uma forma de compreensão do papel destas moléculas no desenvolvimento do câncer e do potencial de evolução das microcalcificações para câncer de mama.

Palavras-chave: Doença benigna mamária. Fatores de risco biológicos. Neoplasia mamária. Mamografia. Expressão gênica.

ABSTRACT

Breast cancer is the most recurring type of cancer amongst women, with reduced mortality at an initial stage of lesion. From a radiological perspective, perceived microcalcifications may be associated with histological findings such as proliferative injuries with or without atypical features, and Ductal Carcinoma *In Situ*. Currently, percutaneous and vacuum biopsies allow for the correlation between anatomoradiological and identification of previous lesions and those that offer the risk of cancer. No biomarker has been established to predict cancer in women diagnosed with benign mammary disease, and identifying it could strengthen the possibility of stratifying the individual risk of benign injuries for cancer. The platelet-derived growth factor receptor A (PDGFRA) plays its part in tumor oncogenesis, angiogenesis, and metastasis, and its activation is found in some kinds of cancer. By another side, DNA methylation standards are initial changes to the development of cancer and may be helpful in its early identification, being regulated by a family of enzymes called DNMTs (DNA methyl transferase). The aim of this study was to evaluate the profile of BI-RADS® 4 and 5 mammary micro-calcification women carriers and determine the level of the gene expression of possible molecular markers in 37 patients with mammary microcalcification (paraffin blocks), and 26 patients with breast cancer (fresh in RNAlater tissue) cared for at the Hospital Barão de Lucena's Mastology Ambulatory. Anatomoradiological aspects have been evaluated together with clinical findings, and percentage rates have been calculated. The PDGFRA and DNMTs (DNMT3a) gene expressions have been established by means of quantitative PCR (qPCR), with the use of B-actina as reference gene. Among the patients with mammary microcalcification, the average age was 55.9; predominantly white-skinned subjects, ($p < 0.014$). Most of them were mothers ($p < 0.001$), breastfeeding ($p < 0.001$), and the average menarche age was 13. The subgroups that presented greater significance were patients classified BI-RADS® in category IV (67.6%) and histological findings of non-proliferative lesion ($p < 0.001$). Lesions of the Ductal Carcinoma *In Situ* type (100%) presented positive Estrogen and Progesterone receptors, and 94.6% have undergone sectorectomy surgery by prior needling ($p < 0.001$). The most damaged breast was the left one (62.2%), and the most affected quadrant was the top lateral one, 59.5% ($p < 0.001$). There was no family history in 83.8% of the cases. In the tested microcalcification samples, it was not possible to observe the expression of PDGFRA. Nevertheless, 15 of 37 patients with micro-calcification showed increased in the gene expression of DNMT3a, most of them greater than Luminal and Triple Negative cancer types. The data presented here highlights the improvement on the

description of BI-RADS® 4 sub-classification in order to better conduct the clinical decision. Data also demonstrated the potential of DNMTs evaluation in micro-calcification samples as an strategy to access the understanding about the role of these molecules in the breast cancer development.

Keywords: Benign mammary disease. Biological risk factors. Mammary neoplastic. Mammography. Gene expression.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto pele não-melanoma	17
Figura 2 -	Fases do desenvolvimento Mamário	18
Figura 3 -	Calcificações com morfologia suspeita	23
Figura 4 -	Eventos patológicos no processo de neoplasia mamária ductal.	26
Figura 5 -	Variação na expressão de 1.753 genes em 84 amostras	27
Figura 6 -	Desenvolvimento epitelial mamário normal, possíveis ligações com as células iniciadoras dos diferentes subtipos moleculares, e papel dos hormônios esteroides no controle das células tronco mamárias (BSC) e progenitoras	37
Figura 7 -	Mecanismo de sinalização do receptor PDGFR	39
Figura 8 -	Esquema descritivo da metilação do DNA	40
Figura 9 -	Expressão de PDGFRA nas amostras analisadas	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Categorias do <i>Breast Imaging Reporting and Data System</i> (BI-RADS [®]), de acordo com os achados encontrados nos exames de mamografia.	22
Tabela 2 -	Distribuição do perfil pessoal das pacientes avaliadas	46
Tabela 3 -	Distribuição dos hábitos entre as pacientes.	47
Tabela 4 -	Distribuição dos fatores relacionados a paridade e amamentação	47
Tabela 5 -	Análise descritiva dos fatores relacionados a menarca, gestação e amamentação.	48
Tabela 6 -	Distribuição das pacientes segundo a classificação do BI-RADS [®] .	49
Tabela 7 -	Distribuição da classificação histopatológica.	50
Tabela 8 -	Perfil histológico e imunohistoquímico do grupo de pacientes com CDIS.	51
Tabela 9 -	Distribuição das características da cirurgia e localização da lesão.	51
Tabela 10 -	Antecedentes familiares e seguimento radiológico.	52
Tabela 11 -	Resultados da expressão de DNMT3a nas amostras analisadas.	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	American College of Radiology (Colégio Americano de Radiologia)
BI-RADS [®] -	Breast Imaging and Data System
Ca ⁺	íon cálcio
CDI	Carcinoma Ductal Invasor
CDIS	Carcinoma Ductal In Situ
CLI	Carcinoma Lobular Invasor
CLIS	Carcinoma Lobular In Situ
CR	Cicatriz Radial
DNMT	DNA Metiltransferases
FEA	Atipia Epitelial Plana
HER2	Receptor tipo 2 do Fator de Crescimento Epidérmico
HDA	Hiperplasia Ductal Atípica
HLA	Hiperplasia Lobular Atípica
IMQ	Imunohistoquímica
INCA	Instituto Nacional do Câncer
Ki 67	Marcador de Proliferação Celular
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
OMS	Organização Mundial da Saúde
P	Fósforo
PDGFA	Ligante de fator de crescimento derivado de plaquetas
PDGFRA	Receptor fator de crescimento derivado de plaquetas A
PSA	Prostate Specific Antigen
RE	Receptor Estrógeno
RP	Receptor Progesterona
USPSTF	Agência Americana Principal de Políticas de Serviços de Prevenção
VEGFA	Fator de crescimento endotelial vascular A
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1	CÂNCER DE MAMA.....	17
2.2	RASTREAMENTO DO CÂNCER DE MAMA.....	19
2.3	CÂNCER DUCTAL <i>IN SITU</i>	19
2.4	MICROCALCIFICAÇÃO MAMÁRIA	20
2.4.1	Papel do Cálcio na Célula e Composição Química da Microcalcificação.....	24
2.5	CARCINOGENESE.....	25
2.6	HISTOLOGIA MAMÁRIA.....	27
2.6.1	Hiperplasia Ductal Atípica.....	29
2.6.2	Neoplasia Lobular	30
2.6.2.1	Hiperplasia Lobular Atípica (HLA).....	31
2.6.2.2	Carcinoma Lobular in situ (CLIS)	31
2.6.3	Adenose Esclerosante.....	32
2.6.4	Hiperplasia Epitelial Plana (FEA).....	32
2.6.5	Cicatriz Radial (CR)	32
2.6.6	Papiloma	33
2.6.7	Mucocele-like.....	34
2.7	MODELOS PROPOSTOS DE PROGRESSÃO DO CÂNCER DE MAMA.....	35
2.8	A CÉLULA DE ORIGEM DO CÂNCER DE MAMA: AS HIPÓTESES CLONAL E DE CÉLULAS-TRONCO.....	35
2.9	BIOMARCADORES MOLECULARES EM DOENÇAS BENÍGNAS MAMÁRIAS E NO CÂNCER DE MAMA.....	37
2.9.1	Receptor Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas A (PDGFRA).....	38
2.9.2	DNMTs (DNA metiltransferases).....	40
3	OBJETIVOS.....	43
4	MATERIAIS E MÉTODOS	44
4.1	POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	44
4.2	COLETA DE AMOSTRAS.....	44
4.3	EXTRAÇÃO DO RNA E SÍNTESE DE CDNA.....	44
4.4	ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA.....	45
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45

5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	ANÁLISES CLÍNICO-RADIOLÓGICAS E CIRÚRGICAS.....	46
5.2	ANÁLISES DE EXPRESSÃO GÊNICA.....	53
6	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS.....	57
	APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO.....	75
	APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E	
	ESCLARECIDO.....	76
	ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	77

1 INTRODUÇÃO

Câncer de mama tem como maior característica o comportamento heterogêneo (ALBERTE; UTE-SUSANN, 2015), sendo o mais frequente entre as mulheres. Com incidência crescente no mundo e no Brasil, a cada ano, há evidência na redução de mortalidade em todos os cânceres mamários, principalmente em estádios iniciais da doença (FERLAY et al., 2015). A mamografia de rastreamento tem sido a melhor ferramenta por imagem, na detecção precoce, com a microcalcificação sendo o maior achado radiológico de lesões iniciais de câncer ou mesmo responsável por identificar lesões de risco futuro para câncer (NASEEM et al., 2015). No entanto, ainda há muito o que ser estudado sobre a composição química dessas microcalcificações e o papel do cálcio na carcinogênese (O'GRADY; MORGAN, 2018).

Com o rastreamento mamográfico e melhor categorização dos achados radiológicos, houve aumento na detecção dos achados suspeitos, gerando assim número maior de biópsias percutâneas, e por vezes cirurgias desnecessárias. Entretanto, nos últimos anos o aprendizado sobre os achados histológicos e estratificação de risco dessas lesões tem proporcionado cada vez mais direcionamentos adequados das pacientes quanto a seguimento e conduta (CALHOUN, 2018).

Os aspectos moleculares, genéticos e epigenéticos tem sido estudados com intuito de melhor esclarecer a dinâmica e evolução do câncer, no que resulta em diagnóstico e tratamento mais precisos e eficientes (SAUERBREI et al., 2006). A validação de biomarcadores na detecção do câncer e principalmente dessas lesões precursoras terá um papel impactante na prevenção, seguimento, tratamento e cura de muitas pacientes (O'CONNOR et al., 2017).

Um gene pertinente de ser estudado é o do PDGFRA (receptor do fator de crescimento derivado de plaquetas A) localizado no cromossomo 4 em humanos (KAZLAUSKAS, 2017). Esse gene codifica uma proteína transmembrana que tem um sítio de ligação extracelular aos ligantes fatores de crescimento derivado de plaquetas (PDGFs) ou fator de crescimento endotelial vascular A (VEGF-A) e um domínio intracelular tirosina quinase (BALL; SHUTTLEWORTH; KIELTY, 2007; HELDIN; OSTMAN; RONNSTRAND, 1998; KAZLAUSKAS, 1994; PENNOCK; KAZLAUSKAS, 2012).

Outro aspecto instigante a ser avaliado é a epigenéticas que parece ter um papel na iniciação da carcinogênese. Mudanças epigenéticas incluem modificações das histonas, DNA metilação e DNA hidroximetilação. Essas alterações podem induzir características

oncogênicas (EINAV NILI et al., 2008; SARKAR et al., 2013a). O processo de metilação do DNA é regulado por uma família de enzimas conhecidas como DNMTs (DNA metiltransferases), que consiste em DNMT1, DNMT3a e DNMT3b (SARKAR et al., 2013b).

Desta forma, o presente estudo visa avaliar as características clínicas e moleculares em pacientes com microcalcificações mamárias BI-RADS[®] 4 e 5 que podem interferir no prognóstico e tratamento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CÂNCER DE MAMA

O câncer de mama é uma doença heterogênea no que diz respeito ao seu perfil de expressão gênica, achados anatomopatológicos e mamográficos, comportamento biológico e resposta ao tratamento (ALBERTE; UTE-SUSANN, 2015). Este é o segundo câncer mais comum no mundo, e o mais frequente entre as mulheres. Cerca de 1,7 milhões de novos casos foram reportados em 2012, representando a quinta causa de morte por câncer (FERLAY et al., 2015).

No Brasil, estima-se 59.700 casos novos e 2.680 para o estado de Pernambuco (Figura 1) (INCA, 2018), observando-se um crescimento na incidência do câncer de mama que pode ser atribuído às mudanças no estilo de vida e hábitos alimentares (LI et al., 2016).

Figura 1 - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto pele não-melanoma

Localização Primária	Casos	%	Homens	Mulheres	Localização Primária	Casos	%
Próstata	68.220	31,7%			Mama Feminina	59.700	29,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%			Cólon e Reto	18.980	9,4%
Cólon e Reto	17.380	8,1%			Colo do Útero	16.370	8,1%
Estômago	13.540	6,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
Cavidade Oral	11.200	5,2%			Glândula Tireoide	8.040	4,0%
Esôfago	8.240	3,8%			Estômago	7.750	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%			Corpo do Útero	6.600	3,3%
Laringe	6.390	3,0%			Ovário	6.150	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%			Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%			Leucemias	4.860	2,4%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: Dados da pesquisa (INCA, 2018).

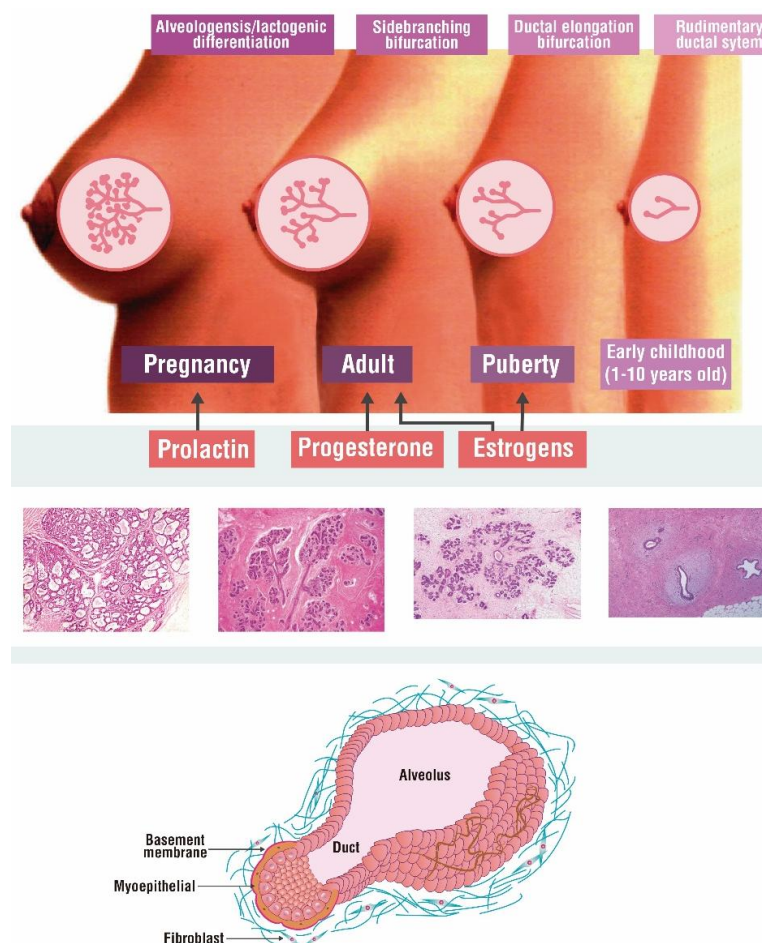
Apesar de inúmeras pesquisas, ainda não se conhece todos os fatores envolvidos no desenvolvimento do câncer mamário e o motivo de algumas mulheres que desenvolvem câncer de mama não morrerem da doença. Portanto, torna-se necessário esclarecer se o aumento da sobrevida é devido ao diagnóstico precoce, às opções terapêuticas cada dia melhores, ou ao fato de algumas lesões serem classificadas como subtipos que tem potencial de serem letais (DONKER et al., 2013; WA; BERGH; ZACK, 2001; WÄRNBERG et al., 2014).

O desenvolvimento mamário passa por várias fases durante a vida de uma mulher. Desde a infância, puberdade, fase adulta e atinge maturidade máxima na gestação.

A mama normal apresenta um conjunto complexo de interações entre as células luminais, mioepiteliais, membrana basal e células estromais (Figura 2). Este complexo é dinâmico e exhibe modificações fisiológicas próprias da mama, como, por exemplo, a formação normal de ramificação ductal e lobular durante a puberdade, gravidez e algumas fases do ciclo menstrual. Cada lóbulo é imerso em tecido conjuntivo intralobular frouxo. No mamilo o epitélio é pavimentoso estratificado e se transforma em colunar estratificado ou cuboide nos ductos. Os ácinos são revestidos por células epiteliais cuboide ou cilíndricas, observamos segunda camada de células mioepiteliais, a membrana basal e as fibras musculares estão ao redor dos ductos galactóforos. (FERNANDES et al., 2007). O câncer de mama advém da proliferação celular desordenada neste tecido baseado em alterações moleculares que ocorrem ao longo dos anos.

A figura 2 apresenta as fases do desenvolvimento mamário. A estrutura ductal é rudimentar na primeira infância, não havendo influência hormonal. É formada por ductos, os seios galactóforos, com poucas ramificações. Na puberdade o desenvolvimento da mama faz parte dos caracteres sexuais secundários, as mamas aumentam de tamanho e o mamilo se torna proeminente.

Figura 2 - Fases do desenvolvimento mamário



Fonte: Captura da autora.

Há acúmulo de tecido adiposo e conjuntivo, há aumento das ramificações dos ductos galactóforos sob ação de estrógenos circulantes que atuam na mama por meio de receptores. Na fase adulta os lóbulos vão se desenvolvendo a partir de ductos menores, mais ramificações se formam sob influência hormônios esteroides ovarianos, estrógenos e progesterona. As ramificações ductais se tornam mais acentuadas durante a gravidez e há principalmente estímulo do hormônio lactogênio placentário, prolactina e glicocorticoides para a lactação.

2.2 RASTREAMENTO DO CÂNCER DE MAMA

Nas últimas três décadas, em vários países, houve redução de 30 a 40% da taxa de mortalidade por câncer de mama padronizadas por idade. Essa queda tem sido atribuída a melhorias no manejo da doença, incluindo diagnóstico precoce e principalmente avanços no tratamento (AUTIER et al., 2010)(CARIOLI et al., 2018).

Nos últimos anos, tem se analisado a utilidade do rastreamento como ferramenta essencial na prevenção secundária do câncer (SAQUIB et al., 2015). Essa análise parece paradoxal, pois é difícil conceber argumentos contrários a detecção precoce do câncer ou de suas lesões precursoras. Neste contexto, a mamografia tem sido alvo de análises na construção das diretrizes de saúde pública de diferentes países no rastreamento do câncer de mama (GOTZSCHE; NIELSEN, 2013). O rastreamento mamográfico tem sido implicado na detecção precoce das lesões precursoras, com melhoria na vigilância e tratamento apropriados (HALL, 2010), mas não se sabe o real impacto do rastreamento mamográfico na mortalidade por câncer de mama (LØBERG et al., 2015).

Em estudos comparativos da acurácia entre mamografia digital de campo total (DR) versus filme (analógico) em cortes de rastreio se observou que entre as mulheres reconvocadas desses estudos, a calcificação era o único sinal de câncer e as taxas variaram entre 12,7% a 41,2% (DEL TURCO et al., 2007; HAMBLBY et al., 2009).

2.3 CÂNCER DUCTAL IN SITU

O CDIS (Carcinoma Ductal in Situ) de mama é uma forma muito inicial de neoplasia que as células com características malignas não invadem a membrana basal subepitelial. A morte por lesões como o CDIS bem diferenciado é extremamente rara. A taxa de mortalidade específica por câncer de mama de 20 anos após o diagnóstico de CDIS gira em torno 3,3%.

