

LARISSA CABRAL MARQUES

**Estudo da influência de características clínicas,
patológicas e moleculares na possibilidade de
recorrência local após cirurgia conservadora da mama
em pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal *in
situ***

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção de título
de Doutor em Ciências.

Programa de Fisiopatologia Experimental

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Carlos S. D. de Barros

São Paulo

2021

LARISSA CABRAL MARQUES

**Estudo da influência de características clínicas,
patológicas e moleculares na possibilidade de
recorrência local após cirurgia conservadora da mama
em pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal *in
situ***

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção de título
de Doutor em Ciências.

Programa de Fisiopatologia Experimental

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Carlos S. D. de Barros

São Paulo

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Marques, Larissa Cabral
Estudo da influência de características clínicas,
patológicas e moleculares na possibilidade de
recorrência local após cirurgia conservadora da mama
em pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal in
situ / Larissa Cabral Marques. -- São Paulo, 2021.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Fisiopatologia Experimental.
Orientador: Alfredo Carlos Simões Dornellas de
Barros.

Descritores: 1.Neoplasias da mama 2.Carcinoma
ductal de mama 3.Carcinoma de mama in situ
4.Recidiva local de neoplasia 5.Nomograma
6.Marcadores biológicos 7.Radioterapia

USP/FM/DBD-434/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedico esta tese à Cassianna Cabral Marques pelo exemplo de fé, superação e amor pela vida, que deixou em sua breve passagem por este mundo. Obrigada por ter sido esse grande exemplo. Ainda estamos juntas, porém em lados diferentes do caminho. Um até breve!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Aos meus pais, Acácio e Gerúzia; irmã, Anabelly; e sobrinhos, Guilherme e Ana Raquel pelo amor, compreensão e incentivo que me impulsionam a ser melhor a cada dia.

AGRADECIMENTOS

À Disciplina de Fisiopatologia Experimental da Faculdade de Medicina da USP pela oportunidade de cursar a pós-graduação e, em especial, à Profa. Dra. Élia Caldini pelo exemplo e incentivo.

Ao meu orientador e mentor na vida acadêmica e profissional, Prof. Dr. Alfredo C. S. D. de Barros, por ser uma grande inspiração e pela bela maneira que influenciou a minha formação.

À Profa. Dra. Filomena Marino de Carvalho, por todo o estímulo e contribuição, e por ter criado condições para a concretização deste trabalho.

Aos médicos, Dr. Fernando N. Aguiar e Dra. Luciana Gurgel pela excelência na área de Patologia Mamária e pela grande contribuição na concretização deste projeto.

À Profa. Dra. Heloísa Andrade Carvalho pela realização da radioterapia em nossas pacientes e pelas valiosas sugestões neste trabalho.

Ao Dr. Alex Jones pela consultoria estatística feita com esmero e dedicação.

Às minhas colegas e amigas da Pós-graduação, Rebeca, Danúbia e Priscila, por compartilharem os desafios de um doutorado e me inspirarem com tamanha dedicação e disciplina.

Às funcionárias da Clínica Prof. Alfredo Barros pela receptividade e colaboração na coleta de dados.

Às minhas colegas de trabalho, Luciana Limongi, Raffaella Levy e Maria Carolina Gouveia pela receptividade em Recife e pelo companheirismo, tornando possível o trabalho em equipe e permitindo a conclusão desta tese.

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. REVISÃO DA LITERATURA	17
3.1 Avaliação histopatológica e molecular do carcinoma ductal <i>in situ</i>	18
3.2 O estágio pré-infiltrativo da evolução do câncer de mama	24
3.3 Alterações genéticas na progressão tumoral do carcinoma ductal <i>in situ</i> ...	29
3.4 O microambiente e o processo de invasão e progressão tumoral	35
3.5 Fatores associados à recorrência local no carcinoma ductal <i>in situ</i>	41
3.6 Modelos para estratificação do risco de recorrência local	46
3.7 Nomograma do Memorial Sloan Kettering Cancer Center	50
4. MÉTODOS.....	61
4.1 Variáveis do estudo	62
4.2 Critérios de elegibilidade	63
4.3 Técnica cirúrgica	63
4.4 Radioterapia	65

4.5 Tratamento sistêmico adjuvante	65
4.6 Seguimento das pacientes	65
4.7 Nomograma do Memorial Sloan Kettering Cancer Center	66
4.8 Nomograma modificado do Memorial Sloan Kettering Cancer Center ...	67
4.9 Desfechos oncológicos	67
4.10 Aspectos éticos	68
4.11 Análise estatística	69
5. RESULTADOS	74
5.1 População do estudo.....	75
5.2 Recidivas locais.....	76
5.3 Comparação do uso dos nomogramas do MSKCC original e modificado	78
6. DISCUSSÃO	108
7. CONCLUSÕES	125
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	127
9. ANEXO	150

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AEP	atipia epitelial plana
AUC	<i>area under curve</i>
BLS	biópsia de linfonodo sentinela
CDIS	carcinoma ductal <i>in situ</i>
CM	câncer de mama
cm	centímetros
COX-2	ciclo-oxigenase 2
DNA	ácido desoxirribonucleico
DP	desvio padrão
EBCTCG	Early Breast Cancer Trialist's Collaborative Group
EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i>
HDA	hiperplasia ductal atípica
HDU	hiperplasia ductal usual
HER 2	<i>human epidermal growth fator receptor type 2</i>
IHQ	imunohistoquímica
MSKCC	Memorial Sloan Kettering Cancer Center
mm	milímetros
PAAF	punção aspirativa por agulha fina
PD-1	proteína programada de morte celular 1
PD-L1	ligante da proteína programada de morte celular 1
RT	radioterapia
RSM	ressecção segmentar da mama
RL	recorrência/recidiva local

RE	receptor de estrogênio
RP	receptor de progesterona
RNA	ácido ribonucleico
SEER	Surveillance, Epidemiology and End Results
TILs	linfócitos infiltrantes intra-tumorais
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação das características clínicas entre as coortes deste estudo e do MSKCC.....	91
Tabela 2 – Comparação das características anatomopatológicas e tratamento entre as coortes deste estudo e do MSKCC	92
Tabela 3 – Comparação entre as taxas e o tipo de recidiva local das coortes deste estudo e do MSKCC	93
Tabela 4 – Distribuição das variáveis quantitativas clínicas avaliadas no estudo de acordo com a recidiva local, incluindo o nível descritivo	94
Tabela 5 – Distribuição das variáveis quantitativas anatomopatológicas avaliadas no estudo de acordo com a recidiva local, incluindo o nível descritivo.....	95
Tabela 6 – Distribuição dos marcadores por imunohistoquímica avaliados no estudo de acordo com a recidiva local, incluindo o nível descritivo	96
Tabela 7 – Distribuição da hormonioterapia adjuvante de acordo com a recidiva local, incluindo o nível descritivo.....	97
Tabela 8 – Fatores clínicos associados à recidiva local do carcinoma ductal <i>in situ</i> incluindo estimativas média de tempo (anos), intervalo de confiança de 95% (IC95%).....	98

Tabela 9 – Fatores anatomopatológicos associados à recidiva local do carcinoma ductal <i>in situ</i> , incluindo estimativas média de tempo (anos), intervalo de confiança de 95% (IC95%).....	99
Tabela 10 – Marcadores imunoistoquímicos associados à recidiva local do carcinoma ductal <i>in situ</i> incluindo estimativas média de tempo (anos), intervalo de confiança de 95% (IC95%).....	100
Tabela 11 – Tratamento adjuvante realizado e sua associação à recidiva local do carcinoma ductal <i>in situ</i> incluindo estimativas média de tempo (anos), intervalo de confiança de 95% (IC95%).....	101
Tabela 12 – Estimativas de risco de recidiva local para apresentação radiológica e margens cirúrgicas, intervalo de confiança de 95% (IC95%)	102
Tabela 13 – Probabilidade de recidiva local de acordo com o nomograma original do MSKCC e número de casos de recidiva local	103
Tabela 14 – Probabilidade de recidiva local de acordo com o nomograma modificado do MSKCC e número de casos de recidiva local....	104
Tabela 15 – Recorrência local em 10 anos em pacientes com alta ($\geq 10\%$) e baixa ($<10\%$) probabilidades de RL de acordo com o nomograma modificado do MSKCC	105
Tabela 16 – AUC para o escore de risco de recidiva em 5 anos com e sem radioterapia (nomograma do MSKCC original e modificado), intervalo de confiança de 95% (IC95%)	106
Tabela 17 – AUC para o escore de risco de recidiva local em 10 anos com e sem radioterapia (nomograma do MSKCC original e modificado), intervalo de confiança de 95% (IC95%).	107

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Carcinoma ductal *in situ* com comedonecrose, grau nuclear 3. Coloração em HE, aumento 200x12
- Figura 2** – Calcificações pleomórficas com distribuição segmentar. Exame anatomopatológico: Carcinoma ductal *in situ*, grau nuclear 3, com comedonecrose.....13
- Figura 3** – Carcinoma ductal *in situ*, grau nuclear 1, padrão cribriforme, sem comedonecrose. Coloração em HE, aumento 100x.....54
- Figura 4** – Carcinoma ductal *in situ*, grau nuclear 2, padrão cribriforme, sem comedonecrose. Coloração em HE, aumento 100x.....55
- Figura 5** – Carcinoma ductal *in situ*, grau nuclear 3, com comedonecrose. Coloração em HE, aumento 400x56
- Figura 6** – Classificação dos padrões arquiteturais no carcinoma ductal *in situ*.....57
- Figura 7** – Carcinoma ductal *in situ*, grau nuclear 3 com comedonecrose e intenso infiltrado inflamatório. Coloração HE, aumento 100x58
- Figura 8** – Carcinoma ductal *in situ*, com positividade para HER 2 (HER 2 3+) por imunohistoquímica. Aumento 200x59
- Figura 9** – Carcinoma ductal *in situ*, grau nuclear 2, padrão sólido, sem comedonecrose, com intenso infiltrado inflamatório e barreira de células mioepiteliais. Coloração HE, aumento 400x60
- Figura 10** – Ressecção segmentar da mama com marcação das margens cirúrgicas e ampliação imediata das margens70

Figura 11 – Resultado estético após cirurgia conservadora	71
Figura 12 – Nomograma do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center.....	72
Figura 13 – Nomograma modificado do Memorial-Sloan Kettering Cancer Center.....	73
Figura 14 – Tempo de seguimento da coorte em anos.....	80
Figura 15 – Curva do período livre de recorrência local dos indivíduos incluídos na investigação	81
Figura 16 – Distribuição de idade (anos) dos indivíduos estratificado de acordo com a presença de recidiva.	82
Figura 17 – Distribuição do tamanho do tumor (mm) estratificado de acordo com a presença de recidiva local.	83
Figura 18 – Distribuição do escore de risco de recidiva em 5 anos estratificado de acordo com a presença de recidiva local.	84
Figura 19 – Distribuição do escore de risco de recidiva em 10 anos estratificado de acordo com a presença de recidiva.	85
Figura 20 – Distribuição do escore de risco de recidiva em 5 anos (sem radioterapia) estratificado de acordo com a presença de recidiva.	86
Figura 21 – Distribuição do escore de risco de recidiva em 10 anos (sem radioterapia) estratificado de acordo com a presença de recidiva.	87
Figura 22 – Análise diagnóstica realizada pela técnica da curva ROC para avaliação do escore de risco de recidiva em 5 e 10 anos, com e sem radioterapia.....	88

Figura 23 – Análise diagnóstica realizada pela técnica da curva ROC para avaliação do escore de risco de recidiva em 5 anos, com e sem radioterapia (nomograma original e modificado).....	89
Figura 24 – Análise diagnóstica realizada pela técnica da curva ROC para avaliação do escore de risco de recidiva em 10 anos, com e sem radioterapia (nomograma original e modificado).....	90

Marques LC. *Estudo da influência de características clínicas, patológicas e moleculares na possibilidade de recorrência local após cirurgia conservadora da mama em pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal in situ*. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

INTRODUÇÃO A predição da possibilidade de recorrência local (RL) e a necessidade de radioterapia (RT) de rotina são pontos ainda controversos a respeito da terapia do carcinoma ductal *in situ* (CDIS) de mama, tratado por ressecção segmentar mamária (RSM) e RT. **OBJETIVOS:** Avaliar -1. a influência de diversos fatores nas taxas de RL; 2. a eficácia dos nomogramas do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center para CDIS, original e modificado, na predição do risco de RL; 3. a potencialidade do nomograma modificado para indicação de RT adjuvante. **MÉTODOS:** Estudo retrospectivo com dados coletados em prontuários de pacientes com CDIS tratados por RSM (com margens cirúrgicas livres) e RT. Foram analisados fatores clínicos, histopatológicos e moleculares. Os nomogramas do MSKCC para CDIS original (10 parâmetros) e modificado (9 parâmetros, com exclusão de RT) foram comparados em termos de predição de RL, pela análise de curvas ROC. Pacientes com estimativa de RL $\geq 10\%$ em 10 anos foram consideradas de alto risco, e $< 10\%$ como de baixo risco. Procurou-se analisar também o número de casos de RL nas pacientes com baixo e alto risco, para verificar a importância da inclusão ou de omissão da RT complementar. **RESULTADOS:** A incidência de RL nos 110 casos estudados foi de 7,3% (8 casos), sendo 62,5% invasivas e 37,5% *in situ*. O tempo de seguimento médio foi de 4,8 anos. O risco atuarial de RL foi de 5,4% em 5 anos e de 10,3% em 10 anos. As variáveis com impacto estatístico sobre o risco de RL foram a presença de comedonecrose ($p = 0,03$) e distância exígua do tumor até à margem ($p = 0,05$). As taxas de RL em 10 anos foram comparadas pelas AUC das curvas ROC e mostraram superioridade do nomograma modificado para identificá-las ($p = 0,03$). Foram consideradas de alto risco aos 10 anos pelo nomograma modificado 47 pacientes, com 6 RL (12,7%); de baixo risco foram 63, com 2 RL (3,1%), evidenciando tendência estatística ($p = 0,12$). **CONCLUSÕES:** 1. entre as variáveis clínicas, histopatológicas e moleculares, aquelas que mostraram ser fatores predisponentes à RL, com significância estatística, foram presença de

comedonecrose e distância tumor-margem cirúrgica exígua; 2. o nomograma modificado do MSKCC para CDIS foi significativamente associado ao risco de RL, enquanto que o nomograma original não; 3. o nomograma modificado do MSKCC para CDIS demonstrou ser instrumento útil na prática, para reforçar a indicação de RT complementar.

Descritores: Câncer de mama; carcinoma ductal *in situ*; recidiva local; nomograma; marcadores biológicos; radioterapia.

ABSTRACT

Marques LC. Evaluation of the influence of the clinical, pathological and molecular characteristics over the possibility of local recurrence after breast-conserving surgery in patients diagnosed with ductal carcinoma in situ. [Thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

INTRODUCTION: The prediction of local recurrence (LR) possibility and the necessity of routine radiation therapy (RT) are still controversial topics in the treatment of ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast, managed by breast conserving surgery (BCS) and RT. **OBJECTIVES:** Evaluate -1. influence of several factors over LR rates; 2. the efficiency of the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) DCIS nomograms, the original and modified, for LR risk prediction; 3. the potential role of the modified nomogram for adjuvant RT recommendation. **METHODS:** Retrospective study with collected data in the files of DCIS patients treated by BCS (with clean surgical margins) and RT. Clinical, pathologic and molecular factors were analysed. The MSKCC DCIS nomograms, the original (10 parameters) and the modified (9 parameters, with RT exclusion) were compared in terms of LR prediction, through ROC curves analysis. Patients with LR estimates $\geq 10\%$ in 10 years were considered at high-risk, whereas estimate $< 10\%$ were considered at low-risk. It was also verified the number of LR cases in patients at low and high-risk, to forecast the importance of the prescription or omission of adjuvant RT. **RESULTS:** The incidence of LR among the 110 studied patients was 7.3% (8 cases), being 62.5% invasives, and 37.5% *in situ*. Follow-up mean time was 4.8 years. The actuarial risk for LR in 5 years, was 5.4%, and 10.3% in 10 years. The variables with statistical impact were comedonecrosis ($p = 0.03$) and a exiguous tumor-margin width ($p = 0.05$). LR rates in 10-years were compared by ROC curves, AUCs showing the superiority of the modified nomogram ($p = 0.03$). Forty seven

patients were at high-risk in 10 years by the modified nomogram, and among them 6 developed LR (12.7%), 63 were at low-risk, and 2 (3.1%) had LR, evidencing a statistical tendency ($p= 0.12$). **CONCLUSIONS:** 1. comedonecrosis and exiguous tumor-margin width were predisposing factors for LR; 2. the modified MSKCC DCIS nomogram was significantly associated with LR risk, whereas the original nomogram was not; 3. the modified MSKCC DCIS nomogram seems to be an useful tool in clinical practice, aiding the reinforcement of RT recommendation.

Keywords: Breast cancer; ductal carcinoma in situ; local recurrence; nomogram; biological markers; radiotherapy.

1. INTRODUÇÃO

O termo carcinoma ductal *in situ* (CDIS) é definido como a proliferação de células epiteliais confinadas ao sistema ducto-lobular, caracterizada por marcada atipia citológica com tendência à progressão para carcinoma invasivo (Figura 1). As células epiteliais anormais possuem características semelhantes ao carcinoma invasor, contudo, estão restritas aos ductos mamários, não existindo invasão estromal ou linfática.¹ A invasão é definida morfológicamente pelo rompimento da barreira da membrana basal subepitelial e a infiltração das células epiteliais malignas no estroma adjacente.²

O número de mulheres diagnosticadas com CDIS nas últimas décadas vem aumentando progressivamente, seguindo à expansão do rastreamento do câncer de mama (CM) de base populacional. Com o emprego mais frequente da mamografia, a incidência desta neoplasia cresce acentuadamente em todo o mundo desde a década de 80, especialmente entre as mulheres com idade superior a 50 anos, representando 20–25% dos casos de tumores de mama detectados por exames de rastreamento.³ Antes dos programas de rastreamento mamográfico, a frequência de CDIS era baixa, correspondendo a aproximadamente 2–3% dos tumores palpáveis; em uma década, a incidência chegou a subir 9 vezes.^{4,5}

Nos EUA, a taxa de incidência de CDIS cresceu 2,4 vezes na década de 1990, com aproximadamente 30 casos por 100.000 mulheres desde a década de 1980. Também houve aumento de 4 vezes nos casos na Europa de 1989 a 2011.⁶

No Brasil pouca informação foi publicada sobre a epidemiologia do CDIS, os registros disponíveis são deficientes em número e qualidade. Estima-se que sua prevalência varia entre 6,6 e 8,9% dos casos de CM.^{7,8} Apesar do aumento

na incidência, a mortalidade por CDIS apresenta níveis muito baixos, principalmente em virtude da detecção de lesões cada vez menores, melhora nos tratamentos oferecidos e melhor controle local.⁶

A maioria das pacientes é clinicamente assintomática, com mamografia e/ou ultrassonografia anormais.⁹ Nos poucos casos, cerca de 10%, com achados ao exame clínico, os principais sinais e sintomas são: massa palpável (espessamento ou nodularidade), fluxo papilar ou doença de Paget. No passado, os CDIS eram diagnosticados quase na sua totalidade na forma sintomática, os assintomáticos eram raros.

A apresentação radiológica mais encontrada do CDIS é a presença de calcificações suspeitas na mamografia, o que ocorre em até 75% dos casos (Figura 2).⁵ Esse achado, às vezes com distribuição linear, pode traduzir indiretamente a proliferação da neoplasia intraductal em extensão pelos ductos mamários. Os CDIS de alto grau nuclear geralmente se manifestam na forma de calcificações ramificadas, pleomórficas ou lineares; enquanto os de baixo grau se apresentam amiúde como calcificações amorfas. As calcificações exibem padrão descontínuo algumas vezes, o que pode significar multifocalidade ou multicentricidade, ou ainda, disseminação de uma única lesão em padrão tridimensional.⁹ Holland et al.¹⁰ demonstraram que as lesões são contínuas quando analisadas em três dimensões, na maioria dos casos, criticando o antigo dogma da multicentricidade do CDIS.

Diante de alterações BI-RADS 4 ou 5, a realização de biópsia é mandatória. O diagnóstico histopatológico pode ser obtido por métodos minimamente invasivos, como as biópsias percutâneas, *core biopsy* ou biópsia a vácuo, guiadas por métodos de imagem, que podem ser ultrassonografia,

mamografia ou ressonância magnética, a depender do método que melhor identifica a lesão.¹¹ A punção aspirativa com agulha fina (PAAF) tem pouco valor, devido à baixa sensibilidade para o diagnóstico de câncer e incapacidade de diferenciar lesões *in situ* de invasivas.

Os parâmetros histológicos como grau nuclear, presença de comedonecrose, extensão da lesão e padrões arquiteturais devem ser incluídos no relatório de patologia e essas variáveis ajudam na revisão do comportamento biológico da lesão.¹² A descrição patológica adequada deve contemplar as diversas variáveis tumorais associadas, resultando em mais precisão sobre a associação dos achados clínicos, anatomopatológicos e moleculares com o comportamento biológico e a progressão neoplásica.¹³

O tratamento do CDIS é focado na remoção cirúrgica completa da doença na mama, seguindo indicações semelhantes às utilizadas para o manejo do CM invasivo, com o objetivo de prevenir a RL, principalmente na forma invasiva. Para esse fim, as opções de tratamento apropriadas incluem mastectomia, adenectomia mamária ou RSM, com ou sem RT, e terapia endócrina nos tumores com expressão de receptores hormonais. Cada uma dessas opções não mostra impacto importante na mortalidade pela doença, embora as taxas de RL sejam diferentes de acordo com o tratamento aplicado e as recidivas invasivas sejam marcadores da possibilidade de metastatização.⁵

A mastectomia foi o tratamento padrão durante décadas, todavia, em função da mutilação inerente, é empregada atualmente nos tumores extensos pelos exames pré-operatórios, multicêntricos ou quando não é possível se obter margens livres com a cirurgia conservadora. A RL após mastectomia é baixa, podendo atingir 2,6% em 10 anos.³

A adenectomia mamária pode ser realizada em CDIS extensos, calcificações difusas ou multifocalidade. A neoplasia deve ter uma distância de pelo menos 2,0 cm do complexo aréolo-papilar e as margens cirúrgicas retroareolares precisam estar livres, de preferência também os ductos intrapapilares. A sobrevida livre de doença em 10 anos chega quase a 100%, sendo um procedimento oncológicamente seguro quando são obedecidos todos os critérios para sua realização.^{14,15}

As pacientes tratadas com mastectomia e adenectomia devem ser submetidas à biópsia do linfonodo sentinela axilar (BLS), devido ao risco de subestimação diagnóstica e posterior impossibilidade de avaliação adequada do *status* axilar.¹¹

Nos últimos anos, a combinação de cirurgia conservadora da mama, tipo RSM, seguida de RT tornou-se a abordagem de tratamento mais utilizada para mulheres com CDIS, unindo controle local satisfatório e resultado estético favorável.¹⁶

O sucesso do tratamento conservador seguido de RT complementar foi demonstrado por dois grandes estudos randomizados, o NSABP B-17¹⁷ e o EORTC 10853.¹⁸ Ambos demonstraram sobrevida global semelhante à mastectomia, com redução em 50% de RL, quando comparados à excisão tumoral isolada.⁵ A RT é considerada um complemento importante da cirurgia.¹⁹

Uma revisão do EBCTCG mostrou que a taxa de RL em 10 anos foi de 28,1% com cirurgia conservadora isolada em comparação com 12,9% com RSM e RT, mostrando redução superior a 50% na taxa de RL. Esse benefício foi independente da idade da paciente, tamanho do tumor e estado das margens.²⁰

Mesmo em tumores de risco baixo, definidos como tumores de grau 1 ou 2; < 2,5 cm; com margens > 3 mm; em 12 anos de seguimento a taxa de RL foi de 11,4% *versus* 2,8% (RSM *versus* RSM seguida de RT), confirmando o benefício da radiação adjuvante mesmo na população de baixo risco. No entanto, o bom controle local não resultou em significativa melhora na mortalidade específica por câncer de mama.²¹

A terapia endócrina, com o uso de tamoxifeno, aliada à combinação de RSM e RT pode reduzir o risco de RL em aproximadamente 30%, com benefício do tamoxifeno limitado às mulheres cujo CDIS apresente expressão de receptores de estrogênio (RE) e/ou progesterona (RP).²² O inibidor da aromatase, anastrozol, igualmente mostrou redução do risco de RL em mulheres com CDIS tratadas com RSM e RT, principalmente em pacientes na pós-menopausa com idade inferior a 60 anos.²³

A taxa de RL é bastante variável, de acordo com os estudos, porém no geral ocorre em aproximadamente 12% dos casos tratados com RSM em 15 anos. Essa variabilidade decorre principalmente da falta de padronização na avaliação patológica das características do CDIS e variabilidade na população dos estudos.²⁴

A mortalidade específica por CM em pacientes com diagnóstico de CDIS em 10 anos é cerca de 1,1% e em 20 anos de 3,3%.²⁵ De acordo com Giannakeas et al.²⁶ a mortalidade nas pacientes tratadas com mastectomia foi 2,2%, nas pacientes tratadas com RSM e RT a mortalidade foi de 2,8%, enquanto naquelas submetidas apenas a RSM a mortalidade foi de 3,4%, sem diferença estatística significante.

Nas pacientes que desenvolvem RL invasiva o risco de morte aumenta.²⁷ Giannakeas et al.²⁸ compararam a taxa de mortalidade em pacientes com CDIS sem RL e aqueles que desenvolveram RL invasiva: em 5 anos a taxa de mortalidade foi de 5,3% no grupo sem RL, ao passo que, nos casos que recidivaram na forma invasiva a mortalidade foi de 8,4%; em 10 anos foi 9,0% *versus* 14,1%; e em 15 anos 11,4% *versus* 16,1%.

Apesar do bom prognóstico, o diagnóstico de CDIS gera impacto psicológico e social relevante nas pacientes e ainda as expõe à toxicidade do tratamento. A morbidade da cirurgia e das terapias adjuvantes e a ansiedade gerada com o diagnóstico são considerados fatores importantes relacionados à piora da qualidade de vida dessas mulheres.^{13,29}

A despeito da redução da radicalidade cirúrgica no tratamento do CDIS, de mastectomia para RSM e RT (com ou sem terapia endócrina), a adição de terapias adjuvantes ainda pode implicar em *overtreatment* para certas pacientes. A eventual indicação indiscriminada de tratamento para todos os CDIS pode não trazer benefício significativo em parte dos casos, uma vez que não se traduz em melhora da sobrevida global.⁵

Embora a história natural do CDIS não seja totalmente compreendida, evidências claras o apontam como um precursor não obrigatório do CM invasivo e não apenas um marcador de risco aumentado.⁵

Erbas et al.,³⁰ em revisão sistemática avaliando pacientes com diagnóstico de CDIS apenas por biópsia percutânea e sem excisão cirúrgica posterior, encontraram taxa de progressão de até 53% para CM em seguimento médio de 15 anos. Como os resultados dessas biópsias foram inicialmente interpretados como benignos, as pacientes não receberam tratamento adequado. Nos estudos

analisados, a frequência relatada de CM invasivo subsequente variou de 20 a 53%, indicando que até metade dos casos pode progredir para a forma invasiva e que o CDIS é mesmo considerado uma variante obrigatória do CM infiltrativo. No entanto, desconhece-se a proporção de lesões pequenas detectadas pela mamografia, frequentemente encontradas na prática clínica atual, que poderão progredir realmente para CM invasivo.⁵

Sanders et al.³¹ relataram que 36% dos casos de CDIS, com resultado equivocadamente benigno, apresentaram evolução natural espontânea para doença invasiva no mesmo quadrante da lesão inicial, em seguimento de 47 anos. Segundo estes autores, o risco é maior nos primeiros anos após o diagnóstico, declinando nos anos subsequentes (75% foram diagnosticadas nos primeiros 13 anos e 25% posteriormente).

As recorrências invasivas ipsilaterais são 4 vezes mais frequentes que a incidência de CM contralateral em pacientes com CDIS.²⁵ Corroborando ainda com esse comportamento de lesão precursora, tem-se a importância de margens cirúrgicas livres após RSM. O risco de recorrência é maior em pacientes com margens positivas quando comparadas àquelas com margens negativas.³²

Wong et al.,³³ em estudo de fase II, avaliando pacientes com CDIS de graus baixo e intermediário, tumores pequenos e submetidas à excisão cirúrgica sem tratamento adjuvante, encontraram neste grupo estimativa de RL em 10 anos de 15,6%. Em estudo semelhante, Solin et al.³⁴ observaram taxa de recorrência de 14,4% para tumores de baixo grau e 24,6% para tumores de alto grau. Aproximadamente 52% das RL foram na forma invasiva. Apesar da diferença na RL, não houve diferença na mortalidade entre os grupos com e sem RL.

Sagara et al.³⁵ relataram desfechos de 57.222 mulheres com CDIS a partir dos dados do SEER, das quais 1.169 (2,1%) não haviam sido submetidas à ressecção cirúrgica. A cirurgia não foi relacionada à diferença de sobrevida em mulheres com CDIS de baixo grau, sugerindo que nesses casos vigilância ativa poderia ser aplicada.

Tentativas têm sido feitas para identificar um subgrupo de pacientes com baixo risco de RL, no qual a cirurgia e a RT não teriam vantagens significativas, e assim, médicos e pacientes poderiam pesar as vantagens e desvantagens das opções de tratamento. Nesse sentido, vários grupos iniciaram ensaios clínicos para comparar a vigilância ativa ao tratamento padrão-ouro em CDIS de baixo risco: estudo LORIS³⁶ no Reino Unido, estudo LORD³⁷ liderado por um grupo holandês, estudo COMET³⁸ nos Estados Unidos e LORETTA³⁹ no Japão.

O *overtreatment* e o *overdiagnosis* resultantes do rastreamento mamográfico são estimados, hoje, em aproximadamente 20%, principalmente devido ao acréscimo na identificação de casos de CDIS. Levando em consideração o excelente prognóstico do CDIS, os custos resultantes do tratamento e a morbidade das terapias, esses estudos tentam identificar um subgrupo de pacientes que se beneficiaria de uma vigilância ativa, sem comprometer os desfechos clínicos.⁴⁰ Os resultados ainda são aguardados para tentar solucionar essa questão.

No entanto, os critérios de seleção entre esses ensaios clínicos variam e apresentam taxas de subestimação diagnóstica que exigem cautela, atingindo 12% de tumores invasivos sincrônicos no espécime cirúrgico. Esses achados sugerem que parâmetros de elegibilidade mais precisos e robustos são

necessários para garantir que mulheres com carcinoma invasivo sejam excluídas dos possíveis protocolos de vigilância ativa.⁴¹

Foco maior na Medicina personalizada levou a uma série de esforços para avaliar com precisão o risco de RL para pacientes com CDIS e prever o benefício do de-escalamento da cirurgia e da RT. Atualmente, nenhum fator isolado é capaz de prever o comportamento de uma lesão. O dilema de evitar tratamentos mais agressivos que o necessário tem gerando controvérsias na literatura, principalmente devido à falta de dados sobre a evolução do CDIS.^{5,40}

Algumas questões críticas sobre o curso da doença e sobre a decisão terapêutica ainda precisam ser respondidas. Quais os casos que tendem a evoluir com recorrência invasiva? Quais os casos que poderiam receber conduta expectante? Quando deveria ser indicada a RT após RSM?

A recorrência tumoral tem grande impacto na qualidade de vida das pacientes com diagnóstico de CDIS da mama. Grande desafio é reconhecer qual o risco de recorrência individual através da criação de instrumentos capazes de estratificar o risco. O conhecimento da probabilidade de progressão de cada lesão pode auxiliar na escolha de estratégias de tratamento mais eficientes, oferecendo abordagens personalizadas de acordo com o comportamento biológico de cada lesão e avaliando o benefício do tratamento, otimizando os custos e sem acrescentar morbidade às pacientes. Esta foi a motivação deste estudo.

