

RENATO RAMOS BARRA

**VALOR PROGNÓSTICO DA CINTILOGRAFIA DE
MAMAS COM SESTAMIBI-^{99m}Tc NA PREDIÇÃO
DA RESPOSTA DO TUMOR LOCALMENTE
AVANÇADO DA MAMA À QUIMIOTERAPIA
NEOADJUVANTE**

Dissertação apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação do
Departamento de Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da
Faculdade de Medicina – Campus de Botucatu
Universidade Estadual Paulista – Unesp
Área de concentração: Tocoginecologia

Orientador: Prof. Dr. Jorge Nahás Neto

Co-orientadora: Profa. Ass. Dra. Sonia Marta Moriguchi

Botucatu – SP

2013

Dedicatórias

Dedico este trabalho:

À meu irmão, Filipe, que tanto me ajudou e incentivou na realização e conclusão deste trabalho.

À minha família, meus pais, Alaor e Noemia, pelo exemplo, apoio, paciência, dedicação e incentivo em todos os momentos da vida.

Agradecimientos

Meus sinceros agradecimentos:

À Deus que sempre está ao meu lado, me protegendo e iluminando.

Ao Prof. Dr. Jorge Nahás Neto, pela credibilidade e orientação para concretização deste estudo.

À Profa. Dra. Sonia M. Moriguchi pela paciência, apoio e confiança, sendo a maior incentivadora.

À equipe do Hospital de Câncer de Barretos, médicos, residentes e funcionários, pelo auxílio técnico e colaboração na realização deste trabalho.

Aos funcionários da pós-graduação da UNESP, em especial, a Ana pela paciência e boa vontade durante estes anos.

Aos colegas e amigos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta tese.

Epígrafe

“Lutar sempre, desistir nunca”

“O conhecimento deve ser compartilhado.

Conhecimento retido é esquecido.

Conhecimento passado é eternizado.”

Sumário

	Página
Lista de figuras	10
Lista de tabelas	12
Lista de abreviaturas e símbolo	14
Resumo	16
Abstract	18
Introdução	20
Referências Bibliográficas	32
Objetivos	39
Publicação	41
Conclusões	72
Anexo	75
Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética e Pesquisa	76

Lísta de figuras

Figura A: Representação esquemática da captação e efluxo do sestamibi-99mTc	29
Figura 1: Paciente em posição prona	53
Figura 2: Áreas de interesse em contagens/pixel do tumor (T) e da radiação de fundo (BG)	54
Figura 3: Boa resposta à QT	54
Figura 4: Resposta ruim à QT	55

Lista de tabelas

	Página
Tabela 1: Estatística descritiva das pacientes	57
Tabela 2: Distribuição das lesões na mama	57
Tabela 3: Subtipos histológicos dos tumores de mama	58
Tabela 4: Tipos de resposta tumoral à quimioterapia	59
Tabela 5: Razão das contagens estratificada por tipo de resposta	60
Tabela 6: Comparação entre as razões das contagens/pixel	61
Tabela 7: Taxa de <i>washout</i> do sestamibi- ^{99m} Tc estratificada por tipo de resposta	62
Tabela 8: Resultado anatomopatológico do esvaziamento axilar.....	63
Tabela 9: Correlação da resposta quimioterápica com esvaziamento axilar.....	63

Lista de abreviaturas

AC	cloridrato de doxorrubicina e ciclofosfamida
ATP	adenosina trifosfato
BR	boa resposta
CM	cintilografia de mamas com sestamibi- ^{99m} Tc
CMLA	carcinoma mamário localmente avançado
EC	exame clínico
kDa	kilo Dalton
MBq	Mega Bequerel
mCi	mili Curie
MR	má resposta
QT neo	quimioterapia pré-operatória ou neoadjuvante
Sestamibi-^{99m}Tc	hexa-metoxi-isobutilisonitrila marcada com ^{99m} Tc
TNM	tumor node metastasis staging
T3	tumor maior que 5 cm
^{99m}Tc	pertecnato

Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da cintilografia de mamas com sestamibi- ^{99m}Tc na predição da resposta tumoral à quimioterapia neoadjuvante, em pacientes com tumor localmente avançado da mama (estadio T3 e T4, maiores que 5 cm, com invasão de parede ou pele). Foram selecionadas 33 pacientes do sexo feminino com câncer de mama que realizaram cintilografia de mamas antes, durante e após quimioterapia neoadjuvante (QT), seguida de cirurgia (mastectomia ou quadrantectomia). A cintilografia de mamas foi realizada nas incidências anterior e laterais, 10 minutos (precoces) e 60 minutos (tardia) após a injeção de 740 a 925 MBq de sestamibi- ^{99m}Tc . A aquisição foi realizada em três momentos: estudo basal (antes da QT), após quatro ciclos de QT e após término do esquema quimioterápico, antes da cirurgia. Foi calculada a relação Tumor/Radiação de fundo, através de regiões de interesse com contagens/pixel, nas imagens precoces e tardias de cada estudo. Houve correlação estatisticamente significativa entre a imagem de aquisição tardia (60 minutos após a injeção) e a resposta tumoral à quimioterapia. Apesar de não ter sido estatisticamente significativo, observou-se que um valor de *cutoff* que separa os respondedores dos não respondedores seria de 28%, ou seja, taxa de washout < 28% preveria os respondedores e washout > 28% seria o grupo dos não respondedores. Os resultados encontrados são compatíveis com outras publicações disponíveis, sendo encorajadores, porém mais estudos e novas investigações são necessários.

Palavras-chave: Câncer de mama; Quimioterapia neoadjuvante; Sestamibi- ^{99m}Tc ; Cintilografia de mamas

Abstract

This study aimed to evaluate the efficacy of breast scintigraphy with ^{99m}Tc-sestamibi predicting tumor response to neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced breast tumors (stage T3 and T4, larger than 5 cm, with chest wall or skin invasion). 33 female patients with breast cancer who underwent scintigraphy breast before, during and after neoadjuvant chemotherapy (NAC) followed by surgery (mastectomy or lumpectomy) were chosen. Breast scintigraphy was performed in front and side view, 10 minutes (early) and 60 min (delayed) after injection of 740-925 MBq of ^{99m}Tc-sestamibi. The acquisition was performed at three time points: baseline study (before NAC), after four cycles of NAC and after completion of chemotherapy regimen before surgery. The tumor / background radiation ration was calculated through regions of interest in counts / pixel in early and late images of each study. There was a statistical significant positive correlation in the Student t test between the mean values of the ratio tumor / background radiation of 10 and 60 minutes in the first and second studies. However, there was no statistical significance, cutoff value to distinguish responders would be 28%, that is, washout ratio < 28% would indicate NAC responders while washout ration > 28% nonresponders. Our results are encouraging and similar to some available publications; more research needed and further are investigations.

Keywords: Breast cancer, neoadjuvant chemotherapy; ^{99m}Tc-Sestamibi; breast scintigraphy

Introdução

O Carcinoma da mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres no mundo ocidental, sendo o segundo tipo de câncer mais comum. É responsável por 22% de casos novos a cada ano. O número de casos novos esperados para o Brasil em 2012 é de 52.680, com risco estimado de 51 casos a cada 100 mil mulheres.⁽¹⁾

Apesar da introdução e difusão de programas de rastreamento do câncer de mama⁽²⁾, um número significativo de pacientes ainda se apresenta com tumores localmente avançados, em estadio T3 ou T4, ou seja, aqueles maiores que cinco centímetros, com invasão da parede torácica e ou da pele, com metástases linfonodais fixas^(3, 4) ou carcinomas inflamatórios. Nesses casos, o tratamento padrão é multidisciplinar consistindo de quimioterapia pré-operatória ou neoadjuvante, mastectomia ou quadrantectomia com linfadenectomia axilar, radioterapia e quimioterapia pós-operatória⁽⁵⁻⁷⁾.

A quimioterapia neoadjuvante é utilizada no tratamento do câncer de mama localmente avançado desde 1970⁽⁸⁾.

A filosofia para seu uso pré-cirúrgico é a intenção de uma redução local da lesão, determinando uma ressecção tumoral

subsequente menos extensa, reduzindo assim a necessidade de mastectomia completa em alguns casos e também a chance de recorrência local ⁽⁹⁾.

A quimioterapia neoadjuvante pode converter um tumor previamente irresssecável e localmente avançado em um tumor operável, reduzindo seu estadió, possibilitando o maior número de cirurgias conservadoras ^(3, 10, 11).

A identificação precoce das pacientes não respondedoras pode trazer benefícios, evitando a utilização de um regime com poucas chances de sucesso e, mais importante ainda, possibilitando a mudança do esquema quimioterápico com consequente aumento da sobrevida dessas pacientes que, em geral, tem pior prognóstico ⁽¹²⁾.

O objetivo da quimioterapia neoadjuvante é eliminar metástases ocultas à distância e diminuir a carga tumoral antes da cirurgia e assim, talvez possibilitar a ressecção de tumores antes inoperáveis ou utilizar cirurgias mais conservadoras. ^(5, 6, 13)

Evidências sugerem aumento da sobrevida dessas pacientes. ^{(7, 14,}

15)

Alguns fatores podem influenciar na predição da resposta clínica e patológica do tratamento primário e no prognóstico, como

os marcadores biológicos, entre eles, os fatores de proliferação celular, como o Ki-67 e PCNA, o grau tumoral ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ e a quimiorresistência.