Lesões de crescimento rápido e pouco diferenciadas tendem a ser mais letais. Além disso, não se conhece completamente os fatores prognósticos envolvidos, tornando difícil a tarefa de prever quais casos evoluirão melhor ou pior (KOPANS, 1998; STEVEN, 2015). Alguns casos de CDIS têm um potencial inerente para disseminação loco regional ou metástase, portanto, é apropriado considerá-los como possíveis marcadores preditivos de um câncer invasivo subsequente. O risco de mortalidade desta entidade leva a considerar o estudo dos potenciais tratamentos (STEVEN et al., 2015).

2.4 MICROCALCIFICAÇÃO MAMÁRIA

O conhecimento de que as microcalcificações estão associadas a processos malignos da mama elegeu a mamografia como o melhor método de rastreio para detecção precoce. As microcalcificações são responsáveis por 31% das lesões detectadas na mamografia de rastreamento e são frequentemente consideradas um sinal precoce de câncer de mama (NASEEM et al., 2015). As microcalcificações estão geralmente associadas ao CDIS, dos quais menos que 20% são de baixo grau, contudo podem estar presentes também em Carcinoma Ductal Invasivo (CDI) (VAN LUIJT et al., 2016; WEIGEL S, HENSE HW, 2016).

A década de 1980 teve um aumento exponencial na mamografia com a implementação do seu uso anual. O relatório de imagens de mama e sistema de dados BI-RADS® (Breast Imaging Reporting And Data System) é um sistema de classificação proposto pelo Colégio Americano de Radiologia (ACR) em 1986 com o relatório original lançado em 1993 e as grandes variações entre os relatórios de radiologia. Este sistema foi implementado para padronizar a avaliação de risco, para permitir o controle de qualidade para mamografia e para fornecer uniformidade nos relatórios para não-radiologista (KEPPKE., 2017).

O léxico BI-RADS® é um dicionário de termos descritivos usado para descrever um achado de mamografia, ultrassonografia e ressonância. A primeira versão proposta incluía a estrutura sugerida para um relatório mamográfico, o léxico para achados de imagem mamográfica e a categoria de avaliação final com recomendações para o manejo. O ACR utilizou análise científica e revisão de literatura para criar um léxico de descritores que se mostraram correlacionados com altos valores preditivos associados à doença benigna ou maligna. No Brasil, o BI-RADS® foi adotado com a recomendação do Colégio Brasileiro Radiologia (CBR) (RAO et al., 2016).

O segundo aspecto importante do sistema BI-RADS® foi a classificação da categoria para a avaliação geral dos achados de imagem. A categorização e avaliação final fornece risco aproximado de malignidade para uma lesão entre zero a maior que 95%, com a finalidade de diminuir a ambigüidade nas recomendações. O BI-RADS® pode ser modificado e reeditado conforme novas pesquisas, e surgimento de técnicas inovadoras. Em 2003 houve a inclusão do léxico para ultrasonografia e em 2006 para ressonância magnética de mamas.

As categorias são descritas conforme a composição ou densidade mamária, massas, calcificações, assimetrias, características associadas e localização da lesão. Quanto à densidade, a imagem pode ser de aspecto gordurosa, fibroglandular esparsa, moderadamente e extremamente densa. Se uma massa é vista, três descrições são necessárias como forma, margem e densidade. A forma pode ser redonda, oval ou irregular. As margens podem ser circunscritas, obscurecidas, microlobuladas, indistintas e espiculadas. Quanto à densidade da massa pode ser alta, média, densidade igual e contendo gordura. Uma massa com forma irregular, margens espiculadas e alta densidade é mais preocupante para malignidade. Enquanto que, uma massa com forma redonda, margens circunscritas é a mais provável descrição benignidade, especialmente se tiver gordura (KEPPKE., 2017).

Um conjunto de diretrizes é fornecido no atlas BI-RADS® para interpretação de calcificação, ajudando o radiologista a distinguir calcificações suspeitas, as quais serão biopsiadas, de alterações benignas que não precisam ser biopsiadas, como as calcificações vasculares e da pele. Em alguns casos, inadvertidamente, ocorrem os falsos positivos, uma vez que as calcificações associadas à doença benigna podem ser interpretadas como calcificações suspeitas (BIJKER et al., 2013; ZONDERLAND; SMITHUIS, 2015).

Na quinta edição de BI-RADS® (2013), as mamografias são pontuadas em vários aspectos, incluindo densidade, distorções arquiteturais e calcificações, sendo enquadradas em uma das sete categorias do BI-RADS® (Tabela 1), que varia de “Avaliação Incompleta” (Categoria 0) até “Biópsia comprovada de malignidade” (Categoria 6), cada um com um curso de ação recomendado (D’ORSI, 2010; EBERL et al., 2006).

Uma das anormalidades mamográficas mais comumente detectadas são as microcalcificações, que tem sido um marcador muito útil de câncer de mama. Cerca de 30-50% dos tumores não-palpáveis são identificados em rastreamento mamográfico devido à presença de microcalcificações (GÜLSÜN; DEMIRKAZIK; ARIYÜREK, 2003; VENKATESAN et al., 2009).

Estas alterações também estão presentes na maioria dos casos de carcinoma ductal in situ (DCIS) (HOFVIND et al., 2011).

Tabela 1 - Categorias do *Breast Imaging Reporting and Data System* (BI-RADS®), de acordo com os achados encontrados nos exames de mamografia

CATEGORIAS BI-RADS®			
CATEGORIA	INTERPRETAÇÃO	VPP	CONDUTA
0	Inconclusivo	-	Exame adicional
1	Benigno	0%	Controle anual a partir dos 40 anos
2	Benigno	0%	Controle anual a partir dos 40 anos
3	Provavelmente benigno	<2%	Controle semestral
4 (A, B e C)	Suspeito	2% > e < 90%	Biópsia
5	Provavelmente maligno	> 95%	Biópsia
6	Lesão maligna (biopsiada ou diagnosticada), não submetida a terapia definitiva.	100%	-

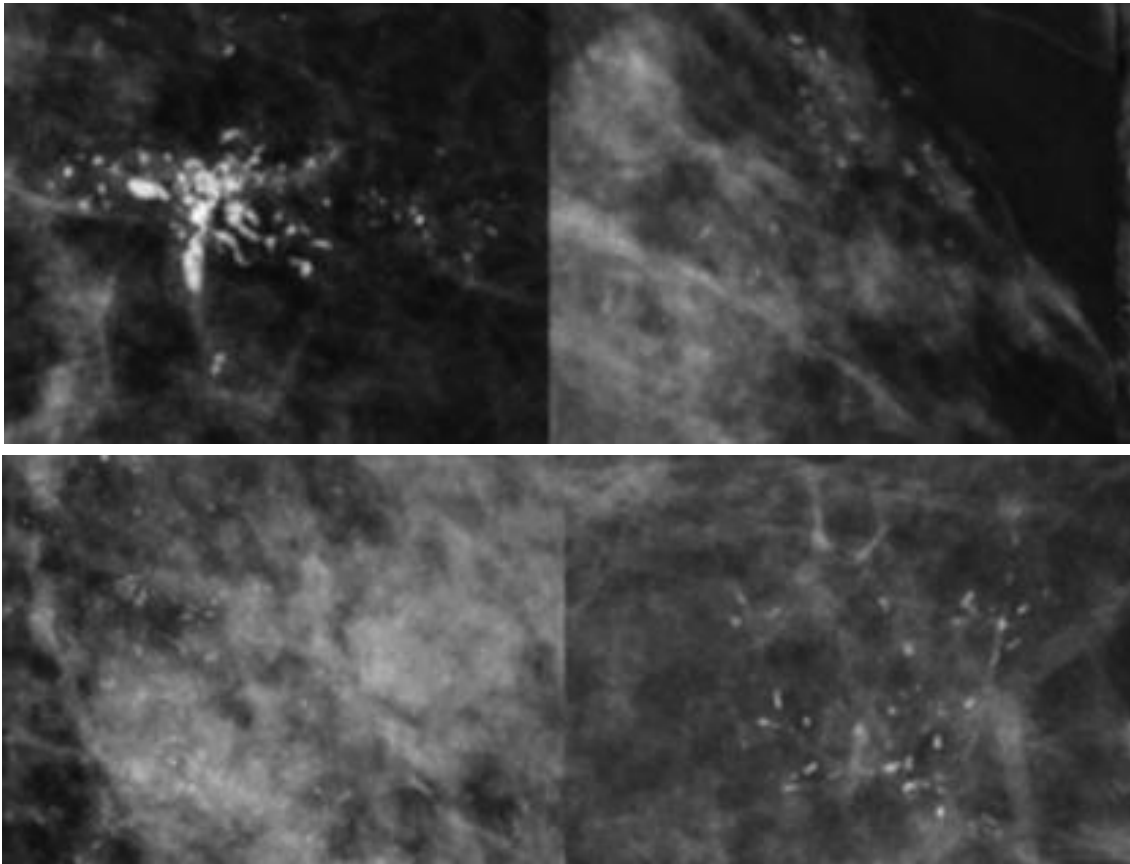
*VPP: Valores preditivos positivo.

Fonte: Adaptado de (POULOS, 2015).

As microcalcificações altamente suspeitas são menores que 0,5 mm, densidades diferentes, pleomórficas, finas, irregulares, heterogêneas, lineares, seguindo trajeto de ductos. Tem distribuição agrupada ou segmentar, tem formas lineares, ramificadas ou arborescentes, em formato Y, V e X, sugerindo depósito intraductal, que traduz carcinoma *in situ* ou mesmo invasivo e são catalogadas como BI-RADS® 5 (Figura 3) (ROMINGER; WISGICKL; TIMMESFELD, 2012).

Na figura 3, verificou-se calcificações com morfologia suspeita. Imagens de projeção mamográfica com zoom digital mostram calcificações com risco crescente de malignidade: heterogêneo grosseiro (acima a esquerda), amorfo (acima a direita), pleomórfico fino (abaixo a esquerda) e ramificação linear fina ou fina (abaixo direita).

Figura 3 - Calcificações com morfologia suspeita.



Fonte: Adaptado de (RAO et al., 2016).

A maioria das lesões malignas encontradas em rastreamento mamográfico são impalpáveis e os achados comumente encontrados são uma massa espiculada e microcalcificações para o CDIS. A categoria BI-RADS® 4 tem um valor preditivo positivo (VPP) na decisão de excisão cirúrgica em torno de 20% e BI-RADS® 5 de 77% (KHAN; COUNTY; CENTRE, 1992; LEINUNG et al., 2000)

Uma metanálise realizada com 40 estudos, representando um total de 10.665 pacientes com calcificações, demonstrou taxas de malignidade de 13% para calcificações grosseiras, sendo 27% para calcificações amorfas ou indistintas, 50% para as pleomórficas e 78% para linear (VIZCAÍNO et al., 2001). Outros estudos consideraram as calcificações lineares finas extremamente suspeitas (KUZMIAK et al., 2006; SCOGGINS et al., 2015).

As diferenças entre microcalcificações suspeitas das benignas estão bem definidas e estabelecidas. No entanto, apenas 21% das mulheres recebem diagnóstico de câncer mamário. Existe uma necessidade clínica na melhoria do valor preditivo da mamografia. Se os aspectos de composição química pudessem ser determinados radiograficamente e sobrepostos a

mamografia, isso poderia auxiliar o radiologista na avaliação mamográfica (SCOTT et al., 2017).

2.4.1 Papel do Cálcio na Célula e Composição Química da Microcalcificação

O cálcio (Ca^{+}) está envolvido no ajuste de múltiplas funções celulares fundamentais (BERRIDGE; LIPP; BOOTMAN, 2000). Devido aos seus papéis multifacetados, não é surpreendente que a homeostase desregulada de Ca^{2+} tenha sido observada em vários distúrbios, incluindo a tumorigênese (MONTEITH et al., 2007; PREVARSKAYA; SKRYMA; SHUBA, 2011). Considerado um componente intracelular substancial que regula a dinamicidade e a complexidade da cascata metastática, a concentração intracelular de Ca^{2+} livre é altamente controlada pela regulação fina dos mecanismos "ON" e "OFF" que, por fim, geram sinais de Ca^{2+} com várias amplitudes e frequências (BERRIDGE; LIPP; BOOTMAN, 2000).

O Ca^{2+} citosólico pode ser liberado do espaço extracelular devido à atividade dos canais e transportadores permeáveis ao Ca^{2+} na membrana plasmática, ou ocorre como resultado da liberação de organelas contendo Ca^{2+} (ex: retículo endoplasmático) (BERRIDGE; LIPP; BOOTMAN, 2000). A fim de manter a concentração de Ca^{2+} em repouso baixo, as células removem o Ca^{2+} usando um mecanismo dependente de energia, como as ATPases da membrana plasmática (PMCA), ou transportador de $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) (IAMSHANOVA; FIORIO PLA; PREVARSKAYA, 2017).

Existem dois tipos de calcificações: (1) as calcificações do tipo I, aparecem como cristais birrefringentes incolores compostos por weddellite ou di-hidrato de oxalato de cálcio (CaC_2O_4 e $2\text{H}_2\text{O}$), geralmente se formam em cistos apócrinos e, menos comumente, em outras condições benignas; (2) as calcificações do tipo II, que consistem em apatita, ocorrem em condições benignas e malignas (SCIMECA et al., 2014). É possível discriminar o Tipo 1 das calcificações mais comuns do Tipo 2 no tecido mamário. Os avanços tecnológicos são promissores em relação a definição do papel do cálcio e sua implementação na prática clínica, particularmente para a discriminar mudanças mais sutis na relação Ca:P dentro das calcificações Tipo 2 (SCOTT et al., 2017).

Devido à incapacidade das atuais técnicas de imagem clínica padrão para diferenciar com segurança as calcificações do tipo I das do tipo II, a natureza química das calcificações da mama não é rotineiramente determinada. No entanto, tal capacidade de detecção poderia reduzir potencialmente o número de pacientes que necessitam de procedimentos de biópsia

invasiva, tornando a tradução desses achados para a clínica uma área ativa da pesquisa atual (GHITA; MATOUSEK; STONE, 2018; WANG et al., 2014).

As características bioquímicas das microcalcificações do tipo II em tecidos mamários podem representar um fator-chave responsável pelos mecanismos de carcinogênese (LIANG et al., 2014). Estudos recentes e metanálises fornecem forte evidência de um prognóstico diminuído em pacientes com tumores de mama associados à calcificação. Considerando a alta taxa de detecção de calcificações em tumores pequenos em estágio inicial, uma compreensão mais detalhada do processo de formação de microcalcificações poderia ajudar no entendimento dos eventos clínicos iniciais da tumorigênese mamária e talvez identificar novos alvos para intervenção terapêutica ou marcadores prognósticos para prever os resultados (O'GRADY; MORGAN, 2018).

Técnicas sofisticadas de imagem e análise tem avançado para melhor compreender diferenças químicas entre calcificações benignas e malignas. E não somente categorizar em tipo I e II. Usando espectroscopia Raman para examinar o grau de substituição de carbonato na estrutura cristalina de hidroxiapatita, Haka et al. encontraram uma diferença significativa entre amostras de calcificação retiradas de lesões benignas e malignas (BARMAN et al., 2013). Ao utilizar espectroscopia de infravermelho médio transformada de Fourier (FTIR), pesquisadores demonstraram que o teor de carbonatos das calcificações é inversamente correlacionado à malignidade, com calcificações representativas de doença invasiva, *in situ* e benigna, possuindo um teor médio de carbonato de 1,41, 1,83 e 2,08%, respectivamente (BAKER et al., 2010).

Mais recentemente, um estudo usando microanálise de dispersão de energia por raios X identificou quantidades significativas de magnésio dentro da rede cristalina de microcalcificações associadas à malignidade. A relevância biológica do teor de magnésio das microcalcificações permanece incerta, mas a sua aparente associação com lesões malignas pode revelar-se altamente valiosa, juntamente com a percentagem de carbonato, como guia para distinguir os tumores benignos dos malignos (SCIMECA et al., 2014).

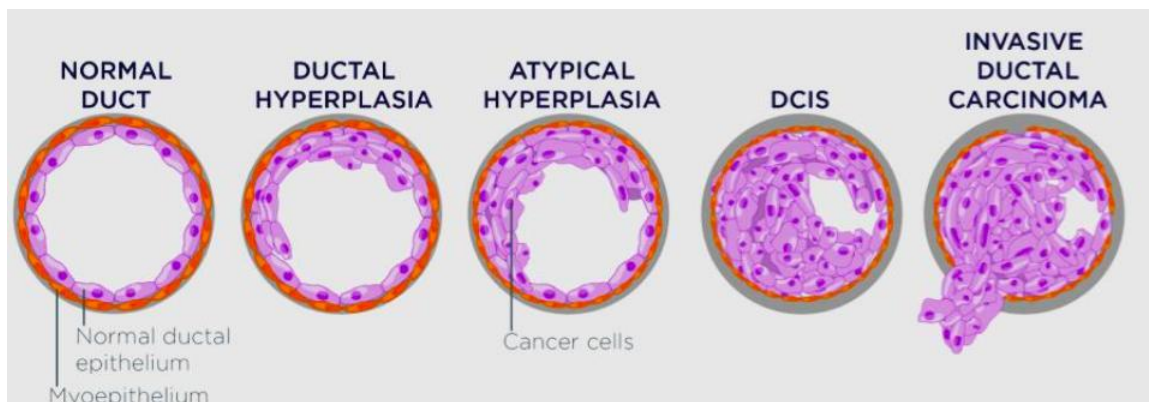
2.5 CARCINOGENESE

Na carcinogênese ocorre o rompimento da membrana basal, proliferação aumentada, a perda da inibição do crescimento, angiogênese e invasão do estroma por células epiteliais anormais, células estromais ou ambas (FERNANDES et al., 2007). As alterações biológicas que ocorrem na carcinogênese estão divididas em alterações ductais iniciais não proliferativas

que evolui para uma lesão proliferativa, seguido proliferação atípica, posteriormente para carcinoma *in situ* e carcinoma invasor (Figura 4).

Parte dos carcinomas mamários invasores evolui, após longo período, de lesões benignas pré-existentes, passando por lesões precursoras pré-malignas, carcinoma *in situ* e carcinoma micro invasivo (SANDERS et al., 2005). Outros não seguem esta sequência, sendo desde início carcinoma *in situ* ou invasores, com potencial ou não para metastização (SINGLETARY, 2002).

Figura 4 - Eventos patológicos no processo de neoplasia mamária ductal



Fonte: Adaptado de PAGE, DUPONT, 1990.

O câncer é uma doença com diferentes características patológicas e clínicas (SOTIRIOU; PUSZTAI, 2009). Variáveis clínico patológicas tradicionais, incluindo, por exemplo, o tamanho do tumor, grau do tumor e envolvimento nodal, são convencionalmente utilizadas para o prognóstico e tratamento da patologia (PARKER *et al.*, 2009). Em adição, é realizada a Imunohistoquímica clássica (IHC) para avaliação dos receptores de estrogênio (ER), receptores de progesterona (PR) e receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico (HER2). Além dessas, considera-se também os níveis de expressão de Ki-67, um marcador nuclear de proliferação celular cuja expressão aumentada em cânceres de mama se correlaciona com uma pior sobrevida (VALLEJOS *et al.*, 2010).