Uma ferramenta abrangente e facilmente reprodutível, capaz de estratificar o risco individual incorporando todos esses fatores e seu impacto quando associados, poderia auxiliar na tomada de decisão para pacientes e

médicos, especialmente quanto à indicação de RT complementar após cirurgia conservadora da mama.

Nomogramas são modelos matemáticos que auxiliam a prever os desfechos clínicos de um indivíduo. Rudloff et al.⁴² do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) criaram um modelo para estimar o risco de RL em 5 e 10 anos após o diagnóstico, baseado em casuística de 1.681 pacientes, avaliando a possibilidade de RL a partir de 10 características relacionadas a aspectos clínicos, morfológicos e tratamento realizado denominado MSKCC DCIS Nomogram.

No nosso trabalho, uma coorte de pacientes com diagnóstico de CDIS submetidas à RSM e RT foi analisada quanto às características clínicas, patológicas e moleculares eventualmente associadas ao aumento do risco de RL. Como estratégia de avaliação do risco de RL, testamos em nossa amostra a aplicação clínica do nomograma desenvolvido pelo MSKCC e uma versão modificada desta plataforma, com a omissão da variável RT, no sentido de analisar a possibilidade de RL, e com isso personalizar a indicação do tratamento radioterápico.

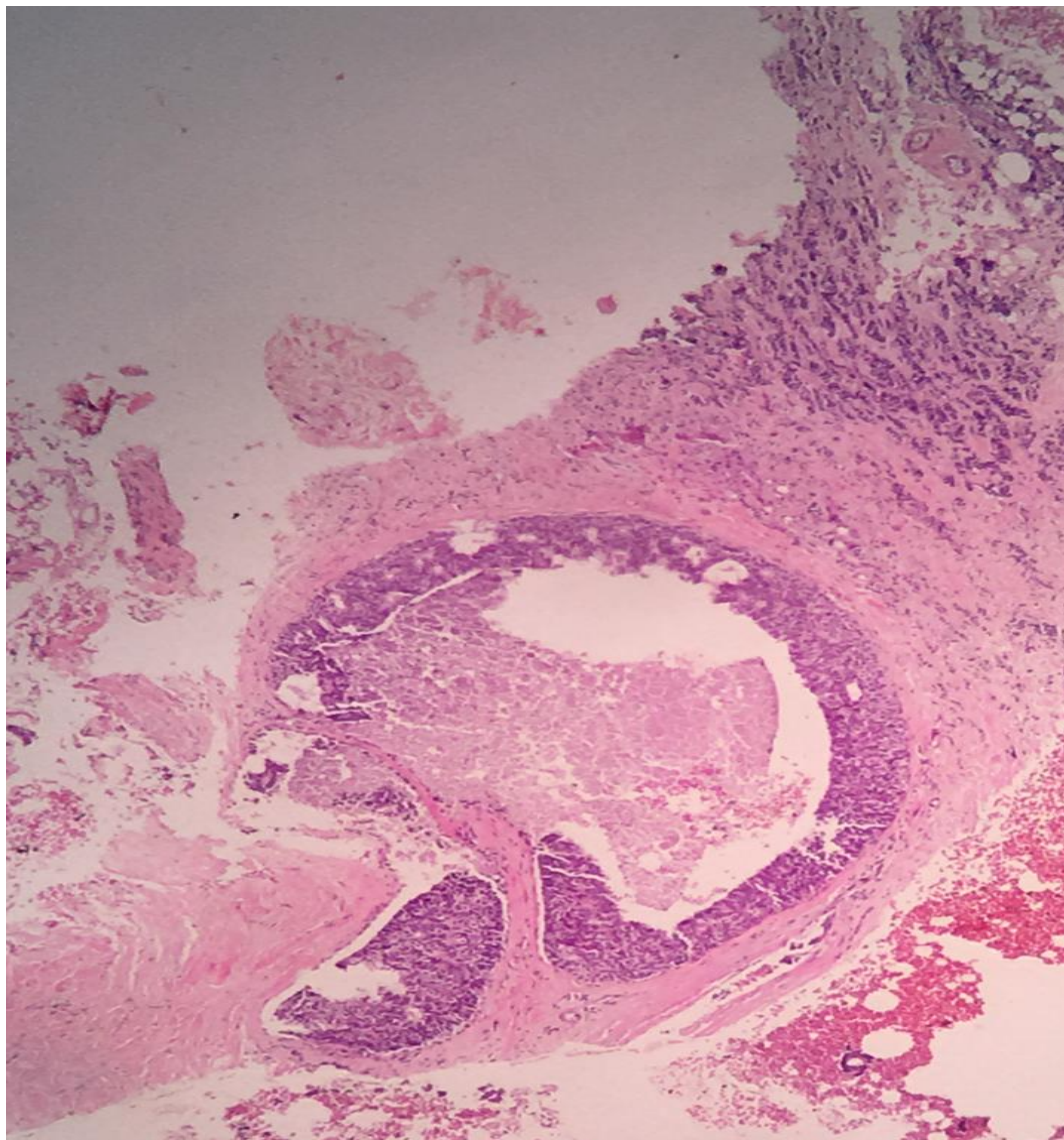


Figura 1 – Carcinoma ductal in situ com comedonecrose, grau nuclear 3. Coloração em HE, aumento 200X (Cortesia Dra. Luciana Gurgel).

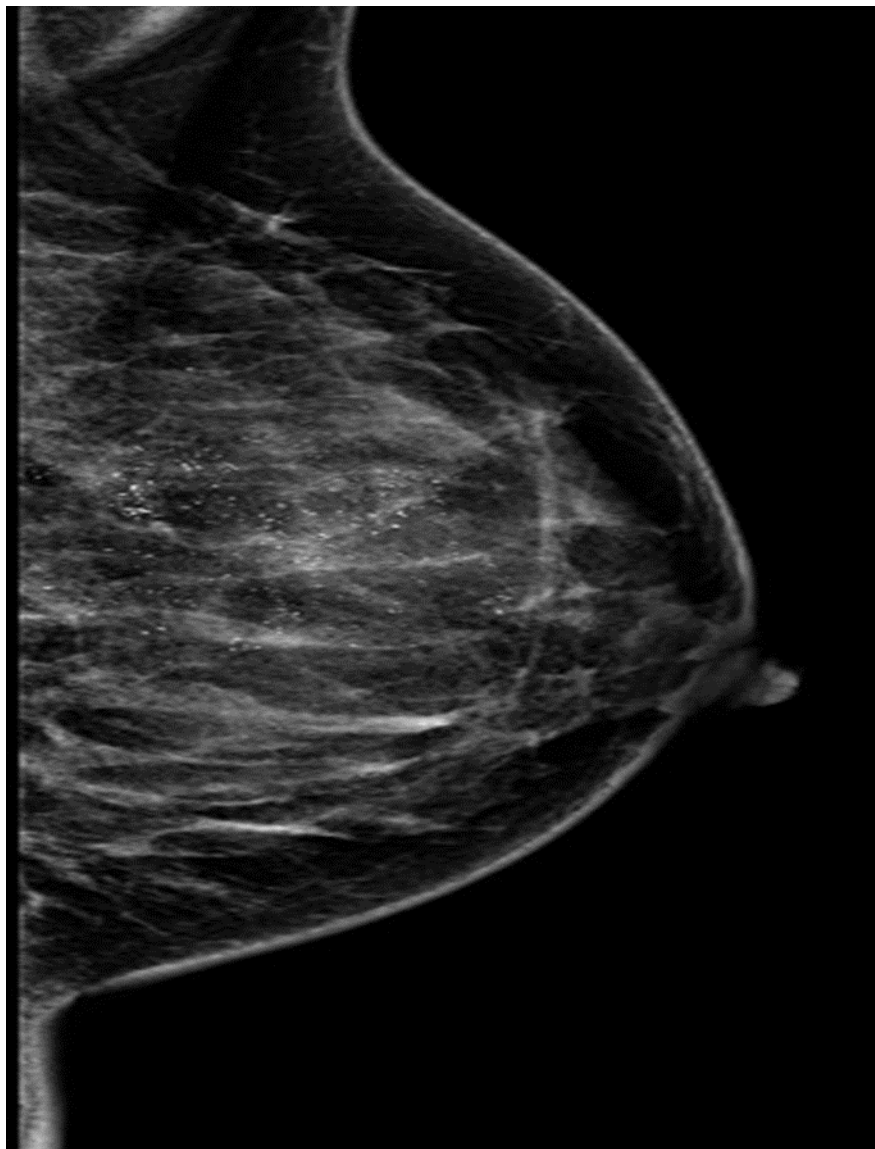


Figura 2 – Calcificações pleomórficas com distribuição segmentar. Exame anatomopatológico: carcinoma ductal in situ, grau nuclear 3, com comedonecrose.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Determinar fatores clínicos, anatomopatológicos e moleculares associados ao aparecimento de recidivas locais (invasivas e *in situ*) em pacientes com diagnóstico de carcinoma ductal *in situ* da mama, submetidas à cirurgia conservadora e radioterapia complementar.

2.2 Objetivos específicos

- 1) Analisar a possibilidade de predição de risco de recidivas locais pelos seguintes fatores:
 - a) Clínicos:
 - idade
 - estado menopausal
 - apresentação clínica
 - apresentação radiológica
 - histórico familiar de câncer de mama
 - ano do diagnóstico
 - tratamento adjuvante

b) Histopatológicos:

- grau nuclear
- presença de comedonecrose
- extensão da lesão
- padrão arquitetural
- estado das margens cirúrgicas

c) Marcadores moleculares:

- receptor de estrogênio
- receptor de progesterona
- expressão de HER 2

- 2) Avaliar a probabilidade de recidiva local pelo nomograma MSKCC DCIS.
- 3) Testar a possibilidade de usar um nomograma MSKCC DCIS modificado para a recomendação de radioterapia adjuvante.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Avaliação histopatológica e molecular do carcinoma ductal *in situ*

A correta descrição do exame anatomopatológico do CDIS é fundamental para o planejamento terapêutico. O laudo histopatológico adequado, de acordo com o Colégio Americano de Patologia, deve incluir o relato do tamanho da lesão, grau nuclear, presença e tipo de necrose, padrão morfológico arquitetural, presença e extensão de calcificações (para correlação clínica/radiológica), distância do tumor às margens cirúrgicas e perfil imunohistoquímico dos receptores hormonais.⁴³

Grau nuclear

Com base em características nucleares, incluindo o tamanho do núcleo, polarização celular, presença e tamanho do nucléolo, distribuição da cromatina e frequência das figuras de mitose, o CDIS é classificado em 3 graus: grau 1 (baixo grau): células monomórficas, pequenas, núcleos monótonos, cromatina fina e dispersa, raras figuras de mitose (Figura 3); grau 2 (grau intermediário): células com moderada variabilidade no tamanho, forma, proeminência do nucléolo e condensação da cromatina (Figura 4); grau 3: (alto grau): células atípicas, pleomorfismo nuclear intenso, cromatina irregular e grosseira, nucléolos proeminentes, figuras de mitose são comuns (Figura 5).

A classificação patológica do grau nuclear tem grande variabilidade entre os patologistas, já que os critérios são subjetivos, principalmente no grau intermediário.⁴⁴ Os sistemas de classificação mais modernos tendem a utilizar

o grau nuclear em combinação com outras variáveis, como a presença de necrose para graduação.⁴⁵

Padrão arquitetural

É a forma de classificação baseada em características celulares e padrão de crescimento. Pode ser do tipo sólido, micropapilar, cribriforme, papilífero (Figura 6).

O CDIS é extremamente diversificado histologicamente, tanto no que diz respeito ao grau nuclear, quanto à arquitetura. Há variedade de padrões de crescimento, embora comumente mais de um padrão esteja presente na mesma lesão. O padrão misto ocorre em mais de 60% dos casos. Essa classificação tem pouca implicação prognóstica e mínima repercussão clínica, além de baixa reprodutibilidade.⁴³

Presença e tipo de necrose

A necrose pode ser classificada em central (comedonecrose) ou focal (pontual). Na comedonecrose a porção central de um espaço intraductal comprometido é preenchida por células mortas e debris celulares. A presença de necrose é correlacionada com o achado de calcificações na mamografia, ou seja, a maioria das áreas de necrose é calcificada (Figura 7). Embora a necrose central esteja mais relacionada com alto grau nuclear, ela também pode ocorrer nos graus baixo ou intermediário; este tipo de necrose geralmente aparece como calcificações de padrão linear na mamografia. A necrose pontual (não comedo) ocorre quando o processo acomete individualmente células apoptóticas e é caracterizada por pequenos focos na luz intraductal.⁴⁶ A

avaliação da presença de comedonecrose também apresenta alto grau de variabilidade interobservadores. A proporção do diâmetro do ducto com necrose necessária para o diagnóstico de comedonecrose oscila amplamente entre os patologistas de mama, até mesmo entre os especializados.⁴⁷

Tamanho

A extensão é a estimativa do volume de tecido mamário comprometido por CDIS. Embora não seja importante para o estadiamento, a mensuração da lesão é necessária para o manejo do paciente. A medição precisa da extensão é geralmente difícil, pois o CDIS envolve a árvore ductal através de complexo padrão de ramificação tridimensional; outro aspecto que também dificulta a mensuração exata é que o sistema ductal e o tecido circundante são altamente compressíveis, com isso, as amostras podem ser distorcidas durante a cirurgia ou durante o processamento do tecido para a análise, ou comprimidas durante a radiografia da peça cirúrgica. Embora a medição precisa muitas vezes não seja exequível, uma estimativa o mais realista possível da extensão do CDIS reveste-se de importância prática.^{12,43}

A heterogeneidade ao longo de uma única lesão do CDIS pode também prejudicar a reprodutibilidade da avaliação morfológica. A discordância observada entre os patologistas na avaliação anatomopatológica pode explicar o poder prognóstico variável dessas diferentes características histopatológicas nos diversos estudos. Marcadores prognósticos adequados requerem robustez de avaliação, isto é, alta reprodutibilidade e, portanto, baixa discordância interobservadores.^{46,48,49}

A análise molecular igualmente deve ser realizada, uma vez que, é fator preditivo de resposta e prognóstico. Os subtipos moleculares, determinados por imunohistoquímica (IHQ), da mesma forma que os tumores invasivos, são baseados na expressão de RE, RP, superexpressão de HER2, expressão do receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e citoqueratinas basais (CK5/6).

No CDIS esses biomarcadores também refletem o comportamento biológico da doença. RE, RP e HER2 são os marcadores moleculares mais estudados tanto nos CM infiltrativos, quanto nos CDIS. Comumente, os mais utilizados em tumores *in situ* incluem RE e RP, devido ao papel da terapia endócrina no manejo terapêutico.⁵⁰ HER2 e Ki 67 são menos frequentemente relatados nos laudos histopatológicos, porém possuem importância na predição do prognóstico.^{12,51}

De acordo com esses parâmetros os CDIS podem ser categorizados como Luminal A (RE+/RP+/HER2-), Luminal B (RE+/RP+/HER2+), HER2 superexpresso (RE-/RP-/HER2+) e triplo-negativos (RE-/RP-/HER2-); fenótipos moleculares semelhantes aos observados no CM invasivo usando marcadores de IHQ (Figura 8).^{52,53}

O RE pertence à família de receptores de hormônios nucleares, que funcionam como fatores de transcrição quando estão unidos aos seus respectivos ligantes. Os RE e RP são partes de vias complexas de sinalização que interagem com múltiplas vias de sobrevivência e proliferação na célula e desempenham papel crítico no desenvolvimento e progressão do CM. Eles provaram ser úteis como fatores prognósticos e, mais importante ainda, como

fatores preditivos de resposta à hormonioterapia, no manejo clínico dos pacientes.^{12,44}

A frequência de RE no CDIS puro é semelhante ao CM invasivo: aproximadamente 70%, assim como a expressão de RP (aproximadamente 60%).⁵¹ Os RE estão mais associados com baixo grau nuclear e outras características biológicas favoráveis, principalmente quando em combinação com alta expressão de RP. O *status* RE negativo é considerado um preditor para a RL.

Em geral, semelhante ao CM invasivo, para se obter benefício da terapia endócrina a amostra deve ter coloração nuclear em pelo menos 1% das células tumorais. A informação de positividade para RE e RP é imprescindível para escolha desse tratamento adjuvante.^{12,53}

O oncogene HER2 está envolvido na regulação da proliferação, sobrevivência, motilidade e invasão celular. A expressão de HER2 também está vinculada à promoção da carcinogênese, contribuindo para a diminuição da adesão celular e aumento da motilidade das células tumorais.⁴⁴

Os subtipos HER2, aproximadamente 30% dos casos, e triplo-negativos são os mais relacionados ao alto grau nuclear e outras características de pior prognóstico, com maior chance de recorrência e tumor invasivo sincrônico^{12,53}. Segundo Doebar et al.⁵⁴ essas pacientes apresentam idade jovem e lesões extensas.

A superexpressão de HER2 no CDIS está implicada em maior taxa de RL e menor tempo até a recorrência. O significado terapêutico do HER2 nos tumores *in situ* é considerado promissor, contudo, por ora, é objeto de estudo.^{55,56}

O estudo NSABP B-43⁵⁶ foi o primeiro estudo de fase III, randomizado, cujo objetivo foi avaliar o papel do trastuzumab na sobrevida livre de doença, no intervalo livre de recorrência e na sobrevida global, em casos de CDIS após RSM com margens livres, comparado ao uso de RT isoladamente. Seus resultados preliminares mostraram redução da recorrência de 19%, porém sem diferença estatisticamente significativa quando comparado ao grupo sem uso do trastuzumab.

Outrossim, a quantificação do Ki67, marcador de divisão celular, também é apontada como preditor de RL, embora não seja colocada nos laudos de patologia com frequência. A alta expressão de Ki67 pode estar implicada em maior risco de RL invasiva e não invasiva. A taxa de recidiva pode aumentar em até 60% nos casos com alta expressão, em comparação com o grupo de baixa expressão, levantando a hipótese de que seja um biomarcador valioso para estratificação de risco.^{12,57}

A classificação molecular em subtipos pode relacionar-se com o grau nuclear. CDIS de baixo grau geralmente são tumores RE positivos e fenótipo luminal, enquanto os de alto grau se apresentam como tumores RE negativos, HER2 superexpressos e fenótipo *basal-like*.⁵

Os CDIS com tumor invasivo sincrônico têm maior taxa de tumores HER2 superexpressos e RP negativo ou baixo, sugerindo a participação do HER2 na iniciação e na progressão tumorais. A amplificação do HER2 pode aumentar até 3 o risco de RL, em relação aos tumores HER2 negativos e também está ligada à maior extensão tumoral.^{51,56}

Aguiar et al.⁵⁸ encontraram significativa correspondência entre o grau nuclear, expressão de RE/RP, expressão de HER2 e perfil molecular entre os

componentes *in situ* e invasivos sincrônicos. Isso sugere que, fatores prognósticos e preditivos podem ser determinados na fase pré-invasiva da doença.

Os biomarcadores estabelecidos que hoje são mais usados para a tomada de decisão clínica são RE e RP. Eles devem ser considerados para a escolha de terapia endócrina adjuvante já que, além de indicadores prognósticos, têm papel como preditores de resposta ao tratamento. Os outros biomarcadores, como HER2 e o marcador de proliferação Ki67 têm significado prognóstico, entretanto seu uso clínico é considerado experimental.¹²

3.2 O estágio pré-infiltrativo da evolução do câncer de mama

O CDIS é considerado uma entidade precursora não obrigatória do CM invasivo. Alguns modelos evolutivos foram propostos para descrever essa progressão.^{59,60,61}

Existem vários modelos teóricos que buscam explicar a carcinogênese mamária. Um deles considera que haja evolução linear de lesões hiperplásicas até tornarem-se invasoras. O processo desencadeia mutações genéticas e/ou epigenéticas aleatórias em qualquer célula epitelial, conferindo capacidade de proliferação descontrolada e resistência à apoptose; esse é conhecido como modelo estocástico. A capacidade de invasão é considerada característica adquirida através das alterações genéticas durante a evolução tumoral. Com a progressão tumoral, ocorrem alterações genéticas adicionais e mudanças no microambiente, levando a heterogeneidade intratumoral.^{60,61,62,63}

Outra teoria sugere que alterações genéticas produzem um clone neoplásico, com capacidade de auto-renovação e de gerar progenitores distintos, sem haver progressão, evoluindo para uma das duas linhagens de células neoplásicas: a das células epiteliais luminiais, que expressam RE; e das células mioepiteliais, que formam tumores basalóides sem expressão de RE. Esse é o modelo baseado em células-tronco, que são células indiferenciadas com capacidade de auto-renovação e diferenciação em diversas linhagens, sendo a origem de todos os tumores.^{64,65}

O outro modelo de carcinogênese, conhecido como modelo ramificado, é baseado na evidência de que CDIS de baixo e alto grau e os carcinomas invasivos têm perfis moleculares diferentes e, portanto, evoluem por meio de vias evolutivas distintas.⁶¹ CDIS de baixo grau têm menor número de alterações genéticas, são geralmente diplóides ou quase diplóides, expressam RE e RP. Em contraste, os CDIS de alto grau são geralmente aneuplóides com perfis genéticos complexos e instabilidade genômica.⁴⁴

Singleton et al.⁶⁶ descreveram um modelo no qual, os estágios iniciais do processo de carcinogênese, incluindo as lesões hiperplásica e CDIS de baixo grau, são caracterizados por ativação da telomerase (enzima que confere capacidade de imortalização às células) e desregulação das ciclinas (proteínas reguladoras do ciclo celular). A partir daí, ocorrem sucessivas alterações genômicas com ativação de protooncogenes, como o HER2, e inativação de genes supressores tumorais, como o p53. Nas células alteradas inicia-se, então, uma série de transformações com expressão de receptores como os de fatores de crescimento e do fator de crescimento insulina-símile.

Wellings e Jensen⁶⁷ propuseram uma teoria na qual as lesões ductais hiperplásicas benignas são precursoras dos CM invasivos. Esse modelo postula que o evento iniciador na célula epitelial da unidade ducto-lobular terminal dá origem à atipia epitelial plana (AEP). A proliferação desta lesão origina a hiperplasia ductal atípica (HDA), proliferação epitelial monótona que preenche e distende os ductos e ácinos formando arranjos complexos do tipo cribriforme, micropapilar e sólido com rigidez arquitetural, caracterizada por atipia citológica de baixo grau. Com base neste modelo, a transição de um estágio para o seguinte depende principalmente do acúmulo de mutações genéticas aleatórias. De fato, mulheres com diagnóstico de HDA apresentam risco aumentado para CDIS e CM invasivo.

A análise matemática feita por Sontag e Axelrod,⁶⁸ publicada em 2005, pôs em xeque o tradicional modelo linear. Os autores analisaram 4 modelos diferentes de progressão do CDIS para CM invasivo, para verificar qual deles melhor descrevia as observações clínicas. Os modelos linear, não linear e ramificado descrevem o CDIS como progenitor do CM infiltrativo, com diferentes graus de CDIS progredindo para diferentes graus de CM. A via paralela, ao contrário, descreve CDIS e CM como derivando da célula progenitora comum e progredindo através de graus diferentes em paralelo. Sontag e Axelrod⁶⁸ descobriram que cada uma das 4 vias poderia descrever, em graus variados, as frequências observadas com as quais diferentes graus de CDIS e CM eram encontrados juntos em tumores heterogêneos. No entanto, a via paralela parece corresponder de maneira mais segura às observações clínicas.

Outro modelo de progressão tumoral aponta mais teorias. O modelo de linhagem independente (semelhante ao modelo de via paralela), com base em simulações matemáticas das frequências observadas do grau nuclear do CDIS e do grau histológico da doença invasiva na mesma amostra de biópsia, propõe que populações celulares *in situ* e invasivas surgem de diferentes linhagens celulares e se desenvolvem paralelamente e independentemente entre si.⁵⁹

Em apoio a essa teoria, Narod e Sopik⁶⁹ afirmaram que pequenos aglomerados de células neoplásicas com capacidade metastática se espalham concomitantemente através de várias vias para diferentes órgãos e, portanto, pode originar CDIS, CM invasivo e depósitos metastáticos simultaneamente.

Outra teoria propõe a hiperplasia ductal usual (HDU) como estágio intermediário entre a progressão de AEP para CDIS e como precursor de CDIS de baixo grau, porém não das lesões de alto grau.⁶³

As alterações genéticas relacionadas à transformação maligna são basicamente de 4 tipos: mudança na sequência de nucleotídeos, desvios citogenéticos do número de cromossomos diploides, rearranjos cromossômicos e amplificação, com a produção de múltiplas cópias do mesmo gene.

Acredita-se que essas alterações genéticas, necessárias no processo de carcinogênese, possam ser combinadas com fenômenos de metilação da base citosina do DNA em lesões precursoras, culminando em fenótipo de progressão convergente, muitas vezes não se perpetuando essas alterações nas células invasivas.

Hernandez et al.⁷⁰ ilustraram essa teoria avaliando a concordância de PIK3CA em lesões *in situ* e invasivas sincrônicas. A mutação do PIK3CA

diminuiu de 49% nos CDIS para 25% no componente invasivo. Essas alterações modificam o microambiente e o estroma tumoral, tornando-os favoráveis aos mecanismos de invasão, alterando a função da transição epitélio-mesênquima e de células como os fibroblastos, células mesenquimais e leucócitos.

Com a invasão, o tumor em expansão depende da neoangiogênese estimulada por hipóxia e por fatores fabricados nos fibroblastos associados ao tumor e por macrófagos, como COX-2 (ciclo-oxigenase 2), interleucina 6/8 e VEGF (fator de crescimento endotelial vascular). Na transição para a invasão, as metaloproteases da matriz extracelular passam a se elevar nas células estromais.^{44,71,72,73}

Uma vez submetidas às alterações iniciadoras, as células geneticamente modificadas passam a se multiplicar, estimuladas por fatores promotores, entre os quais, os hormônios esteroides, que são os mais importantes relacionados à carcinogênese mamária.⁷⁴

A transição para invasão requer a participação de fatores genéticos, hormonais e modificações no microambiente tumoral. A infiltração é consequência da interação de todas essas alterações. Provavelmente esses eventos atuam sinergicamente sob modulação do processo de imunoedição tumoral.^{73,75,76}

Esses modelos ilustram a complexidade potencial do processo de invasão no CDIS e indicam que lesões indolentes podem se tornar invasivas por meio de uma combinação de mais de um dos mecanismos propostos.^{62,77}

3.3 Alterações genéticas na progressão tumoral do carcinoma ductal *in situ*

O CDIS abrange um grupo biologicamente heterogêneo de lesões que diferem em relação à apresentação clínica, características histológicas, perfis de biomarcadores moleculares, anormalidades genéticas e potencial de progressão, resultando no comportamento variável de cada tipo tumoral.

O fenômeno responsável pela progressão das lesões mamárias até o CM invasivo permanece pouco esclarecido. Fatores envolvendo proliferação celular, apoptose, perda da heterozigose, degradação da matriz extracelular e perda da adesão celular, estão envolvidos nesse processo.^{60,70,77}

Nos CDIS já existem alterações genéticas que são típicas de lesões invasivas, significando que a instabilidade genômica é evento precoce na carcinogênese mamária. Numerosas linhas de evidência demonstram que o CDIS é precursor do CM e que ele abriga aberrações genéticas semelhantes às encontradas nos tumores infiltrativos sincrônicos e metacrônicos. Embora esses achados sugiram um padrão de evolução linear, existe a hipótese de que a progressão da doença *in situ* para a invasiva não seja necessariamente conduzida apenas por aberrações genéticas específicas nas células do CDIS.^{62,73,77}

Considera-se que células individuais dentro do mesmo ducto acumulam diferentes aberrações genéticas; entretanto, apenas uma subpopulação de células com perfil genético específico é capaz de superar a seleção evolutiva e invadir o tecido adjacente. Esse modelo é apoiado por estudos que relatam alta concordância genética entre lesões *in situ* e invasivas.⁴⁴

No modelo de invasão multiclonal, vários clones têm a capacidade de se evadir dos ductos e migrar para os tecidos adjacentes tornando-se CM invasivos. Casasent et al.⁷⁷ demonstraram, usando sequenciamento gênico de célula única, que a maioria das mutações e aberrações no número de cópias evoluiu dentro dos ductos, antes do processo de invasão. Mudanças nas frequências clonais foram observadas, sugerindo que alguns genótipos são mais propensos à invasão que outros. Os mesmos subclones estavam presentes nas regiões *in situ* e nas invasoras, sem alterações adicionais no número de cópias adquiridas durante a invasão e poucas mutações específicas da invasão.

Várias comparações entre o perfil genético do CDIS e do CM infiltrativo têm sido feitas para identificar biomarcadores genéticos que possam contribuir para a progressão da doença, usando uma variedade de tecnologias. O confronto dessas características genéticas de tumores *in situ* e invasivos sincrônicos, mostram padrão semelhante de modificações genômicas. Como exemplo, a expressão gênica das lesões de alto grau difere das de baixo grau, sendo muito semelhantes ao tumor invasivo quando há acometimento sincrônico. As lesões de baixo grau frequentemente exibem perda do 16q e 17p, ganho no 1q; enquanto, as de alto grau apresentam perda do 13q e amplificação do 17q12 e 11q13.⁴⁴

A análise genômica das lesões sincrônicas identifica mutações que não são detectadas em tumores *in situ* puros, de forma a permitir a especulação de que algum grau de seleção clonal ocorra durante a invasão.^{75,78}

Um dos principais impulsionadores das mudanças na expressão gênica são as modificações epigenéticas, que envolvem mecanismos biológicos de

alteração da expressão gênica sem alterar o DNA subjacente. A mudança epigenética mais estudada no CDIS é a metilação do DNA, que normalmente atua para reprimir a transcrição de genes. Como exemplo, o aumento da metilação de um subconjunto de genes promotores (TWIST1, FOXC1 e HOXA10) foi vinculado à progressão invasiva.^{78,79}

Mutações somáticas têm sido pesquisadas em CDIS. Entre os genes mais frequentemente mutados estão o PIK3CA e TP53, alterados em torno de 20% dos casos, seguidos por GATA3 e MLL3. Acredita-se que PIK3CA e TP53 estejam envolvidos com a iniciação genética e a proteína p53 seja mais atuante nas neoplasias de alto grau e com expressão de HER2.^{51,80} Mardekian et al.⁷³ encontraram mutações somáticas recorrentes em 5 genes: PIK3CA, TP53, AKT1, GATA3 e MAP3K1 que regulam vias de ativação de proliferação celular.

O p53 é um gene supressor tumoral, localizado no braço curto do cromossomo 17, sua proteína regula o ciclo celular e a apoptose. A desregulação do gene p53 está presente nos estágios iniciais da carcinogênese mamária. Em aproximadamente 20% dos casos de CDIS essa mutação está presente, especialmente nos tipos comedo e de alto grau. Mao et al.⁸⁰ analisaram a presença de mutação no p53 em lesões não invasivas da mama. Nos casos de HDU, não foi detectada nenhuma mutação; nas hiperplasias atípicas 12,7% apresentaram mutação e nos CDIS 21,6%, sugerindo que a mutação do p53 ocorre antes da invasão.

A expressão de GATA3 costuma ser alta em células luminais maduras e muito baixa nas células-tronco. No CM invasivo, o GATA3 é marcador de tumores RE positivos, enquanto os RE negativos com alto grau histológico,

comprometimento linfonodal e alto potencial para metástase possuem baixa expressão⁸¹. No CDIS a mutação do GATA3 e sua não preservação está vinculada aos tumores de alto risco para RL.⁸²

A perda da expressão do GATA3 ocorre no processo de progressão tumoral com atuação crítica na migração e invasão de células neoplásicas. Variantes GATA3 com capacidade de ligação ao DNA alterado levam à expressão reduzida de genes codificadores de RP e aumento da expressão de genes envolvidos na transição epitélio-mesênquima.⁸² Assellin-Labat et al.⁸³ mostraram alta expressão de GATA3 no CDIS em mulheres com melhor sobrevida livre de recorrência. O silenciamento epigenético é o mecanismo que melhor explica a perda da expressão do GATA3.