A resistência dos tumores malignos às drogas quimioterápicas é a causa mais frequente de falha de tratamento, sendo a taxa de resposta de aproximadamente 40%; ou seja, em quase 60% dos casos o tratamento não traz benefícios, mas apenas riscos potenciais, além de promover o atraso da cirurgia. Os mecanismos da quimiorresistência são multifatoriais⁽¹⁹⁾, podendo ser adquirida ou também denominada tardia, presente em mais de 75% dos pacientes ou intrínseca, observada em 18 a 51% dos carcinomas não tratados.⁽²⁰⁻²²⁾

O termo multirresistência a drogas (MRD) é utilizado, com frequência, para indicar a superexpressão de glicoproteínas transmembrânicas, como a glicoproteína P (gpP) e as glicoproteínas associadas à MDR.⁽²³⁻³⁰⁾

A glicoproteína P é uma proteína de transporte transmembrânico que regula o efluxo de mais de 100 agentes, em especial, os substratos citotóxicos. É codificada pelo gene MDR1

localizado no cromossomo 7q21-1 e tem um peso molecular de 170kDa. Tem forma cilíndrica com diâmetro aproximado de 5 nm.⁽³¹⁾

A MRD em células de mamíferos e de tumores está associada à super-expressão da gpP. Essa proteína tem a capacidade de bombear os agentes quimioterápicos para fora da célula, diminuindo o tempo de permanência intracelular desses agentes e consequentemente o mecanismo de apoptose celular. Estudos *in vitro* têm mostrado que o sestamibi, um agente utilizado na prática da medicina nuclear, também é um substrato de transporte da gpP e seu efluxo, assim como as drogas quimioterápicas é mediado pela expressão da gpP, viabilizando a única técnica por imagem na detecção do efluxo celular dos agentes citotóxicos. Observou-se também, que o efluxo do sestamibi pode ser inibido por agentes moduladores, denominados moduladores de MRD, entre eles o verapamil, quinidina e prazosin.⁽³²⁻³⁶⁾

A avaliação de tumor residual e sua extensão após a terapia sistêmica pré-operatória são de suma importância para o planejamento cirúrgico, assim como a avaliação da resposta ao longo dos ciclos de quimioterapia, visando alterar o esquema de drogas, prolongar ou até mesmo interromper o tratamento. Porém, a predição da resposta antes mesmo de iniciar a terapia significaria

uma considerável economia de recursos, pois a quimiorresistência intrínseca pode ser observada em uma porcentagem significativa das pacientes não tratadas, assim como a identificação da quimiorresistência adquirida identificada durante a quimioterapia poderia indicar a troca de medicamentos, a introdução de moduladores de efluxo celular ou, ainda, a mudança na conduta terapêutica.

O exame clínico não se mostra confiável na avaliação de resposta tumoral ao tratamento quimioterápico⁽³⁷⁾, sendo necessária a utilização de um método complementar de imagem. As técnicas anatômicas, como a mamografia e a ultrassonografia, são incapazes de prever a resposta à quimioterapia até que vários ciclos se completem, e têm baixa especificidade⁽³⁸⁾, pois não discriminam a fibrose do tumor residual.

Outras modalidades de imagem que medem as mudanças na biologia molecular do tumor, tais como ultrassonografia com *doppler*, ressonância magnética funcional (RM), medicina nuclear e tomografia por emissão de pósitron (PET), mostram-se promissoras como métodos com maior acurácia para a identificação precoce daqueles tumores que apresentam boa resposta ao tratamento quimioterápico⁽³⁹⁾.

Na caracterização das dimensões do tumor, é importante evitar resultados superestimados com resultados estéticos ruins ou até mesmo amputação mamária desnecessária, ou subestimados, resultando em margens cirúrgicas comprometidas. Fatores que podem superestimar o tamanho do tumor incluem: inflamação reativa causada pela resposta tumoral e pela cicatrização, esclerose, necrose, presença de múltiplas lesões pequenas adjacentes ao tumor e a presença de um carcinoma *in situ* adjacente. Subestimação está associada à falta de resposta inflamatória e a pequenos focos de lesão residual não identificáveis (40, 41).

A cintilografia de mamas é uma técnica de imagem diagnóstica ⁽³¹⁾ de baixo custo comparada ao PET e a RM. Inicialmente foi difundida como exame complementar à mamografia inconclusiva na detecção de tumores mamários, com indicação posterior na avaliação da resposta ao tratamento quimioterápico dos carcinomas mamários ^(22, 42), sendo o único método por imagem que informa *in vivo* a quimiossensibilidade do tumor. Tiling e cols ⁽⁴³⁾ demonstraram que o PET e a cintilografia de mamas com sestamibi-^{99m}Tc são equivalentes na monitoração da resposta tumoral a QT neo, com vantagem significativa da cintilografia na

disponibilidade do radiofármaco e das gama-câmaras, além do baixo custo.

As técnicas de imagem da medicina nuclear, em relação às outras técnicas de imagem, fornecem informações adicionais sobre a função da célula. A cintilografia das mamas (CM) é uma técnica de elevada acurácia já bem padronizada na detecção de tumores mamários ⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾, quando a mamografia é inconclusiva, em especial de portadoras de mamas densas ou com distorção arquitetural.

A acurácia do método é influenciada pelo tamanho, tipo histológico, grau e localização dos tumores, mas independe da densidade mamária ⁽⁴⁷⁾ ou colocação de próteses. A sensibilidade para tumores acima de um centímetro pode atingir 96%, mas pode ser menor que 50% para aqueles com menos de um centímetro ⁽⁴⁸⁾.

Os carcinomas ductais invasores de grau III mostram maior concentração de sestamibi-^{99m}Tc, enquanto os carcinomas lobulares mostram menor concentração ou não concentram ⁽⁴⁹⁾. De modo semelhante, a sensibilidade para detecção de carcinoma ductal *in situ* (45,9%) é menor que para o invasivo (82%) ⁽²²⁾. Os tumores localizados próximos à parede torácica são menos identificados que os demais ⁽⁴⁸⁾. A especificidade é alta sendo que os falsos positivos ocorrem principalmente por inflamação local,

fibroadenoma e alterações fibrocísticas. A concentração em lesões benignas está fortemente relacionada à presença de alterações proliferativas.

Para a realização desse estudo utilizam-se os fármacos, substâncias com afinidade por diferentes estruturas, associadas à pequena quantidade de substâncias radioativas, sendo o maior representante o tecnécio-^{99m}, formando o complexo radiofármaco que será administrado ao paciente. O radiofármaco mais utilizado na cintilografia das mamas é o sestamibi-^{99m}Tc (2-hexaquis-2-metóxi-isobutil-isonitrila), originalmente utilizado nos estudos de perfusão miocárdica e depois introduzido na investigação de tumores. Trata-se de um complexo catiônico lipofílico, que se difunde passivamente pela membrana plasmática.

Aproximadamente 90% de sua atividade se concentra nas mitocôndrias, com base no potencial de carga negativo destas organelas ^(50, 51). A captação e retenção deste radiofármaco nas células neoplásicas depende de vários fatores, como fluxo sanguíneo regional, angiogênese ^(52, 53), celularidade, atividade e densidade mitocondriais.

Mecanismos de acúmulo e de efluxo do sestamibi-^{99m}Tc em carcinomas mamários envolvem processos celulares que são

importantes na resposta tumoral ao tratamento. O Sestamibi- ^{99m}Tc é eliminado da célula pela via Pgp e a sua excreção está aumentada nos tumores com aumento de expressão dos genes de MRD, que codificam a Pgp. A figura A mostra as principais relações do acúmulo e da cinética do sestamibi- ^{99m}Tc no tumor e os mecanismos de quimiorresistência relacionados.

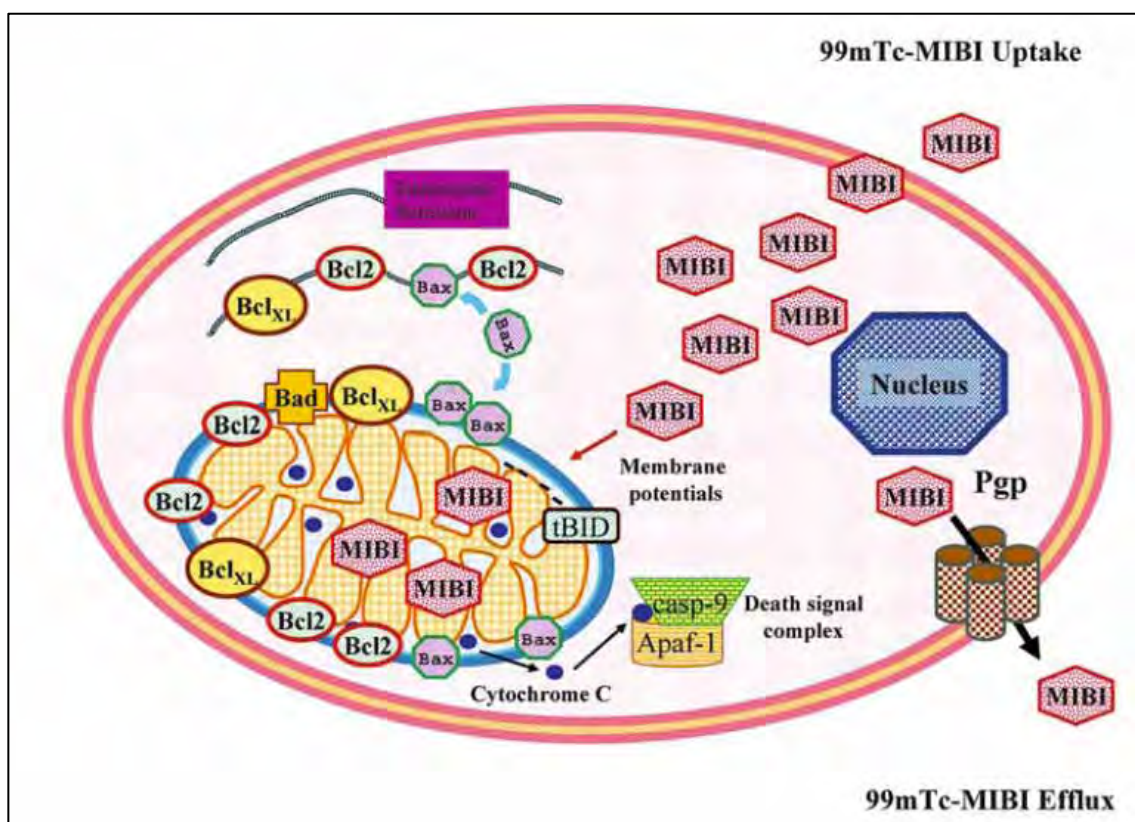


Figura A– Representação esquemática da captação e efluxo do sestamibi- ^{99m}Tc .