Depois do estudo de diversos painéis de expressão (PEROU *et al.*, 2000) e da *12th St. Gallen International Breast Cancer Conference Expert Panel*, 2011 (GOLDHIRSCH *et al.*, 2011), foi adotada a classificação do carcinoma de mama em cinco subtipos intrínsecos: (1) Luminal A: RE e/ou RP positivos, HER2 negativo e Ki-67 baixo (<14%); (2) Luminal B: HER-2 negativo: RE e/ou RP positivos, HER2-positivo ou negativo e Ki-67 alto (≥14%); (3) HER-2 superexpresso (não luminal): RE e RP negativos e HER2 positivo; (4) Basal-like:

representação total da amostra. A biópsia à vácuo melhora a representação da amostra (CALHOUN, 2018). As lesões com risco de subestimação mais conhecidas são a Hiperplasia Ductal Atípica (HDA), Hiperplasia Lobular Atípica (HLA) e o Carcinoma Lobular in Situ (CLIS). Outras lesões como Atipia Epitelial Plana (FEA), Cicatriz Radial (CR), Papilomas e lesão tipo mucocoele são consideradas desafiadoras de alto risco (CALHOUN, 2018; RACZ; CARTER; DEGNIM, 2017).

O seguimento de lesões de risco e definição de critérios histológicos usados, também contribuem na interpretação da variabilidade de risco associada à câncer (SANTEN; MANSEL, 2005). Estudos sobre doenças mamárias benignas e o risco para câncer de mama divide as lesões em três grandes categorias: não proliferativas, proliferativas e proliferativas com atipia (WORSHAM et al., 2007b).

Estudo de doença benigna, com seguimento de 5 anos, concluiu não haver diferença significativa no risco entre mulheres com lesões não proliferativas e lesões proliferativas sem atipias, embora o risco fosse quatro vezes maior para mulheres com atipia. Aos 10 anos de acompanhamento, no entanto, a incidência cumulativa de câncer de mama foi significativa para mulheres com lesões proliferativas com e sem atipias (WORSHAM et al., 2007a). Outra metanálise estimou o risco de doença benigna para malignidade, com seguimento médio de 12 anos. A estimativa resumida de risco para desenvolver câncer de mama foi de 1,17 para doença não proliferativa, 1,76 para doença proliferativa sem atipia e 3,93 para hiperplasia atípica não especificada. Os resultados sugerem estratégias de manejo para mulheres com doença benigna da mama, como métodos adicionais de rastreamento ou quimioprevenção (DYRSTAD et al., 2015).

A biologia da atipia nas lesões ainda é pouco conhecida. Pode representar precursores verdadeiros ou manifestações histológicas de um tecido com risco aumentado de evolução para câncer (LEWIS; LEE; TARTTER, 2012). O risco aumentado de câncer, após o diagnóstico de atipia, pode está relacionado a persistência do efeito no microambiente no tecido mamário (CICHON et al., 2010) e a existência de um fenótipo de mutação (BANERJI et al., 2012; STEPHENS et al., 2012).

A literatura confirma taxas variáveis de achados histológicos benignos e heterogeneidade na evolução para malignidade dessas lesões (CALHOUN; COLLINS, 2016).

Biópsias mamárias são realizadas comumente em lesões mamárias palpáveis ou por alterações mamográficas. Neste último grupo, a hiperplasia ductal ou lobular atípica é diagnosticada em 8% à 10% das amostras (PEARLMAN; GRIFFIN, 2010).

Nos modelos de carcinogênese mamária propostos, a atipia ocupa uma posição de ponte entre doença benigna e doença maligna (ARPINO; LAUCIRICA; ELLEDGE, 2005; BOMBONATI; SGROI, 2011; SANTEN; MANSEL, 2005). A frequência na taxa de diagnóstico das lesões atípicas varia conforme populações estudadas, 1 a 2%, 10 a 15% e 4% respectivamente (FOSTER et al., 2004), (EBY et al., 2008; HOUSSAMI et al., 2007), (MENES et al., 2014).

A atipia representa uma lesão pré-maligna de alto risco da mama, transmitindo um risco relativo de aproximadamente 4:1 no câncer de mama tardio (ARPINO; LAUCIRICA; ELLEDGE, 2005; HARTMANN et al., 2005a), com uma incidência cumulativa de 29% aos 25 anos (BOUGHEY et al., 2010; DEGNIM et al., 2007). O risco de desenvolver câncer de mama está diretamente relacionado ao grau de atipia epitelial. Esse risco está aumentado na presença de atipia, isoladamente ou em associação com outras lesões de hiperplasia. A fibrose parece ser fator protetor para câncer de mama (HARTMANN et al., 2005b).

Um estudo confirma que a Hiperplasia atípica tem risco absoluto de câncer subsequente de 30% aos 25 anos de seguimento (HARTMANN et al., 2015), enquanto que Hiperplasia ductal e lobular atípica tem risco semelhante de desenvolver câncer de mama metacrônico ao longo da vida (DEGNIM et al., 2007; HARTMANN et al., 2014a). No entanto, a hiperplasia ductal atípica é um problema clínico mais comum, com taxa mais alta de evolução para câncer comparado à hiperplasia lobular atípica (HARTMANN et al., 2015). Um outro estudo afirma que são distintas histopatologicamente (COLLINS et al., 2016).

2.6.1 Hiperplasia Ductal Atípica

A HDA é caracterizada por proliferação epitelial intraductal com atipia e arquitetural de baixo grau. A distinção do CDIS da HDA é baseada na extensão dos ductos, sendo maior que 2mm e menor que 2mm, respectivamente. Existe a recomendação de classificar como HDA se houver uma interpretação limítrofe entre HDA e CDIS (CALHOUN; COLLINS, 2016). A manifestação radiológica apresenta calcificações agrupadas suspeitas, raramente são sintomáticas com nódulos, exceto quando tem fibroadenoma associado (RACZ; DEGNIM, 2018).

Enquanto os precursores de CDIS e CDI (Carcinoma Ductal Invasor) de alto grau permanecem desconhecidos (ALLRED et al., 2008), a HDA pode ser considerada precursor direto, mas não obrigatório, do CDIS e CDI de baixo grau (DUPONT; PAGE, 1985). A HDA tem risco de 4 à 5 vezes de desenvolver câncer mama dentro de 5 anos, que não se limita a

mama ipsilateral (SALONI WALIA et al., 2017), mas o risco dobra quando associado à história familiar, sugerindo fatores hereditários envolvidos no desenvolvimento para câncer (HOOGERBRUGGE et al., 2003).

A taxa de evolução para câncer da HDA é de 10% e a conduta clínica neste caso é cirúrgica. No entanto, taxa de 5% pode ser identificada em subgrupos devidamente selecionados, nos quais existem menos de dois focos de HDA, tamanho das lesões menor que 6mm e que a remoção seja completa (PEÑA et al., 2017). Outro estudo refere que a taxa pode ser menor que 3% se houver correlação anatomoradiológica adequada, atipia sem necrose e a remoção da lesão for maior 95% (NGUYEN et al., 2011). No entanto, em outro estudo taxa de 12% foi encontrada em lesões com menos de três focos de HDA, e toda calcificação removida (KOHR et al., 2010).

O risco de evolução para câncer é menor que 5% se a remoção das calcificações for maior ou igual a 95%, se houver ausência de nódulo, se houver concordância anatomoradiológica, na ausência de necrose e se houver envolvimento de até 2 unidades ducto lobular (RACZ; DEGNIM, 2018). A excisão cirúrgica dessas lesões ainda tem sido recomendada pois os estudos concluem que não é possível prever quais mulheres poderiam ter como opção segura o seguimento anual (FARSHID et al., 2018).

Poucos artigos têm revelado características genômicas da HDA. O entendimento de alterações moleculares da HDA associadas à progressão do câncer mama tem sido limitado, por estudos inadequados e metodologia baixa resolução. Desta forma, faz-se necessário coortes prospectivos de HDA com acompanhamento clínico, avaliação dos níveis de RNA, DNA e proteínas com intuito de desenvolver biomarcadores de progressão para câncer, orientando assim as decisões terapêuticas (HARTMANN et al., 2014b).

2.6.2 Neoplasia Lobular

A Neoplasia Lobular é em geral assintomática e com achado incidental associada a outra lesão-alvo, manifesta-se como calcificações redondas e amorfas (DESTOUNIS et al., 2012). O termo neoplasia lobular pode ser usado para se referir tanto a HLA quanto ao CLIS clássico (GOMES et al., 2011).

Inicialmente a taxa de evolução da neoplasia lobular para câncer era muito elevada, com taxas de até 43% na HLA e 60% no CLIS clássico (CALHOUN; COLLINS, 2016; HUSSAIN; CUNNICK, 2011), o que justificava a excisão cirúrgica. No entanto, estudos recentes, com cuidadosa correlação anatomoradiológica, tem demonstrado uma evolução para câncer de cerca de 3% para HLA e CLIS incidentais (CALHOUN, 2018; SHAH-KHAN et

al., 2012), havendo assim recomendação de vigilância clínico-radiológica. Outros estudos, com seguimento de 3 a 5 anos e acompanhamento clínico radiológico, mostraram risco de progressão para câncer menor que 2%, sugerindo conduta não-cirúrgica para essas lesões (MORROW; SCHNITT; NORTON, 2015; MURRAY et al., 2013; RENDI et al., 2012). Contudo, o Guideline do NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) de 2018 continua a recomendar excisão cirúrgica (BEVERS, THERESE B., JOHN H. WARD, BANU K. ARUN; COWAN, 2018).

2.6.2.1 Hiperplasia Lobular Atípica (HLA)

A HLA é definida como uma proliferação de células epiteliais monomórficas com disfunção celular, vacúolos citoplasmáticos expandindo menos que 50% de uma unidade ducto lobular terminal (DUPONT; PAGE, 1985). Acreditasse que ocupe uma posição na evolução do carcinoma lobular, mas também é considerada um indicador de risco para um câncer de mama tardio (ANDERSON; CALHOUN; ROSEN, 2006; BOMBONATI; SGROI, 2011; LEWIS; LEE; TARTTER, 2012). Identificado em 1% das biópsias percutâneas como um achado incidental (MENES et al., 2014). Pode vir associada a microcalcificação detectada por mamografia (SIMPSON et al., 2003). Muitas instituições recomendam a observação para pacientes com HLA incidental sem outras indicações associadas para excisão cirúrgicas (MORROW et al., 2015).

2.6.2.2 Carcinoma Lobular in situ (CLIS)

O CLIS é uma proliferação epitelial atípica semelhante ao HLA, mas com comprometimento da unidade ducto lobular maior que 50% (DUPONT; PAGE, 1985). Pode ser um achado incidental, sendo identificado em 1% das biópsias percutâneas realizadas após mamografias por rastreamento. Contudo pode ser uma lesão-alvo quando associada à microcalcificação suspeita (D'ALFONSO et al., 2013) (MENES et al., 2014).

Pouco se sabe sobre a taxa de evolução para malignidade de variantes menos comum, não clássicas como CLIS pleomórfico e CLIS com comedonecrose, que são mais frequentemente diagnosticados por imagem, devido à associação com microcalcificações suspeitas. Portanto, a identificação de formas não clássicas de CLIS justifica a excisão cirúrgica devido a maior associação com carcinoma invasor (ALVARADO-CABRERO et al., 2010; BAGARIA et al., 2011; FLANAGAN et al., 2015) e a incerteza do manejo clínico (CICHON et al., 2010).

2.6.3 Adenose Esclerosante

A adenose esclerosante é uma lesão proliferativa comumente encontrada em biópsias de mama benigna (SANTEN; MANSEL, 2005), histologicamente complexa que consiste em lóbulos aumentados e distorcidos, contendo ácinos duplicados e congestionados, com mioepitélio proeminente e fibrose estromal. A literatura sobre o risco para câncer é limitada. Jensen e Page, encontraram um risco relativo de câncer de mama de 2.1 % (JENSEN et al., 1989), no entanto outros estudos não encontraram risco aumentado em mulheres com adenose esclerosante. Dessa forma, a biologia subjacente permanece indefinida (KABAT et al., 2010).

2.6.4 Hiperplasia Epitelial Plana (FEA)

A FEA (hiperplasia epitelial plana) foi originalmente definida em 2003, antigamente denominada hiperplasia de células colunares com atipia. Ocorrem em unidades de ductos lobulares terminais, sendo composta por uma ou mais camadas de células epiteliais que substituem o epitélio normal dentro dos ácinos, contendo calcificações luminiais. Rara e com incidência variando de 0,17-12,2%, FEA é muito comum em pacientes assintomáticos. Apresentam calcificações suspeitas em 80% dos casos de rastreamento, associada a outras lesões de risco como HDA (LAMB et al., 2017; RACZ et al., 2017). Com a definição da lesão em 2003 pela OMS (Organização Mundial da Saúde), a taxa de evolução para câncer caiu de 22,3% para 7,2%. Cerca de 5% dessas lesões evoluem para CDIS, enquanto 3% evoluem para CDI (RUDIN et al., 2017), aumentando a controvérsia na decisão de excisão cirúrgica da FEA.

Dados morfológicos e imunohistoquímico já sustentavam a hipótese de que FEA, HDA e CDIS de baixo grau representam uma evolução contínua (PAGE, DAVID L, 1992). Estudos recentes sugerem vigilância clínico-radiológica se a lesão é removida em quase sua totalidade na biópsia, com correlação clínico-radiológica e ausência de nódulos (CALHOUN, 2018; LAMB et al., 2017; RACZ; CARTER; DEGNIM, 2017).

2.6.5 Cicatriz Radial (CR)

CR (Cicatriz Radial), é um achado radiológico e patológico conhecido como uma lesão complexa. Na literatura, é referida como proliferação papilar esclerosante, epiteliiose infiltrativa, mastopatia indutiva, proliferação ductal escamosa benigna e lesão esclerosante não encapsulada (BHATHAL P.S, BROWN RW, LESUER G.C, 1985). Radiologicamente,

são representadas por área de distorção arquitetural, radiolucência central, espículas longas e radiantes, e podem apresentar calcificações (KENNEDY, 2003). Os critérios histológicos são o centro elastótico, do qual irradiam ductos e lóbulos, e as possíveis alterações proliferativas diversas (CALHOUN, 2018; RACZ; CARTER; DEGNIM, 2017)

A maior parte das vezes é um achado microscópico e incidental, mas podem atingir tamanhos maiores que 1 cm e serem visualizados nos métodos de imagem. A taxa de evolução para câncer nos estudos iniciais variavam amplamente de 0% a 43% (BHATHAL P.S, BROWN RW, LESUER G.C, 1985). No entanto, estudos recentes mostram taxas menores que 2% para CR sem atipia (CALHOUN; COLLINS, 2016; COHEN; NEWELL, 2017; RACZ; CARTER; DEGNIM, 2017), embora hajam evidências de que CR pode estar associada à atipia e malignidade, podendo ser um fator de risco independente para o desenvolvimento de câncer em qualquer das mamas (KENNEDY, 2003).

Na CR é importante biopsiar adequadamente, pois o câncer pode estar na periferia da lesão. A excisão cirúrgica, ao invés do seguimento, deve ser realizado se associado a outra lesão de alto risco, quando houver discordância anatomoradiológica, quando a lesão for palpável ou maior que 1 cm (COHEN; NEWELL, 2017; DONALDSON et al., 2016; RACZ; CARTER; DEGNIM, 2017).

2.6.6 Papiloma

Papiloma são projeções intraductais arborescentes, revestidos por células epiteliais e mioepiteliais, em um centro fibrovascular. A esclerose estromal com calcificações são relativamente comuns, podendo apresentar HDA, HLA, CLIS e CDIS no interior ou, mais comumente, na adjacência. A sua presença mostra um maior risco de lesão maligna no tecido circunjacente. Portanto, torna-se importante excisar amplamente tecidos circunjacentes quando se remove um papiloma. A IHQ tem se mostrado importante na identificação das lesões papilíferas benignas das lesões papilíferas malignas (CALHOUN, 2018). Com a introdução da biópsia a vácuo, e o uso rotineiro da IMQ, houve melhor avaliação das taxas de evolução para câncer do papiloma benigno (TATARIAN et al., 2016).

A vigilância é aceitável para papilomas incidentais menores que 2mm, com concordância anatomopatológica, e com lesão residual mínima ou nenhuma (CALHOUN; COLLINS, 2016; RACZ; CARTER; DEGNIM, 2017). A excisão, em papiloma benigno sem atipias, deve ser considerada se a idade da paciente for maior que 54 anos, se houver discordância anatomoradiológica, na presença de lesão palpável ou descarga papilar, no

câncer ipsilateral concomitante, no tamanho da lesão maior que 10-15 mm, na lesão residual significativa e na localização periférica (PAREJA et al., 2016; RACZ; CARTER; DEGNIM, 2017; SWAPP et al., 2013).

2.6.7 Mucocele-like

Mucocele-like são lesões com ductos dilatados preenchidos por mucina, podendo haver extrusão de mucina no estroma mamário. Geralmente adjacentes a um cisto com conteúdo mucinoso, são detectadas como uma massa ou calcificações presentes na mucina ou espaços císticos. São lesões relativamente incomuns e não há grandes séries com seguimento a longo prazo definindo risco de câncer associado a essas lesões.

A principal preocupação com essas lesões diagnosticadas por biopsia percutânea é a possibilidade de amostragem parcial de um carcinoma mucinoso (TAN; TSE; BAY, 2007). Estudos de literatura com biopsia percutânea fornecem dados conflitantes sobre a taxa de evolução para câncer. A taxa de evolução para câncer dessas lesões sem atipias pode ser menor que 1% (HA et al., 2015; PARK; KIM, 2014; SUTTON et al., 2012). Porém, alguns estudos combinados de mucocele-like, com e sem atipia, relataram taxa de 30% de evolução para câncer (CARDER; MURPHY; LISTON, 2004). Sendo assim, a recomendação é a excisão cirúrgica independente da presença de atipias epiteliais.

Em lesões mucocele-like, a evolução para câncer ocorre em 16% das lesões com atipias e 3% das lesões sem atipias. Portanto, há recomendação de vigilância clínico-radiológica das lesões sem atipias e com concordância anatomoradiológico (CALHOUN; COLLINS, 2016). A probabilidade de subestimação da malignidade pode ser maior em pacientes com massas palpáveis ou sintomáticas e com amostragem limitada por biopsia percutânea (BEGUM et al., 2009). Mas, provavelmente, pacientes com lesões mamárias benignas e com atipias tem sido submetidas a intervenções cirúrgicas desnecessárias, e a biópsia percutânea é impactante no diagnóstico (CALHOUN; COLLINS, 2016).

O patologista tem um papel limitado e crítico no diagnóstico das lesões de risco da mama, na aplicação precisa de critérios histológicos e terminologia diagnóstica, estratificando melhor o risco e manejo adequado das pacientes (CALHOUN; LIVASY, 2014). Desta forma, uma classificação uniforme e o relato de doença benigna da mama são necessários para melhor delinear a relação entre patologias específicas da doença benigna da mama e o aumento de risco para câncer de mama (FRIEDENREICH et al., 2000). Além disso, medidas uniformes de relatórios de estimativas de risco são necessárias para melhorar a clareza das

implicações para os médicos. Para este propósito, Elmore e Gigerenzer recomendam reportar os resultados em termos de risco absoluto em oposição ao risco relativo (ELMORE; GIGERENZER, 2005).

2.7 MODELOS PROPOSTOS DE PROGRESSÃO DO CÂNCER DE MAMA

Os subtipos ductal e lobular constituem a maioria de todos os cânceres de mama em todo o mundo, sendo o subtipo ductal responsável por 40-75% de todos os diagnósticos (HANBY; WALKER, 2004; RAKHA et al., 2006).