O gene CDH1 é responsável pela expressão da proteína E-caderina e está envolvido no processo de progressão tumoral. A E-caderina é uma proteína transmembrana responsável pela adesão celular cálcio-dependente, com importante contribuição no processo de migração celular. A diminuição da expressão desta proteína está ligada à progressão das lesões neoplásicas na mama de CDIS para CM invasor, alto grau nuclear, lesões mais indiferenciadas e com pior prognóstico. A hipermetilação é o processo que explica a perda progressiva da expressão de CDH1.^{84,85}

Facina et al.⁸⁶ observaram que há redução gradativa da expressão de E-caderina quando se comparou adenose esclerosante, CDIS e carcinoma invasivo tipo não especial, esse decréscimo ocorreu de acordo com o estado da lesão (*benigna versus maligna*).

Outro gene relacionado é o MMP2, responsável pela expressão das metaloproteinases da matriz extracelular. Essas enzimas atuam no processo

de carcinogênese, pois degradam a membrana basal, facilitando a invasão celular, angiogênese e metástase. Durante a transição para o CM invasivo, as células do estroma mostram expressão aumentada de várias metaloproteinases.^{74,85,87}

Diminuição da expressão de E-caderina e aumento da expressão dos genes relacionados às metaloproteinases, especialmente MMP2, são reconhecidos como os principais mediadores da transição epitélio-mesênquima, mecanismo básico para a invasão do estroma.^{84,88}

Possivelmente, as alterações de expressão gênica que ocorrem no CDIS sejam basicamente oriundas de fenômenos epigenéticos. A metilação do DNA, a modificação nas histonas e os microRNAs são os eventos epigenéticos conhecidos no momento para a regulação gênica da carcinogênese. Essas alterações dependem também de fatores ambientais e de estilo de vida.^{80,85,89} Segundo Fiegl et al.⁹⁰ esses eventos são mais frequentes em CDIS com amplificação do gene HER2 que nos HER2 negativos.

Os microRNAs são pequenos fragmentos de RNA, com 19 a 24 nucleotídeos, que atuam para silenciar mRNA específicos, e assim, modular a expressão gênica, podendo funcionar como supressores ou promotores tumorais a depender da mensagem que silenciam.⁸⁷ Hannafon et al.⁹¹ identificaram alguns microRNAs envolvidos no processo de tumorigênese, quando comparadas as amostras teciduais de pacientes com CDIS submetidas à excisão cirúrgica e pacientes com lesões benignas; *mic* 125b, que atua como supressor tumoral, está pouco presente nos CDIS, já *mic* 182 e 183, que atuam como promotor, estão superexpressos.

As análises de CDIS puro e com CM invasivo sincrônico mostram que algumas variantes são semelhantes entre CDIS e CM síncronos, apoiando a hipótese de relação clonal entre os estágios do tumor e possível seleção de subclones durante a progressão. PIK3CA e TP53 são os genes mais frequentemente mutados e as alterações provavelmente devem ocorrer no estágio *in situ* ou possivelmente antes.⁹²

Algumas diferenças qualitativas são encontradas entre CDIS e CM invasivo. Relatos sobre a prevalência de superexpressão do HER2 e amplificação do gene HER2 fornecem exemplos em que são observadas diferenças genômicas claras entre tumores invasivos adjacentes e lesões *in situ* puras ou lesões *in situ* sincrônicas; a amplificação do oncogene é mais frequente em CDIS puro quando comparada às lesões sincrônicas.⁵⁵

Em alguns tumores com superexpressão de HER2, verificou-se que a amplificação do mesmo estava presente no CDIS, mas não em eventual área de invasão concomitante e, alguns casos de CDIS mostraram heterogeneidade intratumoral da expressão de HER2. Esses dados indicam que a amplificação do HER2 pode ter sido perdida durante a progressão para a doença invasiva. Existem bases a favor da evolução fenotípica convergente na progressão tumoral e é plausível que a progressão do CDIS para o CM invasivo também constitua um fenótipo convergente podendo ser causada por numerosos mecanismos genéticos ou epigenéticos.^{55,78,93,94}

O potencial para a progressão invasiva não é aleatório e é provavelmente estabelecido na fase pré-infiltrativa; porém, alterações de transcrição da mensagem genética pode não ser controlada apenas por fatores genômicos,

ressaltando que a modificação do microambiente tumoral, em especial do estroma, tem participação na evolução da tumorigênese.^{87,92}

3.4 O microambiente e o processo de invasão e progressão tumoral

A progressão do epitélio mamário normal para CDIS ou CM infiltrativo é caracterizada por alterações nas células mioepiteliais, células do estroma e suprimento vascular.⁷⁴

As células mioepiteliais (Figura 9) sofrem regulação negativa de muitos genes, resultando na perda de sua habilidade de supressão tumoral e permitindo que as células epiteliais invadam a membrana basal. A perda da camada de células mioepiteliais caracteriza o processo de invasão tumoral. A angiogênese estimulada pela hipóxia local do tecido em proliferação neoplásica, e os fatores de crescimento, elaborados por fibroblastos e macrófagos associados ao tumor, sustentam o crescimento neoplásico em expansão.^{2,74,95}

A progressão do CDIS para CM invasivo começa com interações entre células epiteliais luminais neoplásicas e as células mioepiteliais. A expansão da neoplasia no estroma é impulsionada por alterações genômicas nas células malignas e também é resultado de interações com o microambiente tumoral que inclui células mioepiteliais, estromais, espaços vasculares e células imunológicas. As alterações nessas células fazem parte de intrincado processo de progressão tumoral que ainda requer melhor elucidação. O microambiente

imune tumoral sofre várias alterações durante a carcinogênese e a perda da função supressora das células mioepiteliais é evento chave na progressão tumoral do CDIS.^{2,74}

Função precípua do sistema imunológico é a manutenção da homeostase tecidual por imunovigilância contínua. O surgimento de respostas imunes que envolvem a ativação coordenada de células imunes inatas e adaptativas pode eliminar tumores incipientes.⁹⁶

Nas situações em que a eliminação é incompleta, a transformação neoplásica das células é capaz de escapar do controle imunológico. A imunoedição, que é a resposta imune desencadeada pelo tumor, define a progressão maligna, com base no contato de células imunológicas e tumorais, em 3 fases: eliminação, equilíbrio e escape. Atualmente sabe-se que mesmo em estágios avançados da doença, os parâmetros imunológicos, como composição e densidade do infiltrado inflamatório, influenciam direta ou indiretamente no prognóstico do paciente oncológico.^{20,51,97}

Como já foi dito, o desenvolvimento e a progressão do tumor dependem da influência das células tumorais e seu microambiente, incluindo as células de defesa imunológica.⁹⁸ A infiltração das células imunes no estroma e no tumor, pode promover o crescimento tumoral e a progressão neoplásica. A resposta imune do hospedeiro tem importante função na progressão tumoral do CM e na resposta à terapia sistêmica. Linfócitos infiltrantes, tanto os intratumorais (TILs) quanto os presentes no tecido conjuntivo, refletem a resposta imune adaptativa do hospedeiro e estão ligados à melhora dos desfechos oncológicos nos tumores invasivos.^{99,100,101}

Man et al.¹⁰² vislumbraram que uma série de eventos, incluindo a infiltração de células imunes T citotóxicas no sítio danificado da membrana basal, contribui para a liberação de enzimas que destroem a camada de células mioepiteliais contribuindo para a progressão.

A infiltração de linfócitos T pode desencadear resposta antitumoral através dos linfócitos T citotóxicos CD8+, enquanto a resposta imunossupressora ocorre através das células T reguladoras CD4 + FOXP3 + (Tregs), linfócitos B. O papel dos TILs no CM invasivo é bem validado, com alta densidade de TILs ligada à melhor resposta à terapia adjuvante ou neoadjuvante e prognóstico favorável, especialmente nos subtipos triplo-negativo e HER2 superexpresso. No entanto, existem dados conflitantes para o significado dos TILs no prognóstico do CDIS, com alguns estudos apontando como fator desfavorável.^{97,98,99,103}

O desenvolvimento do microambiente imunossupressor é um componente relevante da imunoedição tumoral. A proteína programada de morte celular (PD-1) envia sinais inibitórios para as células T para suprimir a resposta antitumoral. PD-1 funciona principalmente por meio de seu ligante PD-L1, que é expresso em uma variedade de células imunes, como células apresentadoras de antígenos, linfócitos T e B ativados e células tumorais.¹⁰³

A associação contraditória dos TILs como marcador de bom prognóstico no CM invasivo, e de mau prognóstico no CDIS, significa que o contato direto entre células tumorais invasivas e células imunológicas leva à destruição de células tumorais e, portanto, melhor prognóstico no CM infiltrativo; enquanto no CDIS, a reação inflamatória densa poderia fornecer um caminho para a destruição da camada mioepitelial circundante e da membrana basal. Essa

facilitação da infiltração de células tumorais no estroma subjacente seria aumentada pelas proteínas imunossupressoras produzidas pelas células neoplásicas para escapar da destruição pela imunidade do hospedeiro e garantir a manutenção das células tumorais invasivas. Os tumores de comportamento biológico mais agressivo apresentam alto grau de instabilidade genômica e, conseqüentemente, maior capacidade de liberar neoantígenos e citocinas, aptos para estimular as células imunes e favorecer o surgimento do microambiente imunossupressor.^{97,98}

A importância do infiltrado inflamatório no CDIS motivou a padronização de sua avaliação nesses tumores. Não só a presença, todavia também a composição do infiltrado inflamatório, tem significado prognóstico (Figura 9).⁹⁸

A modificação do microambiente tumoral interage para promover a progressão do CDIS para invasão. A alta expressão de infiltrado inflamatório no estroma, que representa maior imunogenicidade do tumor, é vista como tradução de características de pior prognóstico e biologia tumoral mais agressiva, como por exemplo, maior grau nuclear, presença de comedonecrose, positividade para HER2, receptores hormonais negativos e menor tempo até a recidiva.^{99,104}

O tipo de resposta imune reflete a divisão dos carcinomas invasivos em subgrupos com diferentes prognósticos. A resposta imune inata (Th1), caracterizada por resposta inflamatória rápida, envolve células T CD8 citolíticas, linfócitos T *helper* 1, células NK (*natural killer*) e parece proteger contra o desenvolvimento e a progressão tumorais. De fato, a resposta Th1 cria um microambiente supressor tumoral e está presente em tumores com melhor prognóstico. A resposta humoral adaptativa (Th2) é composta por linfócitos T e

B que se tornam ativados diante da exposição a antígenos específicos e secretam citocinas que estimulam o crescimento tumoral (IL 4 e 6, $TNF\alpha$); diante dessa característica pró-tumorigênica, manifesta-se em tumores com comportamento mais agressivo.^{104,105}

Kristensen et al.¹⁰⁶ sugeriram que, assim como os correspondentes infiltrativos, os CDIS do tipo *basal-like* são caracterizados por alta expressão de genes relacionados à resposta Th2 e baixa relação Th1/Th2.

Assumindo que os subtipos HER2 e triplo-negativo têm velocidade de proliferação superior, a hipóxia e a privação de nutrientes do microambiente intraductal promovem a liberação de antígenos, resultando em subsequente maior recrutamento de células imunes para o microambiente tumoral. Isso sugere que a própria biologia da doença tem função na indução dos TILs e, assim, na progressão para infiltração.^{53,104,107}

Alta expressão estromal de FOXP3 + e PD-L1 + favorecem a RL em pacientes com CDIS tratados com RSM. Já a infiltração intratumoral e sua composição não mostra significativa correlação com o comportamento biológico.¹⁰³

Nos tumores *in situ*, com posterior invasão precoce, há denso infiltrado inflamatório circundando o foco de microinvasão. A presença de acentuada resposta imune nos CDIS com características histopatológicas desfavoráveis significa que as células neoplásicas conseguem resistir ao ataque imunológico e tornam-se aptas a utilizar as citocinas inflamatórias, produzidas por essas células, para facilitar a invasão tumoral.^{99,100}

A infiltração imune tumoral também foi relacionada diretamente com a assinatura genética Oncotype DX DCIS, mostrando *recurrence score* mais

agressivo nos tumores mais imunogênicos.¹⁰⁸ Knopfmacher et al.¹⁰⁹ associaram o escore do Oncotype DX DCIS com algumas características histopatológicas em pacientes com diagnóstico de CDIS após RSM. A presença de abundante infiltrado inflamatório peritumoral foi significativamente mais frequente em tumores de alto risco no Oncotype DX DCIS. Embora não existam genes diretamente concatenados ao sistema imunológico no escore para CDIS, esses resultados demonstram que alterações genéticas no microambiente podem promover maior atividade inflamatória e progressão para invasão estromal.

De acordo com a composição do infiltrado inflamatório estromal do CDIS, Toss et al.¹¹⁰ elaboraram uma classificação dos tumores *in situ* em tumores de alto risco e com infiltrado inflamatório denso (e expressão estromal de PD-L1), com maior risco de RL; e tumores de alto risco com infiltrado inflamatório estromal escasso, cujo comportamento biológico é mais indolente. O microambiente imune interfere na estratificação de risco do CDIS e nas diretrizes de manejo. A implementação dessa avaliação na prática clínica poderia contribuir para tomada de decisão, proporcionando avaliação mais abrangente dos CDIS.

A limitação na identificação de alterações genéticas nas células malignas do CDIS que podem prever invasão, sugere que compreensão do microambiente e seu relacionamento com as células neoplásicas podem ajudar a decifrar o mecanismo de invasão com o potencial de melhorar o manejo da paciente. O infiltrado imune pode servir como potencial biomarcador preditivo e prognóstico, clareando a relação entre câncer e sistema imunológico.

3.5 Fatores associados à recorrência local no carcinoma ductal *in situ*

Os preditores de RL após RSM para CDIS têm sido extensivamente estudados, no entanto, a recidiva do tumor de mama ipsilateral é multifatorial e envolve fatores relacionados ao paciente, ao tumor e ao tratamento.

Margens cirúrgicas comprometidas, lesões de alto grau, presença de comedonecrose, idade ao diagnóstico inferior a 40 anos e lesões extensas são características que repercutem no aumento do risco de RL. A influência relativa desses fatores permanece controversa, e índices específicos (por exemplo, o índice prognóstico de Van Nuys) e nomogramas foram desenvolvidos para tentar incorporar preditores independentes de recorrência em algum instrumento clinicamente útil para guiar o tratamento.^{3,111}

Quando as pacientes são estratificadas de acordo com grau nuclear, por exemplo, a sobrevida livre de RL invasiva ultrapassa 98% para os tumores de baixo grau que não foram submetidos à cirurgia, conforme relatado por Sagara et al.³⁵

Wong et al.³³ avaliando pacientes com CDIS de graus baixo e intermediário, tumores pequenos e submetidas à RSM sem tratamento adjuvante encontraram neste grupo taxa de RL em 10 anos de 15,6%. O estudo ECOG-ACRIN E5194 avaliou o papel da RSM como tratamento local único em dois grupos de CDIS detectado por rastreamento: baixo e alto grau. A RL em 12 anos foi 14,4% no grupo de baixo grau e 24,6% no grupo de alto grau.³⁴

Em uma metanálise baseada em 12 estudos, incluindo mais de 10.000 pacientes, Wang et al.¹¹² avaliaram os efeitos de variáveis relevantes, como biomarcadores e método de detecção, como preditores de RL em CDIS. Seus achados sugerem que margens comprometidas, presença de comedonecrose, alto grau nuclear, tamanho do tumor, multifocalidade ou tumores que são diagnosticados na forma sintomática estão relacionados a maior risco de RL, resultados semelhantes aos de Zhang et al.¹¹³ Além disso, as pacientes com CDIS RE negativos, RP negativos ou com superexpressão do HER2 têm maior probabilidade de recorrência ipsilateral, quando comparados àqueles que não apresentam essas características.

A relação entre taxas mais altas de RL e margens comprometidas no CDIS foi confirmada em vários estudos.^{3,32} As Sociedades Americanas de Cirurgia Oncológica, Oncologia e Radioterapia estabeleceram como critério para margens livres, após cirurgia conservadora para CDIS, distância do tumor até à margem $\geq 2,0$ mm. A escolha do limiar de 2,0 mm em substituição ao conceito de ausência do tumor na tinta (como é aceito para os carcinomas invasivos) foi baseada em evidência de redução estatisticamente significativa na RL para o ponto de corte de 2,0 mm em comparação com 0 ou 1,0 mm.³²

A história natural do CDIS ainda permanece desconhecida e, por isso, a recomendação atual é o tratamento cirúrgico de todos os casos. O objetivo do tratamento é o controle local, reduzindo a chance de RL, seja na forma *in situ* ou invasiva. A escolha do tratamento local não afeta a sobrevida global relacionada à doença; portanto, a aceitação individual do paciente quanto ao potencial de redução de risco de RL deve ser considerada.^{3,5,13}

A incerteza sobre o tratamento mais adequado para mulheres com CDIS levou ao ensaio clínico NSABP B-17. O objetivo desse estudo foi testar a hipótese de que a excisão do CDIS com margens livres seguida por radioterapia seria mais efetiva que a RSM isolada na redução de risco de RL. As pacientes foram randomizadas em 2 grupos: RSM *versus* RSM seguida de RT (50Gy). No seguimento de 8 anos, a RL nas pacientes tratadas apenas com cirurgia foi de 26,8% e nas que receberam RT foi 12,1%. A incidência anual média de RL foi reduzida em 52% com a indicação de RT. A taxa RL *in situ* foi reduzida em 47% e a taxa de CM invasivo em 71%.^{17,114}

Determinadas características anatomopatológicas foram analisadas de acordo com o risco de RL; a presença de comedonecrose foi um fator independente para o aumento do risco de recidiva.^{20,114}

O estudo do grupo EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer) avaliou mais de 1000 mulheres que foram randomizadas para RT complementar após RSM *versus* apenas RSM. A análise em 10 anos após o tratamento mostrou benefício da RT de 47% de redução da RL no grupo que recebeu esse tratamento. Não houve diferença na sobrevida livre de doença à distância.¹¹⁵ Na análise multivariada, os principais fatores ligados à recorrência foram: idade < 40 anos, lesões sintomáticas, CDIS de alto grau, padrão arquitetural sólido ou cribriforme, margens cirúrgicas comprometidas e não receber RT adjuvante.

O benefício da RT foi analisado em revisão sistemática que incluiu 4 grandes estudos randomizados envolvendo pacientes com CDIS e que foram submetidas à RSM. Nesses ensaios clínicos houve benefício significativo da RT para redução da taxa de RL de 28,1% para 12,9%. No entanto, não houve

impacto na sobrevida global. O uso da dose de radiação de reforço (*boost*) demonstrou pequena redução na RL, mas estatisticamente significativa.²⁰

Em determinado grupo de pacientes com doença de pequeno volume, baixo grau e detectada por rastreamento, a RL pode ser muito rara, o que poderia não justificar a recomendação de RT, já que esse tratamento parece não demonstrar impacto na sobrevida global, pelo menos em termos gerais.¹¹⁶

O custo e a inconveniência de 5 a 6 semanas de tratamentos diários, além de efeitos adversos a curto e longo prazo, como por exemplo radiodermites, telangiectasias, dor, fadiga, cardiotoxicidade e pneumotoxicidade, devem ser pensados quando da indicação de RT adjuvante. Ademais, os tratamentos adjuvantes são de alto custo, principalmente quando se raciocina em base de estratégias de saúde pública.¹¹⁷

Após o tratamento local, a decisão de administrar terapia endócrina para reduzir o risco de CM subsequente depende da escolha da terapia local inicial e do status do receptor hormonal do tumor. O modulador seletivo do receptor de estrogênio, tamoxifeno, foi estudado como terapia adjuvante em mulheres com CDIS que foram submetidas à RSM e tratamento com RT. No ensaio NSABP B-24¹¹⁸ o tamoxifeno reduziu a probabilidade de RL invasiva em 43% e não invasiva em 31%. Houve redução de risco absoluto de 3% na sobrevida livre de eventos no grupo que usou a droga.

Os fatores que mais impactaram na RL foram: idade inferior a 49 anos, presença de comedonecrose, margens comprometidas e tumor palpável na apresentação inicial.

O estudo UK/ANZ¹¹⁹ evidenciou benefício do tamoxifeno em recorrência contralateral, ficando a redução de eventos ipsilaterais restrita apenas às pacientes nas quais não havia sido realizada RT.

Os inibidores da aromatase foram avaliados no estudo IBIS II-DCIS que mostrou não inferioridade do anastrozol em relação ao tamoxifeno na redução da RL, principalmente nas pacientes com menos de 60 anos de idade.²³

No entanto, esses estudos não revelaram redução no pequeno risco de pacientes com DCIS desenvolverem doença metastática ou morrerem por CM, levando à preocupação com os possíveis efeitos adversos do tratamento adjuvante.

Pacientes em terapia endócrina podem experimentar queda importante da qualidade de vida com os efeitos adversos oriundos do tratamento (como osteoporose, fraturas, tromboembolismo) o que pode prejudicar a adesão ao fármaco.¹¹⁷ Em pacientes idosas a adesão à hormonioterapia chega a cair de 67% no primeiro ano após o diagnóstico para 30% no quinto ano.¹²⁰ A avaliação adequada do risco de RL poderia ajudar a planejar estratégias mais eficientes de tratamento para essas pacientes.

Por isso, muitas tentativas foram feitas para usar características clinicopatológicas clássicas (por exemplo, idade do paciente, distância do tumor até à margem, grau nuclear e tamanho) com o objetivo de identificar pacientes com baixo risco de RL após cirurgia conservadora, candidatas ao de-escalamento do tratamento. Contudo, não há acordo sobre a melhor forma de combinar esses fatores em uma única ferramenta.

3.6 Modelos para estratificação do risco de recorrência local

Existem diferentes abordagens para estratificar o CDIS em grupos prognósticos, incluindo nomogramas baseados em fatores clínico-patológicos, assinaturas de expressão gênica e marcadores de proliferação. Todos demonstraram correlação com a recorrência da doença, contudo, nenhum deles identificou com precisão pacientes que não se beneficiariam de terapias adjuvantes para controle local.¹²¹

Os métodos de avaliação do risco de recidiva, disponíveis até o momento, demonstraram ter valor limitado na previsão de RL. Esforços para introduzir novas variáveis prognósticas moleculares do CDIS não ofereceram resultados consistentes. Além disso, os modelos de assinaturas genéticas não são econômicos e não levam em consideração o microambiente estromal do tumor. Portanto, existe necessidade clínica, não atendida, de novas ferramentas para melhorar a estratificação de risco de recorrência do CDIS.¹²²

Uma das primeiras estratégias nesse sentido foi o índice de prognóstico Van Nuys, que leva em consideração 4 variáveis com pontuações diferentes (tamanho do tumor, distância do tumor até às margens, grau nuclear/comedonecrose e idade da paciente). A pontuação total varia entre 4 a 12 pontos, sendo considerados os tumores de baixo risco quando a pontuação é inferior a 6. Nestes casos, a taxa de RL é de 1% em 5 anos e 3% em 10 anos, possibilitando a omissão da RT.¹²³ Entretanto, esses dados foram retirados de análises retrospectivas, não consistentes com os dados atuais da literatura.¹²²

Os nomogramas são ferramentas gráficas baseadas em dados estatísticos que fornecem a probabilidade de determinados desfechos acontecerem, gerando resultado individual baseado em dados específicos do paciente, ou seja, estimam o risco absoluto através da análise de variáveis envolvidas no evento.¹²⁴

Pesquisadores do MKSCC identificaram 10 preditores independentes de risco de RL em pacientes com CDIS. Rudloff et al.⁴² desenvolveram um nomograma para estimar o risco de RL após RSM nesses pacientes que utiliza 10 variáveis clínicas, patológicas e de tratamento que foram combinadas para estimar a probabilidade de RL (*in situ* ou invasiva) individual, em 5 e 10 anos após tratamento cirúrgico conservador. O modelo foi validado internamente e externamente.^{111,125,126,127,128}

O uso das assinaturas genéticas melhorou a seleção de tratamento para pacientes com câncer, caracterizando o potencial biológico dos tumores de maneira mais precisa do que pode ser realizado usando apenas características anatomopatológicas clássicas. O Oncotype DX DCIS (escore de 12 genes) é um teste prognóstico que foi desenvolvido para determinar o risco de RL em 10 anos após cirurgia conservadora inicial sem RT. O *DCIS score* consiste em 7 genes tumorais e 5 genes de referência. Esse teste molecular foi desenvolvido e validado para uso clínico através de dois ensaios clínicos independentes destacando a reprodutibilidade do teste.¹²⁹ O escore relata valor numérico que varia de 0 a 100 e grupos de risco assim descritos: baixo risco (0–38), risco intermediário (39–54) e alto risco (55–100).

Segundo Alvarado et al.,¹³⁰ o uso da assinatura genética modificou a indicação de radioterapia em 31,3% de mulheres submetidas à cirurgia

conservadora. Porém, o custo efetividade é questionável, devido ao alto custo de realização do teste.¹³¹

Integrar algumas características clínicas relacionadas ao risco de RL como idade, tamanho do tumor e ano do diagnóstico ao *DCIS score* melhorou a predição de risco. Rakovitch et al.¹³² retificaram o *DCIS score* com a adição dessas variáveis que foram estatisticamente relacionadas a RL; 17,7% de pacientes com alto risco foram identificadas usando o *DCIS score*, enquanto o escore refinado conseguiu identificar 26% de paciente com alto risco.

Na comparação com o nomograma do MSKCC, o escore refinado DCIS mostrou concordância com o uso do nomograma em aproximadamente 92% dos casos em pacientes com tumores < 2.5 cm e mulheres com idade superior a 50 anos, mostrando a importância de integrar à análise genética, informações anatomopatológicas do tumor.¹³³

O Decision Score (DCISion RT) foi outro teste desenvolvido para pacientes com CDIS. O escore é derivado de 7 genes relacionados ao tumor combinados com 4 fatores clínicos e patológicos (idade da paciente, tamanho do tumor, *status* da margem e apresentação clínica). A classificação se dá em grupos de baixo risco e alto risco, auxiliando nas decisões terapêuticas. A utilização dessas ferramentas moleculares permanece uma escolha individual, beneficiando principalmente as pacientes cujo tratamento pode ser alterado por esses resultados.^{134,135,136}

Apesar de a mortalidade após CDIS ser baixa, em torno de 3% em 20 anos, pacientes que apresentam RL têm risco de morte aumentado em até 18 vezes.²⁶ Não se sabe até que ponto esta mortalidade é consequência direta da recorrência invasiva, ou se o alto potencial de metastatização já estava

estabelecido desde o início. O trabalho de Narod et al., surpreendentemente, não demonstrou que a prevenção de recorrências invasivas por meio de RT ou cirurgia mamária extensa (mastectomia) reduza o risco de mortalidade específica por CM.^{25,26,27,69} No entanto, Giannakeas et al.,²⁷ do mesmo grupo acadêmico, mostraram que o uso de RT em pacientes com RSM reduziu o risco de morte em 23%.

De acordo com esta revisão, pode-se notar que uma vez detectado o CDIS, o tratamento atualmente é obrigatório e os instrumentos clínicos disponíveis não permitem ainda uma estratificação de risco precisa, de modo que a multimodalidade do tratamento possa ser adaptada ao risco de RL e progressão para doença invasiva.

As estratégias de manejo atuais são derivadas principalmente de informações de fatores clínicos e histopatológicos. Com a crescente caracterização molecular das lesões pré-invasivas, os dados disponíveis sobre o impacto de fatores como RE, RP, HER2, indicadores de atividade proliferativa, marcadores de células mioepiteliais, TILs e as diversas combinações com os fatores anatomoclínicos podem fornecer informações adicionais sobre o prognóstico e benefícios de tratamentos adjuvantes como RT e terapia endócrina, mas ainda estão longe da perfeição.

A definição de tratamento adjuvante em pacientes de baixo risco ainda é pouco precisa e as opções de tratamento podem estar associadas a efeitos adversos a curto prazo e longo prazo (por exemplo, cardiotoxicidade) afetando a mortalidade por todas as causas. A predição de risco no futuro provavelmente será alcançada pela integração de fatores convencionais e moleculares, que devem ser incorporados em modelos preditivos validados

para ajudar na tomada de decisão clínica. Esses marcadores podem auxiliar na escolha do tratamento ideal para cada tipo de tumor baseado na biologia tumoral.

3.7 Nomograma do Memorial Sloan Kettering Cancer Center

Ao contrário das previsões de risco utilizando características isoladas, os modelos baseados em nomogramas são capazes de considerar simultaneamente múltiplas variáveis de risco do indivíduo, identificando fatores que contribuem para a discriminação, informação e calibração mais fina do risco individual para determinado desfecho. Sua representação gráfica simples pode ser utilizada para aconselhamento e seguimento de pacientes e aplicação em estudos científicos. A criação de um nomograma exige a escolha da amostra, especificação do desfecho, seleção de variáveis relacionadas, discriminação do modelo estatístico e validação.^{42,124}

Nomogramas são amplamente usados para avaliar prognóstico de câncer, principalmente devido à sua capacidade de reduzir modelos preditivos estatísticos em única estimativa numérica da probabilidade do evento, como morte ou recorrência, que é adaptada ao perfil do paciente.

A RL invasiva após o tratamento de CDIS pode ocorrer em até 50% dos casos, aumentando o risco de morte por CM nessas pacientes.²⁵ O objetivo do tratamento do CDIS é reduzir as chances de recorrência. A indicação de RT e terapia endócrina (em tumores com receptores hormonais positivos) mostrou

benefício na taxa de RL, mas o impacto desses tratamentos na mortalidade, por ora, é controverso. As decisões acerca do tratamento devem individualizar os casos, equilibrando os riscos de recorrência da doença, bem como custos e efeitos adversos do tratamento.²⁶

Nesse sentido, acredita-se que um subgrupo de pacientes com melhor prognóstico e chances menores de RL possa ser poupado de tratamentos excessivos. Por outro lado, a abordagem única para o manejo do CDIS parece ser contraditória à heterogeneidade biológica desses tumores e para a tendência atual de tratamentos oncológicos personalizados. Assim, pesquisadores do MSKCC desenvolveram um nomograma para prever a probabilidade individual, em estimativa de risco contínua, de RL em 5 e 10 para auxiliar na decisão terapêutica individualizada de pacientes com CDIS manejadas com RSM.⁴²

Os pesquisadores desenvolveram o nomograma com base em 10 fatores prognósticos derivados da análise multivariada de dados retrospectivos de 1.681 pacientes com CDIS que foram submetidas à RSM de 1991 a 2006 no MSKCC. Essas variáveis foram: idade ao diagnóstico, história familiar de câncer de mama, apresentação da doença (se clínica ou apenas radiológica), grau nuclear, presença de comedonecrose, estado das margens, número de excisões cirúrgicas, ano da cirurgia, radioterapia e terapia endócrina.

O desfecho clínico foi a presença de RL. As probabilidades de RL foram estimadas usando o método de Kaplan-Meier e as comparações foram avaliadas usando o teste de log-rank. O modelo final foi escolhido com base na significância clínica e estatística das variáveis.⁴²

As probabilidades previstas em 5 e 10 anos de RL foram calculadas para cada paciente usando o modelo de regressão de Cox. Para estimar o risco, foram calculados pontos para cada um dos 10 parâmetros. A soma de todos os pontos permitiu a determinação de uma linha reta que pode ser desenhada a partir do eixo denominado “pontos totais” até o eixo 5 e 10 anos de RL.

A predição de RL em 5 e 10 anos para o nomograma mostrou na validação interna dos autores boa calibração do modelo com alta correlação da probabilidade prevista pelo nomograma e probabilidade estimada pelo método de Kaplan-Meier.