Alguns estudos têm demonstrado a utilidade da cintilografia das mamas em detectar resistência intrínseca e adquirida, ao relacionarem a porcentagem de efluxo (*washout*) do radiofármaco

nas imagens precoces e tardias, ou a intensidade de concentração tumoral nessas imagens, em diferentes momentos do curso quimioterápico, com as respostas clínica, ultrassonográfica, mamográfica e histopatológica ao tratamento ⁽⁵⁴⁻⁵⁹⁾.

A taxa de *washout* do sestamibi-^{99m}Tc pode predizer a resposta da quimioterapia nos pacientes com carcinoma de mama e, ainda, auxiliar na determinação *in vivo* da expressão da glicoproteína P e na multirresistência a drogas (MDR) ⁽¹⁷⁾, ou seja, há uma relação inversa entre os níveis de Pgp e a captação e tempo de eliminação do Sestamibi-^{99m}Tc.

Poucos estudos relacionam a variação da concentração de sestamibi-^{99m}Tc nas imagens precoces, antes e após o tratamento, ou apenas a concentração tumoral precoce pré-terapêutica, com as respectivas respostas, e os resultados obtidos até então se mostraram controversos ^(22, 39, 54, 60, 61).

A captação do sestamibi-^{99m}Tc pode ser utilizada como complementação nos protocolos de efetividade terapêutica nos pacientes não operáveis de carcinoma de mama que beneficiarão com a quimioterapia ⁽⁶²⁾.

Sendo assim, a principal vantagem da CM é sua base funcional onde o acúmulo do sestamibi indica as características de

agressividade do tumor, relacionada à proliferação celular e atividade tumoral e recentemente, o potencial deste radiofármaco em detectar *in vivo* a resistência a múltiplas drogas ^(63, 64).

Baseado na limitada literatura disponível relacionando predição e fatores prognósticos com método de imagem e principalmente no impacto da confirmação da quimiorresistência antes do início da terapia, é que se propõe esse estudo.

Referências Bibliográficas

1. Brasil, Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Estimativas 2012: Incidência de Câncer no Brasil. 2011.
2. Beahrs OH. Staging of cancer. CA Cancer J Clin. 1991 Mar-Apr;41(2):121-5.
3. Hortobagyi GN, Ames FC, Buzdar AU, Kau SW, McNeese MD, Paulus D, et al. Management of stage III primary breast cancer with primary chemotherapy, surgery, and radiation therapy. Cancer. 1988 Dec 15;62(12):2507-16.
4. Hortobagyi GN, Spanos W, Montague ED, Buzdar AU, Yap HY, Blumenschein GR. Treatment of locoregionally advanced breast cancer with surgery, radiotherapy, and combination chemoimmunotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1983 May;9(5):643-50.
5. Hortobagyi GN. Multidisciplinary management of advanced primary and metastatic breast cancer. Cancer. 1994 Jul 1;74(1 Suppl):416-23.
6. Hortobagyi GN, Blumenschein GR, Spanos W, Montague ED, Buzdar AU, Yap HY, et al. Multimodal treatment of locoregionally advanced breast cancer. Cancer. 1983 Mar 1;51(5):763-8.
7. Booser DJ, Hortobagyi GN. Treatment of locally advanced breast cancer. Semin Oncol. 1992 Jun;19(3):278-85.
8. Sikov WM. Locally advanced breast cancer. Current treatment options in oncology. 2000 Aug;1(3):228-38.
9. Kim R, Osaki A, Toge T. Current and future roles of neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer. Clinical breast cancer. 2005 Aug;6(3):223-32; discussion 33-4.
10. Danforth DN, Jr., Lippman ME, McDonald H, Bader J, Egan E, Lampert M, et al. Effect of preoperative chemotherapy on mastectomy for locally advanced breast cancer. The American surgeon. 1990 Jan;56(1):6-11.
11. Schwartz GF, Birchansky CA, Komarnicky LT, Mansfield CM, Cantor RI, Biermann WA, et al. Induction chemotherapy followed by breast conservation for locally advanced carcinoma of the breast. Cancer. 1994 Jan 15;73(2):362-9.
12. Schott AF, Roubidoux MA, Helvie MA, Hayes DF, Kleer CG, Newman LA, et al. Clinical and radiologic assessments to predict breast cancer pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. Breast cancer research and treatment. 2005 Aug;92(3):231-8.

13. Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Livingston RB, Linden HM, Lawton TJ, et al. Residual tumor uptake of [99mTc]-sestamibi after neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast carcinoma predicts survival. *Cancer*. 2005 Feb 15;103(4):680-8.
14. Buzdar AU, Montague ED, Barker JL, Hortobagyi GN, Blumenschein GR. Management of inflammatory carcinoma of breast with combined modality approach - an update. *Cancer*. 1981 Jun 1;47(11):2537-42.
15. Smith IC, Heys SD, Hutcheon AW, Miller ID, Payne S, Gilbert FJ, et al. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: significantly enhanced response with docetaxel. *J Clin Oncol*. 2002 Mar 15;20(6):1456-66.
16. Stuart-Harris R, Caldas C, Pinder SE, Pharoah P. Proliferation markers and survival in early breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients. *Breast*. 2008 Aug;17(4):323-34.
17. Kwak HS, Bae YT, Han KT, Kim IJ. The multidrug resistance-related protein and P-glycoprotein expressions, and the washout rates of Tc-99m-MIBI in infiltrating ductal carcinoma of breast, correlation with the response after neoadjuvant chemotherapy. *Journal of Breast Cancer*. 2007;10(1):29-35.
18. Palmedo H. What Can We Expect from MDR Breast Cancer Imaging with Sestamibi? *J Nucl Med*. 2002 April 1, 2002;43(4):526-30.
19. Abraham DC, Jones RC, Jones SE, Cheek JH, Peters GN, Knox SM, et al. Evaluation of neoadjuvant chemotherapeutic response of locally advanced breast cancer by magnetic resonance imaging. *Cancer*. 1996 Jul 1;78(1):91-100.
20. Kedar RP, Cosgrove DO, Smith IE, Mansi JL, Bamber JC. Breast carcinoma: measurement of tumor response to primary medical therapy with color Doppler flow imaging. *Radiology*. 1994 Mar;190(3):825-30.
21. Khalkhali I, Diggles LE, Taillefer R, Vandestreek PR, Peller PJ, Abdel-Nabi HH. Procedure guideline for breast scintigraphy. Society of Nuclear Medicine. *J Nucl Med*. 1999 Jul;40(7):1233-5.
22. Mankoff DA, Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Drucker MJ, Livingston RB. Monitoring the response of patients with locally advanced breast carcinoma to neoadjuvant chemotherapy using [technetium 99m]-sestamibi scintimammography. *Cancer*. 1999 Jun 1;85(11):2410-23.

23. Loe DW, Deeley RG, Cole SP. Biology of the multidrug resistance-associated protein, MRP. *Eur J Cancer*. 1996 Jun;32A(6):945-57.
24. Goldstein LJ. MDR1 gene expression in solid tumours. *Eur J Cancer*. 1996 Jun;32A(6):1039-50.
25. Goldstein LJ, Galski H, Fojo A, Willingham M, Lai SL, Gazdar A, et al. Expression of a multidrug resistance gene in human cancers. *J Natl Cancer Inst*. 1989 Jan 18;81(2):116-24.
26. Keith WN, Stallard S, Brown R. Expression of *mdr1* and *gst-pi* in human breast tumours: comparison to in vitro chemosensitivity. *Br J Cancer*. 1990 May;61(5):712-6.
27. Lehnert M. Clinical multidrug resistance in cancer: a multifactorial problem. *Eur J Cancer*. 1996 Jun;32A(6):912-20.
28. Epstein RJ. Drug-induced DNA damage and tumor chemosensitivity. *J Clin Oncol*. 1990 Dec;8(12):2062-84.
29. Zijlstra JG, de Vries EG, Mulder NH. Multifactorial drug resistance in an adriamycin-resistant human small cell lung carcinoma cell line. *Cancer Res*. 1987 Apr 1;47(7):1780-4.
30. Linn SC, Pinedo HM, van Ark-Otte J, van der Valk P, Hoekman K, Honkoop AH, et al. Expression of drug resistance proteins in breast cancer, in relation to chemotherapy. *Int J Cancer*. 1997 May 29;71(5):787-95.
31. Scheper RJ, Broxterman HJ, Scheffer GL, Kaaijk P, Dalton WS, van Heijningen TH, et al. Overexpression of a M(r) 110,000 vesicular protein in non-P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Cancer Res*. 1993 Apr 1;53(7):1475-9.
32. Bae KT, Piwnica-Worms D. Pharmacokinetic modeling of multidrug resistance P-glycoprotein transport of gamma-emitting substrates. *Q J Nucl Med*. 1997 Jun;41(2):101-10.
33. Cordobes MD, Starzec A, Delmon-Moingeon L, Blanchot C, Kouyoumdjian JC, Prevost G, et al. Technetium-99m-sestamibi uptake by human benign and malignant breast tumor cells: correlation with *mdr* gene expression. *J Nucl Med*. 1996 Feb;37(2):286-9.
34. Piwnica-Worms D, Rao VV, Kronauge JF, Croop JM. Characterization of multidrug resistance P-glycoprotein transport function with an organotechnetium cation. *Biochemistry*. 1995 Sep 26;34(38):12210-20.
35. Ballinger JR, Sheldon KM, Boxen I, Erlichman C, Ling V. Differences between accumulation of 99mTc-MIBI and 201Tl-

thallous chloride in tumour cells: role of P-glycoprotein. *Q J Nucl Med.* 1995 Jun;39(2):122-8.

36. Bender H, Friedrich E, Zamora PO, Guhlke S, Biersack HJ. Effects of induction of multi-drug resistance on accumulation of 99mTc-sestamibi in vitro. *Anticancer Res.* 1997 May-Jun;17(3B):1833-9.

37. Herrada J, Iyer RB, Atkinson EN, Sneige N, Buzdar AU, Hortobagyi GN. Relative value of physical examination, mammography, and breast sonography in evaluating the size of the primary tumor and regional lymph node metastases in women receiving neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast carcinoma. *Clin Cancer Res.* 1997 Sep;3(9):1565-9.