Observações epidemiológicas e morfológicas levaram à formulação de vários modelos lineares de iniciação, transformação e progressão do câncer de mama. Para o subtipo ductal, dois modelos foram propostos. O primeiro modelo “ductal”, apresentado por Wellings e colaboradores, reconhece atipias epiteliais planas, hiperplasia ductal atípica e carcinoma ductal *in situ* (CDIS) como precursores não-obrigatórios do carcinoma ductal invasivo e metastático (LERWILL, 2008). O segundo modelo “ductal”, apoiado por estudos epidemiológicos, propõe a hiperplasia ductal epitelial usual como um estágio intermediário de progressão entre a atipia epitelial plana e o carcinoma ductal *in situ* CDIS (DUPONT; PAGE, 1985; PAGE et al., 1985).

Imunohistoquímica e evidências moleculares sugerem fortemente que a hiperplasia ductal usual não é um precursor da hiperplasia ductal atípica, e que este segundo modelo de progressão é provavelmente inválido. Para o subtipo lobular, o esquema de progressão reconhece a hiperplasia lobular atípica e o carcinoma lobular *in situ* (LCIS) como lesões precursoras não-obrigatórias ao carcinoma lobular invasivo (KUSAMA et al., 2000).

2.8 A CÉLULA DE ORIGEM DO CÂNCER DE MAMA: AS HIPÓTESES CLONAL E DE CÉLULAS-TRONCO

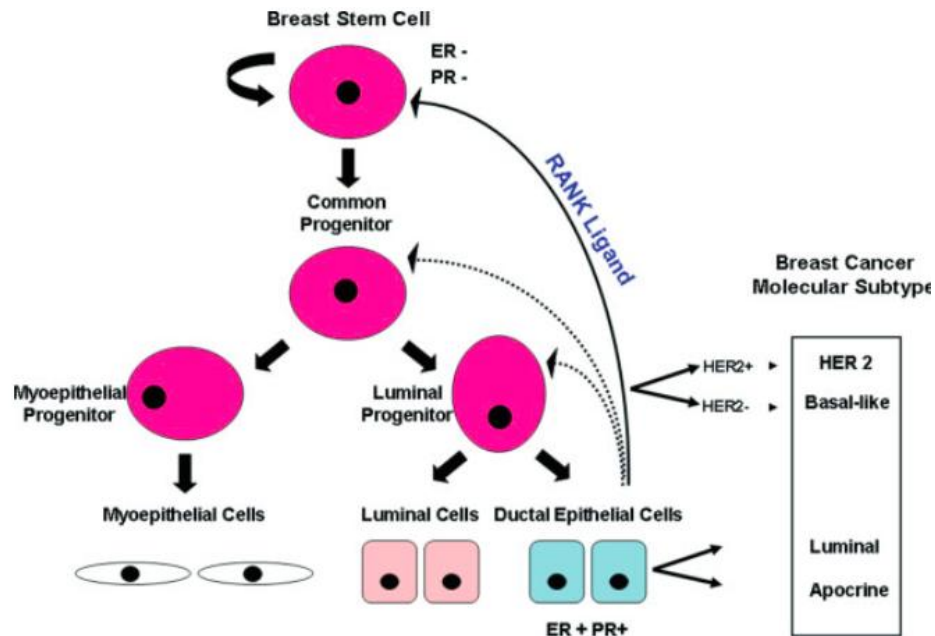
A origem celular do câncer mamário pode ser explicada pelo modelo de evolução clonal esporádica, no qual qualquer célula mamária pode ser alvo de mutações aleatórias. As células com alterações genéticas e epigenéticas são selecionadas ao longo do tempo. O modelo alternativo postula que apenas células-tronco (CSC) e progenitoras, as quais representam uma fração pequena de células tumorais dentro do câncer, podem iniciar e manter a progressão do tumor. Contudo, um terceiro modelo postula que as células-tronco podem sofrer evolução clonal. Sendo assim, haveria uma ligação dinâmica entre os três modelos (BARABE et al., 2007; CLARKE et al., 2006; REYA et al., 2001).

As células-tronco normais da mama têm a capacidade de autorenovação e diferenciação podendo assim repetir a arquitetura túbulo-lobular com suas células lumbais e mioepiteliais (VILLADSEN et al., 2007). Essas células são identificadas por suas características imunofenotípicas e funcionais, não expressando moléculas de adesão epitelial, hematopoiético, endotelial, receptores de estrógeno ou progesterona. Representam uma pequena fração de células da glândula mamária (1:2000 células), estão presentes nos ductos e cercadas por células progenitoras (GUDJONSSON, 2002; PECE et al., 2010; VILLADSEN et al., 2007).

As células-tronco da mama permanecem no tecido por períodos longos e, deste modo, tem sido proposto que sejam candidatas a sofrer modificações genéticas e epigenéticas, levando à desregulação da capacidade de autorenovação celular e o desenvolvimento de uma célula-tronco do câncer. Esta, seria capaz de se manter através de divisão assimétrica, se diferenciando em células progenitoras comprometidas e dando origem aos diferentes subtipos de câncer mamário (Figura 6) (DONTU et al., 2003; REYA et al., 2001; TU; LIN; LOGOTHETIS, 2002). As células-tronco e progenitoras apresentam plasticidade durante a tumorigênese, interferindo no fenótipo tumoral final (MOLYNEUX et al., 2010).

Na figura 6, verificamos o desenvolvimento epitelial mamário normal, possíveis ligações com as células iniciadoras dos diferentes subtipos moleculares, e papel dos hormônios esteroides no controle das células tronco mamárias (BSC) e progenitoras. BSC tem potencial de autorenovação intrínseco (seta preta curva) se diferencia em um progenitor comum, progenitores mioepiteliais e lumbais comprometidos, e em células epiteliais mioepiteliais, luminal e ductal (lado esquerdo). As subpopulações de células normais mostram assinaturas gênicas similares àquelas dos subtipos moleculares de câncer descritos anteriormente (lado direito), fornecendo evidências de um link (setas em negrito) entre os dois. A subpopulação progenitora luminal é enriquecida nos cânceres HER2 (HER2+) e basais (HER2-), subtipo luminal (A/B) apresenta subpopulação de células epiteliais ductais diferenciadas. BSC e subpopulações de células progenitoras são indiretamente responsivas à sinalização de hormônios esteroides, mesmo em (ER- e PR-). Durante o ciclo reprodutivo e a gravidez, a progesterona estimula as células epiteliais ductais diferenciadas a liberar o ligante RANK, que induz a expansão BSC via sinalização parácrina.

Figura 6 - Desenvolvimento epitelial mamário normal, possíveis ligações com as células iniciadoras dos diferentes subtipos moleculares, e papel dos hormônios esteroides no controle das células tronco mamárias (BSC) e progenitoras.



Fonte: Adaptado de (BOMBONATI; SGROI, 2011)

2.9 BIOMARCADORES MOLECULARES EM DOENÇAS BENÍGNAS MAMÁRIAS E NO CÂNCER DE MAMA

Biomarcador, que teve seu conceito expandido desde 2017, é uma característica molecular, histológica, radiológica ou fisiológica medida como um indicador de processos biológicos normais e patogênicos ou resposta a uma exposição ou intervenção (O'CONNOR et al., 2017). Essa abordagem esclarece a inconsistência na terminologia, que restringia o biomarcador à descrição de moléculas biológicas.

Biomarcadores prognósticos desempenham um papel importante na pesquisa médica, na avaliação do prognóstico e no tratamento dos pacientes. A validação de um potencial biomarcador requer uma longa abordagem baseada em evidências que requer vários estudos individuais (SAUERBREI et al., 2006). Aplicados na detecção do câncer, os biomarcadores podem ser usados para tomada de decisão no tratamento. Novas terapias, visando receptores tirosina quinase ou oncogênes ativados, têm sido promissoras em alguns casos. Portanto, a análise de mutações de oncogênes relevantes é necessária para encontrar pacientes que se

beneficiam desses tipos de terapias (GHAFOURI-FARD; NEKOOHESH; MOTEVASELI, 2014).

Em todo o mundo, quase 80% de todos os cânceres de mama invasivos ou pré-invasivos diagnosticados são do subtipo ductal. Na última década, a biologia do câncer mamário tem sido bastante estudada, no que se refere a genômica e transcriptômica (expressão gênica). Esses dados gerados servem como ponto de referência lógica para discussão subsequente da análise molecular nos estágios pré-invasivos da progressão do câncer mamário (BOMBONATI; SGROI, 2011). Mas os médicos buscam informações sobre marcadores tumorais que impactem nas decisões terapêuticas, e que possa distinguir subconjuntos de pacientes (DOUGLAS G. ALTMAN, LISA M. MCSHANE, WILLI SAUERBREI, 2012).

O câncer invasivo de mama tem natureza heterogênea histomorfológica e clínica. Os primeiros estudos moleculares que contribuíram para entendimento da progressão do câncer de mama, focaram a comparação entre as alterações genômicas e o grau tumoral (RAKHA et al., 2010). POSSO e colaboradores (2017) identificaram alta expressão de ER e PR na doença benigna mamária e associou ao aumento do risco de câncer de mama. Esse risco aumentado não foi demonstrado para o subconjunto de doenças não proliferativas ou proliferativas, porém uma tendência em ambos os grupos poderá ser confirmada em estudos maiores. Em mulheres com doenças proliferativas, o marcador Ki-67 pode estar associado a um risco aumentado. Essa informação é útil para melhor caracterizar a doença benigna mamária, sendo um passo em direção a possibilidade de personalizar o manejo clínico dessas mulheres.

Até o momento, nenhum biomarcador foi claramente estabelecido para prever o câncer em mulheres diagnosticadas com doença benigna mamária. Desta forma, a identificação desses biomarcadores poderia melhorar a capacidade de estratificar o risco individual de desenvolvimento de câncer de mama a partir das lesões benignas, o que poderia levar a um acompanhamento mais preciso ou a estratégias de rastreamento mais eficientes.

2.9.1 Receptor Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas A (PDGFRA)

O fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) é uma proteína catiônica com cadeias polipeptídicas homo e heterodímeras, armazenado principalmente nos grânulos plaquetários. Exerce seus efeitos sobre as células alvo pela ativação de receptores.

Existem dois genes PDGFR (PDGFRA e PDGFRB), que residem no cromossomo 4 e 5 em humanos, respectivamente (KAZLAUSKAS, 2017). Codificam uma proteína transmembrana com um sítio de ligação extracelular aos ligantes fatores de crescimento

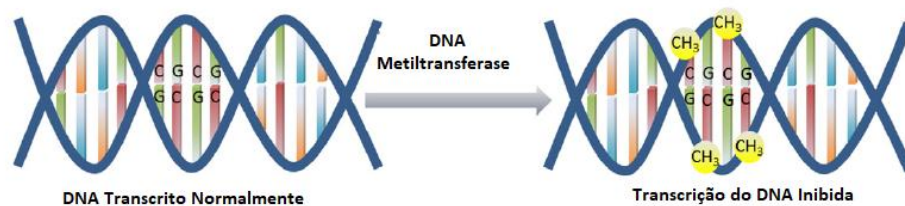
O papel do PDGFA em oncogênese, angiogênese e metástases tumorais é bem conhecido e a ativação excessiva de receptores de PDGFRA é encontrada em alguns tipos de câncer (ZHOU; PAPENHAUSEN; SHAO, 2015), mas pouco se sabe sobre o papel do PDGFRA na calcificação mamária.

2.9.2 Dnmts (DNA metiltransferases)

Além da desregulação da expressão gênica, outra via tem sido relacionada ao câncer de mama, dentre eles está a epigenética. A metilação do DNA é um mecanismo de modificação epigenética envolvido na programação de expressão gênica e que pode promover desenvolvimento de vários tipos de câncer, incluindo mama. A metilação do DNA ocorre na posição do carbono 5 dos resíduos de citosina, habitualmente nas sequências de dinucleotídeos CpG (citosina-fosfato-guanina) e inibe a transcrição gênica (Figura 8).

Na figura 8, segue o esquema descritivo da metilação do DNA. O processo de metilação do DNA é mediado por uma família de enzimas conhecidas como DNA metiltransferases, que adicionam um CH₃ (grupo metil) na posição carbono-5 das sequências de CpG. A adição dos grupos metila inibe a transcrição do DNA e pode levar ao silenciamento de vários genes.

Figura 8 - Esquema descritivo da metilação do DNA



Fonte: Adaptado de SMITH et al., 2017)

A metilação aberrante do DNA é uma modificação química covalente do DNA e tem efeito sobre a expressão do gene inteiro. Essa expressão gênica alterada leva a mudanças acumuladas abrindo caminho tumorigênese (SANTOS-REBOUÇAS; PIMENTEL, 2007).

O processo de metilação do DNA é regulado por uma família de enzimas conhecidas como DNMTs (DNA metiltransferases), que consiste em DNMT1, DNMT3a e DNMT3b (SARKAR et al., 2013b).

A proteína DNMT1 é localizada nos focos de replicação durante fase S, e promove a metilação das cadeias recém-sintetizadas antes do empacotamento da cromatina. Esta enzima

é responsável pelo padrão de metilação durante a replicação, e a superexpressão desta enzima está associada à transformação celular, enquanto níveis reduzidos parece estar associado a um efeito protetor (KAR et al., 2012). Já as DNMT3a e DNMT3b permitem atividade de metilação do DNA *de novo in vitro* sem distinção entre DNA não-metilado e hemimetilado. A DNMT1 mantém a metilação apropriada entre as divisões celulares, enquanto a DNMT3a e a DNMT3b controlam a metilação de novo durante a embriogênese (SARKAR et al., 2013b). Os níveis de todos os três DNMTs mostram-se regulados positivamente nas células cancerígenas em comparação com as células normais (XIE et al., 1999).

As ilhas de CpG são associadas aos promotores de genes amplamente expressos, é reversível e modifica a atividade transcricional de genes de proliferação ou fatores de transcrição envolvidos na supressão ou promoção crescimento celular (POULIOT et al., 2015). Em mapeamento genômico, foi confirmado que 5-10% dessas CpG são anormalmente metiladas em genomas de câncer, tendo sido implicadas no silenciamento de múltiplos genes supressores de tumor, de crescimento celular, angiogênese e reparo DNA (DAWSON; KOUZARIDES, 2012).

O perfil de metilação do DNA dentro e fora das ilhas de CpG de certos genes tem sido associado ao risco de câncer de mama. Vários marcadores epigenéticos promissores para detecção precoce de câncer de mama tem sido identificado, usando amostras de sangue em pacientes com câncer de mama e comparando com grupo controle. Kloten et al avaliou estado de metilação de um painel de TSGs (secreted frizzled related protein) células circulantes do DNA e concluiu que as ilhas DKK3 e ITIH5 CpG não estariam metiladas em mulheres com doenças benigna e hipermetiladas nas de câncer sugerindo que a metilação do promotor dessas ilhas poderia ser usado como biomarcador (KLOTEN et al., 2013).

A metilação de DNA é considerada um marcador estável e duradouro do estado molecular e predisposição ao câncer de uma célula. A mudança epigenética ocorre no início do processo de carcinogênese da mama e o perfil de metilação representa até certo ponto o *background* genético dos indivíduos. Portanto, todas essas informações apoiam a noção de que avaliação do perfil de metilação em fluidos corporais pode ser promissor para identificar mulheres com predisposição ao câncer de mama. Testes baseados em exame de sangue são mais conveniente e econômico em comparação a mamografia e a ressonância magnética. Desta forma, biomarcadores de alta sensibilidade e especificidade poderiam ser detectados em fluidos corporais, tornando assim o teste de detecção mais fácil e econômico. Padrões de metilação do DNA são modificações iniciais no desenvolvimento do câncer e podem ser

úteis para detecção precoce. No entanto, nenhum biomarcador de metilação específico foi validado para uso clínico (POULIOT et al., 2015)(YANG et al., 2015).

Apesar da importância das DNMTs no câncer de mama, pouco se sabe sobre o perfil destas enzimas na calcificação mamária.

3 OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar o perfil das mulheres portadoras de microcalcificação mamária BI-RADS® IV e V e avaliar os níveis de expressão gênica de possíveis marcadores moleculares.

Objetivos específicos

- Determinar o perfil epidemiológico e clínico das mulheres portadoras de microcalcificação atendidas no Hospital Barão de Lucena – PE.
- Determinar o perfil de expressão gênica de PDGFRA e DNMT3a nas mulheres portadoras de calcificação mamária e comparar com os níveis observados em um grupo de pacientes portadores de câncer de mama.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 POPULAÇÃO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo de caso-controle com mulheres atendidas no ambulatório de mastologia do Hospital Barão de Lucena (Pernambuco-Brasil) no período de novembro de 2013 à janeiro 2018. Um total de 63 pacientes foi incluído na pesquisa, sendo 37 com microcalcificações mamárias e 26 pacientes com câncer de mama (grupo controle) atendidas no mesmo período e selecionadas aleatoriamente. Foi aplicado um questionário sociodemográfico nas voluntárias e coletados dados de prontuário das mesmas. O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco- Plataforma Brasil (Ministério da Saúde) CAAE: 45209814.1.0000.5208 e CAAE: 47869315 0 00005208.

4.2 COLETA DE AMOSTRAS

Para análise do tecido mamário com microcalcificação, foram utilizados blocos de parafina provenientes do Laboratório Luciana Gurgel-Histopatologia e Imunohistoquímica de pacientes atendidas no ambulatório de mastologia do Hospital Barão de Lucena (Pernambuco-Brasil). Amostras de tecido fresco mamário de pacientes com câncer de mama foram coletadas em tubos com RNAlater, no centro cirúrgico do Hospital Barão de Lucena (Pernambuco-Brasil) e utilizadas como controle.

4.3 EXTRAÇÃO DO RNA E SÍNTESE DE CDNA

O RNA do tecido mamário parafinado foi extraído através do kit comercial ReliaPrep™ FFPE gDNA Miniprep System-Promega Corporation (Winsconsin, EUA) e do tecido fresco o RNA foi extraído através do kit comercial RNeasy Mini Kit-QIAGEN (Hilden, Alemanha). Em seguida foi realizada a síntese de cDNA por transcriptase reversa com o QuantiTect Reverse Transcription Kit-QIAGEN (Hilden, Alemanha). Os materiais extraídos foram armazenados a -80°C até a análise. O ácido nucléico eluído foi quantificado em NanoDrop ND-2000 NanoDroptecnologias- Thermo Fisher Scientific (Delaware, EUA) antes de ser utilizado nos testes moleculares.