A calculadora de risco está disponível gratuitamente no site: <http://nomograms.mskcc.org/breast/DuctalCarcinomaInSituRecurrencePage.aspx>.

A precisão do MSKCC DCIS Nomogram foi validada em populações independentes, constituindo um total de aproximadamente 2.500 pacientes. Esses estudos de validação externa do nomograma mostraram resultados distintos.^{111,125,126,127}

Pesquisadores do MD Anderson Cancer Center publicaram estudo utilizando o nomograma com amostra de 794 pacientes. Nesse estudo a maioria das pacientes realizou RT adjuvante (71%) e teve seguimento mais longo que as pacientes utilizadas no estudo do MSKCC.¹²⁷ A taxa de RL foi de 4,7% em 5 anos e 10,4% em 10 anos. As características estatisticamente relacionadas à RL foram omissão de terapia endócrina e apresentação clínica. O nomograma apresentou desempenho subótimo, principalmente por superestimar o benefício da RT, além disso, a maioria dos pacientes teve apenas uma excisão cirúrgica. O mesmo foi encontrado por Wang et al.,¹¹¹ uma

vez que, a maioria das pacientes realizou RT (95,1%) e não fez mais que 2 excisões (97,1%), assim como no estudo de Sweldens et al.¹²⁶

A utilização do nomograma mostrou estimativas de RL quase plenamente concordantes com o Oncotype DCIS Refined, reforçando a importância de acrescentar à análise do risco as características tumorais que de alguma forma refletem o microambiente do CDIS.¹³³

Ressalta-se a fácil acessibilidade do nomograma *online* e gratuito, quando comparado à assinatura genética com custo aproximado de U\$ 4.000. Atualmente, a avaliação de variáveis clínicas para predição de risco de recorrência persiste sendo considerada um instrumento útil e com bom custo-efetividade.³⁶

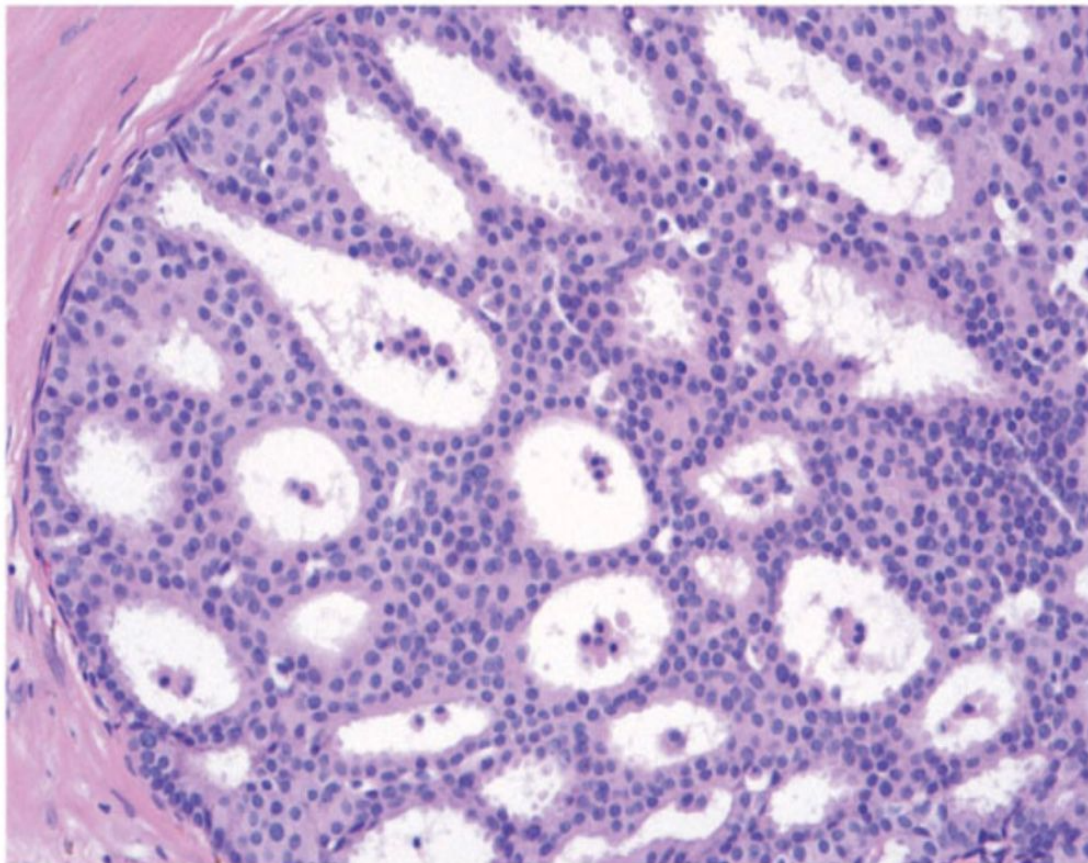


Figura 3 – Carcinoma ductal in situ, grau nuclear 1, padrão cribriforme, sem comedonecrose. Coloração em HE, aumento 100X (Cortesia Dra. Luciana Gurgel).

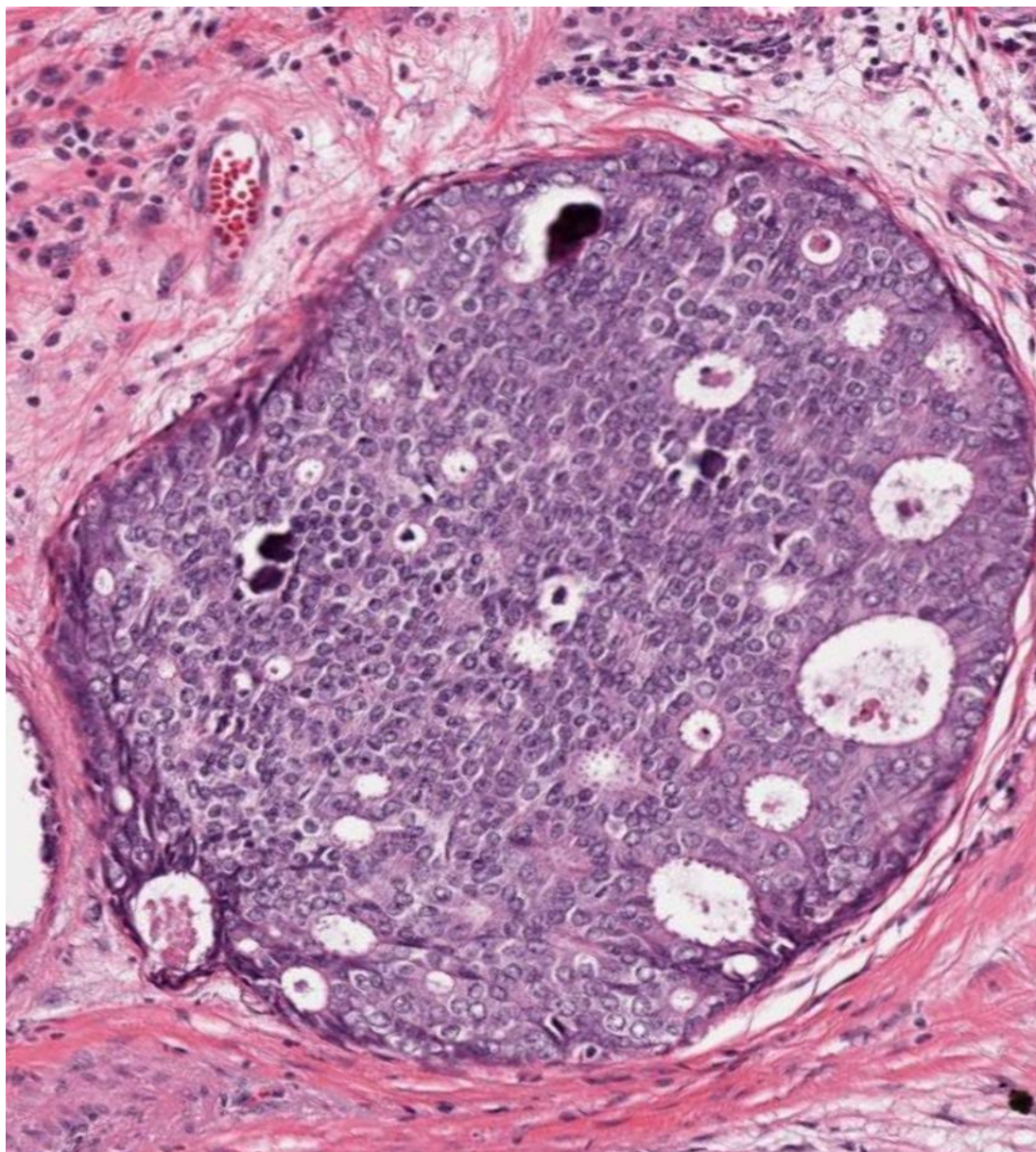


Figura 4 – Carcinoma ductal in situ, grau nuclear 2, padrão cribriforme, sem comedonecrose. Coloração em HE, aumento 100X (Cortesia Dra. Luciana Gurgel).

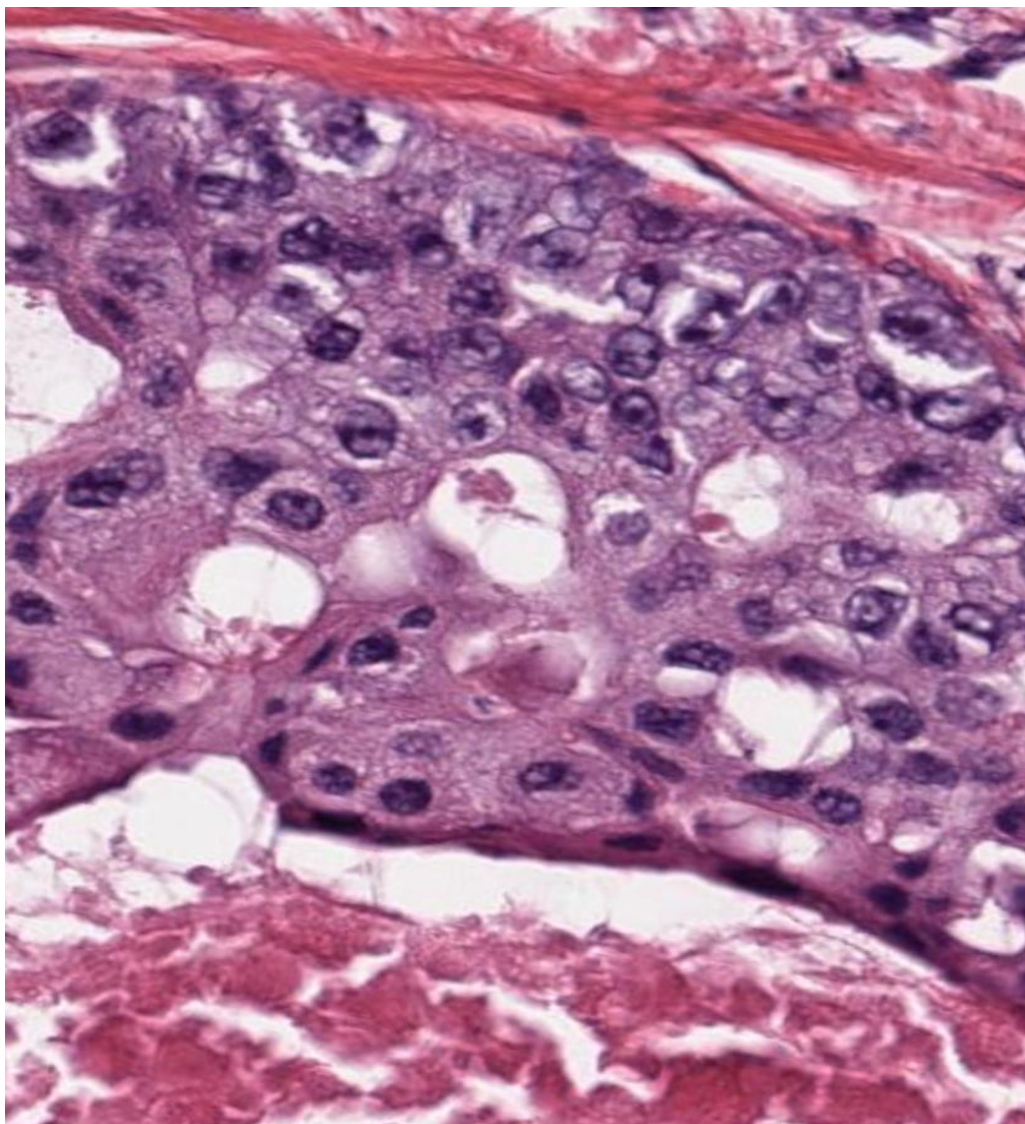


Figura 5 – Carcinoma ductal in situ, grau nuclear 3, com comedonecrose. Coloração em HE, aumento 400X (Cortesia Dra. Luciana Gurgel).

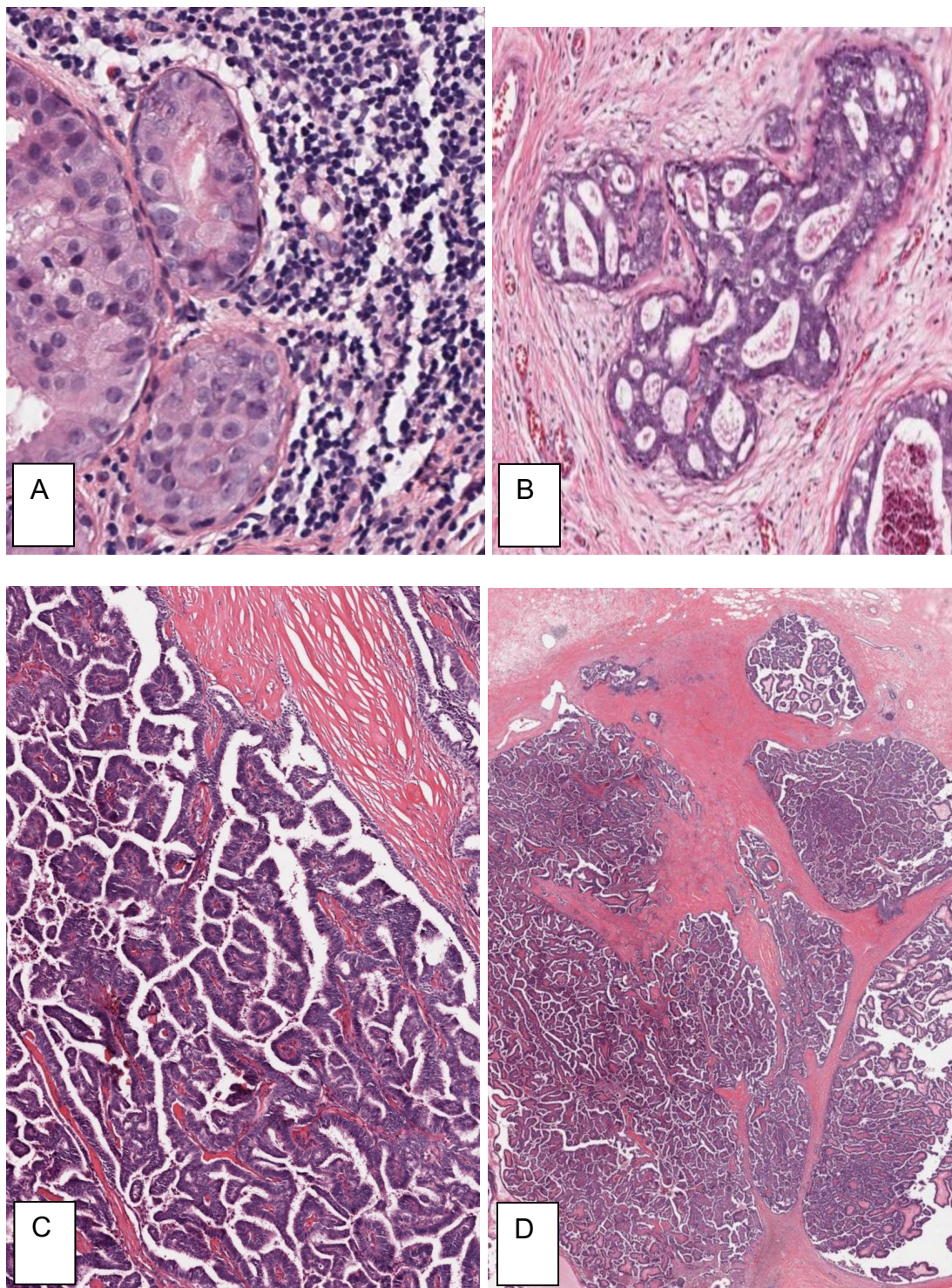


Figura 6 – Classificação dos padrões arquiteturais no carcinoma ductal in situ. A) padrão sólido, grau nuclear 2, sem comedonecrose. Coloração HE, aumento 400X. B) padrão cribriforme, grau nuclear 2, com comedonecrose. Coloração HE, aumento 100X. C) padrão micropapilar, grau nuclear 2, com comedonecrose. Coloração HE, aumento 200X. D) padrão papilífero, grau nuclear 2, sem comedonecrose. Coloração HE, aumento 100X (Cortesia Dra. Luciana Gurgel).

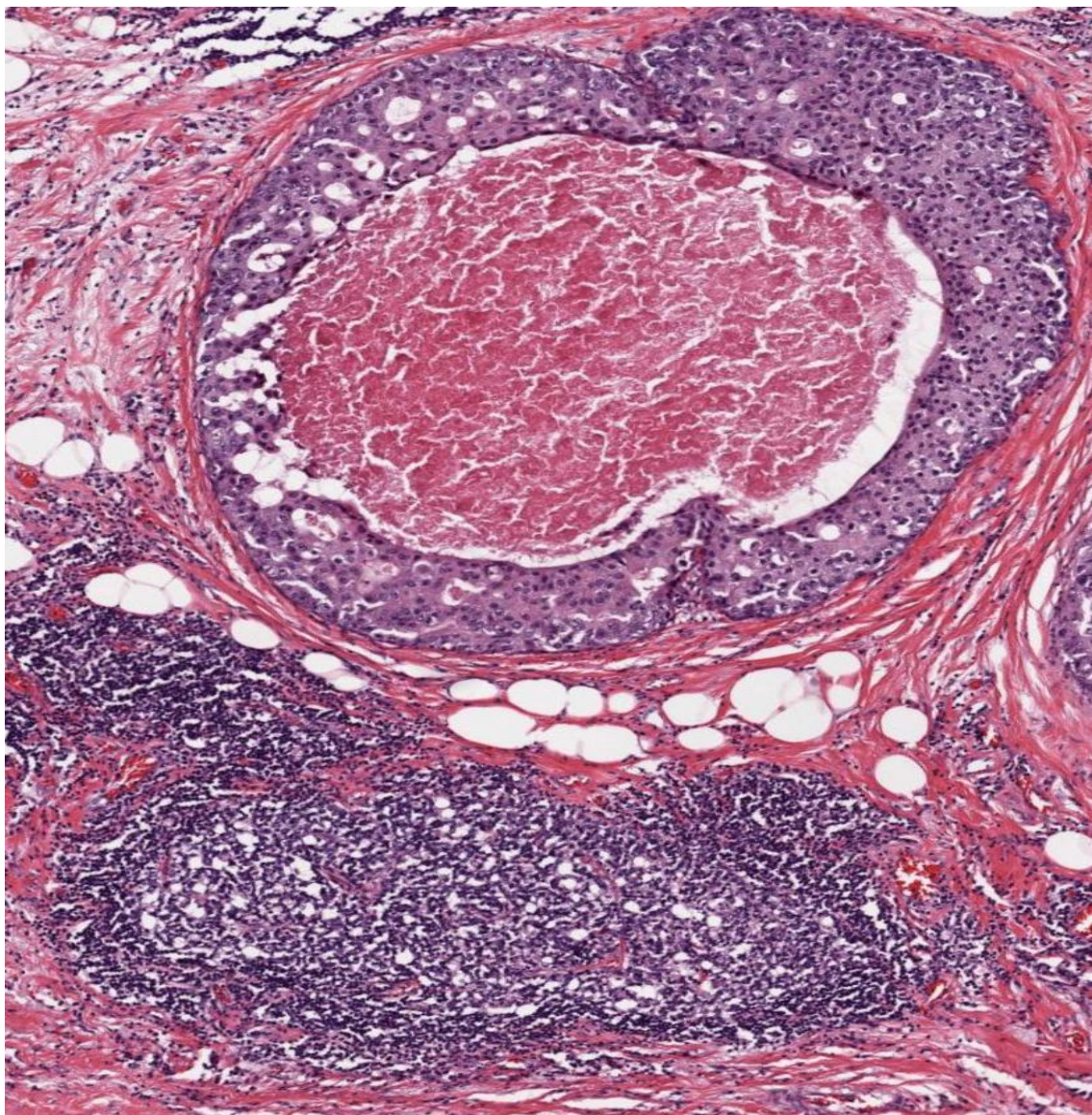


Figura 7 – Carcinoma ductal in situ, grau nuclear 3 com comedonecrose e intenso infiltrado inflamatório. Coloração HE, aumento 100X (Cortesia Dra. Luciana Gurgel).

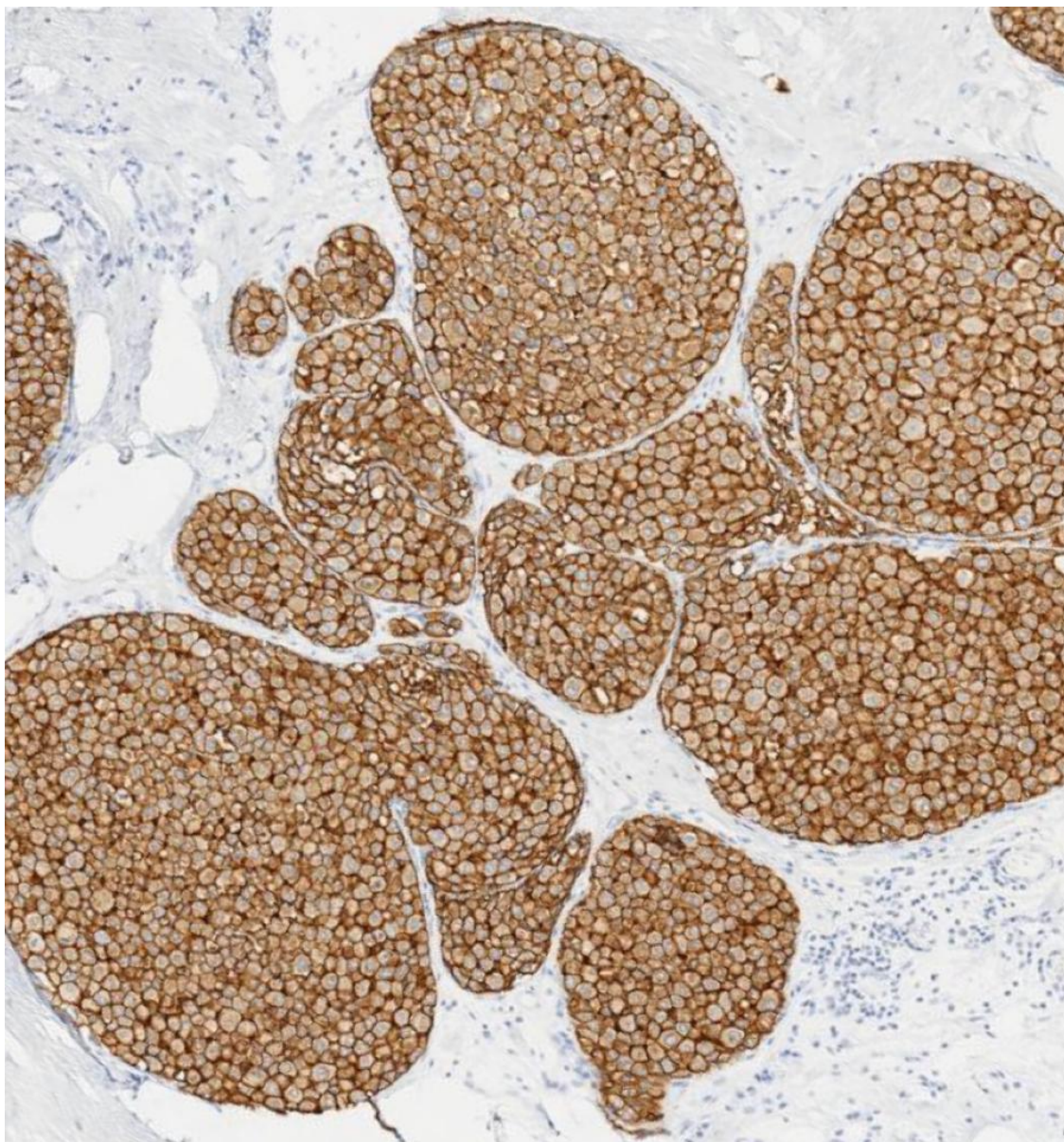


Figura 8 – Carcinoma ductal in situ, com positividade para HER 2 (HER 2 3+) por imunohistoquímica. Aumento 200X (Cortesia Dra. Luciana Gurgel).

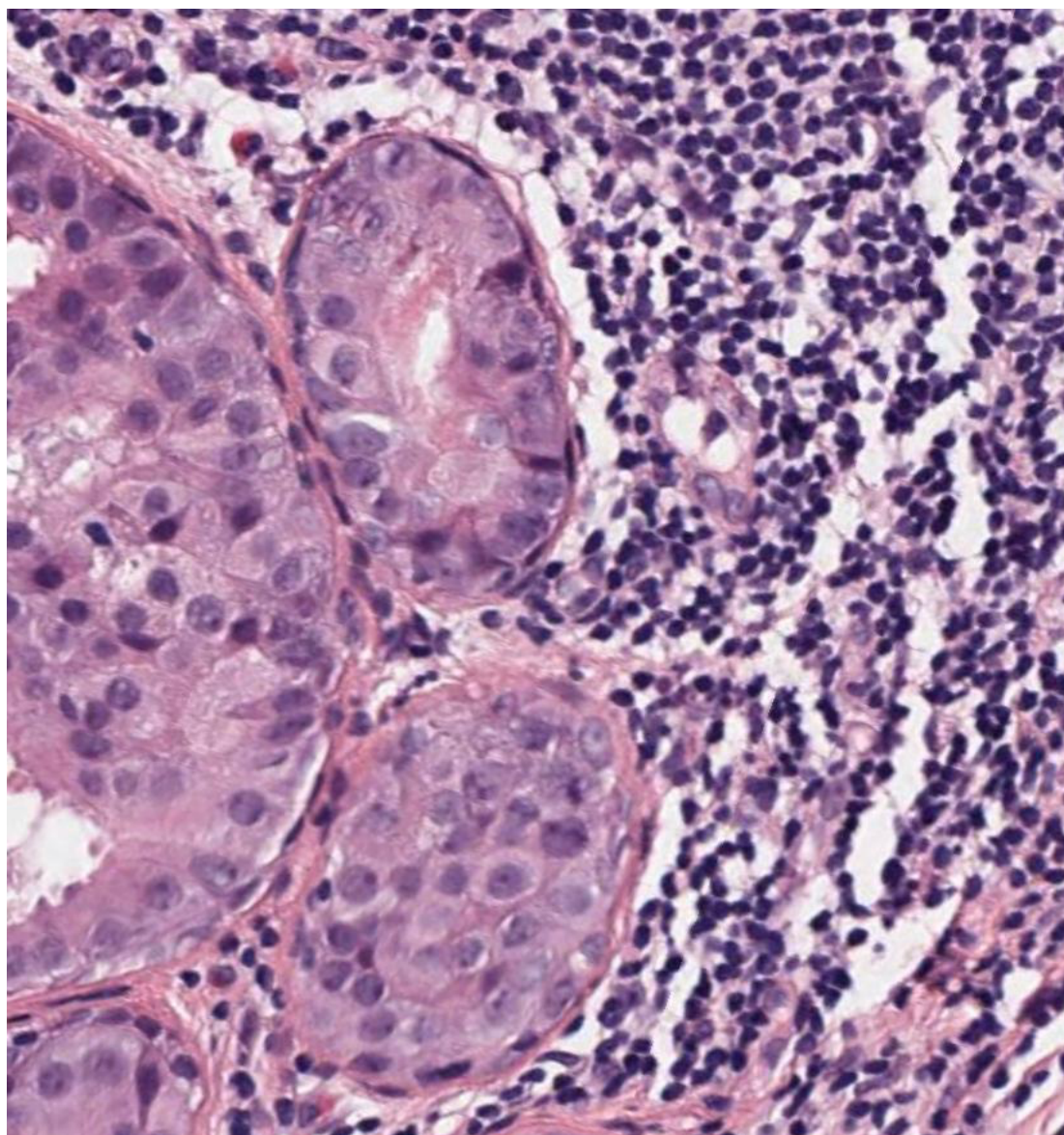


Figura 9 – Carcinoma ductal in situ, grau nuclear 2, padrão sólido, sem comedonecrose, com intenso infiltrado inflamatório e barreira de células mioepiteliais. Coloração HE, aumento 400X (Cortesia Dra. Luciana Gurgel).

4. MÉTODOS

Este estudo é do tipo observacional retrospectivo, com análise de prontuários e relatórios anatomopatológicos de pacientes com diagnóstico de CDIS de mama, provenientes de um Serviço especializado em Mastologia, Clínica Prof. Alfredo Barros, São Paulo (SP). A escolha do tratamento adjuvante foi discutida por equipe multidisciplinar com *expertise* em patologia mamária.

As pacientes com diagnóstico final de CDIS, que foram submetidas à RSM seguida de RT, de 1993 a 2018, foram identificadas no banco de dados do serviço. Dados demográficos, clínicos, anatomopatológicos e de seguimento foram extraídos das fichas de documentação clínica.

4.1 Variáveis do estudo

Os dados pesquisados foram: idade da paciente no momento do diagnóstico, *status* menopausal, apresentação clínica, apresentação radiológica, história familiar, data do diagnóstico, padrão arquitetural do CDIS, grau nuclear, presença de comedonecrose, tamanho da lesão no laudo anatomopatológico, estado das margens, receptores hormonais, HER2, se a paciente recebeu RT ou hormonioterapia adjuvante, tipo de droga utilizada na hormonioterapia e o tempo de uso, data da recidiva, tipo de recidiva e sobrevida.

A idade foi registrada como variável contínua. História familiar foi considerada positiva se parentes de primeiro ou segundo grau tiveram

diagnóstico de CM ou CDIS. A necrose foi definida como presente ou ausente. A apresentação inicial foi classificada como clínica (CDIS detectado por fluxo papilar, massa palpável ou eczema no complexo aréolo-papilar) ou radiológica (CDIS detectado por exame de rastreamento).

4.2 Critérios de elegibilidade

Os critérios de inclusão foram: mulheres com mais de 18 anos de idade com diagnóstico histológico de CDIS submetidas à RSM com margens cirúrgicas livres e RT complementar.

Foram excluídas as pacientes com diagnóstico prévio de CDIS recidivado, CM microinvasor e CM infiltrativo.

4.3 Técnica cirúrgica

A RSM com RT complementar foi indicada quando a lesão foi considerada unicêntrica pelos métodos de imagem, incluindo ressonância magnética e medindo $\leq 3,0$ cm por esses métodos.

Todas as pacientes foram operadas por um único cirurgião (ACSDB). As incisões sempre foram realizadas na pele sobre a lesão, frequentemente retirando-se a pele supratumoral nessa área (Figura 10). Nas lesões não

superficiais, localizadas a mais de 2,0 cm da superfície da glândula e medindo $\leq 2,0$ cm, toda a pele da mama sobreposta foi preservada.

Uma distância mínima de 2,0 cm entre a borda da lesão do CDIS e a margem cirúrgica foi planejada pelo cirurgião. Nos casos de lesão não palpável, o leito tumoral foi demarcado por injeção de radioisótopo Tecnécio ($Tc99m$) no centro da área, sob orientação de mamografia ou ultrassonografia. A remoção do tecido foi guiada por uma sonda de detecção, o gamma probe.