38. Maini CL, Tofani A, Sciuto R, Semprebene A, Cavaliere R, Mottotese M, et al. Technetium-99m-MIBI scintigraphy in the assessment of neoadjuvant chemotherapy in breast carcinoma. *J Nucl Med.* 1997 Oct;38(10):1546-51.

39. Cwikla JB, Buscombe JR, Barlow RV, Kelleher SM, Parbhoo SP, Crow J, et al. The effect of chemotherapy on the uptake of technetium-99m sestamibi in breast cancer. *European journal of nuclear medicine.* 1997 Sep;24(9):1175-8.

40. Yeh E, Slanetz P, Kopans DB, Rafferty E, Georgian-Smith D, Moy L, et al. Prospective comparison of mammography, sonography, and MRI in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy for palpable breast cancer. *AJR American journal of roentgenology.* 2005 Mar;184(3):868-77.

41. Kim HJ, Im YH, Han BK, Choi N, Lee J, Kim JH, et al. Accuracy of MRI for estimating residual tumor size after neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer: relation to response patterns on MRI. *Acta oncologica.* 2007;46(7):996-1003.

42. Koga KH, Moriguchi SM, Neto JN, Peres SV, Silva ET, Sarri AJ, et al. (99m)Tc-sestamibi scintigraphy used to evaluate tumor response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer: A quantitative analysis. *Oncology letters.* 2010 Mar;1(2):379-82.

43. Tiling R, Linke R, Untch M, Richter A, Fieber S, Brinkbaumer K, et al. 18F-FDG PET and 99mTc-sestamibi scintimammography for monitoring breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: a comparative study. *European journal of nuclear medicine.* 2001 Jun;28(6):711-20.

44. Liberman M, Sampalis F, Mulder DS, Sampalis JS. Breast cancer diagnosis by scintimammography: a meta-analysis and

review of the literature. *Breast Cancer Res Treat.* 2003 Jul;80(1):115-26.

45. Sampalis FS, Denis R, Picard D, Fleischer D, Martin G, Nassif E, et al. International prospective evaluation of scintimammography with (99m)technetium sestamibi. *Am J Surg.* 2003 Jun;185(6):544-9.

46. Moriguchi SM, LA DEL, Griva BL, Koga KH, ET DAS, H DELV, et al. Accuracy of (99m)Tc-sestamibi scintimammography for breast cancer diagnosis. *Experimental and therapeutic medicine.* 2010 Jan;1(1):205-9.

47. Cutrone JA, Khalkhali I, Yospor LS, Diggles L, Weinberg I, Pong EM, et al. Tc-99m Sestamibi Scintimammography for the Evaluation of Breast Masses in Patients with Radiographically Dense Breasts. *Breast J.* 1999 Nov;5(6):383-8.

48. Scopinaro F, Schillaci O, Ussof W, Nordling K, Capoferro R, De Vincentis G, et al. A three center study on the diagnostic accuracy of 99mTc-MIBI scintimammography. *Anticancer Res.* 1997 May-Jun;17(3B):1631-4.

49. Buscombe JR, Cwikla JB, Thakrar DS, Hilson AJ. Uptake of Tc-99m MIBI related to tumour size and type. *Anticancer Res.* 1997 May-Jun;17(3B):1693-4.

50. Delmon-Moingeon LI, Piwnica-Worms D, Van den Abbeele AD, Holman BL, Davison A, Jones AG. Uptake of the cation hexakis(2-methoxyisobutylisonitrile)-technetium-99m by human carcinoma cell lines in vitro. *Cancer research.* 1990 Apr 1;50(7):2198-202.

51. Carvalho PA, Chiu ML, Kronauge JF, Kawamura M, Jones AG, Holman BL, et al. Subcellular distribution and analysis of technetium-99m-MIBI in isolated perfused rat hearts. *J Nucl Med.* 1992 Aug;33(8):1516-22.

52. Scopinaro F, Schillaci O, Scarpini M, Mingazzini PL, Di Macio L, Banci M, et al. Technetium-99m sestamibi: an indicator of breast cancer invasiveness. *Eur J Nucl Med.* 1994 Sep;21(9):984-7.

53. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med.* 1991 Jan 3;324(1):1-8.

54. Takamura Y, Miyoshi Y, Taguchi T, Noguchi S. Prediction of chemotherapeutic response by Technetium 99m--MIBI scintigraphy in breast carcinoma patients. *Cancer.* 2001 Jul 15;92(2):232-9.

55. Ciarmiello A, Del Vecchio S, Silvestro P, Potena MI, Carriero MV, Thomas R, et al. Tumor clearance of technetium 99m-sestamibi

as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol*. 1998 May;16(5):1677-83.

56. Mezi S, Primi F, Capocchetti F, Scopinaro F, Modesti M, Schillaci O. In vivo detection of resistance to anthracycline based neoadjuvant chemotherapy in locally advanced and inflammatory breast cancer with technetium-99m sestamibi scintimammography. *Int J Oncol*. 2003 Jun;22(6):1233-40.

57. Sciuto R, Pasqualoni R, Bergomi S, Petrilli G, Vici P, Belli F, et al. Prognostic value of (99m)Tc-sestamibi washout in predicting response of locally advanced breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *J Nucl Med*. 2002 Jun;43(6):745-51.

58. Del Vecchio S, Ciarmiello A, Pace L, Potena MI, Carriero MV, Mainolfi C, et al. Fractional retention of technetium-99m-sestamibi as an index of P-glycoprotein expression in untreated breast cancer patients. *J Nucl Med*. 1997 Sep;38(9):1348-51.

59. Listewnik MH, Birkenfeld B, Foszczynska-Kloda M, Listewnik MJ, Piwowarska-Bilska H, Zorga P. Response of malignant breast tumours to neoadjuvant chemotherapy evaluated with Tc-99m MIBI. *Annales Academiae Medicae Stetinensis*. 2011;57(1):73-8.

60. Travaini LL, Baio SM, Cremonesi M, De Cicco C, Ferrari M, Trifiro G, et al. Neoadjuvant therapy in locally advanced breast cancer: 99mTc-MIBI mammoscintigraphy is not a reliable technique to predict therapy response. *Breast*. 2007 Jun;16(3):262-70.

61. Marshall C, Eremin J, El-Sheemy M, Eremin O, Griffiths PA. Monitoring the response of large (>3 cm) and locally advanced (T3-4, N0-2) breast cancer to neoadjuvant chemotherapy using (99m)Tc-Sestamibi uptake. *Nucl Med Commun*. 2005 Jan;26(1):9-15.

62. Fuster D, Muaoz M, Pavia J, Palaca A, Bellet N, Mateos JJ, et al. Quantified 99mTc-MIBI scintigraphy for predicting chemotherapy response in breast cancer patients: factors that influence the level of 99mTc-MIBI uptake. *Nuclear Medicine Communications*. 2002;23(1):31-8.

63. Van de Wiele C, Rottey S, Goethals I, Buscombe J, Van Belle S, De Vos F, et al. 99mTc sestamibi and 99mTc tetrofosmin scintigraphy for predicting resistance to chemotherapy: a critical review of clinical data. *Nucl Med Commun*. 2003 Sep;24(9):945-50.

64. Piwnicka-Worms D, Chiu ML, Budding M, Kronauge JF, Kramer RA, Croop JM. Functional imaging of multidrug-resistant P-glycoprotein with an organotechnetium complex. *Cancer Res*. 1993 Mar 1;53(5):977-84.

Objetivos

➤ **Objetivo geral**

Avaliar o valor prognóstico da cintilografia de mamas com sestamibi-^{99m}Tc na predição da resposta do tumor localmente avançado da mama à quimioterapia neoadjuvante.

➤ **Objetivos específicos**

1. Avaliar o valor prognóstico da taxa de *washout* do sestamibi-^{99m}Tc (comparação do estudo tardio com o precoce) no resultado da quimioterapia neoadjuvante em carcinomas localmente avançados da mama.
2. Estabelecer eventual valor de *cutoff* do *washout* na diferenciação do grupo de respondedores e não respondedores à QT neoadjuvante.
3. Verificar se existem diferenças no valor de *washout* entre os estudos antes e após o 4º ciclo de quimioterapia, para predizer os respondedores dos não-respondedores.

Publicação

VALOR PROGNÓSTICO DA CINTILOGRAFIA DE MAMAS COM SESTAMIBI-^{99m}Tc NA PREDIÇÃO DA RESPOSTA DO TUMOR LOCALMENTE AVANÇADO DA MAMA À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE

Proposta de submissão na revista *The Breast Journal* – fator de impacto: 1.643

RESUMO

Com a finalidade de avaliar a eficácia da cintilografia de mamas com sestamibi-^{99m}Tc na predição da resposta tumoral à quimioterapia neoadjuvante, em pacientes com tumor localmente avançado da mama (estadio T3 e T4, maiores que 5 cm, com invasão de parede ou pele) foram selecionadas 33 pacientes do sexo feminino com câncer de mama que realizaram cintilografia de mamas antes, durante e após quimioterapia neoadjuvante, seguida de cirurgia. A cintilografia de mamas foi realizada nas incidências anterior e laterais, 10 minutos (precoce) e 60 minutos (tardia) após a injeção de 740 a 925 MBq de sestamibi-^{99m}Tc. A aquisição foi realizada em três momentos: estudo basal (antes da QT neo), estudo após quatro ciclos de QT e estudo após término do esquema quimioterápico, antes da cirurgia. Foi calculada a relação Tumor/Radiação de fundo, através de áreas de interesse com contagens/pixel, nas imagens precoces e tardias de cada estudo. Houve correlação com a imagem de aquisição tardia (60 minutos após a injeção) e a resposta tumoral à quimioterapia, sendo estatisticamente significativa. Apesar de não ter sido estatisticamente significativo, observou-se que um valor de cutoff que separa os respondedores dos não respondedores seria de 28%, ou seja, taxa de washout < que 28% preveria os respondedores e washout > que 28% seria o grupo dos não respondedores.