4.4 ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA

Foi realizada análise da expressão dos genes PDGFRA, DNMT1 e DNMT3a com os seguintes primers, Hs.PT.58.45767299 (NM_006206), Hs.PT.58.26094100 (NM_001379) e Hs.PT.58.4543699 (NM_022552) da IDT (Integrated DNA Technologies, respectivamente. O StepOnePlus™ Real-Time PCR System- Thermo Fisher Scientific (Massachusetts, EUA) foi utilizado para a quantificação da expressão gênica. Para verificar possíveis variações na expressão relativa dos genes alvo e genes constitutivos (β -actina) foi aplicado o método $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise dos dados foi construído um banco na planilha eletrônica Microsoft Excel a qual foi exportada para o software SPSS, versão 18, onde foi realizada a análise. Para avaliar o perfil dos pacientes avaliados, as características cirúrgicas e de desfecho, foram calculadas as frequências percentuais e construídas as respectivas distribuições de frequência. Para comparar os percentuais encontrados nos níveis dos fatores avaliados, foi aplicado o teste Qui-quadrado para comparação de proporção. Todas as conclusões foram tiradas considerando o nível de significância de 5%. O gráfico de correlação dos dados de expressão gênica entre o grupo de pacientes com microcalcificações e o grupo controle foi realizado através do software GraphdPad Prism 7.0a.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES CLÍNICO-RADIOLÓGICAS E CIRÚRGICAS

O estudo foi prospectivo e a demanda espontânea, aos subgrupos BI-RADS® 4 e 5. Um total de 37 pacientes foram inseridas no presente estudo no período de novembro de 2013 a janeiro 2018. A média de idade das pacientes foi de 55,9 anos, sendo a paciente mais nova de 42 anos e a mais velha de 80 anos. Cerca de 70,3% das pacientes se autodeclararam brancas, 46% moram fora da cidade de Recife e da Região metropolitana, 62% são casadas, e 54,1% tem ensino fundamental completo. O teste de comparação de proporção foi significativo apenas para etnia e escolaridade (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição do perfil pessoal dos pacientes avaliados

Variáveis	n	%	p-valor
Etnia			
Branca	26	70,3	0,014
Morena	11	29,7	
Município			
Recife	10	27,0	0,266
RM do Recife	10	27,0	
Outros	17	46,0	
Estado civil			
Casado	23	62,2	0,139
Solteiro	14	37,8	
Escolaridade			
Analfabeto	2	5,4	<0,001
Fundamental	20	54,1	
Médio	11	29,7	
Superior	4	10,8	

¹p-valor do teste Qui-quadrado para comparação de proporção. DP = Desvio padrão.

Fonte: Resultado da pesquisa.

Na Tabela 3, observamos a distribuição de hábitos na qual a maioria é não-fumantes (62%) e não consomem bebida alcoólica (89,2%). O consumo de álcool por mulheres é consistentemente associado ao risco de câncer de mama, tanto na pré quanto nos pós-menopausa. A mama parece ser um órgão mais susceptível aos efeitos carcinógenos do álcool,

e a exposição em idade precoce podem afetar o risco de câncer de mama ao longo da vida (LIU; NGUYEN; COLDITZ, 2015). No presente estudo, o teste de comparação de proporção foi significativo para o etilismo, o álcool pode não ser um fator de risco para microcalcificação, uma vez que a maioria das pacientes segue um estilo de vida mais saudável em relação ao uso de álcool.

Tabela 3 - Distribuição dos hábitos entre as pacientes

Variável	n	%	p-valor ¹
Tabagismo			
Sim	14	37,8	0,139
Não	23	62,2	
Etilismo			
Sim	4	10,8	<0,001
Não	33	89,2	

Fonte: Resultado da pesquisa.

Estudos sugerem que o consumo de álcool durante a adolescência e início da idade adulta pode ter efeito adverso maior sobre o risco de doença proliferativa mamária (BERKEY et al., 2012; LIU et al., 2012). Pelo presente estudo, podemos apenas sugerir que as pacientes que não fazem uso de álcool teriam menor risco de evolução do quadro de microcalcificação para câncer.

Na Tabela 4, observa-se que a maioria das mulheres gestaram (86,5%) e amamentaram (81,3%). Nos dois fatores avaliados o teste de comparação foi significativo, indicando que o perfil descrito é relevantemente maior no grupo em estudo.

Tabela 4 - Distribuição dos fatores relacionados a paridade e amamentação

Variável	n	%	p-valor ¹
Filhos			
Sim	32	86,5	<0,001
Não	5	13,5	
Amamentação			
Sim	26	81,3	<0,001
Não	6	18,7	

¹p-valor do teste Qui-quadrado para comparação de proporção

Fonte: Resultado da pesquisa.

Na gravidez e lactação podem ocorrer calcificações que habitualmente são redondas, focais e difusas e raramente de distribuição linear e irregular, representando hiperplasia com proliferação acinar lobular (YU et al., 2013). Para presente estudo não está claro se as microcalcificações das pacientes avaliadas estão associadas a amamentação prévia, no qual as influências hormonais são específicas daquele período.

A tabela 5 temos a análise descritiva dos fatores quantitativos do estudo. Verifica-se que, em média, as pacientes possuem idade da menarca aos 13 anos, primeira gestação com 23,1 anos; sendo, aproximadamente, a experiência materna repetida por mais duas vezes. Ainda, observa-se que as mães amamentam por 14,8 meses e costumam repetir a amamentação no segundo filho.

Tabela 5 - Análise descritiva dos fatores relacionados a menarca, gestação e amamentação

Variável	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
Idade da menarca	9,0	17,0	13,0	1,8
Idade da primeira gestação	14,0	37,0	23,1	5,5
Nº filhos	1,0	9,0	2,8	1,6
Tempo de amamentação (meses)	1,0	36,0	14,8	13,7
Número de filhos amamentados	1,0	5,0	2,2	1,1

Fonte: Resultado da pesquisa.

Parece haver um período crítico de aumento de vulnerabilidade biológica após a menarca no qual o tecido mamário sofre proliferação rápida até o período de conclusão da primeira gestação, aonde ocorre múltiplas alterações biológicas e tornam as células mioepiteliais resistentes à malignização (MEIER-ABT et al., 2013).

Estudos iniciais demonstravam não haver associação de menarca precoce, multiparidade e amamentação com doenças benignas mamárias (GOEHRING; MORABIA, 1997). No entanto, observa-se que a menarca abaixo de 12 anos aumenta risco para câncer de mama e doenças proliferativas mamárias, provavelmente devido a exposição maior de estrógeno e progesterona, e proliferação de células que desencadeiam a promoção da carcinogênese (LOPES et al., 2016). No presente estudo, a média de idade da menarca está um pouco acima do que parece ser uma idade de risco para o câncer de mama.

Em relação as microcalcificações é possível observar a maioria de BI-RADS® 4 (67,6%), sendo 10,8% deste grupo caracterizado em subgrupos do BI-RADS® (Tabela 6).

Desta forma, é possível observar que não faz parte da rotina radiológica a subclassificação da categoria BI-RADS® 4. O teste de comparação de proporção foi significativo (p -valor<0,05), indicando a quantidade de pacientes com classificação de BI-RADS® 4 é relevantemente maior.

Tabela 6 - Distribuição dos pacientes segundo a classificação do BI-RADS®

Classificação BI-RADS®	n	%	p-valor¹
Cinco	8	21,6	<0,001
Quatro	25	67,6	
Quatro (Subgrupos)	4	10,8	

¹p-valor do teste Qui-quadrado para comparação de proporção.

O VPP para câncer do BI-RADS® 4A é maior que 2% e menor ou igual a 10%, BI-RADS® 4B maior que 10% e menor ou igual a 50%, e BI-RADS® 4C é maior que 50% e menor que 95% (BITENCOURT, 2016). Das quatro pacientes subclassificadas verificou-se que duas se tratavam de BI-RADS® 4B e histologia de CDIS, e uma paciente apresentou BI-RADS® 4A e histologia com lesão esclerosante complexa com cicatriz radial. Uma paciente apresentou BI-RADS® 4C e histologia de alterações fibroadenomatóides e ectasia ductal, demonstrando uma discordância do achado anatomoradiológico em relação ao histológico, que só pôde ser avaliado utilizando a subclassificação. Este fato demonstra a importância da subclassificação do BI-RADS® 4 para o direcionamento da conduta clínica.

Das oito pacientes classificadas como BI-RADS® 5, quatro tiveram diagnóstico histológico de CDIS, enquanto que quatro pacientes apresentaram alterações histológicas diversas, sendo microcalcificação intraductal, hiperplasia ductal atípica, infiltração adiposa mamária e alterações fibrocísticas, respectivamente. Tendo em vista que o VPP para câncer de mama no BI-RADS® 5 é maior 95%, houve discordância anatomoradiológico em 50% das pacientes diagnosticadas como BI-RADS® 5.

A subclassificação depende muito da experiência do radiologista e tornasse mais difícil se as lesões são pequenas (ELVERICI et al., 2015). Portanto regras de subclassificação objetivas e claras e seu uso na rotina diagnóstica são necessárias para diagnóstico mais preciso e melhor correlação anatomoradiológico assim como para avaliar quem realmente terá um risco futuro para câncer. Evitando desse modo ressecções cirúrgicas desnecessárias.

Na Tabela 7 temos a distribuição da classificação histopatológica. Foi constatado que a maioria das pacientes apresentaram lesão não-proliferativa (56%), seguido do grupo com CDIS (24,3 %) e lesões proliferativas (18,9%). Das lesões proliferativas somente duas

pacientes tinham hiperplasia ductal atípica. Dos 9 CDIS diagnosticados quatro casos foram radiologicamente identificados como BI-RADS® 5, dois como BI-RADS® 4B e três como BI-RADS® 4 sem subclassificação. A literatura refere que o achado mais frequente de CDIS é microcalcificação e que conforme a morfologia, tamanho e distribuição das microcalcificações, maior a probabilidade de malignidade (HENROT et al., 2014; LEE et al., 2012). Os dados histológicos do presente estudo são similares com o da literatura.

Tabela 7 - Distribuição da classificação histopatológica

Histopatológico	n	%	p-valor
Carcinoma <i>in situ</i>	9	24,3	0,010
Lesão não proliferativa	21	56,8	
Lesão proliferativa	7	18,9	
<i>Com atipia</i>	2	-	
<i>Sem atipia</i>	5	-	

Fonte: Resultado da pesquisa.

A taxa relevante de lesão não proliferativa 56,8% é concordante com a literatura (CASTELLS et al., 2015). No presente estudo, as pacientes foram submetidas a ressecções cirúrgicas como única opção de investigação diagnóstica para microcalcificações BI-RADS® 4 e 5 oferecida por este hospital do SUS (Sistema Único de Saúde). No entanto, estudos indicam que a mastectomia para esse grupo teria sido opção menos invasiva, de boa acurácia, menos complicações como cicatrizes mamárias e acima de tudo teria evitado ansiedade dessas mulheres para procedimentos cirúrgicos (JIANG et al., 2013).

Através da avaliação molecular dos CDIS verifica-se que 100% são RE e RP positivos, 71,4% HER2 negativo e 57,1 % tem Ki-67 ≤ 20% caracterizando CDIS baixo grau (Tabela 8). Estudo com 4232 mulheres rastreadas demonstrou taxa de CDIS de baixo de 17,7% para baixo grau, 31,4% para grau intermediário e 50,9% para alto grau, sendo quanto maior a idade maior chance do CDIS ser de baixo grau (VAN LUIJT et al., 2016). No presente estudo, apesar do número de CDIS ser pequeno para análise estatística comparativa, todas as pacientes com CDIS foram de baixo grau com média de idade do grupo de 58,8 anos. Estes dados são concordantes com a literatura que refere que quanto maior a idade maior probabilidade de ser CDIS de baixo grau. Além disso, estas pacientes com microcalcificações BI-RADS® 4 e 5 não tinham massa palpável ou densidades mamárias o que, pela literatura, aumenta a probabilidade de ser CDIS de baixo grau.

Tabela 8 - Perfil histológico e imunohistoquímico do grupo de pacientes com CDIS

	Positivo	Negativo	Indeterminado	≤ 20%	>20%
Foco de invasão	2 (22,2%)	7 (77,8%)	-	-	-
IHQ	7 (77,8%)	2 (22,2%)	-	-	-
RE/RP	7 (100%)	-	-	-	-
HER2	1 (14,3%)	5 (71,4%)	1 (14,3%)	-	-
Ki-67	7 (77,8%)	2 (22,2%)	-	4 (57,1%)	3 (42,9%)

Fonte: Resultado da pesquisa.

Na Tabela 9 vemos a distribuição das características da cirurgia realizada. Verifica-se que a maioria dos pacientes foi submetida à cirurgia de setorectomia (94,6%), na mama esquerda (62,2%) e na parte superior lateral (59,5%). O teste de comparação de proporção foi significativo em todos os fatores avaliados (p-valor menor do que 0,05), indicando que o perfil descrito é relevantemente o mais presente no grupo de pacientes avaliados.

Tabela 9 - Distribuição das características da cirurgia e localização da lesão

	N	%	p-valor
Tipo de cirurgia			
Mastectomia	2	5,4	
Setorectomia	35	94,6	< 0,001
Localização			
Direta e Esquerda	1	2,7	
Direita	13	35,1	
Esquerda	23	62,2	< 0,001
Quadrante afetado			
Central	1	2,7	
Inferior lateral	3	8,1	
Inferior medial	8	21,6	
Retroareolar	1	2,7	
Superior lateral	22	59,5	<0,001
Superior medial	1	2,7	
Superior medial e lateral	1	2,7	

Fonte: Resultado da pesquisa.

No presente estudo as pacientes com microcalcificações BI-RADS® 4 e 5 foram submetidas a conduta cirúrgica de setorectomia por agulhamento mamográfico prévio, que consiste de ressecção de segmento mamário. Não houve investigação diagnóstica prévia seja por biópsia percutânea ou mamotomia. Estes dados são concordantes com a literatura no que se refere a mama acometida e quadrante afetado (KANE et al., 2017). No entanto, este procedimento cirúrgico adotado não está alinhado com as condutas descritas na literatura (LEE et al., 2012).

Na tabela 10, se observa que a maior parte das pacientes não possui histórico familiar de câncer (83,8%) e no seguimento teve seus exames de Mamografia e USG mamas normais (81,1%).

Tabela 10 - Antecedentes familiares e seguimento radiológico

Variável	N	%	p-valor ¹
História familiar			
Sim	5	13,5	< 0,001
Não	31	83,8	
Não sabe	1	2,7	
Segmento e exames radiológicos			
Sim	31	83,8	< 0,001
Não	6	16,2	
Exames controle normais	30	81,1	
Reintervenção	1	2,7	

¹p-valor do teste Qui-quadrado para comparação de proporção.

Fonte: Resultado da pesquisa.

O papel da história familiar de câncer de mama entre mulheres com categorias diferentes de doença benigna da mama permanece controverso. Um estudo refere que o risco é aumentado para todas categorias (ZHOU et al., 2011) e a história familiar, mesmo em doença proliferativa com atipia, parece não aumentar o risco (DEGNIM et al., 2007). Em contrapartida, a história familiar eleva somente o risco em lesões benignas de risco pré-existente (AKSU; KURSTIN; SIDAWY, 1997). No presente estudo, a história familiar não foi fator de risco.

A recomendação do rastreamento mamográfico em mulheres com doença não-proliferativa e doença proliferativa sem atipia é semelhante a mulheres com mamografias negativas (CASTELLS et al., 2015). Pacientes desse estudo foram reavaliadas anualmente após o procedimento cirúrgico. Uma paciente apresentou recidiva da microcalcificação, com diagnóstico radiológico de BI-RADS® 4, e foi submetida a nova intervenção cirúrgica por ter

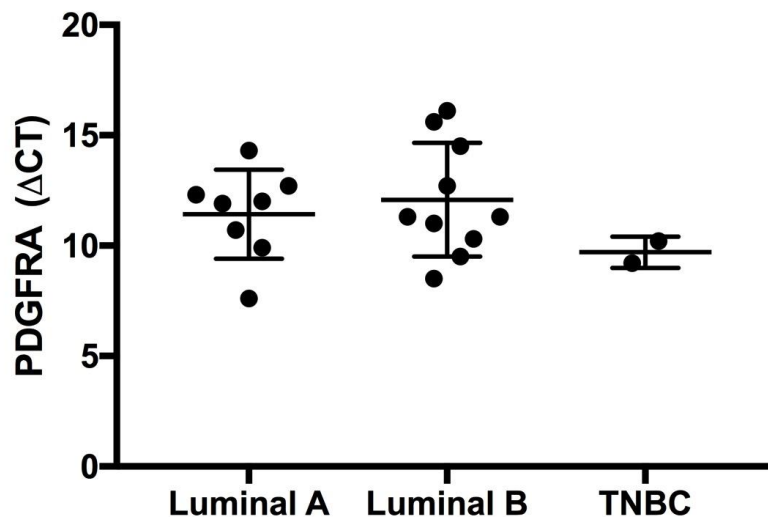
diagnóstico anterior de CDIS. O resultado histológico da reintervenção foi de doença não-proliferativa mamária.

5.2 ANÁLISES DE EXPRESSÃO GÊNICA

A expressão do gene PDGFRA foi avaliada em amostras de tecido mamário parafinado obtido de mulheres portadoras de microcalcificação. Dentre as 37 amostras avaliadas, duas não apresentaram qualidade do material para análise de expressão gênica.

Nas amostras de parafina testadas, não foi observado a expressão de PDGFRA, diferentemente do observado para as amostras de câncer de mama (Figura 9).

Figura 9 - Expressão de PDGFRA nas amostras analisadas



Fonte: O autor.

Os carcinomas de mama expressam PDGFRA, entretanto há poucos estudos sobre os receptores de PDGF nas neoplasias mamárias, sendo estes normalmente relacionados à PDGFRB (COLTRERA et al., 1995). O PDGFRA é expresso em carcinomas invasivos de mama e está associado a agressividade biológica (CARVALHO et al., 2005). A ausência de expressão do gene PDGFRA nestas amostras de calcificação mamária sugere que estas lesões não apresentam desregulação molecular do PDGFRA características do câncer de mama. Desta forma, as calcificações mamárias não teriam potencial para evoluírem no desenvolvimento de câncer de mama.

A análise dos genes DNMT1 e DNMT3a, envolvidos nos processos de metilação do DNA, revelou um perfil diferente do observado nos cânceres de mama luminal e triplo

negativo. O gene DNMT1 não apresentou expressão nas amostras de calcificação, no entanto para o gene DNMT3a, dentre os 37 pacientes com microcalcificação avaliados no presente estudo, 15 pacientes apresentaram expressão. Nas demais pacientes, não houve expressão de DNMT3a (Tabela 11).

A análise dos perfis de expressão do DNMT3a foi realizada em relação aos dois tipos de câncer mais comuns, triplo negativo e luminal. Utilizando a média de expressão de DNMT3a apresentada em amostras de tecido mamário destes dois cânceres é possível observar que o nível de expressão do DNMT3a está *upregulated* quando comparado aos pacientes com câncer de mama do tipo Luminal. No entanto, a comparação dos níveis de expressão levando em consideração a média de expressão encontrada em pacientes com tumor triplo negativo foi mais discreta e menos consistente, estando *downregulated* em seis dos 15 pacientes que apresentaram expressão do gene DNMT3a.

Na tabela 11, são os resultados da expressão de DNMT3a nas amostras analisadas. Valores acima de 1 indicam que o gene está hiperexpresso, enquanto que valores abaixo de 1 indicam que o gene está hipoexpresso.

Tabela 11 - Resultados da expressão de DNMT3a nas amostras analisadas

	Níveis de expressão de DNMT3a ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	
Paciente	Em relação à câncer Triplo Negativo	Em relação à câncer Luminal
3R	0,81	20,53
5R	0,01	0,39
6R	0,32	8,33
7R	32,0	809
8R	0,28	7,26
9R	0,2	5,13
16R	0,04	1,19
23R	3,24	82,13
31R	25,99	657,11
32R	1,07	27,09
34R	12,99	328,55
35R	9,84	248,99
36R	2,29	58,08
37R	4,0	101,12
17A	1,86	47,17

Fonte: Resultado da pesquisa.

Estabelecendo uma correlação com os achados radiológicos, quatro pacientes foram classificadas BI-RADS[®] 5 e onze BI-RADS[®] 4. Observa-se que das oito pacientes classificadas como BI-RADS[®] 5, quatro tinham aumento de expressão do DNMT3a. Com relação a classificação histológica, das nove pacientes com histologia de CDIS, a expressão de DNMT3a estava elevada em três. Dentre as 21 pacientes com lesão não proliferativa, nove pacientes mostraram expressão elevada de DNMT3a; e dentre as sete lesões consideradas proliferativas, três tiveram o aumento na expressão do mesmo gene. Foi observado que as duas pacientes com hiperplasia ductal atípica (lesão proliferativa) tinham aumento expressão de DNMT3a.