Durante a cirurgia, as avaliações das margens cirúrgicas foram realizadas por um patologista experiente, com base nos achados citológicos ou histopatológicos. Em seguida, todas as peças foram submetidas à inclusão em parafina de rotina e reanalisadas ao microscópio para exame definitivo. As margens foram consideradas livres quando a distância do tumor até à superfície do corte cirúrgico era $\geq 2,0$ mm. Casos com células neoplásicas na tinta foram reoperados.

Em se tratando de avaliação definitiva por análise de material incluído em parafina, nas pacientes que realizaram RSM após 2016, a distância do tumor até a margem para ser considerado margens livres também foi 2,0 mm.³² Nos casos em que não havia células malignas nas margens cirúrgicas, mas com distância tumor - margem $< 2,0$ mm, esta distância foi considerada exígua.

4.4 Radioterapia

Todas as pacientes receberam RT complementar conforme protocolo padrão de RT externa fracionada, com dose total de 45 a 50 Gy em 25 a 28 frações de 1,8 ou 2 Gy. O *boost* foi indicado em 6 pacientes com dose de 10 Gy em 5 frações.

4.5 Tratamento sistêmico adjuvante

As pacientes com CDIS com expressão de receptores hormonais receberam terapia sistêmica com tamoxifeno, raloxifeno ou anastrozol, conforme indicações. O tempo de terapia variou de acordo com a tolerabilidade e adesão da paciente ao tratamento.

4.6 Seguimento das pacientes

No primeiro ano após o tratamento, as pacientes foram acompanhadas com frequência semestral; a partir do segundo ano o seguimento foi anual. O seguimento foi realizado com exame físico (semestral ou anual conforme período), mamografia e ultrassonografia anuais. Em alguns casos, de mamas

densas ou com áreas extensas de fibrose, foi utilizada a ressonância magnética (Figura 11).

4.7 Nomograma do Memorial Sloan Kettering Cancer Center

Pesquisadores do MSKCC identificaram 10 preditores independentes de RL em pacientes com CDIS por análise multivariada (Figura 12): idade ao diagnóstico (variável contínua), história familiar (parente de primeiro ou segundo grau com câncer de mama), apresentação (clínica ou radiológica), grau nuclear (baixo, intermediário ou alto), comedonecrose (presente ou ausente), margens cirúrgicas (exíguas $< 2,0$ mm ou livres $\geq 2,0$ mm), número de excisões cirúrgicas (1 a 4), ano de cirurgia, radioterapia adjuvante (sim ou não), terapia endócrina adjuvante (sim ou não). Esses parâmetros foram combinados em um nomograma para identificar o risco individual de um paciente com CDIS para recorrência em 5 ou 10 anos após excisão local. Todas essas variáveis foram incluídas em nosso estudo.

O risco de recorrência local em 5 e 10 anos foi calculado para cada paciente através do site do MSKCC e as variáveis foram preenchidas de acordo com as informações coletadas no banco de dados (<http://www.mskcc.org/applications/nomograms/breast/DuctalCarcinomaInSituRecurrencePage.aspx>).

Foi considerado como risco relevante de recorrência as pacientes com probabilidade de RL $\geq 10\%$ em 10 anos, conforme sugerido por Van Zee et al.¹³³

4.8 Nomograma modificado do Memorial Sloan Kettering Cancer Center

Nesta pesquisa foi aplicada uma modificação do nomograma do MSKCC, calculado pela mesma plataforma, com a omissão do parâmetro RT (Figura 13), para estimativa de risco de recorrência e avaliação desta ferramenta como estratégia para o planejamento terapêutico. Todas as outras 9 variáveis foram calculadas conforme os dados coletados nos prontuários.

Foi considerado como risco relevante de recorrência as pacientes com probabilidade de RL $\geq 10\%$ em 10 anos, conforme sugerido por Van Zee et al.¹³³

4.9 Desfechos oncológicos

A RL foi definida como o desenvolvimento de carcinoma invasivo ou CDIS na mesma mama tratada por RSM e irradiada.

O tempo até à recorrência foi o intervalo entre a cirurgia e o diagnóstico de recidiva. A sobrevida livre de recorrência foi considerada entre a data do diagnóstico até à recorrência.

4.10 Aspectos éticos

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FMUSP (parecer número 1.836.393, de 22 de novembro de 2016). Foi solicitada e obtida dispensa do termo de consentimento livre e esclarecido, visto que, este estudo foi retrospectivo, sem intervenção terapêutica, não implicando em manuseio de material biológico (ANEXO). Foram coletadas nos prontuários, apenas informações clínicas e laudos anatomopatológicos em atendimento de rotina.

Assim, não houve conflitos de cunho ético relativos ao estudo, uma vez que as pacientes já haviam sido tratadas e os resultados obtidos na pesquisa não tiveram impacto na conduta adotada para cada paciente. Além disso, a identidade das pacientes envolvidas no estudo foi mantida em sigilo.

4.11 Análise estatística

O processo de análise de dados da presente pesquisa iniciou-se com uma exploração descritiva, incluindo frequência absoluta e relativa das variáveis qualitativas e medidas de tendência central e dispersão no caso das quantitativas.

Para testar a hipótese de que a distribuição na tabela de contingência era homogênea foi utilizado o teste exato de Fisher. O teste de hipótese para a igualdade das médias até a ocorrência da recidiva do CDIS foi avaliado pelo teste de log-rank. A avaliação do período livre de doença foi realizada por meio do método de Kaplan-Meier. Estimativas de *hazard ratio* foram ainda realizadas com uso da regressão de Cox.

A Receiver Operating Characteristic Curve (ROC) foi utilizada para análise diagnóstica do escore de risco de recidiva, em 5 anos e em 10 anos. Foi realizada uma segunda análise omitindo o parâmetro RT do nomograma (nomograma modificado). As *areas under the curve* (AUC) foram calculadas e as estimativas de IC95% foram utilizadas.

Todos os testes realizados levaram em consideração um α bidirecional de 0.05, intervalo de confiança (IC) de 95% e foram realizados com apoio computacional dos softwares IBM SPSS 25 (Statistical Package for the Social Sciences) e Excel 2016® (Microsoft Office).

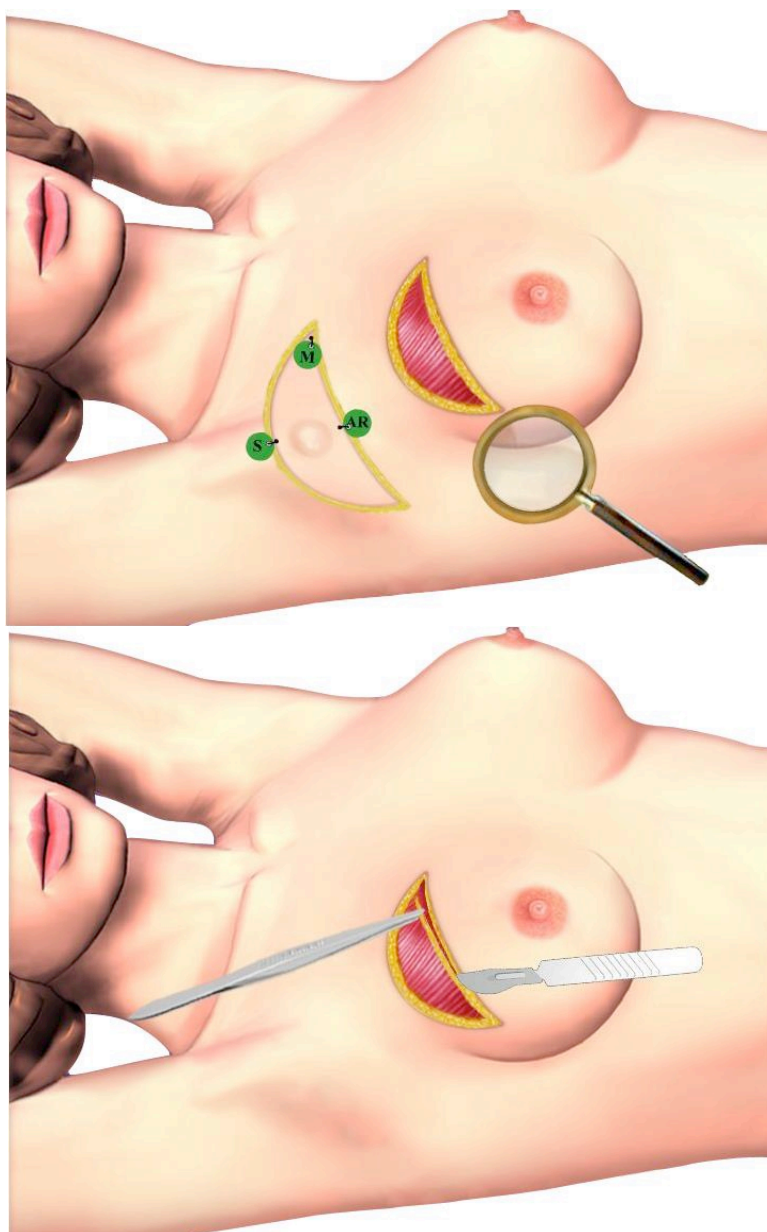


Figura 10 – Ressecção segmentar da mama com marcação das margens cirúrgicas e ampliação imediata das margens quando necessário.



Figura 11 – Resultado estético após cirurgia conservadora.

Age at Diagnosis Enter age at the time of diagnosis.	<input type="text" value="52"/> years old (25 to 90)
Family History? Select YES if there are first- (e.g., mother or sister) or second-degree (e.g., paternal aunt or grandmother) relatives with breast cancer.	<input checked="" type="checkbox"/> YES
Presentation Select Clinical if there was an abnormality on physical examination; select Radiologic if an abnormality was seen only on breast imaging studies (e.g., mammography).	<input type="text" value="Radiologic"/>
Adjuvant Radiation Therapy? Select YES if radiation therapy is given after breast-conserving surgery.	<input checked="" type="checkbox"/> YES
Adjuvant Endocrine Therapy? Select YES if anti-estrogen treatment (e.g., tamoxifen, raloxifene).	<input checked="" type="checkbox"/> YES
Nuclear Grade Select the nuclear grade from the pathology report. (Low = slight or no variation in the size and shape of the cell nuclei; Intermediate/High = moderate to marked variation in the size and shape of the cell nuclei.)	<input type="text" value="Intermediate or High"/>
Necrosis? Select YES if the pathology report states that there was necrosis associated with the DCIS.	<input checked="" type="checkbox"/> YES
Surgical Margins	<input type="text" value="Negative"/>
Select "Negative" if there is a margin width of at least 2 mm. Select "Positive or Close" if margin width is 2 mm or less.	
Number of Surgical Excisions Indicate the number of surgical excisions that were required.	<input type="text" value="1"/> excisions (1 to 4)
Year of Surgery Indicate the year surgery was performed.	<input type="text" value="2021"/> year (1991 to present)

Probability of Recurrence	5 Year	3%
	10 Year	4%

Figura 12 – Nomograma original do Memorial Sloan Kettering Cancer Center. (Fonte: <http://nomograms.mskcc.org/breast/DuctalCarcinomaInSituRecurrencePage.aspx>).

Age at Diagnosis Enter age at the time of diagnosis.	<input type="text" value="52"/> years old (25 to 90)
Family History? Select YES if there are first- (e.g., mother or sister) or second-degree (e.g., paternal aunt or grandmother) relatives with breast cancer.	<input checked="" type="checkbox"/> YES
Presentation Select Clinical if there was an abnormality on physical examination; select Radiologic if an abnormality was seen only on breast imaging studies (e.g., mammography).	<input type="text" value="Radiologic"/>
Adjuvant Endocrine Therapy? Select YES if anti-estrogen treatment (e.g., tamoxifen, raloxifene).	<input checked="" type="checkbox"/> YES
Nuclear Grade Select the nuclear grade from the pathology report. (Low = slight or no variation in the size and shape of the cell nuclei; Intermediate/High = moderate to marked variation in the size and shape of the cell nuclei.)	<input type="text" value="Intermediate or High"/>
Necrosis? Select YES if the pathology report states that there was necrosis associated with the DCIS.	<input checked="" type="checkbox"/> YES
Surgical Margins	<input type="text" value="Negative"/>
Select "Negative" if there is a margin width of at least 2 mm. Select "Positive or Close" if margin width is 2 mm or less.	
Number of Surgical Excisions Indicate the number of surgical excisions that were required.	<input type="text" value="1"/> excisions (1 to 4)
Year of Surgery Indicate the year surgery was performed.	<input type="text" value="2021"/> year (1991 to present)

Probability of Recurrence	5 Year	7%
	10 Year	11%

Figura 13 – Nomograma modificado do Memorial Sloan Kettering Cancer Center (Fonte: <http://nomograms.mskcc.org/breast/DuctalCarcinomaInSituRecurrencePage.aspx>).

5. RESULTADOS

5.1 População do estudo

Foram coletados retrospectivamente dados de 110 mulheres com diagnóstico de CDIS e operadas mediante RSM entre os anos de 1993 e 2018. A média de idade das pacientes no momento do diagnóstico foi de 54 anos (\pm 11,7 anos). Essa coorte teve seguimento mínimo de 6 meses e máximo de 22 anos, com média de 4,8 anos. O tempo de seguimento pode ser visualizado na Figura 14.

A maioria dos tumores foi detectada por exames de rastreamento (95%), apresentando-se, principalmente, na forma de calcificações suspeitas (84%). Entre as pacientes sintomáticas (5%), todas (100%) tinham nódulo como apresentação clínica inicial.

A maioria das mulheres avaliadas foi operada após o ano de 2005 (62,6%), estava na pós-menopausa (60,9%), assintomática (85,3%), com apresentação radiológica do tipo calcificação (79,0%), sem história familiar (63,4%), tumor com comedonecrose presente (50,5%), margens livres (89,7%), grau nuclear 1 ou 2 (64,5%) e tratadas com hormonioterapia (70,6%).

Nas Tabelas de 1, 2 e 3 é possível comparar as características das pacientes incluídas na coorte deste estudo *versus* as pacientes utilizadas na elaboração do nomograma do MSKCC.

5.2 Recidivas locais

Foram observados 8 casos de RL, o que resultou em incidência acumulada de 7,3% (IC95% 3,5%–13,3%). A taxa de RL foi de 1,50 por 100 mulheres-ano (IC95% 0,69–2,85 por 100 mulheres-ano). Entre as recidivas, 37,5% foram na forma de tumores *in situ* e 62,5% foram na forma invasiva.

A Figura 15 mostra as características atuariais da RL do CDIS. Aproximadamente 50% dos casos (4 casos) ocorreram nos primeiros 10 anos de seguimento e, os demais, com seguimento mais tardio. A estimativa média de tempo até a recorrência foi de 9,3 anos. A estimativa de risco atuarial de RL em 5 anos foi de 5,4% e em 10 anos foi de 10,3%.

As variáveis com impacto sobre o risco de RL foram presença de comedonecrose e margens cirúrgicas exíguas ($p= 0,03$ e $p= 0,005$, respectivamente). As características que mostraram maior heterogeneidade entre os diferentes grupos (RL *versus* não RL) sendo mais frequentes no grupo RL, porém sem significância estatística, foram o diagnóstico de CDIS até o ano 2000, tumor com padrão arquitetural cribriforme, apresentação na forma de nódulo, tumor RP negativo (Tabelas 4 a 7).

As variáveis contínuas apresentaram distribuições semelhantes entre os diferentes grupos. A média do tamanho do tumor no grupo sem RL foi de 10,9 mm ($\pm 9,6$ mm) e no grupo das mulheres com RL foi de 14,6 mm ($\pm 20,4$ mm); a discrepância do desvio padrão no último grupo impossibilita uma avaliação mais objetiva na sua descrição. Gráficos de *boxplot* foram desenvolvidos para

melhor avaliação da distribuição das variáveis contínuas estratificadas segundo a ocorrência de RL (Figuras 16 a 21).

Nas Tabelas 8, 9, 10 e 11 estão listados os fatores relacionados ao tempo até à recorrência. Dentre as 16 variáveis analisadas, 2 mostraram-se associadas significativamente com menor intervalo livre de RL: nas pacientes com apresentação radiológica do tipo nódulo, a recidiva ocorreu em média com 8,3 anos (IC95% 6,3–10,3 anos) *versus* calcificação que ocorreu em 16,7 anos (IC95% 13,5–19,8 anos), $p = 0,003$; em relação às margens do tumor, naqueles indivíduos com margens exíguas ($< 2,0$ mm) o evento foi observado em um tempo médio de 11,1 anos (IC95% 6,2–16,0) *versus* 17,0 anos (IC95% 10,3–19,3 anos) para os indivíduos classificados como margens livres ($\geq 2,0$ mm) $p = 0,001$.

Uma análise de regressão de Cox univariada foi utilizada para avaliar essas 2 características significantes na análise de Kaplan-Meier. A apresentação radiológica de nódulo foi significativa, com o *hazard ratio* de 10,8 (IC95% 1,5–77,1), $p = 0,018$; já as margens cirúrgicas exíguas não resultaram em uma razão de risco significativa ($p = 0,130$), embora tenha mostrado menor tempo até a ocorrência da RL (Tabela 12).

5.3 Comparação do uso dos nomogramas do MSKCC original e modificado

As estimativas de risco em 5 e 10 anos foram calculadas para todas as pacientes usando o nomograma original e modificado. A mediana do risco de RL em 10 anos usando o nomograma original foi 5% (variação de 2%–30%), com 16 pacientes apresentando risco de RL $\geq 10\%$; entre as quais apenas 1 manifestou RL (6,2%) – Tabela 13. Quando usamos o nomograma modificado a mediana do risco de RL em 10 anos foi de 9% (variação de 4%–23%), com 47 pacientes apresentando risco de RL $\geq 10\%$; entre as quais 6 evoluíram com RL (12,7%) – Tabela 14.

De acordo com a probabilidade de RL estimada pelo nomograma modificado, 47 pacientes foram classificadas como alto risco e 63 foram classificadas como baixo risco. No grupo com risco $\geq 10\%$, 6 pacientes desenvolveram RL (12,7%), enquanto no grupo com risco $< 10\%$, apenas 2 pacientes desenvolveram RL (3,1%), $p = 0,12$ (Tabela 15). A diferença não foi significativa, no entanto, demonstra uma tendência de identificação mais precisa do subgrupo de mulheres com risco aumentado de RL. Esses resultados reforçam que a RT deve ser recomendada para pacientes com alta probabilidade de RL estimada pelo nomograma modificado

Quando observamos apenas as pacientes com RL, o nomograma modificado classificou como alto risco 6 dos 8 casos de RL (75%), enquanto, usando o nomograma original, apenas 1 (12,5%) foi classificada como alto risco.

A acurácia do nomograma do MSKCC para RL em 5 e 10 anos foi testada nesta amostra através do estudo com a técnica da curva ROC. Foi realizada a análise do nomograma original, incluindo a variável RT, e uma segunda análise do nomograma modificado, omitindo esse tratamento. As diferentes curvas estão apresentadas nas Figuras 22, 23 e 24.

A AUC estimada para RL em 5 anos do nomograma original foi de 0,563 (IC95% 0,378–0,747) com valor de $p = 0,557$. Para o risco de recidiva em 10 anos, a AUC foi de 0,610 (IC95% 0,459–0,760) com valor de $p = 0,304$. Para a estimativa de RL através do nomograma modificado, a AUC em 5 anos foi de 0,718 ($p = 0,04$) e em 10 anos AUC 0,721 ($p = 0,03$), ambos os valores com significância estatística.

Na Tabela 16 é possível verificar a AUC para os escores de risco em 5 anos de acordo com os nomogramas. A AUC mostrou significância estatística apenas quando usamos o nomograma modificado ($p = 0,04$).

Na avaliação do escore de risco em 10 anos (Tabela 17), tivemos significância estatística também apenas com o uso do nomograma modificado ($p = 0,03$), ou seja, a análise do risco de RL, através do uso do nomograma do MSKCC sem o parâmetro RT, mostrou que esse modelo tem valor preditivo para a ocorrência de RL. Quando se usa o nomograma modificado, a maioria das pacientes que apresentaram RL teve risco $\geq 10\%$ em 10 anos ($p = 0,037$).

As características que se associaram com o alto risco para recidiva ($\geq 10\%$) em 10 anos usando o nomograma modificado foram histórico familiar ($p = 0,007$), margens exíguas ($p = 0,002$), presença de comedonecrose ($p = 0,003$) e *status* menopausal ($p < 0,001$).

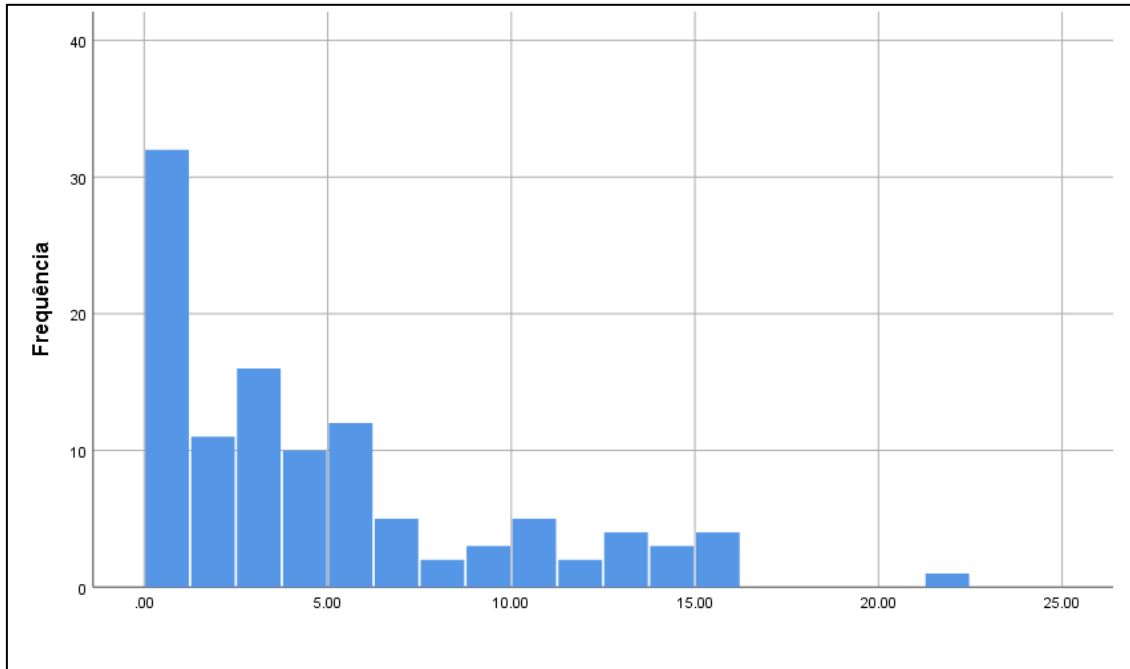


Figura 14 – Tempo de seguimento da coorte em anos.

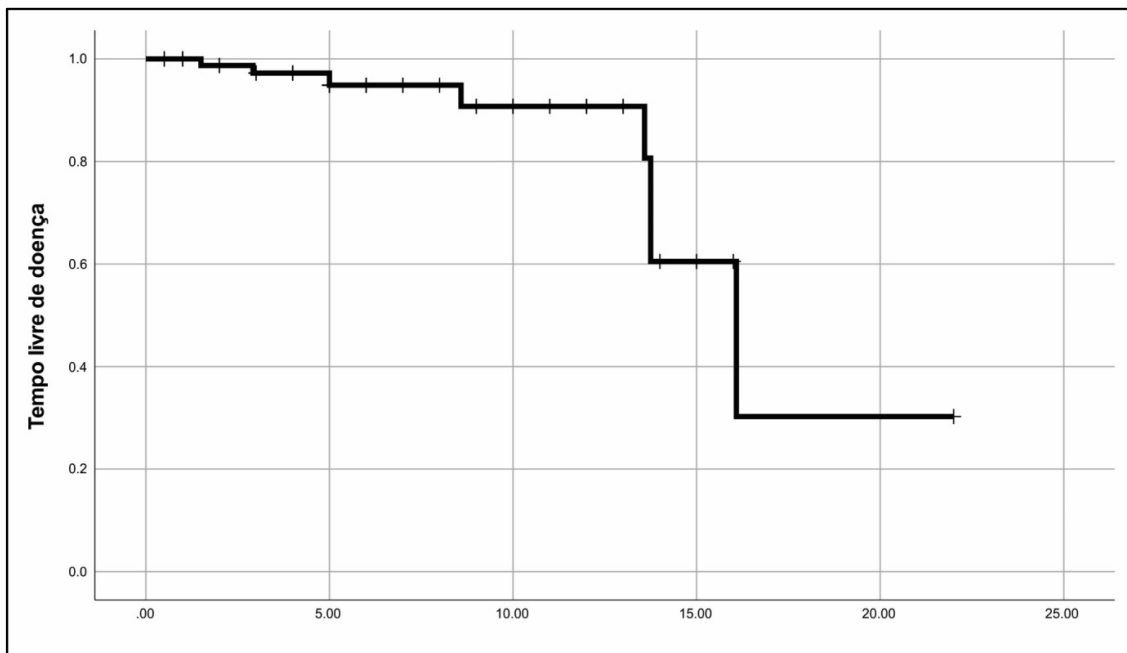


Figura 15 – Curva do período livre de recorrência local das pacientes incluídas no estudo.

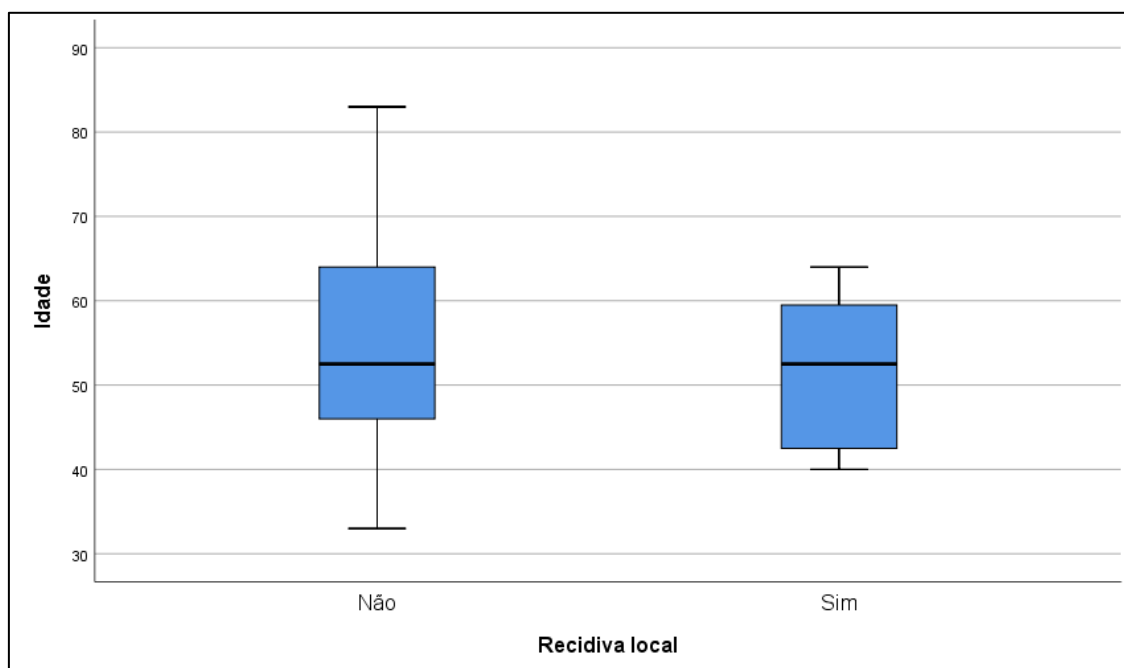


Figura 16 – Distribuição de idade (anos) das pacientes estratificada de acordo com a presença de recidiva local. Teste de Mann-Whitney = 0,549.

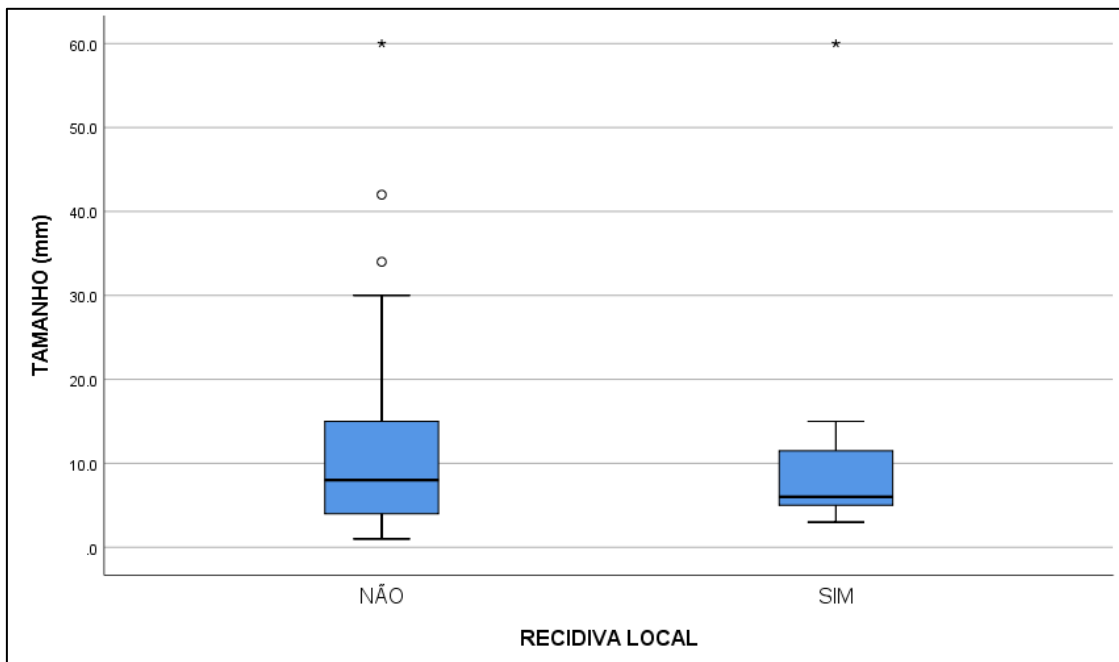


Figura 17 – Distribuição do tamanho do tumor (mm) estratificada de acordo com a presença de recidiva local. Teste de Mann-Whitney = 0,915.

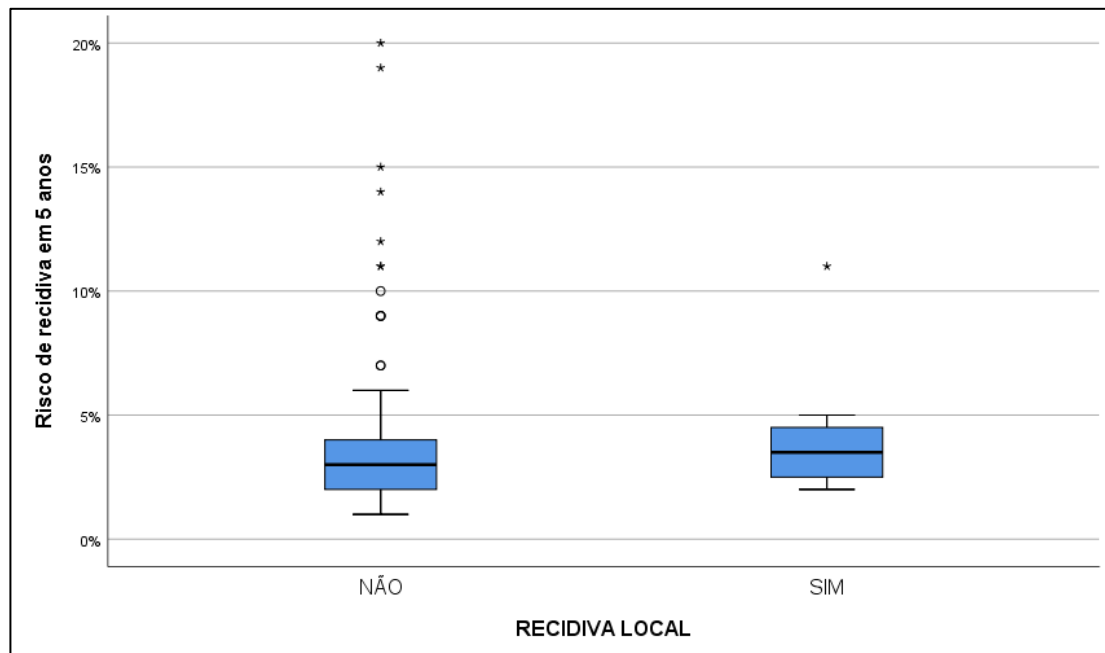


Figura 18 – Distribuição do escore de risco de recidiva em cinco anos estratificada de acordo com a presença de recidiva local. Teste de Mann-Whitney = 0,548.