Palavras-chave: Câncer de mama; Quimioterapia neoadjuvante; Sestamibi-^{99m}Tc; Cintilografia de mamas.

INTRODUÇÃO

O Carcinoma da mama é a neoplasia mais comum entre as mulheres no mundo ocidental, sendo o segundo tipo de câncer mais comum. É responsável por 22% de casos novos a cada ano. O número de casos novos esperados para o Brasil em 2012 é de 52.680, com risco estimado de 51 casos a cada 100 mil mulheres.⁽¹⁾

Apesar da introdução e difusão de programas de rastreamento do câncer de mama⁽²⁾, um número significativo de pacientes ainda se apresenta com tumores localmente avançados, em estadio T3 ou T4, ou seja, aqueles maiores que cinco centímetros, com invasão da parede torácica e ou da pele, com metástases linfonodais fixas^(3, 4) ou carcinomas inflamatórios. Nesses casos, o tratamento padrão é multidisciplinar consistindo de quimioterapia pré-operatória ou neoadjuvante, mastectomia ou quadrantectomia com linfadenectomia axilar, radioterapia e quimioterapia pós-operatória⁽⁵⁻⁷⁾.

A identificação precoce das pacientes não respondedoras pode trazer benefícios, evitando a utilização de um regime com poucas chances de sucesso e, mais importante ainda, possibilitando a mudança do esquema quimioterápico com

consequente aumento da sobrevida dessas pacientes que, em geral, tem pior prognóstico ⁽⁸⁾.

A cintilografia das mamas (CM) é uma técnica de baixo custo e de elevada acurácia já bem padronizada na detecção de tumores mamários^(9, 10), quando a mamografia é inconclusiva, em especial de portadoras de mamas densas ou com distorção arquitetural.

A acurácia do método é influenciada pelo tamanho, tipo histológico, grau e localização dos tumores, mas independe da densidade mamária⁽¹¹⁾ ou colocação de próteses. A sensibilidade para tumores acima de um centímetro pode atingir 96%, mas pode ser menor que 50% para aqueles com menos de um centímetro⁽¹²⁾.

Os carcinomas ductais invasores de grau III mostram maior concentração de sestamibi-^{99m}Tc, enquanto os carcinomas lobulares mostram menor concentração ou não concentram⁽¹³⁾. De modo semelhante, a sensibilidade para detecção de carcinoma ductal *in situ* (45,9%) é menor que para o invasivo (82%) ⁽¹⁴⁾. A especificidade é alta sendo que os falsos positivos ocorrem principalmente por inflamação local, fibroadenoma e alterações fibrocísticas. A concentração em lesões benignas está fortemente relacionada à presença de alterações proliferativas.

Mecanismos de acúmulo e de efluxo do sestamibi-^{99m}Tc em carcinomas mamários envolvem processos celulares que são importantes na resposta tumoral ao tratamento. O Sestamibi-^{99m}Tc é eliminado da célula pela via Pgp e a sua excreção está aumentada nos tumores com aumento de expressão dos genes de MRD, que codificam a Pgp.

Alguns estudos têm demonstrado a utilidade da cintilografia das mamas em detectar resistência intrínseca e adquirida, ao relacionarem a porcentagem de efluxo (*washout*) do radiofármaco nas imagens precoces e tardias, ou a intensidade de concentração tumoral nessas imagens, em diferentes momentos do curso quimioterápico, com as respostas clínica, ultrassonográfica, mamográfica e histopatológica ao tratamento ⁽¹⁵⁻²⁰⁾.

A taxa de *washout* do sestamibi-^{99m}Tc pode predizer a resposta da quimioterapia nos pacientes com carcinoma de mama e, ainda, auxiliar na determinação *in vivo* da expressão da glicoproteína P e na multirresistência a drogas (MDR) ⁽²¹⁾, ou seja, há uma relação inversa entre os níveis de Pgp e a captação e tempo de eliminação do Sestamibi-^{99m}Tc.

Poucos estudos relacionam a variação da concentração de sestamibi-^{99m}Tc nas imagens precoces, antes e após o tratamento,

ou apenas a concentração tumoral precoce pré-terapêutica, com as respectivas respostas, e os resultados obtidos até então se mostraram controversos.^(14, 15, 22-24).

A captação do sestamibi-^{99m}Tc pode ser utilizada como complementação nos protocolos de efetividade terapêutica nos pacientes não operáveis de carcinoma de mama que beneficiarão com a quimioterapia ⁽²⁵⁾.

Sendo assim, a principal vantagem da CM é sua base funcional onde o acúmulo do sestamibi indica as características de agressividade do tumor, relacionada à proliferação celular e atividade tumoral e recentemente, o potencial deste radiofármaco em detectar *in vivo* a resistência a múltiplas drogas ^(26, 27).

CASUÍSTICA E METODOLOGIA

Características do estudo

Estudo longitudinal com coleta retrospectiva de dados de pacientes portadoras de carcinoma de mama localmente avançado encaminhadas ao Departamento de Medicina Nuclear do Hospital

de Câncer de Barretos para realização de cintilografia de mamas no período de 2007 a 2010. Por tratar-se de coleta e dados, esse projeto dispensa a aplicação de termo de consentimento livre e esclarecido às pacientes, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Instituição, antes do seu início.

Casuística

Um total de 68 pacientes que preencheram os critérios de inclusão abaixo descritos foi incluído nesse estudo. Foram excluídas 36 pacientes, sendo 17 por impossibilidade de processamento das imagens e 19 que não completaram o estudo, totalizando a amostra final de 32 pacientes do sexo feminino, com 33 lesões mamárias.

Critérios de inclusão:

1. Portadoras de carcinoma de mama localmente avançado classificados como estadio T3 e T4, caracterizado como tumores

maiores que cinco centímetros, com invasão de parede ou pele, presença de metástases fixas ou carcinoma inflamatório;

2. Submetidas à cintilografia de mamas com sestamibi-^{99m}Tc;

3. Submetidas à quimioterapia neoadjuvante.

Critérios de exclusão:

1. Com cintilografias de mamas inadequadas para o processamento;

2. Não submetidas ao estudo anatomopatológico pós-quimioterapia neoadjuvante.

Todas as pacientes seguiram o mesmo protocolo padrão de tratamento. A entrada das pacientes no Hospital de Câncer de Barretos ocorreu por meio do Departamento de Mastologia e Reconstrução Mamária, sendo avaliadas por especialistas que as classificaram como portadoras de tumores de mama localmente avançados baseados na avaliação clínica, métodos de imagem e de estudo anatomopatológico para confirmar o diagnóstico histopatológico. Todas as pacientes desse estudo foram submetidas

a esquema quimioterápico neoadjuvante padrão da Instituição com cirurgia posterior. A avaliação clínica e as cintilografias foram realizadas pré, durante e após o tratamento.

METODOLOGIA

Quimioterapia neoadjuvante

Todas as pacientes foram submetidas ao esquema terapêutico neoadjuvante padronizado da Instituição, constituído de quatro ciclos de AC seguido por mais quatro ciclos de Taxol, a cada 21 dias. As doses de AC utilizada foi de doxorubicina 60mg/m^2 com Ciclofosfamida 600 mg/m^2 e a de Taxol de 175mg/m^2 .

Cintilografia de mamas

As cintilografias de mamas foram realizadas em três tempos: antes do início da quimioterapia neoadjuvante, após o 4º ciclo de quimioterapia e após o término da quimioterapia, antes da cirurgia,

com a mesma técnica de aquisição das imagens, protocoladas pelo Departamento.

Os exames de mamas foram resgatados do arquivo de exames do Departamento de Medicina Nuclear. As imagens realizadas com técnica padronizada de aquisição das imagens em gama câmara híbrida, SPECT-CT, modelo *Hawkeeye-GE*, de duas cabeças utilizando colimador de baixa energia e alta resolução, fótico centrado em 140 KeV com janela de 15%. Utilizou-se 740 a 1110 MBq de sestamibi-^{99m}Tc administrado em vaso podal ou no braço contralateral à mama suspeita, 10 minutos antes do início das imagens. Com a paciente em posição prona e mamas pêndulas em orifícios do colchão (Figura 1), separadas por placas de chumbo embutida, obteve-se imagens laterais e oblíquas posteriores a 40° das mamas, com zoom 2, matriz 256x256. A seguir, com a paciente em posição supina e braços elevados sobre a cabeça, obteve-se a projeção anterior, incluindo tórax e axilas, sem zoom. A duração de todas as imagens foi de 10 minutos. As imagens laterais foram adquiridas em dois tempos: aos 10 e 60 minutos de cada estudo cintilográfico.

Processamento das cintilografias

Três tipos de processamentos foram realizados nas cintilografias de mamas.

1. Razão de concentração do sestamibi-^{99m}Tc

O processamento foi realizado nas imagens laterais das mamas. Quando o tumor estava localizado na região medial, o processamento adicional era realizado também na projeção anterior.

Foram geradas duas áreas de interesse circulares e idênticas: uma localizada sobre o tumor (T) e a segunda em tecido normal adjacente ao tumor, equidistante da parede muscular e da linha média da mesma mama (BG). Contagens/pixels foram geradas nessas duas áreas (Figura 2).

A razão T/BG em contagens/pixels foi calculada na imagem precoce ($T/BG_{(p)}$) e na imagem tardia ($T/BG_{(t)}$). Foram utilizados o

primeiro exame (pré-quimioterapia) e o segundo exame (após o quarto ciclo de quimioterapia).

A razão foi testada para avaliar qual a imagem (precoce ou tardia) e qual o exame melhor se relacionaria com a resposta à quimioterapia.

2. Cálculo da taxa de *washout* ou efluxo do sestamibi-^{99m}Tc

O processamento foi realizado nas imagens laterais das mamas obtidas aos 10 e aos 60 minutos.

Foram geradas duas áreas de interesse circulares e idênticas: uma localizada sobre o tumor (T) e a segunda em tecido normal adjacente ao tumor, equidistante da parede muscular e da linha média da mesma mama (BG). Contagens/pixels foram geradas nessas duas áreas. A razão T/BG em contagens/pixels foi calculada na imagem precoce ($T/BG_{(p)}$) e na imagem tardia ($T/BG_{(t)}$).