DNMT1 parece estar mais expressa em câncer de mama, assim como a DNMT3a (SUBRAMANIAM et al., 2014). Elevados níveis DNMT3a parecem contribuir para o silenciamento de alguns genes supressores de tumor durante tumorigênese, mas também parecem manter os níveis normais de metilação do DNA (CHEN; CHAN, 2014). Em estudo realizado com pacientes de câncer de mama atendidas em hospital de Nova Delhi (Índia), observou-se aumento da expressão das DNMT1, 3a e 3b, com destaque para a DNMT3a devido ao maior nível de expressão encontrado dentre os três testados (MIRZA et al., 2013). Por outro lado, estudo realizados com pacientes portadores de câncer de mama esporádico demonstrou que a DNMT3a foi a menos expressa dentre os três genes testados (GIRAULT; LIDEREAU; BIE, 2003). Análises *in vitro* e *in vivo*, demonstraram que a DNMT3a atua metilando e silenciando o gene HIF-2 α gene em células diferenciadas, o que limitaria a capacidade de proliferação da célula tumoral em baixas condições de oxigênio (LACHANCE et al., 2014), e atribuiria um efeito protetor à esta molécula.

Os genes DNMT1, DNMT3a codificam DNMTs, afetam status de metilação do promotor e desempenham papel importante no desenvolvimento de cânceres. No entanto pouco se sabe sobre o significado biológico e clínico desses genes no câncer de mama (GIRAULT; LIDEREAU; BIE, 2003). As contradições da literatura demonstram que ainda não está claro o papel da DNMT3a no câncer.

O presente estudo pode contribuir para a ampliação do conhecimento à cerca desta da DNMT3a, uma vez que não foram encontrados estudos sobre o perfil de expressão das DNMT1 e DNMT3a em amostras de calcificação mamária. A expressão aumentada de DNMT3a nas microcalcificações no presente estudo, gera perspectiva futura de identificar subexpressão de genes alvos específicos.

6 CONCLUSÃO

Com base na metodologia empregada e nos dados obtidos no presente estudo é possível concluir que o perfil das pacientes portadoras de microcalcificação é raça branca, maior número de filhos, não etilista, que amamentaram, com história familiar de câncer de mama negativa, com ensino fundamental (escolaridade), lesões presentes em quadrante súperolateral, em mama esquerda, submetidas a setorectomia, com lesões não proliferativas, com BI-RADS[®] 5 e que fizeram controle radiológico. Além disso, foi possível determinar a importância da subclassificação do BI-RADS[®] 4 para melhoria da conduta clínica.

Nas amostras com microcalcificações, não houve expressão gênica de PDGFRA. Em contrapartida, foi observada expressão gênica de DNMT3a em grande parte do grupo estudado, sendo os níveis de expressão desse gene muito mais alto do que aqueles observados em tecidos de câncer de mama, principalmente tipo luminal. Estes dados contribuem para discussão sobre o real papel das DNMTs no câncer de mama e abre uma fronteira de estudos em microcalcificação mamária.

REFERÊNCIAS

- AKSU, A.; KURSTIN, R.; SIDAWY, M. K. Can Nonproliferative Breast Disease and Proliferative Breast Disease Without Atypia Be Distinguished by Fine-Needle Aspiration Cytology ? **Cancer Cytopathology**, [s. l.], v. 81, n. 1, p. 22–28, 1997.
- ALBERTE, M. B. R. C. S.; UTE-SUSANN, zb R. W. A. R. Microcalcification-Associated Breast Cancer : Presentation , Successful First Excision , Long-Term Recurrence and Survival Rate. **Breast Care**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 380–385, 2015.
- ALLRED, D. C. et al. Ductal Carcinoma In situ and the Emergence of Diversity during Breast Cancer Evolution. **Clinical Cancer Research**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 370–378, 2008.
Disponível em: <<http://clincancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1078-0432.CCR-07-1127>>. Acesso em: 14 jul. 2016.
- ALVARADO-CABRERO, I. et al. Florid Lobular Intraepithelial Neoplasia with Signet Ring Cells, Central Necrosis and Calcifications: A Clinicopathological and Immunohistochemical Analysis of Ten Cases Associated with Invasive Lobular Carcinoma. **Archives of Medical Research**, [s. l.], v. 41, n. 6, p. 436–441, 2010. Disponível em:
<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188440910002584>>. Acesso em: 14 jul. 2016.
- ANDERSON, B. O.; CALHOUN, K. E.; ROSEN, E. L. Evolving Concepts in the Management of Lobular Neoplasia. **Journal of the National Comprehensive Cancer Network**, [s. l.], v. 4, n. 5, p. 511–522, 2006. Disponível em:
<<http://www.jnccn.org/lookup/doi/10.6004/jnccn.2006.0041>>. Acesso em: 14 jul. 2016.
- ARPINO, G.; LAUCIRICA, R.; ELLEDGE, R. M. Premalignant and In Situ Breast Disease: Biology and Clinical Implications. **Annals of Internal Medicine**, [s. l.], v. 143, n. 6, p. 446, 2005. Disponível em: <<http://annals.org/article.aspx?doi=10.7326/0003-4819-143-6-200509200-00009>>. Acesso em: 26 jan. 2016.
- AUTIER, P. et al. Disparities in breast cancer mortality trends between 30 European countries: retrospective trend analysis of WHO mortality database. **BMJ**, [s. l.], v. 341, n. aug11 1, p. c3620–c3620, 2010. Disponível em:
<<http://www.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bmj.c3620>>. Acesso em: 24 abr. 2017.
- BAGARIA, S. P. et al. The Florid Subtype of Lobular Carcinoma In Situ: Marker or Precursor for Invasive Lobular Carcinoma? **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 18, n. 7, p. 1845–1851, 2011. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/index/10.1245/s10434-011-1563-0>>. Acesso em: 21 abr. 2017.
- BAKER, R. et al. New relationships between breast microcalcifications and cancer. **British Journal of Cancer**, [s. l.], v. 103, n. 7, p. 1034–1039, 2010.
- BALL, S. G.; SHUTTLEWORTH, C. A.; KIELTY, C. M. Vascular endothelial growth factor can signal through platelet-derived growth factor receptors. **The Journal of Cell Biology**, [s. l.], v. 177, n. 3, p. 489–500, 2007. Disponível em:
<<http://www.jcb.org/lookup/doi/10.1083/jcb.200608093>>. Acesso em 2 maio 2017.
- BANERJI, S. et al. Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer

subtypes. **Nature**, [s. l.], v. 486, n. 7403, p. 405–409, 2012. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nature11154>>. Acesso em: 14 abr. 2017.

BARABE, F. et al. Modeling the Initiation and Progression of Human Acute Leukemia in Mice. **Science**, [s. l.], v. 316, n. 5824, p. 600–604, 2007. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1139851>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

BARMAN, I. et al. Application of Raman Spectroscopy to Identify Microcalcifications and Underlying Breast Lesions at Stereotactic Core Needle Biopsy. **Cancer Research**, [s. l.], v. 73, n. 11, p. 3206–3215, 2013. Disponível em: <<http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-12-2313>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

BEGUM, S. M. K. N. et al. Mucin extravasation in breast core biopsies - clinical significance and outcome correlation. **Histopathology**, [s. l.], v. 55, n. 5, p. 609–617, 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2559.2009.03422.x>>. Acesso em: 24 jan. 2017.

BERKEY, C. S. et al. Young women with family history of breast cancer and their risk factors for benign breast disease. **Cancer**, [s. l.], v. 118, n. 11, p. 2796–2803, 2012. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.26519>>. Acesso em: 22 abr. 2017.

BERRIDGE, M. J.; LIPP, P.; BOOTMAN, M. D. The versatility and universality of calcium signalling. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 11–21, 2000. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/35036035>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

BEVERS, THERESE B., JOHN H. WARD, BANU K. ARUN, G. A. C.; COWAN, K. H. NCCN Guidelines Version 2.2018 Panel Members Breast Cancer Risk Reduction. **Preventive Medicine**, [s. l.], v. 1.2018, 2018.

BHATHAL P.S, BROWN RW, LESUER G.C, R. F. . Frequency of benign and malignant breast lesions in 207 consecutives autopsies in australian women. **Br j cancer**, [s. l.], v. 51, n. 2, p. 271–278, 1985.

FILIPENSES 2. **Bíblia on line**. Disponível em: <https://www.bibliaonline.com.br/nvi/fp/2>>. Acesso em: 14 jul. 2017.

BIJKER, N. et al. Is DCIS Breast Cancer, and How Do I Treat it? **Current Treatment Options in Oncology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 75–87, 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11864-012-0217-1>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

BITENCOURT, A. G. V. Subdividing BI-RADS category 4 breast lesions observed on magnetic resonance imaging: Is it feasible? **Radiologia Brasileira**, [s. l.], v. 49, n. 3, p. V–V, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-39842016000300001&lng=en&tlng=en>. Acesso em: 21 abr. 2017.

BLACKWELL SCIENCE LTD. Class iii receptor tyrosine kinases: role in leukaemogenesis. **British Journal of Haematology**, [s. l.], v. 116, p. 744–757, 2002.

BOMBONATI, A.; SGROI, D. C. The molecular pathology of breast cancer progression. **The Journal of Pathology**, [s. l.], v. 223, n. 2, p. 308–318, 2011. Disponível em:

<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3069504&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

BOUGHEY, J. C. et al. Evaluation of the Tyrer-Cuzick (International Breast Cancer Intervention Study) Model for Breast Cancer Risk Prediction in Women With Atypical Hyperplasia. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 28, n. 22, p. 3591–3596, 2010. Disponível em: <<http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2010.28.0784>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

CALHOUN, B. C. Core Needle Biopsy of the Breast. **Surgical Pathology Clinics**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–16, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.path.2017.09.001>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

CALHOUN, B. C.; COLLINS, L. C. Recommendations for excision following core needle biopsy of the breast: a contemporary evaluation of the literature. **Histopathology**, [s. l.], v. 68, n. 1, p. 138–151, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/his.12852>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

CALHOUN, B. C.; LIVASY, C. A. Mitigating Overdiagnosis and Overtreatment in Breast Cancer: What Is the Role of the Pathologist? **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 138, n. 11, p. 1428–1431, 2014. Disponível em: <<http://www.archivesofpathology.org/doi/abs/10.5858/arpa.2013-0763-ED>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

CARDER, P. J.; MURPHY, C. E.; LISTON, J. C. Surgical excision is warranted following a core biopsy diagnosis of mucocoele-like lesion of the breast. **Histopathology**, [s. l.], v. 45, n. 2, p. 148–154, 2004. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2559.2004.01920.x>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

CARIOLI, G. et al. Trends and predictions to 2020 in breast cancer mortality: Americas and Australasia. **Breast**, [s. l.], v. 37, p. 163–169, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.breast.2017.12.004>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

CARVALHO, I. et al. Overexpression of platelet-derived growth factor receptor α in breast cancer is associated with tumour progression. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 7, n. 5, p. R788, 2005. Disponível em: <<http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/bcr1304>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

CASTELLS, X. et al. Breast cancer risk after diagnosis by screening mammography of nonproliferative or proliferative benign breast disease: a study from a population-based screening program. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 149, n. 1, p. 237–244, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10549-014-3208-z>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

CHEANG, M. C. U. et al. Ki67 Index , HER2 Status , and Prognosis of Patients With Luminal B Breast Cancer. **J Natl Cancer Inst**, [s. l.], v. 101, n. 10, p. 736 – 750, 2009. CHEN, B.-F.; CHAN, W.-Y. The de novo DNA methyltransferase DNMT3A in development and cancer. **Epigenetics**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 669–677, 2014. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/epi.28324>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

CICHON, M. A. et al. Microenvironmental influences that drive progression from benign

breast disease to invasive breast cancer. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 389–397, 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10911-010-9195-8>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

CLARKE, M. F. et al. Cancer Stem Cells—Perspectives on Current Status and Future Directions: AACR Workshop on Cancer Stem Cells. **Cancer Research**, [s. l.], v. 66, n. 19, p. 9339–9344, 2006. Disponível em: <<http://cancerres.aacrjournals.org/lookup/doi/10.1158/0008-5472.CAN-06-3126>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

COHEN, M. A.; NEWELL, M. S. Radial Scars of the Breast Encountered at Core Biopsy: Review of Histologic, Imaging, and Management Considerations. **American Journal of Roentgenology**, [s. l.], v. 209, n. 5, p. 1168–1177, 2017. Disponível em: <<http://www.ajronline.org/doi/10.2214/AJR.17.18156>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

COLLINS, L. C. et al. Breast cancer risk by extent and type of atypical hyperplasia: An update from the Nurses' Health Studies. **Cancer**, [s. l.], v. 122, n. 4, p. 515–520, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.29775>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

COLTRERA, M. D. et al. Expression of platelet-derived growth factor B-chain and the platelet-derived growth factor receptor beta subunit in human breast tissue and breast carcinoma. **Cancer Res**, [s. l.], v. 55, n. 12, p. 2703–2708, 1995.

D'ALFONSO, T. M. et al. Pathologic Upgrade Rates on Subsequent Excision When Lobular Carcinoma In Situ Is the Primary Diagnosis in the Needle Core Biopsy With Special Attention to the Radiographic Target. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, [s. l.], v. 137, n. 7, p. 927–935, 2013. Disponível em: <<http://www.archivesofpathology.org/doi/abs/10.5858/arpa.2012-0297-OA>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

D'ORSI, C. J. Imaging for the diagnosis and management of ductal carcinoma in situ. **Journal of the National Cancer Institute - Monographs**, [s. l.], n. 41, p. 214–217, 2010.

DAWSON, M. A.; KOUZARIDES, T. Cancer Epigenetics: From Mechanism to Therapy. **Cell**, [s. l.], v. 150, n. 1, p. 12–27, 2012. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867412007623>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

DEGNIM, A. C. et al. Stratification of Breast Cancer Risk in Women With Atypia: A Mayo Cohort Study. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 25, n. 19, p. 2671–2677, 2007. Disponível em: <<http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2006.09.0217>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

DEL TURCO, M. R. et al. Full-field digital versus screen-film mammography: Comparative accuracy in concurrent screening cohorts. **American Journal of Roentgenology**, [s. l.], v. 189, n. 4, p. 860–866, 2007.

DESTOUNIS, S. V. et al. Management of Patients Diagnosed With Lobular Carcinoma in Situ at Needle Core Biopsy at a Community-Based Outpatient Facility. **American Journal of Roentgenology**, [s. l.], v. 198, n. 2, p. 281–287, 2012. Disponível em: <<http://www.ajronline.org/doi/10.2214/AJR.11.7043>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

DIBB, N. J.; DILWORTH, S. M.; MOL, C. D. Opinion: Switching on kinases: oncogenic activation of BRAF and the PDGFR family. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 4, n. 9, p. 718–727, 2004. Disponível em: <[dx.doi.org/10.1038/nrc1434](https://doi.org/10.1038/nrc1434)>. Acesso em: 4 ago. 2017.

DONALDSON, A. R. et al. Radial scars diagnosed on breast core biopsy: Frequency of atypia and carcinoma on excision and implications for management. **The Breast**, [s. l.], v. 30, p. 201–207, 2016. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960977616300819>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

DONKER, M. et al. Breast-Conserving Treatment With or Without Radiotherapy in Ductal Carcinoma In Situ : 15-Year Recurrence Rates and Outcome After a Recurrence , From the EORTC 10853 Randomized Phase III Trial. **J Clin Oncol.**, [s. l.], v. 31, n. 32, p. 4054–4059, 2013.

DONTU, G. et al. Stem cells in normal breast development and breast cancer. **Cell Proliferation**, [s. l.], v. 36, n. s1, p. 59–72, 2003. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2184.36.s.1.6.x>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

DOUGLAS G. ALTMAN , LISA M. MCSHANE, WILLI SAUERBREI, S. E. T. Reporting Recommendations for Tumor Marker Prognostic Studies (REMARK): Explanation and Elaboration. **PLoS Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 5, 2012. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10549-006-9242-8>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

DUPONT, W. D.; PAGE, D. L. Risk Factors for Breast Cancer in Women with Proliferative Breast Disease. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 312, n. 3, p. 146–151, 1985. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM198501173120303>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

DYRSTAD, S. W. et al. Breast cancer risk associated with benign breast disease: systematic review and meta-analysis. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 149, n. 3, p. 569–575, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10549-014-3254-6>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

EBERL, M. M. et al. BI-RADS Classification for Management of Abnormal Mammograms. **The Journal of the American Board of Family Medicine**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 161–164, 2006. Disponível em: <<http://www.jabfm.org/cgi/doi/10.3122/jabfm.19.2.161>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

EBY, P. R. et al. Is Surgical Excision Necessary for Focal Atypical Ductal Hyperplasia Found at Stereotactic Vacuum-Assisted Breast Biopsy? **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 15, n. 11, p. 3232–3238, 2008. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/index/10.1245/s10434-008-0100-2>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

EINAV NILI, G.-Y. et al. Cancer Epigenetics: Modifications, Screening, and Therapy. **Annual Review of Medicine**, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 267–280, 2008. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.med.59.061606.095816>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

ELMORE, J. G.; GIGERENZER, G. Benign Breast Disease — The Risks of Communicating

Risk. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 353, n. 3, p. 297–299, 2005. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMe058111>>. Acesso em: 4 jul. 2016.

ELVERICI, E. et al. Nonpalpable BI-RADS 4 breast lesions: sonographic findings and pathology correlation. **Diagnostic and Interventional Radiology**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 189–194, 2015. Disponível em: <<http://www.dirjournal.org/sayilar/76/buyuk/189-194.pdf>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

FARSHID, G. et al. Active surveillance of women diagnosed with atypical ductal hyperplasia on core needle biopsy may spare many women potentially unnecessary surgery, but at the risk of undertreatment for a minority: 10-year surgical outcomes of 114 consecutive cases from a. **Modern Pathology**, [s. l.], v. 31, n. 3, p. 395–405, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/modpathol.2017.114>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 136, n. 5, p. E359–E386, 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.29210>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

FERNANDES, P. et al. Câncer de mama : mortalidade crescente na Região Sul do Brasil entre 1980 e 2002 Increase in breast cancer mortality in Southern Brazil from 1980 to 2002. **Cad. Saúde Pública**, [s. l.], v. 23, n. 8, p. 1785–1790, 2007.

FLANAGAN, M. R. et al. Pleomorphic Lobular Carcinoma In Situ: Radiologic–Pathologic Features and Clinical Management. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 22, n. 13, p. 4263–4269, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1245/s10434-015-4552-x>>

FRIEDENREICH, C. et al. Risk factors for benign proliferative breast disease. **International Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 637–644, 2000. Disponível em: <<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med2&NEWS=N&AN=7468579>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

GHAFOURI-FARD, S.; NEKOOHESH, L.; MOTEVASALI, E. Bladder Cancer Biomarkers: Review and Update. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 2395–2403, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24761840>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

GHITA, A.; MATOUSEK, P.; STONE, N. High sensitivity non-invasive detection of calcifications deep inside biological tissue using Transmission Raman Spectroscopy. **Journal of Biophotonics**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–8, 2018.

GIRAULT, I.; LIDEREAU, R.; BIE, I. Expression Analysis of DNA Methyltransferases 1 , 3A , and 3B in Sporadic Breast Carcinomas. **Clinical Cancer Research**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 4415–4422, 2003.