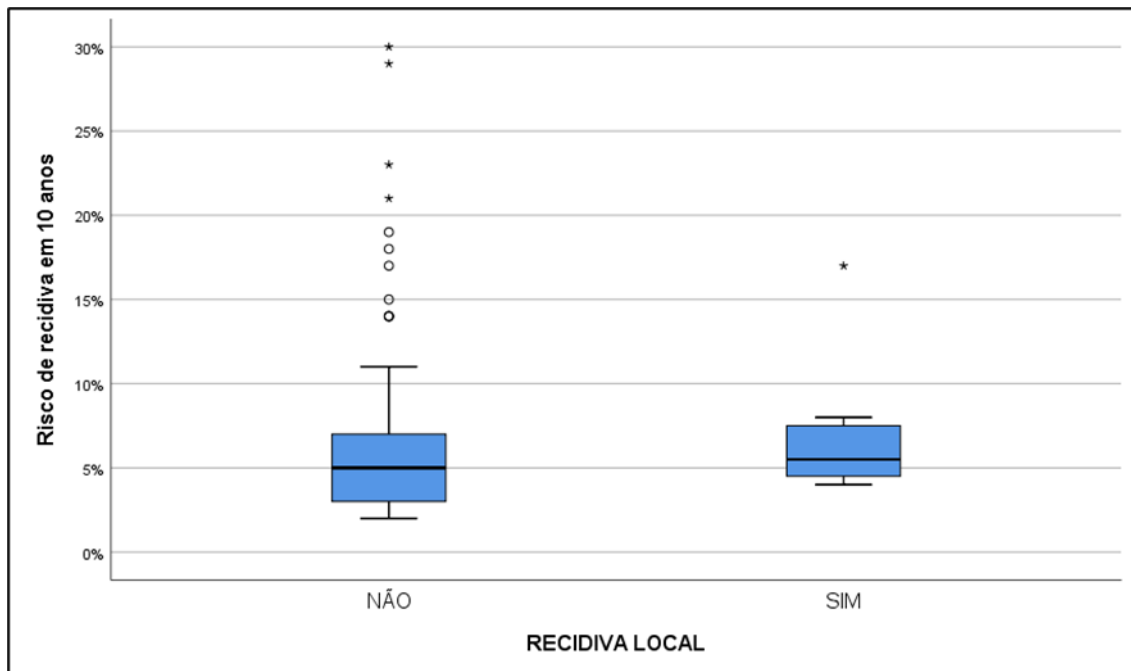


Figura 19 – Distribuição do escore de risco de recidiva em 10 anos estratificada de acordo com a presença de recidiva. Teste de Mann-Whitney = 0,299.

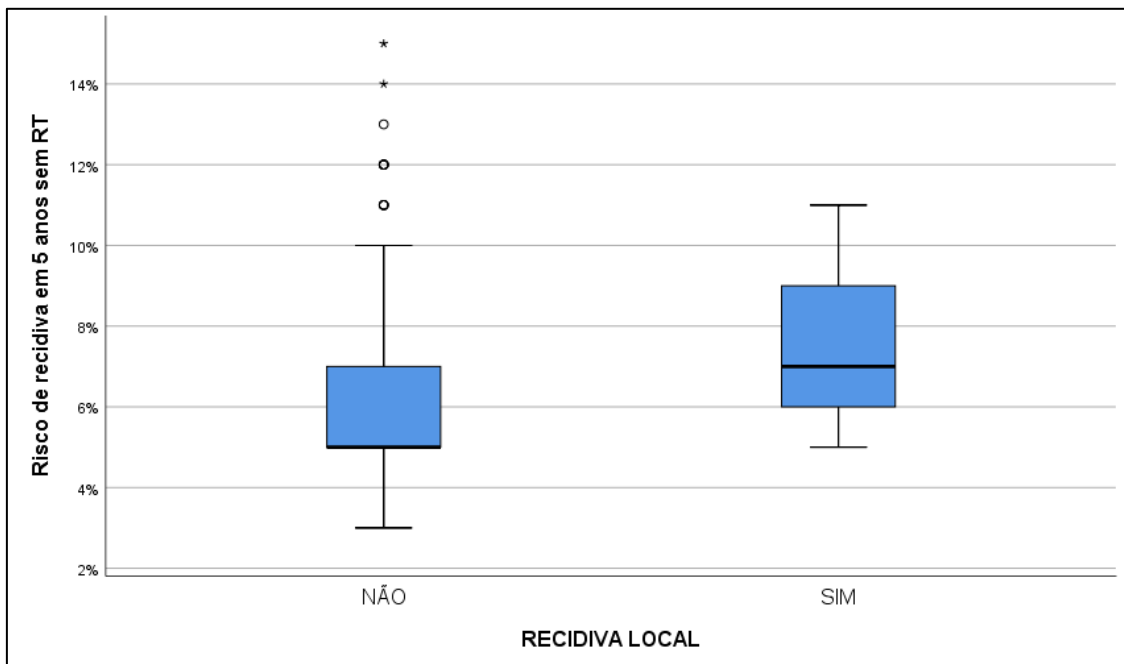


Figura 20 – Distribuição do escore de risco de recidiva em cinco anos (sem radioterapia) estratificada de acordo com a presença de recidiva. Teste de Mann-Whitney = 0,038.

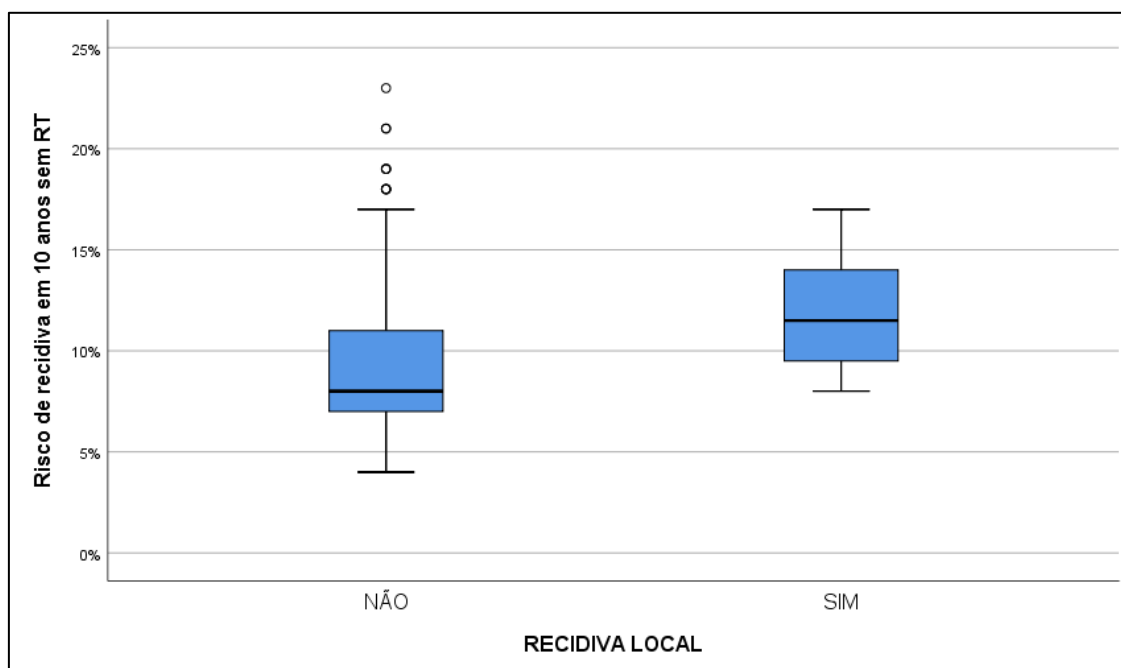


Figura 21 – Distribuição do escore de risco de recidiva em 10 anos (sem radioterapia) estratificada de acordo com a presença de recidiva. Teste de Mann-Whitney = 0,037.

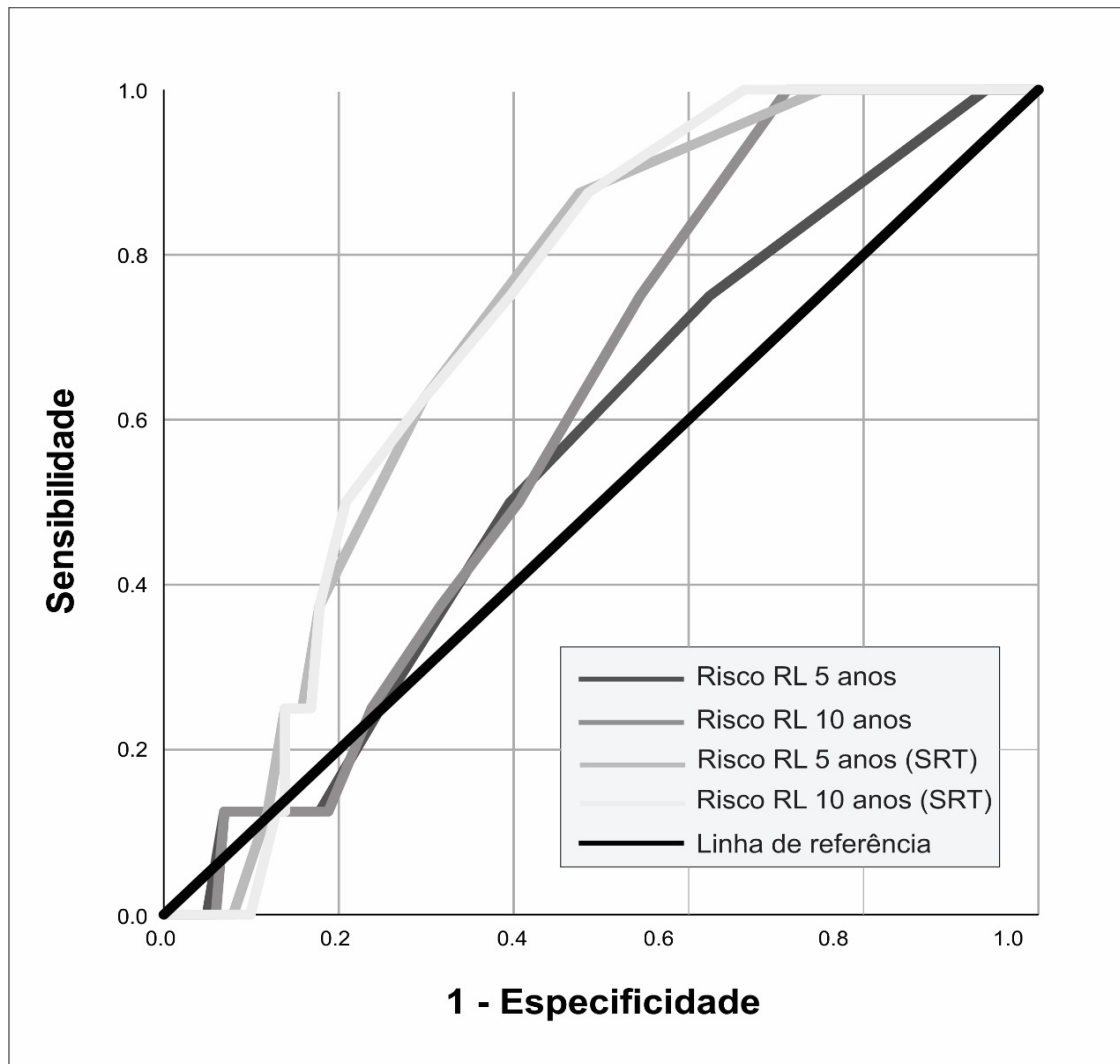


Figura 22 – Análise diagnóstica realizada pela técnica da curva ROC para avaliação do escore de risco de recidiva em 5 e 10 anos, com e sem radioterapia (nomograma original e modificado). SRT: sem radioterapia.

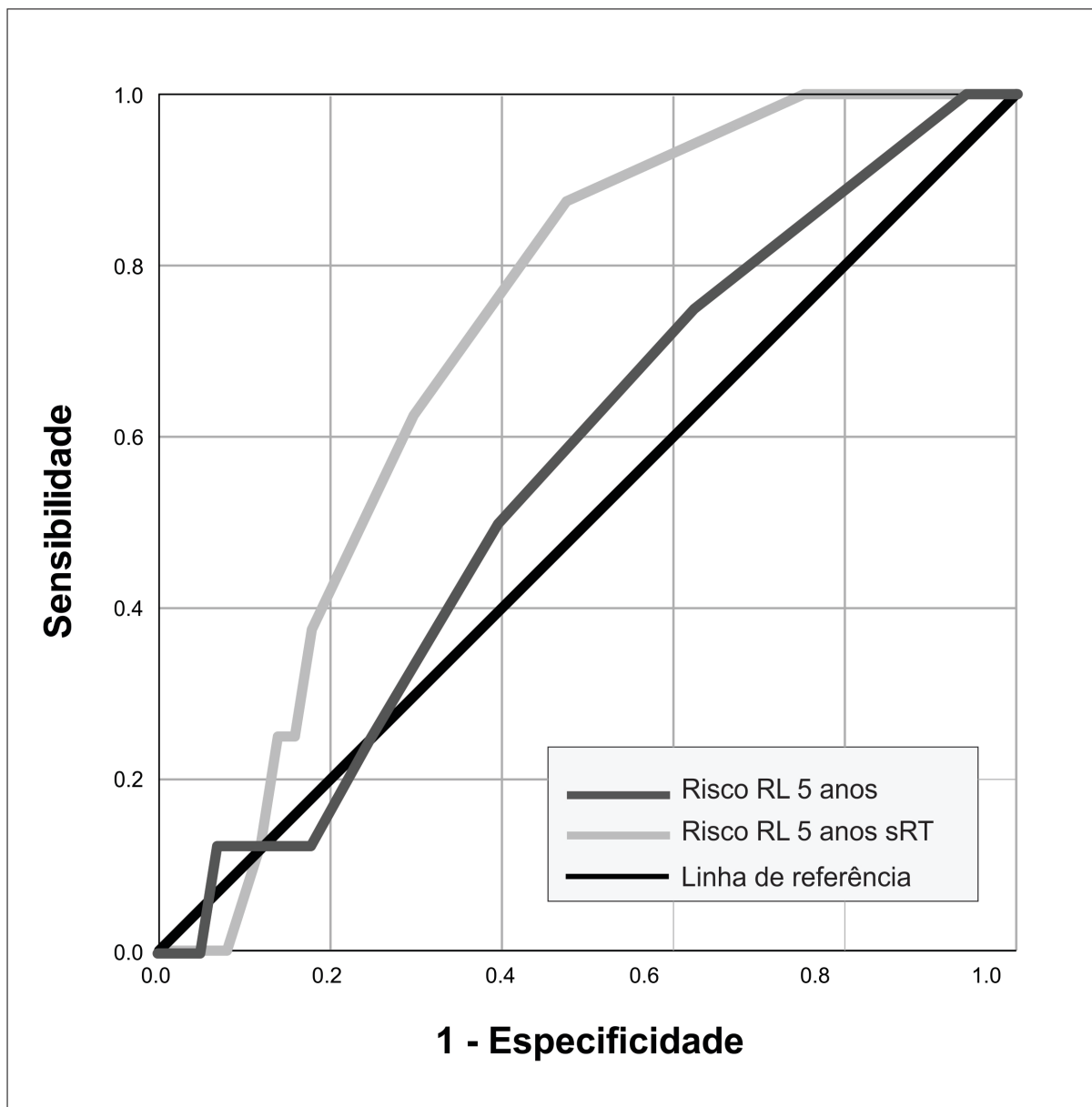


Figura 23 – Análise diagnóstica realizada pela técnica da curva ROC para avaliação do escore de risco de recidiva em 5 anos, com e sem radioterapia (nomograma original e modificado). SRT: sem radioterapia.

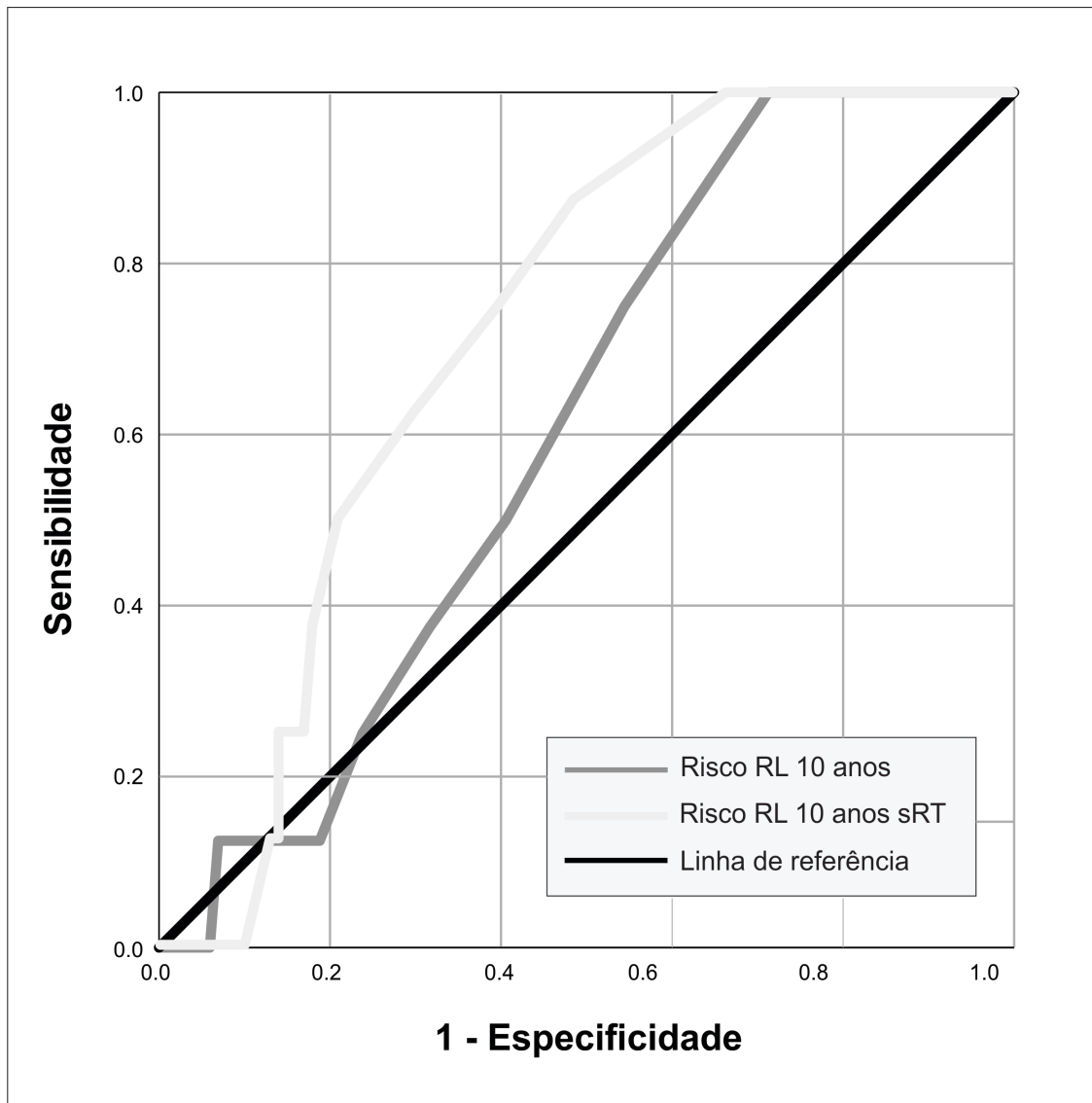


Figura 24 – Análise diagnóstica realizada pela técnica da curva ROC para avaliação do escore de risco de recidiva em 10 anos, com e sem radioterapia (nomograma original e modificado). SRT: sem radioterapia.

Tabela 1 – Comparação das características clínicas entre as coortes deste estudo e do MSKCC.

	Estudo		MSKCC	
	n	%	n	%
Ano da cirurgia				
Antes de 2000	9	10,9	-	-
2001 a 2005	27	26,4	-	-
2005 a 2015	51	48,2	-	-
2015 a 2018	15	14,4	-	-
Status menopausal				
Pré	39	39,1	625	33,5
Pós	63	60,9	1.187	63,5
Apresentação clínica				
Assintomática	96	85,3	1.588	85,0
Sintomática	6	14,7	251	13,4
Apresentação radiológica				
Calcificação	87	79,0	-	-
Nódulo/distorção arquitetural	15	13,6	-	-
História familiar				
Sim	37	36,6	688	36,8
Não	65	63,4	1.157	61,9

Tabela 2 – Comparação das características anatomopatológicas e tratamento entre as coortes deste estudo e do MSKCC.

	Estudo		MSKCC	
	n	%	n	%
Comedonecrose				
Presente	55	50,5	1.173	62,8
Ausente	54	49,5	663	35,5
Margens				
Exíguas (< 2 mm)	11	10,3	360	19,3
Livres (≥ 2 mm)	91	89,7	1.501	80,3
Grau nuclear				
1	18	16,5	370	19,8
2/3	91	82,6	1.411	75,5
Não descrito	1	0,9	32	1,7
Radioterapia				
Sim	110	100	906	48,5
Não	-	-	935	50,1
Não sabe	-	-	27	1,4
Hormonioterapia				
Sim	77	70,6	398	21,3
Não	32	29,4	1.444	77,3
Não sabe	1	0,9	1	1,4

Tabela 3 – Comparação entre as taxas e o tipo de recidiva local das coortes deste estudo e do MSKCC.

	Estudo		MSKCC	
	n	%	n	%
Recorrência local				
Sim	8	7,3	202	10,8
Não	102	92,7	1.666	89,2
Tipo de recorrência				
CDIS	2	1,8	122	7,0
Invasivo	6	5,4	80	4,0

Tabela 4 – Distribuição das variáveis quantitativas clínicas avaliadas no estudo de acordo com a recidiva local, incluindo o nível descritivo.

	Sem recidiva		Com recidiva		<i>p</i>
	n	%	n	%	
Ano do diagnóstico					
Antes de 2000	9	75,0	3	25,0	0,105
2001 a 2005	26	89,7	3	10,3	
2006 a 2015	51	96,2	2	3,8	
2016 a 2018	15	93,7	1	6,3	
Status menopausal					
Pré	39	90,6	4	9,4	0,382
Pós	63	94,0	4	6,0	
Apresentação clínica					
Assintomática	96	92,3	8	7,7	0,629
Sintomática	6	100	0	0,0	
Apresentação radiológica					
Calcificação	87	93,5	6	6,5	0,333
Nódulo	15	88,2	2	11,8	
Distorção arquitetural	0	0,0	0	0,0	
História familiar					
Sim	37	92,5	3	7,5	0,610
Não	65	92,9	5	7,1	

Tabela 5 – Distribuição das variáveis quantitativas anatomopatológicas avaliadas no estudo de acordo com a recidiva local, incluindo o nível descritivo.

	Sem recidiva		Com recidiva		<i>p</i>
	n	%	n	%	
Padrão arquitetural					
Sólido	31	94,0	2	6,0	0,843
Cribriforme	24	88,9	3	11,1	
Micropapilar	4	100	0	0,0	
Papilífero	4	100	0	0,0	
Misto	31	94,0	2	6,0	
Comedonecrose					
Presente	48	87,3	7	12,7	0,032
Ausente	53	98,2	1	1,8	
Margens					
Exíguas (< 2 mm)	11	84,6	2	15,4	0,005
Livres (≥ 2 mm)	91	93,8	6	6,2	
Grau nuclear					
1	17	94,4	1	5,6	0,883
2	48	92,3	5	7,7	
3	36	94,7	2	5,3	
Não descrito	1	100	0	-	

Tabela 6 – Distribuição dos marcadores por imunohistoquímica avaliados no estudo de acordo com a recidiva local, incluindo o nível descritivo.

	Sem recidiva		Com recidiva		<i>p</i>
	n	%	n	%	
RE					
Positivo	86	92,4	7	7,6	0,635
Negativo	11	91,6	1	8,3	
Não avaliado	6	100	0	0,0	
RP					
Positivo	83	93,2	6	6,7	0,351
Negativo	14	87,5	2	12,5	
Não avaliado	5	100	0	0,0	
HER 2					
0 ou 1+	44	88,0	6	12,0	0,999
2+	7	100	0	0,0	
3+	5	100	0	0,0	
Não avaliado	46	95,8	2	4,2	

Tabela 7 – Distribuição da hormonioterapia adjuvante de acordo com a recidiva local, incluindo o nível descritivo.

	Sem recidiva		Com recidiva		<i>p</i>
	n	%	n	%	
Hormonioterapia					
Sim	71	92,2	6	7,8	0,999
Não	30	93,7	2	6,3	

Tabela 8 – Fatores clínicos associados à recidiva local do carcinoma ductal *in situ*, incluindo estimativas média de tempo (anos), intervalo de confiança de 95% (IC 95%).

	n	Estimativa média (anos)	Erro padrão	IC 95%		p
				Limite inferior	Limite superior	
Status						
menopausal						
Pré	4	12,8	1,2	10,4	15,3	0,108
Pós	4	17,2	1,7	13,7	20,6	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,3	
Apresentação						
clínica						
Assintomática	8	-	-	-	-	0,723
Sintomática	0	-	-	-	-	
Geral	8	-	-	-	-	
Apresentação						
radiológica						
Calcificação	6	16,7	1,6	13,5	19,8	0,003
Nódulo	2	8,3	1,0	6,3	10,3	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,3	
História						
familiar						
Não	5	16,7	1,9	13,0	20,4	0,673
Sim	3	13,7	0,6	12,5	14,8	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,3	

Tabela 9 – Fatores anatomopatológicos associados à recidiva local do carcinoma ductal *in situ*, incluindo estimativas média de tempo (anos), intervalo de confiança de 95% (IC95%).

	n	Estimativa média (anos)	Erro padrão	IC 95%		p
				Limite inferior	Limite superior	
Padrão arquitetural						
Sólido	2	-	-	-	-	0,785
Cribriforme	3	-	-	-	-	
Misto	2	-	-	-	-	
Outros	0	-	-	-	-	
Geral	7	-	-	-	-	
Grau nuclear						
1	1	19,0	2,1	14,9	23,1	0,427
2	5	14,0	0,8	12,6	15,5	
3	2	13,3	0,6	12,1	14,5	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,3	
Comedonecrose						
Não	1	20,9	1,1	18,7	23,0	0,103
Sim	7	13,9	0,8	12,3	15,4	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,3	
Tamanho do tumor (mm)						
Microscópico	1	13,8	1,2	11,5	16,1	0,949
≤ 20	6	16,1	1,7	12,8	19,4	
> 20	1	14,4	0,4	13,5	15,2	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,3	
Margens						
Exíguas	2	11,1	2,5	6,2	16,0	0,001
Livres	6	17,0	1,7	13,6	20,3	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,3	

Tabela 10 – Marcadores imunohistoquímicos associados à recidiva local do carcinoma ductal *in situ* incluindo estimativas média de tempo (anos), intervalo de confiança de 95% (IC95%).

	n	Estimativa média (anos)	Erro padrão	IC 95%		p
				Limite inferior	Limite superior	
RE						
Positivo	7	17,2	1,5	14,3	20,2	0,521
Negativo	1	16,1	0,0	16,1	16,1	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,2	
RP						
Positivo	6	17,9	1,5	14,9	20,9	0,935
Negativo	2	14,9	1,2	12,6	17,2	
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,2	
HER-2						
0 ou 1+	6	-	-	-	-	
2+	0	-	-	-	-	
3+	0	-	-	-	-	
Geral	6	-	-	-	-	

Tabela 11 – Tratamento adjuvante realizado e sua associação à recidiva local do carcinoma ductal *in situ* incluindo estimativas média de tempo (anos), intervalo de confiança de 95% (IC95%).

	n	Estimativa média (anos)	Erro padrão	IC 95%		p
				Limite inferior	Limite superior	
Hormonioterapia						
Não	2	14,9	1,6	11,6	18,1	
Sim	6	17,7	1,5	14,8	20,5	0,945
Geral	8	16,2	1,6	13,1	19,3	

Tabela 12 – Estimativas de risco de recidiva local para apresentação radiológica e margens cirúrgicas, intervalo de confiança de 95% (IC95%).

	<i>p</i>	HR	IC95%	
			Inferior	Superior
Nódulo	0,018	10,806	1,514	77,106
Margens cirúrgicas exíguas	0,130	4,015	0,665	24,240

Tabela 13 – Probabilidade de recidiva local de acordo com o nomograma original do MSKCC e número de casos de recidiva local.

	Pacientes		Recorrência local	
		n	n	%
Alta ($\geq 10\%$)				
5 anos		10	1	10.0
10 anos		16	1	6.2
Baixa ($< 10\%$)				
5 anos		100	7	7.0
10 anos		94	7	7.4

Tabela 14 – Probabilidade de recidiva local de acordo com o nomograma modificado do MSKCC e número de casos de recidiva local.

	Pacientes	Recorrência local	
	n	n	%
Alta ($\geq 10\%$)			
5 anos	17	2	11.7
10 anos	47	6	12.7
Baixa ($< 10\%$)			
5 anos	93	6	6.4
10 anos	63	2	3.1

Tabela 15 – Recorrência local em 10 anos em pacientes com alta ($\geq 10\%$) e baixa ($<10\%$) probabilidade de RL de acordo com o nomograma modificado do MSKCC.

	Pacientes	Recorrência local	
	n	n	%
Alta ($\geq 10\%$)	47	6	12.7
Baixa ($< 10\%$)	63	2	3.1

Tabela 16 – AUC para o escore de risco de recidiva local em 5 anos com e sem radioterapia (nomograma do MSKCC original e modificado), intervalo de confiança de 95% (IC95%).

	Área	<i>p</i>	IC95%	
			Inferior	Superior
Risco RL 5 anos	0,563	0,557	0,378	0,747
Risco RL 5 anos (sem RT)	0,718	0,041	0,585	0,851

AUC: *area under curve*

Tabela 17 – AUC para o escore de risco de recidiva local em 10 anos com e sem radioterapia (nomograma do MSKCC original e modificado), intervalo de confiança de 95% (IC95%).

	Área	<i>p</i>	IC95%	
			Inferior	Superior
Risco RL 10 anos	0,610	0,304	0,459	0,760
Risco RL 10 anos (sem RT)	0,721	0,038	0,594	0,848

AUC: *area under curve*

6. DISCUSSÃO

As modalidades atuais de tratamento para o CDIS da mama incluem combinações de cirurgia (mastectomia ou cirurgia conservadora), RT e terapia endócrina (nos tumores com expressão de receptores hormonais). No entanto, a decisão sobre o tratamento pode considerar a estimativa do risco de RL do indivíduo, uma vez que, até metade das pacientes pode não evoluir para RL e assim, personalizar a conduta pesando riscos e benefícios.

Existem diferentes variáveis que estão associadas à maior possibilidade de RL, porém devido às variações nos métodos dos estudos, tamanho de amostra, discordância entre os critérios diagnósticos e populações distintas, não há consenso na literatura sobre o verdadeiro impacto associado a cada uma delas.

Neste estudo foram avaliadas características clínicas, anatomopatológicas e moleculares que refletem o comportamento do CDIS e podem prever o risco de RL em pacientes submetidas à RSM.