Foi realizado o cálculo matemático da taxa de *washout* por meio da seguinte fórmula: $[(T/BG_{(t)}) - (T/BG_{(p)})] / (T/BG_{(p)})$, para tentar prever a resposta à quimioterapia.

3. Avaliação de tumor residual com a Cintilografia mamária

O último exame foi realizado ao fim da quimioterapia. As imagens laterais, tanto precoce quanto tardia, foram avaliadas visualmente. Caso a lesão não fosse visível neste último exame, foi considerado como boa resposta (Figura 4). Se ainda identificasse lesão, consideramos como resposta ruim à quimioterapia (Figura 5).



Figura 1 – Foto mostrando paciente em posição prona e mamas pêndulas em orifícios do colchão.

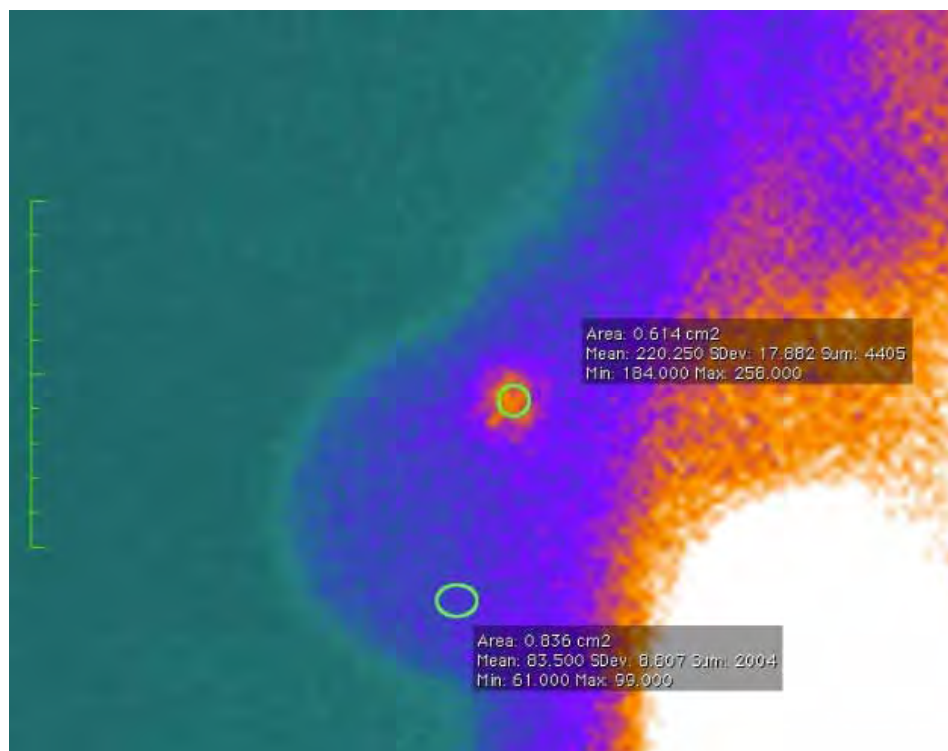


Figura 2 – Foto mostrando as áreas de interesse em contagens/pixel do tumor (T) e da radiação de fundo (BG).

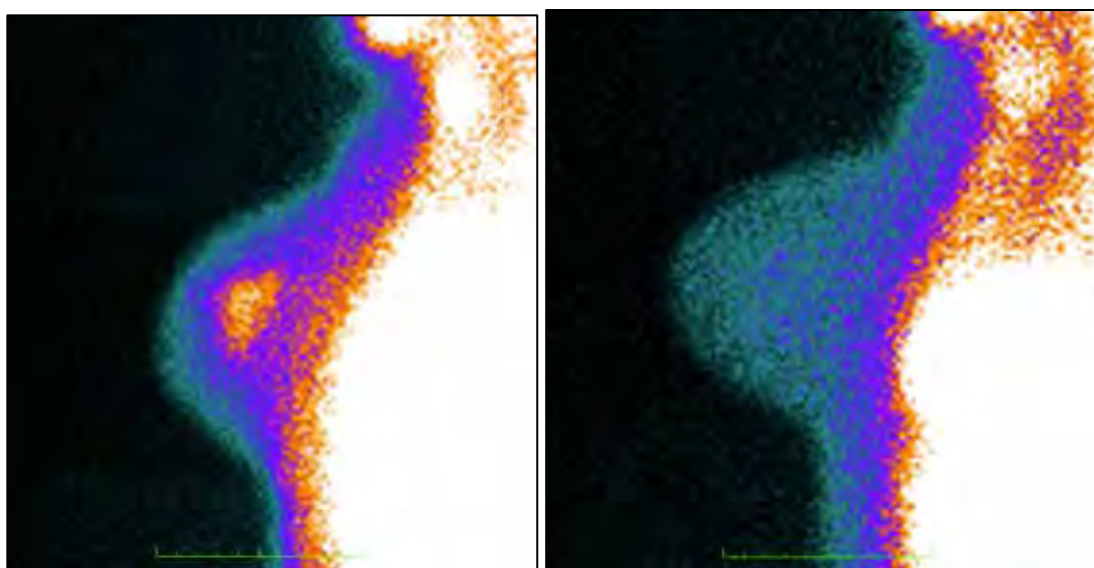


Figura 3 – Boa resposta (à esquerda pré-QT e à direita após término da QT).

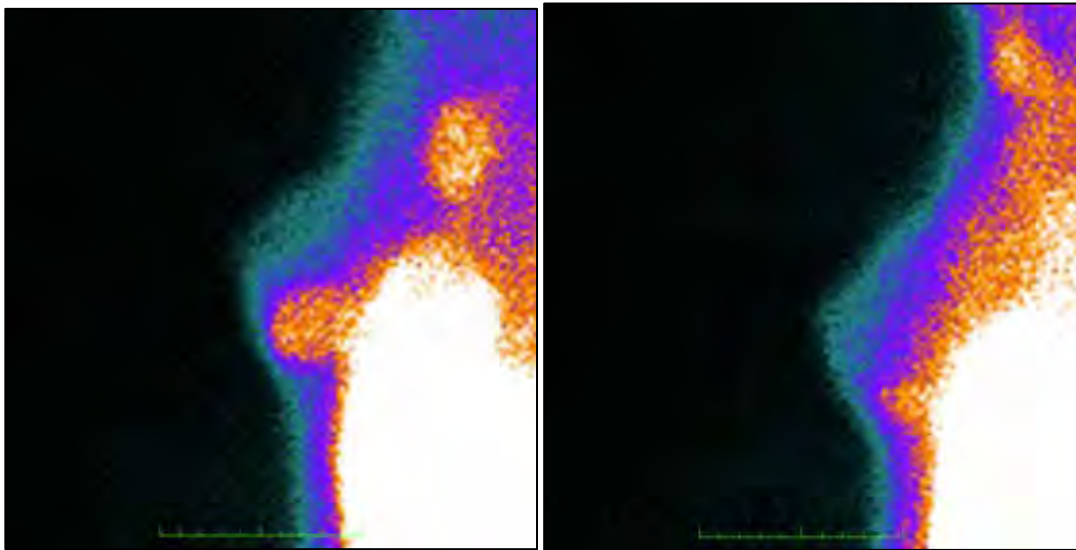


Figura 4 – Resposta ruim (à esquerda pré-QT e à direita após término da QT).

Análise Estatística

O programa SPSS versão 19 para Windows foi utilizado para as análises estatísticas.

1. Foi utilizado o teste Kolmogorov-Smirnov para verificação da normalidade dos dados.
2. Realizado a análise descritiva dos dados por meio de frequências absolutas e relativas, medidas de tendência central (média e mediana) e dispersão (desvio-padrão, mínimo, máximo e intervalo de 95% de confiança).

3. Foi realizada comparação entre as médias das razões dos índices de concentração do sestamibi-^{99m}Tc nas imagens precoces e tardias ($T/BG_{(p)}$ e $T/BG_{(t)}$) estratificando entre os grupos que apresentaram resposta boa e ruim à cintilografia, utilizando o teste t.

4. A razão dos índices de concentração do sestamibi-^{99m}Tc nas imagens precoces e tardias ($T/BG_{(p)}$ e $T/BG_{(t)}$) das cintilografias antes e durante a quimioterapia neoadjuvante foram comparadas entre si utilizando o teste t para avaliação pareada das médias das contagens.

5. Foi realizado através do teste t de student o cálculo matemático da taxa de *washout* por meio da seguinte fórmula: $[(T/BG_{(t)}) - (T/BG_{(p)})] / (T/BG_{(p)})$, para tentar prever a resposta à quimioterapia.

Foi assumido um nível de 5% para significância estatística.

RESULTADOS

1. Idade

As pacientes avaliadas (n=32) possuíam faixa etária entre 36 a 67 anos, com média de 47,1 anos e mediana de 44 anos. (Tabela 1).

Tabela 1 – Dados da idade das pacientes – estatística descritiva.

IDADE	
Média	47,1
Mediana	44,0
Desvio-padrão	9.9
Mínimo	36
Máximo	67

2. Local da lesão

Em relação à localização do tumor, foram encontradas 15 lesões à direita (45%) e 18 à esquerda (55%), sendo uma paciente apresentou tumor bilateral. (Tabela 2).

Tabela 2 – Distribuição das lesões na mama.

LOCALIZAÇÃO DO TUMOR	
Mama Direita	15 (45%)
Mama Esquerda	18 (55%)
Total	33 (100%)

3. Tipo histológico

A maioria das lesões analisadas (81,8%) foi carcinoma ductal invasivo, conforme visualizado na tabela 3.

Tabela 3 – Subtipos histológicos dos tumores de mama.

Subtipos histológicos	Número de lesões	Frequência
Carcinoma ductal invasivo	27	81,8 %
Carcinoma lobular invasivo	5	15,2%
Papilífero	1	3,0%
Total	33	100%

4. Avaliação de tumor residual com a Cintilografia mamária

Ao se avaliar a resposta à quimioterapia analisando o terceiro exame, notou-se que a distribuição não foi tão desigual e a maioria (60,6%) apresentou resposta ruim à quimioterapia, como exposto na tabela 4.