GOEHRING, C.; MORABIA, A. Epidemiology of Benign Breast Disease , with Special Attention to Histologic Types. **Epidemiol Rev**, [s. l.], v. 19, n. 2, 1997.

GOLDHIRSCH, A. et al. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early

Breast Cancer 2011. **Annals of Oncology**, [s. l.], v. 22, n. 8, p. 1736–1747, 2011. Disponível em: <<https://academic.oup.com/annonc/article/22/8/1736/196756>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

GOLDHIRSCH, A. et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer : highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. **Annals of Oncology**, [s. l.], v. 24, p. 2206–2223, 2013.

GOMES, D. S. et al. Lobular neoplasia: frequency and association with other breast lesions. **Diagnostic Pathology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 74, 2011. Disponível em: <<http://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-1596-6-74>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

GOTZSCHE, P. C.; NIELSEN, M. Screening for breast cancer with mammography. **Cochrane Database Syst.Rev**, [s. l.], n. 1469–493X (Electronic), p. CD001877, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23737396>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

GUDJONSSON, T. Isolation, immortalization, and characterization of a human breast epithelial cell line with stem cell properties. **Genes & Development**, [s. l.], v. 16, n. 6, p. 693–706, 2002. Disponível em: <<http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.952602>>

GÜLSÜN, M.; DEMIRKAZIK, F. B.; ARIYÜREK, M. Evaluation of breast microcalcifications according to breast imaging reporting and data system criteria and Le Gal's classification. **European Journal of Radiology**, [s. l.], v. 47, n. 3, p. 227–231, 2003.

HA, D. et al. Mucocele-like lesions in the breast diagnosed with percutaneous biopsy: Is surgical excision necessary? **American Journal of Roentgenology**, [s. l.], v. 204, n. 1, p. 204–210, 2015.

HALL, F. M. Identification, Biopsy, and Treatment of Poorly Understood Premalignant, in Situ, and Indolent Low-Grade Cancers: Are We Becoming Victims of Our Own Success? **Radiology**, [s. l.], v. 254, n. 3, p. 655–659, 2010. Disponível em: <<http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.09092100>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HAMBLY, N. M. et al. Comparison of Digital Mammography and Screen-Film Mammography in Breast Cancer Screening: A Review in the Irish Breast Screening Program. **Am. J. Roentgenol.**, [s. l.], v. 193, n. 4, p. 1010–1018, 2009. Disponível em: <<http://www.ajronline.org/cgi/content/abstract/193/4/1010>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HANBY, A. M.; WALKER, C. Tavassoli FA, Devilee P: Pathology and Genetics: Tumours of the Breast and Female Genital Organs. WHO Classification of Tumours series - volume IV. Lyon, France: IARC Press. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 133, 2004. Disponível em: <<http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/bcr788>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HARTMANN, L. C. et al. Benign Breast Disease and the Risk of Breast Cancer. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 353, n. 3, p. 229–237, 2005. a. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16034008%5Cnhttp://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa044383>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HARTMANN, L. C. et al. Benign Breast Disease and the Risk of Breast Cancer. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 353, n. 3, p. 229–237, 2005. b. Disponível em:

<<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1412098>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HARTMANN, L. C. et al. Understanding the premalignant potential of atypical hyperplasia through its natural history: A longitudinal cohort study. **Cancer Prevention Research**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 211–217, 2014. a.

HARTMANN, L. C. et al. Understanding the Premalignant Potential of Atypical Hyperplasia through Its Natural History: A Longitudinal Cohort Study. **Cancer Prevention Research**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 211–217, 2014. b. Disponível em: <<http://cancerpreventionresearch.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1940-6207.CAPR-13-0222>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HARTMANN, L. C. et al. Atypical Hyperplasia of the Breast — Risk Assessment and Management Options. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 372, n. 1, p. 78–89, 2015. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMsr1407164>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HELDIN, C. H.; OSTMAN, A.; RONNSTRAND, L. Signal transduction via platelet-derived growth factor receptors. **Biochimica et biophysica acta**, [s. l.], v. 1378, n. 1, p. 79–113, 1998.

HENROT, P. et al. Breast microcalcifications: The lesions in anatomical pathology. **Diagnostic and Interventional Imaging**, [s. l.], v. 95, n. 2, p. 141–152, 2014.

HOFVIND, S. et al. Mammographic morphology and distribution of calcifications in ductal carcinoma in situ diagnosed in organized screening. **Acta Radiologica**, [s. l.], v. 52, n. 5, p. 481–487, 2011.

HOOGERBRUGGE, N. et al. High Prevalence of Premalignant Lesions in Prophylactically Removed Breasts From Women at Hereditary Risk for Breast Cancer. **Journal of Clinical Oncology**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 41–45, 2003. Disponível em: <<http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2003.02.137>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HOUSSAMI, N. et al. Borderline breast core needle histology: predictive values for malignancy in lesions of uncertain malignant potential (B3). **British Journal of Cancer**, [s. l.], v. 96, n. 8, p. 1253–1257, 2007. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/6603714>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

HUSSAIN, M.; CUNNICK, G. H. Management of lobular carcinoma in-situ and atypical lobular hyperplasia of the breast—A review. **European Journal of Surgical Oncology (EJSO)**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 279–289, 2011. Disponível em: <[10.1016/j.ejso.2011.01.009](http://dx.doi.org/10.1016/j.ejso.2011.01.009)>. Acesso em: 6 jul. 2016.

IAMSHANOVA, O.; FIORIO PLA, A.; PREVARSKAYA, N. Molecular mechanisms of tumour invasion: regulation by calcium signals. **The Journal of Physiology**, [s. l.], v. 595, n. 10, p. 3063–3075, 2017. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1113/JP272844>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

INCA. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação.** [s.l.: s.n.].

JENSEN, R. a et al. Invasive breast cancer risk in women with sclerosing adenosis. **Cancer**, [s. l.], v. 64, n. 10, p. 1977–83, 1989. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2804888>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

JIANG, Y. et al. Mammotome® biopsy system for the resection of breast lesions: Clinical experience in two high-volume teaching hospitals. **Experimental and Therapeutic Medicine**, [s. l.], v. 6, n. 3, p. 759–764, 2013. Disponível em: <<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2013.1191>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

KABAT, G. C. et al. A multi-center prospective cohort study of benign breast disease and risk of subsequent breast cancer. **Cancer Causes & Control**, [s. l.], v. 21, n. 6, p. 821–828, 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10552-010-9508-7>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

KANE, S. M. et al. Tumeurs bénignes du sein à l'unité de sénologie du Centre Hospitalier Universitaire Aristide Le Dantec de Dakar (Sénégal). **Pan African Medical Journal**, [s. l.], v. 27, p. 1–6, 2017. Disponível em: <<http://www.panafrican-med-journal.com/content/article/27/251/full/>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

KAR, S. et al. An insight into the various regulatory mechanisms modulating human DNA methyltransferase 1 stability and function. **Epigenetics**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. 994–1007, 2012. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/epi.21568>>. Acesso em: 13 jul. 2017.

KAZLAUSKAS, A. Receptor tyrosine kinases and their targets. **Curr. Opin. Genetics and Development**, [s. l.], v. 4, p. 5–14, 1994.

KAZLAUSKAS, A. PDGFs and their receptors. **Gene**, [s. l.], v. 614, p. 1–7, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2017.03.003>>. Acesso em: 13 jul. 2017.

KENNEDY, M. Pathology and clinical relevance of radial scars: a review. **Journal of Clinical Pathology**, [s. l.], v. 56, n. 10, p. 721–724, 2003. Disponível em: <<http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.56.10.721>>. Acesso em: 4 jul. 2017.

KEPPKE., R. S. A. L. Breast, Imaging, Reporting and Data System (BI RADS). In: **StatPearls - NCBI Bookshelf**. [s.l: s.n.]. v. 2p. 27–29.

KHAN, S.; COUNTY, H.; CENTRE, M. Needle Localization of Non Palpable Breast Lesions. **Journal Of Pakistan Medical Association**, [s. l.], n. January 1989, p. 149–152, 1992.

KLOTEN, V. et al. Promoter hypermethylation of the tumor-suppressor genes ITIH5, DKK3, and RASSF1A as novel biomarkers for blood-based breast cancer screening. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. R4, 2013. Disponível em: <<http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/bcr3375>>. Acesso em: 14 jun. 2016.

KOHR, J. R. et al. Risk of Upgrade of Atypical Ductal Hyperplasia after Stereotactic Breast Biopsy: Effects of Number of Foci and Complete Removal of Calcifications. **Radiology**, [s. l.], v. 255, n. 3, p. 723–730, 2010. Disponível em:

<<http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiol.09091406>>. Acesso em: 14 set. 2016.

KUSAMA, R. et al. Clinicopathological characteristics of atypical cystic duct (ACD) of the breast: Assessment of ACD as a precancerous lesion. **Pathology International**, [s. l.], v. 50, n. 10, p. 793–800, 2000. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1440-1827.2000.01121.x>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

KUZMIAK, C. M. et al. Consensus Review: A Method of Assessment of Calcifications That Appropriately Undergo a Six-Month Follow-up. **Academic Radiology**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 621–629, 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S107663320600050X>>. Acesso em: 3 jul. 2016.

LACHANCE, G. et al. DNMT3a epigenetic program regulates the HIF-2 oxygen-sensing pathway and the cellular response to hypoxia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 111, n. 21, p. 7783–7788, 2014. Disponível em: <<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1322909111>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

LAMB, L. R. et al. Flat Epithelial Atypia: Upgrade Rates and Risk-Stratification Approach to Support Informed Decision Making. **Journal of the American College of Surgeons**, [s. l.], v. 225, n. 6, p. 696–701, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2017.08.022>>. Acesso em: 7 jul. 2016.

LEE, R. J. et al. Ductal Carcinoma In Situ of the Breast. **International Journal of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 2012, p. 1–12, 2012. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ijso/2012/123549/>>. Acesso em: 4 dez. 2016.

LEINUNG, S. et al. **Quality assurance in excision of suspected malignant, preoperatively marked and unmarked, breast lesions. A one-year analysis.** [s.l: s.n.], v. 125 Suppl

LEMMON, M. a; SCHLESSINGER, J. Cell Signaling by Receptor Tyrosine Kinases. **Cell**, [s. l.], v. 141, n. 7, p. 1117–1134, 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867410006653>>. Acesso em: 10 jul. 2016.

LERWILL, M. F. Flat epithelial atypia of the breast. **Arch Pathol Lab Med**, [s. l.], v. 132, n. 4, p. 615–621, 2008.

LEWIS, J. L.; LEE, D. Y.; TARTTER, P. I. The Significance of Lobular Carcinoma In Situ and Atypical Lobular Hyperplasia of the Breast. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 19, n. 13, p. 4124–4128, 2012. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/index/10.1245/s10434-012-2538-5>>. Acesso em: 9 jul. 2017.

LI, C. I. et al. Trends in Incidence Rates of Invasive Lobular and Ductal Breast Carcinoma. **Journal of the American Medical Association**, [s. l.], v. 289, n. 11, p. 1421–1424, 2003. Disponível em: <<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.289.11.1421>>. Acesso em: 5 jul. 2017.

LI, H. et al. Clinical Value of Mammography in Diagnosis and Identification of breast Mass. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, [s. l.], v. 32, n. 4, 2016. Disponível em: <<http://pjms.com.pk/index.php/pjms/article/view/9384>>. Acesso em: 3 jan. 2017.

- LIANG, L. et al. Exploring type II microcalcifications in benign and premalignant breast lesions by shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy (SHINERS). **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s. l.], v. 132, p. 397–402, 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142514007203>>. Acesso em: 14 jul. 2016.
- LIU, Y. et al. Intakes of Alcohol and Folate During Adolescence and Risk of Proliferative Benign Breast Disease. **PEDIATRICS**, [s. l.], v. 129, n. 5, p. e1192–e1198, 2012. Disponível em: <<http://pediatrics.aappublications.org/cgi/doi/10.1542/peds.2011-2601>>. Acesso em: 14 jul. 2016.
- LIU, Y.; NGUYEN, N.; COLDITZ, G. A. Links between Alcohol Consumption and Breast Cancer: A Look at the Evidence. **Women's Health**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 65–77, 2015. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.2217/WHE.14.62>>. Acesso em: 14 jul. 2016.
- LØBERG, M. et al. Benefits and harms of mammography screening. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 63, 2015.
- LOPES, L. et al. Benign Breast Disease and Associated Factors in Women Attending in A Public Hospital. **international journal of New Tecnology and Research**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 14–18, 2016.
- MEIER-ABT, F. et al. Parity induces differentiation and reduces Wnt/Notch signaling ratio and proliferation potential of basal stem/progenitor cells isolated from mouse mammary epithelium. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. R36, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/bcr3419>>. Acesso em: 4 jun. 2017.
- MENES, T. S. et al. Upgrade of high-risk breast lesions detected on mammography in the Breast Cancer Surveillance Consortium. **The American Journal of Surgery**, [s. l.], v. 207, n. 1, p. 24–31, 2014. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002961013004911>>. Acesso em: 7 jul. 2017.
- MIRZA, S. et al. Expression of DNA Methyltransferases in Breast Cancer Patients and to Analyze the Effect of Natural Compounds on DNA Methyltransferases and Associated Proteins. **Journal of Breast Cancer**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 23, 2013. Disponível em: <<https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.4048/jbc.2013.16.1.23>>. Acesso em: 2 jul. 2015.
- MOLYNEUX, G. et al. BRCA1 Basal-like Breast Cancers Originate from Luminal Epithelial Progenitors and Not from Basal Stem Cells. **Cell Stem Cell**, [s. l.], v. 7, n. 3, p. 403–417, 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1934590910003462>>. Acesso em: 16 jul. 2017.
- MONTEITH, G. R. et al. Calcium and cancer: targeting Ca²⁺ transport. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 7, n. 7, p. 519–530, 2007. Disponível em: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nrc2171>>. Acesso em: 19 jul. 2017.
- MORROW, M.; SCHNITT, S. J.; NORTON, L. Current management of lesions associated with an increased risk of breast cancer. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [s. l.], v. 12, n.

4, p. 227–238, 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrclinonc.2015.8>>. Acesso em: 13 jul. 2017.

MURRAY, M. P. et al. Classic lobular carcinoma in situ and atypical lobular hyperplasia at percutaneous breast core biopsy. **Cancer**, [s. l.], v. 119, n. 5, p. 1073–1079, 2013. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.27841>>. Acesso em: 17 jul. 2017.

NASEEM, M. et al. Mammographic microcalcifications and breast cancer tumorigenesis: a radiologic-pathologic analysis. **BMC Cancer**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 307, 2015. Disponível em: <<http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-015-1312-z>>. Acesso em: 14 jul. 2017.

NGUYEN, C. V. et al. Atypical Ductal Hyperplasia in Directional Vacuum-Assisted Biopsy of Breast Microcalcifications: Considerations for Surgical Excision. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 18, n. 3, p. 752–761, 2011. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ajcp/article-lookup/doi/10.1309/0GYV4F2LLJAV4GFN>>. Acesso em: 1 jul. 2016.

O'CONNOR, J. P. B. et al. Imaging biomarker roadmap for cancer studies. **Nature Reviews Clinical Oncology**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 169–186, 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrclinonc.2016.162>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

O'GRADY, S.; MORGAN, M. P. Microcalcifications in breast cancer: From pathophysiology to diagnosis and prognosis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, [s. l.], v. 1869, n. 2, p. 310–320, 2018. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304419X18300593>>. Acesso em: 1 jul. 2017.

PAGE, DAVID L, R. lw. combined histologic and cytologic criteria for the diagnosis of mammary atypical ductal hiperplasia. **Human pathology**, [s. l.], v. 23, n. 10, p. 1095–1097, 1992.

PAGE, D. L. et al. Atypical hyperplastic lesions of the female breast. A long-term follow-up study. **Cancer**, [s. l.], v. 55, n. 11, p. 2698–2708, 1985. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/1097-142%2819850601%2955%3A11%3C2698%3A%3AAID-CNCR2820551127%3E3.0.CO%3B2-A>>. Acesso em: 12 jul. 2016.

PAGE, D. L.; DUPONT, W. D. Histopathologic risk factors for breast cancer in women with benign breast disease. **Seminars in Surgical Oncology**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 213–217, 1988. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ssu.2980040403>>. Acesso em: 4 ago. 2017.

PAREJA, F. et al. Breast intraductal papillomas without atypia in radiologic-pathologic concordant core-needle biopsies: Rate of upgrade to carcinoma at excision. **Cancer**, [s. l.], v. 122, n. 18, p. 2819–2827, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.30118>>. Acesso em: 1 maio. 2016.

PARK, Y. J.; KIM, E.-K. A pure mucocoele-like lesion of the breast diagnosed on ultrasonography-guided core-needle biopsy: is imaging follow-up sufficient? **Ultrasonography**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 133–138, 2014. Disponível em: <<http://e-ultrasonography.org/journal/view.php?doi=10.14366/usg.14036>>. Acesso em: 6 jul. 2016.

PARKER, J. S. et al. Supervised Risk Predictor of Breast Cancer Based on Intrinsic Subtypes. **JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY**, [s. l.], v. 27, n. 8, p. 160–1167, 2009.

PECE, S. et al. Biological and Molecular Heterogeneity of Breast Cancers Correlates with Their Cancer Stem Cell Content. **Cell**, [s. l.], v. 140, n. 1, p. 62–73, 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0092867409015542>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

PEÑA, A. et al. Multivariate model to identify women at low risk of cancer upgrade after a core needle biopsy diagnosis of atypical ductal hyperplasia. **Breast Cancer Research and Treatment**, [s. l.], v. 164, n. 2, p. 295–304, 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s10549-017-4253-1>>. Acesso em: 1 abr. 2016.

PENNOCK, S.; KAZLAUSKAS, A. Vascular Endothelial Growth Factor A Competitively Inhibits Platelet-Derived Growth Factor (PDGF)-Dependent Activation of PDGF Receptor and Subsequent Signaling Events and Cellular Responses. **Molecular and Cellular Biology**, [s. l.], v. 32, n. 10, p. 1955–1966, 2012. Disponível em: <<http://mcb.asm.org/cgi/doi/10.1128/MCB.06668-11>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

PEROU, C. M. et al. Molecular portraits of human breast tumours. **NATURE**, [s. l.], v. 406, p. 747–752, 2000.

POULIOT, M. C. et al. The role of methylation in breast cancer susceptibility and treatment. **Anticancer Research**, [s. l.], v. 35, n. 9, p. 4569–4574, 2015.