A taxa de RL foi de 7,3% (IC95% 3,5%–13,3%). Stuart et al.,¹³⁷ em revisão sistemática analisando 8.351 pacientes submetidas à RSM (com e sem RT), mostraram taxa de RL no grupo que fez RSM e RT de 13,6%; já no grupo que foi submetido apenas à RSM, a RL foi de 25,5%. Em nossa amostra, todas as pacientes foram submetidas à RT adjuvante. A taxa de RL, segundo Mamtami et al.³ em pacientes submetidas à RSM pode chegar a 35%, porém esse risco reduz em 50% quando se adiciona RT como tratamento adjuvante. Yi et al.¹²⁷ em estudo de validação externa do nomograma do MSKCC relataram taxa de RL de 7,4%, entre as quais 52% ocorreram na forma invasiva.

Neste estudo os casos de RL na forma invasiva corresponderam a 62,5%, sendo compatível com os dados da literatura que mostram que cerca de 50% das RL nos tumores *in situ* se apresentam na forma infiltrativa.¹⁶

A presença de comedonecrose (12,7% *versus* 1,8%; $p= 0,03$; no grupo com RL e sem RL, respectivamente) e margens exíguas (15,4% *versus* 6,2%; $p= 0,005$; no grupo com RL e sem RL, respectivamente) impactaram significativamente na possibilidade de RL. As características que mostraram maior heterogeneidade entre os diferentes grupos (RL *versus* não RL), sendo mais frequentes no grupo RL, porém sem significância estatística foram o diagnóstico do CDIS até o ano 2000, tumor com padrão arquitetural cribriforme, apresentação na forma de nódulo, tumor RP negativo. O tamanho pequeno da amostra e o baixo número de eventos (RL) pode comprometer o efeito das demais variáveis sobre a chance de RL; ressalta-se ainda que todas as pacientes deste estudo fizeram RT, o que poderia justificar a baixa taxa de RL. Segundo Groen et al.⁴⁹ a RT pode neutralizar o efeito dessas características histopatológicas clássicas no risco de RL.

Visser et al.,²⁴ em revisão sistemática, listaram algumas características estatisticamente relacionadas ao risco de RL: raça afro-americana, pacientes na pré-menopausa, detecção por palpação, margens comprometidas e alto grau nuclear. No entanto, a variabilidade na análise dos critérios anatomopatológicos prejudica a avaliação da real consequência que algumas variáveis possuem no risco de RL.

De acordo com Barrio et al.,¹³ a taxa de RL pode variar de 9 a 23% após RSM; seu estudo demonstrou tendência à redução na incidência de RL no grupo de pacientes tratadas a partir do final da década de 1990, explicada

principalmente por melhora no rastreamento mamográfico, capaz de detectar tumores mais precocemente e com comportamento biológico favorável, além de avaliação anatomopatológica com critérios mais padronizados.

Subhedar et al.¹³⁸ demonstram as tendências temporais nas taxas de RL, entre 2.996 mulheres tratadas com RSM ao longo de 3 décadas. Entre 1978 e 2010, foi observada diminuição significativa nas taxas de RL ao longo do tempo. As taxas de RL em 10 anos diminuíram significativamente, de 13,6% em mulheres tratadas até 1998, para 6,6% em mulheres tratadas após 1999. Mesmo após o controle de múltiplas variáveis clínicas e patológicas, o período de tratamento permaneceu significativo, com menor risco de RL nas pacientes tratadas no período mais recente. O risco de RL caiu com o tempo, e mesmo após ajuste para fatores clínicos e patológicos, houve uma redução de 38% no risco para mulheres tratadas nos últimos anos em relação aos anos anteriores. Rakovitch et al.¹³² acrescentaram o ano do diagnóstico, além do tamanho do tumor e idade, ao cálculo de predição de risco pelo escore refinado do Oncotype DX DCIS o que implicou em melhor predição do risco de RL.

O ano da cirurgia está incluído no nomograma do MSKCC e é um dos fatores que refina as estimativas do escore de risco para DCIS. A melhora na assistência, com o diagnóstico precoce pode contribuir para esse achado.

Neste estudo, a maioria das pacientes recebeu diagnóstico no final da década de 90 e como se trata de uma coorte com nível socioeconômico elevado, com maior acesso ao rastreamento mamográfico e tratamento adjuvante, justifica-se a taxa de RL baixa. No entanto, há uma tendência de maior RL nas pacientes com diagnóstico antes do ano 2000 (sem significância estatística).

A presença de comedonecrose foi mais comum no grupo que apresentou RL, com significância estatística ($p = 0,03$). A comedonecrose é geralmente observada em CDIS de alto grau e apresenta-se como necrose calcificada no centro do ducto comprometido.

Conforme Sanati⁴⁴ alto grau nuclear e comedonecrose aparecem com frequência nos casos de CDIS que evoluíram com RL e também contribuem para menor tempo até à recorrência. De acordo com Salvatorelli et al.¹³⁹ a comedonecrose está ligada ao aumento do risco de RL e quando cercada pela presença de infiltrado inflamatório intenso também é fator preditivo de menor tempo até a recorrência. Pawloski et al.¹⁶ também encontraram relação entre a comedonecrose e multifocalidade e o risco de RL precoce. Em metanálise envolvendo 40 estudos, Visser et al.²⁴ não conseguiram relacionar a presença de comedonecrose à maior chance de RL, provavelmente devido à variabilidade do diagnóstico.

A variabilidade interobservadores pode justificar essa divergência. Em estudo observacional, que empregou a análise de um único perfil de ducto envolvido por CDIS de baixo grau com quantidades variáveis de necrose simulada, Harisson et al.⁴⁷ revelam variabilidade considerável no diagnóstico de comedonecrose entre patologistas experientes e especialistas em patologia mamária. Foi observado que não havia um critério homogêneo através do qual a maioria dos participantes confirmou a presença de comedonecrose.

O alto grau nuclear do CDIS é associado à RL da doença e progressão para invasão. A avaliação patológica do grau nuclear depende de vários critérios, incluindo o grau de pleomorfismo, tamanho do núcleo, proeminência nucleolar, distribuição da cromatina e frequência mitótica. O CDIS de alto grau

é fator de risco aumentado para RL quando comparado com CDIS de baixo grau da ordem de 2 vezes; os resultados com tumores de grau intermediário são inconsistentes.¹²

Uma barreira significativa para o uso do grau nuclear como fator prognóstico é o baixo nível de concordância diagnóstica observada na sua classificação, já que a mesma depende do julgamento subjetivo das características envolvidas na categorização, mencionadas anteriormente.

Van Dooijeweert et al.¹⁴⁰ relataram alto grau de variabilidade entre os laudos dos patologistas. Como visto com outras características morfológicas, a classificação em sistema de 2 variáveis é mais consistente e oferece menor divergência que o sistema baseado em 3, mostrando maior concordância.⁴⁵

Outro fator limitante é que, assim como nos carcinomas invasivos, o CDIS comumente apresenta heterogeneidade intratumoral significativa com áreas de múltiplos graus, o que sugere que a classificação atual do CDIS em 3 níveis distintos pode não refletir a biologia tumoral de maneira fidedigna. No caso de grau nuclear heterogêneo, alguns patologistas classificam o CDIS de acordo com o maior grau presente, enquanto outros citam apenas o predominante.⁴⁸

Hayward et al.¹⁴¹ pontuaram que a diversidade relacionada ao grau nuclear está relacionada diretamente ao aumento do grau; ductos comprometidos por CDIS de grau 1 apresentaram índice de diversidade baixo, ductos com doença grau 2 mostraram um índice de diversidade moderado, e em ductos com grau 3 o índice de diversidade foi alto. Essa heterogeneidade pode refletir em comportamento biológico distinto para cada tipo tumoral, o que gera repercussões clínicas. A variabilidade interobservador na classificação de CM invasivos, por exemplo, se relaciona à sobrevida livre de doença, com

tumores discordantes de graus 1/2 com desempenho pior do que tumores concordantes de graus 1/1 e tumores discordantes de graus 2/3 apresentando evolução pior que tumores concordantes graus 2/2.⁴⁸ Na era da medicina personalizada, relatar essa diversidade nos laudos pode contribuir para melhor categorização da doença e para a avaliação mais refinada do prognóstico.

A expressão de receptores hormonais e HER2 no CDIS ajudam a classificar os tumores em subtipos moleculares, classificação essa que impacta no risco de RL. De acordo com Hanna et al.,¹² os subtipos HER2 suprexpresso e triplo-negativo exibem maior chance de RL. A ausência de receptores hormonais acarreta comportamento biológico mais agressivo e está ligada a outras características de pior prognóstico.

De acordo com Chaudhary et al.¹⁴² os tumores RE+/RP+ apresentam menores taxas de RL quando comparados aos tumores RE-/RP-. Em nosso estudo, a ausência de expressão de RP foi mais comum nas pacientes com RL ($p= 0,351$). Nagasawa et al.⁸² mostraram que em pacientes RE positivos com baixa expressão de RP ($\leq 60\%$) a incidência de RL foi significativamente maior que no grupo com alta expressão de RP; geralmente tumores com baixa expressão de RP apresentam mutação no gene GATA-3. Os dados sobre HER2 e Ki67 nesta amostra estavam incompletos e, por isso, não foram relatados nos resultados.

Os fatores mais relacionados ao menor intervalo livre de RL foram apresentação na forma de nódulo e presença de margens $< 2,0$ mm. Em pacientes com apresentação na forma de nódulo a RL ocorreu em média com 8,3 anos; naquelas que apresentaram calcificações suspeitas esse tempo foi de 16,7 anos. As pacientes com margens exíguas apresentaram um tempo

médio até a RL de 11,1 anos; nas pacientes com margens > 2,0 mm esse tempo foi de 17 anos.

Para o sucesso da cirurgia conservadora, a obtenção de margens livres é condição essencial. Na metanálise do EBCTCG²⁰ (Early Breast Trialist' Collaborative Group) pacientes com margens comprometidas apresentaram risco 2 vezes maior de RL quando comparadas às pacientes com margens negativas, independente da RT (RL em 10 anos 24% *versus* 12%); aproximadamente 50% dessas recidivas foram na forma de carcinoma invasivo. No estudo NSABP B17¹⁴³ a taxa de RL foi de 8,1% para pacientes com margens livres após RSM e 3,3% para margens comprometidas. Quando o tratamento radioterápico foi oferecido, essas taxas se reduziram para 2,7% e 1,2%, respectivamente.

Recentemente, o conceito de margens livres no tratamento cirúrgico conservador do CDIS passou por uma atualização. De acordo com a revisão, há redução significativa na taxa de RL com distância do tumor até a margem igual a 2,0 mm, quando comparada à margem com ausência de tumor na tinta ou margem entre 1,0 e 2,0 mm. Margens superiores a 2,0 mm não mostram benefício adicional.³²

Em espécimes cirúrgicos de pacientes com CDIS com margens < 2,0 mm, Kelly et al.¹⁴⁴ encontraram aproximadamente 50% de doença residual após ampliação. Quando o CDIS envolve as margens, células tumorais residuais estão presentes no local da ressecção, essas células podem crescer, subsequentemente resultando em recorrência.

De acordo com Tadros et al.¹⁴⁵ as taxas de RL são semelhantes em pacientes submetidas à RSM seguida de RT com margens < 2,0 mm ou ≥ 2,0

mm. Já nas pacientes que não foram submetidas à RT, houve diferença estatisticamente significativa no risco de RL entre esses grupos. A RT pode impactar diretamente na redução de desfechos negativos em pacientes com características de alto risco para RL, já nas pacientes sem essas características não é observada uma redução importante.¹⁴⁶ No nosso estudo, apesar de todas as pacientes receberem RT, a presença de margens exíguas foi um fator de risco para RL.

A apresentação radiológica inicial na forma de nódulo também mostrou associação com menor tempo até à RL, como também foi demonstrado por Wang et al.¹¹² No estudo de Yi et al.¹²⁷ evidencia-se taxa de RL em 5 anos de 7,1% em pacientes com nódulo na apresentação inicial, enquanto naquelas com calcificações a taxa foi de 3,9%. CDIS geralmente apresenta-se como calcificações suspeitas na mamografia; outras apresentações, menos comuns, incluem nódulo, distorção arquitetural ou assimetria focal, que estão relacionadas a pior prognóstico por mostrarem maior volume de doença.^{3,24}

Pacientes com idade jovem (< 40 anos) possuem maior risco de RL na forma invasiva. Com o aumento da idade, houve uma diminuição significativa nas taxas de RL em 10 anos, variando de 7,5% em mulheres \geq 80 anos a 27,3% em mulheres < 40 anos segundo estudo de Cronin et al.¹⁴⁷ No grupo abaixo da 40 anos de idade a RL na forma invasiva foi mais prevalente. Em nosso estudo a idade não mostrou impacto significativo no risco de RL.

Entre as características do tumor, o tamanho está relacionado diretamente à maior taxa de RL em alguns estudos.¹³⁹ O tamanho do CDIS pode ser de difícil mensuração em várias lâminas, por isso, em alguns artigos a extensão não mostra associação estatisticamente significativa com RL. No

nomograma, o tamanho da lesão foi ilustrado pelo número de excisões, ou seja, quanto maior o tamanho do tumor, maior o número de excisões, refletindo essa dificuldade de padronização.

Neste estudo, apenas 5 pacientes necessitaram de ampliação intra-operatória ou definitiva de margens pós parafina, justificando re-operação. Isso reflete o impacto da melhoria da qualidade dos exames de imagem com melhor avaliação da extensão do CDIS, além da qualidade da cirurgia, com preocupação de obter margens livres macroscopicamente, quando possível. Como todas as pacientes foram examinadas pelo mesmo cirurgião, com protocolo de preparo pré-operatório, a avaliação minuciosa da extensão tumoral possibilitou que, na maioria dos casos, fosse realizado apenas uma excisão com margens livres (de acordo com o conceito adotado na época da cirurgia). Na população do MSKCC 91% das pacientes tiveram até 2 excisões.

Para decisões clínicas mais personalizadas e levando em consideração a heterogeneidade das características anatomicopatológicas do CDIS, o uso de uma ferramenta clínica e facilmente disponível para guiar a conduta do paciente baseado em uma estratificação de risco é bastante atraente.

Neste estudo foi testado o desempenho do nomograma do MSKCC para fornecer a avaliação da possibilidade de RL em 5 e 10 anos desenvolvido por Rudloff et al.⁴²

O nomograma original não apresentou bom desempenho em nossa coorte. Entre as 8 pacientes com RL, 7 apresentaram baixo risco (risco de RL < 10%). Ressaltamos que toda a população do estudo recebeu RT e as pacientes com expressão de receptores hormonais receberam

hormonioterapia, o que influencia na estratificação de risco avaliada através do nomograma.

A área sob a curva (AUC) estimada para recorrência em 5 anos foi de 0,563 ($p = 0,557$), sem significância estatística. A AUC para RL em 10 anos foi de 0,610 ($p = 0,304$) demonstrando também baixo desempenho na avaliação de risco. Nós introduzimos uma modificação no nomograma MSKCC DCIS, omitindo o parâmetro da RT. A interpretação AUC mostrou valor significativo para o risco de RL em 5 e 10 anos. Quando avaliamos as 8 pacientes com RL através do nomograma modificado, 6 foram classificadas como alto risco em 10 anos (risco de RL $\geq 10\%$). De fato, o uso do nomograma original pode superestimar o benefício da RT, mitigando o impacto de outras características no risco de RL.

Uma das aplicações práticas de um nomograma é orientar o tratamento de pacientes recém-diagnosticadas. A diversidade nas taxas de RL após RSM apresentada na literatura demonstra uma oportunidade de se usar novos métodos para refinar as estimativas de risco de RL, que podem informar, por exemplo, a magnitude do benefício da RT para um paciente individual.

Solin et al.³⁴ observou que pacientes com CDIS de graus baixo ou intermediário e $< 2,5$ cm apresentaram taxa de RL de 14,4%; enquanto os tumores de alto grau a RL foi de 26,4% quando submetidos à excisão cirúrgica isolada. Nesse caso, seriam necessárias outras variáveis para eleger o grupo no qual a radioterapia poderia ser omitida de maneira mais segura.

Shaaban et al.¹⁴⁸ em estudo de coorte prospectivo multicêntrico britânico com 9.191 pacientes e seguimento médio de 9,4 anos, constataram RL em 7% da amostra. A RT teve maior impacto na redução de risco de RL no grupo de

CDIS com alto grau (3,8% com RT *versus* 6,9% sem RT). No grupo de baixo grau ou intermediário a incidência de RL foi de 2,3% *versus* 3,0%, respectivamente. Reconhece-se uma limitação importante do estudo. Infelizmente, alguns autores chamaram a atenção para o fato de que a classificação do CDIS mostra uma concordância moderada entre os patologistas.

McCormick et al.²¹ conduziram elegante ensaio clínico avaliando o impacto da RT na redução da taxa de RL em pacientes com CDIS de baixo risco submetidas à cirurgia conservadora (tumores detectados por rastreamento, < 2,5 cm, com margens cirúrgicas > 3,0 mm e grau nuclear baixo ou intermediário). As pacientes foram randomizadas para receber radioterapia *versus* observação (podendo usar tamoxifeno ou não). Após um seguimento de 13,9 anos, a incidência cumulativa em 15 anos de RL foi de 7,1% no grupo que recebeu RT contra 15,1% no grupo de observação ($p = 0,007$). Na análise multivariada apenas o uso de RT e de tamoxifeno impactaram no risco de RL. Os autores concluíram que mesmo mostrando benefício significativo, os resultados não respaldam uma indicação generalizada de RT, porém devem ser levados em consideração na discussão entre médicos e pacientes para o planejamento terapêutico com o objetivo de reduzir a RL.

No entanto, os critérios de estratificação de risco relatados nesses estudos são pautados em características clínicas e anatomopatológicas que apresentam uma marcante variabilidade interobservadores, reduzindo a concordância e confiabilidade desses critérios.^{45,46,48,149}

O índice prognóstico de Van Nuys¹²³ foi a primeira tentativa de elaboração de uma plataforma baseada em parâmetros clínicos e morfológicos com o

objetivo de orientar a conduta em pacientes com CDIS, no entanto, até hoje não há evidência da sua utilidade e validação nesse sentido.

Uma vez que as características clínicas e patológicas tradicionais não conseguem identificar uma coorte de baixo risco de pacientes com CDIS que não se beneficia da RT após RSM, há necessidade de assinaturas biológicas para avaliar o risco de recorrência.

O Oncotype DX DCIS pode ser usado para avaliação do risco de RL ajudando a orientar a conduta terapêutica, no entanto, a grande falha dessa ferramenta é a falta de parâmetros que incorporem dados do microambiente estromal do tumor, considerados importantes no fenômeno de progressão. Rakovitch et al.¹³² mostraram que a incorporação de dados clínicos como idade, ano do diagnóstico e tamanho do tumor à assinatura genética melhorou a capacidade de predição de risco quando comparada ao uso da assinatura genética isolada.

O uso do escore de risco refinado levou à mudança na recomendação do tratamento em 35,2% das pacientes, com redução na indicação de RT em 29% (IC 95% 22–35%) devido à maior identificação de mulheres com baixo risco de RL (< 10%).

Van Zee et al.¹³³ fizeram uma comparação interessante entre o nomograma do MSKCC e o Oncotype DX DCIS refinado (incluindo as 3 variáveis clínicas) em 59 mulheres acima de 50 anos de idade, com tumores < 2.5 cm. Assumindo que a RT deveria ser indicada naquelas pacientes com risco de RL em 10 anos $\geq 10\%$, eles determinaram a frequência na qual os escores apresentavam consonância na indicação do tratamento. Em 92,5% dos casos houve concordância na estratificação de risco. Os autores

concluíram que o nomograma poderia ser usado em pacientes acima de 50 anos de idade com tumores pequenos, evitando o custo excessivo da assinatura genética, até que dados adicionais demonstrem uma desvantagem significativa.

De acordo com Raldow et al.¹³¹ o uso indiscriminado do Oncotype DX DCIS não mostra bom custo-efetividade, já que o gasto médio para realização do teste é de \$ 7.500. Assim, há a necessidade de usar uma estratégia de de-escalamento da terapia que seja mais abrangente, com baixo custo e facilmente acessível, principalmente considerando o cenário de saúde pública.

Com isso, considerando os métodos atuais de estratificação de risco e ponderando custo e benefício entre elas, constata-se a utilidade do nomograma modificado como uma opção de personalização do tratamento, oferecendo a oportunidade de de-escalamento da terapia já que a estimativa de RL mostrou associação com o risco de RL e conseguiu identificar com mais precisão pacientes de alto risco. Nós encontramos que essa simples e econômica estratégia pode ser clinicamente útil.

Embora sejam reconhecidas a aplicabilidade do nomograma e a excelência da análise estatística realizada, acredita-se que esse instrumento pode ser reforçado com a inclusão de outras variáveis, como marcadores moleculares que podem refletir melhor a biologia tumoral, o comportamento da doença e ajudam a estratificar melhor o risco de RL, e possibilitar melhor predição do benefício da RT. Embora a terapia endócrina esteja incluída como variável do nomograma, a informação sobre a expressão do RE e RP pode ser um fator preditivo mais objetivo e independente para a RL do tumor do que a informação sobre o uso da terapia endócrina. Além disso, entender a biologia

tumoral de forma mais adequada orientaria na escolha dos tratamentos adjuvantes.

Constatamos limitações neste estudo especialmente por ser uma revisão retrospectiva, casuística relativamente pequena e baixo número de eventos desfavoráveis, amostra oriunda de uma única instituição, além do alto nível social das pacientes, o que favorece um maior acesso aos exames de rastreamento.

Destaca-se que, no conjunto de mulheres avaliadas, apenas 8 casos de RL ocorreram. A baixa incidência do evento é fator limitante para análises multivariadas ou para explorar outras opções analíticas. Além disso, o pequeno tamanho de amostra está relacionado a maior probabilidade de erro do tipo II. A probabilidade de cometer erro de tipo II depende do poder do teste ou do tamanho de amostra em investigação. O erro do tipo II pode ser evitado quando o tamanho amostral é grande o suficiente para detectar diferença prática, quando esse realmente existir. Nesse caso, os escores de risco de RL em 5 e em 10 anos não são significantes, talvez, devido à influência do erro do tipo II.

Por outro lado, salientamos, outrossim, virtudes metodológicas, como padronização de técnica cirúrgica (único cirurgião) e análise microscópica cuidadosa por patologistas *experts* em doença mamária. Ademais, a casuística advinda de um serviço privado com alto nível sócio-econômico permite, ao contrário do sistema público, maior acesso a exames de rastreamento e maior facilidade de obtenção e confiabilidade nos dados de desfecho evolutivo.

Em nossa análise, introduzimos uma alteração no nomograma MSKCC DCIS, omitindo o parâmetro RT. Pontuamos que todas as pacientes receberam

RT, portanto, é razoável conjecturar que a probabilidade real de RL pode estar subestimada em nosso estudo. A recomendação de RT é feita para todos as pacientes com alto risco de RL, por outro lado, é possível que a irradiação não seja essencial para os casos com baixo risco. Procuramos prever a probabilidade individual de cada paciente. Na verdade, descobrimos que essa ferramenta simples e econômica é clinicamente útil. A recomendação de RT adjuvante após RSM para pacientes com CDIS pode ser influenciada pelo nomograma MSKCC DCIS modificado, calculado sem despesas através de sua plataforma digital.

Nesse sentido, o presente estudo representa uma análise exploratória que abre novo caminho promissor a ser confirmado em pesquisas futuras. Na verdade, isso é reforçado pela tendência atual de minimizar o uso da RT, seja através de esquemas com menor quantidade de sessões (5 frações) ou até pela opção de omitir esse tratamento em uma população de baixo risco, sem comprometer os desfechos oncológicos e a qualidade de vida.

O CDIS é uma doença heterogênea e a capacidade de avaliar adequadamente o prognóstico e prever o risco de RL com base nos achados clínicos e anatomopatológicos é limitada. Permanecem questões biológicas fundamentais a serem investigadas sobre os fatores que podem criar um ambiente permissivo para a progressão invasiva, incluindo o ambiente imunológico. Melhores estratégias de tomada de decisão são necessárias para auxiliar na escolha entre as opções terapêuticas. Uma combinação de fatores patológicos, clínicos e moleculares pode, em última análise, revelar medidas mais poderosas e robustas para a classificação da doença quando comparada

a qualquer modalidade isolada. O principal desafio no manejo clínico do CDIS continua sendo o tratamento personalizado de acordo com o risco individual.

O risco de RL previsto pelo nomograma do MSKCC poderia ser uma variável usada no aconselhamento de pacientes, uma vez que possui confiabilidade na predição de risco de RL comprovado por estudos de validação interna e externa^{111,125,126,127} com mais de 2.600 pacientes. Há necessidade de incorporar outros dados da biologia tumoral como receptores hormonais, marcadores do microambiente tumoral e da resposta imune, como os TILs para avaliação mais confiável do comportamento do tumor.

Em síntese, foi visto que este novo instrumento preditivo adiciona informações para decisão terapêutica. O nomograma MSKCC DCIS modificado pode ser aplicável para a identificação de pacientes com alta probabilidade de RL em 10 anos, para os quais a RT é fortemente recomendada. Serão necessários mais estudos incorporando outras variáveis para estratificação de risco de forma mais abrangente, avaliando-se o uso do nomograma modificado como estratégia de personalização do tratamento na prática clínica.

7. CONCLUSÕES

Com referência às pacientes com carcinoma ductal *in situ* de mama tratadas com cirurgia conservadora e radioterapia, foi possível concluir neste estudo que:

1) Entre as variáveis clínicas, histopatológicas e moleculares, aquelas que mostraram ser fatores predisponentes à recidiva local, com significância estatística, foram presença de comedonecrose e distância tumor-margens cirúrgicas exíguas;

2) O nomograma modificado do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center para carcinoma ductal *in situ* foi significativamente associado ao risco de recidivas locais, enquanto o nomograma original não;

3) O nomograma modificado do Memorial Sloan-Kettering Cancer Center para carcinoma ductal *in situ* demonstrou ser instrumento útil na prática para reforçar a indicação de radioterapia complementar.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tan PH, Ellis I, Allison K, Brogi E, Fox SB, Lakhani S, et al. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. *Histopathology*. 2020;77:181-5.
2. Rakha EA, Reis Filho JS, Gorringer KL, Toss MS, Green AR, Fox SB, et al. Invasion in breast lesions: the role of the epithelial-stroma barrier. *Histopathology*. 2018;72:1075-83.
3. Mamtani A, Van Zee KJ. Treatment of ductal carcinoma in situ: considerations for tailoring therapy in the contemporary era. *Curr Breast Cancer Rep*. 2020;12:98-106.
4. Shah C, Wobb J, Manyam B, Kundu N, Arthur D, Wazer D, et al. Management of ductal carcinoma in situ of the breast: a review. *JAMA Oncol*. 2016;2:1083-8.
5. Schnitt SJ. Diagnosis of ductal carcinoma in situ in an era of de-escalation of therapy. *Mod Pathol*. 2021;34.
6. Yang L, Lu D, Lai Y, Shen M, Yu Q, Lei T, et al. Prognostic score-based stratification analysis reveals universal benefits of radiotherapy on lowering the risk of ipsilateral breast event for ductal carcinoma in situ patients with different risk levels. *Ann Surg Oncol*. 2021;28:975-84.
7. Gebrim LH, Shida JY, Hegg R, Topis T, Mattar A. Avaliação do tempo de início do tratamento, estadiamento histopatológico e positividade dos biomarcadores (RE, RP, HER-2) em 3.566 pacientes tratadas pelo SUS no período de 2012 a 2014, no Hospital Pérola Byington. *Rev Bras Mastol*. 2014;24(3):65-9.
8. Henrique L. Comentário sobre o artigo de Tesser & d'Ávila. *Cad Saude Publica*. 2016;32:5-6.

9. Szynglarewicz B, Kasprzak P, Biecek P, Halon A, Matkowski R. Screen-detected ductal carcinoma in situ found on stereotactic vacuum-assisted biopsy of suspicious microcalcifications without mass: radiological-histological correlation. *Radiol Oncol.* 2016;50:145-52.
10. Holland R, Schuurmans Stekhoven JH, Hendriks JHCL, Verbeek ALM, Mravunac M. Extent, distribution, and mammographic/ histological correlations of breast ductal carcinoma in situ. *Lancet.* 1990;335:519-22.
11. Sá R da S, Logullo AF, Elias S, Facina G, Sanvido VM, Nazário ACP. Ductal carcinoma in situ: underestimation of percutaneous biopsy and positivity of sentinel lymph node biopsy in a brazilian public hospital. *Breast Cancer Targets Ther.* 2021;13:409-17.
12. Hanna WM, Parra-Herran C, Lu FI, Slodkowska E, Rakovitch E, Nofech-Mozes S. Ductal carcinoma in situ of the breast: an update for the pathologist in the era of individualized risk assessment and tailored therapies. *Mod Pathol.* 2019;32:896-915.
13. Barrio AV, Van Zee KJ. Ductal carcinoma in situ of the breast: controversies and current management. *Adv Surg.* 2019;53:21-35.
14. Lago V, Maisto V, Gimenez-Climent J, Vila J, Vazquez C, Estevan R. Nipple-sparing mastectomy as treatment for patients with ductal carcinoma in situ: a 10-year follow-up study. *Breast J.* 2018;24:298-303.
15. Heinzen RN, Barros ACSD, Carvalho FM, Aguiar FN, Nimir CDCBA, Jacomo AL. Nipple-sparing mastectomy for early breast cancer: the

- importance of intraoperative evaluation of retroareolar margins and intra-nipple duct removal. *Gland Surg* 2020;9:637-46.
16. Pawloski KR, Tadros AB, Sevilimedu V, Newman A, Gentile L, Zabor EC, et al. Patterns of invasive recurrence among patients originally treated for ductal carcinoma in situ by breast-conserving surgery versus mastectomy. *Breast Cancer Res Treat.* 2021;186:617-24.
 17. Wapnir IL, Dignam JJ, Fisher B, Mamounas EP, Anderson SJ, Julian TB, et al. Long-term outcomes of invasive ipsilateral breast tumor recurrences after lumpectomy in NSABP B-17 and B-24 randomized clinical trials for DCIS. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103:478-88.
 18. Donker M, Litière S, Werutsky G, Julien JP, Fentiman IS, Agresti R, 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.* 2013;31:4054-9.
 19. Marta GN, Carvalho HA. Radiotherapy in breast ductal carcinoma in situ. *Mastology.* 2018;23:251-6.
 20. Correa C, McGale P, Taylor C, Wang Y, Clarke M, Davies C, et al. Overview of the randomized trials of radiotherapy in ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2010;41:162-77.
 21. McCormick B, Winter KA, Woodward W, Kuerer HM, Sneige N, Rakovitch E, et al. Randomized phase III trial evaluating radiation following surgical excision for good-risk ductal carcinoma in situ: long-term report from NRG Oncology/RTOG 9804. *J Clin Oncol.* 2021;39:3574-3582.