Tabela 4 – Tipo de resposta tumoral à quimioterapia.

Tipo de resposta tumoral	Número de lesões	Frequência
Ruim	20	60,6%
Boa	13	39,4%
Total	33	100%

5. Razão das contagens do sestamibi-99mTc do tumor (T) e da radiação de fundo (BG) estratificado por tipo de resposta à quimioterapia

As razões das contagens do tumor e da radiação de fundo (T/BG) nas imagens precoces e tardias do primeiro e segundo exames foram estratificadas entre os estudos que apresentaram resposta boa e ruim à quimioterapia e foram comparadas. Houve diferença significativa entre as razões das contagens das imagens tardias, tanto no primeiro quanto no segundo exame.

Tabela 5 – Razão das contagens estratificada por tipo de resposta

Razão das contagens	Resposta	n	Media $\pm$ DP	p
T/BG _(p) 1º exame	Ruim	20	2,500 $\pm$ 0,757	0,513
	Boa	13	2,273 $\pm$ 1,216	
T/BG _(t) 1º exame	Ruim	20	2,498 $\pm$ 0,743	0,036*
	Boa	13	1,886 $\pm$ 0,866	
T/BG _(p) 2º exame	Ruim	20	2,082 $\pm$ 0,629	0,188
	Boa	13	1,771 $\pm$ 0,636	
T/BG _(t) 2º exame	Ruim	20	2,047 $\pm$ 0,512	0,007*
	Boa	13	1,465 $\pm$ 0,612	

T/BG_(p) = razão das médias das contagens do tumor e da radiação de fundo nas imagens precoces (10 minutos)

T/BG_(t) = razão das médias das contagens do tumor e da radiação de fundo nas imagens tardias (60 minutos)

* p < 0,05

6. Comparação pareada das contagens das razões do tumor (T) e radiação de fundo (BG)

Foi realizada a comparação pareada das razões em contagens/pixel do tumor (T) sobre a radiação de fundo (BG) da mesma mama, nos dois momentos da cintilografia, precoce e tardio, e ainda comparando o primeiro com o segundo exame para predizer a resposta quimioterápica. (Tabela 6).

Tabela 6 – Comparação entre as razões das contagens/pixel (T/BG).

Comparação entre as razões das médias *	Média ± DP	p-valor
T/BG precoce e T/BG tardio no 1º exame	0,14 ± 0,69	0,260
T/BG precoce e T/BG tardio no 2º exame	0,14 ± 0,58	0,193
T/BG precoce entre o 1º e o 2º exame	0,46 ± 0,84	0,004
T/BG tardio entre o 1º e o 2º exame	0,46 ± 0,67	<0,001

* test t para grupos pareados

A comparação pareada das médias da relação tumor (T) e radiação de fundo (BG) entre os exames mostrou que os métodos que melhor se relacionaram com a resposta quimioterápica foram:

- T/BG precoce entre o 1º e 2º exame: p=0,004
- T/BG tardio entre o 1º e 2º exame: p<0,001

7. Taxa de *washout* ou efluxo do sestamibi-^{99m}Tc

A taxa de *washout* (WOR) ou efluxo do sestamibi foi calculada utilizando as imagens precoces e tardias (Tabela 7). Ao se estratificar por tipo de resposta cintilográfica, não se identificou

significância estatística, porém a média dos que apresentaram boa resposta cintilográfica foi menor.

Embora não houvesse diferença estatisticamente significativa, observou-se que um valor de *cutoff* que separa os respondedores dos não respondedores seria de 28%, ou seja, taxa de *washout* menor que 28% preveria os respondedores e *washout* maior que 28% seria o grupo dos não respondedores.

Tabela 7 – Taxa de *washout* do sestamibi estratificada por tipo de resposta

Razão das contagens	Resposta	n	Média ± DP	p
WOR 1º exame	Ruim	20	30,9% ± 0,22	0,657
	Boa	13	26,3% ± 0,29	
WOR 2º exame	Ruim	20	28,3% ± 0,22	0,395
	Boa	13	13,4% ± 0,53	

WOR= taxa de washout

8. Estudo do esvaziamento axilar

Todas as pacientes realizaram esvaziamento axilar, sendo que 54,5% delas o estudo anatomopatológico foi positivo e 45,5% negativo (Tabela 8).

Tabela 8 – Resultado anatomopatológico do esvaziamento axilar.

Anatomopatológico do esvaziamento axilar	
Negativo	15 (45,5%)
Positivo	18 (54,5%)
Total	33 (100%)

9. Correlação da resposta quimioterápica com o esvaziamento axilar.

Houve correlação significativa ($p < 0,05$) da resposta quimioterápica com o resultado anatomopatológico do esvaziamento axilar. Ou seja, as pacientes que apresentaram resposta ruim, 80% delas tiveram linfonodos axilares comprometidos (metastáticos) (Tabela 9).

Tabela 9 – Correlação da resposta quimioterápica com esvaziamento axilar.

Resposta	AP esvaziamento		Total
	Negativo	Positivo	
Ruim	4	16	20
Boa	11	2	13
Total	15	18	33

DISCUSSÃO

Das 32 pacientes do sexo feminino com diagnóstico de câncer de mama localmente avançado a média de idade foi de 47,1 anos, o que é menor do que a encontrada no país, que é 59 anos de idade. Porém 25% dos tumores acometem mulheres antes dos 50 anos, “fase em que a doença tende a ser mais agressiva por causa da influência do estrogênio, hormônio que aparece em maior quantidade em jovens”, segundo pesquisa feita pelo Grupo Brasileiro de Estudos para o Câncer de Mama.

Sabe-se que o carcinoma ductal invasor é o tipo histológico mais frequente, seguido pelo carcinoma lobular invasor ^(28, 29). Dados semelhantes foram encontrados no presente estudo (81,8%), que apesar da amostra ser pequena foi condizente com a literatura.

O subtipo ductal é o mais frequente e dependendo da amostra varia de 81,4 à 84,6% dos casos ⁽³⁰⁻³³⁾.

A multirresistência a drogas é o maior problema no tratamento quimioterápico do câncer de mama, e isso tem sido objeto de muitos estudos ⁽²⁰⁾.

O valor prognóstico da captação de sestamibi-^{99m}Tc para prever o resultado da quimioterapia neoadjuvante nos tumores localmente avançados de câncer de mama foi confirmado ^(15, 18, 19).

A relação Tumor/Radiação de fundo (T/BG) nas imagens tardias (60 minutos após a injeção) foi estatisticamente significativa, e também relatada por Takamura e cols ⁽¹⁵⁾ e Listewnik e cols ⁽²⁰⁾ na predição da resposta quimioterápica.

Os resultados das imagens tardias foram relevantes na diferenciação entre as que apresentaram resposta cintilográfica à QT boa e ruim, o que corrobora com os achados da literatura ^(15, 20). Analisando as pacientes que apresentaram boa resposta à quimioterapia observou-se queda na relação T/BG, enquanto aquelas que tiveram resposta ruim notaram-se valores semelhantes nas diferentes etapas do exame cintilográfico.

Tradicionalmente a média das razões T/BG caiu nas imagens tardias comparativamente às imagens precoces, assim como entre o primeiro e segundo exames ⁽²⁰⁾.

Foi avaliada a resposta quimioterápica baseada na análise cintilográfica (identificando a presença de lesão no primeiro e terceiro exames) e patológica, sendo que a maioria (60,6%)

apresentou resposta ruim à quimioterapia (não respondedores), ou seja, manutenção da lesão após término do tratamento quimioterápico. Estes dados condizem com outros estudos semelhantes ⁽³⁴⁾.

Nossa investigação demonstrou que a correlação (T/BG) entre os dois estudos (primeiro e segundo) foi estatisticamente significativa, evidenciando a importância do segundo exame na metade do esquema quimioterápico. Assim como descrito por Listewnik e colaboradores ⁽²⁰⁾ é fundamental fazer dois exames em diferentes momentos e, ainda, avaliar as imagens tardias.

No nosso estudo a razão T/BG tardio (imagem tardia - 60 minutos após a injeção do sestamibi-99mTc) tanto no 1º como no 2º estudo foi estatisticamente significativa ($p=0,036$ e $p=0,007$; respectivamente) e representativa em relação a precoce para avaliar a resposta terapêutica com maior acurácia ^(28, 35, 36). A intensidade de concentração do sestamibi-99mTc na imagem precoce pode ser afetada pelo fluxo sanguíneo do tumor, em relação às imagens tardias (T/BG60)⁽¹⁵⁾.

Na análise pareada entre as razões T/BG nos diferentes estudos, mostrou que é necessário ter um estudo de base, pré-

quimioterapia para posteriores comparações e inferências ($p=0,004$ e $p<0,001$).

Os achados da relação T/BG para prever *washout* foram não foram estatisticamente significativos nas imagens tardias (60 minutos) quando se comparou entre os grupos com resposta cintilográfica boa e ruim. Estes achados também foram encontrados por Listewnik e colaboradores em estudo semelhante, porém com menor número de lesões ⁽²⁰⁾. No nosso trabalho identificamos um valor de *cutoff* que separa os respondedores dos não respondedores, que seria de 28%, ou seja, a taxa de *washout* menor que 28% preveria os respondedores e *washout* maior que 28% seria o grupo dos não respondedores.