POULOS, A. Diagnostic Breast Imaging: Mammography, Sonography, Magnetic Resonance Imaging, and Interventional Procedures. **Journal of Medical Radiation Sciences**, [s. l.], v. 62, n. 1, p. 86–87, 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jmrs.90>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

PREVARSKAYA, N.; SKRYMA, R.; SHUBA, Y. Calcium in tumour metastasis: new roles for known actors. **Nature Reviews Cancer**, [s. l.], v. 11, n. 8, p. 609–618, 2011. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrc3105>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

RACZ, J. M.; CARTER, J. M.; DEGNIM, A. C. Challenging Atypical Breast Lesions Including Flat Epithelial Atypia, Radial Scar, and Intraductal Papilloma. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 24, n. 10, p. 2842–2847, 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1245/s10434-017-5980-6>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

RACZ, J. M.; DEGNIM, A. C. When Does Atypical Ductal Hyperplasia Require Surgical Excision? **Surgical Oncology Clinics of North America**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 23–32, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.soc.2017.07.011>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

RAKHA, E. et al. Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. **The Journal of Pathology**, [s. l.], v. 208, n. 4, p. 495–506, 2006. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/path.1916>>

RAKHA, E. A. et al. Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 207, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19492878>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

RAO, A. A. et al. A Pictorial Review of Changes in the BI-RADS Fifth Edition. **RadioGraphics**, [s. l.], v. 36, n. 3, p. 623–639, 2016. Disponível em: <<http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/rg.2016150178>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

RENDI, M. H. et al. Lobular In-Situ Neoplasia on Breast Core Needle Biopsy: Imaging Indication and Pathologic Extent Can Identify Which Patients Require Excisional Biopsy. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 914–921, 2012. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/index/10.1245/s10434-011-2034-3>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

REYA, T. et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. **Nature**, [s. l.], v. 414, n. 6859, p. 105–111, 2001. Disponível em: <<http://www.nature.com/doi/10.1038/35102167>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

ROMINGER, M.; WISGICKL, C.; TIMMESFELD, N. Breast Microcalcifications as Type Descriptors to Stratify risk of Malignancy: a Systematic Review and Meta-Analysis of 10665 Cases with Special Focus on Round/Punctate Microcalcifications. **RöFo - Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren**, [s. l.], v. 184, n. 12, p. 1144–1152, 2012. Disponível em: <<http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0032-1313102>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

RUDIN, A. V. et al. Flat Epithelial Atypia on Core Biopsy and Upgrade to Cancer: a Systematic Review and Meta-Analysis. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 24, n. 12, p. 3549–3558, 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1245/s10434-017-6059-0>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SALONI WALIA, MD; YANLING MA, MD; JANICE LU, MD, PHD; JULIE E. LANG, MD; AND MICHAEL F. PRESS, MD, P. Pathology and Current Management of Borderline Breast Epithelial Lesions. **American Journal of Hematology Oncology®**, [s. l.], v. 13, n. 8, p. 24–31, 2017.

SANDERS, M. E. et al. The natural history of low-grade ductal carcinoma in situ of the breast in women treated by biopsy only revealed over 30 years of long-term follow-up. **Cancer**, [s. l.], v. 103, n. 12, p. 2481–2484, 2005. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.21069>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SANTEN, R. J.; MANSEL, R. Benign Breast Disorders. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 353, n. 3, p. 275–285, 2005. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra035692>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SANTOS-REBOUÇAS, C. B.; PIMENTEL, M. M. G. Implication of abnormal epigenetic patterns for human diseases. **European Journal of Human Genetics**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 10–17, 2007. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/5201727>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SAQUIB, N.; SAQUIB, J.; IOANNIDIS, J. P. A. Does screening for disease save lives in asymptomatic adults? Systematic review of meta-analyses and randomized trials. **International Journal of Epidemiology**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 264–277, 2015.

SARKAR, S. et al. Demethylation and re-expression of epigenetically silenced tumor

suppressor genes: sensitization of cancer cells by combination therapy. **Epigenomics**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 87–94, 2013. a. Disponível em: <<https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/epi.12.68>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SARKAR, S. et al. Cancer Development, Progression, and Therapy: An Epigenetic Overview. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 14, n. 10, p. 21087–21113, 2013. b. SAUERBREI, W. et al. Evidence-Based Assessment and Application of Prognostic Markers: The Long Way from Single Studies to Meta-Analysis. **Communications in Statistics - Theory and Methods**, [s. l.], v. 35, n. 7, p. 1333–1342, 2006. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03610920600629666>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SCIMECA, M. et al. Microcalcifications in breast cancer: an active phenomenon mediated by epithelial cells with mesenchymal characteristics. **BMC Cancer**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 286, 2014. Disponível em: <<http://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2407-14-286>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SCOGGINS, M. E. et al. Correlation Between Sonographic Findings and Clinicopathologic and Biologic Features of Pure Ductal Carcinoma In Situ in 691 Patients. **American Journal of Roentgenology**, [s. l.], v. 204, n. 4, p. 878–888, 2015. Disponível em: <<http://www.ajronline.org/doi/10.2214/AJR.13.12221>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SCOTT, R. et al. Elemental vs. phase composition of breast calcifications. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1–9, 2017.

SHAH-KHAN, M. G. et al. Long-Term Follow-up of Lobular Neoplasia (Atypical Lobular Hyperplasia/Lobular Carcinoma In Situ) Diagnosed on Core Needle Biopsy. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 19, n. 10, p. 3131–3138, 2012. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/index/10.1245/s10434-012-2534-9>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SIMPSON, P. T. et al. The diagnosis and management of pre-invasive breast disease: Pathology of atypical lobular hyperplasia and lobular carcinoma in situ. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 5, n. 5, p. 258, 2003. Disponível em: <<http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/bcr624>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SMITH, H. J. et al. Epigenetic therapy for the treatment of epithelial ovarian cancer: A clinical review. **Gynecologic Oncology Reports**, [s. l.], v. 20, p. 81–86, 2017.

SOTIRIOU, C.; PUSZTAI, L. Gene-Expression Signatures in Breast Cancer. **N Engl J Med**, [s. l.], v. 360, p. 790–800, 2009.

STEIN, R. C.; DUNN, J. A.; CAMPBELL, A. F. OPTIMA prelim: a randomised feasibility study of personalised care in the treatment of women with early breast cancer. **HEALTH TECHNOLOGY ASSESSMENT**, [s. l.], v. 20, n. 10, 2016.

STEPHENS, P. J. et al. The landscape of cancer genes and mutational processes in breast cancer. **Nature**, [s. l.], v. 486, n. 7403, p. 400–404, 2012. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1038/nature11017%5Cnfile:///Users/rmorin/Dropbox/Papers2/2012/OSBREAC/Nature 2012 OSBREAC.pdf%5Cnpapers2://publication/doi/10.1038/nature11017](http://dx.doi.org/10.1038/nature11017%5Cnfile:///Users/rmorin/Dropbox/Papers2/2012/OSBREAC/Nature%2012%20OSBREAC.pdf%5Cnpapers2://publication/doi/10.1038/nature11017)>. Acesso em: 14 jul. 2016.

STEVEN A. NAROD, MD, FRCPC; JAVAID IQBAL, MD; VASILY GIANNAKEAS, MPH; VICTORIA SOPIK, MSC; PING SUN, P. Breast Cancer Mortality After a Diagnosis of Ductal Carcinoma In Situ. **JAMA Oncology**, [s. l.], v. 1, n. 7, p. 888–896, 2015.

SUBRAMANIAM, D. et al. DNA Methyltransferases: A Novel Target for Prevention and Therapy. **Frontiers in Oncology**, [s. l.], v. 4, n. May, p. 1–13, 2014. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2014.00080/abstract>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

SUTTON, B. et al. Mucocoele-like Lesions Diagnosed on Breast Core Biopsy. **American Journal of Clinical Pathology**, [s. l.], v. 138, n. 6, p. 783–788, 2012. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ajcp/article-lookup/doi/10.1309/AJCP1D8YLCFFTLOW>> Acesso em: 6 jul. 2016.

SWAPP, R. E. et al. Management of Benign Intraductal Solitary Papilloma Diagnosed on Core Needle Biopsy. **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 1900–1905, 2013. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1245/s10434-012-2846-9>>. Acesso em: 4 jul. 2016.

TAN, P. H.; TSE, G. M. K.; BAY, B. H. Mucinous breast lesions: diagnostic challenges. **Journal of Clinical Pathology**, [s. l.], v. 61, n. 1, p. 11–19, 2007. Disponível em: <<http://jcp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jcp.2006.046227>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

TATARIAN, T. et al. Intraductal Papilloma with Benign Pathology on Breast Core Biopsy: To Excise or Not? **Annals of Surgical Oncology**, [s. l.], v. 23, n. 8, p. 2501–2507, 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1245/s10434-016-5182-7>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

TU, S.-M.; LIN, S.-H.; LOGOTHETIS, C. J. Stem-cell origin of metastasis and heterogeneity in solid tumours. **The Lancet Oncology**, [s. l.], v. 3, n. 8, p. 508–513, 2002. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204502008203>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

VALLEJOS, C. S. et al. Breast Cancer Classification According to Immunohistochemistry Markers : Subtypes and Association With Clinicopathologic Variables in a Peruvian Hospital Database. **Clinical Breast Cancer**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 294–300, 2010.

VAN LUIJT, P. A. et al. The distribution of ductal carcinoma in situ (DCIS) grade in 4232 women and its impact on overdiagnosis in breast cancer screening. **Breast Cancer Research**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 47, 2016. Disponível em: <<http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-016-0705-5>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

VENKATESAN, A. et al. Positive Predictive Value of Specific Mammographic Findings according to Reader and Patient Variables. **Radiology**, [s. l.], v. 250, n. 3, p. 648–657, 2009. Disponível em: <<http://pubs.rsna.org/doi/full/10.1148/radiol.2503080541>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

VILLADSEN, R. et al. Evidence for a stem cell hierarchy in the adult human breast. **The Journal of Cell Biology**, [s. l.], v. 177, n. 1, p. 87–101, 2007. Disponível em: <<http://www.jcb.org/lookup/doi/10.1083/jcb.200611114>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

VIZCAÍNO, I. et al. Short-term Follow-up Results in 795 Nonpalpable Probably Benign Lesions Detected at Screening Mammography. **Radiology**, [s. l.], v. 219, n. 2, p. 475–483, 2001. Disponível em: <<http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/radiology.219.2.r01ma11475>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

WA, F.; BERGH, J.; ZACK, M. Risk Factors for Subsequent Invasive Breast Cancer and Breast Cancer Death after Ductal Carcinoma in Situ : A Population-based. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 495–499, 2001.

WANG, Z. et al. Non-invasive classification of microcalcifications with phase-contrast X-ray mammography. **Nature Communications**, [s. l.], v. 5, n. May, p. 1–9, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/ncomms4797>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

WÄRNBERG, F. et al. Effect of Radiotherapy After Breast-Conserving Surgery for Ductal Carcinoma in Situ : 20 Years Follow-Up in the Randomized SweDCIS Trial. **JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY**, [s. l.], v. 32, n. 32, p. 3613–3618, 2014.

WEIGEL S, HENSE HW, H. J. Digital mammography screening: does age influence the detection rates of low-, intermediate-, and high-grade ductal carcinoma in situ? **Radiology**, [s. l.], v. 278, n. 3, p. 707–713, 2016.

WORSHAM, M. J. et al. Breast Cancer Incidence in a Cohort of Women with Benign Breast Disease from a Multiethnic, Primary Health Care Population. **The Breast Journal**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 115–121, 2007. a. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1524-4741.2007.00388.x>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

WORSHAM, M. J. et al. Multiplicity of Benign Breast Lesions Is a Risk Factor for Progression to Breast Cancer. **Clinical Cancer Research**, [s. l.], v. 13, n. 18, p. 5474–5479, 2007. b. Disponível em: <<http://clincancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/1078-0432.CCR-07-0928>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

XIE, S. et al. Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family. **Gene**, [s. l.], v. 236, n. 1, p. 87–95, 1999.

YANG, R. et al. DNA methylation array analyses identified breast cancer-associated HYAL2 methylation in peripheral blood. **International Journal of Cancer**, [s. l.], v. 136, n. 8, p. 1845–1855, 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ijc.29205>>. Acesso em: 1 jul. 2016.

YU, J. H. et al. Breast diseases during pregnancy and lactation. **obstetrics and gynecology science**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 143–159, 2013.

ZHOU, J.; PAPENHAUSEN, P.; SHAO, H. Case Report Therapy-related acute myeloid leukemia with and PDGFRA rearrangement : a case report and review of the literature. **Int J Clin Exp Pathol**, [s. l.], v. 8, n. 5, p. 5812–5820, 2015.

ZHOU, W.-B. et al. The influence of family history and histological stratification on breast cancer risk in women with benign breast disease: a meta-analysis. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, [s. l.], v. 137, n. 7, p. 1053–1060, 2011. Disponível em:

<<http://link.springer.com/10.1007/s00432-011-0979-z>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

ZONDERLAND, H.; SMITHUIS, R. **Bi - RADS for Mammography and Ultrasound**

Updated version. [s.l: s.n.]. Disponível em:

<<http://www.radiologyassistant.nl/en/p53b4082c92130/biradsformammographyandultrasound2013.%5Cnhtml#in53b4082cb1579>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada para participar, como voluntária, na pesquisa "O VALOR DAS EXPRESSÕES GENÉTICAS NAS MICROCALCIFICAÇÕES MAMÁRIAS BIRADS IV E V". Após ser esclarecida sobre os objetivos do projeto, e no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa, você não será penalizada de forma alguma.

O presente projeto enquadra-se como pesquisa científica destinada ao suporte na área de oncologia no estado de Pernambuco, pelo uso de tecnologias de última geração para diagnóstico molecular de neoplasias de mama.

A) Sua contribuição consiste na doação de sangue e tecido mamário para diagnósticos laboratoriais.

B) Neste projeto, sua identidade será totalmente preservada. Fica claro que você como participante não terá ganho ou perda financeira relacionada com a participação no projeto, e a qualquer momento pode desistir de colaborar da pesquisa.

C) Caso aceite participar, uma cópia deste termo onde consta o nome e telefone do principal pesquisador, será disponibilizada para o esclarecimento de dúvidas sobre o desenvolvimento do projeto a qualquer momento.

Eu, _____
 (nome da paciente)
 portadora do RG _____, residente a _____ fone: _____
 aceito participar desta pesquisa.
 Nome da mãe: _____

Declaro ter recebido as devidas explicações sobre a referida pesquisa, que a participação é voluntária e que minha desistência poderá ocorrer em qualquer momento sem que ocorram quaisquer prejuízos físicos, mentais ou no acompanhamento deste serviço.

Recife: ____/____/____

 Assinatura da paciente

 Assinatura do pesquisador

 Assinatura da testemunha 1

Certos de poder contar com sua autorização, colocamo-nos à disposição para esclarecimentos, através do telefone (81) 99764603, falar com Dra. NANCY CRISTINA FERRAZ DE LUCENA FERREIRA Serviço de Mastologia do Hospital Barão de Lucena, pesquisador responsável pela pesquisa.

APENDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

SAÚDE DA MULHER:

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES PARA CANCER DE MAMA

Você está sendo convidada a participar desta pesquisa porque você recebeu o diagnóstico de câncer de mama. Para que você possa decidir se quer participar deste estudo, a seguir serão esclarecidos os objetivos da pesquisa que será feita no seu material genético, a fim de que todas as informações importantes sejam explicadas. Assim, você poderá tomar sua decisão conhecendo todos os benefícios, riscos e implicações que possam ocorrer devido à pesquisa. Caso tenha alguma dúvida ou não tenha entendido algo, por favor, pergunte novamente até que tenha compreendido tudo. Esclarecemos ainda que você é livre em decidir se gostaria de participar deste estudo e que isso não influenciará seu tratamento ou seu atendimento neste hospital. Dessa forma, este estudo não implicará em nenhuma mudança no tratamento que seu médico prescrever.

OBJETIVO DO ESTUDO

O objetivo deste estudo é identificar alterações genéticas que ocorrem em mulheres da nossa região que apresentam câncer de mama através de uma análise do sangue e do tecido do tumor da mama. Através da análise deste material tentaremos descobrir alterações genéticas que possam estar associadas a uma resposta adequada ou não frente aos tratamentos, possibilidade de descoberta de novos métodos diagnósticos, bem como identificar possíveis biomarcadores relacionados ao sucesso terapêutico.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Para participar do estudo você deverá fornecer amostras de sangue e do tecido tumoral de mama para a realização dos testes genéticos. O material genético será extraído do tecido do tumor da mama e do sangue e, através de técnicas de laboratório, será feito a pesquisa de alterações genéticas. **Importante:** O material tumoral da mama será obtido durante procedimentos para diagnóstico ou tratamento nesta instituição.

Caso receba a indicação médica de tratamento com algum medicamento oncológico de uso prolongado (para uso previsto em tempo maior que um mês) poderá ser solicitado que você participe de uma nova coleta de sangue. Coletaremos amostras de sangue durante o primeiro ano deste tratamento (antes do uso, 3 meses, 6 meses e 12 meses após início do uso da medicação), para sabermos quanto dele foi metabolizado e excretado desta medicação, bem como pesquisa de possíveis proteínas associadas ao processo cancerígeno (biomarcadores). Nestes dias de coleta você deverá estar em jejum por pelo menos 4 horas e não deverá ter feito uso de qualquer bebida alcoólica. A coleta de sangue é feita na veia do braço com uma agulha, sendo retirado o equivalente a duas colheres de sopa de sangue para o teste. Os testes genéticos serão realizados no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco (LIKA/UFPE), onde todo o material ficará armazenado.

Além dos dados citados acima, serão coletadas algumas informações sobre sua doença e sobre os medicamentos dos quais faz uso. Para tal solicitaremos que você participe de uma breve entrevista ao assinar este documento e demais informações serão coletadas do seu prontuário e com seu médico. Coletaremos dados tais como idade, sexo, histórico reprodutivo, localização do tumor, tipo do tumor, e tratamentos que você já fez, além de resultados clínicos e laboratoriais pertinentes ao seu tratamento.

Se for o caso de utilizar medicação oncológica de uso prolongado, serão realizadas entrevistas durante a sua consulta com a equipe médica responsável pelo seu tratamento para determinar se você vem tomando a medicação de modo adequado ou se você tem alguma queixa relacionada ao uso da medicação. Todas informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente.

Se você concordar em participar desse estudo, o seu médico fará uma solicitação ao laboratório de patologia dos blocos de parafina do tumor de mama para uma revisão das lâminas.

Você será acompanhada quanto ao seu tratamento pela equipe médica da instituição e continuará realizando suas consultas e exames laboratoriais conforme rotina da instituição e curso do seu tratamento.

MÉTODOS ALTERNATIVOS

Não existem métodos alternativos a sua participação neste estudo. Caso você não queira participar, nenhuma amostra será coletada ou analisada, bastando para isso, que você não assine este Termo de Consentimento. Seu acompanhamento ou tratamento não será modificado pelo fato de você não querer participar deste estudo.

ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Serres Humanos		UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE / UFPE-	
--	--	---	--

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: SAÚDE DA MULHER: IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES PARA CANCER DE MAMA

Pesquisador: GLAUBER MOREIRA LEITAO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 47869315.0.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A CIÊNCIA E TECNOLOGIA - FACEPE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.514.112

Apresentação do Projeto:

Trata-se de emenda para inclusão do Hospital Barão de Lucena como co-participante no projeto.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Identificação de marcadores moleculares de importância clínica no diagnóstico, prognóstico e tratamento de tumores de mama, incluindo análises farmacogenéticas.

Objetivo Secundário:

•Avaliar a integridade gênica de alvos de interesse clínico no diagnóstico, prognóstico e tratamento do câncer de mama em amostras biológicas; •Observar a expressão de mRNA e proteínas em espécimes tumorais e sangue periférico; •

Identificar o perfil proteômico diferencial em amostras biológicas de pacientes com diferentes características clínicas e patológicas; •Identificar marcadores moleculares associados aos subtipos de câncer de mama em amostras teciduais e sangue periférico;

•Avaliar o perfil farmacogenético associado à conduta terapêutica utilizada para a paciente; •Acompanhar os desfechos clínicos (sobrevida global, sobrevida livre de recidiva da doença, resposta terapêutica, etc.) e associar aos resultados de

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do CCS	CEP: 50.740-600
Bairro: Cidade Universitária	
UF: PE	Município: RECIFE
Telefone: (81)2126-8588	E-mail: cepcos@ufpe.br