22. Allred DC, Anderson SJ, Paik S, Wickerham DL, Nagtegaal ID, Swain SM, et al. Adjuvant tamoxifen reduces subsequent breast cancer in women with estrogen receptor-positive ductal carcinoma in situ: a study based on NSABP protocol B-24. *J Clin Oncol*. 2012;30:1268-73.
23. Cuzick J, Sestak I, Forbes JF, Dowsett M, Cawthorn S, Mansel RE, et al. Use of anastrozole for breast cancer prevention (IBIS-II): long-term results of a randomised controlled trial. *Lancet*. 2020;395:117-22.
24. Visser LL, Groen EJ, Van Leeuwen FE, Lips EH, Schmidt MK, Wesseling J. Predictors of an invasive breast cancer recurrence after DCIS: a systematic review and meta-analyses. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2019;28:835-45.
25. Giannakeas V, Sopik V, Narod SA. Association of a diagnosis of ductal carcinoma in situ with death from breast cancer. *JAMA Netw Open*. 2020;3:1-10.
26. Giannakeas V, Sopik V, Narod SA. Association of radiotherapy with survival in women treated for ductal carcinoma in situ with lumpectomy or mastectomy. *JAMA Netw Open*. 2018;1:1-11.
27. Narod SA, Iqbal J, Giannakeas V, Sopik V, Sun P. Breast cancer mortality after a diagnosis of ductal carcinoma in situ. *JAMA Oncol*. 2015;1:888-96.
28. Giannakeas V, Sopik V, Narod SA. A comparison of two models for breast cancer mortality for women with ductal carcinoma in situ: an SEER-based analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2018;169:587-94.
29. King MT, Link EK, Whelan TJ, Olivetto IA, Kunkler I, Westenberg AH, et al. Quality of life after breast-conserving therapy and adjuvant

- radiotherapy for non-low-risk ductal carcinoma in situ (BIG 3-07/TROG 07.01): 2-year results of a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2020;2:685-98.
30. Erbas B, Provenzano E, Armes J, Gertig D. The natural history of ductal carcinoma in situ of the breast: a review. *Breast Cancer Res Treat.* 2006;97:135-44.
 31. Sanders ME, Schuyler PA, Dupont WD, Page DL. 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.* 2005;103:2481-4.
 32. Morrow M, Van Zee KJ, Solin LJ, Houssami N, Chavez-MacGregor M, Harris JR, et al. Society of Surgical Oncology-American Society for Radiation Oncology-American Society of Clinical Oncology consensus guideline on margins for breast-conserving surgery with whole-breast irradiation in ductal carcinoma in situ. *J Clin Oncol.* 2016;34:4040-6.
 33. Wong JS, Chen YH, Gadd MA, Gelman R, Lester SC, Schnitt SJ, et al. Eight-year update of a prospective study of wide excision alone for small low – or intermediate-grade ductal carcinoma in situ (DCIS). *Breast Cancer Res Treat.* 2014;143:343-50.
 34. Solin LJ, Gray R, Hughes LL, Wood WC, Lowen MA, Badve SS, et al. Surgical excision without radiation for ductal carcinoma in situ of the breast: 12-year results from the ECOG-ACRIN E5194 study. *J Clin Oncol.* 2015;33:3938-44.

35. Sagara Y, Mallory MA, Wong S, Aydogan F, DeSantis S, Barry WT, et al. Survival benefit of breast surgery for low-grade ductal carcinoma in situ: a population-based cohort study. *JAMA Surg.* 2015;150:739-45.
36. Francis A, Thomas J, Fallowfield L, Wallis M, Bartlett JMS, Brookes C, et al. Addressing overtreatment of screen detected DCIS; the LORIS trial. *Eur J Cancer.* 2015;51:2296-303.
37. Elshof LE, Tryfonidis K, Slaets L, Van Leeuwen-Stok AE, Skinner VP, Dif N, et al. Feasibility of a prospective, randomised, open-label, international multicentre, phase III, non-inferiority trial to assess the safety of active surveillance for low risk ductal carcinoma in situ – the LORD study. *Eur J Cancer.* 2015;51:1497-510.
38. Hwang ES, Hyslop T, Lynch T, Frank E, Pinto D, Basila D, et al. The COMET (Comparison of Operative versus Monitoring and Endocrine Therapy) trial: a phase III randomised controlled clinical trial for low-risk ductal carcinoma in situ (DCIS). *BMJ Open.* 2019;9:e026797.
39. Kanbayashi C, Thompson AM, Hwang E-SS, Partridge AH, Rea DW, Wesseling J, et al. The international collaboration of active surveillance trials for low-risk DCIS (LORIS, LORD, COMET, LORETTA). *J Clin Oncol.* 2019;37:15.
40. Pinder SE, Thompson AM, Wesseling J. Low-risk DCIS. What is it? Observe or excise? *Virchows Arch.* 2021;27.
41. Oseni TO, Smith BL, Lehman CD, Vijapura CA, Pinnamaneni N, Bahl M. Do eligibility criteria for ductal carcinoma in situ (DCIS) active surveillance trials identify patients at low risk for upgrade to invasive carcinoma? *Ann Surg Oncol.* 2020;27:4459-65.

42. Rudloff U, Jacks LM, Goldberg JI, Wynveen CA, Brogi E, Patil S, et al. Nomogram for predicting the risk of local recurrence after breast-conserving surgery for ductal carcinoma in situ. *J Clin Oncol*. 2010;28:3762-9.
43. Lester SC, Bose S, Chen YY, Connolly JL, De Baca ME, Fitzgibbons PL, et al. Protocol for the examination of specimens from patients with ductal carcinoma in situ of the breast. *Arch Pathol Lab Med*. 2009;133:15-25.
44. Sanati S. Morphologic and molecular features of breast ductal carcinoma in situ. *Am J Pathol*. 2019;189:946-55.
45. Cserni G, Sejbén A. Grading ductal carcinoma in situ (DCIS) of the breast – What’s wrong with it? *Pathol Oncol Res*. 2020;26:665-71.
46. Dano H, Altinay S, Arnould L, Bletard N, Colpaert C, Dedeurwaerdere F, et al. Interobserver variability in upfront dichotomous histopathological assessment of ductal carcinoma in situ of the breast: the DCISion study. *Mod Pathol*. 2020;33:354-66.
47. Harrison BT, Hwang ES, Partridge AH, Thompson AM, Schnitt SJ. Variability in diagnostic threshold for comedo necrosis among breast pathologists: implications for patient eligibility for active surveillance trials of ductal carcinoma in situ. *Mod Pathol*. 2019;32:1257-62.
48. Van Bockstal MR, Berlière M, Duhoux FP, Galant C. Interobserver variability in ductal carcinoma in situ of the breast. *Am J Clin Pathol*. 2020;154:596-609.
49. Groen EJ, Hudecek J, Mulder L, van Seijen M, Almekinders MM, Alexov S, et al. Prognostic value of histopathological DCIS features in a large-

- scale international interrater reliability study. *Breast Cancer Res Treat.* 2020;183:759-70.
50. Wan Z Bin, Gao HY, Wei L, Zhang AQ, Zhang JY, Wang Y, et al. Expression of estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2, and Ki-67 in ductal carcinoma in situ (DCIS) and DCIS with microinvasion. *Medicine (Baltimore).* 2018;97:e13055.
51. Toss MS, Abidi A, Lesche D, Joseph C, Mahale S, Saunders H, et al. The prognostic significance of immune microenvironment in breast ductal carcinoma in situ. *Br J Cancer.* 2020;122:1496-506.
52. Livasy CA, Perou CM, Karaca G, Cowan DW, Maia D, Jackson S, et al. Identification of a basal-like subtype of breast ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol.* 2007;38:197-204.
53. Agahozo MC, van Bockstal MR, Groenendijk FH, van den Bosch TPP, Westenend PJ, van Deurzen CHM. Ductal carcinoma in situ of the breast: immune cell composition according to subtype. *Mod Pathol.* 2020;33:196-205.
54. Doebar SC, van den Broek EC, Koppert LB, Jager A, Baaijens MHA, Obdeijn IAM, et al. Extent of ductal carcinoma in situ according to breast cancer subtypes: a population-based cohort study. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;158:179-87.
55. Miligy IM, Toss MS, Gorringer KL, Lee AHS, Ellis IO, Green AR, et al. The clinical and biological significance of HER2 over-expression in breast ductal carcinoma in situ: a large study from a single institution. *Br J Cancer.* 2019;120:1075-82.

56. Cobleigh MA, Anderson SJ, Siziopikou KP, Arthur DW, Julian TB, Mamounas EP et al. Primary results of NRG Oncology / NSABP B-43: phase III trial comparing concurrent trastuzumab (T) and radiation therapy (RT) with RT alone for women with HER2-positive ductal carcinoma in situ (DCIS) after lumpectomy. *J Clin Oncol*. 2020;38:508.
57. Poulakaki N, Makris GM, Papanota AM, Marineli F, Marinelis A, Battista MJ, et al. Ki-67 expression as a factor predicting recurrence of ductal carcinoma in situ of the breast: a systematic review and meta-analysis. *Clin Breast Cancer*. 2018;18:157-67.
58. Aguiar FN, Cirqueira CS, Bacchi CE, Carvalho FM. Morphologic, molecular and microenvironment factors associated with stromal invasion in breast ductal carcinoma in situ: role of myoepithelial cells. *Breast Dis*. 2015;35:249-52.
59. Shee K, Muller KE, Marotti J, Miller TW, Wells WA, Tsongalis GJ. Ductal carcinoma in situ biomarkers in a precision medicine era: current and future molecular-based testing. *Am J Pathol*. 2019;189:956-65.
60. Sgroi DC. Preinvasive breast cancer. *Ann Rev Pathol*. 2010;5:193-221.
61. Riley LB, Desai DC. The molecular basis of cancer and the development of targeted therapy. *Surg Clin North Am*. 2009;89:1-15.
62. Casasent AK, Edgerton M, Navin NE. Genome evolution in ductal carcinoma in situ: invasion of the clones. *J Pathol*. 2017;241:208-18.
63. Cowell CF, Weigelt B, Sakr RA, Ng CKY, Hicks J, King TA, et al. Progression from ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer revisited. *Mol Oncol*. 2013;7:859-69.

64. Kakarala M, Wicha MS. Implications of the cancer stem-cell hypothesis for breast cancer prevention and therapy. *J Clin Oncol*. 2008;26:2813-20.
65. Castro NP, Osório CABT, Torres C, Bastos EP, Mourão-Neto M, Soares FA, et al. Evidence that molecular changes in cells occur before morphological alterations during the progression of breast ductal carcinoma. *Breast Cancer Res*. 2008;10:1-14.
66. Singletary SE. A working model for the time sequence of genetic changes in breast tumorigenesis. *J Am Coll Surg*. 2002;194:202-16.
67. Wellings SR, Jensen HM. On the origin and progression of ductal carcinoma in the human breast. *J Natl Cancer Inst*. 1973 May; 50:1111-8.
68. Sontag L, Axelrod DE. Evaluation of pathways for progression of heterogeneous breast tumors. *J Theor Biol*. 2005;232:179-89.
69. Narod SA, Sopik V. Is invasion a necessary step for metastases in breast cancer? *Breast Cancer Res Treat*. 2018;169:9-23.
70. Hernandez L, Wilkerson PM, Lambros MB, Campion-Flora A, Rodrigues DN, Gauthier A, et al. Genomic and mutational profiling of ductal carcinomas in situ and matched adjacent invasive breast cancers reveals intra-tumour genetic heterogeneity and clonal selection. *J Pathol*. 2012;227:42-52.
71. Ma XJ, Dahiya S, Richardson E, Erlander M, Sgroi DC. Gene expression profiling of the tumor microenvironment during breast cancer progression. *Breast Cancer Res*. 2009;11:1-18.

72. Sharma M, Beck AH, Webster JA, Espinosa I, Montgomery K, Varma S, et al. Analysis of stromal signatures in the tumor microenvironment of ductal carcinoma in situ. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;123:397-404.
73. Mardekian SK, Bombonati A, Palazzo JP. Ductal carcinoma in situ of the breast: the importance of morphologic and molecular interactions. *Hum Pathol.* 2016;49:114-23.
74. Masood S. Is it ductal carcinoma in situ with microinvasion or “ductogenesis”? The role of myoepithelial cell markers. *Breast J.* 2020;26:1138-47.
75. Cichon MA, Degnim AC, Visscher DW, Radisky DC. Microenvironmental influences that drive progression from benign breast disease to invasive breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2010;15:389-97.
76. Lessi F, Scatena C, Aretini P, Menicagli M, Franceschi S, Naccarato AG, et al. Molecular profiling of microinvasive breast cancer microenvironment progression. *J Transl Med.* 2019;17:183.
77. Casasent AK, Schalck A, Gao R, Sei E, Long A, Pangburn W, et al. Multiclonal invasion in breast tumors identified by topographic single cell sequencing. *Cell.* 2018;172:205-217.
78. Park SY, Kwon HJ, Lee HE, Ryu HS, Kim SW, Kim JH, et al. Promoter CpG island hypermethylation during breast cancer progression. *Virchows Arch.* 2011;458:73-84.
79. Pang JMB, Dobrovic A, Fox SB. DNA methylation in ductal carcinoma in situ of the breast. *Breast Cancer Res.* 2013;15:206.

80. Mao X, Fan C, Wei J, Yao F, Jin F. Genetic mutations and expression of p53 in non-invasive breast lesions. *Mol Med Rep.* 2010;3:929-34.
81. Souza PM. *Expressão imunohistoquímica da proteína associada ao gene GATA3 nos carcinomas mamários infiltrativos iniciais e sua relação com parâmetros prognósticos morfológicos e moleculares.* Tese de doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. 2021.
82. Nagasawa S, Kuze Y, Maeda I, Kojima Y, Motoyoshi A, Onishi T, et al. Genomic profiling reveals heterogeneous populations of ductal carcinoma in situ of the breast. *Commun Biol.* 2021;4:438.
83. Asselin-Labat ML, Sutherland KD, Vaillant F, Gyorki DE, Wu D, Holroyd S, et al. Gata-3 negatively regulates the tumor-initiating capacity of mammary luminal progenitor cells and targets the putative tumor suppressor caspase-14. *Mol Cell Biol.* 2011;31:4609-22.
84. Berx G, Van Roy F. The e-cadherin/catenin complex: an important gatekeeper in breast cancer tumorigenesis and malignant progression. *Breast Cancer Res.* 2001;3:289-93.
85. Yeong J, Thike AA, Tan PH, Iqbal J. Identifying progression predictors of breast ductal carcinoma in situ. *J Clin Pathol.* 2017;70:102-8.
86. Facina G, Lopes-Costa PV, Dos Santos AR, De Vasconcelos-Valença RJ, Pinho-Sobral AL, Da Silva BB. Immunohistochemical expression of e-cadherin in sclerosing adenosis, ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of the breast. *Diagn Cytopathol.* 2010;38:235-8.
87. Javadian M, Gharibi T, Shekari N, Abdollahpour-Alitappeh M, Mohammadi A, Hossieni A, et al. The role of microRNAs regulating the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in breast cancer

- development, progression, and metastasis. *J Cell Physiol.* 2019;234:5399-412.
88. Daniel M, Tollefsbol TO. Epigenetic linkage of aging, cancer and nutrition. *J Exp Biol.* 2015;218:59-70.
89. Pang JMB, Savas P, Fellowes AP, Mir Arnau G, Kader T, Vedururu R, et al. Breast ductal carcinoma in situ carry mutational driver events representative of invasive breast cancer. *Mod Pathol.* 2017;30:952-63.
90. Fiegl H, Millinger S, Goebel G, Müller-Holzner E, Marth C, Laird PW, et al. Breast cancer DNA methylation profiles in cancer cells and tumor stroma: association with HER-2/neu status in primary breast cancer. *Cancer Res.* 2006;66:29-33.
91. Hannafon BN, Sebastiani P, de las Morenas A, Lu J, Rosenberg CL. Expression of microRNA and their gene targets are dysregulated in preinvasive breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2011 Mar 4;13:R24.
92. Bergholtz H, Kumar S, Wärnberg F, Lüders T, Kristensen V, Sørлие T. Comparable cancer-relevant mutation profiles in synchronous ductal carcinoma in situ and invasive breast cancer. *Cancer Rep.* 2020;3:e1248.
93. Sinha VC, Piwnica-Worms H. Intratumoral heterogeneity in ductal carcinoma in situ: chaos and consequence. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2018;23:191-205.
94. Seol H, Lee HJ, Choi Y, Lee HE, Kim YJ, Kim JH, et al. Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance. *Mod Pathol.* 2012;25:938-48.

95. Bakir B, Chiarella AM, Pitarresi JR, Rustgi AK. EMT, MET, plasticity, and tumor metastasis. *Trends Cell Biol.* 2020;30:764-76.
96. Teng MWL, Kershaw MH, Smyth MJ. Cancer immunoediting: from surveillance to escape. *Cancer Immunotherapy* (Second Ed). 2013;3:85-99.
97. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILS Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015;26:259-71.
98. Dieci MV, Radosevic-Robin N, Fineberg S, van den Eynden G, Ternes N, Penault-Llorca F, et al. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: a report of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin Cancer Biol.* 2018;52:16-25.
99. Kim M, Chung YR, Kim HJ, Woo JW, Ahn S, Park SY. Immune microenvironment in ductal carcinoma in situ: a comparison with invasive carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res.* 2020;22:32.
100. Thompson E, Taube JM, Elwood H, Sharma R, Meeker A, Warzecha HN, et al. The immune microenvironment of breast ductal carcinoma in situ. *Mod Pathol.* 2016;29:249-58.
101. Morita M, Yamaguchi R, Tanaka M, Tse GM, Yamaguchi M, Kanomata N, et al. CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes contribute to spontaneous “healing” in HER2-positive ductal carcinoma in situ. *Cancer Med.* 2016;5:1607-18.

102. Man YG, Stojadinovic A, Mason J, Avital I, Bilchik A, Bruecher B, et al. Tumor-infiltrating immune cells promoting tumor invasion and metastasis: existing theories. *J Cancer*. 2013;4:84-95.
103. Lv S, Wang S, Qiao G, Wang X, Zhou X, Yan F, et al. Functional CD3+CD8+PD1- T cell accumulation and PD-L1 expression increases during tumor invasion in DCIS of the breast. *Clin Breast Cancer*. 2019;19:e617-23.
104. Sadeghalvad M, Mohammadi-Motlagh HR, Rezaei N. Immune microenvironment in different molecular subtypes of ductal breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 2021;185:261-79.
105. Rothenberger NJ, Somasundaram A, Stabile LP. The role of the estrogen pathway in the tumor microenvironment. *Int J Mol Sci*. 2018;19:611.
106. Kristensen VN, Vaske CJ, Ursini-Siegel J, Van Loo P, Nordgard SH, Sachidanandam R, et al. Integrated molecular profiles of invasive breast tumors and ductal carcinoma in situ (DCIS) reveal differential vascular and interleukin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109:2802-7.
107. Pruneri G, Lazzeroni M, Bagnardi V, Tiburzio GB, Rotmensz N, DeCensi A, et. The prevalence and clinical relevance of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in ductal carcinoma in situ of the breast. *Ann Oncol*. 2017;28:321-8.
108. Chen XY, Yeong J, Thike AA, Bay BH, Tan PH. Prognostic role of immune infiltrates in breast ductal carcinoma in situ. *Breast Cancer Res Treat*. 2019;177:17-27.

109. Knopfmacher A, Fox J, Lo Y, Shapiro N, Fineberg S. Correlation of histopathologic features of ductal carcinoma in situ of the breast with the Oncotype DX DCIS score. *Mod Pathol*. 2015;28:1167-73.
110. Toss MS, Miligy I, Al-Kawaz A, Alsleem M, Khout H, Rida PC, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in ductal carcinoma in situ of the breast. *Mod Pathol*. 2018;31:1226-36.
111. Wang F, Li H, Tan PH, Chua ET, Yeo RMC, Lim FLWT, et al. Validation of a nomogram in the prediction of local recurrence risks after conserving surgery for Asian women with ductal carcinoma in situ of the breast. *Clin Oncol*. 2014;26:684-91.
112. Wang SY, Shamliyan T, Virnig BA, Kane R. Tumor characteristics as predictors of local recurrence after treatment of ductal carcinoma in situ: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;127:1-14.
113. Zhang X, Dai H, Liu B, Song F, Chen K. Predictors for local invasive recurrence of ductal carcinoma in situ of the breast: a meta-analysis. *Eur J Cancer Prev*. 2016;25:19-28.
114. Fisher B, Dignam, James Ph, Tan-chiu E, Costantino J, Paik S, Wolmark N. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast Project (NSABP) eight-year update of protocol B-17. *Cancer*. 1999;86:429-38.
115. Bijker N, Meijnen P, Peterse JL, Bogaerts J, Van Hoorebeeck I, Julien JP, et al. Breast-conserving treatment with or without radiotherapy in ductal carcinoma-in-situ: ten-year results of European Organisation for Research and Treatment of Cancer randomized phase III trial 10853 – a study by the EORTC breast cancer cooperative group an. *J Clin Oncol*. 2006;24:3381-7.

116. Shelley Hwang E, Solin L. De-escalation of locoregional therapy in low-risk disease for DCIS and early-stage invasive cancer. *J Clin Oncol.* 2020;38:2230-9.
117. Lana AP, Perelman J, Gurgel Andrade EI, Acúrcio F, Guerra AA, Cherchiglia ML. Cost analysis of cancer in Brazil: a population-based study of patients treated by public health system, from 2001-2015. *Value Heal Reg Issues.* 2020;23:137-47.
118. Fisher B, Dignam J, Wolmark N, Wickerham DL, Fisher ER, Mamounas E, et al. Tamoxifen in treatment of intraductal breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-24 randomised controlled trial. *Lancet.* 1999;353:1993-2000.
119. Cuzick J, Sestak I, Pinder SE, Ellis IO, Forsyth S, Bundred NJ, et al. Effect of tamoxifen and radiotherapy in women with locally excised ductal carcinoma in situ: long-term results from the UK/ANZ DCIS trial. *Lancet Oncol.* 2011;12:21-9.
120. Zhao H, Hei N, Wu Y, Chan W, Lei X, Cameron C, et al. Initiation of and adherence to tamoxifen and aromatase inhibitor therapy among elderly women with ductal carcinoma in situ. *Cancer.* 2017;123:940-7.
121. Lazzeroni M, DeCensi A, Guerrieri-Gonzaga A, Pagan E, Bagnardi V, Macis D, et al. Prognostic and predictive value of cell cycle progression (CCP) score in ductal carcinoma in situ of the breast. *Mod Pathol.* 2020;33:1065-77.
122. Hong YK, McMasters KM, Egger ME, Ajkay N. Ductal carcinoma in situ current trends, controversies, and review of literature. *Am J Surg.* 2018;216:998-1003.

123. Silverstein MJ. The University of Southern California/Van Nuys prognostic index for ductal carcinoma in situ of the breast. *Am J Surg*. 2003;186:337-43.
124. Iasonos A, Schrag D, Raj GV, Panageas KS. How to build and interpret a nomogram for cancer prognosis. *J Clin Oncol*. 2008;26:1364-70.
125. Collins LC, Achacoso N, Haque R, Nekhlyudov L, Quesenberry CP, Schnitt SJ, et al. Risk prediction for local breast cancer recurrence among women with DCIS treated in a community practice: a nested, case-control study. *Ann Surg Oncol*. 2015;22:502-8.
126. Sweldens C, Peeters S, van Limbergen E, Janssen H, Laenen A, Patil S, et al. Local relapse after breast-conserving therapy for ductal carcinoma in situ. *Cancer J*. 2014;20:1-7.
127. Yi M, Meric-Bernstam F, Kuerer HM, Mittendorf EA, Bedrosian I, Lucci A, et al. Evaluation of a breast cancer nomogram for predicting risk of ipsilateral breast tumor recurrences in patients with ductal carcinoma in situ after local excision. *J Clin Oncol*. 2012;30:600-7.
128. Lei RY, Carter DL, Antell AG, Nowels MA, Tole SP, Bennett JP, et al. A comparison of predicted ipsilateral tumor recurrence risks in patients with ductal carcinoma in situ of the breast after breast-conserving surgery by breast radiation oncologists, the Van Nuys Prognostic Index, the Memorial Sloan Kettering Cancer Center DCIS Nomogram, and the 12-Gene DCIS Score Assay. *Adv Radiat Oncol*. 2020;6:100607.
129. Lin CY, Mooney K, Choy W, Yang SR, Barry-Holson K, Horst K, et al. Will Oncotype DX DCIS testing guide therapy? A single-institution

- correlation of Oncotype DX DCIS results with histopathologic findings and clinical management decisions. *Mod Pathol*. 2018;31:562-8.
130. Alvarado M, Carter DL, Guenther JM, Hagans J, Lei RY, Leonard CE, et al. The impact of genomic testing on the recommendation for radiation therapy in patients with ductal carcinoma in situ: a prospective clinical utility assessment of the 12-gene DCIS score result. *J Surg Oncol*. 2015;111:935-40.
131. Raldow AC, Sher D, Chen AB, Recht A, Punglia RS. Cost effectiveness of the Oncotype DX DCIS Score for guiding treatment of patients with ductal carcinoma in situ. *J Clin Oncol*. 2016;34:3963-8.
132. Rakovitch E, Gray R, Baehner FL, Sutradhar R, Crager M, Gu S, et al. Refined estimates of local recurrence risks by DCIS score adjusting for clinicopathological features: a combined analysis of ECOG-ACRIN E5194 and Ontario DCIS cohort studies. *Breast Cancer Res Treat*. 2018;169:359-69.
133. Van Zee KJ, Zabor EC, Di Donato R, Harmon B, Fox J, Morrow M, et al. Comparison of local recurrence risk estimates after breast-conserving surgery for DCIS: DCIS nomogram versus Refined Oncotype DX Breast DCIS Score. *Ann Surg Oncol*. 2019;26:3282-8.
134. Weinmann S, Leo MC, Francisco M, Jenkins CL, Barry T, Leesman G, et al. Validation of a ductal carcinoma in situ biomarker profile for risk of recurrence after breast-conserving surgery with and without radiotherapy. *Clin Cancer Res*. 2020;26:4054-63.

135. Kim H, Vargo JA, Smith KJ, Beriwal S. Cost-effectiveness analysis of biological signature DCISionRT use for DCIS treatment. *Clin Breast Cancer*. 2021;21:e271-e278.
136. Shah C, Bremer T, Cox C, Whitworth P, Patel R, Patel A, et al. The clinical utility of DCISionRT® on radiation therapy decision making in patients with ductal carcinoma in situ following breast-conserving surgery. *Ann Surg Oncol*. 2021;28:5974-84.
137. Stuart KE, Houssami N, Taylor R, Hayen A, Boyages J. Long-term outcomes of ductal carcinoma in situ of the breast: a systematic review, meta-analysis and meta-regression analysis. *BMC Cancer*. 2015;15:890.
138. Subhedar P, Olcese C, Patil S, Morrow M, J. Van Zee K. Decreasing recurrence rates for ductal carcinoma in situ: analysis of 2996 women treated with breast-conserving surgery over 30 years. *Ann Surg Oncol*. 2015;22:3273-81.
139. Salvatorelli L, Puzzo L, Vecchio GM, Caltabiano R, Virzì V, Magro G. Ductal carcinoma in situ of the breast: an update with emphasis on radiological and morphological features as predictive prognostic factors. *Cancers (Basel)*. 2020;12:1-11.
140. Van Dooijeweert C, van Diest PJ, Willems SM, Kuijpers CCHJ, Overbeek LIH, Deckers IAG. Significant inter – and intra-laboratory variation in grading of ductal carcinoma in situ of the breast: a nationwide study of 4901 patients in the Netherlands. *Breast Cancer Res Treat*. 2019;174:479-88.

141. Hayward MK, Louise Jones J, Hall A, King L, Ironside AJ, Nelson AC, et al. Derivation of a nuclear heterogeneity image index to grade DCIS. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18:4063-70.
142. Chaudhary LN, Jawa Z, Hanif A, Szabo A, Kamaraju S, Cheng YC, et al. Does progesterone receptor matter in the risk of recurrence for patients with ductal carcinoma in situ? *Wisconsin Med Journal*. 2018;117:62-7.
143. Fisher B, Dignam J, Wolmark N, Mamounas E, Costantino J, Poller W, et al. Lumpectomy and radiation therapy for the treatment of intraductal breast cancer: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-17. *J Clin Oncol*. 1998;16:441-52.
144. Kelly BN, Kantor O, Tang R, Coopey SB, Smith BL, Lanahan CR, et al. Similar rates of residual disease in patients with DCIS within 2 mm of lumpectomy margin regardless of the presence of invasive carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 2021;186:807-14.
145. Tadros AB, Smith BD, Shen Y, Lin H, Krishnamurthy S, Lucci A, et al. Ductal carcinoma in situ and margins <2 mm: contemporary outcomes with breast conservation. *Ann Surg*. 2019;269:150-7.
146. Sagara Y, Freedman RA, Vaz-Luis I, Mallory MA, Wong SM, Aydogan F, et al. Patient prognostic score and associations with survival improvement offered by radiotherapy after breast-conserving surgery for ductal carcinoma in situ: a population-based longitudinal cohort study. *J Clin Oncol*. 2016;34:1190-6.
147. Cronin PA, Olcese C, Patil S, Morrow M, Van Zee KJ. Impact of age on risk of recurrence of ductal carcinoma in situ: outcomes of 2996 women

treated with breast-conserving surgery over 30 years. *Ann Surg Oncol.* 2016;23:2816-24.

148. Shaaban AM, Hilton B, Clements K, Provenzano E, Cheung S, Wallis MG, et al. Pathological features of 11,337 patients with primary ductal carcinoma in situ (DCIS) and subsequent events: results from the UK Sloane Project. *Br J Cancer.* 2021;124:1009-1017.
149. Van Bockstal M, Lambein K, Smeets A, Slembrouck L, Neven P, Nevelsteen I, et al. Stromal characteristics are adequate prognosticators for recurrence risk in ductal carcinoma in situ of the breast. *Eur J Surg Oncol.* 2019;45:550-9.

USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação das características clínicas e morfológicas associadas à invasão estromal e ao comprometimento neoplásico do linfonodo sentinela em mulheres com diagnóstico inicial de carcinoma ductal in situ da mama por biópsia percutânea

Pesquisador: ALFREDO CARLOS SIMÕES DORNELLAS DE BARROS

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 61598316.3.0000.0065

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: INSTITUTO GEMAST - GRUPO DE ESTUDOS DE MASTOLOGIA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.836.393

Apresentação do Projeto:

Estudo retrospectivo, de 220 pacientes submetidas a biópsia percutânea de neoplasia maligna de mama

Objetivo da Pesquisa:

Determinar os fatores clínicos e morfológicos associados ao comprometimento neoplásico do linfonodo sentinela axilar em pacientes com carcinoma ductal in situ da mama diagnosticado por biópsia percutânea.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Benefício clínico e científico bem descrito no texto.

Não há risco para as pacientes, uma vez que o estudo é retrospectivo e os procedimentos já foram realizados. O anonimato das pacientes foi garantido.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo bem descrito, com introdução clara e métodos bem definidos.

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36

Bairro: PACAEMBU

CEP: 01.246-903

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3893-4401

E-mail: cep.fm@usp.br

**USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP**



Continuação do Parecer: 1.836.393

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Solicitada dispensa do TCLE. Justificativa aceita, visto que é um trabalho retrospectivo, de análise de prontuários e exames anátomo-patológicos.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências éticas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_814346.pdf	31/10/2016 15:18:52		Aceito
Outros	Cadastro.pdf	31/10/2016 15:18:28	ALFREDO CARLOS SIMÕES DORNELLAS DE	Aceito
Folha de Rosto	Folha.pdf	31/10/2016 15:17:25	ALFREDO CARLOS SIMÕES DORNELLAS DE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.docx	31/10/2016 08:55:33	ALFREDO CARLOS SIMÕES DORNELLAS DE	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DOC001.pdf	31/10/2016 08:53:30	ALFREDO CARLOS SIMÕES DORNELLAS DE	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DOC004.pdf	31/10/2016 08:52:43	ALFREDO CARLOS SIMÕES DORNELLAS DE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	DOC002.pdf	31/10/2016 08:51:42	ALFREDO CARLOS SIMÕES DORNELLAS DE BARROS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	DOC000.pdf	31/10/2016 08:51:07	ALFREDO CARLOS SIMÕES DORNELLAS DE	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36
Bairro: PACAEMBU **CEP:** 01.246-903
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3893-4401 **E-mail:** cep_fm@usp.br

USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP



Continuação do Parecer: 1.836.393

SAO PAULO, 22 de Novembro de 2016

Assinado por:
Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira
(Coordenador)

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36
Bairro: PACAEMBU **CEP:** 01.246-903
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3893-4401 **E-mail:** cep.fm@usp.br