Os nossos resultados apoiam os relatados na literatura, porém há necessidade de uma investigação mais aprofundada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil, Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. Estimativas 2012: Incidência de Câncer no Brasil. 2011.
2. Beahrs OH. Staging of cancer. CA Cancer J Clin. 1991 Mar-Apr;41(2):121-5.
3. Hortobagyi GN, Ames FC, Buzdar AU, Kau SW, McNeese MD, Paulus D, et al. Management of stage III primary breast cancer with primary chemotherapy, surgery, and radiation therapy. Cancer. 1988 Dec 15;62(12):2507-16.
4. Hortobagyi GN, Spanos W, Montague ED, Buzdar AU, Yap HY, Blumenschein GR. Treatment of locoregionally advanced breast cancer with surgery, radiotherapy, and combination chemoimmunotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 1983 May;9(5):643-50.
5. Hortobagyi GN. Multidisciplinary management of advanced primary and metastatic breast cancer. Cancer. 1994 Jul 1;74(1 Suppl):416-23.
6. Hortobagyi GN, Blumenschein GR, Spanos W, Montague ED, Buzdar AU, Yap HY, et al. Multimodal treatment of locoregionally advanced breast cancer. Cancer. 1983 Mar 1;51(5):763-8.
7. Booser DJ, Hortobagyi GN. Treatment of locally advanced breast cancer. Semin Oncol. 1992 Jun;19(3):278-85.
8. Schott AF, Roubidoux MA, Helvie MA, Hayes DF, Kleer CG, Newman LA, et al. Clinical and radiologic assessments to predict breast cancer pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy. Breast cancer research and treatment. 2005 Aug;92(3):231-8.
9. Liberman M, Sampalis F, Mulder DS, Sampalis JS. Breast cancer diagnosis by scintimammography: a meta-analysis and review of the literature. Breast Cancer Res Treat. 2003 Jul;80(1):115-26.
10. Sampalis FS, Denis R, Picard D, Fleiszer D, Martin G, Nassif E, et al. International prospective evaluation of scintimammography with (99m)technetium sestamibi. Am J Surg. 2003 Jun;185(6):544-9.
11. Cutrone JA, Khalkhali I, Yospur LS, Diggles L, Weinberg I, Pong EM, et al. Tc-99m Sestamibi Scintimammography for the Evaluation of Breast Masses in Patients with Radiographically Dense Breasts. Breast J. 1999 Nov;5(6):383-8.
12. Scopinaro F, Schillaci O, Ussof W, Nordling K, Capoferro R, De Vincentis G, et al. A three center study on the diagnostic

accuracy of ^{99m}Tc-MIBI scintimammography. *Anticancer Res.* 1997 May-Jun;17(3B):1631-4.

13. Buscombe JR, Cwikla JB, Thakrar DS, Hilson AJ. Uptake of Tc-99m MIBI related to tumour size and type. *Anticancer Res.* 1997 May-Jun;17(3B):1693-4.

14. Mankoff DA, Dunnwald LK, Gralow JR, Ellis GK, Drucker MJ, Livingston RB. Monitoring the response of patients with locally advanced breast carcinoma to neoadjuvant chemotherapy using [technetium 99m]-sestamibi scintimammography. *Cancer.* 1999 Jun 1;85(11):2410-23.

15. Takamura Y, Miyoshi Y, Taguchi T, Noguchi S. Prediction of chemotherapeutic response by Technetium 99m--MIBI scintigraphy in breast carcinoma patients. *Cancer.* 2001 Jul 15;92(2):232-9.

16. Ciarmiello A, Del Vecchio S, Silvestro P, Potena MI, Carriero MV, Thomas R, et al. Tumor clearance of technetium 99m-sestamibi as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol.* 1998 May;16(5):1677-83.

17. Mezi S, Primi F, Capocchetti F, Scopinaro F, Modesti M, Schillaci O. In vivo detection of resistance to anthracycline based neoadjuvant chemotherapy in locally advanced and inflammatory breast cancer with technetium-99m sestamibi scintimammography. *Int J Oncol.* 2003 Jun;22(6):1233-40.

18. Sciuto R, Pasqualoni R, Bergomi S, Petrilli G, Vici P, Belli F, et al. Prognostic value of (99m)Tc-sestamibi washout in predicting response of locally advanced breast cancer to neoadjuvant chemotherapy. *J Nucl Med.* 2002 Jun;43(6):745-51.

19. Del Vecchio S, Ciarmiello A, Pace L, Potena MI, Carriero MV, Mainolfi C, et al. Fractional retention of technetium-99m-sestamibi as an index of P-glycoprotein expression in untreated breast cancer patients. *J Nucl Med.* 1997 Sep;38(9):1348-51.

20. Listewnik MH, Birkenfeld B, Foszczynska-Kloda M, Listewnik MJ, Piwowarska-Bilska H, Zorga P. Response of malignant breast tumours to neoadjuvant chemotherapy evaluated with Tc-99m MIBI. *Annales Academiae Medicae Stetinensis.* 2011;57(1):73-8.

21. Kwak HS, Bae YT, Han KT, Kim IJ. The multidrug resistance-related protein and P-glycoprotein expressions, and the washout rates of Tc-99m-MIBI in infiltrating ductal carcinoma of breast, correlation with the response after neoadjuvant chemotherapy. *Journal of Breast Cancer.* 2007;10(1):29-35.

22. Cwikla JB, Buscombe JR, Barlow RV, Kelleher SM, Parbhoo SP, Crow J, et al. The effect of chemotherapy on the uptake of

technetium-99m sestamibi in breast cancer. *Eur J Nucl Med*. 1997 Sep;24(9):1175-8.

23. Travaini LL, Baio SM, Cremonesi M, De Cicco C, Ferrari M, Trifiro G, et al. Neoadjuvant therapy in locally advanced breast cancer: 99mTc-MIBI mammoscintigraphy is not a reliable technique to predict therapy response. *Breast*. 2007 Jun;16(3):262-70.

24. Marshall C, Eremin J, El-Sheemy M, Eremin O, Griffiths PA. Monitoring the response of large (>3 cm) and locally advanced (T3-4, N0-2) breast cancer to neoadjuvant chemotherapy using (99m)Tc-Sestamibi uptake. *Nucl Med Commun*. 2005 Jan;26(1):9-15.

25. Fuster D, Muaoz M, Pavia J, Palaca A, Bellet N, Mateos JJ, et al. Quantified 99mTc-MIBI scintigraphy for predicting chemotherapy response in breast cancer patients: factors that influence the level of 99mTc-MIBI uptake. *Nuclear Medicine Communications*. 2002;23(1):31-8.

26. Van de Wiele C, Rottey S, Goethals I, Buscombe J, Van Belle S, De Vos F, et al. 99mTc sestamibi and 99mTc tetrofosmin scintigraphy for predicting resistance to chemotherapy: a critical review of clinical data. *Nucl Med Commun*. 2003 Sep;24(9):945-50.

27. Piwnica-Worms D, Chiu ML, Budding M, Kronauge JF, Kramer RA, Croop JM. Functional imaging of multidrug-resistant P-glycoprotein with an organotechnetium complex. *Cancer Res*. 1993 Mar 1;53(5):977-84.

28. Miller BA, Hankey BF, Thomas TL. Impact of sociodemographic factors, hormone receptor status, and tumor grade on ethnic differences in tumor stage and size for breast cancer in US women. *American journal of epidemiology*. 2002 Mar 15;155(6):534-45.

29. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2006 Jun 7;295(21):2492-502.

30. Albrektsen G, Heuch I, Thoresen SO. Histological type and grade of breast cancer tumors by parity, age at birth, and time since birth: a register-based study in Norway. *BMC cancer*. 2010;10:226.

31. Narod SA, Foulkes WD. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond. *Nature reviews Cancer*. 2004 Sep;4(9):665-76.

32. Gross E, Arnold N, Pfeifer K, Bandick K, Kiechle M. Identification of specific BRCA1 and BRCA2 variants by DHPLC. *Human mutation*. 2000 Oct;16(4):345-53.

33. Martins E, Freitas-Junior R, Curado MP, Freitas NM, De Oliveira JC, Silva CM. [Temporal evolution of breast cancer stages in a population-based cancer registry in the Brazilian central region]. *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia : revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia*. 2009 May;31(5):219-23.
34. Alonso O, Delgado L, Nunez M, Vargas C, Lopera J, Andruskevicius P, et al. Predictive value of (99m)Tc sestamibi scintigraphy in the evaluation of doxorubicin based chemotherapy response in patients with advanced breast cancer. *Nuclear medicine communications*. 2002 Aug;23(8):765-71.
35. Delmon-Moingeon LI, Piwnica-Worms D, Van den Abbeele AD, Holman BL, Davison A, Jones AG. Uptake of the cation hexakis(2-methoxyisobutylisonitrile)-technetium-99m by human carcinoma cell lines in vitro. *Cancer research*. 1990 Apr 1;50(7):2198-202.
36. INCA. Encontro Internacional sobre Rastreamento do Câncer de Mama. 2008.

Conclusões

A cintilografia mamária com sestamibi-99mTc mostrou que a razão T/BG precoce com tardio teve valor prognóstico nas pacientes respondedoras à quimioterapia.

Foi identificado valor de *cutoff* para *washout* de 28%, como prognóstico para separar as pacientes respondedoras e as não respondedoras.

A intensidade de concentração do sestamibi-99mTc pré-quimioterapia em carcinomas localmente avançados da mama mostrou não ser um preditor da resposta à quimioterapia neoadjuvante.

A intensidade de captação do sestamibi-99mTc nas imagens precoces (que expressa mais intensamente a vascularização tumoral) antes e após o primeiro ciclo de quimioterapia não apresentou valor prognóstico.

A imagem de aquisição tardia (60 minutos após a injeção) se correlaciona com a resposta tumoral à quimioterapia, sendo estatisticamente significativa.

Os nossos resultados apoiam os relatados na literatura, porém há necessidade de uma investigação mais aprofundada e com maior casuística, correlacionando os respondedores com dados imunohistoquímicos e genéticos do tumor.

Mais dados sobre o assunto, com longo prazo de acompanhamento são necessários para confirmar esta hipótese.

Anexo



Comitê de Ética em Pesquisa CEP

Para: Dr. Renato Ramos Barra

De: Dr. Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Data: 13/10/2009

Projeto de Pesquisa: **266/2009**

Prezado (a) Senhor (a),

Venho, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos analisou em reunião ordinária de 08/10/2009 o projeto **266/2009** : “**Valor Prognóstico da Cintilografia de Mamas com Sestamibi-99mTc na predição da resposta do tumor localmente avançado da mama à Quimioterapia neoadjuvante**”, decidindo que o mesmo encontra-se

“Aprovado”

Atenciosamente,

*Dr. Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Barretos*